

**Bestimmung der 16 von der EU als prioritär eingestuften Polyzyklischen  
Aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAK) in verschiedenen  
Lebensmittelgruppen**

**DISSERTATION**

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor rerum naturalium  
(Dr. rer. nat.)

vorgelegt

der Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften  
der Technischen Universität Dresden

von

Diplom-Lebensmittelchemikerin Katja Ziegenhals

geboren am 05.06.1981 in Rodewisch

Gutachter: Prof. Dr. K. Speer

Prof. Dr. Th. Simat

Prof. Dr. K.-O. Honikel

Eingereicht am: 29.04.2008

Tag der Verteidigung: 04.11.2008



Die vorliegende Arbeit wurde unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. K. Speer, Professur für Spezielle Lebensmittelchemie/Lebensmittelproduktion der Technischen Universität Dresden, am Max Rubner-Institut (MRI), Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel (ehemals Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel (BfEL)) am Standort Kulmbach angefertigt. Die experimentellen Arbeiten wurden im Zeitraum von Juni 2005 bis September 2007 in Kulmbach am MRI durchgeführt.

Hiermit möchte ich allen Personen danken, die zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen haben.

Herrn Prof Dr. K. Speer möchte ich besonders danken für die interessante Aufgabenstellung und die stete Gesprächsbereitschaft zu offenen Fragen und Herausforderungen.

Dem ehemaligen Leiter des Institutes für Chemie und Physik der BfEL Kulmbach, Herrn Dir. u. Prof. Dr. K.-O. Honikel, und dem derzeitigen Leiter des Forschungsbereiches für Chemische und Physikalische Analytik des MRI, Herrn WD Dr. F. Schwägele, danke ich für die Ermöglichung der Durchführung der experimentellen Arbeiten am MRI, die stete Diskussionsbereitschaft sowie die Ermöglichung der Teilnahme an Tagungen und Workshops.

In Kulmbach danke ich allen ehemaligen und derzeitigen Mitarbeitern des MRI für die freundliche Aufnahme sowie die Hilfe und Unterstützung während der gesamten Dauer meiner Arbeit.

Herrn Dr. W. Jira möchte ich danken für die Einweisung am GC/HRMS und die Erörterungen fachlicher Probleme. Frau E. Klötzer gilt mein Dank für die Einarbeitung in die Probenaufarbeitung zur PAK-Analytik. Weiterhin möchte ich mich bedanken bei Frau G. Eigner für praktische Tipps und Hinweise.

Besonders erwähnen möchte ich meine ehemaligen Kollegen Frau S. Kleinhenz, Frau Dr. S. Andrée, Herrn Dr. S. Münch und Herrn Dr. S. Fischer, die mir während dieser Zeit gute Freunde und wertvolle Ratgeber geworden sind.

Nicht zuletzt danke ich meiner Familie für ihre Unterstützung und dafür, dass sie mir diesen Weg ermöglicht hat.



<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>V</b>
<b>Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>VIII</b>
<b>Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>XII</b>
<b>1 Einleitung.....</b>	<b>1</b>
<b>2 Ziel der Arbeit .....</b>	<b>3</b>
<b>3 Allgemeiner Teil .....</b>	<b>4</b>
3.1 Polyzyklische Aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK).....	4
3.1.1 <i>Vorkommen und Entstehung</i> .....	4
3.1.2 <i>Struktur</i> .....	5
3.1.3 <i>Toxizität</i> .....	7
3.1.4 <i>Rechtliche Beurteilung in Deutschland und in der EU</i> .....	8
3.2 Analytik von PAK.....	10
3.2.1 <i>Extraktion und Aufreinigung</i> .....	10
3.2.2 <i>Chromatographische Trennung und Messung</i> .....	14
3.3 PAK in Lebensmitteln.....	17
3.3.1 <i>Fleisch und Fleischerzeugnisse, Definitionen</i> .....	17
3.3.1.1 Räuchern von Fleischerzeugnissen.....	17
3.3.1.1.1 Raucherzeugungsverfahren .....	18
3.3.1.1.2 Räucherverfahren .....	20
3.3.1.1.3 Flüssigrauch .....	20
3.3.1.1.4 Rauchwürzer und Räuchersalze .....	21
3.3.1.1.5 PAK-Eintrag in Fleischerzeugnisse.....	21
3.3.2 <i>Gewürze</i> .....	25
3.3.2.1 Einteilung.....	25
3.3.2.2 Trocknungsmethoden .....	26
3.3.2.3 Extrakte.....	27
3.3.2.4 Geräucherte Gewürze – Pimentón.....	28
3.3.2.5 PAK-Eintrag in Gewürze.....	28
3.3.3 <i>Tee</i> .....	28
3.3.3.1 Herstellung.....	29
3.3.3.2 Teeähnliche Getränke .....	31

3.3.3.3	PAK-Eintrag in Tee .....	31
3.3.4	<i>Schokolade</i> .....	34
3.3.4.1	Herstellung.....	35
3.3.4.2	PAK-Eintrag in Schokolade .....	36
<b>4</b>	<b>Experimenteller Teil .....</b>	<b>38</b>
4.1	Analytische Methoden.....	38
4.1.1	<i>Grundzüge der bereits vorhandenen Analytik</i> .....	38
4.1.2	<i>Optimierung der Analysenmethode zur Bestimmung der EFSA-PAK in verschiedenen Lebensmittelgruppen</i> .....	39
4.1.2.1	Probenaufarbeitung.....	39
4.1.2.1.1	Extraktion .....	40
4.1.2.1.2	Gelpermeationschromatographie.....	42
4.1.2.1.3	Festphasenextraktion.....	43
4.1.2.2	PAK-Bestimmung mit GC/MS.....	44
4.1.2.2.1	LRMS und HRMS.....	44
4.1.2.2.2	GC/MS-Methode für die Analytik der 16 EFSA-PAK .....	47
4.1.2.2.3	Fast-GC/HRMS-Methode für die Analytik der 16 EFSA-PAK.....	50
4.1.3	<i>Teilnahme an Laborvergleichsuntersuchungen</i> .....	55
<b>5</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion.....</b>	<b>58</b>
5.1	PAK in Fleischerzeugnissen.....	58
5.1.1	<i>Anwendung der GC/MS-Methode bei geräucherten Fleischerzeugnissen</i> .....	58
5.1.2	<i>Herstellung und Analyse von Brühwurstbrät mit definierten PAK-Gehalten</i> .....	61
5.1.3	<i>Einfluss der Raucherzeugung auf die PAK-Gehalte</i> .....	62
5.1.4	<i>Beprobung von Flüssigrauchprodukten im Vergleich zu traditionell geräucherten Produkten</i> .....	65
5.1.5	<i>Vergleich von mit Glimmrauch geräucherten Produkten und Produkten, die mit einem speziellen Kaminräucherverfahren geräuchert wurden</i> .....	66
5.1.6	<i>Einfluss der äußeren Schicht auf das Eindringen von PAK ins Innere der Produkte bei unterschiedlich langer Raucheinwirkung</i> .....	69
5.1.7	<i>PAK-Gehalte in Fleischerzeugnissen mit Räucherdärmen</i> .....	71
5.1.8	<i>Eindringtiefe der PAK in ausgewählte Brühwurstzeugnisse</i> .....	72
5.1.9	<i>Bestimmung des TP/CHR-Verhältnisses</i> .....	74
5.1.10	<i>PAK-Gehalte in repräsentativen Proben von Fleischerzeugnissen</i> .....	76
5.2	PAK in Rauchwürzern und Räuchersalzen .....	80
5.3	PAK in Gewürzen .....	84
5.3.1	<i>Wassergehalt von Gewürzen</i> .....	84

5.3.2	<i>Dotierung von Gewürzen</i> .....	86
5.3.3	<i>Homogenität der PAK-Gehalte in Gewürzen</i> .....	87
5.3.4	<i>Ermittelte PAK-Gehalte in verschiedenen Gewürzen</i> .....	88
5.3.5	<i>Einfluss der Trocknung auf die PAK-Gehalte</i> .....	92
5.3.6	<i>Geräuchertes Paprikapulver - Pimentón</i> .....	94
5.3.7	<i>PAK in Paprikaextrakt</i> .....	95
5.3.8	<i>Eintrag von PAK in Fleischerzeugnisse durch Gewürze</i> .....	95
5.4	<i>PAK in Tee</i> .....	96
5.4.1	<i>Einfluss der Extraktionsmethode</i> .....	96
5.4.2	<i>Beurteilung der Probenaufarbeitung</i> .....	98
5.4.3	<i>Einfluss der GC-Methode</i> .....	99
5.4.4	<i>Validierung der Fast-GC/HRMS-Methode für Tee</i> .....	100
5.4.5	<i>Einfluss der Standard-Konzentration</i> .....	101
5.4.6	<i>PAK-Gehalte in verschiedenen Teeproben</i> .....	101
5.4.7	<i>Übergang von PAK in Tee-Aufgüsse</i> .....	107
5.5	<i>PAK in Schokolade</i> .....	109
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>113</b>
<b>7</b>	<b>Materialien</b> .....	<b>117</b>
7.1	<i>Fleischerzeugnisse</i> .....	117
7.1.1	<i>Räucherbedingungen</i> .....	117
7.2	<i>Räucherdarm</i> .....	122
7.3	<i>Rauchwürzer und Räuchersalze</i> .....	122
7.4	<i>Gewürze</i> .....	123
7.5	<i>Tee</i> .....	124
7.6	<i>Schokolade</i> .....	124
7.7	<i>Chemikalien und Hilfsmittel</i> .....	126
<b>8</b>	<b>Methoden</b> .....	<b>129</b>
8.1	<i>Probenaufarbeitung zur Bestimmung der PAK</i> .....	129
8.2	<i>Einzelne Schritte der Probenvorbereitung</i> .....	129
8.2.1	<i>Gefriertrocknung</i> .....	129
8.2.2	<i>Zerkleinerung und Homogenisierung des Probenmaterials</i> .....	130
8.2.3	<i>Herstellung von Tee-Aufgüssen</i> .....	130
8.2.4	<i>Extraktion</i> .....	130
8.2.4.1	<i>Beschleunigte Lösungsmittelextraktion (ASE)</i> .....	130
8.2.4.2	<i>Ultraschall-Extraktion</i> .....	131

---

8.2.4.3	Soxhlet-Extraktion.....	131
8.2.4.4	Flüssig-Flüssig-Extraktion (bei Tee-Aufgüssen).....	131
8.2.5	<i>Verseifung</i> .....	132
8.2.6	<i>Gelpermeationschromatographie (GPC)</i> .....	132
8.2.7	<i>Festphasenextraktion (SPE)</i> .....	133
8.2.8	<i>Vorbereitung für die GC/MS-Analyse</i> .....	133
8.3	Bestimmung der PAK-Konzentrationen .....	133
8.4	Bestimmung des Wassergehaltes von Gewürzen (Karl-Fischer-Titration).....	134
8.5	Gaschromatographische und massenspektrometrische Daten.....	134
8.6	Formeln der statistischen Auswertung .....	138
8.6.1	<i>Box-Whisker-Plot-Darstellung</i> .....	139
<b>9</b>	<b>Anhang</b> .....	<b>140</b>
<b>10</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>169</b>

**Abkürzungsverzeichnis**

1MC	1-Methylchrysen
2MC	2-Methylchrysen
3MC	3-Methylchrysen
4MC	4-Methylchrysen
5MC	5-Methylchrysen
6MC	6-Methylchrysen
Abk	Abkürzung
ACE	Acenaphthen
ACY	Acenaphthylen
AN	Anthracen
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ASE	Beschleunigte Lösungsmittlextraktion (accelerated solvent extraction)
BaA	Benzo[a]anthracen
BaP	Benzo[a]pyren
BbF	Benzo[b]fluoranthren
BbjF	Benzo[b+j]fluoranthren
BbjkF	Benzo[b+j+k]fluoranthren
BcL	Benzo[c]fluoren
BDSI	Bund der Deutschen Süßwarenindustrie
BeP	Benzo[e]pyren
BfEL	Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel
BG	Blattgewürze
BgP	Benzo[g,h,i]perylen
BjF	Benzo[j]fluoranthren
BkF	Benzo[k]fluoranthren
BPDE	BaP-7,8-diol-9,10-epoxid
CHR	Chrysen
CN/SI-OH	Cyanopropyl-modifiziertes Kieselgel
CPP	Cyclopenta[c,d]pyren
CTC	zermahlen, zerreißen, rollen (crushing, tearing, curling)
DC	Dünnschichtchromatographie
DcA	Dibenzo[a,c]anthracen
DeP	Dibenzo[a,e]pyren
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
DGF	Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaften e. V.
DhA	Dibenzo[a,h]anthracen
DhP	Dibenzo[a,h]pyren
DIN	Deutsches Institut für Normung
DiP	Dibenzo[a,i]pyren
DLB	Deutsches Lebensmittelbuch
DIP	Dibenzo[a,l]pyren
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure (deoxyribonucleic acid)
EFSA	Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (European Food Safety Authority)

EG	Europäische Gemeinschaft
EI	Elektronenstoßionisation
EPA	amerikanische Umweltbehörde (US Environmental Protection Agency)
EU	Europäische Union
FAO	Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen (Food and Agriculture Organization)
FFE	Flüssig-Flüssig-Extraktion
FID	Flammenionisationsdetektor
FL	Fluoren
FLD	Fluoreszenzdetektor
FLU	Fluoranthen
FM	Frischmasse
GC	Gaschromatographie
GPC	Gelpermeationschromatographie
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie (high performance liquid chromatography)
HRMS	hochauflösendes Massenspektrometer (high resolution mass spectrometer)
IcP	Indeno[1,2,3-cd]pyren
ID	Innendurchmesser
IJO	Internationale Jute-Organisation (International Jute Organization)
IRMM	Institut für Referenzmaterialien und –messungen (Institute for Reference Materials and Measurements)
ISO	Internationale Organisation für Normung (International Standards Organization)
IUPAC	Internationale Organisation für reine und angewandte Chemie (International Union of Pure and Applied Chemistry)
JECFA	gemeinsamer FAO/WHO-Sachverständigenausschuss für Lebensmittelzusatzstoffe (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives)
KOH	Kaliumhydroxidlösung
konst.	konstant
Konz.	Konzentration
LC	Flüssigchromatographie (liquid chromatography)
LFGB	Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch
LOD	Nachweisgrenze (limit of detection)
LOQ	Bestimmungsgrenze (limit of quantification)
LRMS	niedrig auflösendes Massenspektrometer (low resolution mass spectrometer)
M	mol/l
Max	Maximum
MC	Methylchrysen
Min	Minimum
mind.	mindestens
MP	Multiphase
MRI	Max Rubner-Institut
MS	Massenspektrometer
MSD	Quadrupol-Massenspektrometer (mass selective detector)
MG	Molekulargewicht
MW	Mittelwert
m/z	Verhältnis Masse zu Ladung
n	Anzahl

n. a.	nicht auswertbar
NA	Naphthalin
ND	nicht detektierbar
n-BG	nicht-Blattgewürze
NP	Normalphase
PAK	Polyzyklische Aromatische Kohlenwasserstoffe
PDMS	Polydimethylsiloxan
Per	Perylen
PHE	Phenanthren
ppb	Teile pro Milliarde (parts per billion)
ppt	Teile pro Billion (parts per trillion)
PTFE	Polytetrafluorethen (Teflon <sup>®</sup> )
PYR	Pyren
R	Korrelationskoeffizient
R <sup>2</sup>	Bestimmtheitsmaß
RP	Umkehrphase (reversed phase)
RSD	relative Standardabweichung (relativ standard deviation)
s	Standardabweichung
SBSE	lösungsmittelfreie Anreicherung und Extraktion mittels Rührfisch (stir bar sorptive extraction)
SCF	Wissenschaftlicher Ausschuss für Lebensmittel der EG-Kommission (Scientific Committee on Food)
SFE	überkritische Fluidextraktion (supercritical fluid extraction)
SIM	selected ion monitoring
SLMB	Schweizerisches Lebensmittelbuch
s/n	Signal-Rausch-Verhältnis (signal to noise ratio)
SPE	Festphasenextraktion (solid phase extraction)
SPME	Festphasenmikroextraktion (solid phase micro extraction)
TEF	Toxizitätsäquivalenzfaktor (toxic equivalency factor)
Temp.	Temperatur
TEQ	Toxizitätsäquivalent (toxic equivalent)
TIC	Totalionenstrom (total ion chromatogram)
TP	Triphenylen
u	atomare Masseneinheit
VE	Verdampfungseinheit
v/v	Volumen pro Volumen
Wdf.	Wiederfindung
WHO	Weltgesundheitsorganisation (World Health Organization)

**Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Bildung von PAK [HOMANN, 1983] .....	4
Abbildung 2: Metabolismen von BaP im menschlichen Organismus (BPDE, BaP-7,8-diol-9,10-epoxid) [KIM et al., 1997] .....	7
Abbildung 3: Struktur und Molekülregion von BaP (links) und DiP (rechts) .....	8
Abbildung 4: Glimmraucherzeuger (links, nach TÓTH, 1983) und Reibraucherzeuger (rechts, nach KLETTNER, 1979).....	19
Abbildung 5: Dampfraucherzeuger (links) und Fluidationsraucherzeuger (rechts) [nach KLETTNER, 1979] .....	19
Abbildung 6: Welken und Rollen in einer Teefabrik, (Quelle: Deutscher Teeverband e.V.).....	29
Abbildung 7: Fermentieren in einer Teefabrik (links) und Tee vor und nach Fermentation (rechts), (Quelle: Deutscher Teeverband e.V.).....	30
Abbildung 8: Flussschema der Schokoladenherstellung.....	36
Abbildung 9: Chromatogramm der 15 SCF-PAK (ZB-5ms), (konst. Druck), (2 BaA, 3 CPP, 4 CHR, 5 5MC, 6 BbF, 7 BkF, 8 BjF, 9 BaP, 10 IcP, 11 DhA, 12 BgP, 13 DiP, 14 DeP, 15 DiP, 16 DhP) .....	39
Abbildung 10: GPC-Fraktionierung.....	42
Abbildung 11: Linearität des MSD (Bereich 5 - 1000 µg/l) .....	45
Abbildung 12: Linearität des HRMS (VG) (Bereich 1 - 1000 µg/l) .....	45
Abbildung 13: Vergleich beider GC/MS-Systeme anhand von Bärlauchproben.....	46
Abbildung 14: Chromatogramm der 16 EFSA-PAK (VF-17ms), (konst. Fluss), (1 BcL, 2 BaA, 3 CPP, 4 CHR, 5 5MC, 6 BbF, 7 BkF, 8 BjF, 9 BaP, 10 IcP, 11 DhA, 12 BgP, 13 DiP, 14 DeP, 15 DiP, 16 DhP).....	47
Abbildung 15: 5-Methylchrysen (5MC) .....	48
Abbildung 16: Überprüfung möglicher Coelutionen mit störenden Isomeren (VF-17ms).....	49
Abbildung 17: Chromatogramm von BeP, BaP und Per.....	49
Abbildung 18: Abhängigkeit der Laufzeit der Fast-GC-Methode von der Starttemperatur .....	51
Abbildung 19: Fast-GC-Chromatogramm aller EFSA-PAK (TR-50MS), (konst. Fluss), (1 BcL, 2 BaA, 3 CPP, 4 CHR, 5 5MC, 6 BbF, 7 BkF, 8 BjF, 9 BaP, 10 IcP, 11 DhA, 12 BgP, 13 DiP, 14 DeP, 15 DiP, 16 DhP) .....	51
Abbildung 20: Einfluss der Temperaturen von Injektor, Transferline und Quelle auf das Peak-Tailing (— Injektor: 280 °C; Transferline: 280 °C; Quelle: 260 °C, --- Injektor: 320 °C; Transferline: 300 °C, Quelle: 280 °C) .....	52
Abbildung 21: Trennung der 16 EFSA-PAK von anderen Isomeren - Teil 1 .....	53
Abbildung 22: Trennung der 16 EFSA-PAK von anderen Isomeren - Teil 2.....	53

Abbildung 23: Einfluss der Säule und des Liners auf das Response-Verhalten der Dibenzpyrene	54
Abbildung 24: Verhältnisse der Dibenzpyrene während des Injektionsverlaufes.....	54
Abbildung 25: Vergleich der erzielten PAK-Daten in dotiertem Sonnenblumenöl gemessen mit LRMS (MSD) und HRMS (VG) mit den von allen teilnehmenden Laboratorien im Median ermittelten Konzentrationen.....	55
Abbildung 26: Vergleich der erzielten PAK-Daten in dotiertem Olivenöl gemessen mit LRMS (MSD) und HRMS (VG) mit den von allen teilnehmenden Laboratorien im Median ermittelten Konzentrationen.....	56
Abbildung 27: Vergleich der erzielten PAK-Daten in dotiertem Maisöl gemessen mit LRMS (MSD) und HRMS (VG) mit den von allen teilnehmenden Laboratorien im Median ermittelten Konzentrationen.....	56
Abbildung 28: Vergleich der erzielten PAK-Daten in kontaminiertem Sonnenblumenöl gemessen mit LRMS (MSD) und HRMS (VG) mit den von allen teilnehmenden Laboratorien im Median ermittelten Konzentrationen.....	57
Abbildung 29: Kaminwurzn.....	58
Abbildung 30: Elution von BaA, CHR und CPP in Kaminwurzn (VF-17ms).....	59
Abbildung 31: Chromatogramm der Massenspur m/z 302 eines Standards und einer Probe Kaminwurzn (VF-17ms).....	60
Abbildung 32: Chromatogramm der 16 EFSA-PAK (VF-17ms), (konst. Druck), (1 BcL, 2 BaA, 3 CPP, 4 CHR, 5 5MC, 6 BbF, 7 BkF, 8 BjF, 9 BaP, 10 IcP, 11 DhA, 12 BgP, 13 DIP, 14 DeP, 15 DiP, 16 DhP).....	60
Abbildung 33: Vollkonserve von Brühwurst, hergestellt mit definierten PAK-Gehalten .....	61
Abbildung 34: PAK-Abhängigkeit von der Räuchermethode (* < LOQ, ** < LOD), (CHR entspricht der Summe aus CHR und TP).....	63
Abbildung 35: Kochschinken, unterschiedlich mit Rauch behandelt (gelb, grün, blau, rot-weiß, grau, v.l.n.r., siehe Punkt 7.1.1 Räucherbedingungen (Tabelle 27)).....	65
Abbildung 36: Glimmraucherzeuger (links) und Feuerstätte für die Raucherzeugung beim Kaminräucherverfahren (rechts) .....	67
Abbildung 37: Unterschied der PAK-Gehalte zwischen der Discounter- und der Originalware (Markenware), (CHR entspricht der Summe aus CHR und TP).....	67
Abbildung 38: Räucherammer des Kaminräucherverfahrens vor der Reinigung (links) und nach der Reinigung (rechts).....	68
Abbildung 39: Farbliche Unterschiede der Brühwurstproben bei unterschiedlichen Räucherzeiten (mit Saitling links, mit Schäldarm rechts).....	70
Abbildung 40: PAK <sub>ges</sub> -Gehalte abhängig von der Räucherzeit (1 x 10 min und 4 x 10 min) und der äußeren Schicht (n = 4).....	70
Abbildung 41: Würste behandelt mit Dampfrauch, Glimmrauch, Räucherdarm (v. o.).....	72

Abbildung 42: Ausgestochene Wurstringe .....	73
Abbildung 43: Chromatographische Trennung von BaA, CPP, TP und CHR, (VF-Xms) .....	74
Abbildung 44: Trennung der Benzofluoranthene (BbF, BkF, BjF), (VF-Xms).....	76
Abbildung 45: PAK-Gehalte in Salami (n = 25), (CHR entspricht der Summe aus CHR und TP). 77	
Abbildung 46: PAK-Gehalte in Wienern (n = 23), (CHR entspricht der Summe aus CHR und TP) .....	77
Abbildung 47: Linearer Zusammenhang zwischen BaP- und PAK <sub>ges</sub> -Konz. in Salami (n = 25)....	79
Abbildung 48: Häufigkeiten der BaP- und PAK <sub>ges</sub> -Gehalte in allen repräsentativen Proben (Salami, Wiener Würstchen) .....	79
Abbildung 49: Ausgewählte Räuchermittel .....	80
Abbildung 50: BaP-Gehalte [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ] in Raucharomen, Räuchersalzen (Rauchsalzen), Rauchwürzern .....	81
Abbildung 51: Linearer Zusammenhang zwischen BaP- und PAK <sub>ges</sub> -Konz. in Räuchermitteln (n = 32).....	82
Abbildung 52: Häufigkeiten der BaP- und PAK <sub>ges</sub> -Gehalte in Räuchermitteln .....	83
Abbildung 53: %uale PAK-Verteilung am PAK <sub>ges</sub> -Gehalt in ausgewählten Räuchersalzen .....	83
Abbildung 54: Linearer Zusammenhang zwischen BaP- und PAK <sub>ges</sub> -Konz. in Ingwerproben (n = 14).....	87
Abbildung 55: Häufigkeiten der PAK <sub>ges</sub> -Gehalte in Paprikaproben (rote Linie stellt Gauss(Normalverteilungs)kurve dar).....	88
Abbildung 56: Häufigkeiten der BaP-Gehalte in Blattgewürzen (n = 29) und nicht-Blattgewürzen (n = 27).....	90
Abbildung 57: Häufigkeiten der BaP- und PAK <sub>ges</sub> -Gehalte in Blattgewürzen .....	91
Abbildung 58: Vergleich unterschiedlicher Trocknungsmethoden im Hinblick auf die BaP-Gehalte von frischem und getrocknetem Material bezogen auf die Trockenmasse (* entspricht dem frischen Material).....	93
Abbildung 59: BaP [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ] in Paprika (-pulver) und geräuchertem Paprikapulver .....	94
Abbildung 60: PAK-Extraktionseffizienz verschiedener Methoden (Bezugssystem Verseifung) ..	97
Abbildung 61: TIC-Chromatogramm der Probe Grüner Tee nach Untergrund-Korrektur .....	98
Abbildung 62: BaP-Gehalte in Mate-Tees (n = 8), Grünen Tees (n = 11), Schwarztees (n = 21), Weißen Tees (n = 3) und sonstigen Tees (n = 8) .....	102
Abbildung 63: Linearer Zusammenhang zwischen BaP- und PAK <sub>ges</sub> -Konz. in Tee (n = 51) .....	103
Abbildung 64: Häufigkeiten der BaP- und PAK <sub>ges</sub> -Gehalte in Grünem Tee (n = 11).....	104
Abbildung 65: Häufigkeiten der BaP- und PAK <sub>ges</sub> -Gehalte in Schwarztee (n = 21) .....	104
Abbildung 66: Linearer Zusammenhang zwischen BaP- und DIP-Konz. in Tee (n = 51).....	104
Abbildung 67: PAK-Verteilung (in %) in verschiedenen Teesorten .....	105
Abbildung 68: PAK-Verteilung (in %) in Grünem Tee .....	106

---

Abbildung 69: Chromatogramm einzelner Massenspuren der Probenmatrix Kakaobutter .....	110
Abbildung 70: Häufigkeiten der BaP- und PAK <sub>ges</sub> -Gehalte in Schokolade.....	111
Abbildung 71: Linearer Zusammenhang zwischen BaP- und PAK <sub>ges</sub> -Konz. in Schokoladen (n = 40) .....	112
Abbildung 72: %tualer Anteil einzelner PAK am PAK <sub>ges</sub> -Gehalt (PAK-Profile).....	112
Abbildung 73: Methodenübersicht (* bei nicht getrockneten Kräutern und Gewürzen) .....	129

**Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: 15 SCF-PAK, 16 EPA-PAK und 1 JECFA-PAK .....	5
Tabelle 2: Anteil ätherischer Öle und Trocknungsbedingungen ausgewählter Gewürze .....	26
Tabelle 3: Literaturangaben zu PAK-Gehalten in Tee - 1 .....	32
Tabelle 4: Literaturangaben zu PAK-Gehalten in Tee - 2 .....	33
Tabelle 5: Vergleich von ASE und Verseifung in der PAK-Analytik von Fleischerzeugnissen [µg/kg].....	41
Tabelle 6: Vergleich von ASE und Verseifung in der PAK-Analytik von Gewürzen [µg/kg].....	41
Tabelle 7: Wiederfindung SPE [%].....	44
Tabelle 8: PAK-Gehalte in gespiktem Öl und in mit diesem Öl hergestellten Brühwürsten.....	62
Tabelle 9: PAK-Gehalte in unterschiedlich geräucherten Fleischerzeugnissen [µg/kg], (n = 5).....	63
Tabelle 10: Verhältnisse der einzelnen PAK bezogen auf die Leitsubstanz BaP .....	64
Tabelle 11: Vergleich der PAK-Gehalte von Brühwürsten, die in einer sauberen und in einer verschmutzten Kammer geräuchert wurden und zwei willkürlich gezogener Proben.....	69
Tabelle 12: PAK-Gehalte in mit Flüssigrauch imprägnierten Wursthüllen [µg/kg], (n = 3).....	71
Tabelle 13: PAK-Gehalte in den verschiedenen Ringen, (n = 3).....	73
Tabelle 14: Verhältnisse TP/CHR.....	75
Tabelle 15: Mediane der Verhältnisse einzelner PAK zueinander.....	78
Tabelle 16: Mediane der PAK-Gehalte in Raucharomen, Räuchersalzen und Rauchwürzern .....	81
Tabelle 17: Wassergehalte (%) frischer und anschließend gefriergetrockneter und vom Landwirt getrockneter Gewürze .....	85
Tabelle 18: Wassergehalte (%) ausgewählter Gewürze verschiedener Herkunft .....	85
Tabelle 19: Mittelwerte, Standardabweichungen und Wiederfindungen von dotierten Paprikaproben .....	86
Tabelle 20: PAK-Mediane in Gewürzen [µg/kg].....	89
Tabelle 21: PAK-Konzentrationen bestimmt mittels GC/HRMS und Fast-GC/HRMS [µg/kg] .....	99
Tabelle 22: Validierungsparameter der Fast-GC/HRMS-Methode für Tee.....	100
Tabelle 23: PAK-Übergang von Tee in Teeaufgüsse.....	108
Tabelle 24: Ergebnisse der PAK-Untersuchungen in Schokolade, (n = 40).....	110
Tabelle 25: Bedingungen der Heißräucherung (Holz: Buche).....	117
Tabelle 26: Prozessparameter der Räuchermethoden .....	117
Tabelle 27: Räuchermethoden für die Herstellung der einzelnen Fleischerzeugnisse der Fachhochschule Lippe und Höxter.....	118
Tabelle 28: Prozessparameter für die Herstellung der einzelnen Fleischerzeugnisse der Fachhochschule Lippe und Höxter - Mettenden .....	119

Tabelle 29: Prozessparameter für die Herstellung der einzelnen Fleischerzeugnisse der Fachhochschule Lippe und Höxter - Bauch .....	119
Tabelle 30: Prozessparameter für die Herstellung der einzelnen Fleischerzeugnisse der Fachhochschule Lippe und Höxter - Brühwürste.....	120
Tabelle 31: Prozessparameter für die Herstellung der einzelnen Fleischerzeugnisse der Fachhochschule Lippe und Höxter - Kochschinken .....	121
Tabelle 32: Bezeichnung, Zutaten und Dosierempfehlung untersuchter Räuchermittel (n = 32)..	122
Tabelle 33: Auswahlkriterien der Gewürz-Proben für PAK-Untersuchungen zum Einfluss der Trocknung.....	124
Tabelle 34: Gezogene Schokoladenproben, (n = 40).....	125
Tabelle 35: Chemikalien .....	126
Tabelle 36: Lösungsmittel.....	126
Tabelle 37: Gase.....	126
Tabelle 38: PAK-Standards .....	127
Tabelle 39: Materialien und Hilfsmittel.....	128
Tabelle 40: GC/HRMS-Parameter für die Quantifizierung von PAK (ursprüngliche Methode)...	134
Tabelle 41: GC/HRMS-Parameter für die Quantifizierung der 16 EFSA-PAK .....	135
Tabelle 42: GC/LRMS-Parameter für die Quantifizierung der 16 EFSA-PAK.....	135
Tabelle 43: Fast-GC/HRMS-Parameter für die Quantifizierung der 16 EFSA-PAK .....	135
Tabelle 44: GC/MS-Parameter für die Trennung von Triphenylen und Chrysen.....	136
Tabelle 45: Massen für die Quantifizierung von PAK mittels GC/MS .....	136
Tabelle 46: Massen für die PAK-Wiederfindung (GC/MS) .....	136
Tabelle 47: Verhältnis Qualifizierung zu Quantifizierung .....	137

## 1 Einleitung

Polyzyklische Aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) sind eine Gruppe organischer Verbindungen, die zwei oder mehr kondensierte aromatische Kohlenstoffringe enthalten. Sie werden hauptsächlich bei pyrolytischen Prozessen, insbesondere bei der unvollständigen Verbrennung organischen Materials gebildet. Somit können sie als Umweltbelastung in Lebensmittel gelangen. Darüber hinaus können Lebensmittel mit PAK aber auch in Folge von technologischen Verfahren wie Trocknen und Räuchern belastet werden.

Von den PAK weisen einige Krebs auslösende Eigenschaften auf. Die bekannteste karzinogene PAK-Verbindung ist das Benzo[a]pyren (BaP), welches bislang als Leitsubstanz für die PAK-Belastung bei Lebensmitteln verwendet wird. Neben der bisherigen Leitsubstanz BaP wurden in der Vergangenheit auch die anderen EPA-PAK (Naphthalin, Acenaphthylen, Acenaphthen, Fluoren, Phenanthren, Anthracen, Fluoranthen, Pyren, Benzo[a]anthracen, Chrysen, Benzo[b]fluoranthen, Benzo[k]fluoranthen, Dibenzo[a,h]anthracen, Indeno[1,2,3-cd]pyren, Benzo[g,h,i]perylene) bestimmt, die in den 70er Jahren von der amerikanischen Umweltbehörde (EPA) als am häufigsten in der Umwelt vorkommenden PAK-Verbindungen identifiziert worden waren [EPA, 1982].

Mittlerweile bestehen Zweifel, ob Benzo[a]pyren als alleinige Leitsubstanz geeignet ist, um die Belastung von Lebensmitteln mit PAK richtig einschätzen zu können. Aus diesem Grund empfiehlt die EU-Kommission den einzelnen EU-Mitgliedsstaaten, die Untersuchung auf die so genannten 15 SCF-PAK auszudehnen [2005/108/EG]. Diese PAK-Verbindungen wurden vom Wissenschaftlichen Ausschuss für Lebensmittel (SCF) als karzinogen eingestuft [SCF, 2002].

Diese neue Liste des SCF unterscheidet sich deutlich von der Liste der EPA. Einerseits fehlen die leichten PAK mit zwei (Naphthalin) und drei aromatischen Ringen (Acenaphthylen, Acenaphthen, Fluoren, Phenanthren und Anthracen) und die PAK-Verbindungen Fluoranthen und Pyren, für die bislang keine bzw. nur sehr geringe Hinweise auf kanzerogene Eigenschaften vorliegen. Andererseits kommen die Verbindungen Cyclopenta(c,d)pyren und 5-Methylchrysen sowie vier Dibenzpyrene (Dibenzo[a,e]pyren, Dibenzo[a,h]pyren, Dibenzo[a,i]pyren und Dibenzo[a,l]pyren) hinzu, wobei insbesondere das Dibenzo[a,l]pyren in jüngster Zeit im Fokus des Interesses steht, da toxikologische Untersuchungen darauf hinweisen, dass Dibenzo[a,l]pyren ein deutlich stärker ausgeprägtes kanzerogenes Potential aufweisen könnte als Benzo[a]pyren [HIGGINBOTHAM et al., 1993; SCHÖBER et al., 2006].

Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) empfiehlt zudem, das vom gemeinsamen FAO/WHO-Sachverständigenausschuss für Lebensmittelzusatzstoffe (JECFA) als besonders relevant eingeschätzte Benzo[c]fluoren (BcL) analytisch zu erfassen.

Da es sich bei einigen PAK um genotoxische Kanzerogene handelt, für die kein Schwellenwert angenommen werden kann, sollte nach Auffassung des SCF der PAK-Gehalt in Lebensmitteln [SCF, 2002] so weit wie technologisch erreichbar gesenkt werden.

Daher ist eine exakte, empfindliche Analysenmethode zur Bestimmung der Gehalte der 16 EFSA-PAK (15 SCF-PAK + 1 JECFA-PAK) in Lebensmitteln notwendig, um auch sehr geringe Mengen an diesen PAK-Verbindungen zuverlässig quantifizieren zu können.

## 2 Ziel der Arbeit

Benzo[a]pyren wurde in Deutschland seit der Verordnung zur Änderung der Fleischverordnung vom 23. März 1973 und auf europäischer Ebene seit der Verordnung (EG) Nr. 208/2005 vom 4. Februar 2005 als Leitsubstanz herangezogen, um Auftreten und Wirkung karzinogener PAK in Lebensmitteln zu erfassen. Ob das BaP als alleinige Leitsubstanz geeignet ist, ist nicht bewiesen.

- Zur Überprüfung der Anwendbarkeit von BaP als Leitsubstanz bzw. als Marker ist es notwendig, Erkenntnisse über das Verhältnis des Gehaltes an BaP zum PAK<sub>ges</sub>-Gehalt sowie die einzelnen PAK-Profile zu gewinnen.
- Dafür ist eine exakte, empfindliche Analysenmethode erforderlich.
- Diese Analysenmethode soll für mehrere Lebensmittelgruppen, eventuell auch durch geringfügige Variationen einzelner Schritte der Probenvorbereitung, anwendbar sein.
- Entscheidend ist hierbei die Erarbeitung einer Analysenmethode mit genügender Selektivität, um die einzelnen EFSA-PAK mit ausreichender Sicherheit quantifizieren zu können.
- Dies sollte mit Validierungsverfahren bestätigt werden. Für die Routineanalytik ist ein weiterer kritischer Parameter die Analysenzeit. Auch diese sollte innerhalb der vorliegenden Arbeit optimiert werden.
- Nach der Entwicklung von Methoden zur Bestimmung der EFSA-PAK und der anschließenden Analytik einer Anzahl repräsentativer Proben verschiedener Lebensmittelgruppen sollen eine Sammlung von Daten zu Gehalten der 16 EFSA-PAK und die gleichzeitige Beurteilung von BaP als Leitsubstanz erfolgen. Die Lebensmittelgruppen werden eingeschränkt auf Fleischerzeugnisse, Rauchwürster und Räuchersalze, Räucherdärme, Gewürze, Tee und Schokolade.
- Durch Versuche zur Abhängigkeit der PAK-Gehalte sowie der PAK-Profile von verschiedenen Prozessparametern, z. B. dem Räuchern in der Produktion von Fleischerzeugnissen, können Aussagen im Bereich dieser Produkte über die Einhaltung der zur Zeit gültigen BaP-Höchstgehalte getroffen werden.
- Durch Ergebnisse zum Gehalt und der Verteilung der PAK in Lebensmittelgruppen, bei denen es noch keine oder nur wenige Daten gibt, kann die aktuelle Belastungssituation dieser Lebensmittel sowie deren Eintrag in andere Lebensmittel näher diskutiert werden.



Von dem entstandenen Naphthalinradikal kann sich durch Kettenverlängerungs-, Umlagerungs- und Zyklisierungsreaktionen eine Vielzahl möglicher weiterer PAK-Verbindungen bilden.

Durch Depositionsprozesse können PAK in Böden gelangen. Dort befinden sich überwiegend PAK mit mindestens vier kondensierten Ringsystemen [MEANS et al., 1980]. PAK mit weniger Ringen gehen durch ihre höheren Dampfdrücke wieder in die Gasphase über und werden weiter transportiert. Für die Halbwertszeiten von PAK in Böden liegen unterschiedliche Daten vor. In Böden beträgt die mittlere Halbwertszeit, in Abhängigkeit von den Mikroorganismen und Kohlenstoffgehalten, 2 bis 700 Tage [FELLENBERG, 1992; NAM et al., 1998].

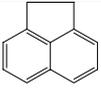
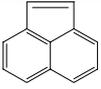
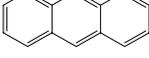
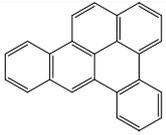
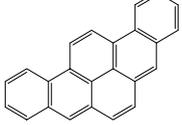
Die Akkumulation von PAK in Lebensmitteln aquatischen Ursprungs, infolge von Depositionsprozessen in die Hydrosphäre, findet unterschiedlich statt. Nicht von Lebewesen aufgenommene PAK reichern sich in Sedimenten an [MEANS, 1998].

### 3.1.2 Struktur

Zu den PAK zählen etwa 660 verschiedene Substanzen, die sich durch mindestens zwei oder mehr kondensierte aromatische Kohlenstoffringe auszeichnen [SANDERS und WISE, 1997]. Die meisten PAK weisen einen weitgehend planaren Molekülbau und ein ausgedehntes  $\pi$ -Elektronensystem auf. Sie besitzen zudem lipophile Eigenschaften und sind schwer abbaubar.

Die Tabelle 1 zeigt die PAK, die von der amerikanischen Umweltbehörde (EPA), vom Wissenschaftlichen Ausschuss für Lebensmittel (SCF) und vom gemeinsamen FAO/WHO-Sachverständigenausschuss für Lebensmittelzusatzstoffe (JECFA) als prioritär eingestuft wurden.

**Tabelle 1: 15 SCF-PAK, 16 EPA-PAK und 1 JECFA-PAK**

Name (Abk)	Struktur	MG [g/mol]	
Acenaphthen (ACE)		154	EPA
Acenaphthylen (ACY)		152	EPA
Anthracen (AN)		178	EPA
Dibenzo- [a,e]pyren (DeP)		302	SCF
Dibenzo- [a,h]pyren (DhP)		302	SCF
Dibenzo- [a,i]pyren (DiP)		302	SCF

Benzo[a]-anthracen (BaA)		228	EPA SCF	Dibenzo-[a,l]pyren (DIP)		302	SCF
Benzo[a]pyren (BaP)		252	EPA SCF	Dibenzo[a,h]-anthracen (DhA)		278	EPA SCF
Benzo[b]-fluoranthen (BbF)		252	EPA SCF	Fluoranthen (FLU)		202	EPA
Benzo[g,h,i]-perylen (BgP)		276	EPA SCF	Fluoren (FL)		166	EPA
Benzo[j]-fluoranthen (BjF)		252	SCF	Indeno[1,2,3-cd]pyren (IcP)		276	EPA SCF
Benzo[k]-fluoranthen (BkF)		252	EPA SCF	5-Methylchrysen (5MC)		242	SCF
Benzo[c]-fluoren (BcL)		216	JECFA	Naphthalin (NA)		128	EPA
Chrysen (CHR)		228	EPA SCF	Phenanthren (PHE)		178	EPA
Cyclopenta-[c,d]pyren (CPP)		226	SCF	Pyren (PYR)		202	EPA

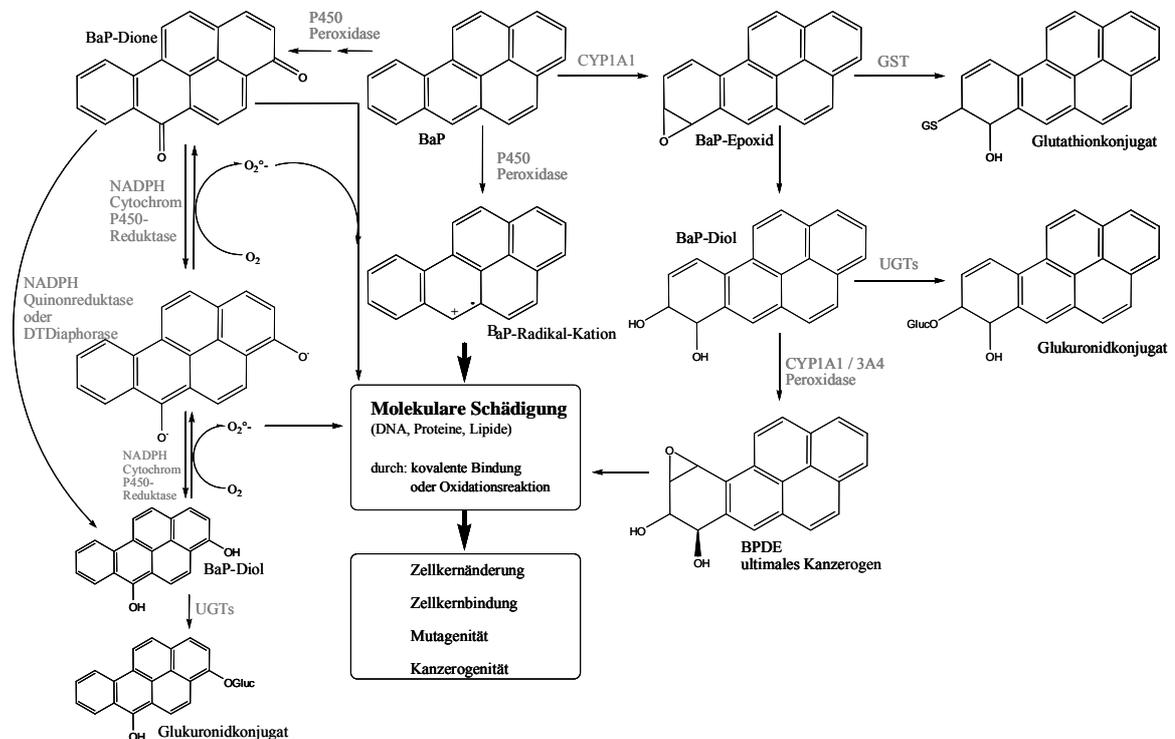
Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) empfiehlt die 16 EFSA-PAK (15 SCF-PAK + 1 JECFA-PAK) analytisch zu erfassen. Diese 16 EFSA-PAK überschneiden sich zur Hälfte mit den 16 EPA-PAK, die von der EPA in die „Priority Pollutant List“ aufgenommen wurden, da sie auf Grund ihrer Häufigkeit und Toxizität als bedeutende Vertreter der Substanzklasse PAK eingeordnet wurden [EPA, 1982].

In der Tabelle sind die zahlreichen Isomere der 16 EFSA-PAK nicht aufgeführt, die aber dennoch chromatographisch von den anderen getrennt werden müssen. Einige nennenswerte Vertreter sind das Triphenylen (TP), die Methylchrysene (MC), Benzo[a]fluoranthen (BaF), Benzo[e]pyren (BeP), Perylen (Per) und Dibenzo[a,c]anthracen (DcA).

### 3.1.3 Toxizität

Die akute Toxizität der PAK ist gering. Sie weisen allerdings kanzerogene Eigenschaften auf, besonders PAK mit 4 - 7 Ringen [GRIMMER, 1983].

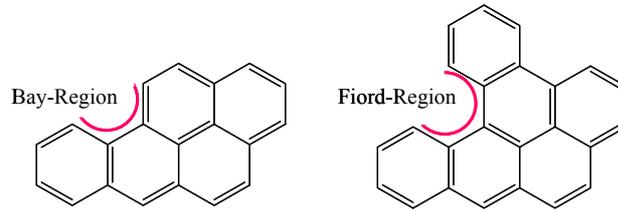
Für eine renale bzw. biliäre Ausscheidung von PAK aus dem Organismus ist eine Derivatisierung erforderlich. Im Organismus erfolgt zunächst eine Epoxidierung durch Cytochrom P450 abhängige Monoxygenasen. Davon ausgehend können in einer durch Epoxidhydrolase katalysierten Reaktion trans-Dihydrodiol gebildet werden. Eine Bindung an geladene Gruppen wie z. B. Sulfatreste ermöglicht durch die gesteigerte Hydrophilie eine Ausscheidung im wässrigen Milieu. Es kann jedoch auch zu einer anderen Sekundärfunktionalisierung kommen.



**Abbildung 2: Metabolismen von BaP im menschlichen Organismus (BPDE, BaP-7,8-diol-9,10-epoxid), [KIM et al., 1997]**

Kim et al. (1997) stellten einige Mechanismen der BaP-Toxizität im Körper in ihren Arbeiten dar (Abbildung 2). Einer dieser Mechanismen einer Sekundärfunktionalisierung wird im Folgenden für PAK allgemein näher beschrieben. Durch sekundäre Epoxidierung an der zur Diolgruppe benachbarten olefinischen Doppelbindung können trans-Diolepoxide entstehen. Dies betrifft Substanzen, die eine so genannte Bay- oder Fjord-Region besitzen (Abbildung 3). Die trans-Diolepoxide gelten auf Grund ihrer elektrophilen Reaktivität als ultimale Kanzerogene. Die Vorstufe, die trans-Diole, werden als proximale Kanzerogene bezeichnet. Die Diolepoxide können

kovalente Bindungen mit der DNA eingehen. Die dabei entstehenden persistenten bzw. instabilen Addukte führen in der nachfolgenden Replikation zu einer fehlerhaften Komplementierung. Es folgen somatische Mutationen [DFG-FORSCHUNGSBERICHT, 2004].



**Abbildung 3: Struktur und Molekülregion von BaP (links) und DIP (rechts)**

Da sich der Anteil der bisher eingesetzten Leitkomponente BaP hinsichtlich des kanzerogenen Potentials als matrixabhängig erweist, wurde vorgeschlagen, für die Risikobewertung einen Summenparameter unter Anwendung von PAK-Toxizitätsäquivalenten (PAK-TEQ) zu verwenden. Der PAK-TEQ stellt dabei den Summenwert dar, der sich aus der Multiplikation der Konzentrationen verschiedener PAK mit den jeweiligen Toxizitätsäquivalenzfaktoren (TEF) errechnet, der die relative Toxizität dieses Kongeners im Vergleich zu BaP angibt. In der Literatur wurden bisher verschiedene Angaben für diese TEF einzelner PAK beschrieben [EPA, 1984; CHU und CHEN, 1984; CLEMENT, 1988; THORSLUND und FARRER, 1991; NISBET und LACOY, 1992; MÜLLER et al., 1995; COLLINS et al., 1998; TRAAG et al., 2001]. Die Anwendung dieser Kanzerogenitäts-Äquivalenzfaktoren hat sich jedoch nicht durchgesetzt, da bislang unbekannte, möglicherweise krebserregende PAK nicht einbezogen werden und ein einheitlicher Mechanismus aller PAK im Körper nicht abgesichert ist.

CULP et al. zeigten 1998, dass ein Gemisch mehrerer PAK in Steinkohleteer Tumore in anderen Geweben und Organen verursacht als die einzelne Substanz BaP. Aus diesen Gründen spricht sich u. a. auch die SCF gegen die Verwendung von TEF zur Risikobewertung von PAK in Lebensmittel aus [SCF, 2002].

### 3.1.4 Rechtliche Beurteilung in Deutschland und in der EU

Die bekannteste kanzerogene PAK-Verbindung ist das Benzo[a]pyren (BaP), welches bislang als Leitsubstanz verwendet wird. Für BaP sieht die Europäische Union Höchstgehalte in verschiedenen Lebensmittelgruppen vor [1881/2006/EG]. Darüber hinaus empfiehlt die Kommission eine genauere Ermittlung der Mengen von 15 als prioritär eingestuften PAK-Verbindungen, um die Eignung von Benzo[a]pyren als Marker für die verschiedenen Lebensmittelgruppen überprüfen zu können [2005/108/EG]. Zu diesen PAK zählen BaA, CPP, CHR, 5MC, BbF, BjF, BkF, BaP, IcP,

DhA, BgP, DIP, DeP, DiP und DhP (15 SCF-PAK, siehe Tabelle 1). Von großer Bedeutung ist insbesondere das Dibenzo[a,l]pyren (DIP), das in jüngster Zeit im Fokus des Interesses steht. Toxikologische Untersuchungen weisen darauf hin, dass DIP ein höheres kanzerogenes Potential besitzen könnte als Benzo[a]pyren [HIGGINBOTHAM et al., 1993; MÜLLER et al., 1995; McCLURE und SCHOENY, 1995; SCHOBER et al., 2006]. Die EFSA empfiehlt zudem, das vom JECFA als besonders relevant eingeschätzte BcL analytisch zu erfassen [JECFA/64/SC]. Die 15 SCF-PAK und das BcL werden im Folgenden als EFSA-PAK bezeichnet.

Vor April 2005 regelte die Aromenverordnung die Gehalte an Benzo[a]pyren in geräucherten Fleischerzeugnissen. Bis zu diesem Zeitpunkt durfte in mit frischem Rauch geräucherten Fleischerzeugnissen bis zu 1 µg BaP/kg Frischmasse (FM) (§ 3, Abs. 3) enthalten sein. Des Weiteren durfte die durch Raucharomen zugeführte BaP-Menge in geräucherten Fleischerzeugnissen einen Wert von 0,03 µg BaP/kg FM (§ 2, Abs. 4) nicht überschreiten.

Nach der Verordnung (EG) Nr. 208/2005 vom 4. Februar 2005 galt unter anderem für geräuchertes Fleisch und Fleischerzeugnisse ein Höchstgehalt für das Benzo[a]pyren von 5 µg/kg FM. Dieser Höchstgehalt ist jetzt Teil der Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 der Kommission vom 19. Dezember 2006 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln. Gegenüber der alten Regelung der Aromenverordnung bedeutet dies für mit frisch entwickeltem Rauch geräucherte Fleischerzeugnisse eine Erhöhung um den Faktor 5; für mit Raucharomen behandelte Erzeugnisse sogar eine Erhöhung um einen Faktor von ca. 167.

Seit dem 16. Juni 2005 ist zudem keine Ausnahmegenehmigung für die Anwendung von Raucharomen bei Fleischerzeugnissen mehr erforderlich. Die entsprechenden Primärrauchkondensate, aus denen die jeweiligen Raucharomen hergestellt werden, bedürfen jedoch einer Zulassung. Für diese Primärrauchkondensate existieren Höchstgehalte für Benzo[a]pyren (10 µg/kg) und Benzo[a]anthracen (20 µg/kg) [2065/2003/EG].

Zusätzlich ist seit dem 2. Mai 2006 die Neufassung der nationalen Aromenverordnung in Kraft, welche festlegt, dass nach § 2, Abs. 4 nicht mehr nur noch Fleisch und Fleischerzeugnisse, sondern alle Lebensmittel gewerbsmäßig nicht in den Verkehr gebracht werden dürfen, denen durch Aromen mehr als 0,03 µg BaP/kg zugeführt wurden [AROMENVERORDNUNG].

## 3.2 Analytik von PAK

PAK kommen in Lebensmitteln in Konzentrationsbereichen von  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (ppb) bzw.  $\text{ng}/\text{kg}$  (ppt) vor. Deshalb müssen die PAK nach der Extraktion angereichert und von störenden Substanzen abgetrennt werden.

### 3.2.1 Extraktion und Aufreinigung

Die Effizienz der Extraktion ist abhängig von der Matrix, der Vorbereitung der Probe und der Polarität des Lösungsmittels. Die lipophilen PAK zeigen die Tendenz nicht nur in unpolare Probenbestandteile, sondern auch in Zellgewebe in Abhängigkeit von einem Konzentrationsgradienten zu diffundieren [SIMKO, 2002]. Deshalb reicht eine einfache Extraktion von Lebensmitteln mit Lösungsmitteln, wie zum Beispiel mit Methanol und Cyclohexan [TÓTH, 1970] meist nicht aus. Grimmer und Böhnke (1975) zeigten, dass eine alkalische Hydrolyse der Probe im Gegensatz zur Extraktion mit kochendem Methanol für eine vollständige PAK-Extraktion effektiver ist. Seitdem wird vielfach die alkalische Verseifung sowohl bei fetthaltigen, tierischen Lebensmitteln [FRETHEIM, 1976; BINNEMANN 1979; LARSSON, 1982; SIMKO et al., 1993a; MOTTIER et al., 2000] als auch bei pflanzlichen Lebensmitteln [SPEER et al., 1990; PFANNHAUSER, 1991; MEUDEC et al., 2006] verwendet.

Auf Grund von Erkenntnissen über die Zerstörung von BaP während der alkalischen Hydrolyse durch verschiedene Einflüsse, wie z. B. Licht, wird der Einsatz getönter Glasgeräte und ein Ausspülen der Gefäße mit Aceton vor der Benutzung empfohlen [KARL und LEINEMANN, 1996].

Pothast und Eigner (1975) entwickelten eine Extraktionsmethode, bei der Chloroform und ein Gemisch aus Natriumsulfat und Celite verwendet werden. Nach dem Verreiben der Probe mit diesen Substanzen wird das Gemisch im Vakuumtrockenschrank getrocknet und im Anschluss in eine Glassäule übergeführt. Danach werden die PAK mit Propylencarbonat eluiert. Das erhaltene Eluat wird anschließend verseift. Diese Probenaufarbeitung konnte erfolgreich sowohl für Fleischerzeugnisse als auch für Gewürze eingesetzt werden. Die Verwendung von Propylencarbonat mit anschließender Verseifung wurde auch von anderen Autoren dokumentiert [PFANNHAUSER, 1991].

Die bisher veröffentlichte Literatur umfasst eine Vielzahl an Lösungsmitteln für die Extraktion. Joe et al. (1984) hatten geräucherte Lebensmittel mit KOH versetzt und im Anschluss die PAK mit 1,1,2-trichloro-trifluoroethan („Freon 113“) extrahiert. Cejpek et al. (1995) testeten die Effizienz organischer Lösungsmittel im Hinblick auf ihre Fettextraktion und beschrieben ein Gemisch von Chloroform und Methanol im Verhältnis 2:1 („Folch Agent“) als am besten geeignet. Die

Verbesserung der Wasserlöslichkeit der PAK durch Zugabe von Koffein-Ameisensäure nutzten andere Autoren für die PAK-Analytik in Ölen, Fetten, Fisch und Fleischerzeugnissen, sowie zusätzlich Butter und Margarine [KOLAROVIC und TRAITLER, 1982; GERTZ, 1978; HEDDEGHEM et al., 1980]. Dieses Verfahren wurde bereits im Jahre 1938 von Brock publiziert [SPEER, 1994]. Die Arbeiten von Fontcuberta et al. (2006) beschrieben eine Extraktion von PAK aus Tee mit Dichlormethan.

Moret et al. (1999) berichteten in ihren Arbeiten über eine erfolgreiche Kaltextraktion von PAK aus Fischmatrix mit angesäuertem Chloroform. Chen et al. verglichen 1996 die Effizienz der Extraktion mit Ultraschall und Soxhlet bei gefriergetrocknetem Probenmaterial. Die Ergebnisse belegten, dass eine Soxhletextraktion besser geeignet ist.

Garcia-Falcon et al. (2000) beschleunigten die Extraktion gefriergetrockneter fetthaltiger Proben in n-Hexan mit Mikrowellen und verseiften den Extrakt mit methanolischer KOH.

Um auf eine Verseifung zu verzichten und dennoch die Lipide zu entfernen, nutzten Wang et al. (1999) den Zusatz von 9 M Schwefelsäure, um die Lipide zu zerstören und im Folgenden die PAK mit einem geeigneten Lösungsmittel zu extrahieren. Der Einsatz von konzentrierter Schwefelsäure führte zum Verlust einiger PAK.

Außerdem wurde für die Extraktion der PAK aus verschiedenen Lebensmittelgruppen wie Fisch, Tee und Fleisch, vielfach auch die superkritische Flüssigextraktion (SFE) eingesetzt [JÄRVENPÄÄ et al., 1996; SCHLEMITZ und PFANNHAUSER, 1997; ALI und COLE, 2001].

Eine immer mehr an Bedeutung gewinnende Extraktionstechnik für verschiedene Probenmatrizes ist die druckunterstützte Extraktion. Sie wurde unter anderem eingesetzt bei Fleischerzeugnissen [JIRA, 2004; LOUFTY et al., 2007] und pflanzlichen Matrizes wie Reis [TAO et al., 2006]. Bereits 1999 zeigten Wang et al., dass eine druckunterstützte Extraktion (ASE) vergleichbare Ausbeuten oder bessere Ausbeuten als die Soxhlet-Extraktion liefert und wesentlich kostengünstiger, lösungsmittelreduzierend, zeitsparender und automatisierbar ist. Ein von Saim et al. (1997) durchgeführter Vergleich von Soxhlet-Extraktion, druck- und mikrowellenunterstützter Extraktion sowie der superkritischen Flüssigextraktion von Bodenproben zeigte, dass die PAK-Wiederfindungen nach durchgeführter Soxhlet-Extraktion am größten waren.

Mit Hilfe des Zusatzes von Festphasenmaterial, wie z. B. Florisil, in die Extraktionszelle der ASE kann eine selektive Extraktion durchgeführt und damit auf einen Reinigungsschritt verzichtet werden [VEYRAND et al., 2007].

Bei flüssigen Medien wie Wasser, Aufgüssen von Tee und Ölen reicht meist eine Flüssig-Flüssig-Extraktion aus [BISHNOI et al., 2005; DILETTI et al., 2005]. Teilweise kann hier zusätzlich eine ultraschallunterstützte Extraktion eingesetzt werden, wie z. B. bei Tee in den Arbeiten von Lin et al. (2006a). Die Nachteile der Flüssig-Flüssig-Extraktion sind die größeren Lösungsmittelvolumina, der hohe Zeitaufwand und die teilweise entstehende Emulsionsbildung sowie der Verlust flüchtiger Substanzen. Bei der Matrix Öl und auch bei Rauchkondensaten kann

zusätzlich ein Verseifungsschritt vorangesetzt werden [SIMON et al., 2005; GUILLEN et al., 2000a]. Des Weiteren besteht die Möglichkeit in wässrigen Medien die so genannte SBSE (stir bar sorptive extraction) einzusetzen [ZUIN et al., 2005]. Die SBSE bezeichnet eine Flüssig-Flüssig-Extraktion mit einer „festen“ Flüssigkeit (PDMS - Polydimethylsiloxan). PDMS ist ein inertes Material, welches kein Wasser aufnimmt und polare Matrixinterferenzen eliminiert.

Im Rahmen der Trinkwasseranalytik hat sich gezeigt, dass eine Festphasenextraktion (SPE) als Extraktionsschritt besser geeignet ist, als eine Festphasenmikroextraktion (solid phase micro extraction - SPME) [GARCIA-FALCON et al., 2004]. Die SPME ist eine Gleichgewichtstechnik ähnlich der SBSE. Der große Vorteil der SBSE liegt jedoch in der verwendeten Phasenmenge, die wesentlich höher ist. Daraus resultiert eine höhere Empfindlichkeit gegenüber der SPME. Bei der SBSE wird ein Rührstäbchen für Magnetrührer, eingekapselt in Glas und umhüllt mit PDMS, verwendet. Der PDMS-Anteil der SPME-Faser ist dagegen bedeutend geringer [GERSTEL, 2004].

Die Extraktion von PAK aus Wursthüllen/Därmen wird in der Literatur zum Beispiel durch eine ultraschallunterstützte Extraktion mit n-Hexan vorgenommen [GARCIA-FALCON und SIMAL-GANDARA, 2005]. Die Extraktion von PAK aus solchen Matrices ist jedoch vom jeweiligen Material der Wursthüllen abhängig.

Unabhängig von der Wahl der Extraktionsmethode befinden sich noch zahlreiche störende Begleitstoffe im Extrakt, die durch weitere Reinigungsschritte entfernt werden müssen. Hierfür können Flüssig-Flüssig-Verteilung, Festphasenextraktion, Dünnschichtchromatographie, Säulenchromatographie und Gelpermeationschromatographie eingesetzt werden.

Die Flüssig-Flüssig-Verteilung erfolgt zwischen einem polaren und einem unpolaren Lösungsmittel, wie z. B. Dimethylformamid/Wasser/Cyclohexan [GRIMMER und BÖHNKE, 1975]. Die Lipoproteine können auch durch  $\text{Na}_2\text{WO}_4$  ausgefällt werden [SIMKO et al., 1991a].

Im Zuge einer Festphasenextraktion als Reinigungsschritt eignen sich verschiedene Materialien: Kieselgel [AFOLABI et al., 1983; BINNEMANN, 1979; GUILLEN und SOPELANA, 2004; GARCIA-FALCON et al., 2004], Florisil [SIMKO et al., 1993a; CHEN und LIN, 1997; CHEN und CHEN, 2005], aktiviertes Aluminiumoxid [BOOM, 1987], eine Kombination von Aminopropyl und  $\text{C}_{18}$  [MOTTIER et al., 2000] oder eine Kombination aus Kieselgel und Chromabond CN/Si-OH [JIRA, 2004]. Arbeiten von Guillen et al. (2000a) sprachen sich für eine Bevorzugung von Kieselgel im Gegensatz zu Florisil aus, da mit Kieselgel als Festphase höhere Wiederfindungsraten und sauberere Extrakte erzielt werden können. Besonders bewährt hat sich der Einsatz von deaktiviertem Kieselgel mit einem definierten Wassergehalt von 15 % [GRIMMER und BÖHNKE, 1975].

Ein weiterer Reinigungsschritt der zusätzlich angewendet werden kann, ist die Gelpermeationschromatographie (GPC) an Polystyrolgel BioBeads S-X3 [SPEER et al., 1990; JIRA, 2004; FROMBERG et al., 2007] oder an Dextrangel Sephadex [FRETHEIM, 1976; AFOLABI et al.,

1983]. Bei der GPC, auch Größenausschlusschromatographie bezeichnet, werden höhermolekulare Substanzen, wie Fette und Eiweiße von den niedermolekularen PAK getrennt. Grimmer und Böhnke schlugen den Einsatz einer Sephadex-Säule LH 20 vor, da hier der Wassergehalt des verwendeten Elutionsmittels vernachlässigt werden kann [GRIMMER und BÖHNKE, 1975].

Nyman et al. verglichen 1993 zwei verschiedene Reinigungsmethoden bei der Probenmatrix Meeresfrüchte. Die erste Methode reinigte durch eine Flüssig-Flüssig-Verteilung mit anschließender 3-stufiger Festphasenextraktion an Kieselgel, Aluminium und C<sub>18</sub>. In der zweiten Reinigungsmethode wurden die Proben durch Säulenchromatographie an einer desaktivierten Kieselgel/Aluminium-Säule und folgender GPC gereinigt. Dabei schnitt die zweite Methode besser ab, da hier weniger störende Interferenzen in den GC/MS-Chromatogrammen auftraten [NYMAN et al., 1993].

Über einen Zusatz von geringen Mengen Schwefelsäure nach der Verseifung zur Isolierung von BaP von der komplexen Matrix vor einer Chromatographie an Kieselgel berichteten in einigen Veröffentlichungen Saito et al. (1978) und später Ogbadu und Ogbadu (1989).

Die halbpräparative HPLC als Clean-up-Methode mit einer Kieselgelsäule nach Verseifung von Teeproben konnte ebenfalls erfolgreich zum Entfernen störender Substanzen angewendet werden [SPEER, 1987]. Auch Fernandez und Bayona (1992) wählten nach der Extraktion der PAK aus Marine-Sediment die semipräparative NP-HPLC als zusätzlichen Reinigungsschritt im Anschluss an eine GPC an Bio Beads SX-12. Moret et al. (1999) gelang es mittels LC/LC Chromatographie auf der ersten Silika-Säule die Triglyceride zu entfernen und auf der zweiten Säule mit einer Umkehrphase die PAK voneinander zu trennen.

Um auf Reinigungsschritte verzichten zu können, koppelten Vreuls et al. (1991) die Flüssigchromatographie online mit der Gaschromatographie für die Analyse von PAK in Ölen. Auch Moret et al. (1996) koppelten LC und GC miteinander für die Analyse fetthaltiger Lebensmittel. Zusätzlich wurden eine weitere LC und eine Verdampfungseinheit (VE) gekoppelt, so dass mit einem online LC-VE-LC-GC-Flammenionisationsdetektor gearbeitet werden konnte.

Zu Beginn der BaP-Analytik war eine Trennung der BaP Isomere mit Säulenchromatographie und Dünnschichtchromatographie unmöglich [SCHAAD, 1970]. Da die PAK unterschiedliche kanzerogene Aktivitäten aufweisen, ist jedoch die chromatographische Trennung ein wichtiger Schritt in der Analysenmethode. Deshalb wurde eine Methode bestehend aus Verseifung mit ethanolischer Kaliumhydroxidlösung, einem Verteilungsschritt zwischen Dimethylsulfoxid (DMSO) und einem aliphatischen Lösungsmittel und Säulenchromatographie an vorbehandeltem Florisil entwickelt. Die Bestimmung der PAK erfolgte mit Cellulose RP Technik in Kombination mit Cellulose Acetat MP Technik [SIMKO, 2002]. Diese Methode wurde 1968 als erste offizielle Aktions-Methode von der AOAC akzeptiert [AOAC, 1970], im Folgenden von der IUPAC

empfohlen [IUPAC, 1972] und im Späteren in Laborvergleichsuntersuchungen getestet [FAZIO et al., 1973].

### 3.2.2 Chromatographische Trennung und Messung

Für eine Trennung der einzelnen PAK können chromatographische Methoden zum Einsatz kommen. Hierzu zählen die Dünnschicht-, Säulen-, Flüssig- und die Gaschromatographie. In Abhängigkeit von der Wahl der Chromatographiemethode werden verschiedene Detektionssysteme eingesetzt.

Die Dünnschichtchromatographie ist die älteste Methode und wird heute kaum noch angewendet [WHITE et al., 1971; KAZEROUNI et al., 2001]. Eine quantitative Auswertung der PAK-Gehalte kann durch optischen Vergleich der Probe mit Standardlösungen auf der DC-Platte unter einer UV-Lampe erfolgen [DOREMIRE et al., 1979]. Eine andere Möglichkeit zur Quantifizierung ist die fluoreszenzspektralphotometrische Auswertung [GERTZ, 1978].

Grimmer und Hildebrandt (1972) nutzten eine Fraktionierung an einer Aluminiumoxid-Säule als Trennschritt mit anschließender spektrometrischer Detektion zur Quantifizierung von PAK in proteinreichen Lebensmitteln, Ölen und Fetten.

Die Flüssigchromatographie (HPLC) für die PAK-Analytik verwendet heute meist eine C<sub>18</sub> Umkehrphase [SIMKO et al., 1993a; DENNIS et al., 1984b], die Schmit et al. (1971) erstmals einsetzten. Im Anschluss an die HPLC kann ein UV-Detektor oder Fluoreszenz-Detektor (FLD) genutzt werden [KAYALI-SAYADI et al., 1998; LIN und ZHU, 2004; GARCIA-FALCON et al., 2004; SIMKO et al., 1993a; BISHNOI et al., 2005; VAN DER WIELEN et al., 2006]. Der Fluoreszenz-Detektor ist wesentlich empfindlicher, ermöglicht aber nicht die Detektion von Acenaphthylen, eines der 16 EPA-PAK. Die Flüssigchromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie (LC/MS) wird nicht oft für die Quantifizierung von PAK genutzt, da die PAK nicht-ionisch und unpolar sind. Dies erschwert die Ionisierung und Fragmentierung. Der Einsatz der LC/MS findet überwiegend bei der Analyse von Umweltproben statt [GONZALEZ-PINUOLA et al., 2006; DOERGE et al., 1993].

Heutzutage ist die Gaschromatographie (GC) die meist verbreitete Trennungstechnik bei der Analytik von PAK. Ein entscheidender Parameter der Gaschromatographie ist die Wahl der Säule. Grimmer und Böhnke (1975) setzten eine gepackte Flüssig-Kristall-Säule, die sehr temperaturinstabil ist und keine genügende Trennleistung erreicht, für die Analytik von PAK ein. Seit Entwicklung der Kapillarsäulen wird für die PAK-Analytik häufig eine Säule genutzt, die einen Polyphenylsiloxananteil von 5 % besitzt [ALI und COLE, 2001; DILETTI et al., 2005; GUILLEN et al., 2000a]. Bei dem Einsatz dieser „5er“ Phase ist bis auf die Arbeiten von Rose et al. (2007), in denen eine Antrennung der Benzofluoranthene dokumentiert wird, eine Trennung von

BbF, BjF und BkF nicht möglich [SPEER und MONTAG, 1988; GUILLEN und SOPELANA, 2004]. Um in der Gaschromatographie eine Trennung der Benzofluoranthene zu erreichen, kann eine flüssig-kristalline stationäre Phase verwendet werden [BERSET et al., 1998]. Für eine Separierung von TP und CHR kann ebenfalls eine flüssig-kristalline Säule oder eine unpolare Kapillarsäule eingesetzt werden [POSTER et al., 2004]. Mit zunehmender Anzahl an aromatischen Ringen steigt die Anzahl möglicher Isomere und somit die Anzahl zu trennender Substanzen. Im Falle der 16 EFSA-PAK ist die Trennung der Dibenzpyrene (MG 302 g/mol) somit am kritischsten. Kapillarsäulen mit höherer Polarität eignen sich für die Isomerentrennung besser als weniger polare Säulen [SCHUBERT et al., 2003; SAUVAIN et al., 2001]. Seidel et al. (2004) benutzten für die Analytik von PAK mit MG 302 g/mol bereits eine Säule mit einem Polyphenylsiloxananteil von 35 %. Dieser positive Effekt lässt sich noch steigern durch den Einsatz einer Säule mit 50 % Polyphenylsiloxananteil [SCHUBERT et al., 2003; SAUVAIN et al., 2001]. Jedoch führten Sauvain und Vu Duc (2004) Untersuchungen auf mehreren Säulen verschiedener Polaritäten durch und konnten belegen, dass DiP auf allen Säulen mit anderen Verbindungen (Isomere MG 302 g/mol) coeluiert.

Eine hohe Effizienz der Trennung kann auch durch den Einsatz von GCxGC erreicht werden [CAVAGNINO et al., 2003]. Dabei entstehen dreidimensionale Chromatogramme.

Die Detektion der PAK in der GC kann mit einem Flammenionisationsdetektor (FID) erfolgen [CHEN und CHEN, 2005]. Dieser hat einen großen dynamischen Bereich, ist aber sehr unselektiv, was eine gute Reinigung der Extrakte notwendig macht. Alternativ zum FID können niedrig auflösende Massenspektrometer erfolgreich für die Detektion eingesetzt werden [SPEER und MONTAG, 1988; SCHLEMITZ und PFANNHAUSER, 1997; FIEDLER et al., 2002]. Sie bewähren sich vor allem im SIM-Modus auf Grund höherer Empfindlichkeit. Als zusätzliches Kriterium zur Retentionszeit für die Identifizierung der einzelnen Verbindungen sollten bei Anwendung eines niedrigauflösenden MS die Verhältnisse von Quantifizierung ( $M^+$ ) und einem oder mehreren Qualifizierung/en ( $M-2$  oder  $M/2$ ) verwendet werden [SIMON et al., 2006].

GC-MS/MS nutzen Veyrand et al. (2007) und Varlet et al. (2007) für die Bestimmung von PAK. Weniger häufig kommt die Gaschromatographie gekoppelt mit hochauflösender Massenspektrometrie (GC/HRMS) bei der PAK-Analyse in Lebensmitteln zum Einsatz [JIRA, 2004; LOUFTY et al., 2007].

Für die Quantifizierung können native PAK als externe Standards in Form von Kalibrierlösungen eingesetzt werden. Dem werden jedoch stabile isopenmarkierte Verbindungen vorgezogen, da diese der Probe vor der Probenaufarbeitung zugesetzt werden können und daher den Einfluss möglicher Verluste während der Aufarbeitung berücksichtigen [DILETTI et al., 2005; VEYRAND et al., 2007]. Dafür können zum einen deuterierte Verbindungen zum Einsatz kommen. Sie können sowohl in der GC als auch in der LC verwendet werden, da sie getrennt von ihrem dazugehörigen nativen PAK eluieren.  $^{13}\text{C}$  markierte Verbindungen können nur bei der Massenspektrometrie eingesetzt werden, da auf Grund von Coelutionen mit dem dazugehörigen nativen PAK die

Detektion über die unterschiedlichen  $m/z$  erfolgt. Weiterhin konnte von Andersson und Weis (1994) gezeigt werden, dass auch die Verwendung von fluorierten Verbindungen nützlich sein kann. Diese Verbindungen verhalten sich ähnlich ihren nativen PAK gegenüber, eluieren aber früher in der GC auf Grund geringerer Wechselwirkungen und können somit auch mit dem FID detektiert werden. Sind keine fluorierten oder isotopenmarkierte Verbindungen verfügbar, können auch den PAK ähnliche Verbindungen genutzt werden (z. B. Isomere, etc.).

Die Verwendung isotopenmarkierter ( $^{13}\text{C}$ -,  $^2\text{H}$ -PAK) Standardverbindungen ist ein entscheidender Vorteil der GC/MS gegenüber flüssigchromatographischen Methoden mit UV- bzw. Fluoreszenz-Detektion. Des Weiteren ist eine massenspektrometrische Detektion empfindlicher und selektiver, da einzelne Massenspuren aufgezeichnet werden können. Die Flüssigchromatographie ermöglicht jedoch, die Benzofluoranthene und Chrysen/Triphenylen leichter voneinander zu trennen und benötigt kürzere Chromatographiezeiten.

Für eine quantitative Auswertung von PAK mit  $\text{MG } 302 \text{ g/mol}$  ist der Einsatz der GC/MS dem der HPLC-FLD vorzuziehen [SCHUBERT et al., 2003].

Weiterhin bleibt noch zu erwähnen, dass eine Quantifizierung von DIP in Gemischen mittels Laser-Induzierter Shpol'skii-Spektrofluorometrie durchgeführt werden kann [KOZIN et al., 1995]. Auf Grund der hohen Sensitivität und Selektivität kann durch den Einsatz der hochauflösenden Fluorimetrie in niedrig-Temperatur-n-Alkan-Shpol'skii-Matrizes auf Schritte der Reinigung, Aufkonzentrierung und die chromatographische Trennung verzichtet werden. Die Spezifität und Sensitivität der Shpol'skii Methode kann durch den Einsatz einer selektiven Laser Excitation verbessert werden [ARIESE et al., 1991].

Eine wenig genutzte Detektionsmethode ist die elektrochemische Detektion mit einem dünnen Film aus bor-dotiertem-Diamant (BDD) als Elektroden [BOUVRETTE et al., 2006]. Die Bestimmung von PAK mit Hilfe von Enzym-Immunoassays ist eine weitere weniger angewandte Methode [RODA et al., 1999]. In der Literatur wird weiterhin der Einsatz der Kapillar-Elektrophorese ausgestattet mit laserinduzierter Fluoreszenz beschrieben [BROWN et al., 1996]. Zudem werden auch Methoden wie diffus reflektierende fouriertransformierte Infrarot-Spektroskopie [GORDON et al., 1988] oder Kernresonanzspektroskopie [LEE et al., 1976] eingesetzt.

### 3.3 PAK in Lebensmitteln

#### 3.3.1 Fleisch und Fleischerzeugnisse, Definitionen

Zu der Warengruppe Fleisch und Fleischerzeugnisse zählen rohes Fleisch, Rohpökelwaren, Kochpökelwaren und Wurstwaren. Nach den Leitsätzen für Fleisch und Fleischerzeugnisse des Deutschen Lebensmittelbuches werden die einzelnen Wurstwaren folgendermaßen eingeteilt [DLB, 2001]:

- Rohwürste: umgerötete, ungekühlt lagerfähige Wurstwaren, welche in der Regel roh zum Verzehr gelangen; streichfähig oder nach Austrocknung und Reifung schnittfest, Zucker < 2 %
- Brühwürste: hitzebehandelte Wurstwaren (Brühen, Backen oder Braten), bestehend aus zerkleinertem rohen Fleisch, eventuell Fettgewebe und Kochsalz bzw. anderen notwendigen Salzen, die unter Zusatz von Trinkwasser oder Eis aufgeschlossen werden; im Anschluss koaguliert das Muskeleiweiß bei Hitzeeinwirkung
- Kochwürste: vorwiegend aus gekochtem Ausgangsmaterial hergestellte, und hitzebehandelte Wurstwaren; nur im erkalteten Zustand schnittfest

Wurstwaren werden aus kleinstückigem Verarbeitungsfleisch hergestellt. Stückfleisch hingegen ist geeignet zur Herstellung von Roh- bzw. Kochpökelwaren. Hierzu zählen z. B.:

- Roh-/Kochschinken: Herstellung aus Beckengliedmasse des Schweins; Kochschinken wird erst gepökelt und dann gebrüht; bei der Herstellung von Rohschinken erfolgt nach dem Salzen und Lufttrocknen die Räucherung

##### 3.3.1.1 Räuchern von Fleischerzeugnissen

Neben konservierenden und sensorischen Effekten ist Räucherrauch auch für wichtige technologische Aspekte verantwortlich. Das Räuchern wurde bereits vor 90.000 Jahren zur Haltbarmachung von Lebensmittel genutzt, dies belegen archäologische Funde in der Nähe von Krakau [MÖHLER, 1978].

Räucherrauch entsteht durch unvollständige Verbrennung von Holz und wird als ein Gemisch primär gebildeter Pyrolyseprodukte und ihrer unter Einfluss von Sauerstoff und Wärme entstandenen Folgeprodukte bezeichnet, der aus gasförmigen und partikulären Stoffen besteht. Die Bestandteile des Holzes, ca. 50 % Cellulose, ca. 25 % Lignin und ca. 25 % Hemicellulosen (bei Vernachlässigung des Wassers), werden dabei unter anderem in Phenole, Alkohole, Carbonyle und Säuren umgewandelt.

Die antioxidative Wirkung wird den Phenolen zugesprochen, die durch Abgabe von Wasserstoff eine Radikalbildung bei Fetten und somit ein „Ranzigwerden“ von Fetten verhindern [POTTHAST, 1985]. Durch die Verbesserung der antimikrobiellen Aktivität, die unter anderem durch die Senkung des pH-Wertes und des Wassergehaltes, sowie das Vorhandensein einiger Rauchbestandteile hervorgerufen wird, werden der Räucherung konservierende Eigenschaften zugewiesen [BELITZ, 2001]. Die Farbbildung entsteht durch folgende Prozesse: Aufnahme von gefärbten Rauchbestandteilen, Kondensation und Polymerisation von Rauchbestandteilen (v. a. Aldehyde und Phenole), Reaktionen von Carbonylen und Aminoverbindungen und einer Fixierung der Farbe durch Säuren. Den wichtigsten Beitrag zur Aromabildung leisten die phenolischen Verbindungen. Aldehyde verknüpfen Peptidketten miteinander und sorgen für die Härtung der Naturdärme und die Bildung einer sekundären Haut [TÓTH und WITTKOWSKI, 1985].

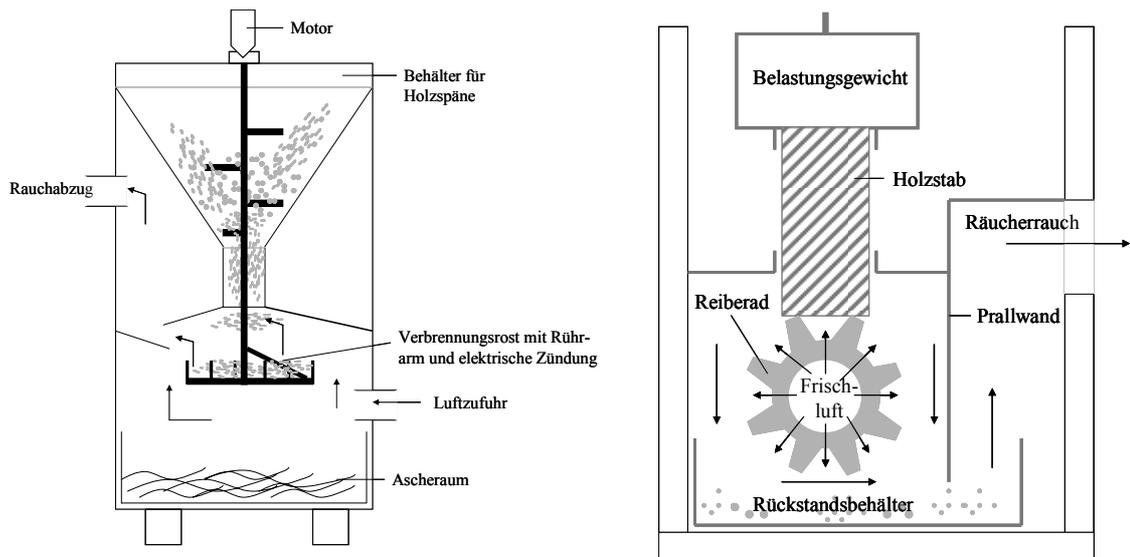
Bei der Räucherung werden jedoch auch toxikologisch bedenkliche Rauchkomponenten gebildet, wie z. B. die PAK.

Die unterschiedlichen Räucherverfahren können zum einen hinsichtlich der eingesetzten Raucherzeugung und zum anderen in Bezug auf die bei der Räucherung verwendeten Temperaturen in der Räucherammer (Kalt-, Heiß-, und Warmräucherung) unterteilt werden. Die Schwarzräucherung kann sowohl im Heiß- als auch im Kaltrauchverfahren durchgeführt werden. Ziel dieses Verfahrens ist die Dunkelfärbung des Produktes.

#### 3.3.1.1.1 Raucherzeugungsverfahren

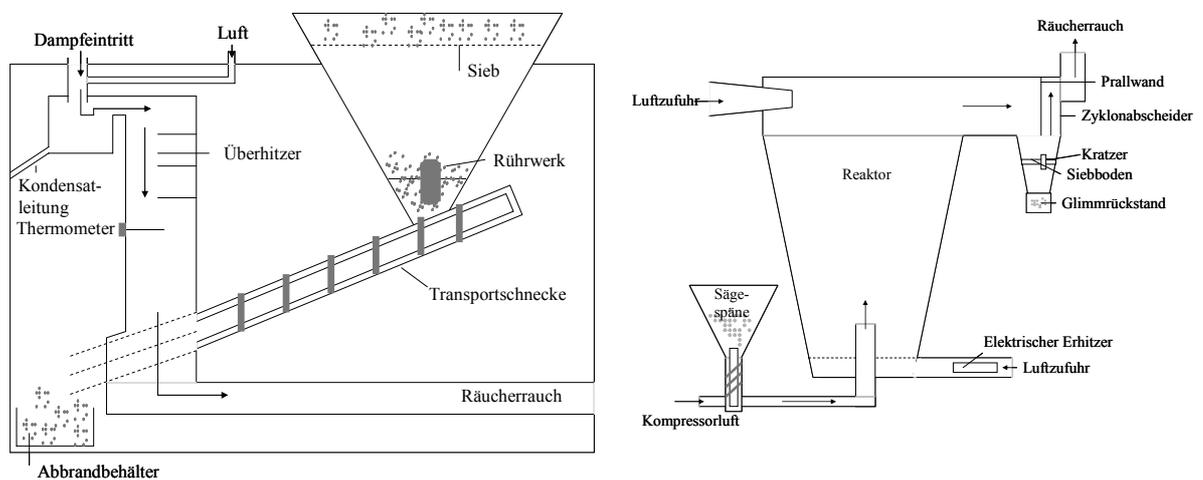
Eine Anlage, die zur Raucherzeugung genutzt wird, kann im Wesentlichen in den Raucherzeuger und die Verbindungsleitungen zu den Räucherammern unterteilt werden.

Beim *Glimmrauchverfahren* (Abbildung 4) gelangen mit Hilfe eines Rührarms die Holzspäne und Hackschnitzel vom Vorratsbehälter in den Brennraum. In diesem Raum findet eine elektrische Zündung statt, bei der bei Temperaturen von 100 bis 600 °C das Räuchermittel zum Glimmen gebracht wird. Die Rauchentwicklung kann durch Veränderung der Frischluftzufuhr gesteuert werden. Der dabei entstehende Rauch gelangt über den Rauchabzug in die Räucherammer.



**Abbildung 4: Glimmraucherzeuger (links, nach TÓTH, 1983) und Reibraucherzeuger (rechts, nach KLETTNER, 1979)**

Ein weiteres Verfahren zur Rauchgewinnung ist das *Reibrauchverfahren* (Abbildung 4). Bei der Raucherzeugung durch Friktion (Reibung) wird durch ein Rad mit „Schneideflanken“ Rauch erzeugt. Auf dieses Rad drückt ein Holzstab, der mit Gewichten beschwert ist. Der bei schneller Drehung des Rades entstehende Rauch wird mittels eines Gebläses in die Räucheranlage transportiert.



**Abbildung 5: Dampfraucherzeuger (links) und Fluidationsraucherzeuger (rechts) [nach KLETTNER, 1979]**

Das dritte Raucherzeugungsverfahren wird *Dampfrauchverfahren* (Abbildung 5) genannt. Bei diesem Verfahren wird der Räuherrauch durch überhitzten Dampf erzeugt und später auch durch ihn transportiert. Reiner Wasserdampf würde nicht zur Rauchentstehung beitragen, deshalb wird ein Wasserdampf-Luft-Gemisch verwendet. Die bei der Raucherzeugung entstandenen Rauch- und Aromastoffe werden durch den Dampf auf die Oberfläche des Räucherguts weitergeleitet. Der

Dampf kondensiert auf der Gutoberfläche und verleiht den Lebensmitteln Räucherfarbe und -geschmack. Der Gehalt an kanzerogenen Stoffen ist bei diesem Verfahren am geringsten [SIELAFF, 1996].

Beim *Fluidationsrauchverfahren* (Abbildung 5) wird als Wärmeträger Heißluft eingesetzt. Die Verschwelung erfolgt im Wirbelstrom der in den Reaktor eingeblasenen Luft.

#### 3.3.1.1.2 Räucherverfahren

Bei 50 bis 80 °C findet die so genannte Heißräucherung statt. Für ein mildes Raucharoma und Zeitersparnis ist das Warmräuchern zwischen 25 und 50 °C bekannt. Diese beiden Räucherverfahren sind mit Garungsprozessen verbunden und erfolgen nach einer Vortrocknungsphase zur Oberflächenabtrocknung. Einige Fleischerzeugnisse eignen sich nicht für die Warm- oder Heißräucherung, da bei diesen Produkten bei höheren Temperaturen Fettabsatz oder sogar Fettaustritt, Verlust des spezifischen Charakters oder Auskeimung von Sporenbildnern auftreten können. In diesen Fällen wird die *Kalträucherung* angewendet. Die Kalträucherung findet bei 15 - 25 °C statt. Ein Langzeitverfahren des Kalträucherns wird für die Herstellung von Katenschinken genutzt [POTTHAST, 1985]. Das Kalträuchern ist mit einem partiellen Trocknen verbunden. Die Dauer der Räucherverfahren steigt von der Warmräucherung zur Kalträucherung an.

Für die Herstellung *schwarzgeräucherter* Produkte kann sowohl die Heiß- als auch die Kalträucherung genutzt werden. Ziel hierbei ist die Dunkelfärbung des Produktes [SCHAPITZ, 1992]. Dabei werden mit der Partikelphase des Rauches u. a. hohe Gehalte an PAK auf die Gutoberfläche übertragen [POTTHAST, 1975].

#### 3.3.1.1.3 Flüssigrauch

Für die Herstellung von Flüssigrauch (Rauchkondensat) wird aus unbehandelten Sägespänen unter kontrollierten Bedingungen Räucherrauch erzeugt. Dieser Rauch wird anschließend mit Wasser kondensiert. Nach Absetzen oder Zentrifugieren der wässrigen Phase von der teerhaltigen Phase wird die wässrige Phase durch verschiedene Reinigungsschritte veredelt. Die Rohprodukte werden nach ihrer Löslichkeit in Wasser unterteilt in „Primärauchkondensate“ (wasserlöslich) und „Primärteerfraktion“ (wasserunlöslich). Auch die Primärteerfraktion kann nach der Abtrennung weiter raffiniert werden. Der Gehalt an gesundheitlich bedenklichen Stoffen wird während der Herstellung von Flüssigrauch weitgehend eliminiert. Die Anwendung von Flüssigrauch wird meist

durch Sprühen oder Tauchen durchgeführt. Es kann aber auch bei der Herstellung dem Brät direkt zugesetzt werden. Flüssigrauch ersetzt das traditionelle Räuchern hinsichtlich Farb- und Geschmacksgebung, erfüllt jedoch nicht die anderen ursprünglichen Funktionen. Mit Hilfe von Flüssigrauch kann eine Aushärtung des Darmes nicht erreicht werden. In erster Linie findet die Anwendung von Flüssigrauch im Bereich von Fleischerzeugnissen statt, aber auch Fischwaren, Käse und Knabberartikel können damit behandelt werden.

1976 dokumentierte Tóth in einem Bericht der Deutschen Forschungsgesellschaft (DFG) BaP-Gehalte in Rauchkondensaten von  $< 0,05$  bis 2600 ppb. Jira (2004) ermittelte einen BaP-Median von 8 Flüssigrauchproben von 120 ppb.

#### 3.3.1.1.4 Rauchwürzer und Räuchersalze

Neben dem traditionellen Räuchern und der Anwendung von Flüssigrauch können auch Raucharomen im Sinne von Räuchersalzen und Rauchwürzern, zum Einsatz kommen. Die Herstellung von Räuchersalzen und Rauchwürzern kann einerseits durch Räuchern der Trägermaterialien (Salz, Dextrose, Gewürze, u.s.w.) mit natürlich belassenem Rauch erfolgen. Ein anderes dafür geeignetes Verfahren zur Produktion dieser Zutaten ist das so genannte Coating. Dabei werden Flüssigrauchpräparate auf Trägermaterialien, z. B. Salz, Dextrose, Gewürze, u.s.w. aufgetragen. Eine weitere Technologie ist die Mikroverkapselung durch Sprühtrocknung. Dafür wird eine Emulsion aus Extrakt und Trägermaterial kurzzeitig gegen einen Strom heißer Luft geblasen.

In der Literatur werden wenige Angaben über PAK-Gehalte solcher Zutaten dokumentiert. Tóth (1976) berichtete in einem DFG-Bericht von BaP-Gehalten von bis zu 24 ppb in Rauchwürzern und Räuchersalzen.

#### 3.3.1.1.5 PAK-Eintrag in Fleischerzeugnisse

Ein Eintrag von PAK in Fleischerzeugnisse erfolgt über thermische Prozesse wie Räuchern oder Grillen. Allerdings kann auch der Einsatz von Gewürzen (siehe 3.3.2) eine PAK-Eintragsquelle darstellen.

Die Abhängigkeit des PAK-Eintrags von unterschiedlichen Räucherbedingungen wurde in der Vergangenheit bereits in vielen Untersuchungen studiert und dokumentiert. Da bis zum

gegenwärtigen Zeitpunkt die Gesetzgebung nur Höchstgehalte für BaP vorsieht, wurde innerhalb vergangener Studien meist nur das BaP untersucht. Teilweise erfolgte auch eine Analyse weiterer einzelner PAK, jedoch wurden von Fall zu Fall unterschiedliche PAK analysiert.

Grimmer und Hildebrandt (1967) veröffentlichten bereits 1967 erste Daten zu BaP-Gehalten in geräucherten Fleischerzeugnissen. Dass die Glimmtemperatur eine entscheidende Rolle bei der Bildung von PAK spielt, belegten auch bereits frühe Studien. Unter 400 °C werden die geringsten Anteile an PAK gebildet. Ihr Gehalt steigt linear im Temperaturbereich von 400 – 1000 °C an [TÓTH und BLAAS, 1972a; LARSSON, 1986]. Innerhalb der Arbeiten von Tóth und Blaas (1972b) konnte weiterhin belegt werden, dass eine Kühlung des Rauches, eine Wäsche des Rauches, eine Filtration des Rauches oder eine Vergrößerung des Abstandes zwischen Räuchergut und Feuerstätte zu einer Reduzierung von PAK im Gut führt.

Ein Vergleich von kaltgeräucherten, heißgeräucherten und schwarzgeräucherten Fleischwaren erbrachte, dass schwarzgeräucherte Fleischwaren am höchsten belastet sind (BaP<sub>max</sub> 55 µg/kg) [TÓTH und BLAAS, 1972b]. BaP-Gehalte zahlreicher Fleischerzeugnisse bestimmten Hamm und Potthast im Jahre 1976 [POTTHAST, 1978]. Dabei ermittelten sie Gehalte im Bereich von 0,01 bis 56 µg BaP/kg. Fleischerzeugnisse die heißgeräuchert wurden, wiesen dabei die höchsten BaP-Gehalte auf [POTTHAST, 1978]. 1979 wurden im Rahmen der amtlichen Lebensmittelüberwachung 18 gegrillte und 386 geräucherte Fleischerzeugnisse auf ihre BaP-Gehalte analysiert. Über dem damals zulässigen Höchstwert von 1 µg/kg lagen 82 % der 183 schwarzgeräucherten Schinken, 15 % der 95 normal geräucherten Schinken und 9 % der 87 normal geräucherten Würste. Rostbratwürste, die mit Fichten- und Kiefernzapfen oder Hartholz gegrillt wurden, wiesen durchschnittlich 28 µg BaP/kg auf, hingegen Bratwürste, die mit Holzkohle gegrillt wurden, < 1 µg BaP/kg [BINNEMANN, 1979]. Des Weiteren weisen Arbeiten darauf hin, dass der BaP-Gehalt zumindest beim Grillen vom Fettgehalt der Produkte abhängt, da in die Flamme tropfendes Fett zusätzliche PAK erzeugt [DOREMIRE et al., 1979]. Untersuchungen von Joe et al. (1984) erbrachten Gehalte von ≤ 0,2 µg/kg BaP in verschiedenen Fleischerzeugnissen. BaP-Gehalte von 0,1 bis 5,6 µg/kg wurden in geräuchertem Hammel bestimmt [DENNIS et al, 1984a]. Die Anwesenheit von BaP in geräucherten Fleischerzeugnissen, darunter auch Geflügel, wurde von Yabiku et al. (1993) dokumentiert, der berichtete, dass die BaP-Konzentration von 0,1 bis 5,9 µg/kg variiert, in den 23 von 44 Proben, in denen BaP detektiert werden konnte. Gomaa et al. (1993) ermittelten PAK-Summengehalte (PHE, AN, FLU, PYR, CHR, BaA, BbF, BkF, BaP, IcP, DhA, BgP) in Fleischprodukten von 2,6 µg/kg in Kochschinken und 29,8 µg/kg in gegrilltem Schweinekotelett. Ein BaP-Maximalgehalt von 0,8 µg/kg wurde in gegrilltem Schweinekotelett bestimmt. Lodovici et al. (1995) fanden in Rinderfleisch 0,63 µg BaP/kg und 5,66 µg PAK (FLU, PYR, BaA, CHR, BbF, BaP, DhA, BgP)/ kg. Chen et al. (1996) ermittelten in geräuchertem Rindfleisch 0,1 µg/kg BaP und 7,5 µg/kg PAK (16 EPA-PAK). Ein Vergleich verschiedener Behandlungsformen/

Verarbeitungsprozesse von Fleisch erbrachte folgende Reihenfolge abnehmender PAK-Gehalte: Grillen > Räuchern > Rösten > Dämpfen > Behandlung mit Flüssigrauch. Jedoch entstanden die meisten kanzerogenen PAK beim Räuchern [CHEN und LIN, 1997]. 1997 untersuchte Rauter 196 Proben Räucherwaren, in denen er in 19 % der Fälle höhere Gehalte als 1 ppb nachweisen konnte. Bei so genannten „Schwarzgeselchten“-Proben und „Geselchtem nach Bauernart“ überschritten 56 % der Proben den damaligen Höchstgehalt von 1 ppb (BaP<sub>max</sub> 132 ppb) [RAUTER, 1997]. Grimm bestätigte 1999 in einer Studie erneut, dass in heißgeräucherten Produkten signifikant höhere BaP-Gehalte enthalten sind als in kaltgeräucherten. Der durchschnittliche BaP-Gehalt von 735 untersuchten Proben betrug 0,25 ppb. 3,5 % der Proben überschritten den damals zulässigen Höchstgehalt von 1 ppb [GRIMM, 1999].

Roda et al. (1999) ermittelten in ihren Analysen von Frankfurter Würstchen BaP-Gehalte von 0,1 bis 12 µg/kg. Die niedrigsten Gehalte konnten durch eine Räucherung mit Dampfrauch erzeugt werden. Wang et al. (1999) konnten in geräuchertem Schweinefleisch und geräucherten Würstchen BaP hingegen nicht detektieren (Nachweisgrenze (LOD) 0,1 µg/kg). Auch innerhalb einer Untersuchung von gegrillten Würstchen im Jahr 2000 lagen die kanzerogenen PAK unterhalb der Bestimmungsgrenzen (Bestimmungsgrenze (LOQ) 0,2 µg/kg) [MOTTIER et al., 2000]. Kazerouni et al. kamen 2001 hinsichtlich der Zubereitungsform zu ähnlichen Erkenntnissen wie Chen und Lin im Jahre 1997 und bestätigten zudem die Ergebnisse von Larsson et al. und Lijinski et al. [LARSON et al., 1983; LIJINSKY, 1991], welche zeigten, dass gegrilltes Fleisch höhere BaP-Gehalte als im Ofen erhitztes oder in der Pfanne gebratenes Fleisch besitzt [KAZEROUNI et al., 2001]. Ali und Cole (2001) fanden  $10,1 \pm 1,4$  ng/g BaP in geräuchertem Rindfleisch. In den Jahren 2003/2004 untersuchte Proben von Fleischerzeugnissen erbrachten einen BaP-Gehalt im Median von 0,06 µg/kg. Innerhalb dieser Untersuchungen wurden auch die Verhältnisse anderer PAK zu BaP untersucht. Das Verhältnis von BaA zu BaP betrug im Median ca. 3:1, CHR zu BaP ca. 5:1, BbF, BkF und BgP zu BaP ca. 1:1 und IcP zu BaP ca 0,5:1 [JIRA, 2005]. Summengenhalte aller SCF-PAK von 2,4 - 2,9 µg/kg in kleinen Würsten (n = 5), 1,0 - 1,1 in Salami (n = 5) und 1,0 - 1,3 µg/kg in Schinkenspeck (n = 9) ermittelten Duedahl-Olesen et al. (2006). Neueste Studien von Loufty et al. (2007) ermittelten eine durchschnittliche BaP-Konzentration von 0,21 µg/kg in Rindfleisch und einen PAK-Summengehalt (NA, ACY, ACE, FL, PHE, AN, FLU, PYR, CHR, BaA, BbF, BaP, IcP, DhA, BgP) von 13,0 µg/kg. Die 2007 veröffentlichten Daten von Reinik et al. (2007), zeigten einen weiten Bereich der BaP-Gehalte in den von 2001 bis 2005 gezogenen Fleischerzeugnisproben (n = 322) von < 0,3 – 31,2 µg/kg (Mittelwert (MW) 0,8 µg/kg). Weiterhin konnte innerhalb dieser Untersuchungen erneut gezeigt werden, dass gegrilltes Fleisch höhere Gehalte an PAK als gegrillte Würstchen enthält und dass eine Feuerung mit Holzkohle mehr PAK als eine Feuerung mit Holz erzeugt [REINIK et al., 2007].

Diese Untersuchungsergebnisse der Jahre 1967 bis 2007 belegen in ihrer zeitlichen Abfolge den Rückgang der PAK-Gehalte in Fleischerzeugnissen.

Einige wissenschaftliche Veröffentlichungen beschäftigten sich mit dem Barriereverhalten von Därmen, Eindringtiefen von PAK, Veränderungen von PAK-Gehalten während der Lagerung und Verarbeitungsprozessen. Rhee und Bratzler (1970) widerlegten in ihren Arbeiten die Annahme von Tilgner aus dem Jahre 1968, die besagt, dass 38 % von BaP ins Innere von geräucherten Fleischerzeugnissen diffundieren. Sie konnten feststellen, dass praktisch keine Penetration von den äußeren Schichten in das Innere stattfindet. Die untersuchten Schichten in ihren Arbeiten waren 1,4 – 1,5 mm breit. Die Diffusion von BaP in das Gutinnere hängt von der Art des Räuchergutes und der Hülle ab. Die Verwendung verschiedener Materialien als Darm, z. B. Cellulose oder synthetisches Material, reduzierten die Diffusion von BaP ins Innere [FLIPOVIC und TÓTH, 1971]. Auch Tóth bestätigte, dass Kunstdärme im Gegensatz zu Naturdärmen einen erhöhten Rückhalteeffekt für PAK aufweisen [TÓTH, 1973].

Der Gehalt an BaP in fermentierter Salami ändert sich während der Reifung und der Lagerung kaum [SIMKO et al., 1991a], hingegen nimmt der Gehalt von BaP in geräuchertem Fisch ab [SIMKO et al., 1991b]. Die Abnahme ist zum Großteil auf den photolytischen Abbau zurückzuführen. Allerdings konnte auch ein Eindringen von BaP in das Fischinnere verzeichnet werden. Simko et al. (1993a) stellten fest, dass der BaP-Gehalt in geräucherten Würstchen während des Kochens abnimmt. Hohe Konzentrationen an BaP konnten später im „ausgekochten“ Fett nachgewiesen werden [SIMKO et al., 1993a]. Mit Hilfe dieser Untersuchungen, bei denen die gesamten Würste, der Darm und die gepellten Würste analysiert wurden, konnte festgestellt werden, dass 78 % der PAK vor dem Kochen ins Wurstinnere diffundieren. In anderen Arbeiten des Jahres 2005 konnte erneut gezeigt werden, dass ein Kollagendarm als Wursthülle eine bessere PAK-Barriere darstellt als ein Naturdarm [GARCIA-FALCON und SIMAL-GANDARA, 2005]. Die Diffusion findet jedoch nur in geringem Maße statt. Die höchsten Konzentrationen an PAK befinden sich an der Oberfläche und in den äußeren Schichten. Das führt dazu, dass das Verhältnis von Guts Oberfläche zu Gewicht entscheidend für die PAK-Gehalte ist.

Eine Möglichkeit, den PAK-Gehalt in Lebensmitteln zu reduzieren, bietet das Faktum, dass die PAK Wechselwirkungen mit geeigneten Kunststoffverpackungen (z. B. Polyethylen) eingehen [CHEN und CHEN, 2005; SIMKO und BRUNCKOVA, 1993b; Guillen et al., 2000b]. Die PAK können in die Kunststoffverpackungen penetrieren.

Im Gegensatz zu den übrigen 16 EPA-PAK werden die Dibenzpyrene nur in wenigen Veröffentlichungen diskutiert, da die Analytik für diese Substanzen eine niedrige Nachweisgrenze und eine gute chromatographische Trennung erfordert.

Lawrence und Weber (1984) fanden einen DiP-Gehalt von 0,3 µg/kg und einen DeP-Gehalt von 0,5 µg/kg in gegrilltem Hamburgerfleisch. DiP und DhP konnten nicht detektiert werden. In den Untersuchungen von Yabiku et al. (1993) konnte in 44 Proben von Fleischerzeugnissen in keiner

Probe DIP detektiert werden. Unterhalb der Bestimmungsgrenze von 0,5 µg/kg lagen die DIP- und DeP-Konzentrationen in den von Reinik et al. (2007) untersuchten Fleischerzeugnissen. Rose et al. (2007) untersuchten Öle und Fette auf ihre Gehalte an den 15 SCF-PAK. Dabei wurde die folgende abnehmende Konzentrationsreihenfolge der Dibenzpyrene festgestellt: DIP > DeP > DiP > DhP. Innerhalb dieser Studie konnte auch eine abnehmende Konzentration von BbF > BjF > BkF bestimmt werden.

### 3.3.2 Gewürze

Gewürze und Kräuter sind Pflanzen bzw. Pflanzenteile, die Inhaltsstoffe besitzen mit geschmacks- bzw. geruchsbildenden Eigenschaften und deshalb in Speisen verwendet werden.

#### 3.3.2.1 Einteilung

Gewürze werden nach dem verwendeten Pflanzenteil unterschieden. Sie können in

- Blattgewürze: Verwendung der Blätter (z. B. Basilikum, Oregano)
- Blütengewürze: Verwendung der Knospen oder Blütenteile (z. B. Gewürznelke)
- Fruchtgewürze : Verwendung der ganzen Frucht (z. B. Paprika, Fenchel)
- Samengewürze : Verwendung der Samen oder des Samenmantels (z. B. Kardamom, Muskatnuss)
- Rindengewürze : Verwendung der Rinde (z. B. Zimt)
- Rhizomgewürze : Verwendung der Rhizome, Sprosse oder Stängel (z. B. Ingwer)
- Zwiebelgewürze: Verwendung der Zwiebeln (z. B. Knoblauch)

eingeteilt werden.

Als Beurteilungskriterien sind Geruch, Geschmack, Aussehen, Wassergehalt, Gehalt an säureunlöslicher Asche und Gehalt an ätherischem Öl zu beachten. Die ätherischen Öl-Gehalte der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Gewürze sind in Tabelle 2 angeführt. Der Gehalt an ätherischem Öl ist von vielen Faktoren abhängig. Umweltfaktoren, wie Temperatur und Feuchte sowie der Entwicklungszustand der Pflanze bei der Ernte spielen für den Ölgehalt eine große Rolle [DACHLER und PELZMANN, 1999].

**Tabelle 2: Anteil ätherischer Öle und Trocknungsbedingungen ausgewählter Gewürze**

(\* HANDBUCH FÜR AROMEN UND GEWÜRZE, 2006; \*\* DACHLER und PELZMANN, 1999)

Gewürz	lat. Bezeichnung	Anteil ätherisches Öl (%)	Trocknungsbedingungen
Bärlauch	Allium ursinum		Trocknung und Lagerung führen zu Verlust des Ölgehaltes * Trocknung 40 °C, Eintrocknungsverhältnis 7 - 8:1 **
Basilikum	Ocimum basilicum	0,02 – 0,5 (frische Blätter); 1,5 (Droge) * 0,5 - 1,5 (Kraut) **	
Kardamom	Elettaria cardamomum	3 - 8 (Samen) *	
Koriander	Coriandrum sativum	0,2 - 1,5 * 0,5 - 1,5 **	
Ingwer	Zingiber officinale	1 - 3 *	
Kümmel	Carum carvi	3 - 8 (Kümmelfrüchte, abhängig vom Reifegrad) * 3 - 7 **	Trocknung 35 °C auf 12 % Feuchtigkeit **
Liebstöckel	Levisticum officinale	0,8 - 1,7 (Kraut) * bis 0,24 **	Trocknungstemperatur 55 - 60 °C, Restfeuchte 6 - 8 %, Eintrocknungsverhältnis 7 - 8:1 **
Macis	Myristica fragrans	bis zu 15 *	
Majoran	Origanum majorana	0,5 - 0,9; bis etwa 3 (erster Schnitt) * 1,3 (getrocknete Pflanze) **	Trocknung 35 - 45 °C **
Oregano	Origanum vulgare	Durchschnitt 0,15 - 0,4; 1-2,7 (Türkei); bis über 8 (wildwachsende Spezies) * 0,3 - 1,5 **	Eintrocknungsverlust beträgt 7 % **
Paprika (-pulver)	Capsicum annum	0,3 **	optimale Feuchtigkeit 10 % (Carotin optimale Farbstabilität) *
krause Petersilie	Petroselinum crispum	0,3 (Blatt) * 0,4 - 0,5 (schonend getrocknete Blätter) **	Trocknung 40 °C, Eintrocknungsverhältnis 7:1 **
Pfeffer	Piper nigrum	1 - 4,8 *	
Pfefferminze	Mentha piperita	2,5 (Blatt) **	
Schnittlauch	Allium schoenoprasum		Trocknungsverlust 85 % *
Thymian	Thymus vulgaris	bis zu 3,5 (deutscher), bis zu 6,5 (französischer) * 1,2 - 4 **	Trocknung 35 – 40 °C **
Winterhecke	Allium fistulosum		
Zitronenmelisse	Melissa officinalis	0,05 - 0,15 * 0,01 - 0,25 **	Trocknungstemperatur 35 - 40 °C, Restfeuchte 8 %, Eintrocknungsverhältnis 6 – 7:1**

### 3.3.2.2 Trocknungsmethoden

Die Konservierung von Pflanzen durch Trocknung dient vor allem zur Haltbarmachung und Weiterverarbeitung. Während der Trocknung muss das in die Zellstruktur eingebundene Wasser aus der internen Zellstruktur an die Oberfläche gebracht werden, um anschließend abtransportiert

werden zu können. Nach Deutschem Lebensmittelbuch sollten Gewürze nicht mehr als 12 % Wasser enthalten [DLB, 1998].

Zu den gebräuchlichen Trocknungsverfahren von Arzneipflanzen und Kräutern gehören die Konvektionstrocknung, Gefriertrocknung, Vakuumtrocknung und Kombinationstrocknung [LAXHUBER, 1998]. In der Praxis erfolgt meist die Trocknung durch thermische Energie. Je nach Erntegut kommen verschiedene Trocknerbauarten zum Einsatz. Getreidetrocknungsanlagen eignen sich für rieselfähige Körner wie Kümmel. Blüten, Früchte und Wurzeln werden hingegen meist mit Hilfe von Horden- und Bandtrocknern getrocknet [HEINDL und MÜLLER, 1997]. Trocknungsverfahren von Kräutern werden meist auf Grund von Investitionskosten und Abläufen in der Verfahrenskette ausgewählt. Ein Kriterium ist das Entfernen der Stängel, welches vor oder nach der Trocknung erfolgen kann, aber auf die Energiekosten und die Qualität Auswirkungen hat [HEINDL und MÜLLER, 1997].

Als Faustzahl des Eintrocknungsverhältnisses gilt Folgendes: 5 - 8:1 Blüten; 5 - 6:1 Kraut; 4 - 5:1 Wurzeln; 1,2 - 1,5:1 Früchte [DACHLER und PELZMANN, 1999]. Einige weitere Trocknungsbedingungen einzelner Gewürze sind in Tabelle 2 aufgelistet.

### 3.3.2.3 Extrakte

Extrakte von Gewürzen können industriell mit Hilfe von

- Mazeration (Vermischung des Extraktionsgutes mit Lösungsmittel, Abtrennen durch Filtration und Auspressen des Rückstandes)
- Digestion (Mazeration unter Temperatureinwirkung)
- Perkolation mit Lösungsmitteln (Durchfließen des Lösungsmittels durch das Extraktionsgut)
- Hochdruckextraktion
- Flüssig-Flüssig-Extraktion
- Wasserdampfdestillation
- Fraktionierte Destillation
- Extraktion mit überkritischen Gasen

hergestellt werden. Die dabei erhaltenen Extrakte werden anschließend durch verschiedene Verfahren aufkonzentriert und gereinigt.

#### 3.3.2.4 Geräucherte Gewürze – Pimentón

Um fleischlosen Gerichten ein Räucheraroma zu verleihen und das Raucharoma in Fleischerzeugnissen zu verstärken, können geräucherte Gewürze eingesetzt werden. Das bekannteste geräucherte Gewürz ist Pimentón, aus geräucherten Paprikaschoten, welches für die spanische Traditionswurst Chorizo verwendet wird. Um Pimentón herzustellen, werden die Schoten über Eichenholz geräuchert und getrocknet, bis das gewünschte Aroma und die Farbe erreicht sind. Die trockenen Schoten werden anschließend zu feinem Pulver vermahlen [PEPPERWORLD.COM, Juni 2007].

#### 3.3.2.5 PAK-Eintrag in Gewürze

Gewürzpflanzen können PAK entweder durch den Boden bzw. das Wasser über die Wurzeln oder durch den Luftweg über die Blätter akkumulieren. Abhängigkeiten und Mechanismen der Akkumulation von PAK in Pflanzen werden unter Punkt 3.3.3.3 PAK Eintrag in Tee allgemein behandelt und können sowohl auf Teepflanzen als auch auf Gewürzpflanzen angewendet werden.

Über PAK-Gehalte in Gewürzen existieren nur wenige Veröffentlichungen, in denen zumeist nur das BaP analytisch erfasst wurde. 1987 wurden von Stijve und Hischenhuber Gewürzextrakte auf ihre BaP-Gehalte untersucht. Dabei konnten in drei Paprikaextrakten 5, 14 und 220 µg BaP/kg ermittelt werden [STIJVE und HISCENHUBER, 1987]. Innerhalb dieser Arbeit wurden auch 10 verschiedene Gewürze analysiert. Die höchsten Gehalte an BaP wurden in Kardamom gefunden (7,5 µg/kg). Auch in der Arbeit von Potthast et al. (1977) wurden die Gehalte von BaP in verschiedenen Gewürzen analysiert, und der höchste Gehalt von 15,9 µg/kg wurde ebenfalls in gemahlenem Kardamom bestimmt. Eine im Juni 2007 veröffentlichte Datensammlung zu PAK-Gehalten in verschiedenen Lebensmitteln berichtet von BaP-Gehalten in Gewürzen und Kräutern (n = 21) im Median von 4,7 µg/kg [EFSA, 2007].

### 3.3.3 Tee

Der Begriff Tee bezeichnet „die gepflückten und nach den Ursprungsländern üblichen Verfahren aufbereiteten jungen Blätter und Blattknospen des immergrünen Teestrauches (*Camellia sinensis*)“ [RÖMPP, 1995]. Die lebensmittelrechtliche Beurteilung erfolgt nach den Leitsätzen des Deutschen

Lebensmittelbuches [DLB, 1999], DIN- und ISO-Normen sowie den allgemeinen Grundsätzen des Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuchs (LFGB) §§ 6, 7 und 11.

Im Jahr 2005 wurden 42.000 t Tee nach Deutschland eingeführt. Die Hauptlieferanten waren China (3.800 t), Indonesien (7.600 t), Indien (6.200 t) und Sri Lanka (5.200 t). Dabei ist Schwarztee beliebter als Grüner Tee [STATISTISCHES BUNDESAMT, Februar 2006].

Die *Bezeichnung* von Tee erfolgt unter anderem nach dem Anbaugebiet. So stehen zum Beispiel die Bezeichnungen „Darjeeling“ für in Indien (Himalayagebiet, Hochlage) und „Assam“ für in Nordindien hergestellten Tee. „Yünnan“ bezeichnet ein Anbaugebiet in China und „Ceylon“ in Sri Lanka. „First flush“, „second flush“ und „autumnal“ bezeichnen den Erntezeitpunkt (Anfang März, Mai bis Mitte Juni und Oktober/November). Zu den Elementen der Kennzeichnung zählt weiterhin die Blatt-Gradierung.

### 3.3.3.1 Herstellung

Nach dem Pflücken verschiedener Pflanzenteile erfolgt das *Welken*. Zum Welken (Abbildung 6) werden die Blätter in einer dünnen Schicht ausgebreitet, um den Wassergehalt (von ca. 75 % auf 55 – 65 %) zu senken. Dabei wird die Zellwand permeabel und flexibel. Dieser Schritt ist notwendig, damit die Blätter beim anschließenden Rollen nicht brechen. Bereits beim Welken, welches bei 25 bis 35 °C vier bis acht Stunden dauert, laufen zahlreiche chemische Reaktionen ab, die zur Bildung von Vorläufern zahlreicher Aromastoffe führen. Das *Rollen* ist ein mehrstufiger maschineller Prozess, bei dem die Blattzellen aufgebrochen werden, um dem Sauerstoff aus der Luft Zugang für die anschließende Oxidation zu ermöglichen. Der Zellsaft wird dabei herausgepresst.



**Abbildung 6: Welken und Rollen in einer Teefabrik, (Quelle: Deutscher Teeverband e.V.)**

Innerhalb der nächsten Stunden erfolgt der Oxidationsprozess (Abbildung 7). Bei diesem auch als Fermentation bezeichneten Vorgang werden die Blätter Frischluft und hoher Luftfeuchtigkeit

ausgesetzt. Infolge der Phenoloxidation von Flavanolen kommt es während der Fermentation zur Bildung von Farb- und Aromastoffen.

Für die Produktion von Grünem Tee werden die Blätter zur Inaktivierung der Oxidasen nicht gewelkt, sondern nur geröstet (China) oder gedämpft (Japan). Ausschlaggebend ist jedoch, dass Grüner Tee nicht fermentiert wird.

Im Anschluss erfolgt das *Trocknen*, wodurch der Wassergehalt weiter reduziert wird und der Tee seine Haltbarkeit erhält. Gleichzeitig werden die Enzyme inaktiviert. Das Trocknen erfolgt in Bandtrocknern mit Heißluft im Gegenstrom. Es folgen *Zerkleinerungs- und Siebvorgänge*.

Mit Hilfe spezieller Verarbeitungsmethoden, z. B. dem CTC-Verfahren (crushing, tearing, curling = zermahlen, zerreißen, rollen) kann die Zeit einzelner Verarbeitungsschritte verkürzt werden.



**Abbildung 7: Fermentieren in einer Teefabrik (links) und Tee vor und nach Fermentation (rechts), (Quelle: Deutscher Teeverband e.V.)**

Heute werden vier traditionelle Formen der Tees unterschieden, die sich vor allem im Grad der Fermentation unterscheiden:

- *Weißer Tee*: nur ungeöffnete Blattknospen werden luftgetrocknet, kurz erhitzt und noch einmal an der Luft getrocknet
- *Grüner Tee*: unfermentierter Tee
- *Oolong Tee*: halbfermentierter Tee
- *Schwarztee*: fermentierter Tee.

Tee-Extrakte werden mit Hilfe von wässrigen Auszügen gewonnen, die später eingeeignet oder gefriergetrocknet werden.

### 3.3.3.2 Teeähnliche Getränke

Teeähnliche Erzeugnisse sind Pflanzenteile, die nicht vom Teestrauch stammen. Die Bezeichnung erfolgt meist nach der Art der verwendeten Pflanzenteile, z. B. Pfefferminztee oder Hibiskustee. Bei Verwendung mehrerer Pflanzenarten können Sammelbezeichnungen genutzt werden (Kräutertee, Früchtetee, usw.).

Ein weiteres teeähnliches Getränk ist Mate-Tee, der im Folgenden näher erläutert wird. Mate-Tee stammt von einheimischen Stechpalmenarten (*Ilex paraguayensis*) in Südamerika. Mate-Blätter werden nach der Ernte kurzzeitig stark erhitzt, um die Oxidasen zu inaktivieren. Dadurch kommt es zur Aromabildung, und die grüne Farbe bleibt erhalten. Dafür werden die Blätter in einem bis zu 350 °C heißen rotierenden Metallzylinder kurzzeitig erhitzt oder über offenem Holzfeuer geschwelt. Im Anschluss werden die Blätter bis zum gewünschten Wassergehalt getrocknet, zerkleinert und mehrere Monate gelagert [SLMB (Schweizerisches Lebensmittelbuch), 2000; SCHNEIDER et al., 2006]. Durch anschließendes Rösten des Materials können geröstete Mateblätter gewonnen werden [SCHNEIDER et al., 2006].

### 3.3.3.3 PAK-Eintrag in Tee

Ursachen für einen Eintrag von PAK in Tee sind atmosphärische Verschmutzung und technologische Prozesse (Rösten, Trocknen) [SCHLEMITZ und PFANNHAUSER, 1997]. Dies bestätigen auch Untersuchungen von Lin und Zhu (2004). Innerhalb dieser Untersuchungen wurden Teeproben nach den einzelnen Verarbeitungsschritten auf ihre PAK-Gehalte untersucht. Dabei konnte festgestellt werden, dass die Abgase der Trocknungsanlagen für die Kontaminationen verantwortlich sind.

Es können zwei Aufnahmewege unterschieden werden: Pflanzen können zum einen PAK über die Wurzeln abhängig von der Oberfläche und vom Lipidgehalt der Wurzeln akkumulieren. Je größer die Oberfläche und je höher der Lipidgehalt, desto mehr PAK können akkumulieren [LIN et al., 2006b; GAO und ZHU, 2004]. PAK werden an der Epidermis der Wurzel absorbiert, penetrieren durch die Epidermis und werden durch das Xylem zu den Blättern transportiert [LIN et al., 2006b]. Der größte Teil der PAK-Gehalte befindet sich auf der Oberfläche. So bewirkt auch ein Schälen von Gemüse (Karotten und Kartoffeln) eine Abnahme der PAK-Konzentrationen [SPEER et al., 1990; SAMSOE-PETERSEN et al., 2002]. Zum anderen können Pflanzen PAK über Luft akkumulieren. Blätter weisen höhere Gehalte als die Stängel auf. PAK-Verteilungskoeffizienten zwischen Atmosphäre und Vegetation sind abhängig von den temporären Temperaturen und der

PAK-Konzentration in der Atmosphäre. Pflanzen mit starker Kutikula weisen höhere PAK-Gehalte auf, demzufolge besteht auch eine Abhängigkeit der PAK-Gehalte von der Art der Oberfläche.

Hohe PAK-Konzentrationen in Pflanzen im Frühjahr und Herbst sowie niedrige PAK-Konzentrationen im Sommer zeigen, dass bei hohen Temperaturen auf den Blättern akkumulierte PAK wieder verdampfen und zurück in die Atmosphäre gelangen [SIMONICH und HITES, 1994]. Einige PAK können in der Wachsschicht der Kutikula gebunden werden, in diese eindringen und durch das Phloem transportiert werden. Untersuchungen zeigen jedoch, dass ein Transport von PAK von den Blättern zu den Wurzeln gering ist [LIN et al., 2006b].

Bisher veröffentlichte Daten zu PAK-Gehalten in Tee und Teeaufgüssen unterscheiden sich in den Analysemethoden und hinsichtlich der untersuchten PAK (Tabelle 3 und Tabelle 4).

**Tabelle 3: Literaturangaben zu PAK-Gehalten in Tee - 1**

Literaturstelle	Probenmaterial	Untersuchte PAK	Gehalte an PAK
RUSCHENBURG und JAHR, 1986	17 Schwarztees, 10 Rauch-Tees, 19 Mate-Blätter (grün), 12 Mate-Blätter (geröstet) Aufgüsse von Mate-Tee	BaP	BaP 0,5 – 715 µg/kg BaP <sub>Schwarztee</sub> < BaP <sub>Rauch-Tee</sub> < BaP <sub>Mate grün</sub> < BaP <sub>Mate geröstet</sub> BaP-Übergang 0,2 - 1,9 %
SPEER, 1994	3 russische und 5 chinesische Teemischungen, 1 russischer und 1 chinesischer Rauchtee	BaP	BaP 3,2 – 20,1 µg/kg
ESKINJA et al., 1995	Lindenblütentee, Kamillentee, Malventee, jeweils frisch und im Teebeutel	EPA-PAK (ohne ACY)	BaP < 0,1 – 1,2 µg/kg
SCHLEMITZ und PFANNHAUSER, 1997	Assam Tee, Earl Grey, Ceylon Tee, Darjeeling, Mate Tee geröstet, Mate Tee, Formosa Sencha (Grüner Tee), Nessel Blatt Tee, Pfefferminztee, Fencheltee (instant), Früchtetee (instant)	EPA-PAK	PAK 9, 6- 7536,3 µg/kg BaP 0,3 - 542,3 µg/kg PAK <sub>Median</sub> 113,1 µg/kg BaP <sub>Median</sub> 1,8 µg/kg
SHATTA, 1999	25 verschiedene Tees	EPA-PAK (ohne ACY, FLU, NA)	PAK 50 – 730 µg/kg BaP ND – 288 µg/kg
FIEDLER et al., 2002	2 Grüne Tees, 2 Broken Tees	EPA-PAK	PAK: Grüner Tee 497, 517 µg/kg Broken Tee 1048, 1162 µg/kg BaP: Grüner Tee 7,4; 9,7 µg/kg Broken Tee 10,7; 12,6 µg/kg
LIN und ZHU, 2004	Schwarztee	EPA-PAK	PAK 9650 ± 1200 µg/kg BaP 61,0 ± 9,8 µg/kg
CIEMNIAK, 2005	Kräuter- und Früchtetees	EPA-PAK	PAK 48,3 – 1703 µg/kg BaP 74,2 µg/kg (Lime-Tee)

ND nicht detektierbar

**Tabelle 4: Literaturangaben zu PAK-Gehalten in Tee - 2**

Literaturstelle	Probenmaterial	Untersuchte PAK	Gehalte an PAK
LIN et al., 2005	2 Grüne Tees, Schwarztee, Oolong Tee, Puerh Tee, Brick Tee, Jasmin Tee, Kuding Tee + Aufguss von einem Schwarztee	EPA-PAK	PAK 323 – 8800 µg/kg BaP ND – 39, 7 µg/kg PAK <sub>Median</sub> 7,27 µg/kg BaP <sub>Median</sub> 6,5 µg/kg Aufguss (ausgehend von Schwarztee 8800 µg PAK/kg) 28,2 µg PAK/l nach 30 min
Fontcuberta et al., 2006	17 Tees	BaP, BeP, BkF, IcP, BgP, DhA, BbF, BaA	PAK 59 ± 51 µg/kg BaP 10,3 ± 9,05 µg/kg
Kayali-Sayadi et al., 1998	Aufgüsse: 5 Schwarztees, Grüner Tee, entkoffeinierter Tee	PHE, BeP, BgP, BaP, FLU, PYR, DhA, BaA	PAK 28,7 – 112 ng/l
Camargo und Toledo, 2002	Aufgüsse von Mate-Tee	FLU, PYR, BaA, CHR, BeP, BaP, BbF, BkF, DhA, BgP	PAK 0,7 µg/kg BaP 0,07 µg/kg
Ciemniak, 2004	Aufgüsse: 4 Pfefferminz-, 5 Kamillen-, 12 Früchte-, 3 arom. Schwarztees, 4 Hibiskustees, 1 Lime-Tee, 3 Grüne Tees, 1 Schwarztee, 1 Earl Grey Tee	EPA-PAK	PAK 54,5 ng/l (Hibiskustee) – 743,6 ng/l (Grüner Tee) BaP 13, 9 ng/l (Schwarztee)
Zuin et al., 2005	Aufgüsse: 11 Mate Tees	EPA-PAK (ohne ACY)	PAK 641,8 - 1750,3 µg/l BaP ≤ LOD - 22,6 µg/l PAK <sub>Median</sub> 1037 µg/l BaP <sub>Median</sub> 11,6 µg/l LOD (1 - 5 µg/l)
Bishnoi et al., 2005	Aufgüsse 5 verschiedener Tees	EPA-PAK (aber: Per anstatt CHR)	PAK 18,8 – 31,4 µg/l PAK <sub>Median</sub> 27,6 µg/l BaP < 0,022 µg/l
LIN et al., 2006a	Grüner Tee, Oolong Tee, 2 Schwarztees, inklusive deren Aufgüsse	EPA-PAK (außer BaA, BbF, ACY, CHR)	PAK 257 - 2370 µg/kg BaP 4 – 20 µg/kg Aufguss: Übergang PAK 5 – 11 % Übergang BaP ND – 0,4 %

ND nicht detektierbar, LOD Nachweisgrenze

Mate-Tee wies die höchsten Belastungen an PAK auf [Schlemitz und Pfannhauser, 1997]. Die bereits veröffentlichten Daten zeigen, dass Schwarztee höher mit PAK belastet ist als Grüner Tee [Lin et al., 2005; Lin et al., 2006a; Fiedler et al., 2002]. Untersuchungen von Aufgüssen ergaben, dass für die meisten PAK ein Übergang von max. 11 % ermittelt wurde [Lin et al., 2005]. Sowohl

das Wasser/Tee-Verhältnis als auch die Ziehzeit spielten eine Rolle. Ein Wasser/Tee-Verhältnis von 50/1 [LIN et al., 2006a] und eine Ziehzeit von unüblichen 30 min [LIN et al., 2005] erbrachten den maximalen Übergang der PAK vom Tee in den Aufguss.

Mit Hilfe ihrer Untersuchungen zur PAK-Belastung in Teeblättern und Aufgüssen von Schwarztee schätzten Lin et al. (2005) das potentielle Gesundheitsrisiko durch die 16 EPA-PAK in Teeblättern ab. Beim täglichen Verzehr einer Aufgussmenge, hergestellt mit 10 g getrocknetem Schwarztee und einer Ziehzeit von 10 min, ist mit einer Aufnahme von 6,36 µg EPA-PAK/Tag zu rechnen.

### 3.3.4 Schokolade

Schokolade ist ein kakaohaltiges Lebens- und Genussmittel. Dabei handelt es sich um ein „Erzeugnis aus Kakaoerzeugnissen und Zuckerarten, das mindestens 35 Prozent Gesamtkakaotrockenmasse, davon mindestens 18 Prozent Kakaobutter und mindestens 14 Prozent fettfreie Kakaotrockenmasse enthält“ [VERORDNUNG ÜBER KAKAO- UND SCHOKOLADENERZEUGNISSE, 2003]. Die Bezeichnung Schokolade kann ergänzt werden, was unterschiedliche Mindestanforderungen der einzelnen Kakaobestandteile zur Folge hat. Zur lebensmittelrechtlichen Beurteilung ist neben den allgemeinen lebensmittelrechtlichen Vorschriften (LFGB) die Kakaoverordnung heranzuziehen.

Nach der Verordnung über Kakao- und Schokoladenerzeugnisse (2003) gilt weiterhin Folgendes:

Milkschokolade	mind. 25 % Gesamtkakaotrockenmasse mind. 14 % Milchtrockenmasse mind. 2,5 % fettfreie Kakaotrockenmasse mind. 3,5 % Milchfett mind. 25 % Gesamtfettgehalt aus Kakaobutter und Milchfett
Weißer Schokolade	mind. 20 % Kakaobutter mind. 14 % Milchtrockenmasse (davon mind. 3,5 % Milchfett).

Schokoladen, die mit Qualitätshinweisen wie „fein“ und „edel“ gekennzeichnet sind, enthalten mindestens 43 % Gesamtkakaotrockenmasse (davon mindestens 26 % Kakaobutter). Durch unterschiedliche Anteile von Kakaomasse und Kakaobutter können verschiedene Geschmacksnoten

erreicht werden. So werden zum Beispiel Schokoladen mit mindestens 50 % Gesamtkakaotrockenmasse als „Halb-/Zartbitter“ und Schokoladen mit mindestens 60 % Gesamtkakaotrockenmasse als „Edel-/Extrabitter“ bezeichnet. Diese Richtwerte sind jedoch nicht durch eine Richtlinie oder Verordnung festgelegt, sondern entsprechen den allgemeinen Verbrauchererwartungen und dem Handelsbrauch.

Der Pro-Kopf-Verbrauch von Schokolade und Schokoladenwaren betrug im Jahr 2005 8,49 kg [Bund der deutschen Süßwarenindustrie (BDSI) 07/2006].

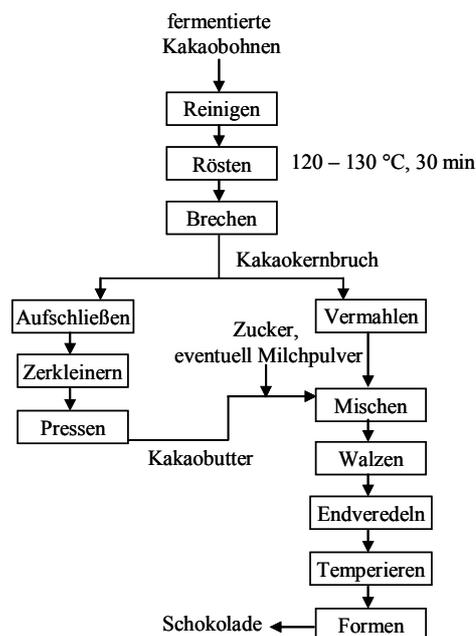
#### 3.3.4.1 Herstellung

Hauptbestandteil der Schokolade ist u. a. Kakao. 2004/2005 wurden weltweit 3.327.500 t Kakao geerntet, davon 2.334.300 t in Afrika und davon wiederum 1.275.900 t in der Elfenbeinküste, welches den größten Anteil am Rohkakaobau weltweit leistet [Bund der deutschen Süßwarenindustrie (BDSI) 07/2006].

In seiner Ursprungsform wurde Schokolade durch Verreiben von Zucker mit Kakaobohnen hergestellt. Heute wird eine Vielzahl von Einzelschritten benötigt, um eine geschmacklich hochwertige, homogene, struktur- und formbeständige Schokolade zu erreichen.

Die vom Fruchtfleisch befreiten Samen des Kakaobaumes (*Theobroma cacao*), die Kakaobohnen, werden nach der Ernte und vor dem Trocknen dem Roten unterworfen. Dafür werden die Samen inklusive dem anhaftendem Fruchtfleisch 2 bis 8 Tage mit dem notwendigen Sauerstoff dem Gärprozess zur Fermentation ausgesetzt. Nach alkoholischer Gärung und Bildung von Essigsäure, Aroma und Farbe läuft das enzymatisch abgebaute Fruchtmus als Gärtsaft ab. Während der Fermentation geht die Keimfähigkeit verloren. Nach einem anschließenden Waschprozess werden die Bohnen getrocknet (6 - 8 % Restwassergehalt). Die Herstellung von Schokolade ist ausgehend von den fermentierten Kakaobohnen in Abbildung 8 dargestellt. Der Verlauf des Röstprozesses wird durch Reifegrad, Wassergehalt, Bohnengröße, -sorte und Vorbehandlung der Bohnen in seinem Verlauf bestimmt. Die für das Rösten verwendeten Apparaturen können im Chargenbetrieb oder kontinuierlich eingesetzt werden. Die Wärmeübertragung auf die Bohnen erfolgt durch beheizte Flächen oder durch strömende heiße Luft. Nach dem Abkühlen werden die gerösteten Bohnen abgekühlt, gebrochen und gereinigt. Die Ausbeute beträgt 78 - 80 % Kakaokernbruch. Die Kakaokerne werden anschließend zerkleinert und vermahlen, wobei eine homogene, fließfähige Kakaomasse entsteht. Diese Kakaomasse besitzt 52 - 58 % Kakaobutter. Um diese Butter zu gewinnen, wird die Masse auf ca. 100 °C erwärmt und mit Hilfe von Pressen von den Gewebsteilen separiert. Der zum anderen entstandene Presskuchen wird anschließend zerkleinert, gemahlen und gesichtet und dann als Kakaopulver weiter verwendet.

Die Schokoladengrundmasse entsteht durch Mischen und Kneten von Kakaomasse, Kakaobutter und Kristallzucker. Um eine Teilchengröße der Kakaopartikel von weniger als 30 - 40 µm zu erreichen, wird die Grundmasse gewalzt. Durch anschließendes Reiben, Rühren und Kneten während des Conchierprozesses wird die Endveredelung bei 65 - 76 °C durchgeführt. Dadurch entsteht eine gleichmäßige Fettverteilung und der Wassergehalt sinkt. Eine Zugabe von Lecithin, welches gleichzeitig als teilweiser Ersatz von Kakaobutter verwendet wird, führt zur Absenkung der Fließgeschwindigkeit und der Viskosität der Masse. Struktur und Aussehen der Schokolade werden durch temperatur- und zeitkontrollierte Kristallisationsprozesse erreicht.



**Abbildung 8: Flussschema der Schokoladenherstellung**

#### 3.3.4.2 PAK-Eintrag in Schokolade

Die Lagerung und der Transport von Kakaobohnen erfolgt hauptsächlich in Jute- oder Sisalsäcken. Bei der Herstellung dieser Säcke werden die Pflanzenfasern der Jute vor dem Verspinnen mit „Batching-Öl“ gewalkt, um das Gewebe geschmeidiger zu machen. „Batching-Öl“ besteht normalerweise aus einer ungereinigten Erdölfraction. Durch mit Mineralöl-Produkten behandelte Jutesäcke können somit Kakaobohnen mit PAK kontaminiert werden [GROB et al., 1993]. Allerdings deuten Untersuchungen von 1997 daraufhin, dass auf Grund der untersuchten Alkananteile in Schokolade und verschiedenen Ölen Schmier- und hydraulische Öle für PAK-Kontaminationen verantwortlich sein könnten [MORET et al., 1997]. 1998 legte die Internationale Jute Organisation Standards für die Herstellung von Jute-Säcken fest [IJO, 1998]. Danach sollen die Bestandteile des Batching-Öls nicht-toxisch und Jute-Säcke ein geeignetes

Verpackungsmaterial für Lebensmittel sein.

Nach diesen Erkenntnissen kann der PAK-Eintrag in Schokolade nicht nur durch die Kakaobohnen erfolgen, sondern auch durch Haselnüsse, Mandeln, usw., da auch diese Zutaten in Jute- oder Sisalsäcken transportiert werden können.

Der Trocknungsprozess der fermentierten Kakaobohnen im Ursprungsland stellt eine weitere PAK-Eintragsquelle dar. Die Röstung, die in der Regel in den kakaoverarbeitenden Industriestaaten erfolgt, trägt durch die moderne Technik weniger zur Belastung bei.

Bisher liegen wenige Daten über PAK-Gehalte in Schokolade vor. BaP-Konzentrationen in einem Bereich von 0,13 – 0,32 µg/kg konnten von Dennis et al. (1991) ermittelt werden. Für diese Ergebnisse wurden sechs Proben analysiert. Einen Gehalt von 0,33 µg BaP/kg analysierten Lodovici et al. (1995) nach dem Zusammenfügen drei verschiedener Marken von Schokolade. Auch schokoladenähnliche Produkte wurden in einigen Arbeiten auf ihre PAK-Gehalte untersucht. In Schokoladenkuchen konnten 0,18 µg BaP/kg nachgewiesen werden [KAZEROUNI et al., 2001].

Eine im Juni 2007 veröffentlichte Datensammlung zu PAK-Gehalten in verschiedenen Lebensmitteln berichtet von BaP-Gehalten in Kakao und Schokolade (n = 130) im Median von 0,3 µg/kg [EFSA, 2007].

Eine Untersuchung von 25 Bitterschokoladen der Stiftung Warentest im Jahre 2007 erbrachte einen unerwarteten Fund in einer Bio Edelbitterschokolade. In dieser Schokolade wurde im Gegensatz zu den restlichen Proben ein sehr hoher Gehalt an BaP von 10 µg/kg bestimmt. Auf PAK wurde gemäß der Methode der Deutschen Gesellschaft für Fettwissenschaften (DGF) geprüft. Wie die PAK in die Schokolade gelangten, konnte innerhalb dieser Untersuchung nicht geklärt werden. [STIFTUNG WARENTEST, 2007]

## 4 Experimenteller Teil

Neben der Leitsubstanz Benzo[a]pyren wurden in der Vergangenheit vielfach noch weitere, so genannte EPA-PAK bestimmt, die in den 70er Jahren von der amerikanischen Umweltbehörde (EPA) als am häufigsten in der Umwelt vorkommenden PAK-Verbindungen identifiziert worden waren [EPA, 1982]. Da mittlerweile Zweifel bestehen, ob Benzo[a]pyren als alleinige Leitsubstanz geeignet ist, um die Belastung von Lebensmitteln mit PAK richtig einschätzen zu können, empfiehlt die EU-Kommission den einzelnen EU-Mitgliedsstaaten, die Untersuchung der PAK auf die SCF-PAK auszudehnen [2005/108/EG]. Diese Gruppe von PAK wurde vom Wissenschaftlichen Ausschuss für Lebensmittel (SCF) als kanzerogen eingestuft [SCF, 2002]. Diese neue Liste des SCF unterscheidet sich von der Liste der EPA-PAK (siehe Punkt 3.1.2). Die EFSA empfiehlt zudem, das vom gemeinsamen FAO/WHO-Sachverständigenausschuss für Lebensmittelzusatzstoffe (JECFA) als besonders relevant eingeschätzte Benzo[c]fluoren (BcL) analytisch zu erfassen [JECFA/64/SC]. Um die Gehalte dieser 16 EFSA-PAK (15 SCF-PAK + 1 JECFA-PAK) in Lebensmitteln zuverlässig quantifizieren zu können, ist daher eine exakte, empfindliche Analysenmethode notwendig.

### 4.1 Analytische Methoden

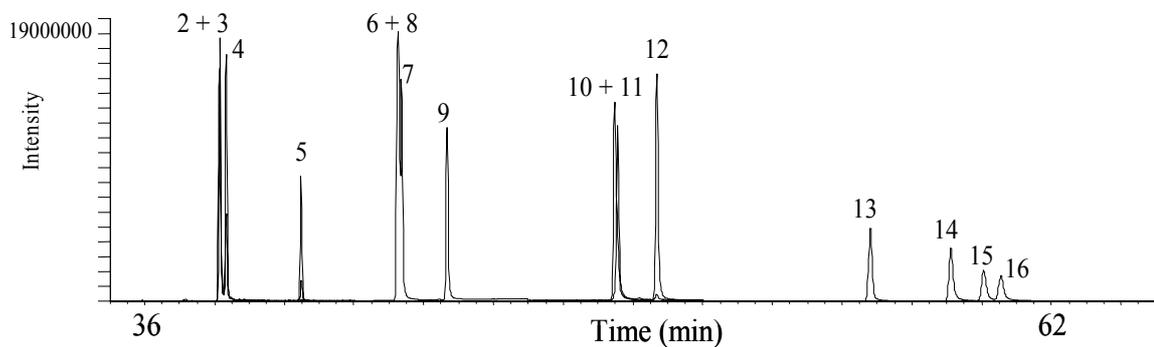
#### 4.1.1 Grundzüge der bereits vorhandenen Analytik

Die im Folgenden vorgestellte Analysenmethode für PAK baut auf der von Jira (2004) publizierten Methode auf. Für die Analytik von FLU, PYR, BaA, CHR, Bb+jF, BkF, BaP, IcP, DhA und BgP wurden innerhalb dieser Arbeit von Jira (2004) die beschleunigte Lösungsmittelextraktion (ASE), die Gelpermeationschromatographie (GPC) und die Festphasenextraktion (SPE) zur Probenaufarbeitung verwendet. Die Probenaufarbeitung dieser bereits am Max Rubner-Institut (MRI) in Kulmbach etablierten Methode wurde für die Analytik der 16 EFSA-PAK angepasst und für verschiedene Lebensmittelgruppen optimiert.

Für die gaschromatographische Trennung kam eine Säule mit einem Anteil von 5 % Polyphenylsiloxan (ZB-5ms, 60 m x 0,25 mm x 0,25 µm) zum Einsatz [JIRA, 2004]. Die ursprüngliche Methode arbeitete mit konstantem Fluss (siehe unter Punkt 8.5, Tabelle 40). Für die Identifizierung und Quantifizierung wurde ein hochauflösendes Massenspektrometer (HRMS) verwendet. Entscheidender Nachteil dieser Methode ist die ungenügende Effektivität der Trennleistung der GC-Säule. Eine Trennung von BaA und CPP, sowie eine Trennung von BbF und BjF konnte nicht gewährleistet werden (Abbildung 9). Erste Versuche, die Dibenzpyrene

gaschromatographisch auf der ZB-5ms mit zu erfassen, erfolgten durch Verlängerung des Temperaturprogrammes. Um die Trennleistung der Methode im Hinblick auf einige Isomere zu verbessern und weiterhin alle 16 EFSA-PAK zu erfassen, wurde eine modifizierte Methode erarbeitet. Dafür wurde eine polarere Säule verwendet, mit deren Hilfe die Trennleistung entscheidend verbessert werden konnte.

Die ersten Untersuchungen zur Abhängigkeit des PAK-Gehaltes von der eingesetzten Räucher- und Gärungsmethode in Fleischerzeugnissen erfolgten jedoch noch mit der von Jira vorgestellten Methode [JIRA, 2004].



**Abbildung 9: Chromatogramm der 15 SCF-PAK (ZB-5ms), (konst. Druck), (2 BaA, 3 CPP, 4 CHR, 5 5MC, 6 BbF, 7 BkF, 8 BjF, 9 BaP, 10 IcP, 11 DhA, 12 BgP, 13 DIP, 14 DeP, 15 DiP, 16 DhP)**

#### 4.1.2 Optimierung der Analysenmethode zur Bestimmung der EFSA-PAK in verschiedenen Lebensmittelgruppen

##### 4.1.2.1 Probenaufarbeitung

Die einzelnen Schritte der Probenaufarbeitung werden detailliert unter Punkt 8.2 beschrieben. Je nach zu untersuchendem Lebensmittel mussten einzelne Teile der Probenvorbereitung variiert werden. Die Analyse von Fleischerzeugnissen startete nach der Zerkleinerung und Homogenisation des Probenmaterials mit der ASE; die Analyse von Speiseölen nach Lösen in Cyclohexan/Ethylacetat (1:1, v/v) mit der GPC.

Im Folgenden wird die Optimierung der Probenaufarbeitung näher erläutert.

#### 4.1.2.1.1 Extraktion

Um die Extraktion zu beschleunigen und den Lösungsmittelverbrauch zu reduzieren, kann die Extraktionskinetik erhöht werden. Dies ist mit Hilfe hoher Temperaturen möglich. Die Desorption der Analyten von der Matrix sowie der Lösungsprozess laufen bei höheren Temperaturen schneller ab. Um die Lösungsmittel oberhalb des Siedepunktes als Flüssigkeit zu handhaben, muss der Druck während der Extraktion erhöht werden. Die ASE stellt ein solches Extraktionsverfahren dar. Zur Abschätzung der Extraktionszeit kann die RGT-Regel (Reaktionsgeschwindigkeit-Temperatur-Regel) herangezogen werden. Bei einer Temperaturerhöhung um 10 °C steigt die Reaktionsgeschwindigkeit um den Faktor zwei bis drei. Innerhalb dieser Arbeit wurde die ASE-Extraktion, die bereits von Jira (2004) beschrieben worden war, für die PAK-Analytik von Fleischerzeugnissen, Rauchwürzern und Räuchersalzen, Gewürzen, Tee und Schokolade genutzt. Für die Probenmatrix Tee musste die ASE-Methode modifiziert werden, und für Därme wurde stets die Soxhletextraktion verwendet.

Um die PAK-Extraktion mit Hilfe der ASE zu überprüfen, wurden einige ausgewählte Proben vergleichend zur ASE-Extraktion verseift und anschließend mit Flüssig-Flüssig-Extraktion aufgearbeitet. Mit Hilfe der Verseifung als Vergleichsmethode wurde kontrolliert, ob die ASE-Extraktion ausreichend ist, um auch partikelgebundene PAK zu extrahieren. Als Probenmaterialien dienten stellvertretend für die Fleischerzeugnisse eine Brühwurst (Wiener Würstchen) und ein Kochschinken und für die Gewürze zwei Blattgewürze (Bärlauch und Thymian) und zwei nicht-Blattgewürze (Ingwer und Kardamom). Beide Probenansätze (ASE und Verseifung) wurden im Anschluss an die Extraktion gleich behandelt (GPC, SPE und GC-HRMS), um lediglich den Einfluss des ersten Aufarbeitungsschrittes beurteilen zu können. Es wurden pro Extraktionsmethode drei Proben bei den Fleischerzeugnissen aufgearbeitet, um gleichzeitig die Reproduzierbarkeit zu testen. Bei den Gewürzen wurde jeweils nur eine Probe analysiert. Die ermittelten Ergebnisse (Tabelle 5 und Tabelle 6) verdeutlichen, dass die ASE als erster Extraktionsschritt ausreichend ist, da mit diesem Verfahren annähernd die gleichen Ergebnisse erzielt werden konnten wie bei der Verseifung. Die Auswertung der Chromatogramme der Proben, die verseift wurden, erwies sich jedoch als schwieriger, da die Grundlinie ein deutlich höheres Grundrauschen aufwies. Bei den verseiften Gewürzen war die Auswertung der Massenspur des BcL nicht möglich, da diese Massenspur 216 mit vielen Störpeaks von Interferenzen belastet war. Die vergleichbaren PAK-Gehalte, mit Ausnahme des Gehaltes an BcL, der Fleischerzeugnisse und Gewürze sowie die höheren Standardabweichungen (s) der verseiften Fleischerzeugnisse sprechen dafür, dass die ASE zur ausreichenden und reproduzierbaren PAK-Extraktion für diese beiden Lebensmittelgruppen geeignet ist.

**Tabelle 5: Vergleich von ASE und Verseifung in der PAK-Analytik von Fleischerzeugnissen [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]**

	geräucherter Kochschinken (n = 3)				Wiener Würstchen (n = 3)			
	ASE		Verseifung		ASE		Verseifung	
	MW	s	MW	S	MW	s	MW	s
BcL	1,04	0,07	1,50	0,23	0,13	0,02	0,26	0,06
BaA	1,77	0,12	1,82	0,14	0,13	0,01	0,15	0,003
CHR + TP	2,02	0,14	2,03	0,22	0,21	0,02	0,30	0,01
CPP	1,13	0,12	1,03	0,14	0,12	0,01	0,11	0,01
SMC	0,23	0,02	0,26	0,05	0,02	0,002	0,04	0,01
BbF	0,77	0,07	0,77	0,10	0,06	0,002	0,09	0,01
BkF	0,57	0,05	0,60	0,08	0,03	0,001	0,04	0,003
BjF	0,84	0,10	0,88	0,15	0,04	0,003	0,05	0,01
<b>BaP</b>	<b>1,01</b>	<b>0,01</b>	<b>1,01</b>	<b>0,07</b>	<b>0,05</b>	<b>0,002</b>	<b>0,05</b>	<b>0,004</b>
IcP	0,55	0,05	0,72	0,19	0,03	0,002	0,04	0,01
DhA	0,15	0,01	0,23	0,03	0,01	0,001	0,01	0,001
BgP	0,53	0,06	0,61	0,04	0,06	0,01	0,06	0,01
DlP	0,09	0,00	0,10	0,01	< 0,01	-	< 0,01	-
DeP	0,10	0,01	0,12	0,01	< 0,01	-	< 0,01	-
DiP	0,04	0,01	< 0,03	0,01	< 0,01	-	< 0,01	-
DhP	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	-	< 0,01	-
PAK <sub>ges</sub>	10,85		11,72		0,93		1,24	

Durch die bessere Reproduzierbarkeit und die Automatisierung wird die Probenvorbereitung sicherer, leichter und schneller. Auch die Lösungsmittelmenge ist bei diesem Verfahren geringer als bei anderen Extraktionstechniken. Das führt zu dem Schluss, dass die ASE für die PAK-Extraktion bei diesen Lebensmittelgruppen anwendbar ist.

**Tabelle 6: Vergleich von ASE und Verseifung in der PAK-Analytik von Gewürzen [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]**

	Bärlauch		Thymian		Kardamom		Ingwer	
	ASE	Verseifung	ASE	Verseifung	ASE	Verseifung	ASE	Verseifung
BcL	1,15	n. a.	0,17	n. a.	0,54	n. a.	0,82	n. a.
BaA	3,13	3,95	1,73	1,03	4,65	5,14	5,09	6,10
CHR + TP	16,95	18,52	3,60	3,51	6,65	7,72	10,56	10,88
CPP	0,26	0,20	0,12	0,08	3,37	2,19	0,66	0,50
SMC	0,35	0,59	0,12	0,08	0,59	0,37	2,03	1,75
BbF	5,57	6,65	2,44	1,88	2,59	2,28	4,97	4,61
BkF	2,56	2,86	1,15	0,97	1,33	1,28	1,21	1,34
BjF	3,51	3,82	1,17	1,01	1,88	1,71	1,50	1,45
<b>BaP</b>	<b>1,85</b>	<b>2,01</b>	<b>1,43</b>	<b>1,16</b>	<b>1,98</b>	<b>1,60</b>	<b>2,46</b>	<b>2,04</b>
IcP	2,83	2,98	1,19	0,99	0,89	0,65	1,07	0,73
DhA	0,47	0,44	0,25	0,21	< 0,09	0,10	0,77	0,52
BgP	2,61	2,48	1,22	1,58	1,07	1,19	1,91	2,03
DlP	0,26	0,19	< 0,03	0,08	< 0,09	< 0,09	< 0,09	0,12
DeP	0,29	0,32	0,10	0,20	< 0,09	0,10	0,38	0,35
DiP	0,16	0,08	0,18	0,18	< 0,03	< 0,03	< 0,09	< 0,03
DhP	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
PAK <sub>ges</sub>	41,98	45,12	14,93	12,99	25,87	24,48	33,64	32,48

n. a. nicht auswertbar

## 4.1.2.1.2 Gelpermeationschromatographie

Die Gelpermeationschromatographie (GPC) dient als Reinigungsschritt, indem sie auf Grund der unterschiedlichen Molekülgrößen Fette und Eiweiße von niedermolekularen Verbindungen wie den PAK abtrennt. Zu diesem Zweck wurde eine Glassäule mit 60 g Polystyrolgel (Bio Beads SX-3) gefüllt. Als Elutionsmittel diente ein Gemisch zu gleichen Teilen aus Cyclohexan und Ethylacetat. Die gleichen GPC-Bedingungen (stationäre und mobile Phase, sowie der Fluss von 5 ml/min) wurden bereits erfolgreich in der Pestizidanalytik eingesetzt [SPECHT, 1982] und dann von Speer und Montag (1988) sowie später auch von Jira (2004) in der PAK-Analytik angewandt.

Um ein ausreichendes Zeitfenster für die Abtrennung aller 16 EFSA-PAK zu garantieren, wurde die Gelpermeationschromatographie auf ihre Anwendbarkeit getestet. Dafür wurde ein Standard nativer PAK-Verbindungen gelöst in 4,5 ml eines Gemisches aus Cyclohexan und Ethylacetat injiziert und nach 35 min wurden alle 5 min jeweils 25 ml separat aufgefangen. Zu jeder aufgefangenen Fraktion wurde im Anschluss ein isotopen-markierter Standard zugesetzt und die Proben dann massenspektrometrisch ausgewertet. Dabei konnte festgestellt werden, dass das Elutionsverhalten der einzelnen PAK recht unterschiedlich ist (Abbildung 10). Einige eluierten in einem relativ kleinen Zeitfenster, andere hingegen über einen größeren Zeitraum. Die meisten Isomere verhielten sich in ihrem Elutionsverhalten jedoch annähernd gleich.

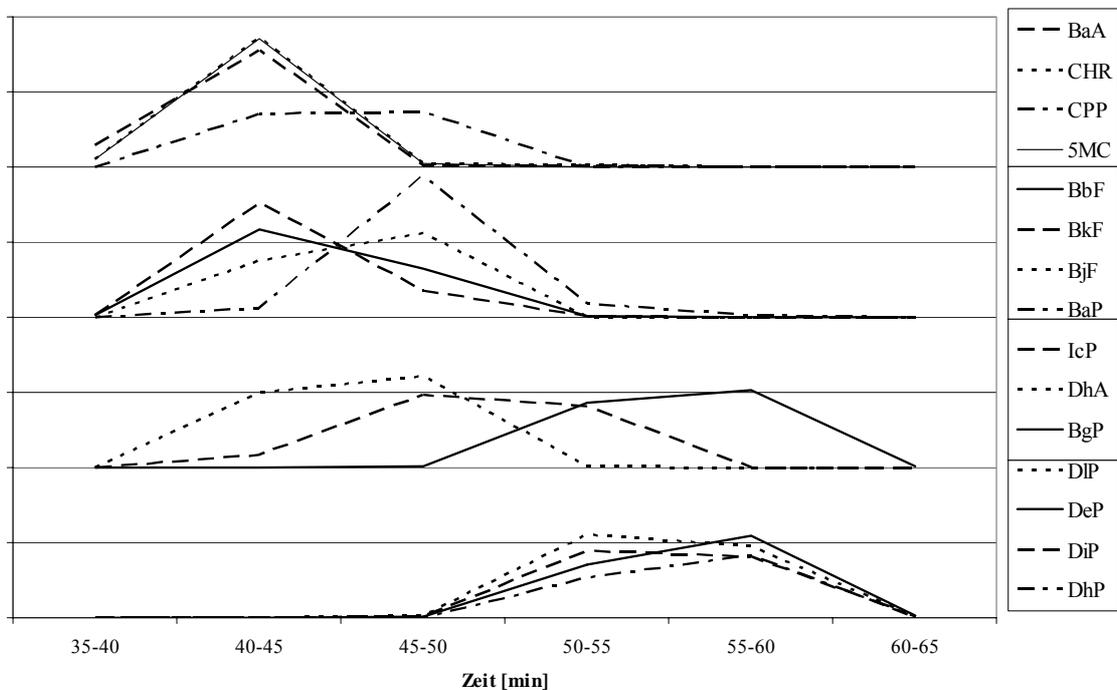


Abbildung 10: GPC-Fraktionierung

Die Abbildung 10 verdeutlicht weiterhin, dass die einzelnen PAK nicht dem allgemeinen Prinzip der Größenausschlusschromatographie folgend mit absteigender Molekülgröße eluierten. Dies ist auf Wechselwirkungen zwischen dem  $\Pi$ -Elektronensystem der Gelmatrix und dem der gelösten PAK und auf sterische Effekte zurückzuführen [OELERT et al., 1970; BERGMANN et al., 1971; KLIMISCH und REESE, 1972; MCKAY und LATHAM, 1973; ASCHE und OELERT, 1975; LAFLEUR und WORNAT, 1988].

Unabhängig von der Elutionsreihenfolge war ein Zeitfenster von 35 - 65 min für die hier angewendete Methode, in denen die Probe aufgefangen wurde, für die Probenaufarbeitung ausreichend. Damit war gewährleistet, dass alle SCF-PAK erfasst wurden. Dennoch sollten bei jeder Säulenerneuerung die Auffangzeiten mittels eines Standards überprüft werden. Das Elutionsverhalten von Benzo[c]fluoren wurde in diesem Test nicht mit berücksichtigt. Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass sich das Benzo[c]fluoren zeitlich wie Benzo[a]anthracen verhält.

#### 4.1.2.1.3 Festphasenextraktion

Um mögliche Verluste bei der Festphasenextraktion zu ermitteln, wurde auch dieser Reinigungsschritt überprüft. Das Festphasenmaterial bestand aus getrocknetem und geglühtem Kieselgel, das mit 15 % Wasser deaktiviert wurde [GRIMMER und BÖHNKE, 1975]. Als Elutionsmittel diente Cyclohexan. Das Säulenmaterial (1 g) wurde mit 3 ml Cyclohexan konditioniert. Anschließend wurde die Probe (1 ml) auf die Säule übergeführt und das Probengefäß mit 1 ml nachgespült und ebenfalls auf die Säule gebracht. Die 2 ml sowie das gesamte Elutionsvolumen von 10 ml wurden gemeinsam aufgefangen. Dies wurde im Gegensatz zur ursprünglichen Methode [JIRA, 2004] automatisiert durchgeführt, um reproduzierbare Bedingungen zu gewährleisten.

Für die Überprüfung dieses Schrittes wurde 1 ml Cyclohexan mit 50  $\mu$ l einer Standardlösung der 16 nativen EFSA-PAK in einer Konzentration von jeweils 10 ng/ml versetzt und diese Lösung über die Kieselgelkartusche gegeben. Nach dieser Festphasenextraktion wurde der Probe 50  $\mu$ l isotonenmarkierter (6 - 17 ng/ml) Standard zugefügt. Diese Probe wurde nach Abblasen und Wiederaufnahme in Isooktan mittels GC/MS untersucht. Dabei konnten folgende, in Tabelle 7 dargestellten, Wiederfindungen erzielt werden. Es konnten mit Hilfe einer Dreifachbestimmung annähernd gleiche Wiederfindungen zwischen 76 und 109 % bestimmt werden. Die niedrigste Wiederfindung von 76 % wurde bei DhP erreicht. Dennoch waren mögliche Verluste durch die Festphasenextraktion gering. Sie lagen außer beim DhP (24 %) zwischen 3 und 20 %.

**Tabelle 7: Wiederfindung SPE [%]**

	1	2	3	MW	s
BcL	94	94	95	94	0,3
BaA	88	84	88	86	2,7
CHR	86	84	84	85	0,9
CPP	104	101	103	103	1,7
SMC	104	113	111	109	4,2
BbF	92	92	92	92	0,3
BkF	92	93	92	92	0,7
BjF	90	91	89	90	1,1
<b>BaP</b>	<b>93</b>	<b>91</b>	<b>92</b>	<b>92</b>	<b>0,7</b>
IcP	93	94	94	93	0,5
DhA	90	89	90	90	0,1
BgP	95	96	95	96	0,8
DIP	88	90	90	89	1,2
DeP	86	90	88	88	2,1
DiP	78	81	82	80	2,8
DhP	75	76	77	76	1,4

#### 4.1.2.2 PAK-Bestimmung mit GC/MS

Eine selektive und empfindliche Detektionsmethode zur Identifizierung und Quantifizierung der einzelnen PAK stellt die Massenspektrometrie dar. Unterschieden wird in niedrigauflösende (LRMS) und hochauflösende Massenspektrometer (HRMS). In der Regel erfolgt die Analyse von Kontaminanten über die für die Verbindungen typischen Molekül- und/oder Fragmentationen.

##### 4.1.2.2.1 LRMS und HRMS

Innerhalb dieser Arbeit standen sowohl ein niedrigauflösendes MS (Quadrupol-Massenspektrometer (MSD)) als auch zwei hochauflösende Sektorfeldgeräte (VG Autospec und Doppel-Fokussierendes-Sektorfeld-MS (DFS)) zur Verfügung.

Ein Vergleich beider Massenspektrometer, durchgeführt am MSD und VG Autospec, führte zu folgenden Erkenntnissen: Beide Massenspektrometer sind über einen großen Bereich linear (1 bzw. 5 – 1000 µg/l), wobei der MSD bessere Werte für die Regression erzielte. Die Linearität für beide Massenspektrometer ist in Abbildung 11 und Abbildung 12 stellvertretend für BaA, BaP und DIP dargestellt. Dieser Linearitätsbereich galt auch für alle anderen EFSA-PAK.

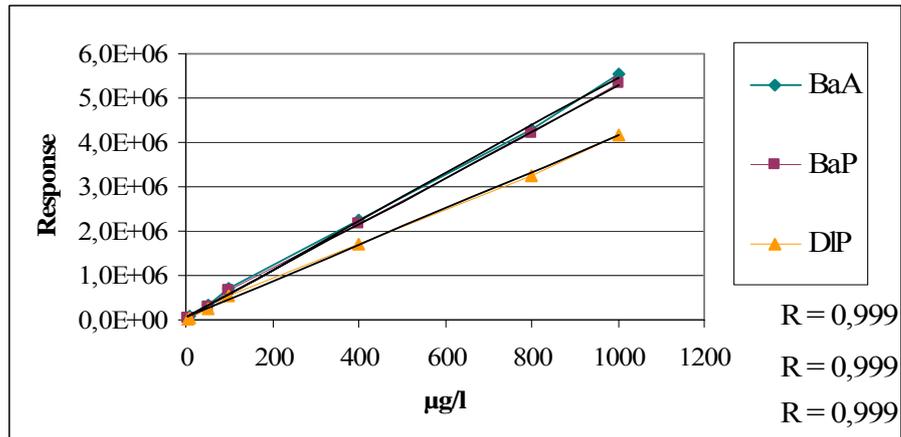


Abbildung 11: Linearität des MSD (Bereich 5 - 1000 µg/l)

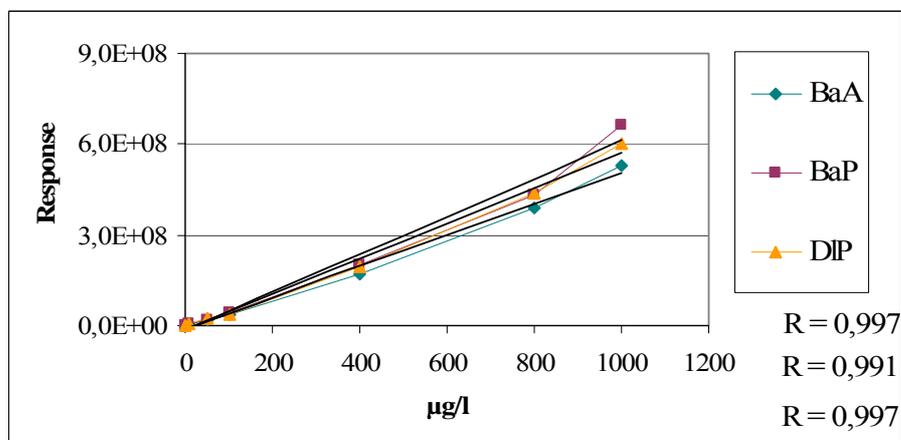


Abbildung 12: Linearität des HRMS (VG) (Bereich 1 - 1000 µg/l)

Da die Empfindlichkeit für beide angewendeten Massenseparatoren unterschiedlich war, ergaben sich auch verschiedene Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (Anhang 1), die wie folgt definiert sind:

**Nachweisgrenze (LOD – limit of detection)**

kleinste Konzentration eines Analyten in einer Probe, die qualitativ noch erfasst werden kann

**Bestimmungsgrenze (LOQ – limit of quantification)**

kleinste Konzentration eines Analyten in einer Probe, die quantitativ bestimmt werden kann (3 x LOD).

Der LOD entspricht einem Signal-Rausch-Verhältnis von 3:1 und der LOQ entspricht der dreifachen Nachweisgrenze (Signal-Rausch-Verhältnis = 9:1).

Die Empfindlichkeit der PAK-Messungen, bei den innerhalb dieser Arbeit genutzten Systemen steigt vom MSD zum HRMS (VG Autospec) etwa um den Faktor 2. Da einzelne PAK leichter bzw. empfindlicher zu detektieren sind als andere, wurden die PAK in zwei Gruppen eingeteilt:

1. BcL, BaA, CHR, CPP, 5MC, BbF, BkF, BjF, BaP, BgP
2. DhA, IcP, DIP, DeP, DiP, DhP

Die einzelnen LOD und LOQ der PAK in verschiedenen Lebensmittelgruppen sind im Anhang 1 zusammengefasst. Als Beispiel für den LOQ in Fleischwaren, die mit dem HRMS (VG) gemessen wurden, wurden folgende Werte ermittelt: 0,01 µg/kg (Gruppe 1) und 0,03 µg/kg (Gruppe 2). Da bei Gewürzen eine geringere Einwaage verwendet wurde, lag demzufolge auch der LOQ höher. Betrachtet man die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen im Hinblick auf den in der Neufassung der Aromenverordnung verankerten Höchstgehalt von 0,03 µg BaP/kg, so lässt sich feststellen, dass die Analysen, durchgeführt mit einem niedrig auflösenden Massenspektrometer, an der Grenze des LOQ (0,03 µg BaP/kg (Gruppe 1)) durchgeführt wurden.

Um einen Einfluss der Matrix auf die Auswertung der Proben mit Hilfe beider GC/MS-Systeme (LRMS (MSD) bzw. HRMS (VG)) auszuschließen, wurden Realproben von 3 verschiedenen Bärlauch-Gewürzen an beiden Geräten analysiert. Dabei konnten übereinstimmende Werte erzielt werden (Abbildung 13). Dies ist stellvertretend für BaA, BaP und DIP dargestellt. Die Abweichungen waren prozentual bei DIP am größten, da Dibenzo[a,l]pyren in diesem Beispiel die niedrigsten Konzentrationen aufwies.

Ein ähnlicher Vergleich wurde auch mit drei dotierten und einem kontaminierten Öl innerhalb einer Laborvergleichsuntersuchung durchgeführt. Die Ergebnisse werden unter Punkt 4.1.3 näher erläutert.

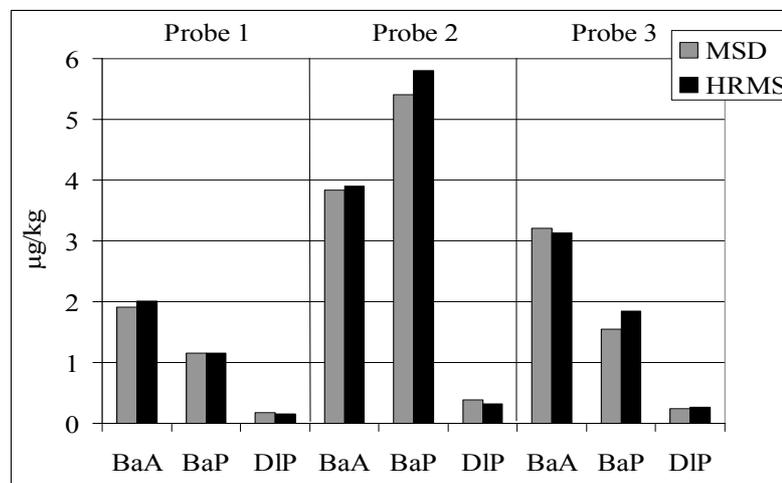


Abbildung 13: Vergleich beider GC/MS-Systeme anhand von Bärlauchproben

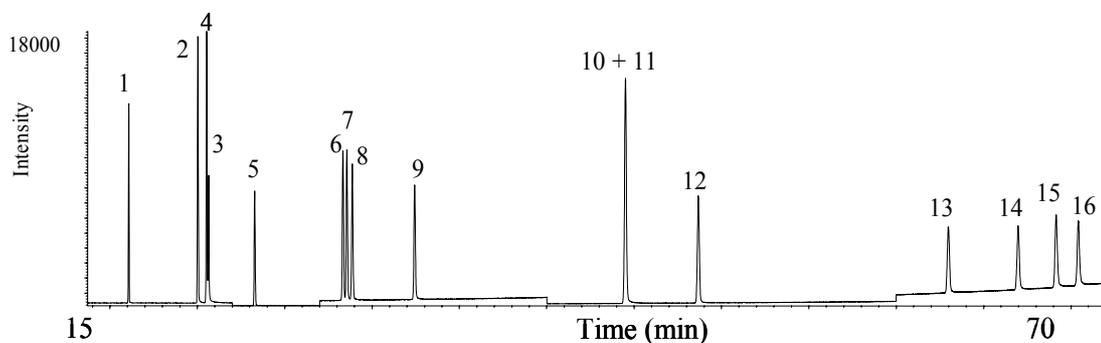
Das zusätzlich verwendete hochauflösende Massenspektrometer (DFS) ermöglichte Analysen mit geringeren Nachweis- und Bestimmungsgrenzen als das hochauflösende VG Autospec (Anhang 1).

#### 4.1.2.2.2 GC/MS-Methode für die Analytik der 16 EFSA-PAK

Nach ersten Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass die bereits etablierte Probenvorbereitung bestehend aus beschleunigter Lösungsmittelextraktion, Gelpermeationschromatographie und Fraktionierung an einer Minikieselgelsäule für die Analytik der EFSA-PAK geeignet ist.

Gaschromatographische Trennung, Identifizierung und Quantifizierung stellten jedoch wegen der Überlagerung von Isomeren größere Probleme dar. Es sollte daher eine Methode erarbeitet werden, bei der alle relevanten PAK entweder über ihre unterschiedlichen Retentionszeiten oder über ihre unterschiedlichen Massezahlen zuverlässig quantifiziert werden können.

In der Vergangenheit erwies es sich als besonders schwierig, die Benzofluoranthene zu quantifizieren, da deren gaschromatographische Trennung auf den bislang üblicherweise für die PAK-Analytik eingesetzten GC-Phasen mit einem Anteil von 5 % Phenylpolysiloxan nicht möglich war. Aus diesem Grund wurden verschiedene Säulen getestet. Als besonders geeignet für die Analytik der 16 EFSA-PAK erwies sich die Varian FactorFour-Säule VF-17ms, eine Kapillarsäule, deren Phasenzusammensetzung 50 % Phenyl-, 50 % Dimethyl-Polysiloxan entspricht. Mit dieser Säule und einem optimierten Temperaturprogramm konnten alle 16 EFSA-PAK gaschromatographisch getrennt bzw. über ihre unterschiedlichen Massezahlen (Indeno[1,2,3-cd]pyren (m/z 276) und Dibenzo[a,h]-anthracen (m/z 278)) detektiert werden (siehe Punkt 8.5, Tabelle 42). Die Varian VF-17ms-Kapillarsäule zeichnet sich neben der guten Selektivität für die Trennung der EFSA-PAK durch ein äußerst niedriges Säulenbluten aus, was insbesondere für die empfindliche Bestimmung der spät eluierenden Substanzen wichtig ist.

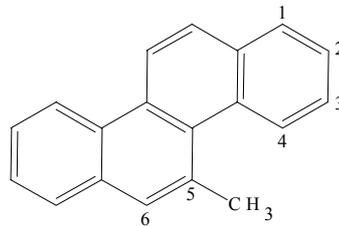


**Abbildung 14: Chromatogramm der 16 EFSA-PAK (VF-17ms), (konst. Fluss), (1 BcL, 2 BaA, 3 CPP, 4 CHR, 5 5MC, 6 BbF, 7 BkF, 8 BjF, 9 BaP, 10 IcP, 11 DhA, 12 BgP, 13 DIP, 14 DeP, 15 DiP, 16 DhP)**

Aus dem Chromatogramm (Abbildung 14) eines nativen Standards, der alle 16 EFSA-PAK in einer Konzentration von ca. 50 ng/ml enthält, konnte die Elutionsreihenfolge abgeleitet werden. Die Elutionsreihenfolge der Isomere Chrysen und Benzo[a]anthracen sowie der Benzofluoranthene wurde durch Injektion der entsprechenden Einzelstandardverbindungen abgesichert.

Da das Methylchrysen mehrere Isomere besitzt (Abbildung 15: die Ziffern 1 - 6 zeigen die Positionen, an denen der Grundkörper methyliert sein kann), war eine Überprüfung der einzelnen Retentionszeiten der Isomere notwendig. Damit konnte abgesichert werden, dass es zu keinen Überlagerungen kommt und bei der Quantifizierung keine überhöhten Werte analysiert werden.

Die sechs Methylchrysen-Isomere eluierten auf der VF-17ms-Säule in folgender Reihenfolge: 3MC, 2MC, 6MC, 5MC, 4MC und 1MC (Abbildung 16 B). Alle Isomere konnten basisliniengetrennt detektiert werden.



**Abbildung 15: 5-Methylchrysen (5MC)**

Weitere wichtige Isomere, die es zu überprüfen galt, waren Triphenylen, Benzo[a]fluoranthen und das Dibenzo[a,c]anthracen. Triphenylen ist ein Isomer von Chrysen. Beide haben ein Molekulargewicht (MG) von 228 g/mol. Benzo[b]-, Benzo[k]-, Benzo[j]- und Benzo[a]-fluoranthen sind ebenfalls Isomere. Bei Dibenzo[a,h]anthracen sollte eine mögliche Coelution mit seinem Isomer Dibenzo[a,c]anthracen ausgeschlossen werden.

Mit den GC-Parametern dieser Methode konnte keine zufriedenstellende Trennung der Isomere Triphenylen und Chrysen erreicht werden (Abbildung 16 A). Eine Veränderung des Temperaturprogrammes führte zu keiner Verbesserung. Eine Trennung dieser beiden Isomere ist dennoch anzustreben, um Erkenntnisse über die Mengenverhältnisse dieser beiden PAK in verschiedenen Lebensmittelgruppen zu gewinnen.

Benzo[a]fluoranthen (BaF) eluierte dagegen völlig getrennt von den anderen Benzofluoranthenen (Abbildung 16 C) und stellte daher kein Problem bei der Quantifizierung der anderen PAK dar. Auch für das Benzo[a]pyren, welches ebenfalls ein Molekulargewicht von 252 g/mol aufweist, spielte BaF keine Rolle.

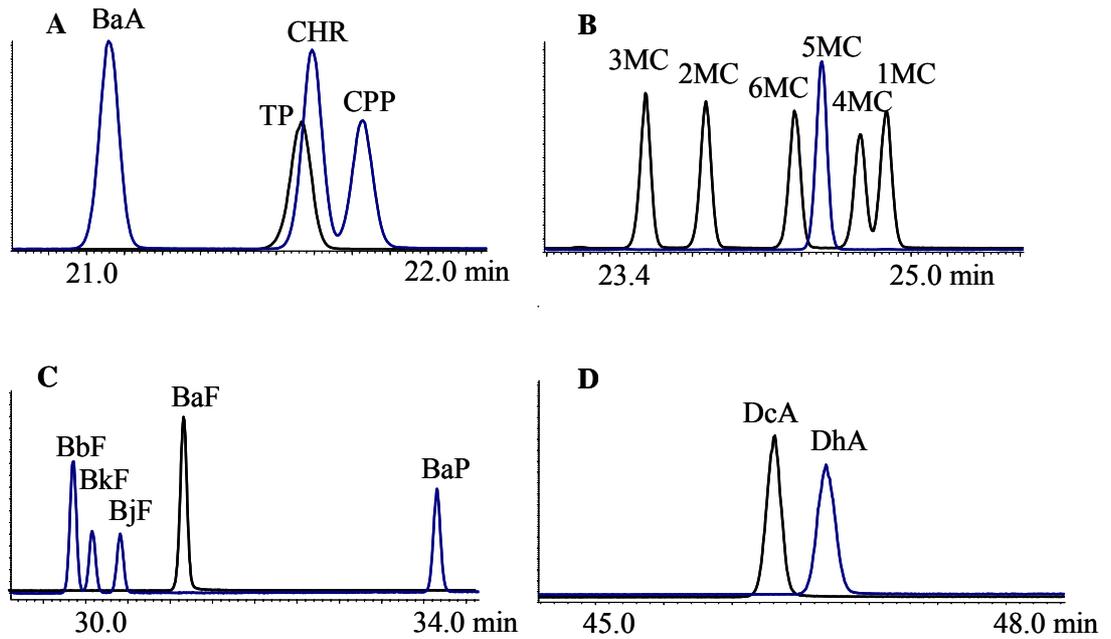


Abbildung 16: Überprüfung möglicher Coelutionen mit störenden Isomeren (VF-17ms)

Dibenzo[a,c]anthracen und Dibenzo[a,h]anthracen konnten ebenfalls getrennt voneinander detektiert werden (Abbildung 16 D). Hierfür lieferte diese Methode zufriedenstellende Ergebnisse.

Auch die Retentionsreihenfolge von Benzo[e]pyren, Benzo[a]pyren (BeP) und Perylen (Per) wurde ermittelt (Abbildung 17). BeP eluierte deutlich vor BaP und Per nach BaP.

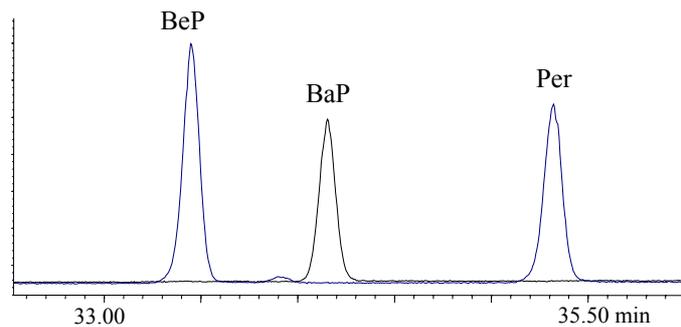


Abbildung 17: Chromatogramm von BeP, BaP und Per

Die gleiche chromatographische Trennung dieser PAK kann mit einem leicht veränderten Temperaturprogramm im konstanten Druck-Modus erreicht werden (Punkt 8.5, Tabelle 41). Diese Methode benötigt eine Laufzeit von ca. 90 min und wird unter Punkt 5.1.1 näher erläutert.

## 4.1.2.2.3 Fast-GC/HRMS-Methode für die Analytik der 16 EFSA-PAK

Zur Erarbeitung einer Fast-GC-Methode wurde zunächst der Zusammenhang zwischen der Retentionszeit  $t_R$ , der Säulenlänge  $L$ , der mittleren linearen Fließgeschwindigkeit  $\bar{u}$  und dem Kapazitätsfaktor  $k$  betrachtet: 
$$t_R = \frac{L}{\bar{u}}(k + 1).$$

Die Substanz, welche als letzte von der Säule eluiert, kann als Indikator für die Geschwindigkeit der Methode verwendet werden. Um diese Retentionszeit zu verringern, gibt es mehrere Möglichkeiten:

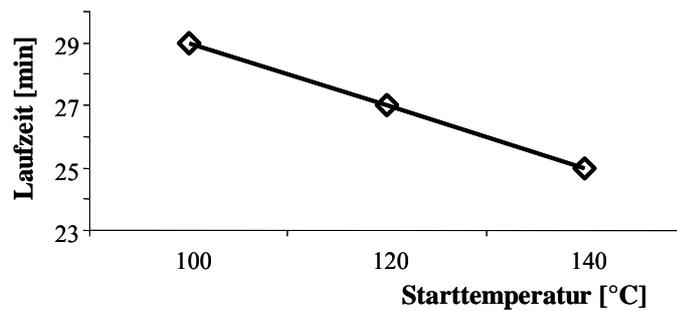
- Eine Reduktion der Säulenlänge führt zu einer Verringerung der Retentionszeit. Gleichzeitig wird die Anzahl der theoretischen Trennstufen reduziert. Dies ist direkt proportional zueinander. Des Weiteren hat die Verringerung der Säulenlänge eine Verminderung der Auflösung ( $R \propto \sqrt{L}$ ).
- Um die Retentionszeit zu verkürzen, kann u. a. der Kapazitätsfaktor reduziert werden, indem das Temperaturprogramm beschleunigt wird, die stationäre Phase der Säule zur Verbesserung der Selektivität verändert wird, der Säuleninnendurchmesser erweitert oder die Filmdicke verringert wird. Die Reduktion der Filmdicke führt jedoch auch zur Verringerung der Probenkapazität.
- Da die Retentionszeit indirekt proportional zur mittleren linearen Fließgeschwindigkeit ist, ermöglicht die Erhöhung des Trägergasflusses eine Verringerung der Analysenzeit, führt jedoch gleichzeitig zum Verlust an Trenneffizienz.

Eine andere Möglichkeit zum Beschleunigen der GC durch Erhöhung des Wertes der mittleren linearen Fließgeschwindigkeit kann erreicht werden durch Verringerung des Säulendurchmessers oder durch Erhöhung der Diffusionsfähigkeit der gelösten Substanzen in der Gasphase durch Verwendung von  $H_2$  als Trägergas und/oder Verringerung des Säulendruckes [MASTOVSKA und LEHOTAY, 2003].

Mit Hilfe dieser aufgeführten Möglichkeiten wurden folgende Parameter für die Fast-GC-Methode ausgewählt (siehe Punkt 8.5, Tabelle 43):

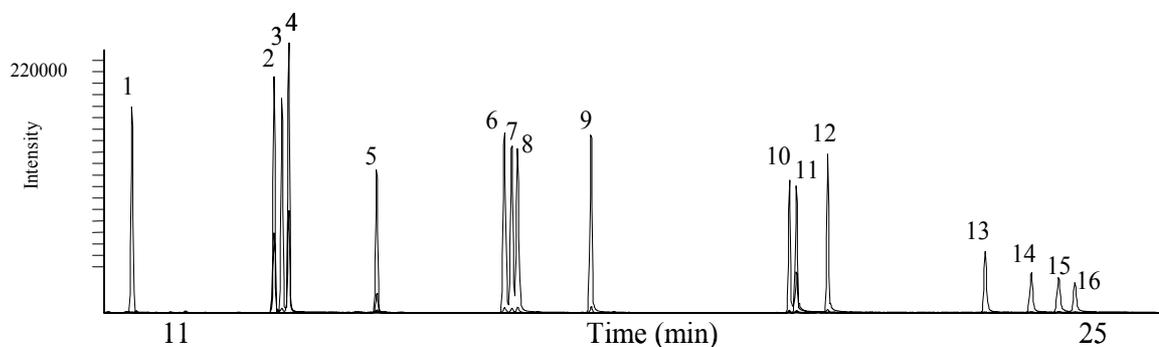
Die Fast-GC-Methode zeichnete sich durch den Einsatz einer kurzen Säule (10 m) mit einem geringen Innendurchmesser (0,1 mm) aus. Bei der hierfür eingesetzten Kapillarsäule handelte es sich um eine TR-50MS von der Firma Thermo Fisher Scientific. Sie besaß folgende Maße: 10 m x 0,1 mm x 0,1  $\mu$ m. Diese Säule verfügte über die gleiche Polarität wie die VF-17ms, da sie ebenfalls einen Polyphenylsiloxananteil von 50 % aufwies.

Dass auch die gewählte Anfangstemperatur entscheidend für die Analysenzeit ist, wird in Abbildung 18 verdeutlicht. Eine Erhöhung der Starttemperatur von 100 °C auf 140 °C reduzierte die Laufzeit um ca. 4 min. Eine höhere Anfangstemperatur als 140 °C war auf Grund des benötigten Säulenvordruckes bei einem Fluss von 0,6 ml/min und dem eingesetzten Lösungsmittel Isooktan nicht möglich.



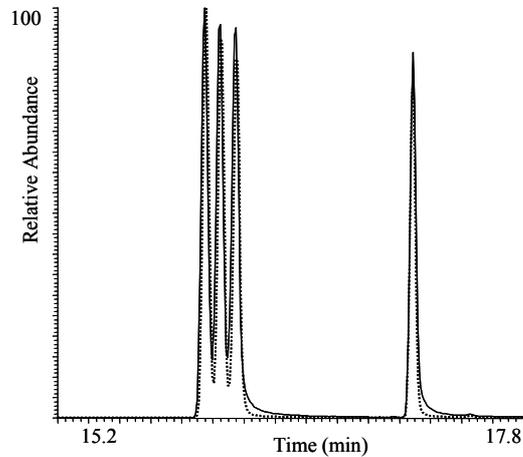
**Abbildung 18: Abhängigkeit der Laufzeit der Fast-GC-Methode von der Starttemperatur**

Mit Hilfe eines geeigneten Temperaturprogrammes der Fast-GC-Methode konnte eine ausreichende Auftrennung aller 16 EFSA-PAK innerhalb von 25 min gewährleistet werden (Abbildung 19). Injiziert wurde bei einer Anfangstemperatur von 140 °C, welche eine Minute beibehalten wurde. Im Anschluss wurde zunächst mit 10 °C/min auf eine Temperatur von 240 °C geheizt und weiter mit 5 °C/min auf 270 °C. Die folgende Heizrate betrug 30 °C/min und wurde beibehalten, bis eine Temperatur von 280 °C erreicht wurde. Es folgte eine Heizrate mit 4 °C/min bis 290 °C und anschließend eine Heizrate von 30 °C/min bis 350 °C. In der letzten Heizphase wurde mit 3 °C/min bis 330 °C geheizt. Da eine relativ dünne Säule eingesetzt wurde, musste ein Fluss von 0,6 ml/min verwendet werden. Die Methode wurde an einem Trace-GC und einem Doppel-Fokussierenden-Sektorfeld-MS (DFS) der Firma Thermo Fisher Scientific entwickelt. Die erzielte Analysenzeit war drei- bis viermal geringer als die der bisher eingesetzten Methoden.



**Abbildung 19: Fast-GC-Chromatogramm aller EFSA-PAK (TR-50MS), (konst. Fluss), (1 BcL, 2 BaA, 3 CPP, 4 CHR, 5 5MC, 6 BbF, 7 BkF, 8 BjF, 9 BaP, 10 IcP, 11 DhA, 12 BgP, 13 DIP, 14 DeP, 15 DiP, 16 DhP)**

Um das anfänglich auftretende Tailing zu optimieren, wurden die Temperaturen von Injektor, Transferline und Quelle erhöht. Damit konnte das Tailing deutlich minimiert werden (Abbildung 20).



**Abbildung 20: Einfluss der Temperaturen von Injektor, Transferline und Quelle auf das Peak-Tailing (— Injektor: 280 °C; Transferline: 280 °C; Quelle: 260 °C, - - - Injektor: 320 °C; Transferline: 300 °C, Quelle: 280 °C)**

Veyrand et al. (2007) berichteten in ihren Arbeiten, dass eine Injektortemperatur von 300 °C den Response der leichten PAK verringert, jedoch der Response der Dibenzpyrene signifikant erhöht wird. Dies konnte innerhalb dieser Untersuchungen bestätigt werden.

Um mögliche Coelutionen weiterer Isomere und Kongenere auszuschließen, wurden alle verfügbaren PAK-Standardverbindungen gemeinsam mit den 16 EFSA-PAK injiziert. Die daraus resultierenden Chromatogramme sind im Folgenden abgebildet (Abbildung 21 und Abbildung 22).

Eine Trennung von Triphenylen und Chrysen war auch in diesem Fall leider nicht möglich.

Die Trennung der Methylchrysen war nicht optimal, erlaubte jedoch eine zufriedenstellende Quantifizierung von 5MC.

Alle anderen PAK konnten nahezu basisliniengetreunt detektiert werden. CPP konnte getrennt von BaA und CHR quantifiziert werden. Dies traf auch für BbF, BkF und BjF zu. BaF eluierte nach den drei Benzofluoranthenen BbF, BjF und BkF. BaP und BeP eluierten auf dieser Säule kurz nacheinander vor Perylen. Bei DcA und DhA lag ebenfalls eine Basislinientrennung vor. Ebenso die vier Dibenzpyrene (DIP, DeP, DiP, DhP) konnten getrennt voneinander detektiert werden.

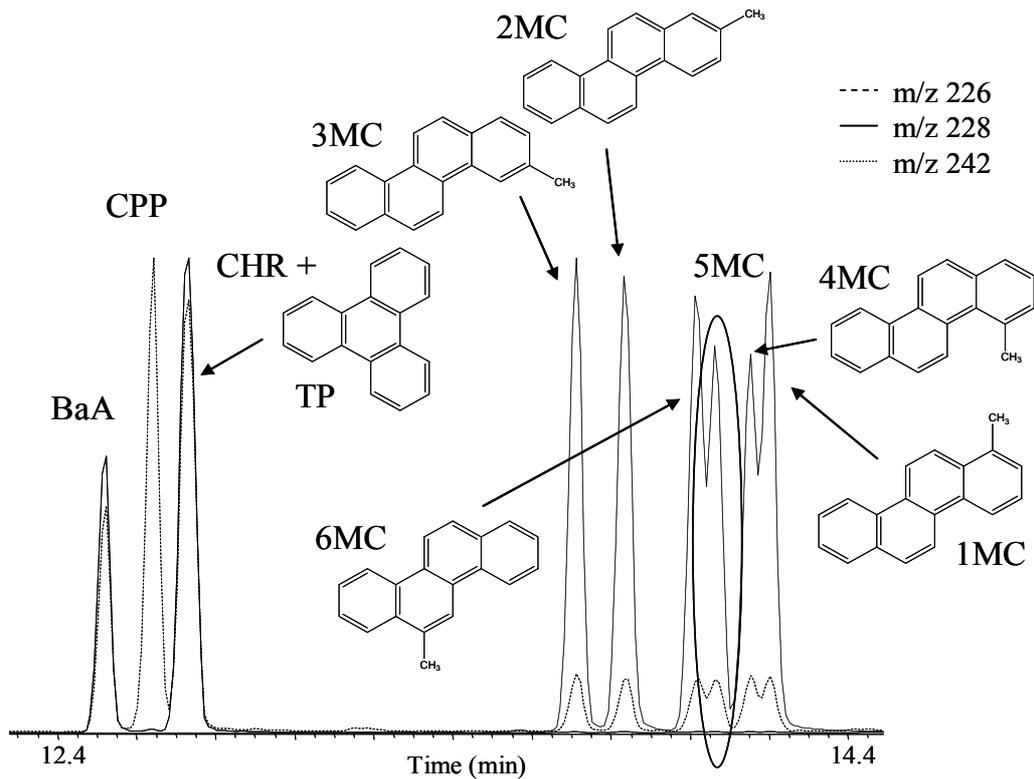


Abbildung 21: Trennung der 16 EFSA-PAK von anderen Isomeren - Teil 1

Weitere Isomere mit einem MG von 302 g/mol standen für diese Untersuchungen leider nicht zur Verfügung. In Frage kommende Isomere wären z. B. Naphtho[1,2-a]pyren und Naphtho[1,2-e]pyren, welche Fjord-Region-Isomere des DIP sind [SEIDEL et al., 2004].

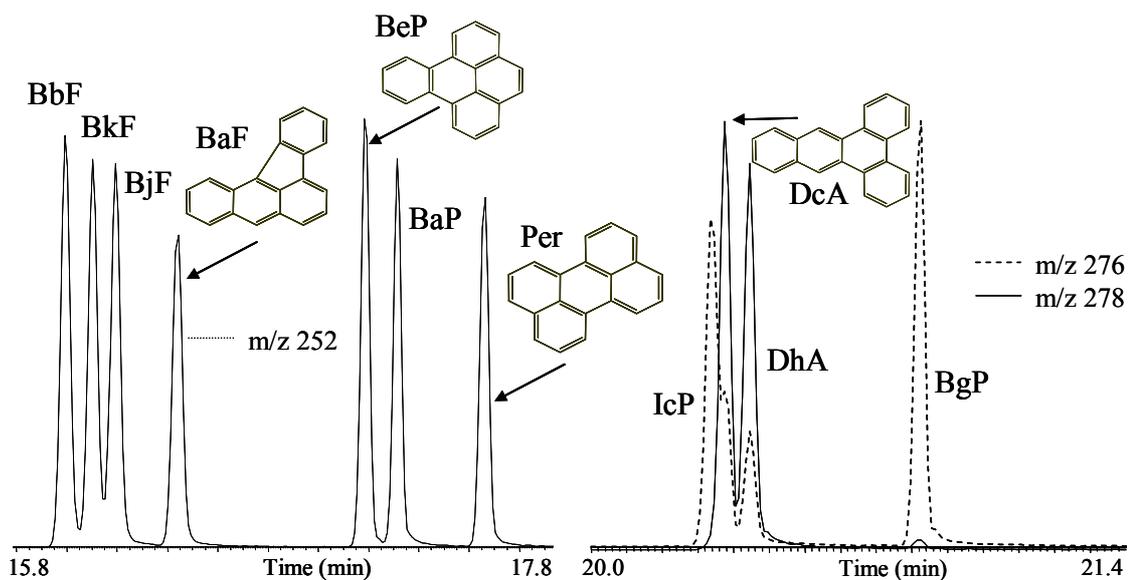
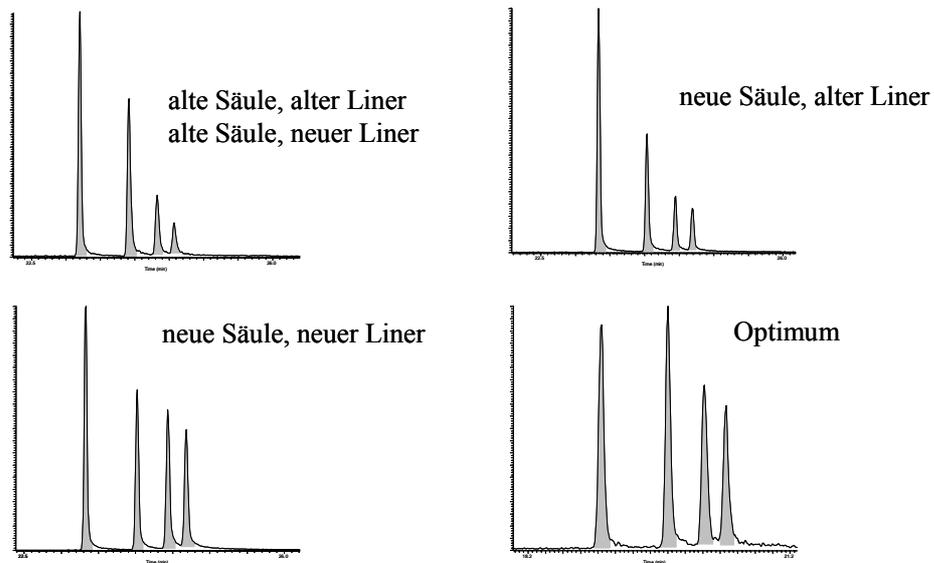


Abbildung 22: Trennung der 16 EFSA-PAK von anderen Isomeren - Teil 2

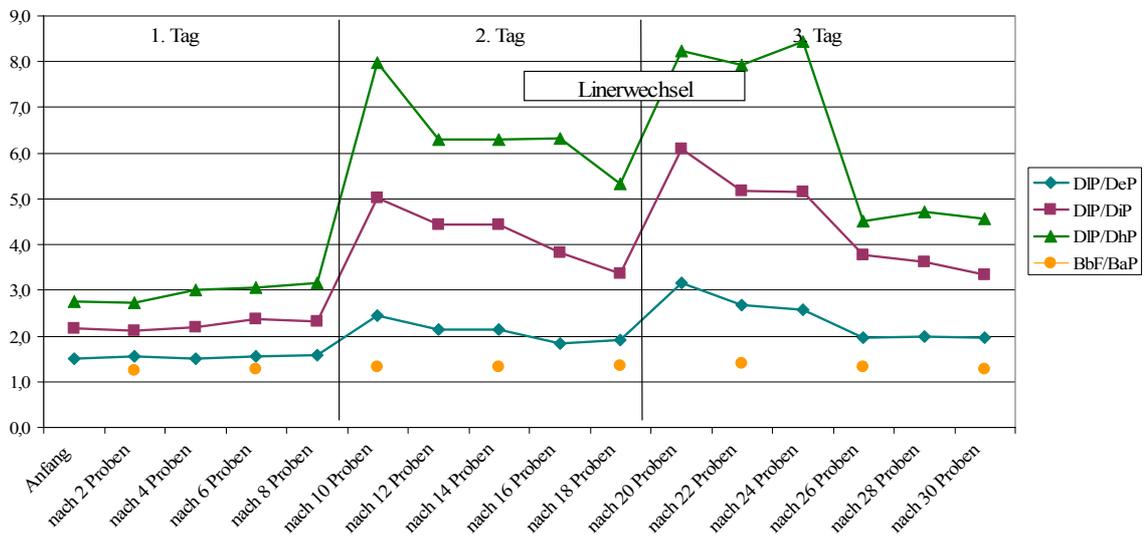
Eine weitere Beobachtung, die während der Entwicklung der Fast-GC-Methode erfasst wurde, war die stark ausgeprägte Abhängigkeit des Responseverhaltens der Dibenzpyrene vom Zustand des

Liners und der Säule. Bei dem Einsatz einer neuen Säule und eines neuen Standards war der Response aller vier Dibenzpyrene annähernd gleich. Dies veränderte sich jedoch mit der Anzahl an Injektionen (Abbildung 23). Der Response der vier Dibenzpyrene nahm in der Routineanalytik mit zunehmender Mess-Sequenz über mehrere Tage bei gleichbleibendem Liner und Säule von DIP zum DhP ab. Der Austausch des Liners sowie ein Kürzen des Säulenanfanges von ca. 30 cm konnten nicht zur Verbesserung des Responseverhaltens beitragen. Vielfach war ein Wechseln der Säule notwendig.



**Abbildung 23: Einfluss der Säule und des Liners auf das Response-Verhalten der Dibenzpyrene**

Den Verlauf der Verhältnisse der Dibenzpyrene zueinander innerhalb der Mess-Sequenz nach Einbau einer neuen Säule und eines neuen Liner stellt Abbildung 24 dar.

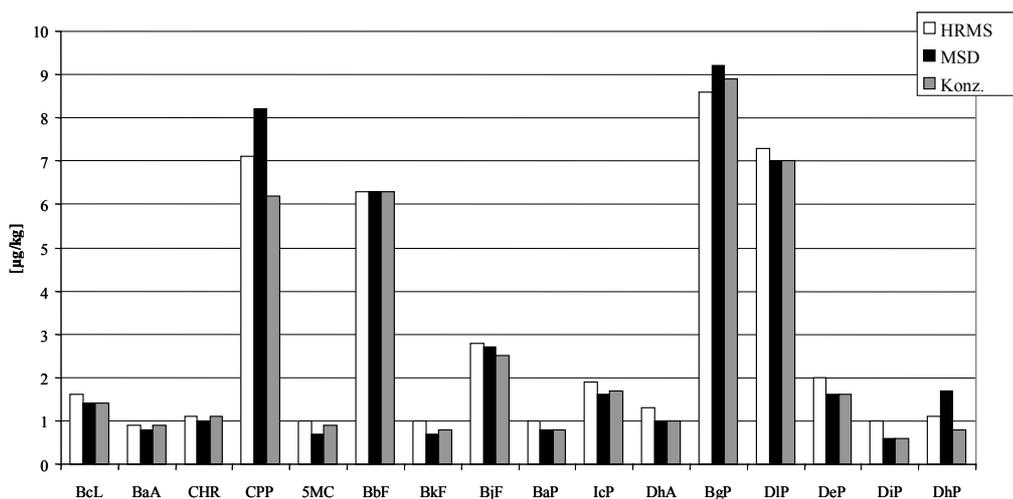


**Abbildung 24: Verhältnisse der Dibenzpyrene während des Injektionsverlaufes**

Im Vergleich dazu wurde auch das Response-Verhältnis von BbF zu BaP aufgenommen. Dieses blieb innerhalb der Mess-Sequenz bei der 30 Proben innerhalb von 3 Tagen injiziert wurden annähernd gleich. Über Nacht ruhte das System. Die Proben wurden nur tagsüber injiziert. In der Abbildung 24 lässt sich erkennen, dass sich das Response-Verhältnis der Dibenzpyrene mit zunehmender Injektionsanzahl innerhalb eines Tag verbessert, sich jedoch tendenziell pro Tag verschlechtert hat.

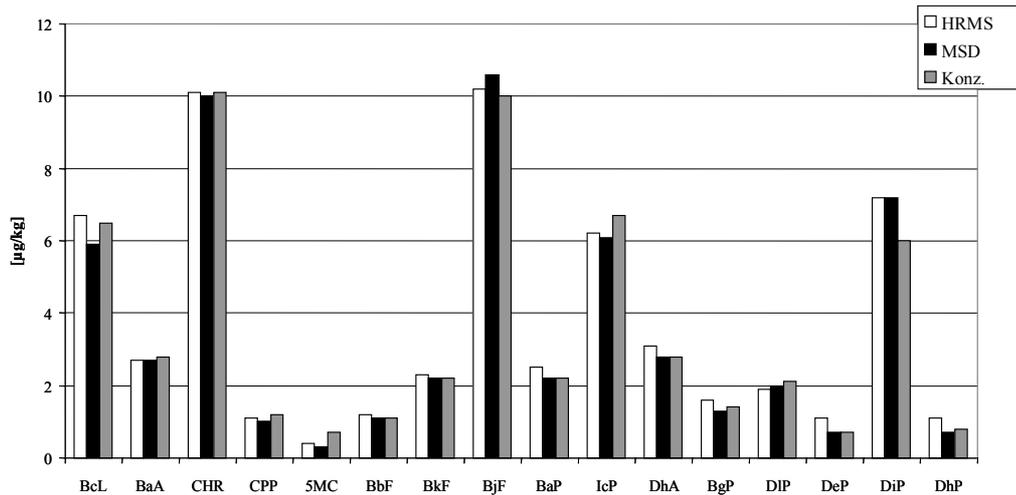
#### 4.1.3 Teilnahme an Laborvergleichsuntersuchungen

Um die verschiedenen Massenspektrometer, LRMS und HRMS, miteinander zu vergleichen und gleichzeitig die entwickelte Methode zur Analytik der 16 EFSA-PAK zu überprüfen, wurden Proben aus der vom Institut für Referenzmaterialien und –messungen (IRMM) in Geel (Belgien) durchgeführten EU-Laborvergleichsuntersuchung „PAK in Speiseölen“ mit beiden Geräten gemessen. Für die Aufarbeitung der Öle wurde 1 g Öl in 4,5 ml Cyclohexan/Ethylacetat (1:1, v/v) gelöst und auf die GPC-Säule gegeben. Im Anschluss an diesen Reinigungsschritt erfolgte eine Festphasenextraktion. Nach Vorbereitung der Probe für die GC/MS wurden die Proben jeweils mit GC/LRMS (MSD) und GC/HRMS (VG Autospec) mit Hilfe der GC/MS-Methode für die Analytik der 16 EFSA-PAK analysiert. Die erzielten Ergebnisse sowie die Konzentration, ermittelt aus dem Median aller von den Laborvergleichsuntersuchungsteilnehmern eingereichten Daten, sind in Abbildung 25, Abbildung 26, Abbildung 27 und Abbildung 28 dargestellt.

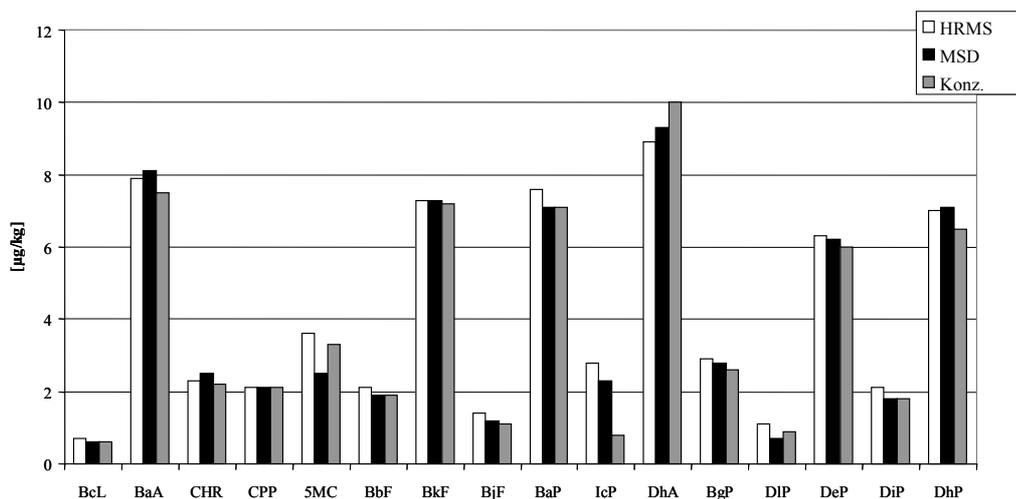


**Abbildung 25: Vergleich der erzielten PAK-Daten in dotiertem Sonnenblumenöl gemessen mit LRMS (MSD) und HRMS (VG) mit den von allen teilnehmenden Laboratorien im Median ermittelten Konzentrationen**

Die Untersuchungen von drei dotierten und einem kontaminierten Pflanzenöl aus der Laborvergleichsuntersuchung ergaben sehr gute Übereinstimmungen mit den ermittelten Konzentrationen, wobei mit beiden Massenspektrometern annähernd gleiche Ergebnisse erzielt werden konnten. In 75 % der Fälle wurden mit dem HRMS (VG) höhere Gehalte als mit dem MSD bestimmt. In Bezug auf die von allen Laboratorien im Median ermittelten PAK-Gehalte lagen die mit dem LRMS bestimmten Gehalte dichter an den Konzentrationen, ermittelt aus dem Median aller von den Laborvergleichsuntersuchungsteilnehmern eingereichten Daten.



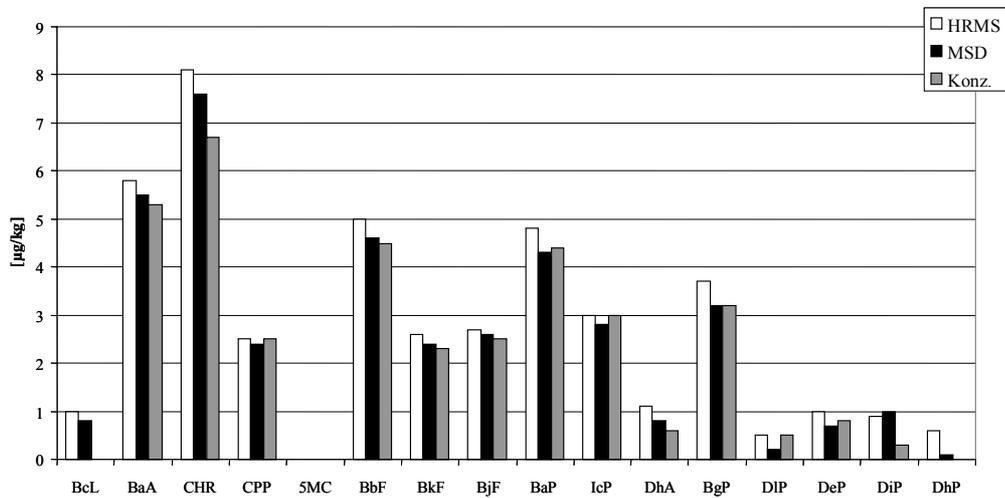
**Abbildung 26: Vergleich der erzielten PAK-Daten in dotiertem Olivenöl gemessen mit LRMS (MSD) und HRMS (VG) mit den von allen teilnehmenden Laboratorien im Median ermittelten Konzentrationen**



**Abbildung 27: Vergleich der erzielten PAK-Daten in dotiertem Maisöl gemessen mit LRMS (MSD) und HRMS (VG) mit den von allen teilnehmenden Laboratorien im Median ermittelten Konzentrationen**

Die erzielten Ergebnisse bestätigten die Anwendbarkeit der entwickelten Methoden zur Bestimmung der 16 EFSA-PAK in Ölen. Sowohl im Fall der dotierten Speiseöle als auch bei dem

nativen Speiseöl lieferte die am MRI in Kulmbach entwickelte Analysenmethode zufriedenstellende Übereinstimmungen mit den Ergebnissen der anderen an der Laborvergleichsuntersuchung teilgenommenen Laboratorien.



**Abbildung 28: Vergleich der erzielten PAK-Daten in kontaminiertem Sonnenblumenöl gemessen mit LRMS (MSD) und HRMS (VG) mit den von allen teilnehmenden Laboratorien im Median ermittelten Konzentrationen**

Im Fall des nativen Speiseöls (Sonnenblumenöl) zeigten sich abweichende Gehalte der BcL-, DhP- und DiP-Konzentration von den berechneten Medianen aus allen eingereichten Ergebnisberichten. Unter Umständen konnten nicht alle Teilnehmer diese PAK bestimmen, wodurch die Richtigkeit dieser Werte beeinflusst wird. Alle anderen PAK konnten mit annähernder Genauigkeit zu den Medianen, berechnet aus den Ergebnissen von allen teilnehmenden Laboratorien, ermittelt werden.

Eine weitere Teilnahme mit dem GC/LRMS (MSD) an einer Laborvergleichsuntersuchung „PAK in Rauchkondensaten“ [SIMON und WENZL, 2007] bestätigte ebenfalls die Anwendbarkeit der Methode. Hierfür wurden die Proben zunächst mit methanolischer KOH (0,5 M) verseift, mit Cyclohexan ausgeschüttelt und mittels der Festphasenextraktion (CN/SI-OH) gereinigt [JIRA, 2004].

Weitere Laborvergleichsuntersuchungen mit anderen Probenmatrizes, wie Fleischerzeugnissen, Gewürzen, Tees und Schokoladen wären empfehlenswert. Allerdings sind solche Laborvergleichsuntersuchungen bis zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht durchgeführt worden. Ein Grund dürfte sein, dass für diese Probenmatrizes noch kein zertifiziertes Referenzmaterial käuflich erworben werden kann.

## 5 Ergebnisse und Diskussion

### 5.1 PAK in Fleischerzeugnissen

PAK werden hauptsächlich bei pyrolytischen Prozessen, insbesondere bei der unvollständigen Verbrennung organischen Materials gebildet. Somit gelangen sie als Umweltbelastung in Lebensmittel. Darüber hinaus können Lebensmittel mit PAK aber auch in Folge von technologischen Verfahren wie Trocknen und Räuchern belastet werden. Da es sich bei einigen PAK um genotoxische Kanzerogene handelt, für die kein Schwellenwert angenommen werden kann, sollte nach Auffassung des Wissenschaftlichen Ausschuss für Lebensmittel (SCF) der PAK-Gehalt in Lebensmitteln – und damit u. a. in Fleischerzeugnissen – so weit wie technologisch erreichbar gesenkt werden [SCF, 2002]. Daher ist eine exakte, empfindliche Analysenmethode zur Bestimmung der PAK-Gehalte in Lebensmitteln notwendig, um auch sehr geringe Mengen an diesen PAK-Verbindungen zuverlässig quantifizieren zu können. Die dafür notwendige Analysenmethode wurde bereits unter Punkt 4.1.2 vorgestellt. Die von der EU zur Bestimmung in Lebensmitteln empfohlenen EFSA-PAK (15 SCF-PAK + 1 JECFA-PAK, siehe Punkt 3.1.2) können mit der entwickelten Methode in verschiedenen Lebensmitteln quantifiziert werden. Die Wirksamkeit der ASE-Extraktion von PAK in Fleischerzeugnissen wurde durch einen Vergleich von Verseifung und ASE bestätigt und unter Punkt 4.1.2.1.1 dokumentiert. Um die Anwendbarkeit dieser Methode zur PAK-Analytik in Fleischerzeugnissen, bestehend aus ASE, GPC, SPE und GC/MS zu überprüfen, wurden zunächst die chromatographischen Trennbedingungen kontrolliert und im Anschluss Brühwürste mit definierten PAK-Gehalten untersucht sowie die Abhängigkeit der PAK-Gehalte von verschiedenen Parametern der Räucherung.

#### 5.1.1 Anwendung der GC/MS-Methode bei geräucherten Fleischerzeugnissen

Die Eignung der modifizierten GC/MS-Methode für geräucherte Fleischerzeugnisse wurde zunächst mit einer stark geräucherten Rohwurst (Kaminwurzn; siehe Abbildung 29) mit hohen PAK-Gehalten überprüft.



Abbildung 29: Kaminwurzn

Die gaschromatographische Trennung von Cyclopenta[c,d]pyren und Benzo[a]anthracen bzw. Chrysen in Kaminwurzn war auf einer VF-17ms-Säule mit 50 % Phenylpolysiloxananteil im Gegensatz zu einer Säule mit einem Anteil von 5 % Phenylpolysiloxananteil möglich (Abbildung 30).

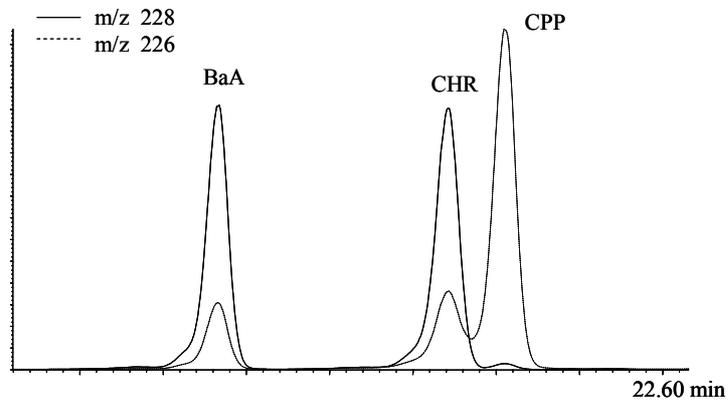


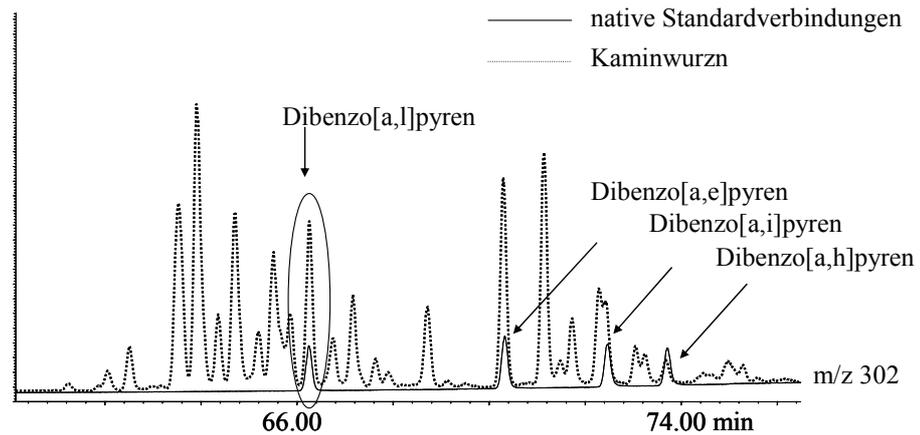
Abbildung 30: Elution von BaA, CHR und CPP in Kaminwurzn (VF-17ms)

Obwohl CPP (MG = 226 g/mol) ein anderes Molekulargewicht besitzt als BaA und CHR (jeweils MG = 228 g/mol), ist eine gute chromatographische Trennung dennoch für eine zuverlässige Quantifizierung von CPP erforderlich, da BaA und CHR auch Fragmentationen der Massezahl m/z 226 aufweisen und bei ungenügender gaschromatographischer Trennung eine Quantifizierung verfälschen würden.

Ebenso konnte die Trennung der Benzofluoranthene in der Matrix Kaminwurzn gewährleistet werden.

Auch bei der Quantifizierung der Dibenzpyrene war die 50 % Phenyl-Phase einer 5 % Phenyl-Phase deutlich vorzuziehen, da auf dieser Phase die Elutionsabstände zwischen den einzelnen Dibenzpyrenen größer waren. Eine größere zeitliche Auftrennung der Dibenzpyrene ist notwendig, um die vier zu bestimmenden Dibenzpyrene von möglichst vielen Isomeren zu trennen (Abbildung 31). Je mehr Isomere voneinander getrennt werden können, desto kleiner ist der Quantifizierungsfehler bei der Bestimmung der Gehalte. Ferner bot die 50 % Phenyl-Phase den Vorteil, dass die vier Dibenzpyrene ein annähernd gleiches Responseverhalten zeigten, was bei einer Quantifizierung über Responsefaktoren von Vorteil war.

Dennoch konnte nicht ausgeschlossen werden, dass – insbesondere bei dem toxikologisch relevanten Dibenzo[a,l]pyren und auch bei den anderen Dibenzpyrenen – immer noch Coelutionen stattfanden. Für derartige Überlagerungen sprechen u. a. die Untersuchungen von Schubert et al. (2003). Auch Sauvain und Vu Duc (2004) konnten bei Ihren Untersuchungen von Diesel-Partikeln mögliche Coelutionen von Dibenzo[a,l]pyren mit anderen Isomeren der Massezahl m/z 302 nicht ausschließen.

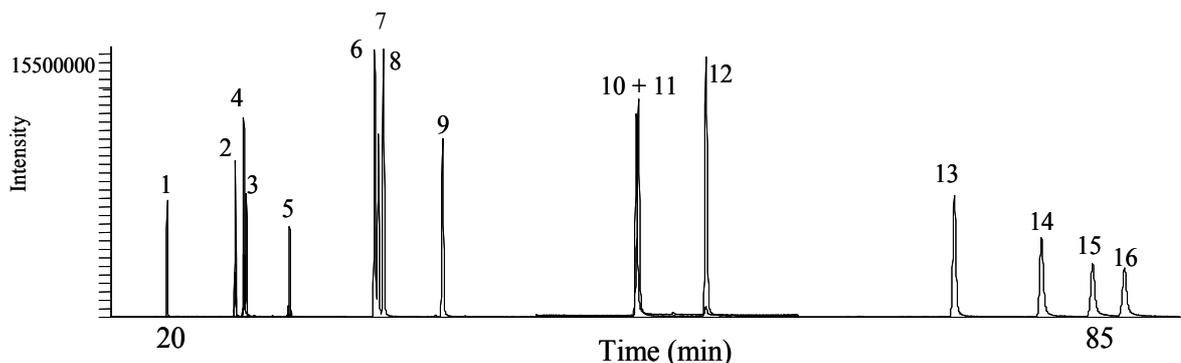


**Abbildung 31: Chromatogramm der Massenspur m/z 302 eines Standards und einer Probe Kaminwurzn (VF-17ms)**

Trotz einer sehr wahrscheinlichen Überschätzung der Gehalte der Dibenzpyrene auf einer Säule mit 50 % Phenylpolysiloxananteil ist eine Überschätzung doch weitaus geringer als auf einer Phase mit 5 % Phenylpolysiloxananteil. Dennoch besitzen auch die mit Hilfe der beschriebenen GC/MS-Methode ermittelten Gehalte an Dibenzpyrenen noch den Charakter einer „worst-case“-Betrachtung.

Die modifizierte GC/MS-Methode zur Bestimmung der von der EU als prioritär eingestuften 16 EFSA-PAK konnte zu einer Bestimmung dieser PAK in geräucherten Fleischerzeugnissen eingesetzt werden.

Diese beschriebene Methode nutzte den konstanten Fluss-Modus des Gaschromatographen. Gaschromatographen, die diese Funktion nicht erfüllen, können jedoch auch für die PAK-Analytik im konstanten Druck-Modus eingesetzt werden. Durch Benutzung der gleichen Säule und einem leicht veränderten Temperaturprogramm ist die gleiche PAK-Trennung möglich (siehe Punkt 8.5, Tabelle 41). Ein Nachteil dieser Variante ist jedoch die bedeutend längere Laufzeit der Methode von ca. 90 min (Abbildung 32).



**Abbildung 32: Chromatogramm der 16 EFSA-PAK (VF-17ms), (konst. Druck), (1 BcL, 2 BaA, 3 CPP, 4 CHR, 5 5MC, 6 BbF, 7 BkF, 8 BjF, 9 BaP, 10 IcP, 11 DhA, 12 BgP, 13 DIP, 14 DeP, 15 DiP, 16 DhP)**

### 5.1.2 Herstellung und Analyse von Brühwurstbrät mit definierten PAK-Gehalten

Mit Hilfe von dotiertem Sonnenblumenöl, welches vom Institut für Referenzmaterialien und -messungen (IRMM) in Geel (Belgien) zur Verfügung gestellt wurde, wurde im MRI in Kulmbach insgesamt 5 kg Brühwurstbrät hergestellt und zu je 50 g in Dosen abgefüllt und daraus anschließend Vollkonserven hergestellt (Abbildung 33). Der Zusatz des Öls (PAK-Gehalte 16 µg je PAK/kg) betrug  $\frac{1}{4}$  vom gesamten Brät (4 µg je PAK/kg). Von den 100 abgefüllten Dosen wurden fünf willkürlich ausgewählt und in ihnen jeweils in einer Doppelbestimmung die PAK-Gehalte analysiert.



**Abbildung 33: Vollkonserve von Brühwurst, hergestellt mit definierten PAK-Gehalten**

Das Öl, welches eine Konzentration von 16 µg je PAK/kg aufweisen sollte, wurde separat untersucht. Bei der Probenaufarbeitung des Öls wurde auf die beschleunigte Lösungsmittelextraktion verzichtet und mit der Gelpermeationschromatographie begonnen.

Die analysierten Daten der Vollkonserven sind in Tabelle 8 und alle Einzeldaten inklusive der berechneten Wiederfindungen im Anhang 2 zusammengefasst. Es konnte eine relative Standardabweichung der einzelnen PAK in der Brühwurst von 4 bis 11 % erreicht werden. Die geringsten Werte, unter der Annahme, dass pro PAK 4 µg/kg enthalten sein sollten, wurden für DiP und DhP erzielt, obwohl in der Laborvergleichsuntersuchung der Speiseöle (Punkt 4.1.3) die Funktionsfähigkeit der Methode bestätigt worden war.

Werden die 16 µg/kg im Öl und die 4 µg/kg in der Brühwurst als Ist-Konzentrationen angesehen, waren die Wiederfindungen der einzelnen PAK im Öl ähnlich denen der in den Fleischprodukten. Die Wiederfindungen bei Öl lagen zwischen 64 und 99 % (ausgenommen DhP) und bei den Fleischprodukten zwischen 63 und 94 % (ausgenommen DhP). Eine mögliche Ursache der geringen Wiederfindung bei DhP war nicht ersichtlich.

Die Wiederfindung der einzelnen PAK in den Brühwürsten bezogen auf die analysierten und berechneten Gehalte der PAK im Öl betrug zwischen 78 und 118 %.

**Tabelle 8: PAK-Gehalte in gespiktem Öl und in mit diesem Öl hergestellten Brühwürsten**

	Öl (n = 2) [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	Brühwurst (n = 5) [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	s (Brühwurst) [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	RSD (Brühwurst) [%]
BcL	12,81	3,77	0,41	10,8
BaA	12,63	3,37	0,17	5,0
CHR	10,97	3,15	0,14	4,4
CPP	15,77	3,28	0,21	6,3
5MC	11,34	2,67	0,11	3,9
BbF	12,01	3,19	0,20	6,2
BkF	12,38	3,05	0,16	5,4
BjF	15,12	3,41	0,20	5,8
<b>BaP</b>	<b>12,87</b>	<b>3,18</b>	<b>0,17</b>	<b>5,3</b>
IcP	13,10	3,36	0,31	9,3
DhA	14,76	3,32	0,24	7,4
BgP	13,29	3,46	0,24	6,8
DlP	12,98	3,47	0,19	5,6
DeP	13,00	3,01	0,18	5,9
DiP	10,29	2,51	0,25	10,1
DhP	5,51	1,03	0,10	9,6

### 5.1.3 Einfluss der Raucherzeugung auf die PAK-Gehalte

Für die Räucherversuche mit frisch entwickeltem Rauch und unterschiedlichen Räucherbedingungen wurden als Probenmaterial dünnkalibrige Brühwürste (Kaliber 22 mm) nach folgender Rezeptur hergestellt: 30 % Rindfleisch, 30 % Schweinefleisch, 10 % Speck und 30 % Eis. Auf 15 kg der eingesetzten Zutaten wurden zusätzlich 1,6 % Nitritpökelsalz (240 g), 0,2 % Phosphat (30 g) und 0,03 % Ascorbat (4,5 g) zugesetzt.

Zunächst wurden drei verschiedene Technologien der Heißräucherung auf ihre Auswirkung auf die Gehalte an PAK untersucht. Zu diesen drei Technologien zählten Glimmrauch mit Durchzug, Glimmrauch mit Zirkulation und Dampfrauch mit Durchzug. Dafür wurden die oben erwähnten Brühwürste (Wiener Würstchen) mit Saitlingdarm genutzt. Die jeweilige Räucherzeit wurde so gewählt, dass für alle 3 Räucherversuche in etwa gleiche Rauchfarben der Würste entstanden. Mit den folgenden Räucherzeiten konnten Brühwürste mit annähernd gleicher Farbe hergestellt werden:

Glimmrauch Zirkulation	30 min
Glimmrauch Durchzug	60 min
Dampfrauch Durchzug	10 min.

Die einzelnen Räucherbedingungen der Heißräucherung sowie die verschiedenen Prozessparameter sind in Tabelle 25 und Tabelle 26 unter Punkt 7.1.1 Räucherbedingungen erfasst.

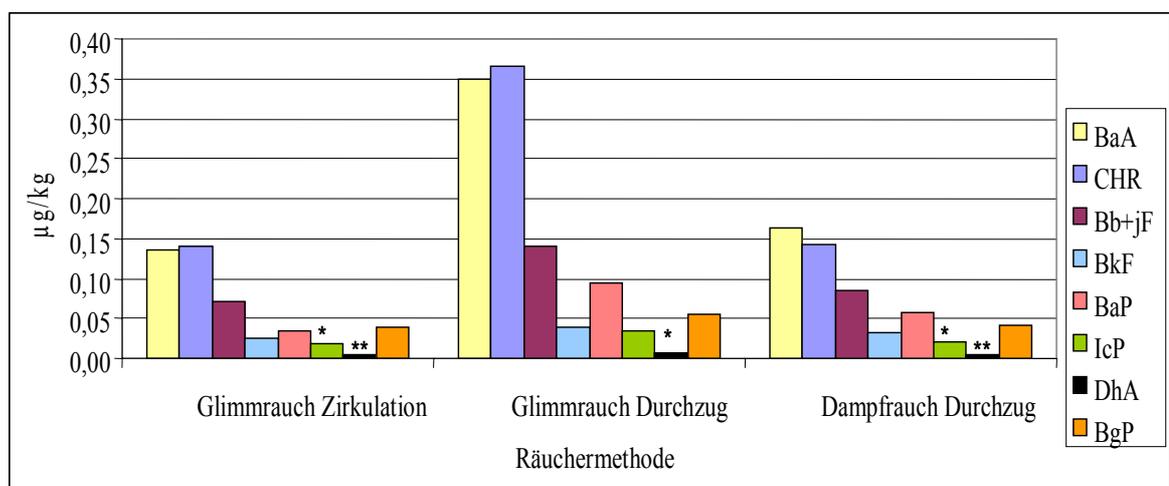
Die erhaltenen Brühwürste wurden insgesamt homogenisiert und dann jeweils fünf Paralleluntersuchungen durchgeführt. Dabei konnte eine akzeptable Standardabweichung erreicht werden. Für die BaP-Gehalte betrug diese zwischen 6 - 8 %.

Bei einem Vergleich der ermittelten Werte (Tabelle 9) der Räuchermethoden konnte Folgendes festgestellt werden (Abbildung 34): Die höchsten Gehalte an PAK wiesen die Brühwürste auf, die 60 min im Glimmrauch mit Durchzug geräuchert wurden. Die anderen beiden Technologien führten zu weniger aber annähernd gleichviel PAK in den Proben.

**Tabelle 9: PAK-Gehalte in unterschiedlich geräucherten Fleischerzeugnissen [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ], (n = 5)**

	Glimmrauch mit Zirkulation	Glimmrauch mit Durchzug	Dampfrauch mit Durchzug
BaA	0,14	0,35	0,16
CHR + TP	0,14	0,37	0,14
Bb+jF	0,07	0,14	0,09
BkF	0,03	0,04	0,03
<b>BaP</b>	<b>0,03</b>	<b>0,09</b>	<b>0,06</b>
IcP	< 0,03	0,03	< 0,03
DhA	< 0,01	< 0,03	< 0,01
BgP	0,04	0,05	0,04
BaA/CHR	1,00	0,95	1,14

Die erzielten Messwerte lassen erkennen, dass die Verhältnisse der Gehalte von BaA und CHR bei allen drei Räuchermethoden nahezu gleich sind.



**Abbildung 34: PAK-Abhängigkeit von der Räuchermethode (\* < LOQ, \*\* < LOD), (CHR entspricht der Summe aus CHR und TP)**

In die Auswertung muss mit einbezogen werden, dass die verschiedenen Räucherverfahren mit unterschiedlichen Räucherzeiten durchgeführt wurden. Die jeweilige Räucherzeit wurde so gewählt, dass für alle drei Räucherversuche in etwa eine gleiche Rauchfarbe der Würste erhalten wurde (Glimmrauch Zirkulation: 30 min, Glimmrauch Durchzug: 60 min, Dampfrauch Durchzug: 10 min). Teilt man die BaP-Gehalte der erhaltenen Brühwurstproben durch die jeweilige Räucherzeit würden z. B. für das BaP folgende Gehalte pro Zeiteinheit resultieren:

Glimmrauch Zirkulation	1,2 pg BaP/g pro min
Glimmrauch Durchzug	1,6 pg BaP/g pro min
Dampfrauch Durchzug	5,7 pg BaP/g pro min.

Dies würde bedeuten, dass unterschiedliche Räuchermethoden unterschiedlich rasche Aufnahmen von PAK zur Folge hätten. Diese Schlussfolgerung wäre allerdings nur dann berechtigt, wenn die PAK-Aufnahme und somit die Gehalte linear mit der Räucherzeit ansteigen würden. Dass dies nicht der Fall ist, ergab einer der nachfolgenden Versuche (Punkt 5.1.6), bei dem zwei unterschiedliche Räucherzeiten als Versuchsparameter untersucht wurden.

Vergleicht man die Verhältnisse der einzelnen PAK bezogen auf die Leitsubstanz Benzo[a]pyren, so kann man feststellen, dass die einzelnen Räuchermethoden nicht immer gleiche Verhältnisse liefern (Tabelle 10). Hierbei macht sich ein Unterschied besonders bei den Verhältnissen von CHR + TP, Bb+jF, BkF und BgP zu BaP bemerkbar. Die Räuchermethode Dampfrauch mit Durchzug liefert für CHR + TP ein deutlich geringeres Verhältnis zu BaP als in den beiden Versuchen mit Glimmrauch. Die PAK Bb+jF, BkF und BgP im Verhältnis zu BaP sind bei Dampfrauch und Glimmrauch mit Durchzug annähernd gleich, unterscheiden sich jedoch von den Verhältnissen bei Glimmrauch mit Zirkulation.

**Tabelle 10: Verhältnisse der einzelnen PAK bezogen auf die Leitsubstanz BaP**

	Glimmrauch (Zirkulation)	Glimmrauch (Durchzug)	Dampfrauch (Durchzug)
BaA	3,9	3,7	2,9
CHR + TP	4,1	3,9	2,5
Bb+jF	2,1	1,5	1,5
BkF	0,8	0,4	0,6
<b>BaP</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>
IcP	0,5	0,4	0,4
DhA	0,1	0,1	0,1
BgP	1,1	0,6	0,7

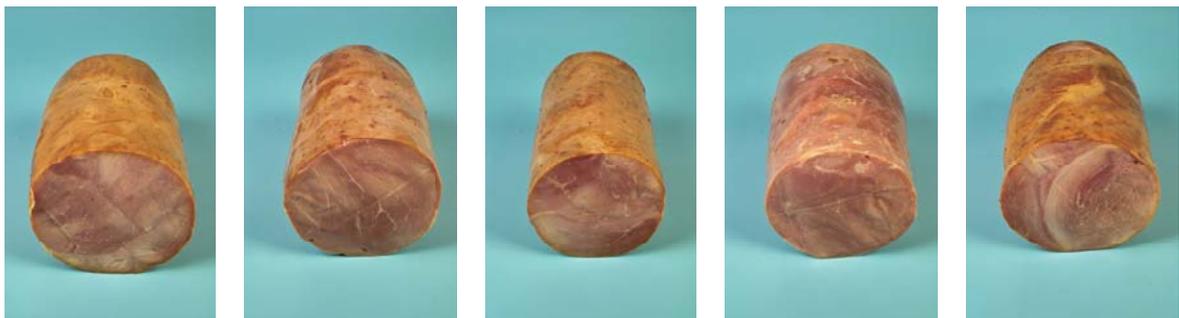
Innerhalb dieser Versuche zum Einfluss der Räuchermethode auf die resultierenden PAK-Gehalte wurde die ursprüngliche PAK-Methode (siehe Punkt 8 Methoden, Tabelle 40) zur Bestimmung von

BaA, CHR + TP, Bb+jF, BkF, BaP, IcP, DhA und BgP verwendet. Dies führte zu einem Summengehalt von BbF und BjF und fehlenden Werten von BcL, CPP, 5MC, DIP, DeP, DiP und DhP. Zu diesem Zeitpunkt waren die Methoden zur Bestimmung der 16 EFSA-PAK noch nicht entwickelt.

#### 5.1.4 Beprobung von Flüssigrauchprodukten im Vergleich zu traditionell geräucherten Produkten

Die Fachhochschule Lippe und Höxter in Lemgo stellte verschiedene Fleischerzeugnisse, die mit unterschiedlichen Räucherverfahren oder Flüssigrauch behandelt wurden, zur Verfügung, um den Einfluss dieser Methoden auf die PAK-Gehalte zu untersuchen. Bei diesen Proben handelte es sich um Kochschinken, Mettenden, Brühwürste und Bäuche. Die verschiedenen Räucherbedingungen die zur Herstellung dieser Produkte dienten sowie ihre Farbcodierungen sind unter Punkt 7.1.1 Räucherbedingungen (Tabelle 27, Tabellen 28 - 31) zusammengefasst.

Für eventuelle optische Unterschiede, verursacht durch verschiedene Rauchbehandlungen sind stellvertretend die einzelnen Kochschinken in Abbildung 35 dargestellt. Die äußere Farbe der Produkte ergab keine Hinweise auf die Höhe der PAK-Belastungen. Auch eine optische Zuordnung der jeweiligen Rauchbehandlung zu den Produkten war nicht möglich. Sensorisch konnte bei fast allen mit Flüssigrauch behandelten Fleischerzeugnissen ein leicht säuerlicher Geschmack festgestellt werden.



**Abbildung 35: Kochschinken, unterschiedlich mit Rauch behandelt (gelb, grün, blau, rot-weiß, grau, v.l.n.r., siehe Punkt 7.1.1 Räucherbedingungen (Tabelle 27))**

Bei den Bäuchen wurde vor der Zerkleinerung und Homogenisierung die Schwarte entfernt, um das verzehrfähige Material zu betrachten.

Die Untersuchung dieser Fleischerzeugnisse erbrachte folgende Resultate (Anhang 3): Wie zu erwarten war, spielt das Kaliber eine wichtige Rolle, da die meisten PAK nicht tief in die Fleischprodukte eindringen, welches nachfolgende Versuche bestätigen (siehe Punkt 5.1.8). Für die

Analysen wurden jedoch nur die gesamten verzehrbaren Anteile untersucht. Mettenden und Brühwürste wiesen höhere Werte auf als Kochschinken und Bäuche. Dies liegt an der Verteilung von Oberfläche zu Volumen. Das Verhältnis von Oberfläche zu Volumen ist bei Kochschinken und Bäuchen kleiner als bei Mettenden und Wiener Würstchen.

Weiterhin konnte bestätigt werden, dass der Einsatz von traditionellen Räuchermethoden (Glimmrauch) höhere Konzentrationen an BaP liefert als der Einsatz von Flüssigrauch. Der Flüssigrauch wurde teilweise gesprüht und teilweise wurden die Produkte in Flüssigrauch getaucht.

Allgemein sind alle Produkte nicht stark mit PAK belastet. Alle BaP-Gehalte lagen weit unter 5 µg/kg FM, dem Höchstgehalt für BaP in geräucherten Fleischerzeugnissen [1881/2006/EG]. Für Fleischerzeugnisse, denen Raucharomen zugefügt wurden, gilt jedoch die Aromenverordnung. Der in ihr verankerte BaP-Höchstgehalt von 0,03 µg/kg wurde bei einer Probe erreicht (Brühwürste grün).

#### **5.1.5 Vergleich von mit Glimmrauch geräucherten Produkten und Produkten, die mit einem speziellen Kaminräucherverfahren geräuchert wurden**

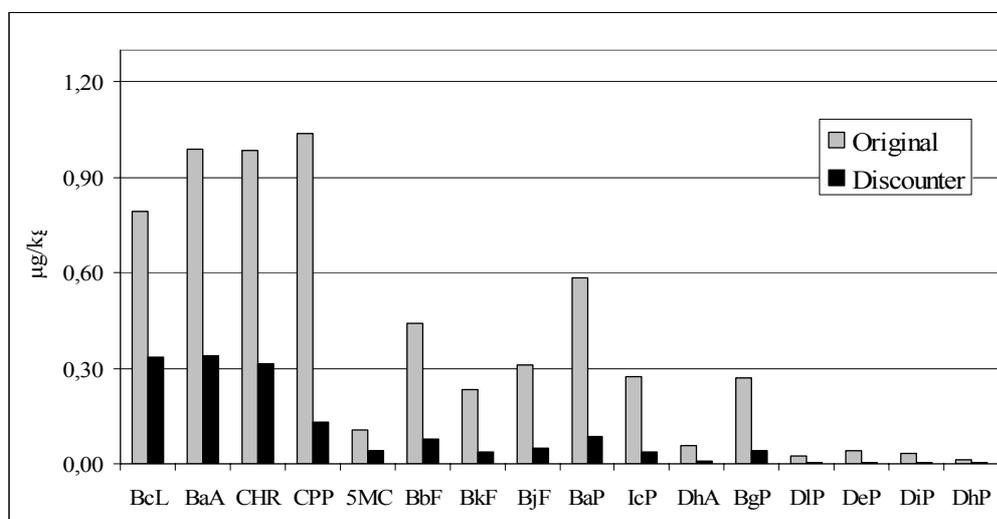
Um weiterhin den Einfluss der Raucherzeugung auf die PAK-Gehalte in Fleischerzeugnissen zu untersuchen, wurden in einer Firma, welche zwei unterschiedliche Räucherverfahren nutzt, Proben gezogen. Um Discounterware herzustellen, nutzt diese Firma eine Anlage mit Glimmraucherzeugung (Abbildung 36). Um Markenprodukte bzw. Originalware herzustellen, wird ein traditionelles Kaminräucherverfahren verwendet. Das Ausgangsmaterial war in beiden Fällen das Gleiche. Die Prozessbedingungen dieser beiden Räuchermethoden werden auf Wunsch der Firma nicht detailliert beschrieben.

Durch die unterschiedlichen Raucherzeugungsmethoden entstanden unterschiedlich hohe PAK-Konzentrationen. Bei dem traditionellen Kaminräucherverfahren wurden zeitweise die Holzspäne nicht nur zum Glimmen gebracht, sondern es entstand offenes Feuer (Abbildung 36). Dieses wurde regelmäßig abgelöscht.



**Abbildung 36: Glimmraucherzeuger (links) und Feuerstätte für die Raucherzeugung beim Kaminrächerverfahren (rechts)**

Der  $\text{PAK}_{\text{ges}}$ -Gehalt der Originalware (Kaminrächerverfahren) war um das Dreifache höher als der Gehalt der Discounterware (Glimmrauchverfahren). Die BaP-Gehalte beider Räucherwaren (Abbildung 37) lagen unter dem zulässigen BaP-Höchstgehalt von  $5 \mu\text{g}/\text{kg FM}$  in geräucherten Fleischerzeugnissen [1881/2006/EG]. Die einzelnen PAK-Gehalte sowie der  $\text{PAK}_{\text{ges}}$ -Gehalt dieser Produkte sind im Anhang 4 erfasst. Der größte Unterschied der PAK-Gehalte dieser beiden Räuchermethoden war der prozentuale Anteil von CPP am  $\text{PAK}_{\text{ges}}$ -Gehalt. Dieser betrug bei der Originalware 17 % und bei der Discounterware 9 %. Die Konzentration an CPP nahm bei der Originalware den größten Anteil des  $\text{PAK}_{\text{ges}}$ -Gehaltes ein. Auch der prozentuale Anteil von BaP am  $\text{PAK}_{\text{ges}}$ -Gehalt war unterschiedlich. Dieser betrug bei der Originalware 9,2 % und bei der Discounterware 5,8 %.



**Abbildung 37: Unterschied der PAK-Gehalte zwischen der Discounter- und der Originalware (Markenware), (CHR entspricht der Summe aus CHR und TP)**

### Einfluss der Räucherammer



**Abbildung 38: Räucherammer des Kaminräucherverfahrens vor der Reinigung (links) und nach der Reinigung (rechts)**

Ein weiteres Kriterium, welches innerhalb dieser Firma untersucht werden konnte, war der Einfluss der Räucherammer. Das hier verwendete traditionelle Kaminräucherverfahren erzeugte eine große Menge an Ruß, der sich an den Wänden niederschlug. Daher wurden Proben vor und nach der Reinigung der Räucherammer gezogen, welche mit speziellen Hochdruckreinigern durchgeführt wurde. Die Abbildung 38 zeigt die Räucherammer vor und nach der Reinigung.

Innerhalb dieser Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass Räuchern von Produkten in einer verschmutzten Kammer höhere PAK-Gehalte in den Proben zur Folge hatte, als die Räucherung in einer frisch gereinigten Kammer (Tabelle 11). In der verschmutzten Kammer geräucherte Fleischprodukte wiesen einen um 29 % höheren  $\text{PAK}_{\text{ges}}$ -Gehalt auf als Produkte, die in der gereinigten Kammer geräuchert wurden. Ursache hierfür könnte sein, dass sich ein Gleichgewicht zwischen den PAK in der Gasphase und an den Wänden abgeschiedener PAK einstellt.

Anschließend wurden zwei Rückstellproben mit unterschiedlichem Probenahmedatum (April und September 2006) analysiert und versucht auf den Zustand der Räucherammer zu schließen. Auf Grund der unterschiedlich hohen PAK-Konzentrationen (Tabelle 11) kann davon ausgegangen werden, dass die Probe mit dem Probenahmedatum April 2006 in einer verschmutzteren Kammer als die Probe mit Probenahmedatum September 2006 geräuchert wurde.

**Tabelle 11: Vergleich der PAK-Gehalte von Brühwürsten, die in einer sauberen und in einer verschmutzten Kammer geräuchert wurden und zwei willkürlich gezogener Proben (n = 3)**

	Original Probenahme April 2006 µg/kg	Original Probenahme September 2006 µg/kg	Original (gereinigte Räucherammer) Probenahme Januar 2007 µg/kg	Original (verschmutzte Räucherammer) Probenahme Januar 2007 µg/kg
BcL	1,02 ± 0,04	0,79 ± 0,15	1,16 ± 0,18	1,07 ± 0,24
BaA	1,58 ± 0,14	0,99 ± 0,11	1,20 ± 0,03	1,58 ± 0,34
CHR + TP	1,60 ± 0,04	0,98 ± 0,13	0,92 ± 0,09	1,21 ± 0,26
CPP	3,22 ± 0,10	1,04 ± 0,04	1,79 ± 0,32	2,59 ± 0,29
5MC	0,13 ± 0,02	0,11 ± 0,03	0,11 ± 0,02	0,15 ± 0,05
BbF	0,84 ± 0,01	0,44 ± 0,07	0,80 ± 0,11	1,25 ± 0,34
BkF	0,45 ± 0,01	0,23 ± 0,04	0,32 ± 0,05	0,52 ± 0,14
BjF	0,60 ± 0,01	0,31 ± 0,06	0,46 ± 0,00	0,70 ± 0,02
<b>BaP</b>	<b>1,05 ± 0,03</b>	<b>0,59 ± 0,10</b>	<b>0,77 ± 0,11</b>	<b>1,17 ± 0,29</b>
IcP	0,52 ± 0,00	0,28 ± 0,05	0,40 ± 0,10	0,70 ± 0,17
DhA	0,10 ± 0,00	0,06 ± < 0,03	0,09 ± 0,01	0,15 ± 0,04
BgP	0,57 ± 0,01	0,27 ± 0,04	0,36 ± 0,03	0,73 ± 0,22
DIP	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,02
DeP	0,05 ± 0,00	0,04 ± 0,01	< 0,03 ± -	0,04 ± 0,01
DiP	< 0,01 ± 0,00	0,03 ± 0,01	< 0,01 ± -	< 0,01 ± -
DhP	< 0,03 ± 0,00	< 0,03 ± 0,01	< 0,01 ± -	< 0,01 ± -
PAK <sub>ges</sub>	11,81	5,43	8,46	11,91

### 5.1.6 Einfluss der äußeren Schicht auf das Eindringen von PAK ins Innere der Produkte bei unterschiedlich langer Raucheinwirkung

In weiteren Versuchen wurde der Einfluss der Auswahl des Darmes sowie der Zeit der Raucheinwirkung auf die PAK-Gehalte von Fleischerzeugnissen untersucht. Bei den Versuchsparametern wurden als Räucherethode Glimmrauch mit Zirkulation und als äußere Schicht Saitling und Schäldarm gewählt. Die Bedingungen und Prozessparameter des Heißräucherverfahrens sowie das Ausgangsbrät entsprachen denen unter Punkt 5.1.3. Charge 1 wurde einmal 10 min lang geräuchert (1) und Charge 2 viermal 10 min (4).

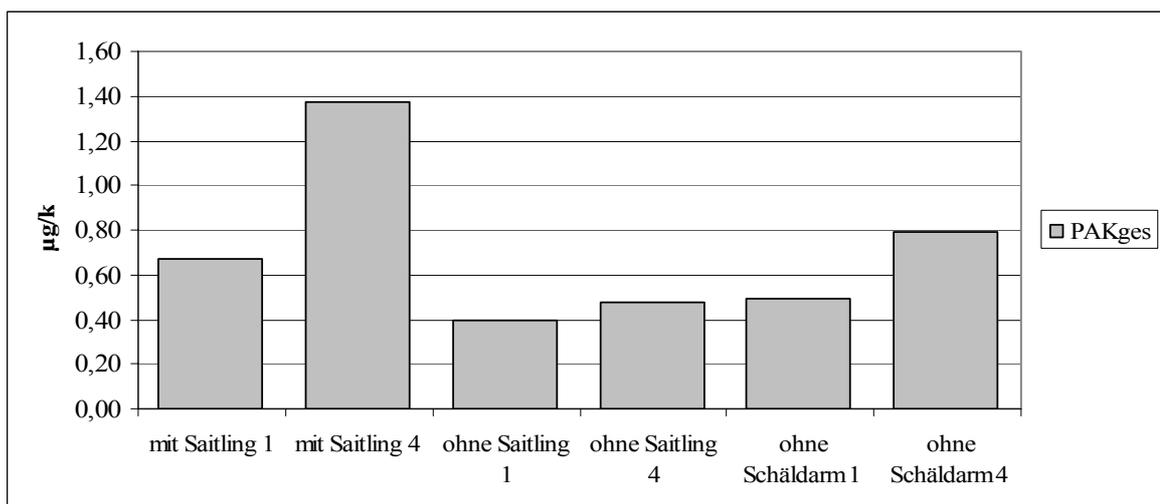
Dabei ergaben sich für die erhaltenen Brühwürste farbliche Unterschiede. Eine längere Räucherzeit führte zu dunkleren Produkten (siehe Abbildung 39). Das rechte Paar Wiener mit Saitling, sowie die oberen Brühwürste mit Schäldarm waren dunkler als die jeweiligen Vergleichsproben, die nur 10 min lang geräuchert wurden.



**Abbildung 39: Farbliche Unterschiede der Brühwurstproben bei unterschiedlichen Räucherzeiten (mit Saitling links, mit Schälldarm rechts)**

Für die folgende Bestimmung der  $PAK_{ges}$ -Gehalte ( $\Sigma$  BaA, CHR + TP, Bb+jF, BkF, BaP, IcP, DhA, BgP) wurden die Wiener im Schälldarm ohne Darm zerkleinert und homogenisiert, da dieser Kunst Darm nicht gleichmäßig verteilbar war und auch generell nicht verzehrt wird. Die Brühwurst im Saitling wurde inklusive Darm zerkleinert und homogenisiert. Beide Proben entsprachen dem Material, welches zum Verzehr geeignet ist. Zusätzlich wurden weitere Wiener im Saitling vor der Zerkleinerung und Homogenisierung vom Saitling befreit und ebenfalls analytisch untersucht. Es wurden jeweils 4 Wiederholungen durchgeführt.

Das folgende Diagramm (Abbildung 40) zeigt die ermittelten  $PAK_{ges}$ -Gehalte der verschiedenen Proben bei unterschiedlichen Raucheinwirkungszeiten. Die höchsten Werte wiesen die Brühwürste mit Saitling auf, die 40 min geräuchert wurden. Unabhängig vom Darm nahmen die PAK-Gehalte tendenziell mit steigender Räucherzeit zu (Anhang 5). Allerdings war diese Steigerung, abhängig vom jeweiligen Darm, unterschiedlich.



**Abbildung 40:  $PAK_{ges}$ -Gehalte abhängig von der Räucherzeit (1 x 10 min und 4 x 10 min) und der äußeren Schicht (n = 4)**

Auch war die Zunahme nicht für alle PAK gleich und variierte. Die vierfache Räucherzeit führte nicht zur Vervielfachung der PAK-Gehalte. Dies belegten die ermittelten PAK-Gehalte. Dass die

PAK hauptsächlich im Saitling und nicht in der Wurst lokalisiert waren, zeigten die Ergebnisse der Analyse von Brühwürsten mit Saitling und denselben Wurstproben, bei denen vor der Analyse der Darm entfernt wurde. Die Proben mit Saitling wiesen höhere Werte auf. Das Verhältnis der PAK-Gehalte der Brühwürste mit Saitling zu den PAK-Gehalten der Brühwürste ohne Saitling stieg tendenziell mit abnehmender Molekülgröße (Anhang 5).

Es lies sich aus den Ergebnissen ableiten, dass der Saitling mehr PAK zurückhält als der Schäldarm, da die PAK-Gehalte der Brühwürste ohne Schäldarm höher waren als die der Brühwürste ohne Saitling.

### 5.1.7 PAK-Gehalte in Fleischerzeugnissen mit Räucherdärmen

Neben dem traditionellen Räuchern und der Anwendung von Flüssigrauch, welche durch Tauchen oder Sprühen erfolgen kann, gibt es eine weitere Möglichkeit, Raucharoma in Fleischerzeugnisse einzubringen. Dies ermöglicht der Einsatz von Därmen, die auf der Innenseite mit Raucharomen imprägniert wurden. Um auch diesen Aspekt des Eintrags von Raucharomen zu untersuchen, wurden verschiedene „geräucherte“ Wursthüllen für ein Kaliber von 75 mm von zwei Firmen bezogen. Diese wurden zunächst auf ihre PAK-Gehalte überprüft. Als Extraktionsmethode diente die Soxhletextraktion. Folgende PAK-Gehalte konnten in diesen Wursthüllen ermittelt werden (Tabelle 12):

**Tabelle 12: PAK-Gehalte in mit Flüssigrauch imprägnierten Wursthüllen [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ], (n = 3)**

	A	B	C	D	E	F
BcL	0,37	0,66	0,51	0,34	0,86	0,62
BaA	0,41	0,70	0,80	0,55	1,31	1,31
CHR + TP	0,64	1,16	1,02	1,44	1,38	1,75
CPP	0,06	0,04	0,14	0,06	0,04	0,04
5MC	0,04	0,03	< 0,01	< 0,03	< 0,01	0,09
BbF	0,18	0,26	0,49	0,34	0,36	0,50
BkF	0,08	0,13	0,27	0,13	0,17	0,26
BjF	0,15	0,22	0,34	0,18	0,29	0,38
<b>BaP</b>	<b>0,22</b>	<b>0,25</b>	<b>0,69</b>	<b>0,21</b>	<b>0,46</b>	<b>0,56</b>
IcP	0,06	0,09	0,35	0,12	0,14	0,23
DaA	< 0,03	< 0,03	< 0,09	0,03	< 0,03	< 0,09
BgP	0,10	0,11	0,59	0,14	0,19	0,38
DIP	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
DeP	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
DiP	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
DhP	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
PAK <sub>ges</sub>	2,46	3,80	5,42	3,69	5,36	6,33

In den Wursthüllen wurden 2,3 bis 6,3  $\mu\text{g PAK}_{\text{ges}}/\text{kg}$  und 0,2 bis 0,7  $\mu\text{g BaP}/\text{kg}$  bestimmt. Den größten prozentualen Anteil am  $\text{PAK}_{\text{ges}}$ -Gehalt konnte CHR + TP zugewiesen werden (20 - 41 %).

Im Anschluss wurden Brühwürste (Kaliber 75 mm) unter Ausschluss von Räuchern hergestellt. Dafür wurde geräucherter Darm verwendet und die Brühwürste wurden lediglich gebrüht. Als Grundbrät diente dieselbe Masse wie unter 5.1.3 beschrieben. Einen optischen Vergleich von mit Dampf- und Glimmrauch hergestellten Brühwürsten und der Anwendung des Räucherdarms zeigt Abbildung 41.

Bei einer Einwaage von 5 g konnten in den Brühwurstproben keine Gehalte  $> \text{LOQ}$  ermittelt werden. Die Anwendung solcher Därme dient demnach zur Herstellung von Produkten mit sehr geringen PAK-Gehalten. Untersuchungen einzelner Ringe, um eventuelle geringe Anteile nicht weit eingedrungener PAK zu bestimmen, wurden nicht durchgeführt.



**Abbildung 41: Würste behandelt mit Dampfrauch, Glimmrauch, Räucherdarm (v. o.)**

### **5.1.8 Eindringtiefe der PAK in ausgewählte Brühwurstserzeugnisse**

Ein weiterer bedeutender Aspekt der PAK-Problematik ist die Frage, wie weit die einzelnen PAK bei oberflächlicher Behandlung in das Innere der Fleischerzeugnisse eindringen können. Verbliebe der größte Teil der PAK im Darm, so wäre mit der Entfernung des Darms der PAK-Gehalt des Fleischerzeugnisses zu minimieren. Hierfür wurden zwei unterschiedliche Räuchertechnologien getestet: Glimmrauch und Dampfrauch.

Um die beiden Räuchertechnologien miteinander vergleichen zu können, wurde bei beiden Methoden 60 min geräuchert. Für diese Untersuchungen wurde gleiches Brätmaterial (siehe 5.1.3) verwendet. Dieses Brät wurde ohne Gewürze und mit einem Fettanteil von 14 % hergestellt. Auf Gewürze wurde bewusst verzichtet, um einen Eintrag von PAK durch Gewürze auszuschließen. Ein Fettanteil von nur 14 % gewährleistete optimale Bedingungen für die Aufarbeitung und

Analytik der Brühwürste. Die Brühwürste besaßen ein Kaliber von 75 mm und wurden mit Hilfe verschiedener Ausstechformen in einzelne Ringe geteilt, die den unterschiedlichen Eindringtiefen entsprechen (Abbildung 42). Der Darm wurde vor der Probenaufarbeitung entfernt.



Abbildung 42: Ausgestochene Wurstringe

Es wurden die PAK-Gehalte des gesamten Produktes ohne Darm und die der jeweiligen Ringe bestimmt (Tabelle 13). Diese Untersuchungen zeigten, dass sich nahezu 99 % aller PAK in den äußeren 22 Gewichts-% der Brühwurst befanden. Dieses Ergebnis war unabhängig von den beiden Räuchertechnologien (Dampf-, Glimmrauch). Die Brühwürste, die im Glimmrauch mit Durchzug geräuchert wurden, wiesen höhere PAK-Gehalte auf, als die Proben, die im Dampfrauch mit Durchzug geräuchert wurden. Im dritten Ring und im Kern waren keine PAK oberhalb der Bestimmungsgrenze zu ermitteln.

Tabelle 13: PAK-Gehalte in den verschiedenen Ringen, (n = 3)

	1. Ring (22 Gewichts-%)		2. Ring (35 Gewichts-%)		gesamt	
	Glimmrauch	Dampfrauch	Glimmrauch	Dampfrauch	Glimmrauch	Dampfrauch
	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg
BcL	0,58	0,53	< 0,01	< 0,01	0,14	0,13
BaA	0,98	0,53	0,01	< 0,01	0,21	0,12
CHR + TP	1,16	0,72	0,01	< 0,01	0,26	0,16
CPP	1,42	0,52	< 0,01	0,006	0,32	0,12
5MC	0,03	0,02	< 0,003	< 0,003	0,01	0,01
BbF	0,31	0,13	0,01	< 0,01	0,06	0,03
BkF	0,17	0,06	0,01	< 0,01	0,04	0,01
BjF	0,32	0,10	0,01	< 0,01	0,07	0,02
<b>BaP</b>	<b>0,38</b>	<b>0,14</b>	<b>0,01</b>	<b>&lt; 0,01</b>	<b>0,07</b>	<b>0,03</b>
IcP	0,05	0,03	< 0,03	< 0,01	< 0,03	< 0,03
DhA	< 0,03	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
BgP	0,08	0,04	0,02	< 0,003	0,02	0,01
PAK <sub>ges</sub>	5,51	2,83	0,14	(< 0,1)	1,24	0,68

Auch die Därme dieser Brühwürste, obwohl es sich hierbei um Kunstdärme handelte, welche nicht zu den verzehrbaren Anteilen gehören, wurden auf ihre PAK-Gehalte untersucht. Es wurde jeweils gleiches Darmmaterial verwendet, jedoch wiesen die Därme der Brühwürste, die mit Dampfrauch geräuchert wurden geringere Gehalte ( $5 \mu\text{g BaP/kg}$ ) als die Därme, die mit Glimmrauch ( $29 \mu\text{g BaP/kg}$ ) geräuchert wurden, auf (Anhang 6). Es konnte zudem bestätigt werden, dass die Kunstdärme PAK zurückhalten und somit durch ein vorheriges Entfernen dieser Wursthüllen der Verbraucher beim Verzehr der Brühwürste einem geringeren Gesundheitsrisiko ausgesetzt ist.

### 5.1.9 Bestimmung des TP/CHR-Verhältnisses

Mit den eingesetzten Methoden zur Bestimmung der 16 EFSA-PAK war eine Trennung von CHR und TP nicht möglich. Um eine Aussage über das Mengenverhältnis von TP zu CHR treffen zu können, wurde eine separate Methode erarbeitet. Dafür wurde eine unpolare VF-Xms-Kapillarsäule von Varian Deutschland GmbH verwendet. Mit Hilfe einer relativ geringen Heizrate von  $3,5 \text{ }^\circ\text{C/min}$  bei einer Starttemperatur von  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  und einem konstanten Fluss von  $1 \text{ ml/min}$  gelang eine Trennung dieser beiden PAK (Abbildung 43). Alle anderen Parameter sind dem Punkt 8.5 Tabelle 44 zu entnehmen.

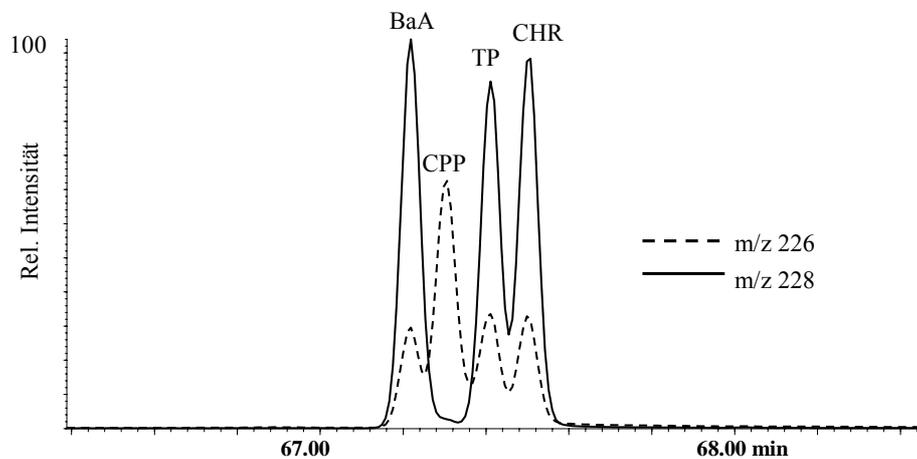


Abbildung 43: Chromatographische Trennung von BaA, CPP, TP und CHR, (VF-Xms)

Um das erwähnte Mengenverhältnis in ausgewählten Lebensmitteln zu bestimmen, wurden im Anschluss 25 Proben verschiedener Fleischprodukte untersucht. Bei diesen Proben handelte es sich um 13 Proben Schinkenspeck, 5 Rohschinken, 1 Wildpfefferbogen, 1 Wildschweinschinken, 1 Schweinebauch, 1 Braungeselchtes, 1 Schwarzgeräuchertes; gedämpft, 1 Schwarzgeräuchertes; gegart und 1 Schwarzgeräuchertes; gekocht. Dabei wurde festgestellt, dass das Mengenverhältnis von Triphenylen zu Chrysen sehr unterschiedlich ist (Tabelle 14). Den höchsten Wert von 2,7 weist

die Wildschweinschinkenprobe auf. Weiterhin wurden 4 Gewürze, 3 Raucharomen, 3 Räuchersalze und 2 Rauchwürzer untersucht (Tabelle 14).

Innerhalb der Schinkenspeckproben konnte ein Verhältnis von  $0,38 \pm 0,1$ ; innerhalb der Rohschinken von  $0,31 \pm 0,14$ ; innerhalb der bauern-/schwarzgeräucherten Proben von  $0,18 \pm 0,1$ ; innerhalb der Raucharomen von  $0,57 \pm 0,5$ ; innerhalb der Rauchwürzer und Räuchersalze von  $0,23 \pm 0,06$  und innerhalb der Gewürze von  $0,52 \pm 0,11$  bestimmt werden. Die Einzelwerte dieser Gruppen variierten nicht so stark wie die Werte aller Proben. Die relative Standardabweichung in den Gruppen Schinkenspeck, Rauchwürzer und Räuchersalze sowie Gewürze betrug unter 30 %.

Es wurden Summengehalte von CHR + TP in Fleischerzeugnissen von 0,1 bis 13,7  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ermittelt. Vom Summengehalt konnte nicht das CHR/TP-Verhältnis abgeleitet werden. Die Absolutkonzentrationen von Chrysen und Triphenylen sind nicht einzeln aufgeführt.

Alle diese Untersuchungen sowie die der geräucherten Fleischprodukte ergaben, dass der Anteil von Triphenylen nicht vernachlässigbar ist. Es konnten Verhältnisse in den untersuchten Lebensmitteln von Triphenylen zu Chrysen von 0,1 bis 2,7 ermittelt werden.

**Tabelle 14: Verhältnisse TP/CHR**

Probe	Verhältnis TP/CHR	Probe	Verhältnis TP/CHR
Schweinebauch	0,12	Rohschinken _1	0,39
		Rohschinken _2	0,11
Schinkenspeck _1	0,37	Rohschinken _3	0,51
Schinkenspeck _2	0,34	Rohschinken _4	0,24
Schinkenspeck _3	0,25	Rohschinken _5	0,32
Schinkenspeck _4	0,53		
Schinkenspeck _5	0,54	Raucharoma _1	0,24
Schinkenspeck _6	0,47	Raucharoma _2	0,21
Schinkenspeck _7	0,28	Raucharoma _3	1,27
Schinkenspeck _8	0,37		
Schinkenspeck _9	0,49	Räuchersalz _1	0,34
Schinkenspeck _10	0,28	Räuchersalz _2	0,16
Schinkenspeck _11	0,25	Räuchersalz _3	0,20
Schinkenspeck _12	0,46	Rauchwürzer _1	0,21
Schinkenspeck _13	0,36	Rauchwürzer _2	0,25
Wildschweinschinken	2,70	Majoran	0,41
		Schnittlauch	0,66
“Wildpfefferbogen”	0,46	Paprika (-pulver)	0,58
		Pfeffer	0,42
Bauerngeräuchertes, gekocht	0,20		
Schwarzgeräuchertes, gegart	0,18		
Schwarzgeräuchertes, gedämpft	0,17		
Braungeslechtes	0,35		

Dieses Resultat führt zu der Erkenntnis, dass unter Verwendung der entwickelten Methode zur Bestimmung der 16 EFSA-PAK die Konzentration von Chrysen korrekterweise als Summe der Konzentrationen aus Triphenylen und Chrysen dargestellt und auch so angegeben werden sollte. Bei der alleinigen Angabe von CHR wird sonst das kanzerogene Potential überbewertet, da CHR toxikologisch bedenklicher ist als TP [MÜLLER et al., 1995].

Diese speziell für die chromatographische Trennung von CHR und TP erarbeitete Methode eignete sich jedoch nicht für die Analyse aller 16 EFSA-PAK und TP, da der Einsatz der für diese Methode benötigten Säule (VF-Xms) zu längeren Laufzeiten führte (ca. 100 min) und die Trennung für die anderen PAK nicht ausreichend war (siehe Abbildung 44).

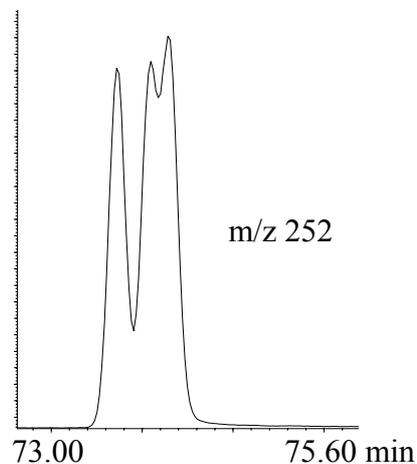


Abbildung 44: Trennung der Benzofluoranthene (BbF, BkF, BjF), (VF-Xms)

#### 5.1.10 PAK-Gehalte in repräsentativen Proben von Fleischerzeugnissen

Innerhalb eines nationalen Qualitätswettbewerbes wurden 25 Salamis und 23 Wiener Würstchen verschiedener Hersteller deutschlandweit als repräsentative Proben gezogen und auf ihre PAK-Gehalte untersucht. Die Proben wurden mittels der erarbeiteten Fast-GC-Methode analysiert (siehe Punkt 4.1.2.2.3). Die Einzelwerte dieser Untersuchungen sind unter Anhang 7 und Anhang 8 zusammengefasst.

Die Gehalte an BaP und  $PAK_{ges}$  der Wiener waren im Median um ca. das Doppelte höher als die Gehalte der Salamiprobe. Eine wichtige Rolle hierbei spielte das Kaliber. Das Verhältnis von Oberfläche zu Volumen war bei den Wiener Würstchen höher als bei Salamis. Ein weiterer Einflussfaktor auf die PAK-Gehalte stellte die Räucherethode dar. Salamis werden hauptsächlich kaltgeräuchert und Wiener Würstchen warm- bzw. heißgeräuchert. Kalträucherung führt zu niedrigeren PAK-Gehalten [Grimm, 1999].

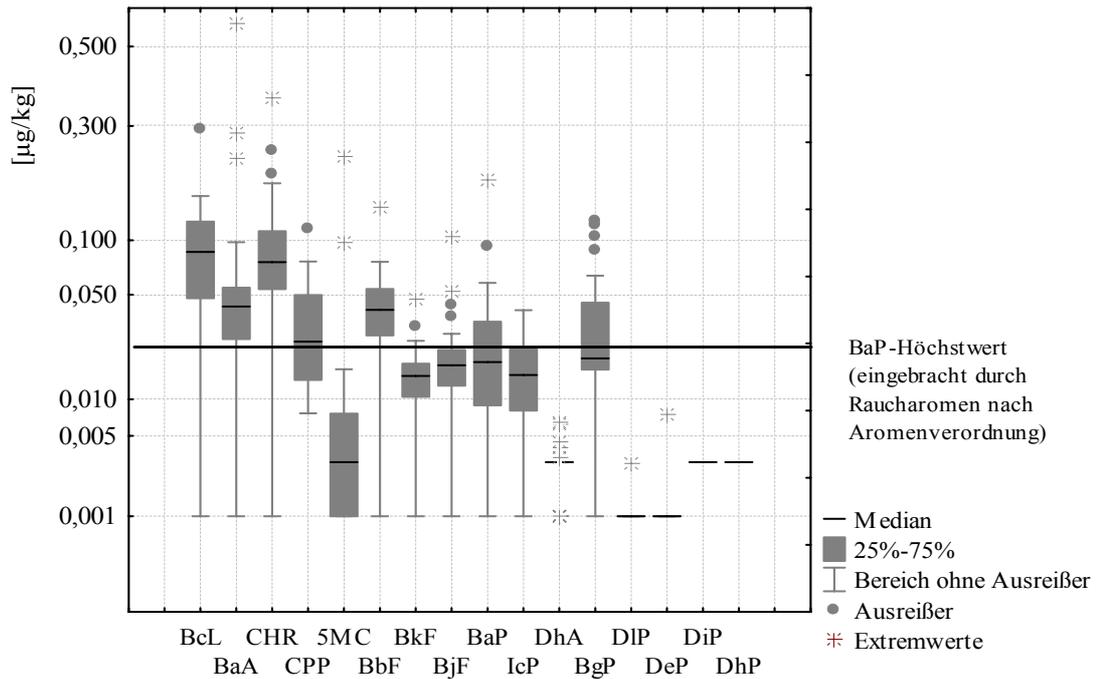


Abbildung 45: PAK-Gehalte in Salami (n = 25), (CHR entspricht der Summe aus CHR und TP)

Betrachtet man den BaP-Höchstgehalt für geräuchertes Fleisch und Fleischerzeugnisse [1886/2006/EG], so ist festzuhalten, dass die BaP-Gehalte dieser Proben deutlich unter dem Höchstgehalt lagen (Abbildung 45 und Abbildung 46). Der Median der BaP-Gehalte der 25 Salamiprobe (0,02 µg/kg) und der Median aller 23 Wiener Würstchen Proben (0,05 µg/kg) lagen unter einem Gehalt von 0,5 µg/kg.

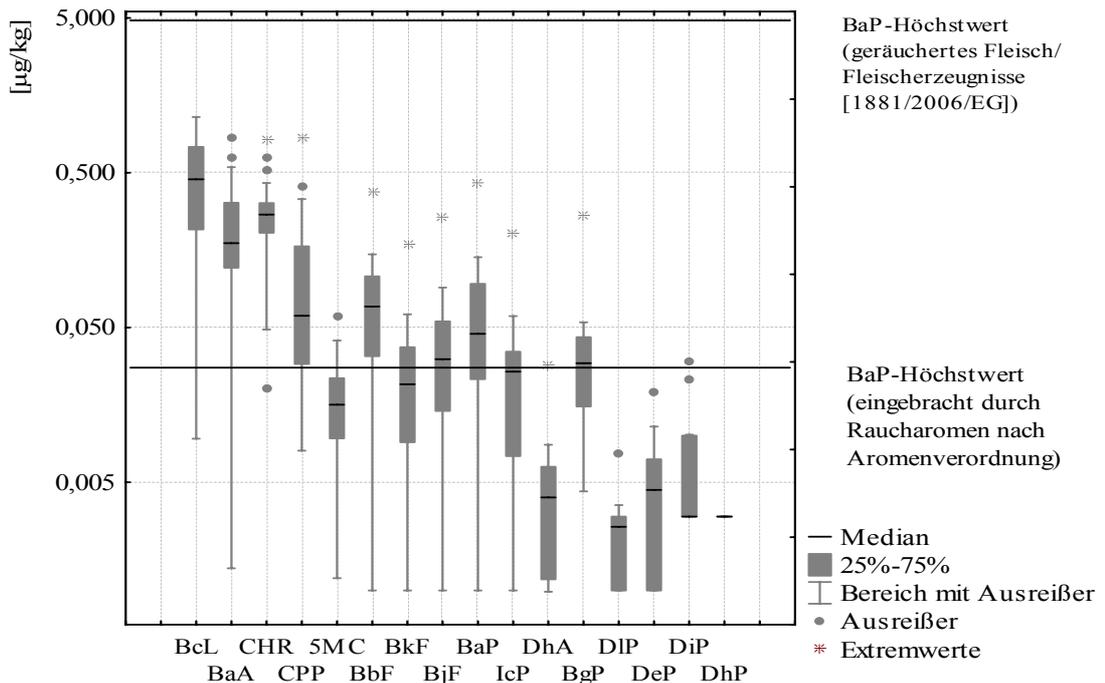


Abbildung 46: PAK-Gehalte in Wienern (n = 23), (CHR entspricht der Summe aus CHR und TP)

Der prozentuale Anteil von BaP am  $PAK_{ges}$ -Gehalt betrug im Median bei Salami 4,0 % und bei Wiener Würstchen 3,7 % und war damit annähernd gleich. Die prozentual größten Anteile am  $PAK_{ges}$ -Gehalt nahmen das BcL (Salami: im Median 21,1 %, Wiener Würstchen: im Median 36,0 %), CHR + TP (Salami: im Median 17,7 %, Wiener Würstchen: im Median 9,5 %) und BaA (Salami: im Median 22,4 %, Wiener Würstchen: im Median 15,3 %) ein.

Einige PAK-Verhältnisse wurden näher betrachtet, um eventuelle Unterschiede zwischen den Salamiprobe n und den Proben von Wiener Würstchen festzustellen. Das Verhältnis der Benzofluoranthene zueinander, das Verhältnis von CHR + TP zu BaA und die Verhältnisse der einzelnen PAK zu BaP sind in Tabelle 15 zusammengefasst. Der größte Unterschied der PAK-Verhältnisse von Salami und Wiener Würstchen wurde bei BcL/BaA, BaA/BaP, BkF/BaP, IcP/BaP und BgP/BaP ermittelt. Die Einzelwerte schwankten weit stärker.

**Tabelle 15: Mediane der Verhältnisse einzelner PAK zueinander**

	Salami (n = 25)	Wiener Würstchen (n = 23)
BcL/BaP	4,8	9,6
BaA/BaP	2,3	4,4
CHR + TP/BaP	4,2	5,9
BbF/BaP	1,7	1,3
BkF/BaP	0,7	0,4
BjF/BaP	0,9	0,6
IcP/BaP	0,9	0,5
BgP/BaP	1,7	0,6
CHR + TP/BaA	1,9	1,4
BbF/BkF	2,5	2,8
BbF/BjF	2,3	1,9
BkF/BjF	0,9	0,7
$PAK_{ges}$ /BaP	25,2	27,4

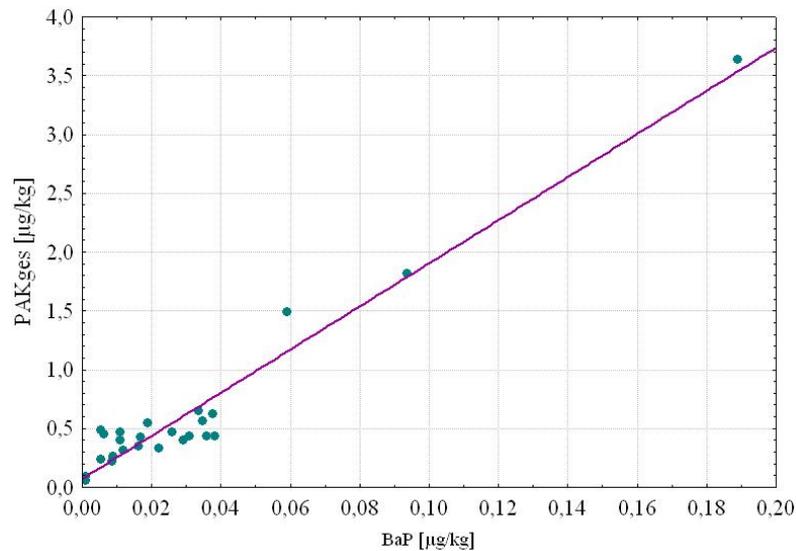
Ein Zusammenhang zwischen dem  $PAK_{ges}$ - und dem BaP-Gehalt innerhalb der Fleischerzeugnisse stellvertretend für die Salamiprobe n ist in Abbildung 47 dargestellt. Dieser Zusammenhang sowohl in den Salamiprobe n als auch innerhalb der Proben von Wiener Würstchen kann mit folgenden Gleichungen beschrieben werden:

Salami:  $PAK_{ges} = 0,0718 + 18,3285 * BaP, (R = 0,97)$

Wiener Würstchen:  $PAK_{ges} = 0,5982 + 12,3306 * BaP, (R = 0,92).$

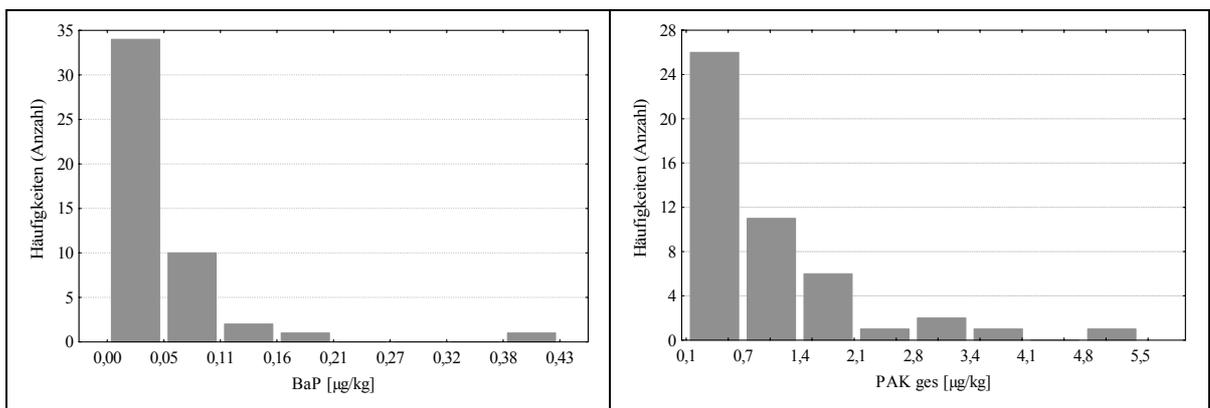
Als Maß für die Stärke der Abhängigkeit der einzelnen PAK-Gehalte zueinander und zum  $PAK_{ges}$ -Gehalt sind die zugehörigen Korrelationskoeffizienten sowie deren Signifikanz im Anhang 9 und Anhang 10 aufgelistet. Die Korrelationskoeffizienten fielen bei den Wiener Würstchen höher aus

und waren zu dem stärker signifikant. Dies war u. a. auf die höheren Konzentrationen zurückzuführen, da hier der Fehler der Messung geringer war bzw. sich weniger stark auswirkte.



**Abbildung 47: Linearer Zusammenhang zwischen BaP- und PAK<sub>ges</sub>-Konz. in Salami (n = 25)**

Da innerhalb der Salamiprobe alle DiP- und DhP-Gehalte unterhalb der Nachweisgrenze lagen, konnten hierfür keine Korrelationskoeffizienten zu anderen PAK bestimmt werden. Dies galt innerhalb der Proben von Wiener Würstchen ebenfalls für das DhP. Weiterhin konnte festgestellt werden, dass die Korrelationskoeffizienten höher wurden mit steigender Konzentration der PAK. So betragen die Korrelationskoeffizienten bei den Salamiprobe von BaA und BcL 0,98 und von 5MC und CPP 0,14. BaA und BcL lagen in höheren Konzentrationen als 5MC und CPP in den jeweiligen Proben vor.



**Abbildung 48: Häufigkeiten der BaP- und PAK<sub>ges</sub>-Gehalte in allen repräsentativen Proben (Salami, Wiener Würstchen)**

In Abbildung 48 sind die Häufigkeiten ausgedrückt in der Anzahl der BaP-Gehalte und der PAK<sub>ges</sub>-Gehalte aller untersuchter repräsentativer Proben dargestellt.

## 5.2 PAK in Rauchwürzern und Räuchersalzen

Neben dem Räuchern, einer potentiellen PAK-Eintragsquelle in Fleischerzeugnisse, wäre darüber hinaus ein PAK-Eintrag über eine Gewürzzugabe, welche unter Punkt 5.3 behandelt wird, als auch über Rauchwürzer und Räuchersalze möglich. Daher wurden 31 verschiedene Raucharomen, Räuchersalze und Rauchwürzer im Hinblick auf die von der EU als prioritär eingestuften PAK untersucht. Zu diesen prioritär eingestuften PAK zählten die unter Punkt 3.1.2 näher erläuterten 16 EFSA-PAK. Nach Empfehlung der EU sollen alle 16 EFSA-PAK in verschiedenen Lebensmittelgruppen analysiert werden, um mit der erhaltenen Datenmenge die Eignung von BaP als Marker überprüfen zu können. Als Analysenmethode eignete sich die bereits bei den Fleischerzeugnissen verwendete Probenaufarbeitung und GC/MS-Bestimmung, welche bereits unter Punkt 4.1.2 erläutert wurde und detailliert unter Punkt 8.2 und Punkt 8.5 beschrieben wird. Im Gegensatz zu den Fleischerzeugnissen betrug die Einwaage bei dieser Lebensmittelgruppe lediglich 1 - 2 g. Diese Einwaage war aber ausreichend, um das benötigte Clean-up sowie die qualitative und quantitative Bestimmung der PAK zu gewährleisten.

Insgesamt wurden vier Raucharomen, acht Räuchersalze und 20 Rauchwürzer (Punkt 7.3, Tabelle 32) untersucht und werden im Folgenden gemeinsam als Räuchermittel (Abbildung 49) bezeichnet. Eine Schwarzwälderwälderwurzpanade wurde den Rauchwürzern zugeordnet.



**Abbildung 49: Ausgewählte Räuchermittel**

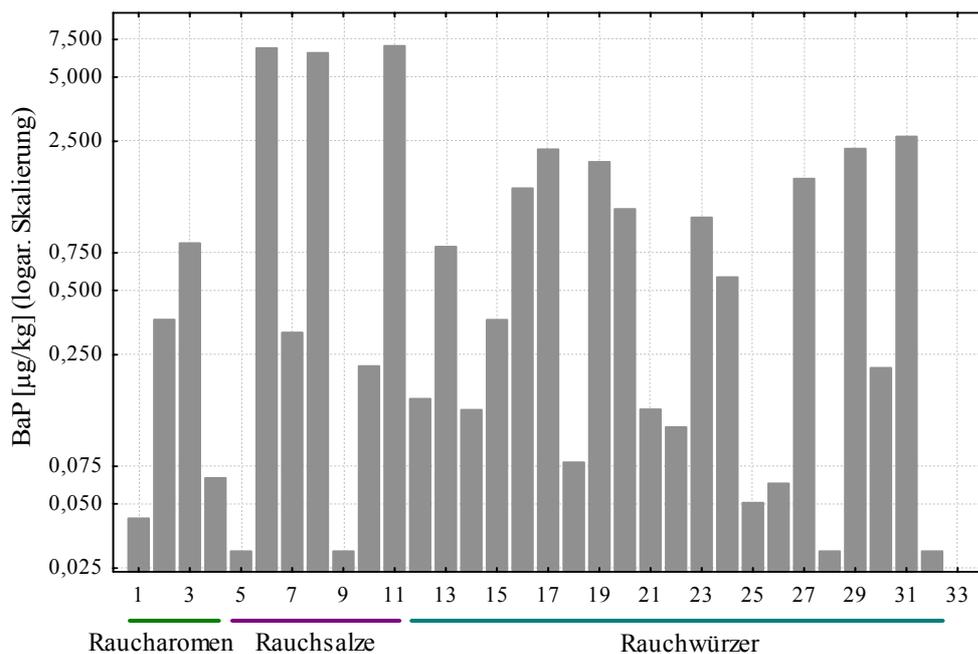
Die Ergebnisse dieser Analysen sind im Anhang 11 und Anhang 12 und die ermittelten Mediane der einzelnen PAK in Tabelle 16 aufgeführt.

Bei vier der untersuchten Proben, zwei Räuchersalzen und zwei Rauchwürzern, konnte kein Benzo[a]pyren nachgewiesen werden.

**Tabelle 16: Mediane der PAK-Gehalte in Raucharomen, Räuchersalzen und Rauchwürzern**

	Median Räuchermittel (n = 32), [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	Median Raucharomen (n = 4), [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	Median Räuchersalze (n = 8), [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	Median Rauchwürzer (n = 20), [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]
BcL	0,67	0,58	0,40	0,84
<b>BaA</b>	<b>0,53</b>	<b>0,31</b>	<b>0,76</b>	<b>0,83</b>
CHR + TP	0,73	0,39	0,82	0,93
CPP	0,07	0,04	0,20	0,07
5MC	0,08	0,04	0,04	0,11
BbF	0,39	0,22	0,18	0,61
BkF	0,15	0,10	0,08	0,27
BjF	0,24	0,18	0,11	0,39
<b>BaP</b>	<b>0,34</b>	<b>0,22</b>	<b>0,27</b>	<b>0,47</b>
IcP	0,19	0,14	0,09	0,30
DaA	0,09	< 0,06	< 0,06	0,14
BgP	0,31	0,19	0,05	0,36
DIP	< 0,03	< 0,03	< 0,06	< 0,06
DeP	< 0,06	< 0,03	< 0,03	0,07
DiP	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
DhP	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
PAK <sub>ges</sub>	3,57	2,59	3,30	5,55

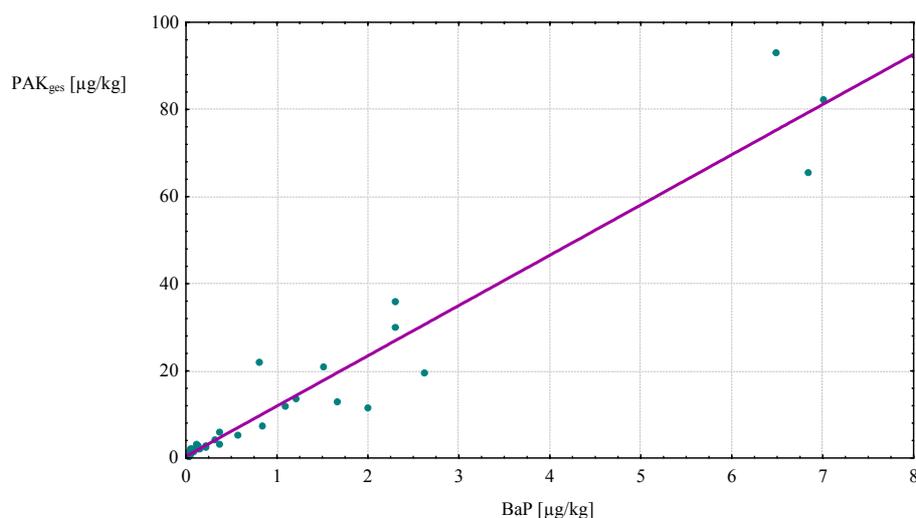
Bei Raucharomen ergab sich für BaP ein Median von 0,22  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , bei Räuchersalzen von 0,27  $\mu\text{g}/\text{kg}$  und bei Rauchwürzern von 0,47  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Die Medianwerte spiegeln die erheblichen Konzentrationsunterschiede innerhalb der verschiedenen Proben aber nicht annähernd wider. Zur Veranschaulichung wird daher stellvertretend die Werte für BaP in Abbildung 50 dargestellt.

**Abbildung 50: BaP-Gehalte [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ] in Raucharomen, Räuchersalzen (Rauchsalzen), Rauchwürzern**

Obwohl der BaP-Median bei Rauchwürzern am höchsten ist, traten die höchsten Einzelwerte bei den Räuchersalzen auf. Sie überschritten zum großen Teil den in der Aromenverordnung aufgeführten Wert von 0,03 µg BaP/kg um ein Vielfaches (6,8; 6,5; 7,0 µg/kg). Dieser Höchstgehalt von 0,03 µg/kg Frischmasse, eingebracht durch Raucharomen, gilt für verzehrsfähige Lebensmittel. Die Dosierungsempfehlung für die Räuchermittel als Zutat beträgt 1 - 5 g/kg (ausgenommen Raucharomen und Panade) (Tabelle 32). Bereits bei einem Zusatz von 0,5 % Salz mit einem Gehalt von 7 µg BaP/kg beträgt der BaP-Eintrag im Fleischerzeugnis 0,035 µg/kg. Bei einem Zusatz von 2 g Salz/kg Brät dürfte der BaP-Gehalt im Räuchersalz 15 µg BaP/kg nicht überschreiten.

Innerhalb der untersuchten Räuchermittel ergab sich für mehrere PAK zueinander ein linearer Zusammenhang. Die Korrelationskoeffizienten sind im Anhang 13 aufgelistet. Am schwächsten korrelierte CPP mit den anderen PAK gefolgt von 5MC. Diese beiden PAK kamen neben DhA und den Dibenzpyrenen in den geringsten Konzentrationen vor. Die Dibenzpyrene hingegen ergaben eine bessere Korrelation. Angemerkt werden muss allerdings, dass einige dieser PAK in vielen Proben nicht detektiert bzw. bestimmt werden konnten. Die Korrelationskoeffizienten der einzelnen PAK-Gehalte zum PAK<sub>ges</sub>-Gehalt lagen zwischen 0,63 und 0,99 (Ausnahme CPP). Im Hinblick auf CPP muss jedoch darauf hingewiesen werden, dass die Resultate einer Laborvergleichsuntersuchung darauf hindeuten, dass es sich bei dieser Verbindung um eine instabile Substanz in der Matrix Rauchkondensat handelt [SIMON und WENZL, 2007].

Die Abhängigkeit zwischen der BaP- und der PAK<sub>ges</sub>-Konzentration kann mit folgender Gleichung beschrieben werden  $PAK_{ges} = 0,3656 + 11,5405 * BaP$  ( $R = 0,97$ ) (Abbildung 51).



**Abbildung 51: Linearer Zusammenhang zwischen BaP- und PAK<sub>ges</sub>-Konz. in Räuchermitteln (n = 32)**

Dieser Zusammenhang dargestellt in den Häufigkeiten der BaP-Gehalte und der PAK<sub>ges</sub>-Gehalte kann der Abbildung 52 entnommen werden.

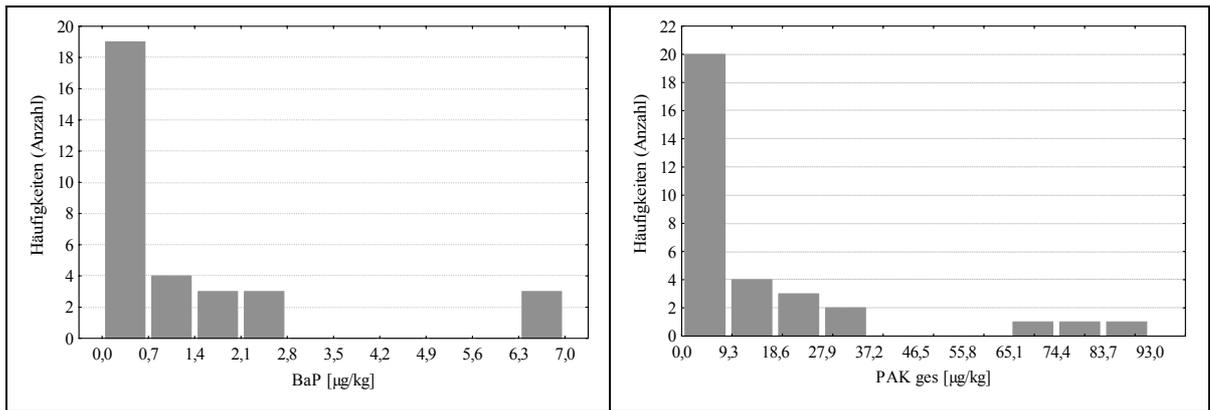


Abbildung 52: Häufigkeiten der BaP- und PAK<sub>ges</sub>-Gehalte in Räuchermitteln

Ein noch stärkerer linearer Zusammenhang als zwischen den BaP- und den PAK<sub>ges</sub>-Konzentrationen bestand jedoch zwischen den PAK<sub>ges</sub>- und den BaA-Konz. ( $R = 0,99$ ), den CHR + TP-Konz. ( $R = 0,98$ ), den BbF-Konz. ( $R = 0,99$ ) oder den BkF-Konz. ( $R = 0,98$ ).

Bei 12 der 32 untersuchten Räuchermittel konnte DIP nachgewiesen werden und in 6 dieser 12 Proben konnten die Gehalte quantifiziert werden. Innerhalb dieser Proben machte der Gehalt an DIP 0,3 - 0,5 % am PAK<sub>ges</sub>-Gesamtgehalt aus. BaP lag in diesen Proben um ein Vielfaches höher vor (7- bis 34faches) als DIP. Die Korrelation der 6 bestimmten DIP-Gehalte zu den dazugehörigen BaP-Gehalten konnte mit  $R = 0,81$  und zu den PAK<sub>ges</sub>-Gehalten mit  $R = 0,93$  beschrieben werden. Die prozentuale Verteilung der einzelnen PAK am Gesamtgehalt variierte innerhalb der untersuchten Räuchermittel leicht. Die prozentualen Gehalte von CPP am Gesamtgehalt wichen am stärksten innerhalb dieser Proben ab. Diese Variation wird stellvertretend für sechs der acht Räuchersalze in Abbildung 53 dargestellt. Die Räuchersalze mit mehr als der Hälfte nicht bestimmbarer bzw. nicht nachweisbarer PAK wurden nicht in die Abbildung aufgenommen.

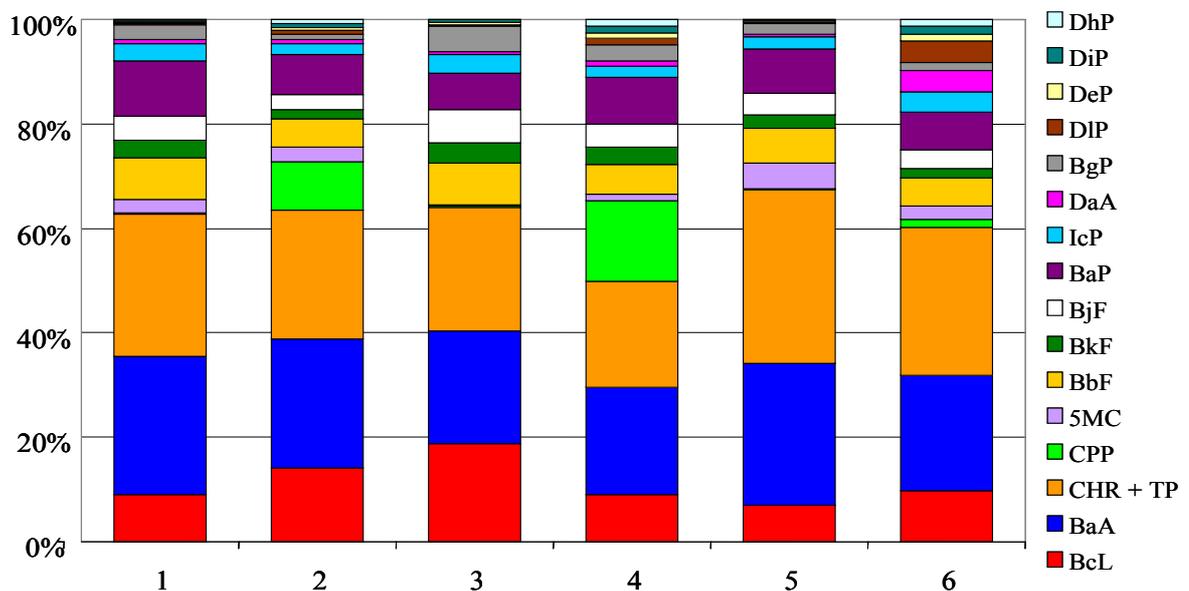


Abbildung 53: %tuelle PAK-Verteilung am PAK<sub>ges</sub>-Gehalt in ausgewählten Räuchersalzen

### 5.3 PAK in Gewürzen

PAK werden hauptsächlich bei pyrolytischen Prozessen, insbesondere bei der unvollständigen Verbrennung organischen Materials gebildet. Sie gelangen in die Umwelt und sind dann geeignet unsere Lebensmittel zu kontaminieren. Gewürzpflanzen können PAK entweder durch den Boden über die Wurzeln oder durch den Luftweg über die Blätter akkumulieren. Lebensmittel können auch in Folge von technologischen Verfahren wie Trocknen und Räuchern mit PAK belastet werden. Um die PAK-Belastung in Gewürzen zu beurteilen, wurden im Hinblick auf die Empfehlung der EU nicht nur die bisher verwendete Leitsubstanz BaP, sondern die 16 EFSA-PAK (siehe Punkt 3.1.2) analysiert. Die Analysenmethode gleicht der Methode zur PAK-Bestimmung in Fleischerzeugnissen. Auch für die PAK-Untersuchungen in Gewürzen waren die Schritte der Probenaufarbeitung ASE, GPC und SPE geeignet. Die Identifizierung und Quantifizierung der PAK erfolgte mit GC/MS. Um die Anwendbarkeit dieser Methode für die Matrix Gewürze zu überprüfen, wurde zunächst ein Gewürz mit definierten Mengen eines nativen Standards versetzt und analysiert. Um die gleichmäßige Verteilung der PAK-Kontamination in großen Gebinden zu testen, wurde im Folgenden ein Homogenitätsversuch durchgeführt. Die Analysen des Einflusses der Trocknung auf die PAK-Gehalte in Gewürzen und die Bestimmung der PAK-Gehalte in verschiedenen Gewürzen sollten ein Bild über die aktuelle Belastungssituation in Gewürzen geben. Des Weiteren sollte versucht werden mit Hilfe dieser erhaltenen Daten, die Anwendbarkeit von BaP zur Abschätzung des PAK<sub>ges</sub>-Gehaltes zu beurteilen.

#### 5.3.1 Wassergehalt von Gewürzen

PAK-Gehalte von Gewürzen werden auf das Trockengewicht bezogen. Um annähernd gleiche Trockengewichte einzelner gefriergetrockneter Gewürze und mit speziellen Trocknungsverfahren getrockneter Gewürze zu überprüfen, wurde bei ausgewählten Proben der Restwassergehalt bestimmt. Zur Ermittlung der Wassergehalte wurde als Bestimmungsmethode die Karl-Fischer-Titration verwendet und jeweils eine Doppelbestimmung durchgeführt. Unabhängig von dieser gewählten Methode kann der Masseverlust in % auch mit Hilfe einer azeotropen Destillation mit organischen Lösungsmitteln durchgeführt werden [ISO 939-1980].

Dafür wurden zum einen Proben ausgewählt, die von Bauern sowohl frisch als auch getrocknet bezogen wurden. Die frischen Proben wurden zunächst gefriergetrocknet und im Anschluss vergleichend zu den vom Landwirt getrockneten Gewürzen auf ihre Wassergehalte untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 17 dargestellt.

**Tabelle 17: Wassergehalte (%) frischer und anschließend gefriergetrockneter und vom Landwirt getrockneter Gewürze**

Gewürz	gefriergetrocknete Proben	vom Landwirt getrocknete Proben
Pfefferminze	2,0	1,0
Petersilie	3,4	2,3
Majoran_1	2,3	2,0
Majoran_2	1,9	1,6
Thymian	2,2	1,1

Der Median der Wassergehalte der Gewürze, die bereits getrocknet von den Landwirten bezogen wurden, betrug 1,6 %. Die Wassergehalte der gefriergetrockneten Proben waren höher. Alle innerhalb dieses Versuches ermittelten Wassergehalte lagen unter 3,5 % und waren somit vernachlässigbar.

Ferner wurden von einer Gewürzfirma bereitgestellte Gewürze unterschiedlicher Herkunft analysiert. Diese Gewürze waren bereits in ihrem Herkunftsland getrocknet worden. Die in ihnen ermittelten Wassergehalte (Tabelle 18) waren sehr ähnlich.

**Tabelle 18: Wassergehalte (%) ausgewählter Gewürze verschiedener Herkunft**

	Herkunftsland	Wassergehalt (%)
Pfeffer, weiß	China	4,5
	Brasilien	5,3
	Vietnam	6,4
	Indonesien	4,6
Majoran	Peru	5,4
	Ägypten	5,9
	Deutschland	4,6
Paprika (-pulver)	Brasilien	4,5
	Spanien	4,0
	Ungarn	4,9

Im Hinblick auf die in Tabelle 17 vorgestellten Daten sind diese Wassergehalte jedoch deutlich höher. Die Proben haben eventuell während des langen Transportes nach Deutschland Wasser aufgenommen oder wurden nur bis zum ermittelten Wassergehalt getrocknet.

Die Aufbewahrung von Gewürzen erfolgt in der Regel in Jutesäcken und Schachteln. Gewürze stehen während des Transportes mit dem Wasserdampfgehalt der Umgebungsluft in Wechselwirkung. Um die notwendigen Transportbedingungen (z. B. Temperatur, rel. Luftfeuchte, usw.) in Abhängigkeit von der Gewürzart, Reiseroute, Reisedauer, Jahreszeit, Verweildauer der Waren im Container zu gewährleisten, müssen die Transportbehältnisse u. a. gegebenenfalls

belüftet werden. Gewürze aus Übersee werden daher meist unter Deck gelagert, um einer Kondenswasserbildung durch Temperaturunterschiede (von Tag zu Nacht) vorzubeugen. Zur Reduzierung von abtropfendem Schwitzwasser können die Container mit verschiedenen Materialien ausgekleidet werden [Containerhandbuch, 2005].

### 5.3.2 Dotierung von Gewürzen

Um die Anwendbarkeit der Methode für die PAK-Analytik in Gewürzen zu überprüfen, wurden Paprikaprobe mit unterschiedlichen Volumina eines nativen Standards versetzt, so dass folgende Dotierungslevels erreicht wurden: 0,3 µg/kg, 0,7 µg/kg und 1,0 µg/kg. Für die undotierte Paprikaprobe sowie die drei Dotierungslevels wurden jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Überprüfung sind in Tabelle 19 festgehalten. Die Wiederfindungen betragen zwischen 69 und 125 %, ausgenommen der Wiederfindung von DhP bei einem Zusatz von 0,3 µg/kg. Diese Wiederfindung lag lediglich bei 35 %, wurde jedoch bei höheren Dotierungslevels besser.

**Tabelle 19: Mittelwerte, Standardabweichungen und Wiederfindungen von dotierten Paprikaprobe**

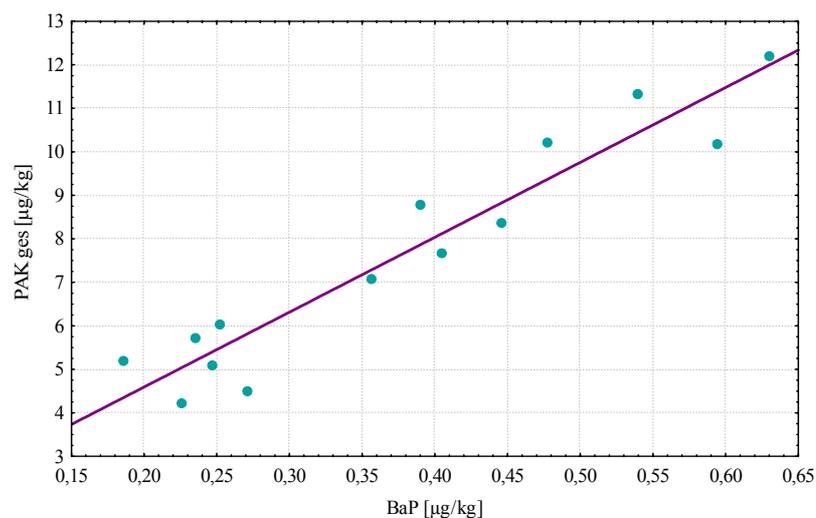
			+ 0,3 µg/kg			+ 0,7 µg/kg			+ 1,0 µg/kg		
	MW [µg/kg]	s [µg/kg]	MW [µg/kg]	s [µg/kg]	Wdf. (%)	MW [µg/kg]	s [µg/kg]	Wdf. (%)	MW [µg/kg]	s [µg/kg]	Wdf. (%)
BcL	1,01	0,14	1,64	0,37	123	1,85	0,25	111	2,40	0,13	120
BaA	2,79	0,18	3,11	0,19	100	3,59	0,10	104	4,00	0,11	106
CHR*	6,03	0,08	6,30	0,07	99	6,66	0,02	100	6,93	0,12	99
CPP	1,10	0,05	1,29	0,20	90	1,63	0,15	93	2,28	0,07	109
SMC	0,00	0,00	0,23	0,01	69	0,64	0,02	97	0,81	0,11	82
BbF	2,51	0,14	3,17	0,20	112	3,27	0,08	103	3,58	0,01	102
BkF	0,91	0,04	1,41	0,15	114	1,66	0,11	106	2,06	0,08	108
BjF	1,06	0,09	1,67	0,39	121	1,81	0,16	106	1,95	0,11	95
<b>BaP</b>	<b>1,22</b>	<b>0,14</b>	<b>1,65</b>	<b>0,13</b>	<b>106</b>	<b>1,73</b>	<b>0,09</b>	<b>92</b>	<b>2,20</b>	<b>0,02</b>	<b>100</b>
IcP	0,78	0,07	1,21	0,06	109	1,53	0,05	106	1,98	0,04	111
DhA	0,27	0,07	0,69	0,18	115	1,12	0,07	120	1,56	0,06	123
BgP	1,29	0,13	1,79	0,14	110	2,01	0,11	103	2,19	0,06	96
DIP	< 0,03		0,37	0,05	109	0,56	0,14	83	0,74	0,07	74
DeP	0,12	0,03	0,39	0,07	87	0,78	0,13	99	1,03	0,04	92
DiP	< 0,03		0,30	0,11	91	0,62	0,18	95	1,24	0,11	125
DhP	< 0,03		0,12	0,07	35	0,49	0,05	74	0,99	0,07	100

\* im Fall der undotierten Probe entspricht CHR der Summe aus TP und CHR

### 5.3.3 Homogenität der PAK-Gehalte in Gewürzen

Da in den folgenden Untersuchungen nur Einfachbestimmungen von Gewürzen mit einer geringen Einwaage von 1 bis 2 g durchgeführt wurden, sollte zusätzlich die Homogenität der PAK-Belastungen in großen Gewürzmengen erfasst werden. Dazu wurden 14 Proben Ingwer und 20 Proben Paprika von in Hamburg angekommenen Containerschiffen gezogen. Auf diesen Schiffen befanden sich jeweils 10.000 kg Gewürz, aufgeteilt in 400 Gebinden a 25 kg. Im Fall der Probenmatrix Ingwer wurden 14 Gebinde und im Fall Paprika 20 beprobt. Die dabei ermittelten Werte der PAK-Gehalte waren unterschiedlich (Anhang 14 und Anhang 15). In Ingwer wurden 0,2 - 0,6 µg BaP/kg und 4,2 - 12,2 µg PAK<sub>ges</sub>/kg bestimmt und in Paprika 3,3 - 7,4 µg BaP/kg und 37,3 - 76,6 µg PAK<sub>ges</sub>/kg.

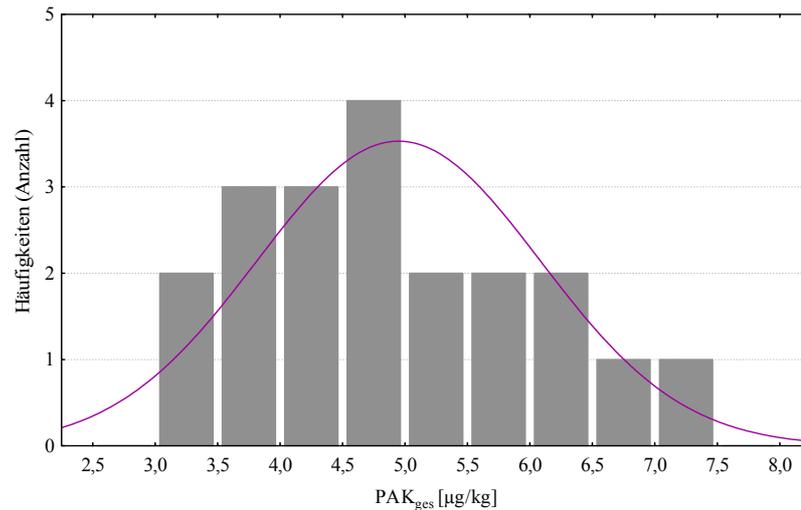
Es zeigte sich im Fall Ingwer eine Korrelation zwischen dem ermittelten BaP-Gehalt und dem PAK<sub>ges</sub>-Gehalt mit  $R = 0,95$  (Abbildung 54). Dieser Zusammenhang konnte mit folgender Gleichung beschrieben werden:  $\text{PAK}_{\text{ges}} = 0,9378 + 17,2632 * \text{BaP}$ .



**Abbildung 54: Linearer Zusammenhang zwischen BaP- und PAK<sub>ges</sub>-Konz. in Ingwerproben (n = 14)**

Für die Paprikaprobe konnte der Zusammenhang zwischen dem ermittelten BaP-Gehalt und dem PAK<sub>ges</sub>-Gehalt mit folgender Gleichung beschrieben werden:  $\text{PAK}_{\text{ges}} = 8,5914 + 8,7534 * \text{BaP}$  ( $R = 0,98$ ).

Mit Hilfe dieser Daten konnte gezeigt werden, dass die PAK-Gehalte in verschiedenen Gebinden großer Gewürzmengen variieren. Im Fall der BaP-Gehalte und auch der PAK<sub>ges</sub>-Gehalte lag sowohl bei den Ingwer- als auch bei den Paprikaprobe eine Normalverteilung vor ( $P = 90 \%$ ). Die Verteilung der BaP-Gehalte wurde stellvertretend für Paprika in Abbildung 55 dargestellt.



**Abbildung 55: Häufigkeiten der PAK<sub>ges</sub>-Gehalte in Paprikaprobe (rote Linie stellt Gauss(Normalverteilungs)kurve dar)**

Auf Grund der ermittelten Ergebnisse wurden für die folgenden Untersuchungen einzelner Gewürze nur Mischproben von Rückstellmustern untersucht.

### 5.3.4 Ermittelte PAK-Gehalte in verschiedenen Gewürzen

Gewürze werden sehr häufig Fleischerzeugnissen zugegeben. Allerdings können diese durch verschiedene Umwelteinflüsse (z. B. PAK-Emission von Dieselmotoren) und Trocknungsprozesse (z. B. direkte Trocknung über offenem Feuer) mit PAK belastet sein. Damit wäre ein PAK-Eintrag in Fleischerzeugnisse über eine Gewürzzugabe denkbar. Daher wurden die EFSA-PAK in unterschiedlichen Gewürzproben analysiert. Darunter befanden sich Blatt- und Kräutergewürze, Wurzelgewürze, Samengewürze, Fruchtgewürze, ein Paprikaextrakt und geräucherte Paprikaprobe. Die einzelnen Ergebnisse sind im Anhang 16, Anhang 17 und Anhang 18 zusammengefasst.

Aus den Resultaten kann abgeleitet werden, dass Blattgewürze (BG) im Median höhere BaP-Gehalte aufweisen als nicht-Blattgewürze (n-BG) (Tabelle 20). Die Blattgewürze wiesen im Median einen BaP-Gehalt von 0,8 µg/kg auf. Für nicht-Blattgewürze, dazu zählen Wurzelgewürze, Samengewürze und Fruchtgewürze (ohne geräucherte Paprikapulver und Paprikaextrakt), betrug der BaP-Gehalt im Median 0,3 µg/kg. Für die Ermittlung der Mediane wurden alle Einzelwerte berücksichtigt. Die höheren PAK-Gehalte in Blattgewürzen könnten darauf zurückzuführen sein, dass diese Pflanzenteile auf Grund ihrer größeren Oberfläche einer höheren Umweltbelastung ausgesetzt sind als Samen oder Wurzeln.

Die einzelnen PAK-Gehalte gleicher Gewürze schwankten zum Teil erheblich. Ursache hierfür dürften die unterschiedliche Herkunft und unterschiedliche Trocknungsmethoden sein. Dass die lokalen Gegebenheiten einen Einfluss haben, zeigten die fünf ermittelten BaP-Gehalte von Majoranproben, die jeweils an verschiedenen Orten in Deutschland angebaut wurden. Hier konnten BaP-Gehalte von 0,4 bis 1,9 µg/kg und PAK<sub>ges</sub>-Gehalte von 3,5 – 19,1 µg/kg bestimmt werden. Hingegen wies Oregano, welcher auch jeweils in Deutschland kultiviert wurde, innerhalb der 4 untersuchten Proben nur geringe Schwankungen (BaP: 0,7 - 0,9 µg/kg; PAK<sub>ges</sub>: 13,7-14,3 µg/kg) auf.

**Tabelle 20: PAK-Mediane in Gewürzen [µg/kg]**

	Median BG (n = 29)	Median n-BG (n = 27)	Median BG + n-BG (n = 56)
BcL	0,20	0,22	0,20
BaA	0,92	0,56	0,74
CHR + TP	2,50	1,39	1,93
CPP	0,13	0,17	0,14
5MC	0,13	0,16	0,14
BbF	1,40	0,64	0,92
BkF	0,58	0,29	0,45
BjF	0,85	0,48	0,66
<b>BaP</b>	<b>0,82</b>	<b>0,33</b>	<b>0,56</b>
IcP	0,59	0,25	0,46
DhA	0,16	0,06	0,14
BgP	0,76	0,29	0,49
DIP	0,09	< 0,06	< 0,06
DeP	0,12	< 0,06	0,11
DiP	0,09	< 0,06	< 0,06
DhP	< 0,03	< 0,06	< 0,06
PAK <sub>ges</sub>	11,84	6,07	9,50

Die höchsten Gehalte bei den Blattgewürzen an PAK<sub>ges</sub> wiesen Bärlauchproben auf. Hierfür könnten mehrere Gründe verantwortlich sein. Zum einen ist Bärlauch ein Kaltkeimer [TEUSCHER, 2003] und wächst somit im Frühjahr, demnach noch während der Heizperiode. Zum anderen ist Bärlauch schwer kultivierbar und wächst daher meist wild. An diesen Standorten befinden sich vielfach mehr PAK im Boden, da durch den jährlichen Blätterverlust nahestehender Bäume PAK im Boden angereichert werden können, welche sich teilweise partikelgebunden auf der Blattoberfläche abgelagert haben oder teilweise in die Blätter eingedrungen sind und bei der Zersetzung der Blätter durch Mikroorganismen am Boden freigesetzt werden.

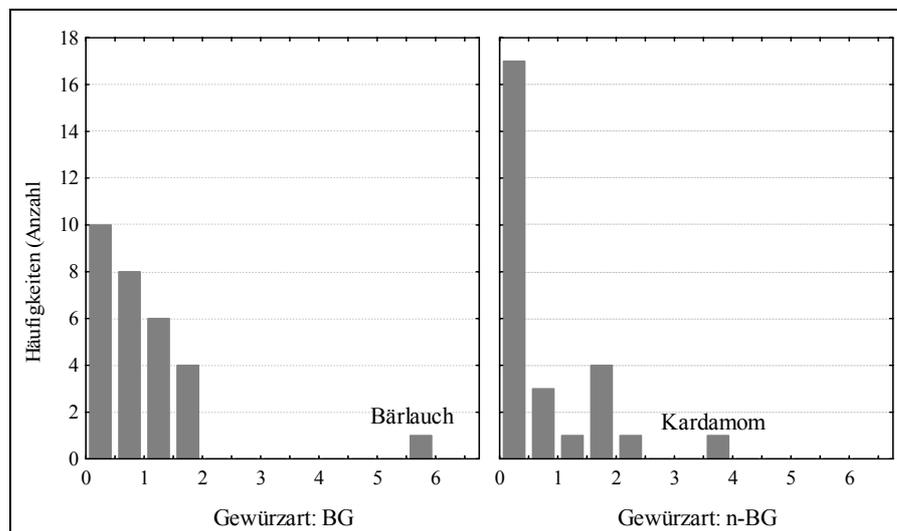
Bei den Blattgewürzen lässt sich vermuten, dass die PAK-Gehalte von Gewürzen zum einen von der Blattoberfläche und zum anderen vom Zeitpunkt der Ernte abhängig sein könnten. Je größer die Blattoberfläche und je länger die Zeit, in der die Pflanzen einer BaP-Belastung durch die Umwelt ausgesetzt sind, desto höher sollten die ermittelten BaP-Gehalte sein. Majoran benötigt zum

Beispiel im Gegensatz zu Petersilie längere Reifezeiten und weist höhere  $\text{PAK}_{\text{ges}}$ -Gehalte auf [POTTHAST et al., 1977].

Mögliche, sich auf eine PAK-Belastung auswirkende Faktoren wie Reifezeit, Klima, Boden, Umweltbedingungen, wurden im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter untersucht.

Innerhalb der Arbeit von Stijve und Hischenhuber (1987) wurden 10 verschiedene Gewürze analysiert. Die höchsten Gehalte an BaP wurden in Kardamom gefunden ( $7,5 \mu\text{g/kg}$ ). Auch in der Arbeit von Potthast et al. (1977) wurden die Gehalte von BaP in verschiedenen Gewürzen analysiert und der höchste Gehalt von  $15,9 \mu\text{g/kg}$  wurde ebenfalls in gemahlenem Kardamom bestimmt. Dies steht im Einklang mit den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten PAK-Untersuchungen in Gewürzen. Bei den n-BG zeigte eine Kardamom-Probe den höchsten BaP-Gehalt von  $3,97 \mu\text{g/kg}$ . Dies könnte an dem hohen Gehalt an ätherischen Ölen liegen (5 - 8 %). Jedoch wies Kümmel mit ähnlich hohem Anteil an ätherischen Ölen (5 - 8 %) deutlich geringere PAK-Gehalte auf. Daher ist es unwahrscheinlich, dass der hohe Gehalt an ätherischen Ölen für die hohen PAK-Gehalte in Kardamom allein verantwortlich ist.

Generell war die Variabilität der Häufigkeiten der n-BG (nicht-Blattgewürze) für BaP höher als die der BG (Blattgewürze) (Abbildung 56). Ein Grund für die größere Variabilität der BaP-Konzentrationen bei n-BG könnten die verschiedenen Pflanzenteile sein, die hierfür als Gewürz verwendet werden.



**Abbildung 56: Häufigkeiten der BaP-Gehalte in Blattgewürzen (n = 29) und nicht-Blattgewürzen (n = 27)**

Bereits im Jahr 1977 wurden an der Bundesanstalt in Kulmbach die BaP-Gehalte in Gewürzen untersucht. Dabei wurden ähnliche Resultate erzielt [POTTHAST et al., 1977]. Vergleicht man die damals ermittelten PAK-Gehalte mit den aktuellen Ergebnissen, so ergibt sich ein Rückgang von

50 bis nahezu 100 % der BaP-Gehalte von Majoran, Schnittlauch, Koriander, Kardamom, Paprika (-pulver), Kümmel und Pfeffer. Ursachen hierfür könnten in einer abnehmenden PAK-Umweltbelastung oder in verbesserten Trocknungsmethoden für Gewürze liegen.

Des Weiteren konnte festgestellt werden, dass der BaP-Anteil am Gesamtgehalt bei allen Proben im Median 6,6 % betrug. Bezogen auf die nicht-Blattgewürze lag dieser Anteil bei 5,8 % und bei den Blattgewürzen bei 7,6 %. Den größten Anteil bei allen Gewürzen an der PAK<sub>ges</sub>-Konz. nahm im Median die Summe aus CHR und TP (BG: 25,9 %, n-BG: 25,4 %) ein, den geringsten DhP (BG: 0,4 %, n-BG: 0,7 %).

Einige charakteristische PAK-Verhältnisse werden im Folgenden zusammengefasst. Das Verhältnis von BbF zu BaP war im Median 1,7 bei den BG und 1,9 bei den n-BG. Das Verhältnis von BaP zu BjF, IcP und BgP lag im Median von allen Gewürzen bei nahezu 1. Die PAK-Verhältnisse von CHR + TP und BaA zu BaP waren jedoch innerhalb dieser zwei Gruppen unterschiedlich (BG: CHR + TP/BaP 3,0; BaA/BaP 1,1 und n-BG: CHR + TP/BaP 4,6; BaA/BaP 2,1). Das Verhältnis von CHR + TP zu BaA betrug im Median für alle Gewürze 2,6; für die BG 2,8 und für n-BG 2,1. Diese letzten drei beschriebenen Verhältnisse könnten daher eventuell als Unterscheidungsmerkmal für Blattgewürze und nicht-Blattgewürze dienen. Hilfreich hierbei ist, dass diese PAK in höheren Konzentrationen als die anderen untersuchten PAK vorkommen und somit leichter detektiert werden können.

Der lineare Zusammenhang von dem PAK<sub>ges</sub>-Gehalt und dem BaP-Gehalt bei den BG ließ sich mit folgender Gleichung darstellen:  $PAK_{ges} = 4,1777 + 9,1096 * BaP$  ( $R = 0,85$ ); und bei den n-BG mit:  $PAK_{ges} = 2,625 + 13,5166 * BaP$  ( $R = 0,93$ ). Die Zusammenhänge aller anderen PAK in BG und n-BG ausgedrückt mittels der Korrelationskoeffizienten sind im Anhang 19 und Anhang 20 angefügt.

Abbildung 57 kann zusätzlich die Häufigkeitsverteilung der BaP- und PAK<sub>ges</sub>-Gehalte stellvertretend für BG entnommen werden.

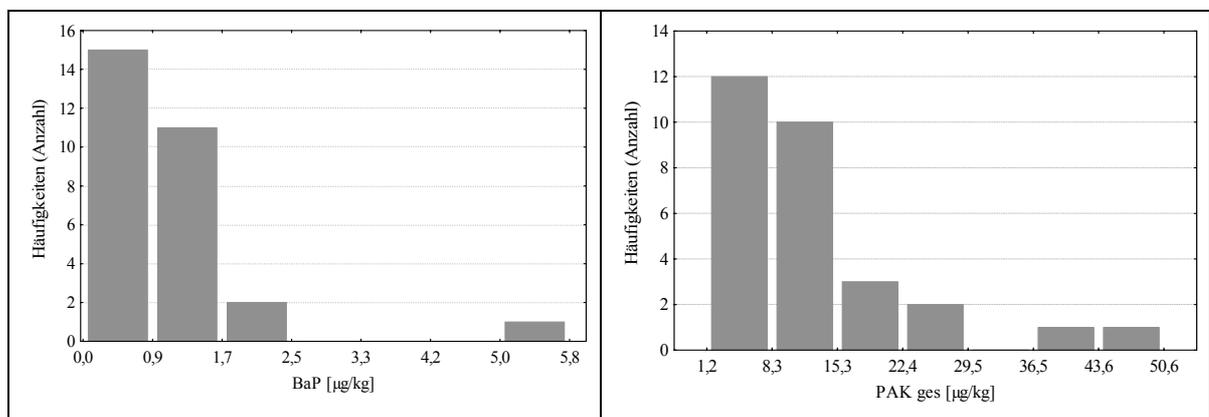


Abbildung 57: Häufigkeiten der BaP- und PAK<sub>ges</sub>-Gehalte in Blattgewürzen

### 5.3.5 Einfluss der Trocknung auf die PAK-Gehalte

Um einen möglichen Einfluss der Trocknung auf die PAK-Gehalte in Gewürzen besser beurteilen zu können, wurden einzelne Gewürze aus verschiedenen Ernteperioden (Jahren) untersucht, die mit unterschiedlichen Methoden getrocknet worden waren. Die verschiedenen Trocknungsmethoden unterschiedlicher Standorte/Hersteller sind im Folgenden aufgeführt:

#### Siebenbandtrocknung – Standort A

Zunächst wurden die Kräuter geerntet, wobei darauf geachtet wurde, dass die Kräuter während der Ernte nicht den Boden berührten. Nach der Ernte wurden die Kräuter zu den Trocknungsanlagen transportiert. Vor der Trocknung wurden die Kräuter von ihren Stängeln befreit und zerkleinert. Über Förderbänder gelangten sie dann in einen Siebenbandtrockner, der im Sekundärkreislauf durch einen Gasbrenner geheizt wurde. Der Siebenbandtrockner bestand aus sieben verschiedenen Bändern. Auf dem ersten Band herrschten Temperaturen um die 115 °C. Auf den folgenden Trocknungsbändern sank die Temperatur kontinuierlich bis auf 70 - 80 °C. Abhängig vom jeweiligen Gewürz mussten die Temperaturen leicht variiert werden. Ein Verlust an ätherischen Ölen konnte vermieden werden, da die Kräuter auf Grund der Verdunstungsenergie eine Temperatur von 35 – 40 °C nicht überschritten.

#### Siebenbandtrocknung – Standort B

Die Blätter der Kräuter wurden nach der Ernte zunächst zerkleinert und mit Hilfe eines Gebläses von ihren Stängeln befreit. Die Blätter flogen durch das Gebläse auf den Scheunenboden, wo sie zunächst gesammelt wurden. Die Trocknung erfolgte analog zu Standort A mit dem Siebenbandtrockner, der im Sekundärstrom betrieben wurde.

#### Sonnentrocknung – Standort B

Nach der Zerkleinerung und Sammlung wurden zur Trocknung die zerkleinerten Blätter auf dem Dachboden der Scheune ausgebreitet. Erst nach einigen Tagen, wenn der Trocknungsgrad erreicht war, wurden die getrockneten Blätter verpackt.

#### Getreidetrocknung – Standort C

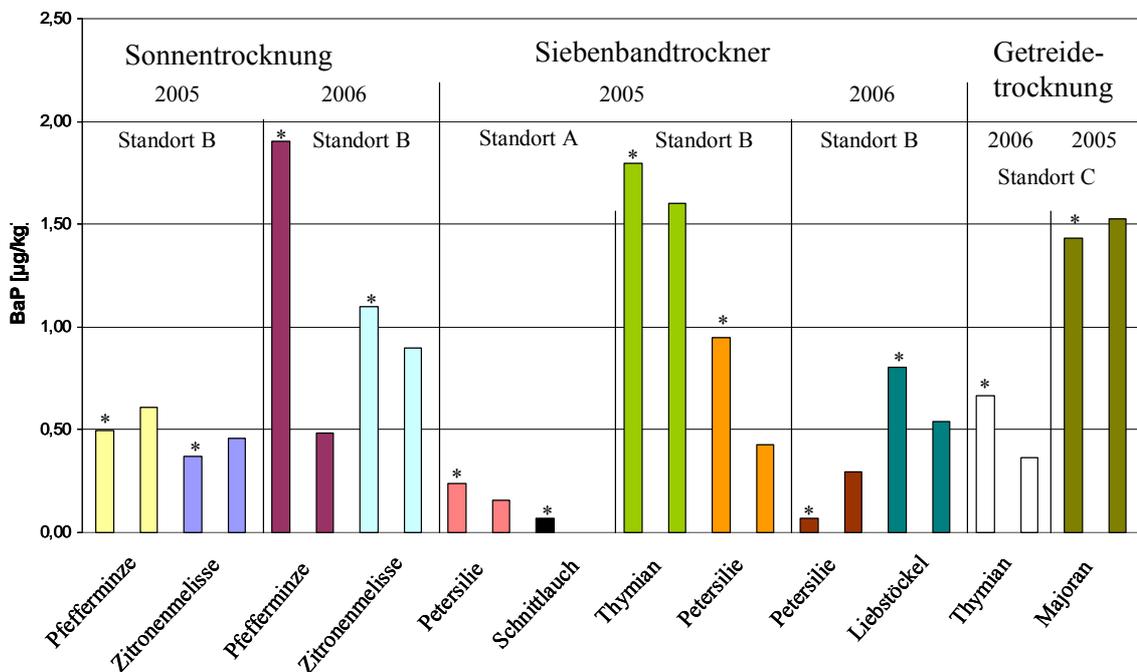
Diese Trocknungsmethode stammt ihrem Namen nach von dem Trocknungsprozess von Getreide ab.

Die Kräuter wurden nach dem Abschneiden und dem Transport zu den Getreidehallen getrocknet. Beim Abschneiden der Kräuter wurde darauf geachtet, dass der Boden dabei nicht berührt wurde. Die Trocknung erfolgte in großen Hallen auf Lochböden. Von einer Heizquelle im Sekundärstrom erzeugte warme Luft durchströmte dabei von unten die Lochböden. Die Trocknung war beendet,

sobald die Kräuter einen Wassergehalt von ca. 10 % erreicht hatten. Die Zerkleinerung wurde erst nach der Trocknung durchgeführt.

Die untersuchten Proben sind in Tabelle 33 unter Punkt 7.4 aufgelistet. Um vergleichbare Werte zu erzielen, wurden das frische Material sowie das bereits vom Bauern getrocknete Material im Hause des MRI mit Hilfe der Gefriertrocknungsanlage getrocknet bzw. nachgetrocknet, um von annähernd gleicher Trockenmasse ausgehen zu können.

Um einen Verlust der PAK durch die Gefriertrocknungsanlage auszuschließen, wurde in einem Vorversuch bereits getrocknetes Material (Winterhecke) zusätzlich mit der Gefriertrocknungsanlage getrocknet und die PAK-Gehalte mit den Gehalten der Proben, die nicht zusätzlich gefriergetrocknet wurden, verglichen. Durch annähernd gleiche Ergebnisse konnte ein PAK-Verlust durch diese Trocknungsmethoden ausgeschlossen werden (Anhang 21).



**Abbildung 58: Vergleich unterschiedlicher Trocknungsmethoden im Hinblick auf die BaP-Gehalte von frischem und getrocknetem Material bezogen auf die Trockenmasse (\* entspricht dem frischen Material)**

In Abbildung 58 sind die ermittelten Ergebnisse der Untersuchungen zum Einfluss der landwirtschaftlichen Trocknungsmethode stellvertretend für BaP zusammengefasst. Tendenziell (in 8 von 12 Fällen) zeigen diese Resultate eine Verminderung des BaP-Gehaltes durch die Trocknung. Diese Reduktion lag zwischen 11 und nahezu 100 %. Die PAK<sub>ges</sub>-Gehalte verhielten sich wie die abgebildeten BaP-Gehalte.

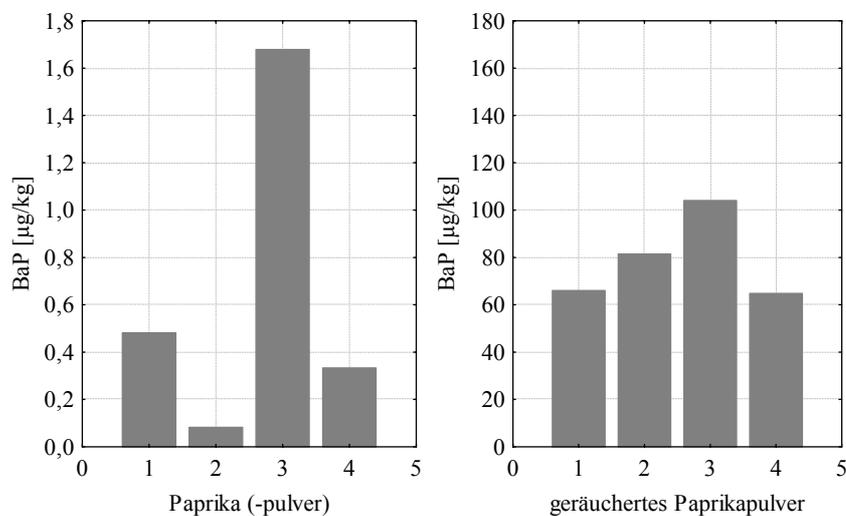
Die Ergebnisse verdeutlichen, dass auch andere Faktoren einen Einfluss haben, z. B. der Zeitpunkt, der Standort oder die jeweilige Gewürzart. Allein der Standort kann durch mehrere Faktoren einen Einfluss ausüben, z. B. Erntemaschinen, Trocknungsbedingungen, geographische Lage, etc.

Die Einzelwerte der untersuchten Proben sind im Anhang 22 aufgelistet.

Diese Untersuchungen belegten, dass die Trocknung der Kräuter und Gewürze unter kontrollierten Bedingungen nicht für den PAK-Eintrag in Gewürze verantwortlich ist. Die Gewürze sind bereits vor der Ernte mit PAK, wenn auch unterschiedlich, belastet.

### 5.3.6 Geräuchertes Paprikapulver - Pimentón

Neben zahlreichen Gewürzen wurden auch geräucherte Paprikapulver untersucht, die unter dem Namen „Pimentón“ bekannt sind. Die in diesen Proben gefundenen Gehalte übertrafen die Gehalte der ungeräucherten Paprikapulver um ein Vielfaches (Anhang 16, Anhang 17 und Anhang 18). In Abbildung 59 ist dies stellvertretend für das Benzo[a]pyren graphisch dargestellt.



**Abbildung 59: BaP [µg/kg] in Paprika (-pulver) und geräuchertem Paprikapulver**

Eine Ursache für die erhöhten Gehalte an PAK in geräuchertem Paprikapulver besteht in seiner Herstellung. Dazu werden die Paprikaschoten über Eichenholz geräuchert und getrocknet, bis das gewünschte Aroma und die Farbe erreicht sind. Das pflanzliche Abschlussgewebe der Paprikaschoten besteht aus der äußeren Schicht der Epidermiszellen, einer Pektinschicht und der Kutikula. Der Hauptbestandteil der Kutikula ist Kutin, ein Biopolymer aus miteinander veresterten Hydroxyfettsäuren. Eingebettet in die Kutikula bzw. ausgelagert ist das kutikulare Wachs [KOLATTUKUDY, 1976]. Dieses Wachs enthält 43 % Kohlenwasserstoffe und 15 % Fettsäuren

[HAAS, 1974]. Durch das kutikulare Wachs können sich die während der Räucherung und Trocknung entstandenen PAK auf der Schotenoberfläche akkumulieren. Erst die trockenen Schoten werden anschließend zu feinem Pulver vermahlen.

### 5.3.7 PAK in Paprikaextrakt

Ähnliche hohe Gehalte an PAK wie in den geräucherten Paprikapulvern konnten auch in einer überlassenen Paprikaextraktprobe ermittelt werden (Anhang 18). Konzentrationen von 103  $\mu\text{g}$  BaP/kg und 1502  $\mu\text{g}$  PAK<sub>ges</sub>/kg wurden bestimmt. Der gemessene BaP-Gehalt liegt innerhalb der 1987 von Stijve und Hischenhuber ermittelten BaP-Konzentrationen von drei verschiedenen Paprikaextrakten (5 - 220  $\mu\text{g}$  BaP/kg).

Allerdings lagen keine Informationen über die genaue Herstellung des Paprikaextraktes vor. Auf Grund der vorgestellten Ergebnisse für Paprikapulver kann jedoch davon ausgegangen werden, dass sich die PAK während der Herstellung angereichert haben. Die Aufkonzentrierung von Paprikaextrakten kann zu solchen hohen PAK-Gehalten führen.

### 5.3.8 Eintrag von PAK in Fleischerzeugnisse durch Gewürze

Geht man von einem Gewürzzusatz von maximal 1 % bei Fleischerzeugnissen aus, so resultieren aus den bereits erwähnten BaP-Gehalten von im Median etwa 0,8  $\mu\text{g}/\text{kg}$  in den stärker belasteten Blattgewürzen BaP-Gehalte von höchstens 0,008  $\mu\text{g}/\text{kg}$  im Fleischerzeugnis. Auch Bärlauchproben mit einem Median von 1,9  $\mu\text{g}$  Benzo[a]pyren/kg würden etwa nur einen Beitrag von 0,02  $\mu\text{g}$  BaP/kg im Fleischerzeugnis liefern. Diese Ergebnisse deuten daher auf einen relativ geringen PAK-Eintrag durch Gewürze in Fleischerzeugnisse hin.

Lediglich für geräuchertes Paprikapulver mit BaP-Gehalten im Median von 74  $\mu\text{g}/\text{kg}$  und für den Paprikaextrakt mit einem BaP-Gehalt von 103  $\mu\text{g}/\text{kg}$  wären die PAK-Einträge in Fleischerzeugnissen mit 0,7  $\mu\text{g}$  BaP/kg bzw. 1,0  $\mu\text{g}$  BaP/kg nicht mehr vernachlässigbar im Hinblick auf den Höchstgehalt in der Aromenverordnung (0,03  $\mu\text{g}$  BaP/kg).

Allerdings ist bei den Extrakten zu beachten, dass der Zusatz von Gewürzextrakten auf Grund der stärkeren Geschmacksgebung in der Regel unter 1 % liegt.

## 5.4 PAK in Tee

Ursachen für einen Eintrag von PAK in Tee sind Luftverschmutzung, aber auch technologische Prozesse wie z. B. das Rösten und Trocknen [SCHLEMITZ und PFANNHAUSER, 1997; LIN und ZHU, 2004]. Die Europäische Kommission empfiehlt neben der Bestimmung der bisher verwendeten Leitsubstanz BaP die quantitative Erfassung von 15 als prioritär eingestuften Polyzyklischen Aromatischen Kohlenwasserstoffen [EG/108/2005]. Diese 15 SCF-PAK und auch das von der EFSA empfohlene BcL (16 EFSA-PAK) wurden bisher in Tee noch nicht analytisch erfasst. Vielfach beschränkten sich die bisherigen Veröffentlichungen (siehe Tabelle 3 und Tabelle 4 unter Punkt 3.3.3.3) auf die bisherige Leitsubstanz BaP und die restlichen EPA-PAK.

Aus diesem Grund wurden 51 Teeproben verschiedener Teesorten auf ihre Gehalte der 16 EFSA-PAK untersucht.

Für die PAK-Analytik in Tee konnte die entwickelte Methode (siehe Punkt 4.1.2 und Punkt 8), die den Einsatz von ASE, GPC und SPE vorsieht, eingesetzt werden. Lediglich die ASE-Bedingungen waren zu modifizieren, da Tee eine sehr komplexe Matrix darstellt. Die chromatographische Auftrennung der einzelnen PAK-Isomere erfolgte nach Prüfung ihrer Anwendbarkeit mit der erarbeiteten Fast-GC-Methode. Zur Detektion wurde u. a. ein doppelfokussierendes Sektorfeldgerät der Firma Thermo Fisher Scientific genutzt. Nach Validierung der modifizierten Methode wurden dann die unterschiedlichsten Teeproben analysiert.

### 5.4.1 Einfluss der Extraktionsmethode

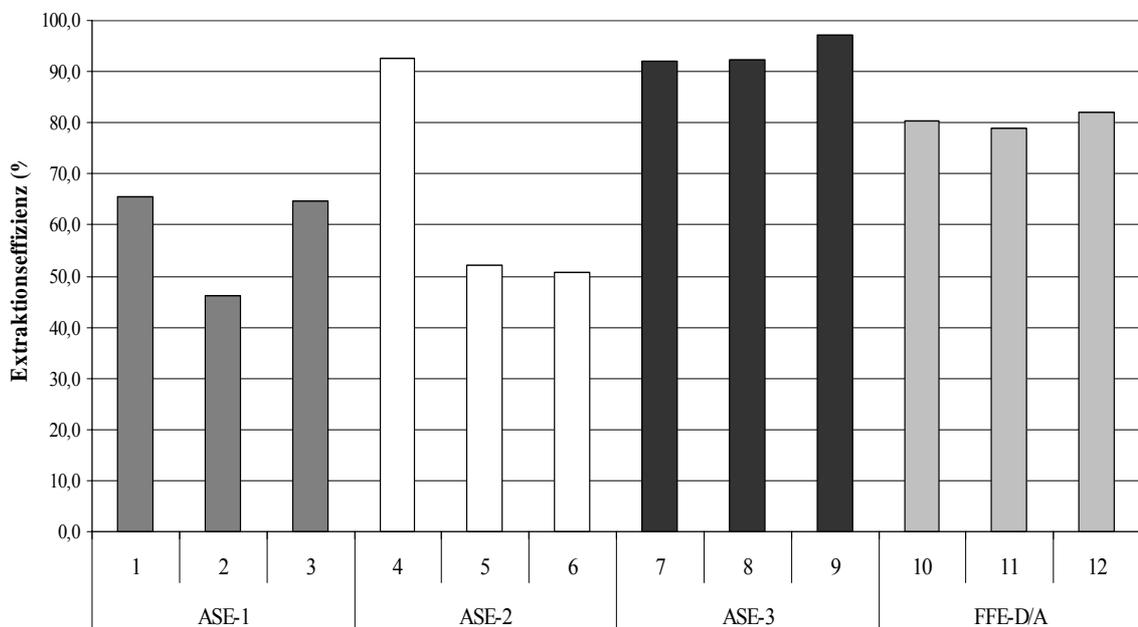
Zunächst sollte die für Fleischerzeugnisse entwickelte PAK-Analysenmethode auf Tee übertragen werden. Aber vergleichende Untersuchungen von Verseifung und ASE-Standard-Methode ergaben, dass die Proben, die einer alkalischen Hydrolyse unterzogen worden waren, höhere PAK-Gehalte aufwiesen. Daher war es notwendig, die PAK-Analysenmethode für Tee zu modifizieren. Um den Lösungsmittelbedarf und die Zeit, die die Verseifung benötigt, zu reduzieren, wurden modifizierte ASE-Methoden und eine Flüssig-Flüssig-Extraktion (FFE) vergleichend auf ihre Extraktionseffizienz untersucht.

Die ASE-Standard-Methode (ASE-1) verwendete als Lösungsmittel n-Hexan. Innerhalb dieser Methode wurden zwei Extraktionszyklen durchgeführt. Eine der beiden modifizierten Methoden nutzte vier Extraktionszyklen bei gleichbleibendem Lösungsmittel (n-Hexan) (ASE-2). Ein Lösungsmittelgemisch aus n-Hexan/Aceton (50:50, v/v) wurde innerhalb der modifizierten ASE-3-Methode genutzt (zwei Zyklen).

Die ultraschallunterstützte Flüssig-Flüssig-Extraktion (FFE) wurde bereits von Lin und Zhu (2004) beschrieben. Als Lösungsmittel diente Dichlormethan/Aceton (D/A) (50:50, v/v). Die einzelnen Methodenbeschreibungen sind unter Punkt 8 Methoden zusammengefasst.

Für die Bewertung der Extraktionsausbeute wurden die mit der Verseifung ermittelten Gehalte herangezogen und als 100 % definiert. Die Effizienz der einzelnen Methoden - ausgedrückt in Prozent - ist in der Abbildung 60 graphisch dargestellt.

Die Untersuchungen zeigten, dass die ASE, betrieben mit n-Hexan als Lösungsmittel sowohl mit zwei Zyklen als auch mit vier Zyklen ungeeignet für die PAK-Extraktion aus Tee-Matrix ist, da die Ausbeuten hier am geringsten waren (46 - 93 %). Mit Hilfe der ultraschallunterstützten FFE (D/A) konnten bereits 79 - 82 % der PAK extrahiert werden.



**Abbildung 60: PAK-Extraktionseffizienz verschiedener Methoden (Bezugssystem Verseifung)**

Noch bessere Ergebnisse wurden mit der ASE unter Verwendung des Lösungsmittelgemisches n-Hexan/Aceton (50:50, v/v) erzielt (Extraktionseffizienz 92 - 97 %). Diese Ergebnisse sind nahezu identisch den Ergebnissen nach Verseifung.

Die ASE hat den Vorteil, dass die Extraktion automatisiert durchgeführt werden kann bei geringerem Lösungsmittelaufwand und kürzerem Zeitbedarf. Daher wurde diese Methode zur PAK-Extraktion aus den 51 verschiedenen Teeproben eingesetzt.

### 5.4.2 Beurteilung der Probenaufarbeitung

Um die Probenaufarbeitung hinsichtlich des Clean-ups beurteilen zu können, wurden einige Teeproben im Scan-Modus bei 50 – 500 amu detektiert und die Chromatogramme näher betrachtet (siehe Abbildung 61; stellvertretend für Grünen Tee). Für die chromatographische Auftrennung wurde die Fast-GC-Methode verwendet (siehe Punkt 4.1.2.2.3). In den Chromatogrammen sind nur wenige Peaks, die nicht einzelnen PAK zugeordnet werden konnten, enthalten.

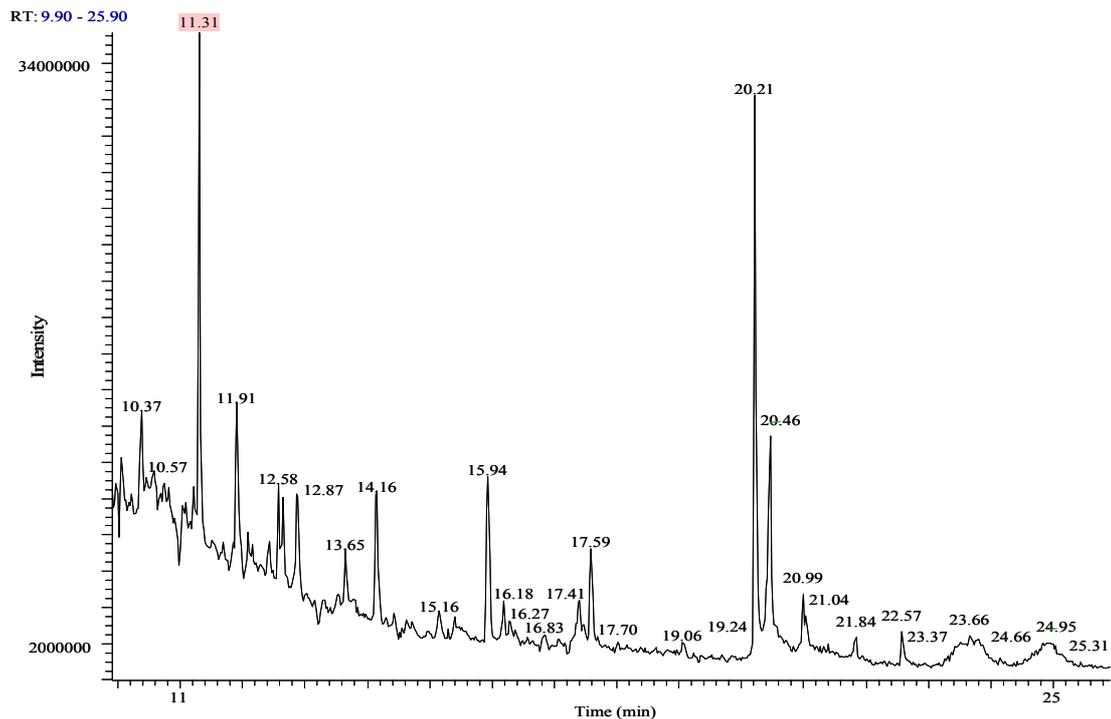


Abbildung 61: TIC-Chromatogramm der Probe Grüner Tee nach Untergrund-Korrektur

Um die Peaks hinsichtlich ihrer Konzentrationen abschätzen zu können, wurden die Peakhöhen einzelner Signale mit Peakhöhen eines zeitnah eluierenden PAK-Standards einer separaten Injektion verglichen (Anhang 24). Hierfür sei folgendes Beispiel erwähnt. Es wurde der Peak im Chromatogramm der Probe Grüner Tee (Einwaage 2 g) bei einer Retentionszeit von 11,31 min mit einer Peakhöhe von 27000000 ausgewählt. Vergleicht man diese Intensität mit einem Standard aus einer separaten Injektion im Scan-Modus (BaA 100 ng/ml; Höhe 2300000) ergibt sich eine Konzentration der Unbekannten von ca. 29 µg/kg. Hierbei handelt es sich jedoch lediglich um eine Abschätzung, da das Responseverhalten bzw. die Responsefaktoren für diese unbekannte Substanz nicht vorlagen. Ein Vergleich des Spektrums dieses Peaks mit einer Datenbank ergab mit einer Wahrscheinlichkeit von 90 %, dass es sich bei diesem Peak um Bis(2-ethylhexyl)phthalat handelt. Innerhalb dieses Laufes eluierte bei einer Zeit von 17,59 min und einer Konzentration von ca. 20 µg/kg BaP (Abbildung 61). Die optische Zuordnung einzelner PAK in diesem Chromatogramm

sowie die relativ geringe Anzahl an Peaks von störenden Matrixbestandteilen verdeutlichen, dass das gewählte Clean-up dieser Methode ausreichend war, um PAK in Teeproben analysieren zu können, da Matrixeffekte nahezu ausgeschlossen werden konnten. Sogar eine Bestimmung einzelner PAK im Scan-Modus erschien möglich. Auf Grund der höheren Selektivität und besseren Empfindlichkeit wurde für die Analyse der Proben aber ausschließlich die SIM-Technik eingesetzt.

### 5.4.3 Einfluss der GC-Methode

Nach Modifizierung der ASE-Methode und Beurteilung der Probenaufarbeitung wurde überprüft, ob bei nicht dotierten Proben mit unterschiedlichen GC-Methoden die gleichen PAK-Gehalte erhalten werden können. Hierfür wurden acht verschiedene Tees mit BaP-Gehalten von 1 – 38 µg/kg aufgearbeitet und mit der normalen GC-Methode sowie mit der Fast-GC-Methode analysiert. Die dabei ermittelten Konzentrationen sind der Tabelle 21 zu entnehmen.

Die einzelnen Methoden mussten auf unterschiedlichen GC/HRMS-Systemen (VG, DFS) durchgeführt werden. Dies führte zu verschiedenen Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (Anhang 1), da beide Massenspektrometer sich in ihrer Empfindlichkeit unterschieden.

**Tabelle 21: PAK-Konzentrationen bestimmt mittels GC/HRMS und Fast-GC/HRMS [µg/kg]**

	Tee_A		Tee_B		Tee_C		Tee_D		Tee_E		Tee_F		Tee_G		Tee_H	
	GC	Fast-GC	GC	Fast-GC	GC	Fast-GC	GC	Fast-GC	GC	Fast-GC	GC	Fast-GC	GC	Fast-GC	GC	Fast-GC
BcL	1.56	4.34	4.20	8.71	15.58	16.18	0.38	0.44	0.53	2.93	1.93	3.24	1.91	4.39	0.69	1.16
BaA	15.75	14.12	21.71	20.47	45.94	44.90	1.53	1.55	6.44	6.15	3.18	2.99	9.55	9.67	3.76	3.60
CHR + TP	21.22	18.95	41.38	34.36	95.22	81.86	5.28	4.86	9.59	8.76	20.18	17.29	16.11	14.80	8.98	8.27
CPP	1.42	3.19	2.48	4.24	17.96	17.04	0.27	0.18	3.87	3.18	0.89	0.65	2.68	2.39	1.14	0.96
5MC	0.90	1.43	1.95	1.73	3.62	2.49	0.65	0.27	2.57	1.96	1.11	0.73	1.31	0.86	0.42	0.26
BbF	14.02	14.51	20.91	18.65	42.72	38.87	1.38	1.68	3.06	3.34	5.97	5.57	8.18	7.98	3.00	2.56
BkF	7.56	7.04	10.81	9.36	17.91	17.09	0.96	1.06	1.54	1.48	2.65	2.52	4.08	4.24	1.74	1.59
BjF	8.67	8.18	12.35	11.44	22.49	23.66	1.00	1.20	1.37	1.70	3.31	3.22	5.29	5.28	2.01	1.65
<b>BaP</b>	<b>11.53</b>	<b>11.43</b>	<b>16.02</b>	<b>15.06</b>	<b>35.18</b>	<b>37.80</b>	<b>0.65</b>	<b>0.83</b>	<b>1.53</b>	<b>1.92</b>	<b>2.41</b>	<b>2.15</b>	<b>6.92</b>	<b>6.72</b>	<b>1.97</b>	<b>1.82</b>
IcP	9.49	9.71	14.18	12.95	27.89	36.75	0.61	1.02	1.59	2.23	2.86	3.20	4.68	6.51	1.26	1.19
DhA	1.77	1.40	2.25	1.71	4.00	3.12	0.14	0.06	0.65	0.39	0.60	0.39	0.84	0.84	0.20	0.14
BgP	10.60	11.27	14.99	14.15	40.36	38.87	0.35	0.60	1.12	1.59	2.38	2.63	5.08	5.39	1.37	1.12
DlP	0.40	0.32	0.86	0.50	1.59	1.09	<0.09	0.06	<0.03	0.07	0.34	0.23	0.39	0.29	<0.09	<0.06
DeP	0.80	1.27	0.99	1.67	2.83	3.47	<0.09	0.08	0.11	0.35	0.62	0.73	1.05	1.27	<0.09	0.19
DiP	<0.03	0.54	1.58	1.04	2.16	2.11	<0.03	0.08	<0.03	0.13	0.45	0.45	0.58	0.73	<0.09	0.10
DhP	<0.03	0.16	0.21	0.08	0.84	0.47	<0.03	0.06	<0.03	0.10	0.30	0.22	0.37	0.24	<0.03	<0.02

Bis auf die Konzentrationen von BcL waren die anderen Konzentrationen der 16 EFSA-PAK ermittelt mit Fast-GC/HRMS und GC/HRMS annähernd gleich. Dies führte zu der Vermutung, dass bei Teeproben das BcL bei der Fast-GC/HRMS mit einer unbekanntem Matrixsubstanz

coeluiert und so eine erhöhte Konzentration gemessen wird. Bestätigt wurde diese Annahme durch das abweichende Intensitätsverhältnis von Fragmention bzw. Qualifierion (m/z 108) zu Molekülion bzw. Quantifierion (m/z 216) für das BcL in Teeproben im Vergleich zu reinen Standards. Im Hinblick auf die 15 SCF-PAK ist die Fast-GC/HRMS-Methode zur Bestimmung der PAK in Tee jedoch geeignet. Daher wurden die PAK<sub>ges</sub>-Gehalte in den Teeproben sowohl aus der Summe aller EFSA-PAK als auch der 15 SCF-PAK berechnet, um den Fehler erhöhter Gehalte an BcL auf Grund von coeluiierenden Substanzen zu minimieren.

#### 5.4.4 Validierung der Fast-GC/HRMS-Methode für Tee

Die verwendete Probenaufarbeitung und die anschließende Fast-GC/HRMS-Methode wurden für Teeproben validiert. Dafür wurden Wiederfindung, linearer Bereich und Reproduzierbarkeit bestimmt. Als Grundmatrix wurde ein niedrig belasteter Früchtetee (1 µg BaP/kg) ausgewählt und mit unterschiedlichen Volumina eines nativen Standards versetzt, so dass folgende Dotierungsniveaus erreicht wurden: 1 µg/kg, 5 µg/kg, 10 µg/kg, 15 µg/kg und 20 µg/kg.

**Tabelle 22: Validierungsparameter der Fast-GC/HRMS-Methode für Tee**

	un-dotiert [µg/kg] (n = 3)	+ 1 µg/kg [µg/kg] (n = 3)	+ 5 µg/kg [µg/kg] (n = 3)	+ 10 µg/kg [µg/kg] (n = 3)	+ 15 µg/kg [µg/kg] (n = 3)	+ 20 µg/kg [µg/kg] (n = 3)	MW RSD (%)	MW Wdf. (%)	R
BcL	1,55	2,67	6,91	12,18	17,51	23,45	2,3	108	>0,999
BaA	2,25	3,32	7,27	12,15	17,27	22,43	1,7	101	>0,999
CHR*	6,56	7,57	11,61	16,45	21,84	26,97	2,0	101	>0,999
CPP	0,45	1,25	4,13	7,58	11,79	15,34	5,0	75	>0,999
SMC	0,56	1,18	5,10	9,84	14,46	19,25	1,0	86	>0,999
BbF	1,23	2,21	6,16	11,08	16,06	21,36	2,6	99	>0,999
BkF	0,65	1,70	5,33	10,56	16,00	20,93	3,1	100	>0,999
BjF	0,93	1,93	6,02	10,95	16,20	21,53	2,6	101	>0,999
<b>BaP</b>	<b>1,08</b>	<b>1,89</b>	<b>5,91</b>	<b>11,08</b>	<b>16,34</b>	<b>21,58</b>	<b>3,7</b>	<b>96</b>	<b>&gt;0,999</b>
IcP	1,04	2,08	6,98	12,83	19,31	25,05	3,8	117	>0,999
DhA	0,12	1,16	5,62	11,07	16,21	21,59	5,4	108	>0,999
BgP	0,86	1,81	5,71	10,64	16,90	20,55	4,9	99	>0,998
DIP	0,06	1,01	4,56	9,76	14,40	19,49	3,2	95	>0,999
DeP	0,14	1,18	5,16	10,33	15,33	21,23	4,2	103	>0,999
DiP	0,11	1,10	4,89	10,20	15,76	21,61	3,8	102	>0,999
DhP	0,01	0,79	4,05	8,18	12,53	17,36	4,6	82	>0,999

\* im undotierten Fall entspricht CHR der Summe aus CHR und TP

Die hergestellten Dotierungsniveaus befanden sich innerhalb des Bereiches, in dem nach der Häufigkeitsverteilung der später untersuchten Teeproben die meisten BaP-Gehalte ermittelt

wurden. Jede Dotierungsstufe wurde dreimal aufgearbeitet. Die ermittelten analytischen Parameter der Methode sind in Tabelle 22 aufgelistet.

Der Korrelationskoeffizient R der Geraden aus dem Quotient der Konzentrationen und dem Flächenverhältnis zwischen internem Standard und Analyt war jeweils größer als 0,99. Die durchschnittliche Wiederfindung aller PAK bewegte sich zwischen 75 und 117 %. Es konnte weiterhin eine gute Reproduzierbarkeit erreicht werden. Die relative Standardabweichung berechnet aus dem Durchschnitt aller Dotierungslevel betrug 1,0 bis 5,4 %. Die einzelnen LOD und LOQ sind dem Anhang 1 zu entnehmen.

#### **5.4.5 Einfluss der Standard-Konzentration**

Die meisten der untersuchten Proben wiesen BaP-Gehalte im ermittelten Linearitätsbereich (1 – 20 µg/kg) auf. Der BaP-Gehalt in Teeproben kann aber zum Teil über dem höchsten Punkt liegen (20 µg/kg). Um die Anwendbarkeit der isopenmarkierten Standards (60 – 170 ng/ml) bei Teeproben mit Konzentrationen über 20 µg/kg überprüfen zu können, wurden drei Teeproben nach der ASE in drei Extrakte gleichen Volumens unterteilt. Erst vor der GPC wurde zu jedem Teilextrakt der Probe der Quantifizierungsstandard in einer Größenordnung über dem üblich eingesetzten Standard zugegeben (600 - 1700 ng/ml). Die Proben wurden nach der üblichen Standardmethode weiter aufgearbeitet. Anschließend wurden die PAK-Gehalte quantifiziert und mit den vorher nach der Tee-Standard-Methode aufgearbeiteten Proben verglichen (Anhang 23). Die Abweichungen zwischen den beiden Methoden betragen 1 - 32 %. Die größten Abweichungen wurden bei den Konzentrationen der Dibenzpyrene und des 5-Methylchrysens ermittelt.

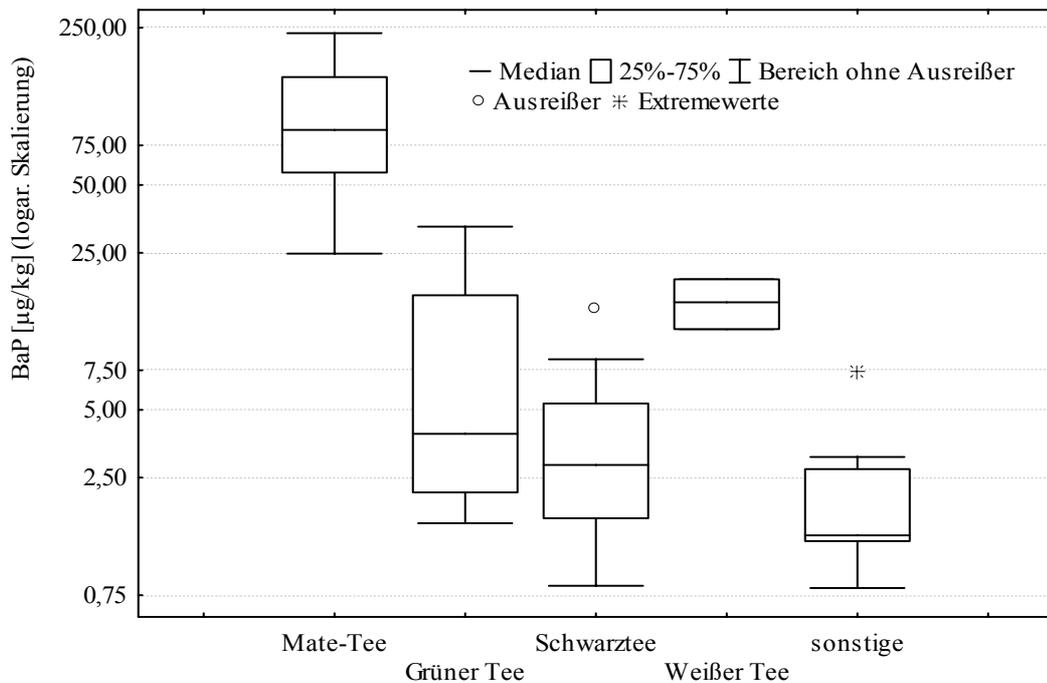
Mit Hilfe dieser Proben konnte gezeigt werden, dass Konzentrationen hoch belasteter Tees (z. B. 237 µg BaP/kg) extrapolativ über das Peakflächenverhältnis der markierten Standards zu den Peakflächen der PAK mit ausreichender Genauigkeit ermittelt werden können.

#### **5.4.6 PAK-Gehalte in verschiedenen Teeproben**

Nach Optimierung der Probenaufarbeitung wurden anschließend 51 verschiedene Teeproben und zwei Grüntee-Extrakte (getrocknet) untersucht. Zu den 51 Teeproben zählten 8 Mate-Tees, 21 Schwarztees, 3 Weiße Tees, 11 Grüne Tees und 8 sonstige Tees (4 Früchtetees, 2 Arzneitees und 2 Kräutertees).

Die ermittelten PAK-Gehalte sind im Anhang 25 und Anhang 26 aufgeführt.

Hinsichtlich der ermittelten PAK-Mediane sowie der BaP-Mediane der Teesorten lässt sich folgende Reihenfolge abnehmender Gehalte aufstellen: Mate-Tee > Weißer Tee > Grüner Tee > Schwarztee > sonstige Tees. Die Box-Whisker-Plots der verschiedenen Teesorten sind stellvertretend für das BaP in Abbildung 62 dargestellt.



**Abbildung 62: BaP-Gehalte in Mate-Tees (n = 8), Grünen Tees (n = 11), Schwarztees (n = 21), Weißen Tees (n = 3) und sonstigen Tees (n = 8)**

Die höchsten Gehalte konnten in Mate-Tee bestimmt werden ( $BaP_{max}$  237  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Diese hohen Gehalte sind auf den Herstellungsprozess zurückzuführen. Mate-Blätter werden nach der Ernte kurzzeitig stark erhitzt, um die Oxidasen zu inaktivieren. Dadurch kommt es zur Aromabildung, und die grüne Farbe bleibt erhalten. Dafür werden die Blätter in einem bis zu 350 °C heißen rotierenden Metallzylinder kurzzeitig erhitzt oder über offenem Feuer geschwelt. Im Anschluss daran werden die Blätter bis zum gewünschten Wassergehalt getrocknet.

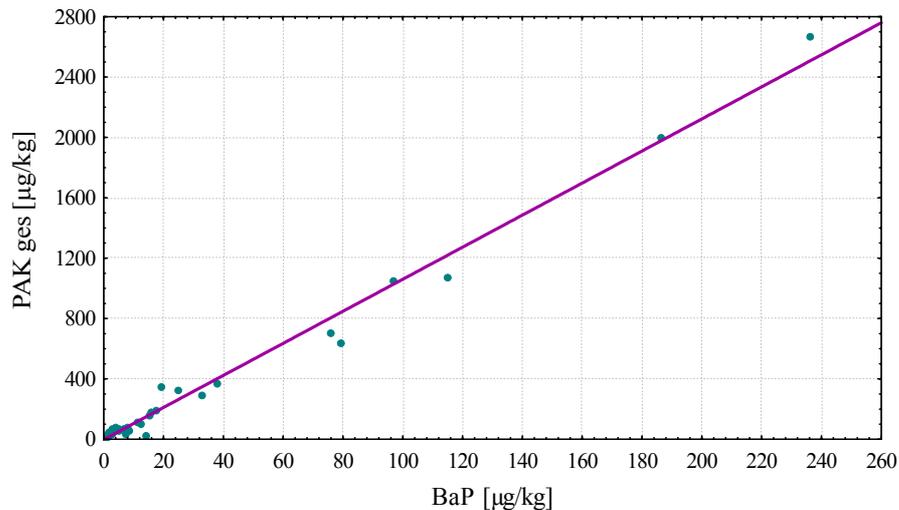
Schlemitz und Pfannhauser (1997) ermittelten ebenfalls die höchsten BaP- und  $PAK_{ges}$ -Gehalte in Mate-Tee (grün: 225  $\mu\text{g}$  BaP/kg, geröstet 542  $\mu\text{g}$  BaP/kg) bei einer Untersuchung von mehreren verschiedenen Teesorten (Schwarztee, Grüner Tee, Mate-Tee, Früchtetee, Fencheltee und Pfefferminztee). In den Arbeiten von Ruschenburg und Jahr (1986) wurden BaP-Gehalte in grünem Mate-Tee von 56 – 532  $\mu\text{g}/\text{kg}$  und in geröstetem Mate-Tee von 146 – 715  $\mu\text{g}/\text{kg}$  bestimmt, welche teilweise um ein Vielfaches höher waren als die in dieser Arbeit ermittelten BaP-Gehalte ( $BaP_{max}$  = 237  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ).

Zwischen den BaP-Gehalten von Mate-Tee und von Schwarztee, Weißem Tee und sonstigen Tees bestand ein signifikanter Unterschied.

Die Bereiche der BaP-Konzentrationen von Grünem Tee und Schwarztee überschneiden sich, jedoch lagen die Mediane aller PAK von Grünem Tee höher als bei Schwarztee. Auch Shatta (1999) fand im Median höhere Gehalte in Grünem Tee als in Schwarztee. Ebenso ermittelte Ciemniak (2005) in Grünem Tee höhere  $PAK_{ges}$ -Gehalte als in Schwarztee. Ruschenburg und Jahr (1986) hingegen analysierten in Schwarztee (0,5 – 25,7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) mehr BaP als in Grünem Tee (n.n. – 1,3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Auch Lin et al. (2005) ermittelten geringere PAK-Gehalte in Grünem Tee als in Schwarztee.

Die ermittelten Analysendaten der Gehalte einzelner PAK und der Summe aller 16 EFSA-PAK ergaben einen linearen Zusammenhang zwischen der BaP-Konz. und der  $PAK_{ges}$ -Konz. (Abbildung 63), der sich mit folgender Gleichung beschreiben lässt  $PAK_{ges} = -1,8482 + 10,6221 * BaP$ . Der Korrelationskoeffizient für diese Abhängigkeit betrug  $R = 0,99$ .

Bei Vernachlässigung der BcL-Konzentration lautet die Gleichung wie folgt:  $PAK_{ges} = -1,687 + 9,914 * BaP$ . Auch hier betrug der Korrelationskoeffizient  $R = 0,99$ .



**Abbildung 63: Linearer Zusammenhang zwischen BaP- und  $PAK_{ges}$ -Konz. in Tee (n = 51)**

Die Häufigkeitsverteilungen der BaP- und  $PAK_{ges}$ -Gehalte in den Proben von Grünem Tee und in Schwarzteeproben stellen die Abbildung 64 und Abbildung 65 dar.

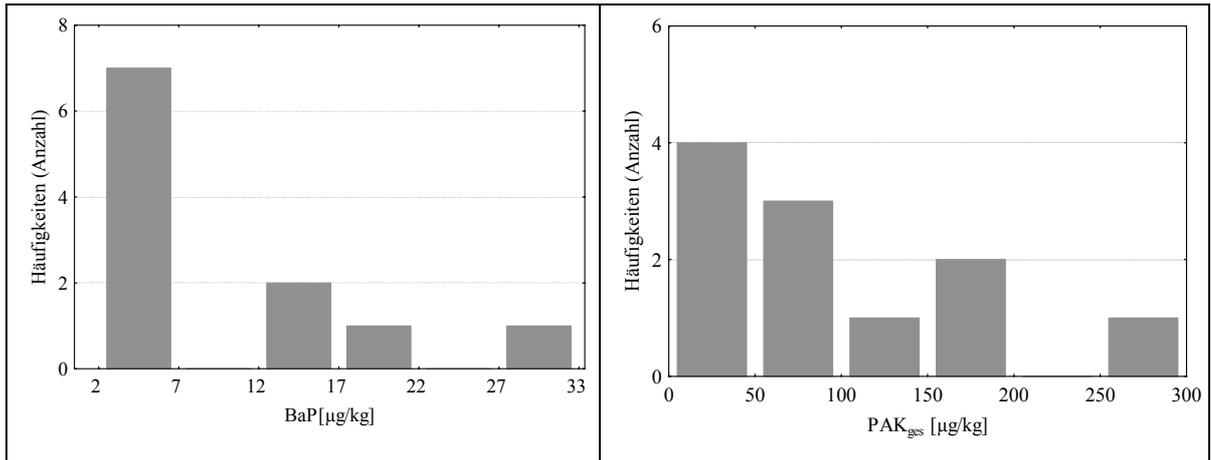


Abbildung 64: Häufigkeiten der BaP- und PAK<sub>ges</sub>-Gehalte in Grünem Tee (n = 11)

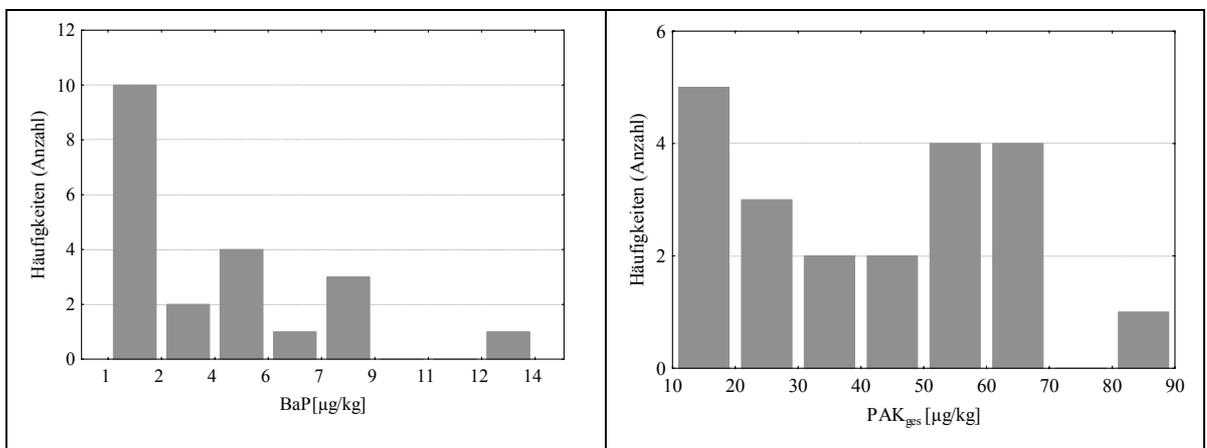


Abbildung 65: Häufigkeiten der BaP- und PAK<sub>ges</sub>-Gehalte in Schwarztee (n = 21)

Zwischen BaP und DIP konnte ebenfalls ein linearer Zusammenhang ermittelt werden (Abbildung 66), ebenfalls zwischen BaP und Benzo[e]pyren (BeP) ( $\text{BeP} = -0,5098 + 1,0296 \cdot \text{BaP}$ ,  $R = 0,99$ ).

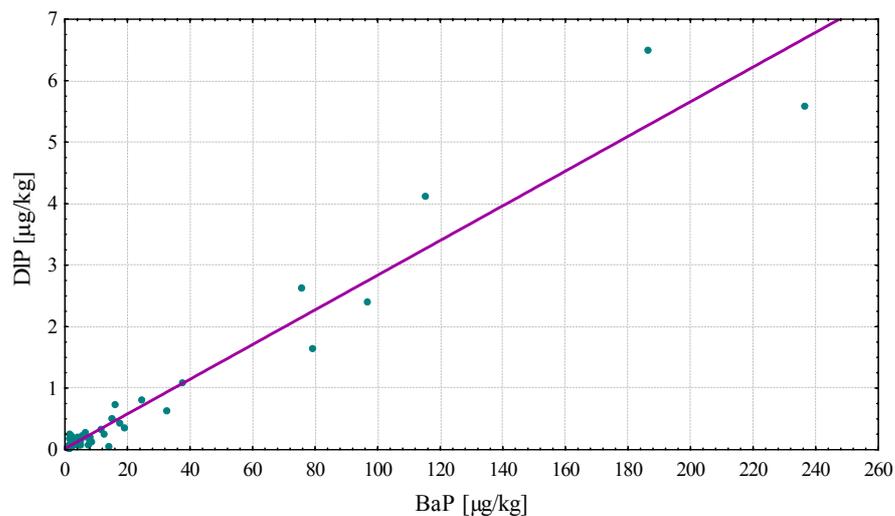


Abbildung 66: Linearer Zusammenhang zwischen BaP- und DIP-Konz. in Tee (n = 51)

Die Stärke der Abhängigkeit der einzelnen PAK-Gehalte zueinander - ausgedrückt im Korrelationskoeffizient R - bewegte sich zwischen 0,8 – 1,0 (ohne CPP). Weniger starke Abhängigkeiten wurden zwischen den PAK-Gehalten bestimmt, die in geringeren Konzentrationen bestimmt wurden. Die niedrigsten Korrelationskoeffizienten von jeweils 0,63 ergaben sich zwischen CPP und 5MC und zwischen CPP und DhA (Anhang 27). 5MC und DhA gehörten zu den PAK die in Tee in geringeren Konzentrationen vorlagen. Die Korrelationskoeffizienten der einzelnen Dibenzpyrene, die in den geringsten Konzentrationen bestimmt wurden, zu den anderen einzelnen PAK lagen jedoch deutlich höher zwischen 0,8 und 1,0. Zur Berechnung dieser Korrelationskoeffizienten wurden auf Grund der nicht bestimmbar bzw. nicht nachweisbaren Gehalte vielfach die Konzentrationen der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen mit einbezogen.

Die genauere Analyse der erzielten PAK-Konzentrationen ergab, dass eine abnehmende Reihenfolge der Benzofluoranthene zu verzeichnen ist: BbF > BjF > BkF. Dies war in 49 der 51 Proben der Fall.

Des Weiteren konnte festgestellt werden, dass der BaP-Anteil am PAK<sub>ges</sub>-Gehalt bei allen Proben im Median 8 % betrug. Bezogen auf die einzelnen Teesorten war dieser Anteil bei Mate-Tee am größten und bei den sonstigen Tees am geringsten (BaP-Anteil am PAK<sub>ges</sub>-Gehalt: 9,8 % (Mate-Tee), 9,6 % (Weißer Tee), 8,0 % (Grüner Tee), 7,0 % (Schwarztee) und 5,9 % (sonstige Tees)). Den größten Anteil an der PAK<sub>ges</sub>-Konz. nahm im Median die Summe aus CHR und TP (27 %) ein und den geringsten DhP (0,1 %) (siehe Abbildung 67).

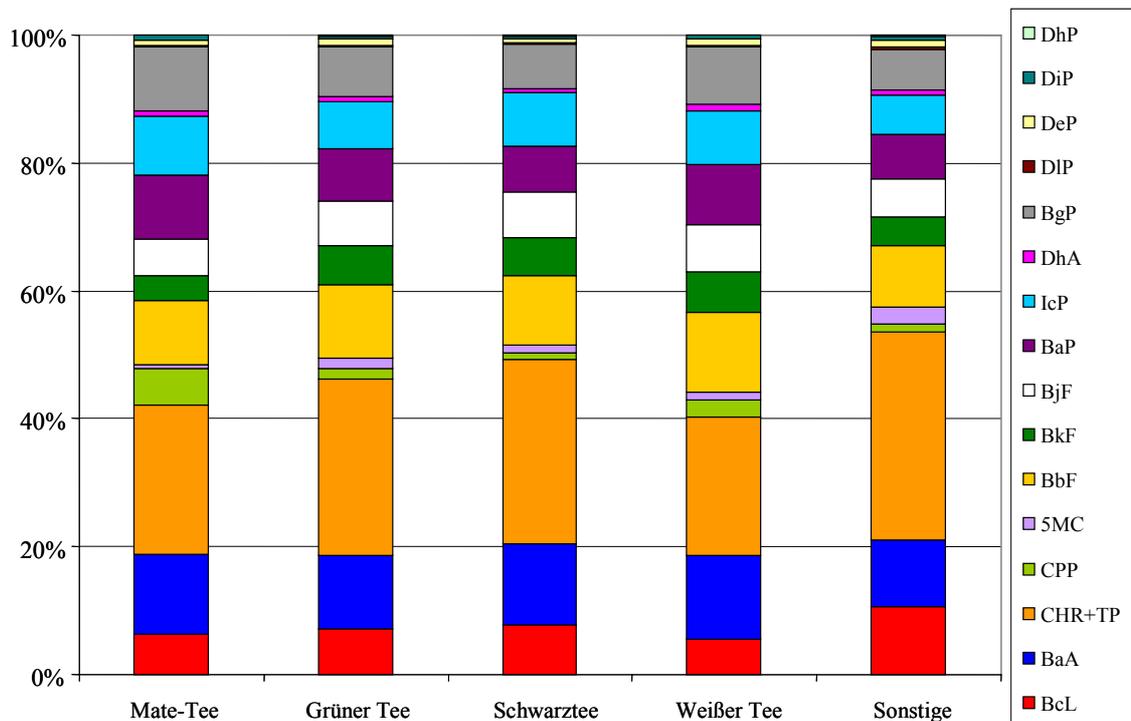


Abbildung 67: PAK-Verteilung (in %) in verschiedenen Teesorten

Zur Darstellung der PAK-Profile aller Proben einer Teesorte wurde Grüner Tee ausgewählt. Wie aus Abbildung 68 ersichtlich wird, waren auch innerhalb einer Teesorte die einzelnen PAK-Profile annähernd gleich.

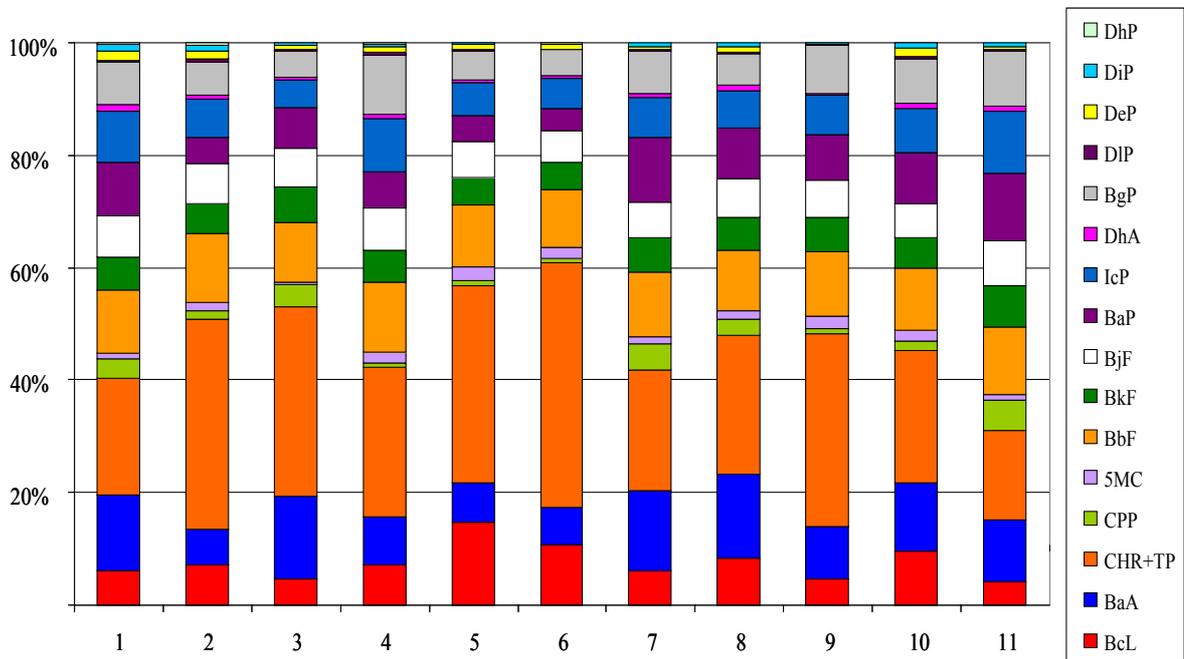


Abbildung 68: PAK-Verteilung (in %) in Grünem Tee

Einige charakteristische PAK-Verhältnisse werden im Folgenden zusammengefasst. Das Verhältnis von BbF zu BaP war im Median 1,0 bei Mate-Tee. Innerhalb der anderen Teesorten bewegte sich dieses Verhältnis von 1,3 bis 1,6. Das Verhältnis von BaP zu BgP war im Median bei allen Teesorten annähernd 1. Große Unterschiede ergaben sich hingegen für das BaA/CPP-Verhältnis (2,5 (Mate-Tee), 4,8 (Grüner Tee), 11,7 (Schwarztee), 4,8 (Weißer Tee) und 8,4 (sonstige Tees)). Bei CPP liegt jedoch der Verdacht nahe, dass es sich in bestimmten Matrices um eine instabile Substanz handelt [SIMON und WENZL, 2007].

Das Verhältnis von BaP zu BeP in allen Teeproben variierte zwischen 0,5 und 13,8. Im Median betrug dieses Verhältnis für Mate-Tee 1,0; für Grünen Tee 1,0; für Schwarztee 1,0; für Weißen Tee 1,0 und für sonstige Tees 0,75. Zwischen den einzelnen Teesorten bestand somit kein signifikanter Unterschied für die Werte des BaP/BeP-Verhältnisses.

In den beiden Grüntee-Extrakten (Trockenextrakt, Einwaage 2 g) konnten die 16 EFSA-PAK nicht nachgewiesen werden. Dies war auf Grund der Herstellung dieser Produkte auch zu erwarten. Mit Hilfe von Gefriertrocknung oder anderen Methoden wird den wässrigen Teeauszügen das Wasser entzogen. Durch eventuelle Filterprozesse zur Reinigung ist eine Entfernung von PAK weiterhin denkbar. Da nach Literaturangaben der PAK-Übergang vom Tee in den Aufguss max. 11 % beträgt

[LIN et al., 2005; LIN et al., 2006a], sind niedrige bzw. nicht nachweisbare Gehalte in Tee-Extrakten sehr wahrscheinlich.

#### 5.4.7 Übergang von PAK in Tee-Aufgüsse

Auf Grund der nicht nachweisbaren bzw. bestimmaren PAK-Gehalte in Tee-Extrakten und der jedoch vorhandenen Literatur zum PAK-Transfer von den Teeblättern in den Aufguss [RUSCHENBURG und JAHR, 1986; LIN et al., 2006a], wurden drei Tees mit verschiedenen PAK-Gehalten ausgewählt, von denen im Anschluss Teeaufgüsse hergestellt wurden. Die Aufgüsse wurden wie unter Punkt 8.2.3 beschrieben hergestellt. Damit wurde den Hinweisen der Zubereitung auf den Verpackungen weitestgehend entsprochen. Die Ziehzeit betrug stets 6 min. Die ermittelten PAK-Gehalte der Teeblätter wurden mit denen der Aufgüsse verglichen. Um den Übergang zu

berechnen, wurde folgende Gleichung genutzt: 
$$\text{Übergang}(\%) = \frac{c_{\text{Aufguss}}(\text{ng/l}) \cdot v_{\text{Aufguss}}(\text{l})}{c_{\text{Tee}}(\text{ng/g}) \cdot m_{\text{Tee}}(\text{g})} \cdot 100.$$

Alle ermittelten Gehalte sind in Tabelle 23 aufgeführt. Die ermittelten PAK-Übergänge bewegten sich von 0,03 bis 4,4 % und befinden sich damit unter 5 %. Einen PAK-Transfer unter 11 % erzielten bereits Lin et al. (2006a). Ruschenburg und Jahr (1986) bestimmten einen Übergang von BaP ins Getränk speziell bei Mate-Tee und Mate-Tee (geröstet) von 0,2 bis 1,9 %. Der hier ermittelte Transfer von BaP aus Mate-Tee in den Aufguss lag mit 2,3 % leicht höher.

Die ermittelten Ergebnisse verdeutlichten weiterhin, dass der Übergang ins Getränk nicht mit den PAK-Gehalten korreliert. Es konnte nicht gezeigt werden, dass bei einem höheren PAK-Gehalt der Teeblätter prozentual mehr PAK in den Teeaufguss übergehen.

Beim Mate-Tee lag der BaP-Transfer von den Teeblättern ins Getränk über dem Zehnfachen des Übergangs bei geröstetem Mate-Tee. Demnach ist die Stärke des PAK-Transfers eventuell auf die Behandlung des Tees zurückzuführen. Möglicherweise schließt der Röstprozess die PAK tiefer im Gewebe ein und erschwert somit die Extraktion.

Der innerhalb dieser Arbeit ermittelte Transfer der PAK in wässrige Aufgüsse bei der gewählten Ziehzeit von 6 min war gering.

Unter der Annahme, dass der tägliche Konsum einer Menge von 1,5 l eines Aufgusses, hergestellt aus 8 g hochbelastetem Mate-Tee (237 µg BaP/kg) pro 500 ml Wasser mit einer BaP-Konzentration von 85,7 ng/l, beträgt, erfolgt eine tägliche Aufnahme von 129 ng BaP. Diese aufgenommene Menge entspricht bereits ca. 26 – 64 % der durchschnittlichen täglichen

Aufnahmemenge der Bevölkerung über die Nahrung (200 - 500 ng [DGBT, 2000]). Bei einem Konsum von 1,5 l eines Früchtetee-Aufgusses (0,6 ng BaP/l), hergestellt aus 6 g Früchte-Tee pro 500 ml Wasser (1,3 µg BaP/kg), werden hingegen nur 0,9 ng BaP aufgenommen. Im Vergleich zu der durchschnittlichen aufgenommenen BaP Menge der Bevölkerung über die Nahrung (200 - 500 ng [DGBT, 2000]) beträgt die Aufnahme über Früchtetee somit weniger als 1 %.

Diese Ergebnisse erlauben allerdings keine Rückschlüsse auf den PAK-Transfer anderer Ziehzeiten und Wasser/Tee-Verhältnisse.

**Tabelle 23: PAK-Übergang von Tee in Teeaufgüsse**

	Früchtetee			Mate-Tee			Mate-Tee, geröstet		
	c <sub>Tee</sub> [µg/kg]	c <sub>Aufguss</sub> [ng/l]	Über- gang [%]	c <sub>Tee</sub> [µg/kg]	c <sub>Aufguss</sub> [ng/l]	Über- gang [%]	c <sub>Tee</sub> [µg/kg]	c <sub>Aufguss</sub> [ng/l]	Über- gang [%]
BcL	2,9	-	-	194,4	71,0	2,3	124,8	6	0,3
BaA	2,6	0,7	2,2	374,6	144,3	2,4	324,6	15,5	0,3
CHR + TP	6,7	1,4	1,7	746,3	295,0	2,5	597,6	31,9	0,3
CPP	0,5	0,2	3,3	168,8	92,0	3,4	31,7	1,7	0,3
SMC	0,6	-	-	19,0	9,2	3,0	29,1	0,7	0,2
BbF	1,7	0,9	4,4	258,1	88,0	2,1	191,8	5,1	0,2
BkF	1,0	0,4	3,3	87,5	31,5	2,3	88,4	2,2	0,2
BjF	1,2	0,6	4,2	123,5	45,5	2,3	138,3	3,9	0,2
<b>BaP</b>	<b>1,3</b>	<b>0,6</b>	<b>3,9</b>	<b>236,5</b>	<b>85,7</b>	<b>2,3</b>	<b>186,3</b>	<b>5,9</b>	<b>0,2</b>
IcP	1,3	0,5	3,2	184,4	61,0	2,1	140,8	2,9	0,1
DhA	0,2	0,1	4,2	13,3	4,0	1,9	23,1	0,1	< 0,1
BgP	1,2	0,6	4,2	221,1	88,4	2,5	95,3	3,1	0,2
DIP	0,2	-	-	5,6	1,9	2,1	6,5	-	-
DeP	0,2	-	-	16,1	3,7	1,4	10,9	-	-
DiP	0,1	-	-	12,1	3,0	1,6	8,0	-	-
DhP	< 0,1	-	-	0,8	-	-	0,8	-	-
PAK <sub>ges</sub>	21,8	6,0	2,3	2662,1	1024,2	2,4	1998,0	79,0	0,3
PAK <sub>ges</sub> (ohne BcL)	18,9	6,0	2,7	2467,7	953,2	2,4	1873,2	73,0	0,2

Diese Ergebnisse bestätigen weiterhin, dass die im Handel angebotenen Tee-Extrakte bei der Herstellung meist filtriert werden, da in einer Auswahl dieser Produkte PAK nicht nachgewiesen bzw. bestimmt werden konnten (siehe Punkt 5.4.6).

## 5.5 PAK in Schokolade

Bisher liegen wenige Daten über PAK-Gehalte in Schokolade vor. BaP-Konzentrationen in einem Bereich von 0,13 – 0,32 µg/kg (n = 6) konnten von Dennis et al. (1991) ermittelt werden. Einen Gehalt von 0,33 µg BaP/kg analysierten Lodovici et al. (1995) in einer aus drei unterschiedlichen Schokoladen hergestellten Mischprobe. Die Stiftung Warentest bestimmte 2007 in einer Bio-Edelbitterschokolade einen unerwartet hohen BaP-Gehalt von 10 µg/kg [STIFTUNG WARENTEST, 2007].

Für BaP in Schokolade gelten aktuell keine Höchstgehalte. Da jedoch sowohl das Trocknen der Kakaobohnen als auch der Transport eine mögliche Eintragsquelle für PAK in Schokolade darstellen können, wurden die Gehalte an BaP in 40 Proben verschiedener Schokoladensorten mit unterschiedlichen Kakaogehalten untersucht. Im Hinblick auf eine Empfehlung der Kommission vom 4. Februar 2005 über die genauere Ermittlung der Mengen von Polyzyklischen Aromatischen Kohlenwasserstoffen in bestimmten Lebensmitteln (EG/108/2005) wurden zusätzlich die Gehalte der anderen EFSA-PAK untersucht. Die bereits unter Punkt 4.1.2 vorgestellte Analysenmethode bestehend aus ASE, GPC, SPE und GC/HRMS erwies sich auch für die Untersuchung von Schokolade als geeignet. Die einzelnen Schritte der Probenaufarbeitung sowie die für die Identifizierung und Quantifizierung notwendigen GC/MS-Parameter sind detailliert unter Punkt 8.2 und Punkt 8.5 aufgeführt.

Wie schon bei Tee, wurde auch bei der Matrix Schokolade die Extraktion auf ihre Vollständigkeit geprüft. Auf Schokoladenerzeugnissen sind vielfach ihre Fettgehalte angegeben. Diese Angaben wurden herangezogen und mit den ermittelten Fettgehalten nach der ASE-Extraktion verglichen. Die ermittelten Fettgehalte stimmten mit einer Abweichung von ca. 10 % mit den auf der Verpackung gekennzeichneten Mengen überein. Die geringen Abweichungen sind auf verschiedene Methoden zurückzuführen, da die Schokoladenhersteller in der Regel andere Extraktionsverfahren zur Bestimmung verwenden.

Vielfach wurde berichtet, dass die Kakaobutter für analytische Probleme innerhalb der Probenaufarbeitung und der Chromatographie in der Matrix Schokolade verantwortlich ist. Daher galt es zunächst zu untersuchen, ob störende Matrixinterferenzen bedingt durch Extraktion, Clean-up oder unzureichende chromatographische Trennung mit der entwickelten Standardmethode ebenso auftreten. Dafür wurde als ein weiterer Vorversuch reine Kakaobutter aufgearbeitet und die darin enthaltenen natürlichen PAK analysiert. Die Massenspuren m/z 252, m/z 256 und m/z 258 einer Kakaobutter sind in Abbildung 69 dargestellt. Weder bei reiner Kakaobutter noch bei den später analysierten Schokoladen wurden störende Interferenzen in der Chromatographie

beobachtet. Die Probenaufarbeitung und die Chromatographie der verwendeten Analysenmethode erwiesen sich als geeignet für die PAK-Analytik in Schokolade.

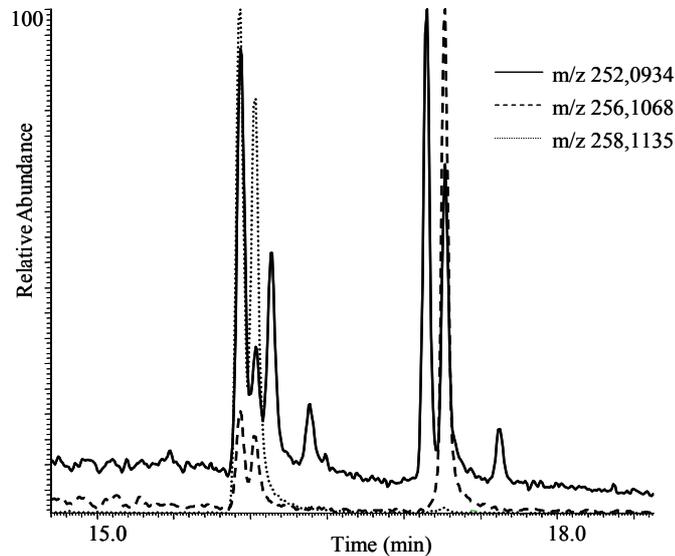


Abbildung 69: Chromatogramm einzelner Massenspuren der Probenmatrix Kakaobutter

Zur Ermittlung der PAK-Gehalte in Schokoladen wurden insgesamt 40 Schokoladen mit unterschiedlichen Kakaogehalten und von verschiedenen Herstellern untersucht. Da keine großen Unterschiede zwischen den PAK-Gehalten der einzelnen Sorten vorlagen, wurden u. a. die Mediane von allen Proben angegeben. Die ermittelten Mediane für die einzelnen Verbindungen sind in Tabelle 24 für alle Schokoladen aufgeführt. Die Einzelwerte sind im Anhang 28 und Anhang 29 zusammengefasst.

Tabelle 24: Ergebnisse der PAK-Untersuchungen in Schokolade, (n = 40)

	Mittelwert [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	s [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	Median [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	Minimum [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	Maximum [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]
BcL	0,37	0,13	0,35	0,19	0,80
BaA	0,47	0,28	0,39	0,11	1,15
CHR + TP	0,95	0,44	0,83	0,32	2,09
CPP	0,23	0,14	0,20	0,06	0,69
SMC	0,04	0,03	0,03	< 0,006	0,14
BbF	0,34	0,16	0,31	0,14	0,70
BkF	0,11	0,07	0,09	< 0,02	0,31
BjF	0,24	0,09	0,21	0,12	0,44
<b>BaP</b>	<b>0,26</b>	<b>0,15</b>	<b>0,22</b>	<b>0,07</b>	<b>0,63</b>
IcP	0,13	0,08	0,10	< 0,06	0,43
DhA	< 0,06	0,02	< 0,06	< 0,02	0,08
BgP	0,17	0,13	0,14	0,01	0,62
DIP	< 0,02	-	< 0,02	< 0,02	< 0,06
DeP	< 0,02	-	< 0,02	< 0,02	0,07
DiP	< 0,02	-	< 0,02	< 0,02	< 0,06
DhP	< 0,02	-	< 0,02	< 0,02	< 0,02

Nach der Kakaoverordnung gibt der Gesamtgehalt an Kakaotrockenmasse angegeben in „Kakao: ... % mindestens“ die Summe aus fettfreier Kakaotrockenmasse und Kakaofett an. Je nach Qualitätsstufe wird Schokolade aus Kakaomasse mit und ohne Kakaobutter hergestellt. So enthält beispielsweise eine Vollmilch-Schokolade (mindestens 30 % Kakao) 10 – 15 % Kakaomasse und etwa 20 % Kakaobutter, eine Zartbitter-Schokolade (mindestens 50 % Kakao) ca. 45 % Kakaomasse und 5 bis 10 % Kakaobutter, eine Bitter-Schokolade (mindestens 60 %) Kakao durchschnittlich 55 % Kakaomasse und 5 bis 10 % Kakaobutter [persönliche Mitteilung, LINDT & SPRÜNGLI GmbH, 10.01.2007]. Es ergeben sich somit folgende Anteile Kakaobutter an der Zusammensetzung einschließlich der Kakaobutteranteile von Kakaomasse (52 – 58 %): Vollmilch-Schokolade (26 %), Halbbitter-Schokolade (30 %), Bitter-Schokolade (33 %). Weiße Schokolade besteht zu 26 % aus Kakaobutter [RÖMPP, 1995]. Die Unterschiede zwischen den Kakaobuttergehalten waren nach dieser Berechnung gering. Dies spiegelte sich in den PAK-Gehalten wider, die annähernd gleich waren und war dafür verantwortlich, dass kein linearer Zusammenhang zwischen den PAK-Gehalten und dem gekennzeichneten Kakaogehalt zu erkennen war.

Die Häufigkeitsverteilungen der BaP- und PAK<sub>ges</sub>-Gehalte in allen 40 Schokoladen stellt die Abbildung 70 dar. Die Verteilung beider Gehalte ist annähernd gleich. 16 der 40 Gehalte an BaP und 17 der 40 PAK<sub>ges</sub>-Gehalte bewegten sich von 0,1 bis 0,2 µg/kg und von 1,5 bis 2,5 µg/kg.

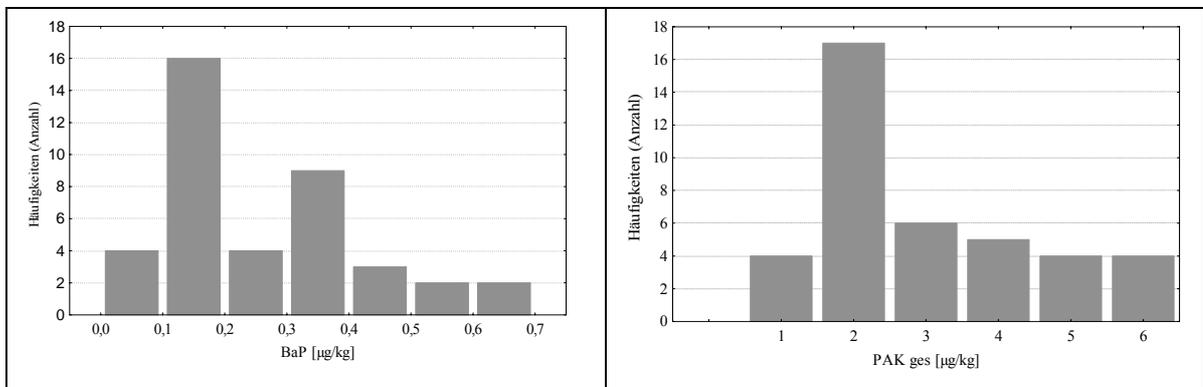


Abbildung 70: Häufigkeiten der BaP- und PAK<sub>ges</sub>-Gehalte in Schokolade

Aus den erzielten Ergebnissen ergab sich wiederum ein linearer Zusammenhang zwischen der Konzentration an BaP und der Konzentration aller EFSA-PAK (Abbildung 71). Folgende Gleichung lässt sich für diese Abhängigkeit aufstellen:  $PAK_{ges} = 0,8844 + 9,7667 * BaP$  ( $R = 0,94$ ). Der Zusammenhang der restlichen PAK zueinander ausgedrückt durch Korrelationskoeffizienten ist im Anhang 30 aufgelistet. Für die Abhängigkeit bzw. den Zusammenhang zwischen den einzelnen PAK-Konz. und der PAK<sub>ges</sub>-Konz. wurden Korrelationskoeffizienten von 0,72 – 0,98 analysiert, wobei der stärkste Zusammenhang zwischen BaA und PAK<sub>ges</sub> bestimmt wurde. Die Korrelationen zwischen den anderen einzelnen PAK fielen hingegen nicht so linear aus. Die geringste Korrelation wurde zwischen CPP und BbF erzielt (Korrelationskoeffizient 0,46). Da die

Gehalte der Dibenzpyrene unterhalb der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen lagen, konnten diese PAK nicht mit in die Betrachtung einbezogen werden. Dies traf des Weiteren für das DhA zu.

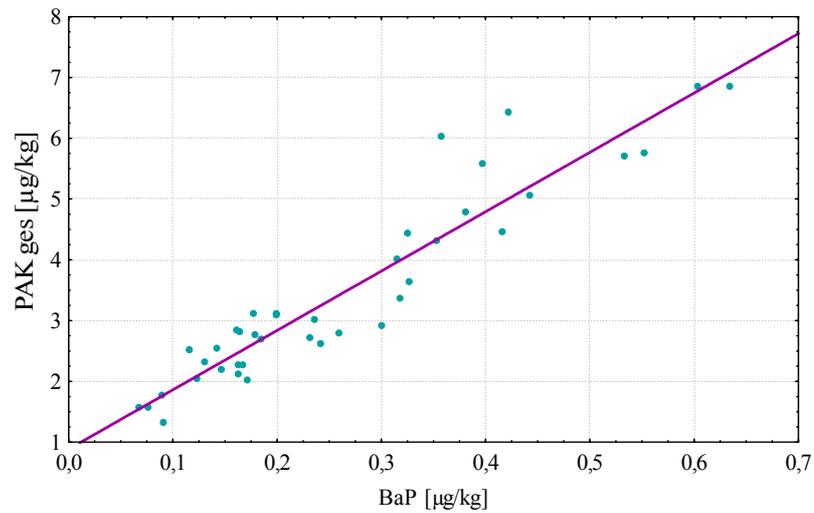


Abbildung 71: Linearer Zusammenhang zwischen BaP- und PAK<sub>ges</sub>-Konz. in Schokoladen (n = 40)

Die %uale Verteilung der PAK in den einzelnen Schokoladen ist in der folgenden Abbildung dargestellt (Abbildung 72). Die PAK-Profile der einzelnen Schokoladen waren sich sehr ähnlich. Sie berechneten sich aus dem Anteil des jeweiligen PAK am PAK<sub>ges</sub>-Gehalt, angegeben in Prozent.

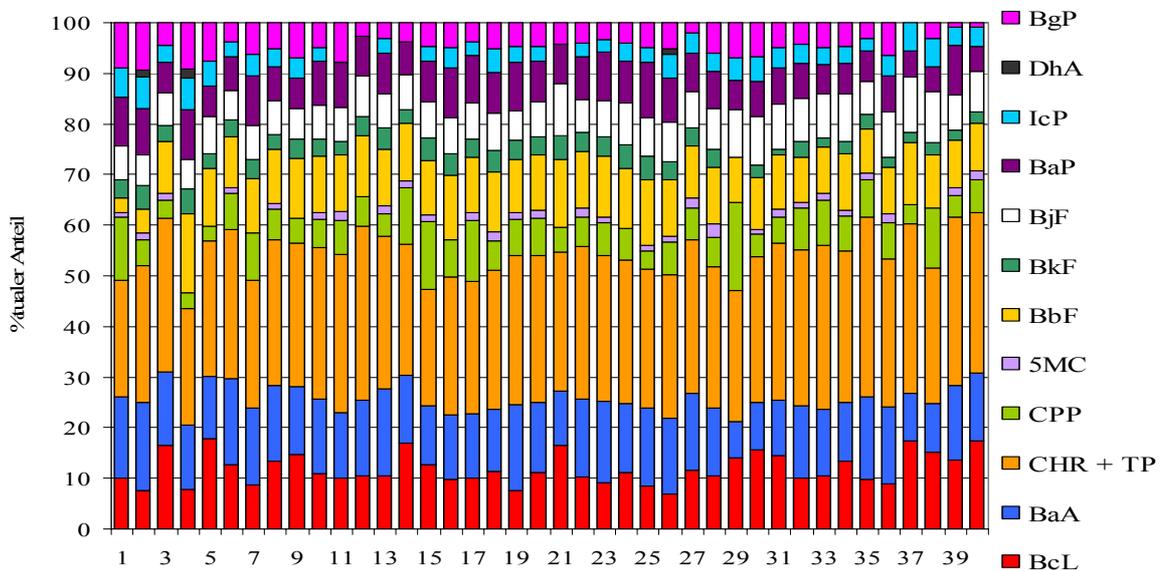


Abbildung 72: %tualer Anteil einzelner PAK am PAK<sub>ges</sub>-Gehalt (PAK-Profile)

Es konnten im Mittel 12 % BcL, 14 % BaA, 19 % CHR + TP, 7 % CPP, 1 % 5MC, 11 % BbF, 3 % BkF, 8 % BjF, 8 % BaP, 3 % IcP, 5 % BgP analysiert werden. Die Konzentrationen der Dibenzpyrene sowie von DhA lagen wie bereits oben erwähnt in der Regel unterhalb der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen.

## 6 Zusammenfassung

Polyzyklische Aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) sind eine Gruppe organischer Verbindungen, die zwei oder mehr kondensierte aromatische Kohlenstoffringe enthalten. Sie werden hauptsächlich bei pyrolytischen Prozessen, insbesondere bei der unvollständigen Verbrennung organischen Materials gebildet und gelangen so in die Umwelt und auf landwirtschaftliche und aquatische Produkte. Sie gelangen aber auch in Folge von technologischen Verfahren wie Trocknen und Räuchern in Lebensmittel. Einige der PAK weisen Krebs auslösende Eigenschaften auf. Die bekannteste karzinogene PAK-Verbindung ist das Benzo[a]pyren (BaP), welches bislang als Leitsubstanz verwendet wird. Neben dem BaP wurden in der Vergangenheit vielfach die EPA-PAK (Naphthalin, Acenaphthylen, Acenaphthen, Fluoren, Phenanthren, Anthracen, Fluoranthen, Pyren, Benzo[a]anthracen (BaA), Chrysen (CHR), Benzo[b]fluoranthen (BbF), Benzo[k]fluoranthen (BkF), BaP, Dibenzo[a,h]anthracen (DhA), Indeno[1,2,3-cd]pyren (IcP), Benzo[g,h,i]perylen (BgP)) bestimmt, die in den 70er Jahren von der amerikanischen Umweltbehörde (EPA) als die am häufigsten in der Umwelt vorkommenden PAK-Verbindungen identifiziert worden waren.

Mittlerweile bestehen jedoch Zweifel, ob BaP als alleinige Leitsubstanz geeignet ist, die Belastung von Lebensmitteln mit PAK richtig einschätzen zu können. Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) hat die Verwendung von BaP als Markersubstanz in einer im Juni 2007 veröffentlichten PAK-Datensammlung erneut als kritisch bewertet [EFSA, 2007]. Aus diesem Grund empfahl die EU-Kommission den einzelnen EU-Mitgliedsstaaten bereits im Jahr 2005, die Untersuchung der PAK auf die so genannten SCF-PAK auszudehnen [2005/108/EG]. Diese neue Liste des Wissenschaftlichen Ausschuss für Lebensmittel (SCF) unterscheidet sich deutlich von der Liste der EPA und beinhaltet folgende PAK: BaA, CHR, Cyclopenta[c,d]pyren, 5-Methylchrysen, BbF, BkF, Benzo[j]fluoranthen, BaP, DhA, IcP, BgP, Dibenzo[a,l]pyren (DIP), Dibenzo[a,e]pyren, Dibenzo[a,i]pyren and Dibenzo[a,h]pyren. Die EFSA empfiehlt zudem, das vom gemeinsamen FAO/WHO-Sachverständigenausschuss für Lebensmittelzusatzstoffe (JECFA) als besonders relevant eingeschätzte Benzo[c]fluoren (BcL) analytisch zu erfassen.

Zur Überprüfung der Anwendbarkeit von BaP als Leitsubstanz ist es notwendig, Kenntnisse über den Anteil von BaP am PAK<sub>ges</sub>-Gehalt sowie über die einzelnen PAK-Profile zu gewinnen. Daher sollten alle EFSA-PAK-Gehalte (15 SCF-PAK + 1 JECFA-PAK) in verschiedenen Lebensmittelgruppen bestimmt werden. Hierfür galt es Analysemethoden mit genügender Selektivität zu erarbeiten, mit denen die 16 EFSA-PAK mit ausreichender Sicherheit quantifiziert werden können.

Die entwickelten Methoden zur PAK-Bestimmung in verschiedenen Lebensmitteln bestanden aus beschleunigter Lösungsmittelextraktion, Gelpermeationschromatographie, Nachreinigung an einer Minikieselgelsäule sowie einer gaschromatographischen Trennung mit anschließender massenspektrometrischer Detektion. Insbesondere für die Trennung der Benzofluoranthene und der Dibenzpyrene erwies sich eine verwendete Kapillarsäule mit einer Phasenzusammensetzung von 50 % Phenyl- und 50 % Dimethyl-Polysiloxan als günstig. Diese stationäre Phase war den häufig für die Analytik der EPA-PAK verwendeten 5 % Phenyl-Phasen eindeutig vorzuziehen. Die Quantifizierung der 16 EFSA-PAK war sowohl mit hochauflösender Massenspektrometrie (HRMS) als auch mit niedrigauflösender Massenspektrometrie (LRMS) möglich. Die entwickelte Fast-GC-Methode ermöglichte eine GC/HRMS-Laufzeit von lediglich 25 min und gewährleistete damit eine drei- bis vier-fache Verkürzung der Analysenzeit bisheriger Methoden. Die Anwendbarkeit dieser Methoden wurde durch Teilnahme an Ringversuchen, Analyse von mit PAK-dotiertem Öl hergestellten Brühwurstkonserven, Analyse von dotierten Gewürzen und dotierten Teeproben bestätigt.

Da es sich bei einigen PAK um genotoxische Kanzerogene handelt, für die kein Schwellenwert zugrunde gelegt werden kann, sollte nach Auffassung des SCF der PAK-Gehalt in Lebensmitteln – und damit u. a. in Fleischerzeugnissen – so weit wie technologisch erreichbar gesenkt werden. PAK-Gehalte in Fleischerzeugnissen zeigten eine Abhängigkeit von der Räucher- und der Räucherzeit.

Untersuchungen von Salamiprüfungen (Median 0,02 µg BaP/kg) und Proben Wiener Würstchen (Median 0,05 µg BaP/kg) ergaben BaP-Gehalte weit unter dem zurzeit gültigen BaP-Höchstgehalt von 5 µg/kg [1881/2006/EG]. Darüber hinaus konnte nachgewiesen werden, dass die PAK kaum in das Innere von Fleischwaren gelangen.

Durch umfassende Ergebnisse zum Gehalt und der Verteilung der PAK in Lebensmittelgruppen, für die es noch keine Höchstwerte gibt, konnte die aktuelle Belastungssituation dieser Lebensmittel sowie deren Eintrag in andere Lebensmittel näher diskutiert werden.

Räuchersalze und Rauchwürstchen wiesen im Median nur geringe Benzo[a]pyren-Gehalte auf. Betrachtet man den mengenmäßigen Anteil dieser Stoffe im fertigen Produkt, so ist der PAK-Eintrag durch die meisten dieser Zutaten in das fertige Fleischerzeugnis relativ gering. Es gab jedoch auch Räuchersalze mit hohen PAK-Gehalten ( $BaP_{max}$  7 µg/kg).

Da Gewürze eine bedeutende Rolle für die Geschmacksgebung von Fleischerzeugnissen spielen, wurde eine definierte Auswahl an Gewürzen hinsichtlich ihrer PAK-Gehalte analysiert. Blattgewürze (0,8 µg BaP/kg) zeigten im Median höhere BaP-Gehalte als nicht-Blattgewürze (0,3 µg BaP/kg). Geht man von einem maximal 1%igen Gewürzzusatz bei Fleischerzeugnissen aus, ist der PAK-Eintrag über diese Gewürze in Fleischerzeugnisse meist gering. Jedoch resultieren aus

dem Median der BaP-Gehalte von geräuchertem Paprikapulver bzw. dem Paprikaextrakt Konzentrationen im Fleischerzeugnis von 0,74 µg BaP/kg bzw. 1,03 µg BaP/kg. Dies ist nicht mehr vernachlässigbar, wenn man berücksichtigt, dass der BaP-Gehalt in deutschen Fleischerzeugnissen im Median unter 0,1 µg/kg [JIRA, 2005] lag.

Neben Gewürzen wurden auch 51 verschiedene Teeproben (Mate-Tee, Schwarztee, Grüner Tee, Weißer Tee und sonstige Tees) auf ihre PAK-Gehalte untersucht. Mate-Tees waren am höchsten mit PAK belastet ( $BaP_{max}$  237 µg/kg). Dies ist auf den Herstellungsprozess zurückzuführen.

Der Übergang von PAK aus Teeblättern in die Aufgüsse von Tee lag unter 5 %.

Untersuchungen von verschiedenen Schokoladenproben erbrachten im Median einen BaP-Gehalt von 0,22 µg/kg. Eine eventuelle Abhängigkeit der BaP-Gehalte vom eingesetzten Anteil der Gesamtkakaotrockenmasse konnte nicht bestätigt werden.

Auf Grund der durchgeführten Analysen liegen ausreichend Daten für die Beurteilung von BaP als Leitsubstanz für die untersuchten Lebensmittel vor. Es konnte eine Abhängigkeit der  $PAK_{ges}$ -Gehalte vom BaP-Gehalt ermittelt werden, welche sich mit zunehmender Konzentration der PAK manifestierte. Diese Abhängigkeiten lassen sich mit folgenden Gleichungen beschreiben und ermöglichen eine Abschätzung der  $PAK_{ges}$ -Gehalte:

Salami (n = 25):	$PAK_{ges} = 0,07 + 18,33 * BaP$	R = 0,97
Wiener Würstchen (n = 23):	$PAK_{ges} = 0,60 + 12,33 * BaP$	R = 0,92
Rauchwürzer und Räuchersalze (n = 32):	$PAK_{ges} = 0,37 + 11,54 * BaP$	R = 0,97
Blattgewürze (n = 29):	$PAK_{ges} = 4,18 + 9,11 * BaP$	R = 0,85
nicht-Blattgewürze (n = 27):	$PAK_{ges} = 2,63 + 13,52 * BaP$	R = 0,93
Tee (n = 51) ohne BcL:	$PAK_{ges} = -1,69 + 9,91 * BaP$	R = 0,99
Schokolade (n = 40)	$PAK_{ges} = 0,88 + 9,77 * BaP$	R = 0,94

Besonders das DIP steht in jüngster Zeit im Fokus des Interesses, da toxikologische Untersuchungen darauf hinweisen, dass DIP ein deutlich stärker ausgeprägtes kanzerogenes Potential aufweisen könnte als BaP. Auch die Gehalte von DIP zeigten eine Abhängigkeit von den BaP-Gehalten (R = 0,47 – 0,97). Die geringen Gehalte der Dibenzpyrene in Lebensmitteln erschwerten jedoch ihre Analytik.

Aus analytischer Sicht eignet sich BaP am besten als Leitsubstanz, da sie chromatographisch mit den heutigen Methoden leicht von anderen möglichen coeluerenden Substanzen abgetrennt werden kann und in Konzentrationen vorkommt, die zuverlässiger quantifiziert werden können als PAK mit höherem Molekulargewicht, die in der Regel in geringeren Konzentrationen auftreten.

Dennoch sollten trotz der Anwendbarkeit von BaP als Leitsubstanz und der Abschätzung des PAK<sub>ges</sub>-Gehaltes mit Hilfe der Konzentration von BaP die Gehalte aller 16 EFSA-PAK in einer Lebensmittelprobe quantifiziert werden, um exakte Ergebnisse der einzelnen PAK-Konzentrationen und der PAK<sub>ges</sub>-Konzentration zu erhalten.

## 7 Materialien

### 7.1 Fleischerzeugnisse

Für die Untersuchungen im Technikum des MRI Kulmbach wurde für alle Versuche gleiches Ausgangsbrät verwendet bestehend aus 30 % Rindfleisch, 30 % Schweinefleisch, 10 % Speck und 30 % Eis. Auf 15 kg der eingesetzten Zutaten wurden zusätzlich 1,6 % Nitritpökelsalz (240 g), 0,2 % Phosphat (30 g) und 0,03 % Ascorbat (4,5 g) verwendet. Daraus wurden dünnkalibrige Brühwürste (Kaliber 22 mm) und Brühwürste mit einem Kaliber von 75 mm hergestellt.

Um weiterhin den Einfluss der Raucherzeugung auf die PAK-Gehalte in Fleischerzeugnissen zu untersuchen, wurden in einer Fleischwarenfabrik, welche zwei unterschiedliche Räucherverfahren benutzt, Proben gezogen. Um Discounterware herzustellen, nutzt diese Firma eine Anlage mit Glimmraucherzeugung. Um weiterhin Markenprodukte herzustellen, wird ein traditionelles Kaminräucherverfahren verwendet. Auf weitere Einzelheiten der Zusammensetzung des Brätes bzw. der Räucherbedingungen wird an dieser Stelle auf Wunsch der Firma verzichtet.

Für die Untersuchung der repräsentativen Proben wurden als Untersuchungsmaterial innerhalb eines deutschlandweiten Qualitätswettbewerbes 25 Salamiprüben und 23 Proben Wiener Würstchen gezogen. Informationen über die jeweilige Herstellung waren nicht bekannt.

#### 7.1.1 Räucherbedingungen

**Tabelle 25: Bedingungen der Heißräucherung (Holz: Buche)**

Art der Raucherzeugung	Räucheranlage	Material	Rauchübertragungstemperatur	Räucherzeit	Fleischerzeugnis (Wiener Würstchen)
Glimmrauch	Durchzug	Sägemehl	60 - 70 °C	60 min	24 Paar
Glimmrauch	Zirkulation	Hackschnitzel	60 - 70 °C	30 min	24 Paar
Dampfrauch	Durchzug	Hackschnitzel	60 - 70 °C	10 min	24 Paar

**Tabelle 26: Prozessparameter der Räuchermethoden**

<b>Glimmrauch mit Durchzug</b>				
Prozess	Zeit [min]	Temperatur [°C]	Feuchte [%]	Rauchintensität
Trocknen	60	45	60	
Heißrauch	60	60	75	85
Brühen	20	75		

**Glimmrauch mit Zirkulation**

Prozess	Zeit [min]	Temperatur [°C]	Feuchte [%]	Rauchintensität
Röten	20	45	60	
Trocknen	25	55		
Räuchern	10	55		75
Räuchern	5	60		85
Evakuieren	10	50		
Räuchern	5	60		75
Räuchern	10	60		85
Evakuieren	10	55		
Brühen	20	75		

**Dampfrauch mit Durchzug**

Prozess	Zeit [min]	Temperatur [°C]	Feuchte [%]	Rauchintensität
Trocknen	30	45	60	
Räuchern	10	70	50	85
Brühen	20	75		

**Tabelle 27: Räuchermethoden für die Herstellung der einzelnen Fleischerzeugnisse der Fachhochschule Lippe und Höxter**

Charge	Rauchart	Kennung	Charge	Rauchart	Kennung
<b>Mettenden</b>			<b>Brühwürste</b>		
I	Maurer Friktion	rot	I	Maurer Friktion	rot
II	Fessmann	gelb	II	Fessmann	gelb
III	Schröter FR RA	grün	III	Maurer FA RA	grün
V	Schröter FR R24	blau	V	Maurer FR R 24	rot-weiß
			VI	Fessmann	blau
<b>Bauch</b>			<b>Kochschinken</b>		
I	Flüssigrauch Enviro 24	blau	II	Fessmann Glimmrauch	gelb
II	Glimmrauch	gelb	III	Maurer FR RA 5100	grün
III	Friktionsrauch	rot	IV	Maurer FR R 24	blau
IV	Flüssigrauch 5100	grün	V	Tauchen FR R 24P	rot-weiß
			VI	Friktionsrauch	grau
Alle Chargen vorgetrocknet (Fessmann Rauchanlage): 1,5 Stunden; schnelle Umluft; 35 - 40 °C					

**Tabelle 28: Prozessparameter für die Herstellung der einzelnen Fleischerzeugnisse der Fachhochschule Lippe und Höxter - Mettenden**

Schritt:	Zeit [min]	Temp. [°C]	Schritt:	Zeit [min]	Temp. [°C]
<b>Charge I rot</b>			<b>Charge III grün</b>		
Röten	60	28	Röten	60	28
Trocknen	90	28	Trocknen	90	28
Räuchern	20	28	Räuchern	24	28
Evakuieren	10	28	Nachlauf	8	28
Fehler: 5 min bei 64 °C, Oberfläche 43 °C			Trocknen	7	28
Kern 36 °C			Räuchern	24	28
Räuchern	20	28	Nachlauf	8	28
Evakuieren	10	28	Trocknen	7	28
Trocknen	20	28	Räuchern	24	28
<b>Charge II gelb</b>			Nachlauf	8	28
Röten	60	28	Trocknen	7	28
Trocknen	90	28	Räuchern	12	28
Räuchern	7	28 - 38	Nachlauf	8	28
Erwärmen	3	28 - 38	Trocknen	22	28
Räuchern	10	28 - 40	<b>Charge V blau</b>		
Trocknen	10	38 - 42*	Röten	60	28
Räuchern	10	34 - 40	Trocknen	75	28
Trocknen	10	34 - 45**	Räuchern	24	28
*Oberflächentemperatur 40 °C			Nachlauf	8	28
**Kerntemperatur 37 °C			Trocknen	75	28
			Räuchern	24	28
			Nachlauf	8	28
			Trocknen	75	28
			Räuchern	24	28
			Nachlauf	8	28
			Trocknen	7	28
			Räuchern	12	28
			Nachlauf	8	28
			Trocknen	22	28

**Tabelle 29: Prozessparameter für die Herstellung der einzelnen Fleischerzeugnisse der Fachhochschule Lippe und Höxter - Bauch**

Schritt:	Zeit [min]	Temp. [°C]	Schritt:	Zeit [min]	Temp. [°C]
<b>Charge I blau</b>			<b>Charge III rot</b>		
Räuchern	30	40	Räuchern	25	36
Nachlauf	8	40	Evakuieren	8	36
Trocknen	20	40	Trocknen	10	36
Programm 2 × abgelaufen			Räuchern	20	36

			Evakuieren	8	36
<b>Charge II gelb</b>			Trocknen	10	36
Räuchern*	20	40	<b>Charge IV grün</b>		
Trocknen	20	40	Räuchern	30	40
Programm 2 × abgelaufen			Nachlauf	8	40
*während des Räucherns Temp. auf 48 °C			Trocknen	20	40
			Programm 2 × abgelaufen		

**Tabelle 30: Prozessparameter für die Herstellung der einzelnen Fleischerzeugnisse der Fachhochschule Lippe und Höxter - Brühwürste**

Schritt:	Zeit [min]	Temp. [°C]	Schritt:	Zeit [min]	Temp. [°C]
<b>Charge I rot</b>			<b>Charge V rot-weiß</b>		
Röten	15	50	Röten	15	50
Trocknen	20	55	Trocknen	10	55
Räuchern	10	58	Räuchern	20	58
Trocknen	5	58	Nachlauf	8	58
Räuchern	7	60	Trocknen	2	58
Trocknen	5	60	Brühen	25	76
Brühen	25	76			
<b>Charge II gelb</b>			<b>Charge VI blau</b>		
Röten	15	50	Röten	15	50
Trocknen	20	55	Trocknen	10	55
Räuchern	10	58	Räuchern	5	58
Trocknen	5	58	Trocknen	2	58
Räuchern	10	60*	Räuchern	5	58
Trocknen	5	60	Trocknen	2	58
Brühen	25	76	Brühen	25	76
*Verpuffung, kein Rauch in der Anlage					
<b>Charge III grün</b>					
Röten	15	50			
Trocknen	15	55			
Räuchern	20	58			
Nachlauf	8	58			
Trocknen	2	58			
Brühen	25	76			

**Tabelle 31: Prozessparameter für die Herstellung der einzelnen Fleischerzeugnisse der Fachhochschule Lippe und Höxter - Kochschinken**

<b>Schritt:</b>	<b>Zeit [min]</b>	<b>Temp. [°C]</b>	<b>Schritt:</b>	<b>Zeit [min]</b>	<b>Temp. [°C]</b>
<b>Charge II gelb</b>			<b>Charge V rot-weiß</b>		
Trocknen	35	30 - 35			
Räuchern	5	35 - 40			
Trocknen	2	35 - 40			
Räuchern	5	35 - 40			
Trocknen	2	35 - 40			
Räuchern	5	35 - 40			
Trocknen	2	35 - 40			
Räuchern	5	35 - 40			
Trocknen	10	35			
Trocknen	35	30 - 35			
Räuchern	5	35 - 40			
<b>Charge III grün</b>			<b>Charge VI grau</b>		
Trocknen	35	40			
Räuchern	30	40			
Nachlauf	8	40			
Trocknen	10	40			
<b>Charge IV blau</b>			(Enviro 24P 33%ige Lösung)		
Trocknen	30	33 - 36	Tauchen	60 s	15
Räuchern	30	30 - 35	Trocknen	30	40
Nachlauf	8	30 - 35			
Trocknen	10	30 - 35			
Räuchern	30	40			
Nachlauf	8	40			
Trocknen	10	35			
wegen schlechter Farbannahme nachgeräuchert					

## 7.2 Räucherdarm

Die Proben Räucherdarm wurden von zwei verschiedenen Firmen zur Verfügung gestellt. Sie wurden mit unterschiedlichen Raucharomen und Methoden imprägniert, über die keine Informationen vorlagen.

## 7.3 Rauchwürzer und Räuchersalze

**Tabelle 32: Bezeichnung, Zutaten und Dosierempfehlung untersuchter Räuchermittel (n = 32)**

Bezeichnung	Zutaten	Dosierung
Raucharoma	Maltodextrin und Mesquitholz-Rauchkondensat	0,05 - 0,3 %
Raucharoma	Maltodextrin und Hickory-Rauchkondensat	0,1 - 0,3 %
Raucharoma	mit Hickory-Holz geräucherte Kombination aus Salz und Maltodextrin	0,1 - 0,3 %
Raucharoma	Maltodextrin, Salz, Grillaroma, modifizierte Lebensmittelstärke, Raucharoma, Tricalciumphosphat	0,5 - 2 %
Räuchersalz	Trockenstärkesirup, Speisesalz, Raucharoma	2 - 6 g/kg
Räuchersalz	natürliches Raucharoma, Trägerstoff Speisesalz	"nach Geschmack zugeben"
Räuchersalz	Salz, Na-Glutamat, Paprika, natürliches Raucharoma	
Räuchersalz	Salz, Kakao, natürliches Aroma, Raucharoma, Trennmittel Kieselsäure	
Rauchsalz	geräuchertes Speisesalz	1 - 4 g/kg
Rauchsalz	Speisesalz, Dextrose, Milchzucker, E 621 Mononatriumglutamat, Schinkenspeckaroma, Trennmittel E 471, Rauch	3 - 5 g/kg
Rauchsalz	Meersalz, E 621, Gewürze, Karamell, Rauchbestandteile	nach Bedarf
Räuchergewürz	"enthält Zutaten wie Gewürze, Kräuter und Wacholder"	
Räuchergewürz	Paprikasalz, Dill, Wacholder, Bohnenkraut, Suppengewürz, Senfmehl, Salz	
Räuchergewürz	Paprika, Dill, Wacholder, Möhren, Bohnenkraut, Porree, Selleriesalz	
Rauchwürz	Speisesalz, Würze, Milchzucker, E 621 Mononatriumglutamat, Rauch	3 - 5 g/kg
Rauchwürze		
Rauchwürzer	Aromatisierte Bestandteile: Raucharoma, Gewürze; andere Bestandteile: Maltodextrin, Dextrose, Speisesalz	2 - 5 g/kg
Rauchwürzer	Siedesalz, Würze, Laktose, Geschmacksverstärker E 621, Rauch	1 - 5 g/kg
Rauchwürzer	Gewürze, Dextrose, Rauch, Aromen	1 - 5 g/kg
Rauchwürzer	Meersalz, Geschmacksverstärker Na-glutamat, Zwiebel, Rauchextrakt, Curry, Pfeffer	

Rauchwürzer	Speisesalz, E 621 0,5 %; E 627 0,5 %; E 631 0,5 %; Milchzucker, Aroma, Hefeextrakt, Gewürze, E 160c, Paprikaextrakt, Rauch	3 g/kg
Rauchwürzer	Dextrose, E 621, Rauchbestandteile	1 - 4 g/kg
Rauchwürzer	Kochsalz, E 621, Laktose, Hefeextrakt, Gewürze, Raucharoma	2 g/kg
Rauchwürzer	Kochsalz, Laktose, Hefeextrakt, Raucharoma	1 - 5 g/kg
Rauchwürzer	E 621, Kochsalz, Laktose, Hefeextrakt, Gewürze, Raucharoma	2 - 4 g/kg
Rauchwürzer	Raucharoma, Gewürze, natürliche und naturidentische Aromastoffe, Speisesalz, Maltodextrin, Dextrose, Stärke, pflanzliches Fett, Trennmittel (E 551)	2 g/kg
Rauchwürzer	Speisesalz, Raucharoma, Trennmittel (E 551)	2 - 3 g/kg
Rauchwürzer	Salz, Karamellzuckersirup, Raucharoma	1 - 3 g/kg
Schwarzräucherwürzpanade	Mehl, Kochsalz, Bluteiweiß, Zucker, Rauch	Panade
Speckwürzmittel	E 621, Rauchextrakt, E 1404, Speiseöl	

#### 7.4 Gewürze

Die Probenauswahl an Gewürzen sowie der Paprikaextrakt wurden von einer Gewürzfirma zur Verfügung gestellt. Bei diesen Mustern handelte es sich um Mischproben von Rückstellproben verschiedener Gewürze unterschiedlicher Herkunft. Für den Test auf Überprüfung der homogenen PAK-Verteilung wurden seitens dieser Firma von den Gewürzen Ingwer und Paprika verschiedene Gebinde auf Containerschiffen beprobt. Von Vertragsbauern der großen Gewürzfirma erfolgte die Probennahme einzelner frischer und bereits getrockneter Gewürze sowie von Gewürzen, die mit unterschiedlichen Trocknungsmethoden getrocknet wurden und an unterschiedlichen Standorten und zu unterschiedlichen Zeitpunkten kultiviert worden waren. Die Auswahlkriterien dieser Proben sind in Tabelle 33 aufgelistet.

Für die Bestimmung des Restwassergehaltes von Gewürzen wurden Pfefferminze (n = 1), Petersilie (n = 1), Majoran (n = 2), Thymian (n = 1) analysiert. Diese waren jeweils entweder gefriergetrocknet bzw. vom Landwirt getrocknet und zusätzlich gefriergetrocknet. Weiterhin wurden weißer Pfeffer (n = 4) (China, Brasilien, Vietnam, Indonesien), Majoran (n = 3) (Peru, Ägypten, Deutschland) und Paprika (-pulver) (n = 3) (Brasilien, Spanien, Ungarn) auf ihre Restwassergehalte untersucht.

Folgende Gewürzproben, die bereits getrocknet vorlagen, wurden auf ihre PAK-Gehalte analysiert: Bärlauch (n = 3), Basilikum (n = 1), Ingwer (n = 4), Kardamom (n = 3), Koriander (n = 4), Kümmel (n = 4), Liebstöckel (n = 1), Macis (n = 4), Majoran (n = 5), Oregano (n = 4), Paprika (-pulver) (n = 4), Petersilie (n = 3), Pfeffer (n = 4), Pfefferminze (n = 2), Schnittlauch (n = 5), Thymian (n = 2), Winterhecke (n = 1), Zitronenmelisse (n = 2).

**Tabelle 33: Auswahlkriterien der Gewürz-Proben für PAK-Untersuchungen zum Einfluss der Trocknung**

Gewürz	Trocknung	Herkunft	Jahr
Pfefferminze	Sonnentrocknung	Standort B	2005
Zitronenmelisse	Sonnentrocknung	Standort B	2005
Pfefferminze	Sonnentrocknung	Standort B	2006
Zitronenmelisse	Sonnentrocknung	Standort B	2006
Petersilie	Siebenbandtrockner	Standort A	2005
Schnittlauch	Siebenbandtrockner	Standort A	2005
Thymian	Siebenbandtrockner	Standort B	2005
Petersilie	Siebenbandtrockner	Standort B	2005
Petersilie	Siebenbandtrockner	Standort B	2006
Liebstockel	Siebenbandtrockner	Standort B	2006
Majoran	Getreidetrocknung	Standort C	2005
Thymian	Getreidetrocknung	Standort C	2006

Die 4 Proben geräuchertes Paprikapulver wurden direkt aus Spanien bezogen.

## 7.5 Tee

Bei der Auswahl der verschiedenen Teesorten wurde sich für folgende Sorten entschieden: Mate-Tee (n = 8), Grüner Tee (n = 11), Schwarztee (n = 21), Weißer Tee (n = 3) und sonstige Tees (n = 8). Dabei wurden sowohl lose Teesorten als auch Tee in Beuteln beprobt. Die sonstigen Tees beinhalteten Früchtetees (Himbeer-Vanille, Heidelbeer-Vanille, Tropic und Wildkirsche), Arzneitees (Blasen- und Nierentee, Magen- und Darmtee) und zwei Kräuterteemischungen. In diesen sonstigen Tees befanden sich unter anderem folgende Zutaten: Apfelstücke, Hibiskus, Brombeerblätter, Zichorienwurzeln, Hagebuttenschalen, Lemongras, Zitronenschalen, Lindenblüten, Erdbeerblätter, Rosenblüten, Ringelblumenblüten, Krauseminze, Gewürznelken, Grüner Tee, Ingwerwurzel, Kardamom, Pfeffer, Kamillenblüten, Pfefferminzblätter, Kümmel, Fenchel, Birkenblätter, Hauhechelwurzel, Schachtelhalmkraut, Riesengoldrutenkraut und Aroma. Einzelne Proben wurden vor der Probenaufarbeitung mit Mörser und Pistill fein zerkleinert.

## 7.6 Schokolade

Es wurden 40 Proben mit verschiedenen Kakaogehalten gezogen. Hierbei war teilweise das Herkunftsland des Kakaos angegeben. Auskunft über die gezogenen Proben gibt Tabelle 34.

**Tabelle 34: Gezogene Schokoladenproben, (n = 40)**

<b>Nr.</b>	<b>Bezeichnung</b>	<b>Kakaoanteil (%)</b>	<b>Herkunft des Kakaos</b>
Schoko001	weiße Schokolade	nur Kakaobutter	
Schoko002	Vollmilch	30	
Schoko003	Zartbitter	52	
Schoko004	Edelbitter	70	
Schoko005	Edelbitter	85	
Schoko006	NOIRISSIME	99	
Schoko007	Edel-Vollmilch	37	Java
Schoko008	Herbe-Vollmilch-Sahne	46	Madagaskar
Schoko009	Edel-Zartbitter	56	Venezuela
Schoko010	Edel-Bitter	60	Amazonas
Schoko011	Extra-Bitter	70	Ecuador
Schoko012	Extra-Bitter	75	Trinidad
Schoko013	Edelbitter	60	
Schoko014	Edelbitter	72	
Schoko015	Edelbitter	85	
Schoko016	Edelbitter	63	
Schoko017	Edelbitter	75	
Schoko018	Edelbitter	85	
Schoko019	keine Angaben	70	
Schoko020	Edelbitter-Extraherb	86	
Schoko021	Edelbitter	60	
Schoko022	Edel-Vollmilch	35	Nouméa
Schoko023	Edel-Vollmilch	37	Java
Schoko024	Edel-Vollmilch	39	Madagaskar
Schoko025	Edel-Vollmilch	43	Puerto Cabello
Schoko026	Supreme Chocolat	33	Java
Schoko027	Supreme Chocolat	37	Costa Rica
Schoko028	Supreme Chocolat	42	Venezuela
Schoko029	Supreme Chocolat	51	Ecuador
Schoko030	Supreme Chocolat	70	Santo Domingo
Schoko031	Supreme Chocolat	84	Ghana
Schoko032	weiße Schokolade	nur Kakaobutter	
Schoko033	weiße Schokolade	nur Kakaobutter	
Schoko034	Edelbitter	77	Ecuador
Schoko035	Edelbitter	78	Papua Neuguinea
Schoko036	Edel Herbe Sahne	45	
Schoko037	Zartbitter	50	
Schoko038	Zartbitter	50	
Schoko039	Halbbitter	50	
Schoko040	Edel-Bitter	60	Amazonas

## 7.7 Chemikalien und Hilfsmittel

**Tabelle 35: Chemikalien**

Chemikalien	Herkunft	Qualität
Bio-Beads SX-3	Bio-Rad Laboratories GmbH, (München, Deutschland)	200 – 400 mesh
Celite 545	Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)	p.A., 0,02 – 0,1 mm
Glaswolle	Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)	
Hydranal Titrant	Sigma-Aldrich Chemie GmbH (München, Deutschland)	
Kaliumhydroxid	Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)	p.A.
Kieselgel 60	Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)	0,062 – 0,2 mm
Natriumsulfat wasserfrei	Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)	p.A.
Poly-(acrylsäure),Natriumsalz-Propf- Poly(ethylenoxid)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Deutschland)	

**Tabelle 36: Lösungsmittel**

Lösungsmittel	Herkunft	Qualität
Cyclohexan	LGC Promochem GmbH (Wesel, Deutschland)	picograde
Essigsäureethylester	LGC Promochem GmbH (Wesel, Deutschland)	picograde
Hydranal Solvent	Sigma-Aldrich Chemie GmbH (München, Deutschland)	
Isooktan	LGC Promochem GmbH (Wesel, Deutschland)	picograde
Methanol	LGC Promochem GmbH (Wesel, Deutschland)	uvasol
Dichlormethan	Riedel-de Haën GmbH (Seelze, Deutschland)	pestanal
Wasser	Hausleitung, MRI Kulmbach	bidestilliert
n-Hexan	LGC Promochem GmbH (Wesel, Deutschland)	picograde
Aceton	LGC Promochem GmbH (Wesel, Deutschland)	picograde

**Tabelle 37: Gase**

Gase	Hersteller	Reinheitsgrad
Helium	Riessner-Gase GmbH & Co KG (Lichtenfels, Deutschland)	5.0
Stickstoff	Riessner-Gase GmbH & Co KG (Lichtenfels, Deutschland)	5.0

Tabelle 38: PAK-Standards

PAK	Reinheit (%)	Konz. der hergestellten Standardlösungen (ng/ml)	Herkunft
BcL	99	10, 100, 500	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
BaA	99	10, 100, 500	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
CHR	99	10, 100, 500	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
CPP	99	10, 100, 500	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
5MC	99	10, 100, 500	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
BbF	99	10, 100, 500	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
BjF	99	10, 100, 500	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
BkF	99	10, 100, 500	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
BaP	99	10, 100, 500	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
IcP	99	10, 100, 500	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
DhA	99	10, 100, 500	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
BgP	99	10, 100, 500	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
DIP	99	10, 100, 500	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
DeP	99	10, 100, 500	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
DiP	99	10, 100, 500	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
DhP	99	10, 100, 500	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
BeP	99	100	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
Per	99	100	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
TP	99	100	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
1MC	99	100	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
2MC	99	100	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
3MC	99	100	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
4MC	99	100	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
6MC	99	100	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
BaF	99	100	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
DcA	99	100	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)
5-F-BcL	< 99	11,44; 114,4	Biochemisches Institut für Umweltcarcinogene Prof. Dr. Gernot Grimmer Stiftung (Großhansdorf, Deutschland)
<sup>13</sup> C <sub>6</sub> -BaA	99	6,05; 60,5	LGC Promochem GmbH (Wesel, Deutschland)
<sup>13</sup> C <sub>6</sub> -CHR	99	6,0; 60,0	LGC Promochem GmbH (Wesel, Deutschland)
d <sub>3</sub> -5MC	98	6,3; 60,3	Cambridge Isotope Laboratories, Inc. (Andover, USA)
<sup>13</sup> C <sub>6</sub> -BbF	99	6,0; 60,0	LGC Promochem GmbH (Wesel, Deutschland)
<sup>13</sup> C <sub>6</sub> -BkF	99	5,95; 59,5	LGC Promochem GmbH (Wesel, Deutschland)
<sup>13</sup> C <sub>4</sub> -BaP	99	6,05; 60,5	LGC Promochem GmbH (Wesel, Deutschland)
d <sub>12</sub> -IcP	98	13,0; 130,0	LGC Promochem GmbH (Wesel, Deutschland)
d <sub>14</sub> -DhA	97	12,5; 125,0	LGC Promochem GmbH (Wesel, Deutschland)
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -BgP	99	6,05; 60,5	LGC Promochem GmbH (Wesel, Deutschland)
13-F-DIP	< 90	16,88; 168,8	Biochemisches Institut für Umweltcarcinogene Prof. Dr. Gernot Grimmer Stiftung (Großhansdorf, Deutschland)
<sup>13</sup> C <sub>6</sub> -DeP	99	6,0; 60,0	LGC Promochem GmbH (Wesel, Deutschland)
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -DiP	99	6,02; 60,2	LGC Promochem GmbH (Wesel, Deutschland)

D <sub>12</sub> -BaA	99	5,6; 56,0	LGC Promochem GmbH (Wesel, Deutschland)
D <sub>12</sub> -BaP	99	5,6; 56,0	LGC Promochem GmbH (Wesel, Deutschland)
D <sub>12</sub> -BgP	99	5,6; 56,0	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Deutschland)

**Tabelle 39: Materialien und Hilfsmittel**

Materialien	Hersteller	Qualität
Glasfaserfilter	Dionex GmbH (Idstein, Deutschland)	19,8 mm
Polyethylenfritten	Alltech GmbH (Unterhaching, Deutschland)	20 µm, für 0,8 ml Reservoir
SPE-Kartuschen	Alltech GmbH (Unterhaching, Deutschland)	8 ml, ID 12 mm
Spritzenfilter PTFE	Alltech GmbH (Unterhaching, Deutschland)	30 mm, Porengröße 1 µm

## 8 Methoden

### 8.1 Probenaufarbeitung zur Bestimmung der PAK

Die zu wählende Probenaufarbeitung war abhängig vom jeweiligen Probenmaterial. Die einzelnen jeweils aufeinander folgenden Schritte können der Abbildung 73 entnommen werden.

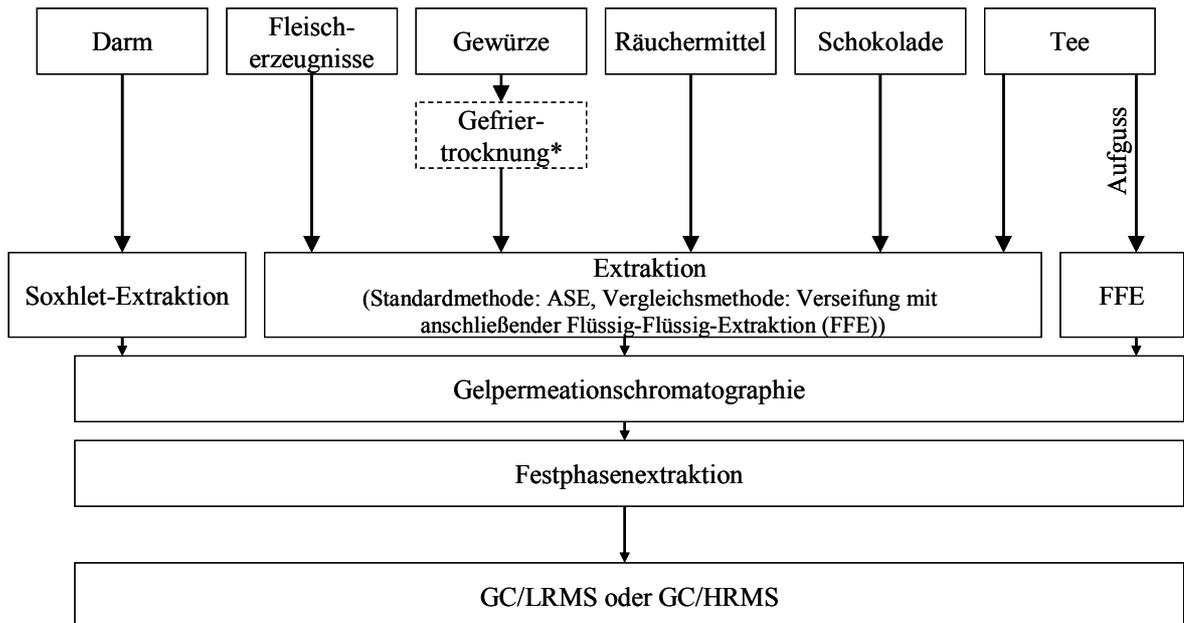


Abbildung 73: Methodenübersicht (\* bei nicht getrockneten Kräutern und Gewürzen)

### 8.2 Einzelne Schritte der Probenvorbereitung

#### 8.2.1 Gefriertrocknung

Die Gefriertrocknung wurde unter anderem bei Blattgewürzen angewendet, die frisch vom Bauern bezogen wurden. Für den Vergleich von PAK-Gehalten in frischem und getrocknetem Material wurden sowohl die frischen als auch die bereits vom Bauern mit Hilfe spezieller Verfahren getrockneten Proben gefriergetrocknet. Damit konnte gewährleistet werden, dass alle Blattgewürze vor der Extraktion einen annähernd gleichen Wassergehalt aufwiesen. Vor der Gefriertrocknung wurden die Proben tiefgefroren. Abhängig vom Wassergehalt und der Probenmenge variierten die Trocknungszeiten. Genutzt wurde eine Gefriertrocknungsanlage der Firma Hof Sonderanlagenbau GmbH (Lohra, Deutschland). Der Trocknungsvorgang startete bei  $-20\text{ °C}$  und  $1,0$  bis  $1,2 \cdot 10^{-1}$  mbar. Im Anschluss wurde die Temperatur langsam auf  $40\text{ °C}$  erhöht. Der Trocknungsvorgang wurde durchgeführt, bis beim Öffnen des Zwischenventils das Vakuum konstant blieb.

### 8.2.2 Zerkleinerung und Homogenisierung des Probenmaterials

Gewürze und Kräuter wurden nach der Gefriertrocknung mit Hilfe eines Büchi Mixers B-400 von Büchi Labortechnik AG (Konstanz, Deutschland) bei einer Drehzahl der Messer von 9000 Umdrehungen pro Minute mehrere Sekunden zerkleinert und gleichzeitig homogenisiert. Auch einige Teeproben mussten vor dem Extraktionsprozess zerkleinert werden. Da das Probenmaterial der verschiedenen Teesorten gering war, wurden diese Proben mit Mörser und Pistill zermahlen. Die Zerkleinerung von Fleischwaren erfolgte mit Hilfe einer Schneidmühle Grindomix GM 200 von Retsch (Haan, Deutschland) bei 4000 Umdrehungen pro Minute. Mit einer Kugelmühle von Retsch (Haan, Deutschland) konnten Natur- und Kunstdärme bei einer Frequenz von 30 Hz gemahlen werden. Schokolade wurde mit einer handelsüblichen Küchenreibe geraspelt.

### 8.2.3 Herstellung von Tee-Aufgüssen

Zur Herstellung von Teeaufgüssen wurden je nach Verzehrsempfehlung der Verpackung 2 Teebeutel Früchtetee (je 3 g) und 4 Teebeutel Mate-Tee (je 2 g) mit 500 ml heißem nicht mehr kochendem Wasser übergossen. Die Ziehzeit betrug stets 6 min.

### 8.2.4 Extraktion

#### 8.2.4.1 Beschleunigte Lösungsmittelextraktion (ASE)

Die homogenisierte Probe wurde mit gleichen Teilen Trockenmaterial (Poly(acrylsäure), Natriumsalz-Propf-Poly(ethylenoxid)) vermischt und in eine 33 ml Zelle (teilweise auch kleinere Zellen), in der sich am Boden ein Glasfaserfilter befindet, übergeführt. Zusätzlich wurden 50 µl Quantifizierungsstandard zugegeben. Dieser Standard beinhaltete fluorierte und isotopenmarkierte Verbindungen (5-Fluorobenzo[c]fluoren, Benzo[a]anthracen-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>, Chrysen-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>, 5-Methylchrysen-d<sub>3</sub>, Benzo[b]fluoranthren-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>, Benzo[k]fluoranthren-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>, Benzo[a]pyren-<sup>13</sup>C<sub>4</sub>, Benzo[g,h,i]perylen-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>, Dibenzo[a,h]anthracen-d<sub>14</sub>, Indeno(1,2,3-cd)pyren-d<sub>12</sub>, Dibenzo[a,e]pyren-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>, Dibenzo[a,i]pyren-<sup>13</sup>C<sub>12</sub> und 13-Fluorodibenzo[a,l]pyren in Isooktan).

Die Extraktion wurde mit einer ASE 200 von Dionex GmbH (Idstein, Deutschland) durchgeführt. Als Extraktionsmittel diente n-Hexan. In der ersten Phase herrschten in der Zelle eine Temperatur von 100 °C und ein Druck von 100 bar. Diese Phase dauerte 10 min. Danach wurden die Zelle und die Leitungen mit 60 % des Volumens der Zelle gespült. Im Anschluss folgte eine zweite statische

Phase mit den gleichen Bedingungen wie in der ersten Phase. Danach wurde erneut mit Lösungsmittel gespült und 120 s mit Stickstoff die Reste ausgeblasen. Die extrahierten Bestandteile wurden in 60 ml Glasgefäßen aufgefangen. Das Lösungsmittel des Extraktes wurde im Stickstoffstrom bei 40 °C im Wasserbad abgeblasen.

Zur Überprüfung der Anwendbarkeit der ASE zur Extraktion von PAK aus Teeproben wurde im Gegensatz zur Standardmethode (ASE-1) zum einen die Anzahl der statischen Phasen von zwei auf vier erhöht (ASE-2) und zum anderen ein Aceton/n-Hexan-Gemisch (1:1, v/v) verwendet (ASE-3). Die später eingesetzte Methode ASE-3 zur Extraktion von PAK aus Tee verwendete als Lösungsmittel ein Aceton/n-Hexan-Gemisch (1:1, v/v) und arbeitete mit zwei statischen Phasen.

#### 8.2.4.2 Ultraschall-Extraktion

Neben der Variation der ASE-Parameter wurde außerdem eine andere Extraktionsmethode zum Test der Anwendbarkeit der ASE zur PAK-Extraktion aus Teeproben überprüft. Hierfür wurden die Proben mit 20 ml Dichlormethan/Aceton (1:1, v/v) im Ultraschallbad extrahiert [LIN und ZHU, 2004]. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel abdekantiert. Dies wurde dreimal wiederholt und die vereinigten Extrakte am Rotationsverdampfer eingengt. Der Rückstand wurde im Stickstoffstrom zur Trockne gebracht und für die weiteren Schritte der Probenaufarbeitung beginnend mit der GPC eingesetzt.

#### 8.2.4.3 Soxhlet-Extraktion

Da Därme nicht mit Hilfe der ASE extrahiert werden konnten, wurde hierfür die Soxhlet-Extraktion genutzt. Das Probenmaterial gemischt mit Trockenmittel wurde in eine Extraktionshülse eingefüllt und anschließend 50 µl des Quantifizierungsstandards zugegeben. Als Extraktionsmittel wurde n-Hexan verwendet. Die Soxhlet-Extraktion umfasste 20 Zyklen.

#### 8.2.4.4 Flüssig-Flüssig-Extraktion (bei Tee-Aufgüssen)

Nach dem Abkühlen der Aufgüsse wurden der Probe 25 ml n-Hexan, 50 µl Standard-Lösung und ein Magnet-Rührfisch zugegeben. Danach erfolgte eine 60 minütige Homogenisation und

Verteilung mit Hilfe eines Magnetrührers. Für diese Extraktion wurde eine braune Laborglasflasche genutzt, welche mit einem Uhrglas abgedeckt wurde. Im Anschluss wurden die Phasen im Scheidetrichter getrennt. Die organische Phase wurde eine Stunde über Natriumsulfat getrocknet und anschließend durch eine Fritte filtriert. Nach Einengen dieser Phase am Rotationsverdampfer und Abblasen mit Stickstoff bis zur Trockne schloss sich die Größenausschlusschromatographie an.

### 8.2.5 Verseifung

Die Verseifung wurde angewendet, um die Vollständigkeit der beschleunigten Lösungsmittelextraktion zu überprüfen. Die erhaltenen Werte dieser unterschiedlichen Schritte in der Probenvorbereitung wurden anschließend miteinander verglichen.

Für die Verseifung von Gewürzen und Tee wurden 1 - 2 g Probe in einem 100 ml Rundkolben mit 50 µl des Quantifizierungsstandards, 25 ml 2 M methanolische KOH (112,2 g KOH in MeOH/H<sub>2</sub>O (9:1, v:v)) und einigen Siedesteinen versetzt. Das Gemisch wurde zum Sieden gebracht und 60 min am Sieden gehalten. Nach dem Abkühlen wurde das Gemisch im Scheidetrichter dreimal mit Cyclohexan ausgeschüttelt und die organische Phase anschließend neutral gewaschen. Die gewaschene Cyclohexanphase wurde über Natriumsulfat/Celit (35:15, w/w) in einen Rundkolben filtriert und im Anschluss am Rotationsverdampfer eingengt und im Stickstoffstrom zur Trockne gebracht. Der Rückstand wurde in 4,5 ml Cyclohexan/Ethylacetat aufgenommen und kann zur Gelpermeationschromatographie eingesetzt werden.

Für die Verseifung von Fleischprodukten (3 - 5 g) wurden 100 ml 2 M methanolische KOH verwendet.

### 8.2.6 Gelpermeationschromatographie (GPC)

Der abgeblasene ASE-Extrakt wurde in 4,5 ml Cyclohexan/Ethylacetat gelöst, durch einen PTFE-Filter filtriert und anschließend die gesamten 4,5 ml auf eine GPC-Säule gegeben. Die GPC-Säule (ID 25 mm) wurde gefüllt mit 60 g Polystyrolgel. Das eingesetzte GPC-System stammt von der Firma Gilson International B.V. (Bad Camberg, Deutschland). Die Proben wurden bei einer Flussrate der mobilen Phase, Cyclohexan/Ethylacetat (50:50 v/v), von 5 ml/min eluiert. Verworfen wurden die ersten 34 Minuten. Die folgenden 30 Minuten wurden gesammelt. Im Anschluss wurde die Probe am Rotationsverdampfer bis auf 1 ml eingengt und dieser Rest dann im Stickstoffstrom getrocknet.

Bei Ölproben wurden 1 g des Öls in 4,5 ml Cyclohexan/Ethylacetat gelöst und ohne Extraktionsschritt auf die GPC gegeben.

### 8.2.7 Festphasenextraktion (SPE)

Der trockene GPC-Rückstand wurde in 1 ml Cyclohexan gelöst und auf eine mit 3 ml Cyclohexan konditionierte Kieselgel-Kartusche (8 ml (1 g)) übergeführt. Das dafür verwendete Kieselgel wurde vorher 12 h bei 550 °C getrocknet und anschließend mit 15 % Wasser desaktiviert [GRIMMER und BÖHNKE, 1975] und über Nacht stehen gelassen. Nach dem Nachspülen mit 1 ml Elutionsmittel wurde die Probe mit 10 ml Cyclohexan eluiert. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das Eluat im Stickstoffstrom getrocknet.

Dieser Reinigungsschritt konnte auch automatisiert durchgeführt werden mit einem modifizierten ASPEC Xli (Automatic. Sample Preparation with Extraction Columns) von Gilson International B.V. (Bad Camberg, Deutschland) [KLEINHENZ et al., 2006]. Dieses System wurde zusätzlich mit Teflon-Schläuchen, Teflon-Trichtern und einem speziellen Rack ausgestattet.

### 8.2.8 Vorbereitung für die GC/MS-Analyse

Das trockne Eluat der Festphasenextraktion wurde in 1 ml Isooktan gelöst und mit 50 µl eines PAK-Wiederfindungsstandards (Benzo[a]anthracen-d<sub>12</sub>, Benzo[a]pyren-d<sub>12</sub> und Benzo[g,h,i]perylen-d<sub>12</sub> in Isooktan) versetzt. Die Probe wurde im Stickstoffstrom auf ca. 50 µl eingeeengt. Blindwerte wurden für jede Probensequenz simultan mitgeführt durch Einsatz von Trockenmittel anstatt von Probenmaterial.

## 8.3 Bestimmung der PAK-Konzentrationen

Die PAK-Konzentrationen wurden aus dem Verhältnis der Fläche des isotoopenmarkierten Standards zum jeweiligen Analyten unter Einbezug der Einwaage berechnet. Für die PAK, bei denen kein isotoopenmarkierter Standard zur Verfügung stand, wurden Responsefaktoren zu einem vergleichbaren isotoopenmarkierten Polyzyklischen Aromatischen Kohlenwasserstoff genutzt. Zusätzlich wurden allgemeine Responsefaktoren verwendet, die aus der Analyse der

Standardlösungen von nativen und isotoopenmarkierten PAK nach jeweils drei Proben resultierten. Im Anschluss wurde der Blindwert abgezogen.

Die benötigten Massen für die GC/MS-Analytik der 16 EFSA-PAK sind den Tabelle 45 bis 47 zu entnehmen.

#### 8.4 Bestimmung des Wassergehaltes von Gewürzen (Karl-Fischer-Titration)

0,5 – 1 g wurden in eine Vorlage aus Hydranal-Solvent gegeben. In dem Titrationsgefäß befand sich eine Doppelplatinelektrode, an der kontinuierlich Strom anlag. Die Titration mit methanolischer Jodlösung (Hydranal Titrant) erfolgte automatisch. Gemessen wurde dabei das Potential zur Aufrechterhaltung des Stromflusses. Lagen zum Titrationsendpunkt Jod und Jodid vor, sank die erforderliche Spannung auf fast Null ab. Diese elektrochemische Indikation diente zur Endpunktserkennung.

#### 8.5 Gaschromatographische und massenspektrometrische Daten

**Tabelle 40: GC/HRMS-Parameter für die Quantifizierung von PAK (ursprüngliche Methode)**

HP 5890 II Gaschromatograph, VG Autospec (Waters, Manchester, UK)	
Säule	ZB-5ms Kapillarsäule (60 m x 0.25 mm x 0,25 µm) von Phenomenex (Aschaffenburg, Deutschland)
Trärgas	Helium 5.0 konst. Druck 25 psi
Injektion	s/sl-Injektor, splitlos (splitlose Zeit 1,5 min)
Injektionsvolumen	1 µl
Injektionstemperatur	280 °C
Temperaturprogramm	80 °C, 1 min isotherm, 20 °C/min auf 100 °C, 8 °C/min auf 130 °C, 5 °C/min auf 320 °C, 10 min isotherm
Transferline	250 °C
Quellentemperatur	250 °C
Ionisation	Elektronenstoßionisation
Elektronenenergie	35 eV
Filamentstrom	3 – 4 A
Auflösung	8000 (10 % Tal)

**Tabelle 41: GC/HRMS-Parameter für die Quantifizierung der 16 EFSA-PAK**

HP 5890 II Gaschromatograph, VG Autospec (Waters, Manchester, UK)	
Säule	VF-17ms Kapillarsäule (60 m x 0.25 mm x 0,25 µm) von Varian Deutschland GmbH (Darmstadt, Germany)
Trägergas	Helium 5.0 konst. Druck 28 psi
Injektion	s/sl-Injektor, splitlos (splitlose Zeit 1,5 min)
Injektionsvolumen	1 µl
Injektionstemperatur	300 °C
Temperaturprogramm	50 °C, 1 min isotherm, 25 °C/min auf 280 °C, 1 °C/min auf 330 °C, 30 min isotherm
Transferline	250 °C
Quellentemperatur	250 °C
Ionisation	Elektronenstoßionisation
Elektronenenergie	35 eV
Filamentstrom	3 – 4 A
Auflösung	8000 (10 % Tal)

**Tabelle 42: GC/LRMS-Parameter für die Quantifizierung der 16 EFSA-PAK**

7890 Gaschromatograph von Agilent Technologies (Waldbronn, Deutschland), 5975 inert Massenselektiver Detektor von Agilent Technologies (Waldbronn, Deutschland)	
Säule	VF-17ms Kapillarsäule (60 m x 0.25 mm x 0,25 µm) von Varian Deutschland GmbH (Darmstadt, Germany)
Trägergas	Helium 5.0 konst. Fluss 1 ml/min
Injektion	s/sl-Injektor, pulsed splitless
Injektionsvolumen	1 µl
Injektionstemperatur	325 °C
Temperaturprogramm	50 °C, 1 min isotherm, 30 °C/min auf 280 °C, 1 °C/min auf 340 °C, 1,5 °C auf 350 °C, 2 min isotherm
Transferline	310 °C
Temperaturzonen MSD	Ionenquelle 300 °C Quadrupol 150 °C
Ionisation	Elektronenstoßionisation
Elektronenenergie	70 eV

**Tabelle 43: Fast-GC/HRMS-Parameter für die Quantifizierung der 16 EFSA-PAK**

HP 5890 II Gaschromatograph, VG Autospec (Waters, Manchester, UK)	
Säule	TR-50MS Kapillarsäule (10 m x 0,1 mm x 0,1 µm) von Thermo Fisher Scientific (Dreieich, Germany)
Trägergas	Helium 5.0 konst. Fluss 0,6 ml/min
Injektion	s/sl-Injektor, splitlos (splitlose Zeit 1,0 min)
Injektionsvolumen	1,5 µl
Injektionstemperatur	320 °C
Temperaturprogramm	140 °C, 1 min isotherm, 10 °C/min auf 240 °C, 5 °C/min auf 270 °C, 30 °C/min auf 280 °C, 4 °C/min auf 290 °C, 30 °C/min auf 315 °C, 3 °C/min auf 330 °C
Transferline	300 °C
Quellentemperatur	280 °C

Ionisation	Elektronenstoßionisation
Elektronenenergie	45 eV
Filamentstrom	3 - 4 A
Auflösung	8000 (10 % Tal)

**Tabelle 44: GC/MS-Parameter für die Trennung von Triphenylen und Chrysen**

7890 Gaschromatograph von Agilent Technologies (Waldbronn, Deutschland), 5975 inert Massenselektiver Detektor von Agilent Technologies (Waldbronn, Deutschland)	
Säule	VF-Xms Kapillarsäule (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm) von Varian Deutschland GmbH (Darmstadt, Germany)
Trägergas	Helium 5.0 konst. Fluss 1ml/min
Injektion	s/sl-Injektor, pulsed splitless
Injektionsvolumen	1 µl
Injektionstemperatur	325 °C
Temperaturprogramm	50 °C, 1 min isotherm, 3,5 °C/min auf 300 °C
Transferline	310 °C
Temperaturzonen MSD	Ionenquelle 300 °C Quadrupol 150 °C
Ionisation	Elektronenstoßionisation
Elektronenenergie	70 eV

**Tabelle 45: Massen für die Quantifizierung von PAK mittels GC/MS**

PAK	Masse unmarkiert [u]	PAK	Masse markiert [u]
BcL	216,0934	5-F-BcL	234,0839
BaA	228,0934	<sup>13</sup> C <sub>6</sub> -BaA	234,1135
CHR	228,0934	<sup>13</sup> C <sub>6</sub> -CHR	234,1135
CPP	226,0777		
5MC	242,1090	d <sub>3</sub> -5MC	245,1278
BbF	252,0934	<sup>13</sup> C <sub>6</sub> -BbF	258,1135
BjF	252,0934		
BkF	252,0934	<sup>13</sup> C <sub>6</sub> -BkF	258,1135
BaP	252,0934	<sup>13</sup> C <sub>4</sub> -BaP	256,1068
IcP	276,0934	d <sub>12</sub> -IcP	288,1687
DhA	278,1090	d <sub>14</sub> -DhA	292,1969
BgP	276,0934	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -BgP	288,1336
DIP	302,1090	13-F-DIP	320,0996
DeP	302,1090	<sup>13</sup> C <sub>6</sub> -DeP	308,1291
DiP	302,1090	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -DiP	314,1493
DhP	302,1090		

Für die GC/LRMS wurden die ganzzahligen markierten und unmarkierten Massen verwendet.

**Tabelle 46: Massen für die PAK-Wiederfindung (GC/MS)**

PAK	Masse markiert [u]
d <sub>12</sub> -BaA	240,1687
d <sub>12</sub> -BaP	264,1687
d <sub>12</sub> -BgP	288,1687

Für die GC/LRMS wurden die ganzzahligen markierten Massen verwendet.

**Tabelle 47: Verhältnis Qualifierion zu Quantifierion**

<b>Verhältnis Qualifierion/Quantifierion (%)</b>		
BcL	108/216	10,0
BaA	114/228	11,0
CHR	113/228	11,5
CPP	113/226	16,7
5MC	215/242	11,9
BbF	126/252	12,5
BkF	125/252	9,5
BjF	125/252	12,6
BaP	126/252	13,2
IcP	138/276	21,7
DhA	139/278	13,8
BgP	138/276	18,7
DIP	150/302	28,8
DeP	150/302	15,0
DiP	150/302	9,7
DhP	150/302	10,3

Das Verhältnis von Qualifierion (Molekülion) zu Quantifierion (Fragmention) dient als Identifizierungsparameter der Analyten bei der niedrig auflösenden Massenspektrometrie. Die Verhältnisse wurden bestimmt mit Hilfe von Standardinjektionen (50 ng/μl).

## 8.6 Formeln der statistischen Auswertung

- s. [KÖHLER et al., 1996 und GOTTWALD, 2000]

### Median

- ungeradzahlige Stichprobenanzahl

$$\text{Median} = \frac{n+1}{2} \text{tes Merkmal}$$

- geradzahlige Stichprobenanzahl

sortierten Zahlenbereich in zwei Hälften teilen, aus dem letzten Wert der ersten Hälfte und dem erstem Wert der zweiten Hälfte das arithmetische Mittel bilden

### Mittelwert (arithmetisches Mittel)

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

### Standardabweichung

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum x_i^2 - n \cdot \bar{x}^2}{n-1}}$$

### Spannweite R

Differenz zwischen dem größten und dem kleinsten Wert einer Datenreihe.

### Prüfung auf Normalverteilung nach David et al. (1954)

$$PG = \frac{R}{s_x}$$

$$uPW < PG < oPW$$

uPW, oPW Signifikanzschranken (P = 90 %)

### Lineare Regression

#### Geradengleichung

$$y = mx + b$$

#### Steigung

$$m = \frac{\sum(x_i \cdot y_i) - \left[ \frac{\sum x_i \cdot \sum y_i}{n} \right]}{\sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n}}$$

#### Ordinatenabschnitt

$$b = \bar{y} - m \cdot \bar{x}$$

### Korrelationskoeffizient

$$R = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2 \cdot \sum(y_i - \bar{y})^2}}$$

n	Anzahl der Wertepaare
i	Laufindex
$x_i$	Messwert des Merkmals $X_1$ am i-ten Individuum
$y_i$	Messwert des Merkmals $X_2$ am i-ten Individuum
$\bar{x}$ (bzw. $\bar{y}$ )	das
$\bar{x}$	Arithmetisches Mittel von $X_1$ (bzw. $X_2$ ) i Laufindex
m	Steigung der Geraden
b	Ordinatenabschnitt der Geraden
$s_x$	Standardabweichung
R	Spannweite
PG	Prüfgröße
uPW	Unterer Prüfwert
oPW	Oberer Prüfwert
R	Korrelationskoeffizient
FG	Freiheitsgrad
IQR	Interquartilabstand

**Prüfung des Korrelationskoeffizienten**

$$t = \frac{|R|}{\sqrt{1-R^2}} \cdot \sqrt{n-2}$$

Wert  $t_{\text{Tabelle}}$  (FG;  $\alpha$ ) aus t-Tabelle  $\alpha$  Signifikanzniveau  
 FG = n-2

Vergleich t und  $t_{\text{Tabelle}}$ :

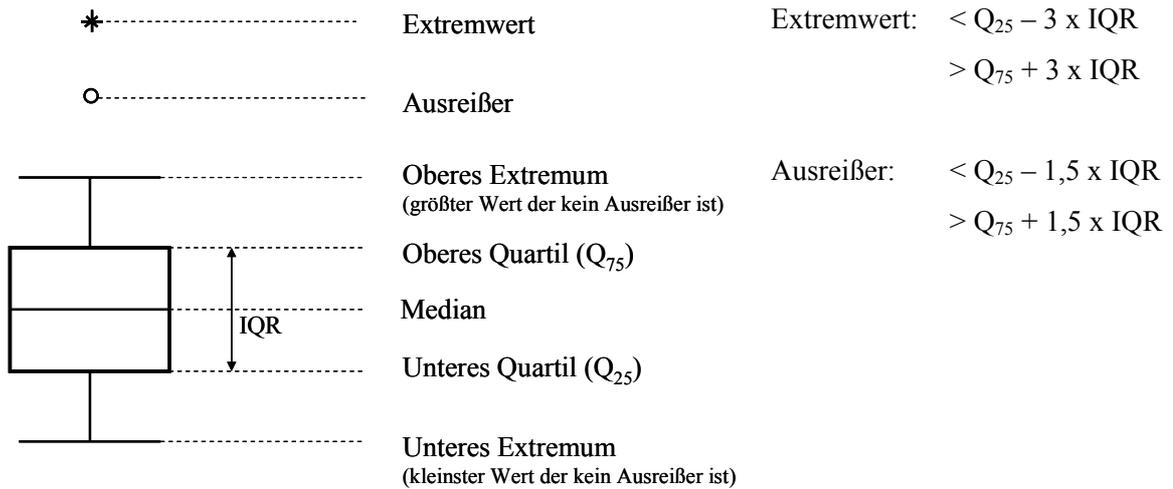
$t \leq t_{\text{Tabelle}} \rightarrow H_0 (\rho = 0)$

$t < t_{\text{Tabelle}} \rightarrow H_1 (\rho \neq 0)$  signifikanter Unterschied

**PAK<sub>ges</sub>** = Summe aller einzelnen PAK

unterhalb des LOQ wird Wert für Bestimmungsgrenze eingerechnet

unterhalb des LOD wird Wert für Nachweisgrenze eingerechnet

**8.6.1 Box-Whisker-Plot-Darstellung**

## 9 Anhang

### Anhang 1: LOD und LOQ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]

	Fleischerzeugnisse Einwaage ca. 5 g						Gewürze, Räuchermittel Einwaage 1 - 2 g			
	LRMS (MSD)		HRMS (VG)		HRMS (DFS)		LRMS (MSD)		HRMS (VG)	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD*	LOQ*	LOD	LOQ	LOD	LOQ
Gruppe 1	0,01	0,03	0,003	0,01	0,001	0,003	0,02	0,06	0,01	0,03
Gruppe 2	0,02	0,06	0,01	0,03	0,003	0,01	0,06	0,18	0,03	0,09

	Tee Einwaage 1 - 2 g				Schokolade Einwaage ca. 3 g	
	HRMS (VG)		HRMS (DFS)		HRMS (VG)	
	LOD	LOQ	LOD**	LOQ**	LOD	LOQ
Gruppe 1	0,01	0,03	0,007	0,02	0,006	0,02
Gruppe 2	0,03	0,09	0,02	0,06	0,02	0,06

Gruppe 1: BcL, BaA, CHR+TP, CPP, 5MC, BbF, BkF, BjF, BaP, BgP

Gruppe 2: IcP, DhA, DIP, DeP, DiP, DhP

\* IcP, DhA, DIP und DeP gehören zu Gruppe 1

\*\* IcP und DhA gehören zu Gruppe 1

**Anhang 2: Daten zu dotierten PAK-Gehalten, Standardabweichungen und Wiederfindungen in Vollkonserven von Brühwurst**

	Brühwurst					Öl	MW (Brühwurst) µg/kg	s (Brühwurst) µg/kg	RSD (%)	Wdf. (%) der PAK in Brühwurst bezogen auf Öl (gemessen), ((MW(Brühwurst) x 4) x 100) / MW(Öl)	Wdf. (%) der PAK in Öl bezogen auf 16 µg/kg, ((MW(Brühwurst) x 4) x 100) / MW(Öl)	Wdf. (%) der PAK in Brühwurst bezogen auf Öl (16 µg/kg), ((MW(Brühwurst) x 4) x 100) / 16
	µg/kg A (n = 2)	µg/kg B (n = 2)	µg/kg C (n = 2)	µg/kg D (n = 2)	µg/kg E (n = 2)	µg/kg (n = 2)						
BcL	3,83	4,38	3,84	3,52	3,30	12,81	3,77	0,41	10,8	118	80	94
BaA	3,24	3,59	3,49	3,36	3,17	12,63	3,37	0,17	5,0	107	79	84
CHR	3,16	3,31	3,22	3,13	2,93	10,97	3,15	0,14	4,4	115	69	79
CPP	3,31	3,53	3,38	3,25	2,97	15,77	3,28	0,21	6,3	83	99	82
5MC	2,52	2,75	2,78	2,70	2,61	11,34	2,67	0,11	3,9	94	71	67
BbF	3,12	3,46	3,24	3,23	2,91	12,01	3,19	0,20	6,2	106	75	80
BkF	2,94	3,23	3,16	3,07	2,82	12,38	3,05	0,16	5,4	98	77	76
BjF	3,29	3,66	3,52	3,42	3,15	15,12	3,41	0,20	5,8	90	95	85
BaP	3,14	3,37	3,26	3,19	2,92	12,87	3,18	0,17	5,3	99	80	79
IcP	3,14	3,40	3,38	3,84	3,03	13,10	3,36	0,31	9,3	103	82	84
DaA	3,25	3,59	3,55	3,05	3,14	14,76	3,32	0,24	7,4	90	92	83
BgP	3,75	3,53	3,50	3,44	3,09	13,29	3,46	0,24	6,8	104	83	87
DlP	3,33	3,65	3,62	3,52	3,21	12,98	3,47	0,19	5,6	107	81	87
DeP	2,93	3,13	3,15	3,09	2,73	13,00	3,01	0,18	5,9	93	81	75
DiP	2,27	2,46	2,44	2,45	2,94	10,29	2,51	0,25	10,1	98	64	63
DhP	0,98	1,02	1,00	0,94	1,19	5,51	1,03	0,10	9,6	75	35	26

**Anhang 3: PAK-Gehalte verschiedener Fleischerzeugnisse nach unterschiedlicher Einwirkung von Rauch bzw. Flüssigrauch**

Produkt	Räucherart	Fett- gehalt (%)	µg/kg															
			BcL	BaA	CHR + TP	CPP	5MC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcP	DhA	BgP	DlP	DeP	DiP	DhP
<u>Mettdenden</u>																		
I ME rot	Maurer Friktion	28,4	<0,01	0,03	0,05	<0,01	<0,003	0,02	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,02	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
II ME gelb	Fessmann Glimmrauch	25,6	0,03	0,06	0,06	0,02	<0,01	0,03	0,01	0,03	0,04	<0,01	<0,01	0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
III ME grün	Schröter FR RA 5100	29,0	<0,01	0,02	0,03	0,01	<0,003	0,03	0,02	0,02	0,01	<0,03	<0,01	0,02	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
V ME blau	Schröter FR R24	25,0	<0,01	0,02	0,03	<0,01	<0,003	0,01	<0,01	<0,01	0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
<u>Kochschinken</u>																		
II KS gelb	Fessmann Glimmrauch	3,2	0,05	0,12	0,11	0,06	0,01	0,06	0,04	<0,003	0,07	0,04	0,02	0,03	<0,01	<0,03	<0,01	<0,01
III KS grün	Maurer FR RA 5100	2,0	<0,01	0,01	<0,01	<0,01	<0,003	<0,01	<0,01	0,06	<0,01	<0,01	<0,01	<0,003	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
IV KS blau	Maurer FR R 24	3,7	<0,01	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,03	<0,01	<0,003	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
V KS rot-weiß	Tauchen FR R 24P	2,1	<0,01	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,01	<0,01	<0,003	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
VI KS grau	Friktionsrauch	2,1	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,01	<0,03	<0,003	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
<u>Bauch</u>																		
I B blau	Flüssigrauch Enviro 24	24,0	0,01	0,02	<0,01	0,02	0,01	<0,01	<0,003	<0,003	<0,01	<0,01	<0,01	<0,003	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
II B gelb	Glimmrauch	18,4	0,04	0,05	0,04	0,03	0,01	0,02	0,01	0,02	0,03	0,01	0,01	<0,003	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
III B rot	Friktionsrauch	20,6	<0,01	<0,01	<0,003	<0,01	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,01	<0,01	<0,003	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
IV B grün	Flüssigrauch 5100	17,7	<0,01	<0,01	<0,003	<0,01	<0,01	<0,003	<0,003	<0,003	<0,01	<0,01	<0,01	<0,003	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
<u>Brühwurst</u>																		
I BW rot	Maurer Friktion	28,0	0,02	0,04	0,12	0,02	0,02	0,05	0,01	0,01	0,02	<0,03	<0,01	0,03	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
II BW gelb	Fessmann Glimmrauch	29,7	0,39	0,26	0,29	0,03	0,02	0,11	0,06	0,07	0,10	0,06	0,04	0,07	0,03	0,05	0,05	0,04
III BW grün	Maurer FR RA 5100	29,6	0,05	0,07	0,16	0,04	0,03	0,06	0,01	0,02	<b>0,03</b>	<0,03	<0,01	0,04	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
V BW rot-weiß	Maurer FR R 24	24,9	0,04	0,05	0,14	0,02	0,03	0,06	0,01	0,01	0,02	<0,03	<0,01	0,03	<0,01	<0,03	<0,01	<0,01
VI BW blau	Fessmann Glimmrauch	28,6	0,48	0,34	0,36	0,27	0,05	0,11	0,04	0,06	0,08	0,03	<0,01	0,05	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

Bei den grau markierten Proben, handelt es sich um Proben, die mit Flüssigrauch besprüht oder in Flüssigrauch getaucht worden sind.

**Anhang 4: PAK-Gehalte in Discounter- und Originalware**

	Original		Discounter	
	$\mu\text{g}/\text{kg}$	%tualer Anteil am PAK <sub>ges</sub> -Gehalt	$\mu\text{g}/\text{kg}$	%tualer Anteil am PAK <sub>ges</sub> -Gehaltl
BcL	0,79 ± 0,15	12,5	0,33 ± 0,03	22,1
BaA	0,99 ± 0,11	15,5	0,34 ± 0,02	22,4
CHR +				
TP	0,98 ± 0,13	15,5	0,31 ± 0,03	20,8
CPP	1,04 ± 0,04	16,8	0,13 ± 0,02	8,7
5MC	0,11 ± 0,03	1,6	0,04 ± 0,00	2,6
BbF	0,44 ± 0,07	6,9	0,08 ± 0,01	5,1
BkF	0,23 ± 0,04	3,6	0,04 ± 0,00	2,5
BjF	0,31 ± 0,06	4,9	0,05 ± 0,01	3,3
<b>BaP</b>	<b>0,59 ± 0,10</b>	<b>9,2</b>	<b>0,09 ± 0,02</b>	<b>5,8</b>
IcP	0,28 ± 0,05	4,3	0,04 ± 0,01	2,4
DhA	0,06 ± 0,01	0,9	< 0,03 ± -	-
BgP	0,27 ± 0,04	4,2	0,04 ± 0,01	2,6
DIP	0,03 ± 0,00	0,4	< 0,01 ± -	-
DeP	0,04 ± 0,01	0,6	< 0,03 ± -	-
DiP	0,03 ± 0,01	0,5	< 0,01 ± -	-
DhP	< 0,03 ± -	-	< 0,01 ± -	-
PAK <sub>ges</sub>	6,19		1,57	

**Anhang 5: PAK-Gehalte von Brühwürsten mit und ohne Saitling und ohne Schäldarm, unterschiedlich lang geräuchert (Glimmrauch mit Zirkulation), [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]**

PAK, Molekülgröße (g/mol)	(1x)		(4x)		(1x)		(4x)	
	mit Saitling	mit Saitling	ohne Saitling	ohne Saitling	ohne Schäldarm	ohne Schäldarm	ohne Schäldarm	ohne Schäldarm
BaA, 228	0,18	0,53	0,05	0,08	0,14	0,24		
CHR + TP, 228	0,17	0,41	0,07	0,09	0,12	0,21		
Bb+jF, 252	0,11	0,16	0,09	0,10	0,08	0,12		
BkF, 252	0,03	0,04	0,03	0,04	0,03	0,04		
<b>BaP, 252</b>	<b>0,06</b>	<b>0,13</b>	<b>0,04</b>	<b>0,04</b>	<b>0,05</b>	<b>0,08</b>		
IcP, 276	0,04	0,04	0,04	0,04	0,02	0,03		
DhA, 278	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02		
BgP, 276	0,06	0,05	0,07	0,08	0,04	0,05		
PAK <sub>ges</sub>	0,67	1,37	0,40	0,48	0,49	0,79		

(1x) 10 min geräuchert

(4x) 40 min geräuchert

**Anhang 6: PAK-Gehalte in Därmen von Brühwurstproben zur Untersuchung der Eindringtiefe (n = 3)**

	Darm Glimmrauch				Darm Dampfrauch			
	MW [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	s [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	RSD [%]	Verhältnis bezogen auf BaP	MW [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	s [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	RSD [%]	Verhältnis bezogen auf BaP
BcL	1,18	0,31	26,0	0,04	0,66	0,05	8,17	0,13
BaA	7,44	1,06	14,2	0,26	3,05	0,25	8,35	0,60
CHR + TP	9,13	1,31	14,3	0,32	5,52	0,47	8,53	1,09
CPP	5,48	0,97	17,8	0,19	2,17	0,28	12,86	0,43
5MC	0,97	0,15	15,7	0,03	0,39	0,07	17,38	0,08
BbF	18,19	1,29	7,1	0,64	4,47	0,23	5,07	0,88
BkF	10,83	0,81	7,5	0,38	2,06	0,11	5,33	0,41
BjF	12,93	1,00	7,8	0,45	2,55	0,14	5,57	0,50
<b>BaP</b>	<b>28,45</b>	<b>0,82</b>	<b>2,9</b>	<b>1,00</b>	<b>5,08</b>	<b>0,35</b>	<b>6,98</b>	<b>1,00</b>
IcP	22,19	0,63	2,9	0,78	2,44	0,18	7,45	0,48
DaA	2,81	0,21	7,6	0,10	0,58	0,07	12,83	0,11
BgP	25,36	0,53	2,1	0,89	3,22	0,21	6,54	0,63
DlP	1,60	0,06	4,0	0,06	0,17	0,02	9,12	0,03
DeP	1,65	0,12	7,4	0,06	0,23	0,02	7,01	0,04
DiP	1,57	0,48	30,7	0,06	0,27	0,02	7,23	0,05
DhP	0,44	0,14	31,1	0,02	0,05	0,00	7,44	0,01

**Anhang 7: PAK-Gehalte in Salami [µg/kg], (n = 25)**

	CHR																PAK <sub>ges</sub>	Fettgehalt [%]
	BcL	BaA	+ TP	CPP	5MC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcP	DhA	BgP	DIP	DeP	DiP	DhP		
1	0,12	0,06	0,11	0,02	0,02	0,04	0,02	0,02	<b>0,03</b>	0,01	<0,003	0,03	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,49	32,7
2	0,76	0,28	0,37	0,04	0,10	0,06	0,02	0,04	<b>0,09</b>	0,02	0,003	0,02	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	1,81	30,8
3	1,43	0,56	0,80	0,01	0,23	0,14	0,05	0,10	<b>0,19</b>	0,04	0,01	0,07	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	3,64	42,2
4	0,11	0,05	0,11	0,05	0,01	0,05	0,02	0,02	<b>0,04</b>	0,03	<0,003	0,12	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,62	28,7
5	0,08	0,04	0,20	0,01	0,01	0,05	0,01	0,01	<b>0,01</b>	0,01	<0,003	0,01	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,45	22,3
6	0,05	0,04	0,06	0,01	<0,001	0,06	0,03	0,03	<b>0,04</b>	0,04	0,01	0,05	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,43	36,3
7	0,07	0,03	0,05	0,03	<0,001	0,04	0,02	0,02	<b>0,02</b>	0,03	<0,003	0,03	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,35	22,1
8	0,05	0,02	0,07	0,02	<0,001	0,05	0,02	0,02	<b>0,01</b>	0,02	<0,003	0,02	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,31	30,0
9	0,12	0,03	0,03	0,01	<0,001	0,02	0,01	0,01	<b>0,01</b>	0,003	<0,001	0,02	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,27	31,9
10	0,09	0,03	0,06	0,11	0,01	0,04	0,02	0,02	<b>0,03</b>	0,03	<0,003	0,10	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,55	34,7
11	0,14	0,05	0,08	0,02	0,01	0,03	0,01	0,02	<b>0,02</b>	0,01	<0,003	0,02	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,42	26,8
12	0,03	0,02	0,05	0,01	<0,003	0,03	0,01	0,01	<b>0,01</b>	0,01	<0,003	0,02	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,21	34,3
13	<0,001	<0,001	<0,003	0,04	<0,001	0,01	0,004	0,003	< <b>0,001</b>	0,004	<0,001	0,01	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,09	28,4
14	0,29	0,03	0,06	0,02	<0,003	0,02	0,01	0,01	<b>0,01</b>	0,01	<0,001	0,02	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,49	40,3
15	0,12	0,07	0,17	0,06	0,004	0,05	0,01	0,01	<b>0,02</b>	0,01	<0,003	0,01	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,55	24,3
16	0,07	0,02	0,04	0,01	<0,001	0,03	0,01	0,01	<b>0,01</b>	0,01	<0,003	0,02	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,24	27,7
17	0,11	0,10	0,18	0,03	0,01	0,07	0,02	0,04	<b>0,03</b>	0,02	<0,003	0,02	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,65	23,6
18	0,05	0,03	0,05	0,05	<0,001	0,03	0,01	0,01	<b>0,03</b>	0,03	<0,003	0,12	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,42	22,7
19	0,67	0,23	0,25	0,06	0,02	0,08	0,03	0,05	<b>0,06</b>	0,02	<0,003	0,02	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	1,50	19,3
20	0,08	0,07	0,07	0,05	0,003	0,03	0,01	0,02	<b>0,03</b>	0,01	<0,001	0,02	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,40	25,8
21	0,16	0,05	0,09	0,08	<0,001	0,02	0,01	0,01	<b>0,01</b>	0,01	<0,001	0,01	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,46	28,9
22	0,03	0,04	0,08	0,04	<0,003	0,04	0,02	0,02	<b>0,04</b>	0,02	0,004	0,09	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,44	23,3
23	0,01	0,03	0,09	0,02	0,004	0,06	0,02	0,02	<b>0,02</b>	0,02	0,005	0,04	0,003	0,01	<0,003	<0,003	0,36	25,4
24	0,03	<0,001	<0,001	0,01	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	< <b>0,001</b>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,06	26,1
25	0,11	0,03	0,09	0,03	0,004	0,05	0,01	0,02	<b>0,01</b>	0,01	<0,003	0,02	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,40	30,6
MW	0,19	0,08	0,13	0,03	0,02	0,04	0,02	0,02	<b>0,03</b>	0,02	<0,003	0,04	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,62	
Median	0,09	0,04	0,08	0,03	<0,003	0,04	0,01	0,02	<b>0,02</b>	0,01	<0,003	0,02	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,37	

**Anhang 8: PAK-Gehalte in Wiener Würstchen [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ], (n = 23)**

	CHR																PAK <sub>ges</sub>	Fettgehalt [%]
	BcL	BaA	+ TP	CPP	5MC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcP	DhA	BgP	DIP	DeP	DiP	DhP		
1	0,49	0,23	0,27	0,03	0,02	0,03	0,01	0,02	<b>0,03</b>	0,01	0,004	0,01	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	1,16	19,5
2	0,47	0,20	0,21	0,08	0,01	0,07	0,03	0,04	<b>0,06</b>	0,03	0,01	0,02	<0,001	<0,003	<0,003	<0,003	1,24	21,6
3	0,55	0,26	0,24	0,15	0,02	0,05	0,02	0,04	<b>0,06</b>	0,02	0,003	0,02	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	1,44	21,1
4	0,14	0,05	0,10	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	<b>0,01</b>	<0,001	<0,001	0,01	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,39	24,3
5	0,01	<0,001	0,02	0,01	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,01	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,07	21,5
6	0,31	0,12	0,20	0,11	0,01	0,05	0,01	0,01	<b>0,02</b>	0,01	0,003	0,02	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,88	22,2
7	0,04	0,02	0,05	0,01	0,003	0,01	0,003	0,01	<b>0,003</b>	<0,001	<0,001	0,01	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,17	28,7
8	0,75	0,33	0,30	0,34	0,02	0,11	0,05	0,08	<b>0,13</b>	0,06	0,01	0,05	0,004	0,01	<0,003	<0,003	2,25	24,3
9	0,45	0,17	0,27	0,02	0,02	0,09	0,02	0,03	<b>0,05</b>	0,03	0,01	0,04	<0,003	0,01	<0,003	<0,003	1,22	34,7
10	0,15	0,06	0,11	0,04	0,02	0,02	0,01	0,01	<b>0,01</b>	<0,001	<0,001	0,004	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,44	23,2
11	0,48	0,14	0,22	0,05	0,01	0,03	0,01	0,01	<b>0,02</b>	0,01	<0,001	0,05	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	1,04	23,5
12	1,11	0,63	0,52	0,41	0,04	0,13	0,06	0,09	<b>0,14</b>	0,04	0,01	0,04	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	3,23	18,3
13	0,05	0,09	0,32	0,03	0,01	0,11	0,01	0,03	<b>0,10</b>	0,01	<0,001	0,02	<0,001	<0,001	<0,003	<0,003	0,79	23,3
14	1,15	0,54	0,63	0,20	0,04	0,15	0,04	0,05	<b>0,10</b>	0,03	0,01	0,03	<0,003	0,01	<0,01	<0,003	3,00	21,2
15	0,35	0,22	0,30	0,09	0,02	0,07	0,02	0,03	<b>0,06</b>	0,02	0,01	0,02	<0,003	0,01	<0,01	<0,003	1,24	15,7
16	0,35	0,25	0,32	0,17	0,02	0,11	0,05	0,07	<b>0,10</b>	0,04	0,01	0,04	<0,003	0,01	<0,01	<0,003	1,56	20,6
17	0,37	0,17	0,25	0,06	0,01	0,04	0,01	0,02	<b>0,03</b>	0,01	<0,001	0,02	<0,003	0,004	<0,003	<0,003	1,00	25,9
18	0,73	0,32	0,32	0,17	0,03	0,09	0,04	0,06	<b>0,09</b>	0,05	0,01	0,05	<0,003	0,01	0,01	<0,003	1,99	28,4
19	0,50	0,18	0,17	0,03	0,01	0,04	0,02	0,02	<b>0,04</b>	0,03	0,003	0,03	<0,001	0,01	<0,01	<0,003	1,10	23,4
20	0,35	0,15	0,30	0,06	0,02	0,09	0,02	0,02	<b>0,04</b>	0,03	0,01	0,03	<0,003	0,01	<0,01	<0,003	1,15	19,4
21	1,13	0,83	0,82	0,83	0,06	0,37	0,17	0,26	<b>0,43</b>	0,20	0,03	0,27	0,01	0,02	0,02	<0,003	5,45	26,1
22	0,22	0,13	0,21	0,04	0,01	0,07	0,02	0,03	<b>0,04</b>	0,03	0,004	0,04	<0,003	0,01	<0,01	<0,003	0,87	19,3
23	0,79	0,34	0,43	0,03	0,02	0,09	0,02	0,03	<b>0,06</b>	0,03	0,01	0,05	<0,003	0,01	<0,01	<0,003	1,93	21,8
MW	0,48	0,24	0,29	0,13	0,02	0,08	0,03	0,04	<b>0,07</b>	0,03	0,01	0,04	<0,003	0,01	<0,01	<0,003	1,46	
Median	0,45	0,18	0,27	0,06	0,02	0,07	0,02	0,03	<b>0,05</b>	0,03	0,004	0,03	<0,003	0,004	<0,003	<0,003	1,16	

**Anhang 9: PAK-Korrelationskoeffizienten in Salami (n = 25)**

	BcL	BaA	CHR + TP	CPP	5MC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcP	DaA	BgP	DIP	DeP	DiP	DhP	PAK <sub>ges</sub>
BcL		<b>0,98</b>	<b>0,94</b>	-0,05	<b>0,93</b>	<b>0,77</b>	<b>0,77</b>	<b>0,90</b>	<b>0,92</b>	0,28	0,39	0,04	-0,12	-0,12			<b>0,98</b>
BaA	<b>0,98</b>		<b>0,97</b>	-0,04	<b>0,95</b>	<b>0,84</b>	<b>0,83</b>	<b>0,95</b>	<b>0,96</b>	0,35	<b>0,48</b>	0,08	-0,09	-0,09			<b>0,99</b>
CHR + TP	<b>0,94</b>	<b>0,97</b>		-0,07	<b>0,95</b>	<b>0,88</b>	<b>0,81</b>	<b>0,92</b>	<b>0,94</b>	0,34	<b>0,53</b>	0,09	-0,05	-0,05			<b>0,98</b>
CPP	-0,05	-0,04	-0,07		-0,14	-0,03	0,01	-0,02	0,02	0,19	-0,21	0,37	-0,13	-0,13			0,00
5MC	<b>0,93</b>	<b>0,95</b>	<b>0,95</b>	-0,14		<b>0,77</b>	<b>0,74</b>	<b>0,88</b>	<b>0,94</b>	0,33	<b>0,50</b>	0,14	-0,06	-0,06			<b>0,95</b>
BbF	<b>0,77</b>	<b>0,84</b>	<b>0,88</b>	-0,03	<b>0,77</b>		<b>0,94</b>	<b>0,92</b>	<b>0,85</b>	<b>0,61</b>	<b>0,78</b>	0,23	0,10	0,10			<b>0,86</b>
BkF	<b>0,77</b>	<b>0,83</b>	<b>0,81</b>	0,01	<b>0,74</b>	<b>0,94</b>		<b>0,95</b>	<b>0,88</b>	<b>0,72</b>	<b>0,77</b>	0,33	0,04	0,04			<b>0,85</b>
BjF	<b>0,90</b>	<b>0,95</b>	<b>0,92</b>	-0,02	<b>0,88</b>	<b>0,92</b>	<b>0,95</b>		<b>0,96</b>	<b>0,55</b>	<b>0,63</b>	0,21	-0,04	-0,04			<b>0,95</b>
BaP	<b>0,92</b>	<b>0,96</b>	<b>0,94</b>	0,02	<b>0,94</b>	<b>0,85</b>	<b>0,88</b>	<b>0,96</b>		<b>0,54</b>	<b>0,60</b>	0,31	-0,07	-0,07			<b>0,97</b>
IcP	0,28	0,35	0,34	0,19	0,33	<b>0,61</b>	<b>0,72</b>	<b>0,55</b>	<b>0,54</b>		<b>0,77</b>	<b>0,73</b>	0,09	0,09			<b>0,41</b>
DaA	0,39	<b>0,48</b>	<b>0,53</b>	-0,21	<b>0,50</b>	<b>0,78</b>	<b>0,77</b>	<b>0,63</b>	<b>0,60</b>	<b>0,77</b>		<b>0,40</b>	0,25	0,25			<b>0,51</b>
BgP	0,04	0,08	0,09	0,37	0,14	0,23	0,33	0,21	0,31	<b>0,73</b>	<b>0,40</b>		0,05	0,05			0,17
DIP	-0,12	-0,09	-0,05	-0,13	-0,06	0,10	0,04	-0,04	-0,07	0,09	0,25	0,05		<b>1,00</b>			-0,08
DeP	-0,12	-0,09	-0,05	-0,13	-0,06	0,10	0,04	-0,04	-0,07	0,09	0,25	0,05	<b>1,00</b>				-0,08
DiP																	
DhP																	
PAK <sub>ges</sub>	<b>0,98</b>	<b>0,99</b>	<b>0,98</b>	0,00	<b>0,95</b>	<b>0,86</b>	<b>0,85</b>	<b>0,95</b>	<b>0,97</b>	<b>0,41</b>	<b>0,51</b>	0,17	-0,08	-0,08			

**Markierte** Korrelationskoeffizienten signifikant für  $p < 0,05$ ;  $n = 25$

**Anhang 10: PAK-Korrelationskoeffizienten in Wiener Würstchen (n = 23)**

	BcL	BaA	CHR + TP	CPP	5MC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcP	DaA	BgP	DIP	DeP	DiP	DhP	PAK <sub>ges</sub>
BcL		<b>0,93</b>	<b>0,86</b>	<b>0,71</b>	<b>0,89</b>	<b>0,69</b>	<b>0,69</b>	<b>0,68</b>	<b>0,66</b>	<b>0,64</b>	<b>0,67</b>	<b>0,58</b>	<b>0,62</b>	<b>0,58</b>	0,29		<b>0,90</b>
BaA	<b>0,93</b>		<b>0,94</b>	<b>0,88</b>	<b>0,97</b>	<b>0,87</b>	<b>0,87</b>	<b>0,87</b>	<b>0,86</b>	<b>0,81</b>	<b>0,83</b>	<b>0,76</b>	<b>0,77</b>	<b>0,67</b>	0,40		<b>0,99</b>
CHR + TP	<b>0,86</b>	<b>0,94</b>		<b>0,79</b>	<b>0,91</b>	<b>0,91</b>	<b>0,83</b>	<b>0,83</b>	<b>0,84</b>	<b>0,78</b>	<b>0,83</b>	<b>0,74</b>	<b>0,80</b>	<b>0,69</b>	<b>0,45</b>		<b>0,95</b>
CPP	<b>0,71</b>	<b>0,88</b>	<b>0,79</b>		<b>0,87</b>	<b>0,90</b>	<b>0,96</b>	<b>0,96</b>	<b>0,95</b>	<b>0,92</b>	<b>0,89</b>	<b>0,88</b>	<b>0,80</b>	<b>0,71</b>	0,38		<b>0,92</b>
5MC	<b>0,89</b>	<b>0,97</b>	<b>0,91</b>	<b>0,87</b>		<b>0,87</b>	<b>0,88</b>	<b>0,87</b>	<b>0,85</b>	<b>0,83</b>	<b>0,85</b>	<b>0,77</b>	<b>0,81</b>	<b>0,73</b>	<b>0,43</b>		<b>0,97</b>
BbF	<b>0,69</b>	<b>0,87</b>	<b>0,91</b>	<b>0,90</b>	<b>0,87</b>		<b>0,96</b>	<b>0,96</b>	<b>0,97</b>	<b>0,94</b>	<b>0,95</b>	<b>0,91</b>	<b>0,88</b>	<b>0,81</b>	<b>0,47</b>		<b>0,93</b>
BkF	<b>0,69</b>	<b>0,87</b>	<b>0,83</b>	<b>0,96</b>	<b>0,88</b>	<b>0,96</b>		<b>1,00</b>	<b>0,99</b>	<b>0,98</b>	<b>0,96</b>	<b>0,95</b>	<b>0,88</b>	<b>0,81</b>	<b>0,45</b>		<b>0,93</b>
BjF	<b>0,68</b>	<b>0,87</b>	<b>0,83</b>	<b>0,96</b>	<b>0,87</b>	<b>0,96</b>	<b>1,00</b>		<b>0,99</b>	<b>0,98</b>	<b>0,95</b>	<b>0,95</b>	<b>0,87</b>	<b>0,80</b>	<b>0,46</b>		<b>0,93</b>
BaP	<b>0,66</b>	<b>0,86</b>	<b>0,84</b>	<b>0,95</b>	<b>0,85</b>	<b>0,97</b>	<b>0,99</b>	<b>0,99</b>		<b>0,97</b>	<b>0,94</b>	<b>0,94</b>	<b>0,84</b>	<b>0,78</b>	<b>0,44</b>		<b>0,92</b>
IcP	<b>0,64</b>	<b>0,81</b>	<b>0,78</b>	<b>0,92</b>	<b>0,83</b>	<b>0,94</b>	<b>0,98</b>	<b>0,98</b>	<b>0,97</b>		<b>0,97</b>	<b>0,98</b>	<b>0,88</b>	<b>0,86</b>	<b>0,50</b>		<b>0,89</b>
DaA	<b>0,67</b>	<b>0,83</b>	<b>0,83</b>	<b>0,89</b>	<b>0,85</b>	<b>0,95</b>	<b>0,96</b>	<b>0,95</b>	<b>0,94</b>	<b>0,97</b>		<b>0,94</b>	<b>0,88</b>	<b>0,87</b>	<b>0,46</b>		<b>0,90</b>
BgP	<b>0,58</b>	<b>0,76</b>	<b>0,74</b>	<b>0,88</b>	<b>0,77</b>	<b>0,91</b>	<b>0,95</b>	<b>0,95</b>	<b>0,94</b>	<b>0,98</b>	<b>0,94</b>		<b>0,85</b>	<b>0,80</b>	<b>0,50</b>		<b>0,84</b>
DIP	<b>0,62</b>	<b>0,77</b>	<b>0,80</b>	<b>0,80</b>	<b>0,81</b>	<b>0,88</b>	<b>0,88</b>	<b>0,87</b>	<b>0,84</b>	<b>0,88</b>	<b>0,88</b>	<b>0,85</b>		<b>0,92</b>	<b>0,65</b>		<b>0,83</b>
DeP	<b>0,58</b>	<b>0,67</b>	<b>0,69</b>	<b>0,71</b>	<b>0,73</b>	<b>0,81</b>	<b>0,81</b>	<b>0,80</b>	<b>0,78</b>	<b>0,86</b>	<b>0,87</b>	<b>0,80</b>	<b>0,92</b>		<b>0,56</b>		<b>0,75</b>
DiP	0,29	0,40	<b>0,45</b>	0,38	<b>0,43</b>	<b>0,47</b>	<b>0,45</b>	<b>0,46</b>	<b>0,44</b>	<b>0,50</b>	<b>0,46</b>	<b>0,50</b>	<b>0,65</b>	<b>0,56</b>			<b>0,43</b>
DhP																	
PAK <sub>ges</sub>	<b>0,90</b>	<b>0,99</b>	<b>0,95</b>	<b>0,92</b>	<b>0,97</b>	<b>0,93</b>	<b>0,93</b>	<b>0,93</b>	<b>0,92</b>	<b>0,89</b>	<b>0,90</b>	<b>0,84</b>	<b>0,83</b>	<b>0,75</b>	<b>0,43</b>		

**Markierte** Korrelationskoeffizienten signifikant für  $p < 0,05$ ;  $n = 23$

**Anhang 11: PAK-Gehalte von Raucharomen, Räuchersalzen und Rauchwürzern (n = 32), [µg/kg] - Teil 1**

Bezeichnung	BcL	BaA	CHR + TP	CPP	SMC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcP	DaA	BgP	DIP	DeP	DiP	DhP	PAK <sub>ges</sub>	MS-System
Raucharoma	0,07	<b>0,06</b>	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	0,03	<b>0,04</b>	<0,09	<0,03	0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	0,62	HRMS
Raucharoma	0,40	<b>0,44</b>	0,41	<0,03	0,04	0,21	0,15	0,24	<b>0,37</b>	0,20	<0,09	0,30	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	3,00	HRMS
Raucharoma	1,16	<b>1,24</b>	1,23	0,08	0,11	0,48	0,29	0,51	<b>0,83</b>	0,41	<0,09	0,70	<0,03	<0,09	<0,03	<0,03	7,31	HRMS
Raucharoma	0,75	<b>0,18</b>	0,38	0,05	<0,03	0,23	0,05	0,13	<b>0,07</b>	<0,09	<0,03	0,08	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	2,19	HRMS
Räuchersalz	<0,01	<b>&lt;0,03</b>	<0,03	<0,01	<0,01	<0,03	<0,01	<0,01	<b>&lt;0,03</b>	<0,03	<0,03	<0,01	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	0,36	HRMS
Räuchersalz	5,85	<b>17,30</b>	17,78	0,19	1,73	5,19	2,17	3,07	<b>6,84</b>	2,18	0,53	1,85	0,20	0,22	0,18	<0,09	65,37	HRMS
Räuchersalz	0,58	<b>1,03</b>	1,02	0,39	0,11	0,22	0,08	0,12	<b>0,32</b>	<0,09	<0,03	0,04	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	4,15	HRMS
Räuchersalz	17,50	<b>19,96</b>	22,00	0,41	<0,02	7,47	3,63	5,95	<b>6,49</b>	3,29	0,43	4,61	0,32	0,53	0,31	<0,06	92,98	MSD
Räuchersalz	<0,01	<b>0,03</b>	0,08	<0,01	<0,01	<0,03	<0,01	<0,01	<b>&lt;0,03</b>	<0,03	<0,03	<0,01	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	0,41	HRMS
Rauchsalz	0,22	<b>0,50</b>	0,50	0,38	0,03	0,14	0,08	0,10	<b>0,22</b>	0,05	<0,03	0,07	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	2,44	HRMS
Rauchsalz	5,76	<b>22,43</b>	27,16	0,21	4,06	5,52	2,16	3,23	<b>7,00</b>	1,89	0,51	1,68	0,23	0,21	0,11	<0,09	82,25	HRMS
Rauchsalz	0,21	<b>0,48</b>	0,62	<0,03	0,06	0,11	0,04	0,08	<b>0,16</b>	0,09	<0,09	<0,03	<0,09	<0,03	<0,03	<0,03	2,18	HRMS
Räuchergewürz	1,16	<b>3,27</b>	6,19	2,39	0,34	2,29	1,04	1,38	<b>0,80</b>	1,02	0,21	1,34	0,12	0,17	0,14	<0,06	21,92	MSD
Räuchergewürz	0,08	<b>0,36</b>	0,62	0,09	<0,06	0,29	0,12	0,18	<b>0,14</b>	<0,18	<0,18	0,14	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	2,68	MSD
Räuchergewürz	0,18	<b>0,56</b>	1,73	0,18	0,09	0,71	0,32	0,44	<b>0,36</b>	0,35	<0,18	0,35	<0,18	<0,18	<0,06	<0,06	5,93	MSD
Rauchwürz	2,78	<b>5,14</b>	6,03	<0,03	1,74	1,25	0,51	0,93	<b>1,51</b>	0,33	0,13	0,38	<0,09	<0,03	<0,03	<0,03	20,94	HRMS

**Anhang 12: PAK-Gehalte von Raucharomen, Räuchersalzen und Rauchwürzern (n = 32), [µg/kg] - Teil 2**

Bezeichnung	BcL	BaA	CHR + TP	CPP	SMC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcP	DaA	BgP	DIP	DeP	DiP	DhP	PAK <sub>ges</sub>	MS-System
Rauchwürze	4,64	<b>7,47</b>	8,72	3,38	2,85	1,95	0,91	1,40	<b>2,30</b>	0,73	0,27	0,91	0,10	0,12	<0,03	<0,03	35,81	VG
Rauchwürzer	<0,06	<b>0,08</b>	0,14	<0,06	<0,06	0,11	<0,06	<0,06	<b>0,08</b>	<0,06	<0,18	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	1,25	MSD
Rauchwürzer	0,97	<b>1,32</b>	1,34	<0,06	1,65	1,23	0,47	0,80	<b>2,00</b>	0,48	0,15	0,53	<0,18	<0,18	<0,18	<0,06	11,60	MSD
Rauchwürzer	2,27	<b>2,78</b>	2,98	0,22	0,67	0,97	0,40	0,68	<b>1,20</b>	0,56	0,13	0,53	<0,09	0,09	<0,09	<0,03	13,69	VG
Rauchwürzer	0,11	<b>0,24</b>	0,42	0,08	0,03	0,21	0,13	0,17	<b>0,14</b>	0,11	<0,03	0,17	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	1,96	VG
Rauchwürzer	0,12	<b>0,44</b>	1,03	0,03	0,13	0,49	0,10	0,19	<b>0,11</b>	<0,09	<0,09	0,10	<0,03	<0,09	<0,03	<0,03	3,10	VG
Rauchwürzer	1,92	<b>2,75</b>	2,33	<0,03	0,25	1,03	0,54	0,73	<b>1,10</b>	0,53	0,16	0,33	<0,03	<0,09	<0,03	<0,03	11,88	VG
Rauchwürzer	0,86	<b>1,09</b>	0,83	<0,03	0,14	0,52	0,22	0,34	<b>0,58</b>	0,27	0,07	0,24	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	5,31	VG
Rauchwürzer	0,89	<b>0,46</b>	0,31	<0,03	0,09	0,03	<0,03	0,05	<b>0,05</b>	<0,09	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	2,21	VG
Rauchwürzer	0,08	<b>0,10</b>	0,29	0,16	<0,03	0,06	0,03	0,04	<b>0,06</b>	<0,09	<0,03	0,47	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	1,56	VG
Rauchwürzer	1,88	<b>4,04</b>	0,06	0,03	0,50	1,19	0,54	0,83	<b>1,67</b>	0,67	0,24	0,87	<0,09	<0,09	<0,03	<0,03	12,76	VG
Rauchwürzer	<0,01	<b>&lt;0,01</b>	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<b>&lt;0,03</b>	<0,03	<0,03	<0,01	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	0,30	VG
Rauchwürzer	0,83	<b>8,03</b>	11,46	0,10	1,26	1,99	0,81	1,33	<b>2,31</b>	0,51	0,18	0,71	0,15	0,11	<0,18	<0,06	30,02	MSD
Rauchwürzer	0,23	<b>0,47</b>	0,46	<0,03	0,07	0,31	0,16	0,25	<b>0,22</b>	0,18	<0,09	0,24	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	2,83	VG
Schwarzräucher- würzpanade	1,96	<b>4,53</b>	4,05	0,30	<0,02	1,71	0,69	1,40	<b>2,63</b>	0,99	0,23	0,79	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	19,54	MSD
Speckwürzmittel	0,15	<b>&lt;0,03</b>	0,05	0,15	0,04	<0,03	<0,03	<0,03	<b>&lt;0,03</b>	0,08	<0,03	0,64	<0,03	<0,09	<0,03	<0,03	1,47	VG

**Anhang 13: PAK-Korrelationskoeffizienten in Räuchermitteln**

	BcL	BaA	CHR + TP	CPP	SMC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcP	DaA	BgP	DlP	DeP	DiP	DhP	PAK <sub>ges</sub>
BcL		<b>0,83</b>	<b>0,79</b>	0,20	0,32	<b>0,90</b>	<b>0,93</b>	<b>0,95</b>	<b>0,81</b>	<b>0,92</b>	<b>0,72</b>	<b>0,95</b>	<b>0,77</b>	<b>0,89</b>	<b>0,75</b>	<b>0,42</b>	<b>0,88</b>
BaA	<b>0,83</b>		<b>0,98</b>	0,18	<b>0,68</b>	<b>0,96</b>	<b>0,94</b>	<b>0,93</b>	<b>0,98</b>	<b>0,92</b>	<b>0,91</b>	<b>0,83</b>	<b>0,82</b>	<b>0,76</b>	<b>0,70</b>	<b>0,70</b>	<b>0,99</b>
CHR + TP	<b>0,79</b>	<b>0,98</b>		0,22	<b>0,70</b>	<b>0,95</b>	<b>0,92</b>	<b>0,91</b>	<b>0,94</b>	<b>0,88</b>	<b>0,88</b>	<b>0,80</b>	<b>0,83</b>	<b>0,75</b>	<b>0,72</b>	<b>0,72</b>	<b>0,98</b>
CPP	0,20	0,18	0,22		<b>0,37</b>	0,22	0,23	0,21	0,13	0,21	0,25	0,24	0,17	0,21	0,11	0,07	0,25
SMC	0,32	<b>0,68</b>	<b>0,70</b>	<b>0,37</b>		<b>0,54</b>	<b>0,48</b>	<b>0,45</b>	<b>0,66</b>	<b>0,43</b>	<b>0,65</b>	0,29	<b>0,52</b>	0,29	0,29	<b>0,50</b>	<b>0,63</b>
BbF	<b>0,90</b>	<b>0,96</b>	<b>0,95</b>	0,22	<b>0,54</b>		<b>0,99</b>	<b>0,99</b>	<b>0,96</b>	<b>0,98</b>	<b>0,91</b>	<b>0,92</b>	<b>0,88</b>	<b>0,88</b>	<b>0,82</b>	<b>0,71</b>	<b>0,99</b>
BkF	<b>0,93</b>	<b>0,94</b>	<b>0,92</b>	0,23	<b>0,48</b>	<b>0,99</b>		<b>1,00</b>	<b>0,93</b>	<b>0,99</b>	<b>0,88</b>	<b>0,95</b>	<b>0,87</b>	<b>0,91</b>	<b>0,83</b>	<b>0,66</b>	<b>0,98</b>
BjF	<b>0,95</b>	<b>0,93</b>	<b>0,91</b>	0,21	<b>0,45</b>	<b>0,99</b>	<b>1,00</b>		<b>0,92</b>	<b>0,99</b>	<b>0,85</b>	<b>0,96</b>	<b>0,87</b>	<b>0,91</b>	<b>0,83</b>	<b>0,63</b>	<b>0,97</b>
BaP	<b>0,81</b>	<b>0,98</b>	<b>0,94</b>	0,13	<b>0,66</b>	<b>0,96</b>	<b>0,93</b>	<b>0,92</b>		<b>0,93</b>	<b>0,93</b>	<b>0,82</b>	<b>0,83</b>	<b>0,77</b>	<b>0,73</b>	<b>0,74</b>	<b>0,97</b>
IcP	<b>0,92</b>	<b>0,92</b>	<b>0,88</b>	0,21	<b>0,43</b>	<b>0,98</b>	<b>0,99</b>	<b>0,99</b>	<b>0,93</b>		<b>0,88</b>	<b>0,95</b>	<b>0,85</b>	<b>0,90</b>	<b>0,81</b>	<b>0,67</b>	<b>0,95</b>
DaA	<b>0,72</b>	<b>0,91</b>	<b>0,88</b>	0,25	<b>0,65</b>	<b>0,91</b>	<b>0,88</b>	<b>0,85</b>	<b>0,93</b>	<b>0,88</b>		<b>0,76</b>	<b>0,83</b>	<b>0,74</b>	<b>0,67</b>	<b>0,82</b>	<b>0,90</b>
BgP	<b>0,95</b>	<b>0,83</b>	<b>0,80</b>	0,24	0,29	<b>0,92</b>	<b>0,95</b>	<b>0,96</b>	<b>0,82</b>	<b>0,95</b>	<b>0,76</b>		<b>0,82</b>	<b>0,94</b>	<b>0,83</b>	<b>0,53</b>	<b>0,89</b>
DlP	<b>0,77</b>	<b>0,82</b>	<b>0,83</b>	0,17	<b>0,52</b>	<b>0,88</b>	<b>0,87</b>	<b>0,87</b>	<b>0,83</b>	<b>0,85</b>	<b>0,83</b>	<b>0,82</b>		<b>0,90</b>	<b>0,88</b>	<b>0,76</b>	<b>0,86</b>
DeP	<b>0,89</b>	<b>0,76</b>	<b>0,75</b>	0,21	0,29	<b>0,88</b>	<b>0,91</b>	<b>0,91</b>	<b>0,77</b>	<b>0,90</b>	<b>0,74</b>	<b>0,94</b>	<b>0,90</b>		<b>0,88</b>	<b>0,60</b>	<b>0,83</b>
DiP	<b>0,75</b>	<b>0,70</b>	<b>0,72</b>	0,11	0,29	<b>0,82</b>	<b>0,83</b>	<b>0,83</b>	<b>0,73</b>	<b>0,81</b>	<b>0,67</b>	<b>0,83</b>	<b>0,88</b>	<b>0,88</b>		<b>0,69</b>	<b>0,77</b>
DhP	<b>0,42</b>	<b>0,70</b>	<b>0,72</b>	0,07	<b>0,50</b>	<b>0,71</b>	<b>0,66</b>	<b>0,63</b>	<b>0,74</b>	<b>0,67</b>	<b>0,82</b>	<b>0,53</b>	<b>0,76</b>	<b>0,60</b>	<b>0,69</b>		<b>0,69</b>
PAK <sub>ges</sub>	<b>0,88</b>	<b>0,99</b>	<b>0,98</b>	0,25	<b>0,63</b>	<b>0,99</b>	<b>0,98</b>	<b>0,97</b>	<b>0,97</b>	<b>0,95</b>	<b>0,90</b>	<b>0,89</b>	<b>0,86</b>	<b>0,83</b>	<b>0,77</b>	<b>0,69</b>	

**Markierte** Korrelationskoeffizienten signifikant für  $p < 0,05$ ;  $n = 32$

**Anhang 14: PAK-Gehalte in Ingwerproben [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ], (n = 14)**

	BcL	BaA	CHR + TP	CPP	5MC	BbF	BkF	BjF	<b>BaP</b>	IcP	DhA	BgP	DIP	DeP	DiP	DhP	PAK <sub>ges</sub>
1	0,79	1,77	2,33	0,76	0,24	0,64	0,34	0,85	<b>0,39</b>	0,18	<0,09	0,21	<0,03	0,09	<0,03	<0,03	8,77
2	0,79	2,32	3,08	0,73	0,25	0,85	0,39	0,46	<b>0,48</b>	0,22	<0,09	0,28	<0,09	0,10	<0,03	<0,03	10,19
3	0,12	0,79	1,59	0,09	0,11	0,64	0,19	0,23	<b>0,27</b>	0,10	<0,03	0,16	<0,03	<0,09	<0,03	<0,03	4,50
4	0,57	2,15	3,00	0,76	0,31	0,96	0,46	0,57	<b>0,59</b>	0,23	<0,03	0,36	<0,03	<0,09	<0,03	<0,03	10,17
5	0,16	0,70	1,41	0,14	0,10	0,62	0,17	0,21	<b>0,23</b>	<0,09	<0,03	0,13	<0,09	<0,09	<0,03	<0,03	4,23
6	1,26	1,69	2,12	0,43	0,10	0,67	0,36	0,45	<b>0,45</b>	0,17	0,09	0,16	0,19	0,17	<0,03	<0,03	8,21
7	1,23	2,53	3,23	1,08	0,37	0,83	0,42	0,55	<b>0,54</b>	0,15	<0,03	0,13	<0,09	<0,09	<0,03	<0,03	11,33
8	0,65	1,67	2,20	0,59	0,25	0,60	0,31	0,38	<b>0,40</b>	0,16	<0,03	0,17	0,09	<0,09	<0,03	<0,03	7,65
9	1,47	2,50	3,41	0,88	0,37	1,00	0,44	0,67	<b>0,63</b>	0,27	<0,09	0,31	<0,03	0,09	<0,03	<0,03	12,22
10	0,20	0,89	2,14	0,16	0,13	0,65	0,17	0,18	<b>0,19</b>	<0,09	<0,09	0,11	<0,03	<0,09	<0,03	<0,03	5,18
11	0,20	1,00	2,21	0,23	0,09	0,88	0,24	0,19	<b>0,25</b>	0,24	<0,09	0,26	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	6,00
12	0,18	0,76	1,52	0,15	0,10	0,60	0,31	0,22	<b>0,25</b>	0,23	0,12	0,27	0,12	0,21	<0,03	<0,03	5,10
13	0,24	0,97	2,16	0,22	0,12	0,87	0,21	0,21	<b>0,24</b>	0,09	<0,03	0,16	<0,03	0,11	<0,03	<0,03	5,72
14	0,22	1,14	2,54	0,25	0,14	1,15	0,28	0,30	<b>0,36</b>	0,17	<0,03	0,28	<0,09	<0,09	<0,03	<0,03	7,10
MW [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	0,58	1,49	2,35	0,46	0,19	0,78	0,31	0,39	<b>0,38</b>	0,17	<0,09	0,22	<0,09	0,10	<0,03	<0,03	7,60
s [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	0,47	0,68	0,63	0,33	0,10	0,18	0,10	0,21	<b>0,14</b>	0,06	0,03	0,08	0,05	0,04	-	-	2,63
RSD (%)	81,16	45,62	26,92	71,30	54,32	22,45	32,70	53,50	<b>38,42</b>	36,10	55,09	36,80	69,44	41,03	-	-	34,58
Median [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	0,41	1,41	2,20	0,34	0,31	0,75	0,31	0,34	<b>0,38</b>	0,17	<0,09	0,21	<0,09	<0,09	<0,03	<0,03	7,38

Datenermittlung erfolgte am VG (MS-System)

Wiederfindung einzelner PAK zwischen 60 - 110 %

**Anhang 15: PAK-Gehalte in Paprikaproben [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ], (n = 20)**

	BcL	BaA	CHR + TP	CPP	5MC	BbF	BkF	BjF	<b>BaP</b>	IcP	DhA	BgP	DIP	DeP	DiP	DhP	PAK <sub>ges</sub>
1	3,40	6,86	9,66	9,52	0,43	6,17	3,13	3,34	<b>5,04</b>	3,02	0,34	2,93	0,06	0,11	0,22	<0,03	54,26
2	2,99	5,88	8,35	8,05	0,40	5,17	2,48	2,70	<b>4,28</b>	3,15	0,31	2,47	0,05	0,13	0,20	<0,03	46,64
3	3,39	6,83	9,77	9,25	0,48	5,97	2,88	3,16	<b>4,97</b>	2,93	0,27	2,71	0,07	0,13	0,25	<0,03	53,09
4	3,14	6,00	8,84	7,58	0,44	5,14	2,33	2,64	<b>4,25</b>	2,68	0,26	2,53	0,05	0,12	0,18	<0,03	46,21
5	2,87	5,21	8,08	6,40	0,41	4,15	1,98	2,28	<b>3,29</b>	1,94	0,29	2,09	0,04	0,11	0,30	<0,03	39,47
6	3,20	5,97	9,39	7,56	0,53	5,51	2,81	3,21	<b>4,84</b>	3,80	0,37	3,16	0,05	0,17	0,30	<0,03	50,90
7	4,01	8,19	11,21	11,62	0,50	7,21	3,49	3,87	<b>6,69</b>	3,91	0,40	3,86	0,06	0,16	0,25	<0,03	65,46
8	3,62	6,41	9,59	7,94	0,39	5,68	2,53	3,02	<b>4,59</b>	2,55	0,33	2,69	0,07	0,14	0,28	<0,03	49,86
9	3,25	7,18	9,30	10,77	0,45	6,18	3,34	3,40	<b>5,77</b>	3,45	0,31	3,45	0,09	0,18	0,27	<0,03	57,42
10	3,47	7,40	9,85	12,58	0,45	6,92	3,42	3,59	<b>6,41</b>	4,13	0,39	3,65	0,07	0,15	0,32	<0,03	62,83
11	3,07	5,84	8,57	7,27	0,39	4,91	2,32	2,54	<b>3,99</b>	2,49	0,24	2,49	0,08	0,13	0,16	<0,03	44,52
12	2,90	5,15	8,16	6,29	0,39	4,57	2,17	2,41	<b>4,23</b>	2,65	0,22	2,39	0,05	0,11	0,10	<0,03	41,82
13	3,42	7,35	10,31	11,26	0,45	6,62	3,36	3,54	<b>5,87</b>	3,78	0,34	3,59	0,06	0,15	0,13	<0,03	60,26
14	3,24	5,97	8,69	7,11	0,44	4,84	2,31	2,54	<b>4,00</b>	2,72	0,24	2,53	0,04	0,13	0,16	<0,03	44,99
15	3,60	7,60	10,75	10,93	0,45	6,60	3,36	3,62	<b>6,09</b>	3,70	0,37	3,50	0,06	0,16	0,20	<0,03	61,02
16	3,11	6,38	8,73	8,60	0,38	5,43	2,74	2,86	<b>4,84</b>	3,11	0,28	2,80	0,07	0,13	0,19	<0,03	49,68
17	4,43	9,66	12,28	15,33	0,58	8,47	4,41	4,35	<b>7,43</b>	4,21	0,47	4,37	0,13	0,22	0,22	<0,03	76,59
18	2,44	4,91	6,77	7,08	0,27	3,91	1,91	1,99	<b>3,40</b>	2,14	0,22	1,98	0,05	0,09	0,09	<0,03	37,28
19	3,52	6,95	9,85	10,25	0,45	5,80	2,77	2,91	<b>5,02</b>	3,43	0,30	2,98	0,06	0,13	0,16	<0,03	54,61
20	2,76	4,87	7,26	6,57	0,33	4,27	2,01	2,13	<b>3,71</b>	2,42	0,23	2,21	0,04	0,11	0,15	<0,03	39,10
MW [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	3,29	6,53	9,27	9,10	0,43	5,68	2,79	3,01	<b>4,94</b>	3,11	0,31	2,92	0,06	0,14	0,21	<0,03	51,80
s [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	0,44	1,19	1,31	2,41	0,07	1,14	0,64	0,64	<b>1,13</b>	0,67	0,07	0,64	0,02	0,03	0,07	-	10,04
RSD (%)	13,38	18,18	14,08	26,44	15,65	20,05	23,05	20,57	<b>22,90</b>	21,45	21,95	21,96	33,19	21,62	32,48	-	19,39
Median [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	3,25	6,40	9,35	8,33	0,44	5,6	2,76	2,97	<b>4,84</b>	3,07	0,31	2,76	0,06	0,13	0,20	<0,03	50,80

Datenermittlung erfolgte am DFS (MS-System), Anwendung der Fast-GC-Methode  
Wiederfindung einzelner PAK zwischen 60 - 107 %

**Anhang 16: PAK-Gehalte in Gewürzen [µg/kg] - Teil 1**

Gewürz	Herkunft	BcL	BaA	CHR +TP	CPP	SMC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcP	DhA	BgP	DIP	DeP	DiP	DhP	PAK <sub>ges</sub>	Gewürz- art	MS- System
Bärlauch	Bosnien	0,69	2,01	9,92	0,30	0,20	3,65	1,18	2,71	<b>1,15</b>	1,98	0,16	1,55	0,15	0,15	0,14	<0,09	26,03	BG	VG
Bärlauch	Ungarn	0,62	3,90	10,68	2,24	0,26	6,20	2,91	4,04	<b>5,80</b>	4,65	0,49	7,70	0,32	0,53	0,19	<0,09	50,62	BG	VG
Bärlauch	Rumänien	1,15	3,13	16,95	0,26	0,35	5,57	2,56	3,51	<b>1,85</b>	2,83	0,47	2,61	0,26	0,29	0,16	<0,03	41,98	BG	VG
Basilikum	Deutschland	0,54	2,08	9,29	0,41	0,34	1,88	1,04	1,79	<b>1,14</b>	0,72	<0,09	0,73	<0,09	<0,09	<0,09	<0,09	20,41	BG	VG
Ingwer	Nigeria	0,14	0,35	0,63	0,17	0,10	0,21	0,12	0,16	<b>0,24</b>	<0,18	<0,18	0,15	<0,18	<0,18	<0,18	<0,06	3,23	n-BG	MSD
Ingwer	China	0,82	5,09	10,56	0,66	2,03	4,97	1,21	1,50	<b>2,46</b>	1,07	0,77	1,91	<0,06	0,38	<0,06	<0,06	33,61	n-BG	MSD
Ingwer	China	0,68	4,55	9,16	0,50	0,15	4,58	1,02	1,27	<b>1,97</b>	0,81	0,63	1,57	<0,06	0,31	<0,06	<0,06	27,38	n-BG	MSD
Ingwer	China	0,65	3,84	8,46	0,56	1,73	3,93	1,05	1,21	<b>1,80</b>	0,81	0,59	1,36	<0,06	0,29	<0,06	<0,06	26,46	n-BG	MSD
Kardamom	Guatemala	0,93	7,93	10,99	10,89	0,50	4,66	2,46	3,39	<b>3,97</b>	1,77	0,29	2,45	0,21	<0,18	<0,18	<0,06	50,86	n-BG	MSD
Kardamom	Guatemala	0,54	4,65	6,65	3,37	0,59	2,59	1,33	1,88	<b>1,98</b>	0,89	<0,18	1,07	<0,18	<0,18	<0,06	<0,06	26,20	n-BG	MSD
Kardamom	Papua Neuguinea	0,62	1,27	9,07	1,66	0,51	0,67	0,29	0,48	<b>0,47</b>	0,29	<0,06	0,53	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	16,16	n-BG	MSD
Koriander	Ägypten	0,10	0,17	1,39	<0,06	0,19	0,22	0,09	0,12	<b>&lt;0,06</b>	<0,18	<0,06	0,12	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	3,00	n-BG	MSD
Koriander	Ägypten	0,10	0,06	0,98	<0,06	<0,06	0,18	<0,06	0,14	<b>&lt;0,06</b>	<0,18	<0,06	0,07	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	2,25	n-BG	MSD
Koriander	Ägypten	<0,06	<0,06	0,85	<0,06	0,10	0,19	<0,06	0,11	<b>&lt;0,06</b>	<0,18	<0,06	0,18	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	2,21	n-BG	MSD
Koriander	Ägypten	0,08	<0,06	0,45	<0,06	<0,02	<0,06	<0,06	<0,06	<b>&lt;0,06</b>	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	1,33	n-BG	MSD
Kümmel	Finnland	<0,02	<0,06	0,08	<0,06	<0,02	<0,06	<0,06	<0,06	<b>&lt;0,06</b>	<0,06	<0,06	<0,02	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	0,86	n-BG	MSD
Kümmel	Finnland	<0,06	<0,06	0,13	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<b>&lt;0,06</b>	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	1,03	n-BG	MSD
Kümmel	Polen	<0,06	0,09	0,28	<0,06	<0,06	0,16	0,09	0,09	<b>0,12</b>	<0,18	<0,06	0,07	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	1,56	n-BG	MSD
Kümmel	Finnland	<0,02	<0,06	<0,06	<0,06	<0,02	0,07	<0,06	<0,06	<b>&lt;0,06</b>	<0,06	<0,06	0,07	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	0,90	n-BG	MSD
Liebstockel	Deutschland	<0,03	0,34	1,20	<0,01	0,12	0,34	0,31	0,34	<b>0,54</b>	0,20	<0,09	0,23	<0,09	0,12	<0,09	<0,03	4,08	BG	VG
Macis	Indonesien	1,11	3,45	3,01	1,23	0,85	1,41	0,80	1,07	<b>0,45</b>	0,66	0,16	0,71	<0,18	<0,18	<0,18	<0,06	15,51	n-BG	MSD
Macis	Grenada	0,08	0,15	0,29	0,07	<0,06	0,12	0,07	0,23	<b>0,33</b>	<0,18	<0,06	0,09	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	1,97	n-BG	MSD
Macis	Grenada	0,26	0,23	0,61	0,07	0,13	0,15	0,08	0,29	<b>&lt;0,06</b>	<0,18	<0,06	0,10	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	2,46	n-BG	MSD
Macis	Indonesien	1,10	0,56	1,10	0,72	0,80	1,36	0,78	1,10	<b>0,70</b>	0,79	0,18	0,81	<0,18	<0,18	<0,18	<0,06	10,60	n-BG	MSD
Majoran	Deutschland	0,83	1,85	4,38	0,17	0,40	0,20	1,43	2,16	<b>1,87</b>	1,81	0,59	2,53	0,19	0,52	0,13	<0,03	19,09	BG	VG
Majoran	Deutschland	0,11	0,92	2,16	0,13	0,12	1,63	0,95	0,85	<b>1,20</b>	1,26	0,35	1,59	0,11	0,33	0,11	<0,03	11,85	BG	VG
Majoran	Deutschland	0,10	0,69	1,60	0,09	0,13	1,48	0,86	0,87	<b>1,11</b>	1,31	0,43	1,98	0,18	0,39	0,14	<0,03	11,39	BG	VG
Majoran	Deutschland	0,21	0,77	1,84	0,38	0,15	1,41	0,80	0,90	<b>1,07</b>	1,26	0,34	1,95	0,15	0,33	0,66	<0,03	12,25	BG	VG
Majoran	Deutschland	<0,03	0,28	0,71	<0,01	0,05	0,64	0,26	0,32	<b>0,36</b>	0,19	<0,09	0,19	<0,09	0,12	<0,09	<0,03	3,46	BG	VG

BG Blattgewürz, n-BG nicht-Blattgewürz

### Anhang 17: PAK-Gehalte in Gewürzen [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ] - Teil 2

Gewürz	Herkunft	BcL	BaA	CHR + TP	CPP	5MC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcP	DhA	BgP	DIP	DeP	DiP	DhP	PAK <sub>ges</sub>	Gewürz- art	MS- System
Oregano	Deutschland	0,64	1,79	5,83	0,25	0,25	1,46	0,64	0,88	<b>0,82</b>	0,51	0,12	0,78	<0,09	0,12	<0,03	<0,03	14,24	BG	VG
Oregano	Deutschland	0,71	1,27	5,80	0,24	0,31	1,49	0,58	0,75	<b>0,68</b>	0,56	0,14	0,88	<0,09	0,13	<0,09	<0,03	13,75	BG	VG
Oregano	Deutschland	0,61	1,87	5,17	0,24	0,22	1,53	0,70	0,90	<b>0,92</b>	0,61	0,09	0,84	<0,09	0,11	<0,09	<0,03	14,02	BG	VG
Oregano	Deutschland	0,69	1,33	5,86	0,19	0,30	1,40	0,57	0,73	<b>0,69</b>	0,59	0,14	0,84	<0,09	0,12	<0,09	<0,03	13,66	BG	VG
Paprika (-pulver)	Ungarn	0,37	0,66	2,19	0,33	0,16	0,77	0,41	0,58	<b>0,48</b>	0,48	0,14	0,74	<0,09	0,19	<0,03	<0,03	7,65	n-BG	VG
Paprika (-pulver)	Israel	0,12	0,16	0,90	0,06	0,04	0,23	0,12	0,19	<b>0,08</b>	<0,09	<0,03	0,12	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	2,26	n-BG	VG
Paprika (-pulver)	Brasilien	3,32	6,09	10,34	<0,03	0,57	3,06	1,40	1,75	<b>1,68</b>	1,08	0,38	1,71	0,16	0,43	<0,03	<0,03	32,06	n-BG	VG
Paprika (-pulver)	Spanien	0,35	0,71	1,94	0,32	0,22	0,64	0,30	0,40	<b>0,33</b>	0,25	<0,03	0,47	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	6,08	n-BG	VG
Petersilie	Deutschland	0,09	0,17	0,42	<0,03	0,03	0,27	0,16	0,18	<b>0,16</b>	0,15	<0,03	0,19	<0,03	<0,09	<0,03	<0,03	2,06	BG	VG
Petersilie	Deutschland	<0,03	0,32	0,99	<0,03	0,11	0,74	0,25	0,30	<b>0,43</b>	0,15	<0,09	0,23	<0,03	0,10	<0,09	<0,03	3,92	BG	VG
Petersilie	Deutschland	0,09	0,49	0,87	0,05	0,06	0,52	0,19	0,18	<b>0,29</b>	0,21	0,09	0,19	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	3,35	BG	VG
Pfeffer	Malaysia	<0,06	0,42	0,82	0,15	0,06	0,39	0,19	0,50	<b>0,20</b>	<0,18	<0,06	0,24	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	3,51	n-BG	MSD
Pfeffer	Vietnam	1,14	3,11	13,34	0,84	0,48	4,73	2,78	8,84	<b>1,16</b>	0,60	<0,06	0,35	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	37,67	n-BG	MSD
Pfeffer	Indonesien	0,12	2,62	5,00	0,31	0,29	2,47	1,32	5,55	<b>0,81</b>	0,59	<0,18	0,36	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	19,86	n-BG	MSD
Pfeffer	Brasilien	0,22	1,64	1,92	0,54	0,22	0,79	0,32	1,14	<b>0,58</b>	0,33	<0,18	0,29	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	8,41	n-BG	MSD
Pfefferminze	Deutschland	0,14	0,60	1,58	0,06	0,09	0,96	0,41	0,44	<b>0,61</b>	0,63	0,10	0,71	<0,09	0,10	<0,09	<0,09	6,70	BG	VG
Pfefferminze	Deutschland	0,20	1,08	1,71	0,11	0,08	0,88	0,39	0,37	<b>0,48</b>	0,43	0,20	0,41	<0,09	0,17	0,11	<0,09	6,80	BG	VG
Schnittlauch	Deutschland	<0,03	0,07	0,39	<0,03	<0,03	0,07	0,03	0,04	<b>&lt;0,03</b>	<0,06	<0,18	<0,03	0,03	0,03	0,09	0,09	1,23	BG	VG
Schnittlauch	China	0,57	1,83	7,33	0,24	0,66	2,24	1,04	1,68	<b>0,95</b>	0,85	0,22	0,76	<0,06	<0,18	<0,06	<0,06	18,73	BG	MSD
Schnittlauch	Peru	0,35	0,87	5,76	0,17	0,22	0,95	0,51	0,93	<b>0,27</b>	0,45	<0,18	0,36	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	11,26	BG	MSD
Schnittlauch	China	0,81	2,26	9,22	0,37	0,99	2,37	1,03	1,68	<b>1,30</b>	0,90	0,29	0,86	<0,06	<0,18	<0,06	<0,06	22,44	BG	MSD
Schnittlauch	Peru	0,22	0,42	2,53	0,12	0,10	<0,06	0,30	0,57	<b>0,12</b>	<0,18	<0,06	0,12	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	5,04	BG	MSD
Thymian	Deutschland	0,12	0,99	2,50	0,08	0,12	2,04	0,86	0,97	<b>1,60</b>	1,50	0,29	1,56	0,12	0,32	0,28	<0,09	13,44	BG	VG
Thymian	Deutschland	0,17	1,73	3,60	0,12	0,12	2,44	1,15	1,17	<b>1,53</b>	1,19	0,25	1,22	<0,03	0,10	0,18	<0,03	15,03	BG	VG
Winterhecke	Deutschland	0,10	0,37	1,27	0,14	0,14	0,50	0,27	0,35	<b>0,37</b>	0,32	<0,18	0,51	<0,06	<0,18	<0,06	<0,06	4,88	BG	MSD
Zitronenmelisse	Deutschland	0,08	0,44	0,77	0,03	0,09	0,53	0,33	0,33	<b>0,46</b>	0,33	<0,09	0,44	<0,09	<0,09	<0,09	<0,09	4,28	BG	VG
Zitronenmelisse	Deutschland	0,03	0,56	1,28	<0,01	0,11	1,25	0,49	0,51	<b>0,90</b>	0,42	0,13	0,42	<0,09	0,18	0,12	<0,03	6,53	BG	VG

BG Blattgewürz, n-BG nicht-Blattgewürz

### Anhang 18: PAK-Gehalte in Gewürzen [µg/kg] - Teil 3

Gewürz	Herkunft	BcL	BaA	CHR + TP	CPP	SMC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcP	DhA	BgP	DIP	DeP	DiP	DhP	PAK <sub>ges</sub>	Gewürz- art	MS- System
Paprikaextrakt	Spanien	14,76	177,33	447,28	410,91	7,19	102,25	57,77	78,89	<b>103,37</b>	35,51	2,01	55,71	2,21	3,15	3,14	0,59	1502,06	n-BG	MSD
geräuchertes Paprikapulver	Spanien	208,13	294,18	329,99	2,43	27,06	95,07	39,41	58,69	<b>66,00</b>	25,61	8,09	31,67	2,30	4,14	1,72	0,34	1194,83	n-BG	VG
geräuchertes Paprikapulver	Spanien	142,79	263,95	284,69	2,67	31,09	115,60	48,48	71,03	<b>81,44</b>	29,77	9,98	35,22	2,95	4,39	1,74	0,15	1125,94	n-BG	VG
geräuchertes Paprikapulver	Spanien	9,91	225,63	512,39	409,77	39,43	104,52	53,60	80,43	<b>104,03</b>	30,04	5,64	32,13	2,34	2,81	2,72	0,54	1615,92	n-BG	MSD
geräuchertes Paprikapulver	Spanien	11,26	118,53	17,61	135,85	34,57	67,26	34,43	48,25	<b>64,77</b>	21,36	5,75	22,12	2,02	3,18	2,57	0,51	590,05	n-BG	MSD
<b>BG</b>																				
Median [µg/kg]		0,20	0,92	2,50	0,13	0,13	1,40	0,58	0,85	<b>0,82</b>	0,59	0,16	0,76	<0,09	0,12	<0,09	<0,03	11,85		
Mittelwert [µg/kg]		0,34	1,19	4,19	0,22	0,21	1,54	0,77	1,05	<b>0,99</b>	0,91	0,21	1,12	0,10	0,18	0,12	<0,06	13,19		
± s [µg/kg]		0,32	0,93	3,99	0,41	0,20	1,46	0,65	0,99	<b>1,05</b>	0,97	0,14	1,45	0,07	0,13	0,12	-	11,31		
Min [µg/kg]		<0,03	0,07	0,39	<0,01	<0,03	<0,06	<0,06	0,04	<b>&lt;0,03</b>	<0,06	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	1,23		
Max [µg/kg]		1,15	3,9	16,95	2,24	0,99	6,2	2,91	4,04	<b>5,8</b>	4,65	0,59	7,7	0,32	0,53	0,66	0,09	50,62		
<b>n-BG*</b>																				
Median [µg/kg]*		0,22	0,56	1,39	0,17	0,16	0,64	0,29	0,48	<b>0,33</b>	0,25	<0,06	0,29	<0,06	<0,06	<0,06	<0,06	6,08		
Mittelwert [µg/kg]*		0,49	1,78	3,75	0,85	0,37	1,43	0,61	1,19	<b>0,75</b>	0,45	0,17	0,58	<0,09	0,13	<0,09	<0,06	12,78		
± s [µg/kg]*		0,68	2,25	4,27	2,13	0,5	1,73	0,75	1,95	<b>0,97</b>	0,42	0,2	0,67	-	0,11	-	-	14,04		
Min [µg/kg]*		<0,02	<0,06	<0,06	<0,03	<0,02	<0,06	<0,06	<0,06	<b>&lt;0,06</b>	<0,06	<0,03	<0,02	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	0,86		
Max [µg/kg]*		3,32	7,93	13,34	10,89	2,03	4,97	2,78	8,84	<b>3,98</b>	1,77	0,77	2,45	0,21	0,43	0,18	<0,06	50,86		

BG Blattgewürz, n-BG nicht-Blattgewürz

\* ohne Paprikaextrakt und geräuchertes Paprikapulver

**Anhang 19: PAK-Korrelationskoeffizienten in Blattgewürzen (BG)**

	BcL	BaA	CHR + TP	CPP	SMC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcP	DaA	BgP	DIP	DeP	DiP	DhP	PAK <sub>ges</sub>
BcL		<b>0,82</b>	<b>0,89</b>	<b>0,37</b>	<b>0,70</b>	<b>0,60</b>	<b>0,67</b>	<b>0,75</b>	<b>0,41</b>	<b>0,52</b>	<b>0,41</b>	<b>0,40</b>	<b>0,49</b>	0,29	-0,03	-0,05	<b>0,76</b>
BaA	<b>0,82</b>		<b>0,89</b>	<b>0,72</b>	<b>0,58</b>	<b>0,87</b>	<b>0,91</b>	<b>0,92</b>	<b>0,79</b>	<b>0,81</b>	<b>0,55</b>	<b>0,74</b>	<b>0,68</b>	<b>0,49</b>	0,10	0,14	<b>0,96</b>
CHR + TP	<b>0,89</b>	<b>0,89</b>		<b>0,50</b>	<b>0,62</b>	<b>0,83</b>	<b>0,80</b>	<b>0,88</b>	<b>0,53</b>	<b>0,66</b>	<b>0,40</b>	<b>0,50</b>	<b>0,57</b>	0,27	0,00	0,12	<b>0,89</b>
CPP	<b>0,37</b>	<b>0,72</b>	<b>0,50</b>		0,24	<b>0,71</b>	<b>0,73</b>	<b>0,71</b>	<b>0,91</b>	<b>0,80</b>	<b>0,44</b>	<b>0,90</b>	<b>0,67</b>	<b>0,54</b>	0,21	0,28	<b>0,77</b>
SMC	<b>0,70</b>	<b>0,58</b>	<b>0,62</b>	<b>0,24</b>		0,35	<b>0,41</b>	<b>0,48</b>	0,26	0,24	0,32	0,17	0,13	0,20	-0,09	0,02	<b>0,50</b>
BbF	<b>0,60</b>	<b>0,87</b>	<b>0,83</b>	<b>0,71</b>	0,35		<b>0,91</b>	<b>0,89</b>	<b>0,80</b>	<b>0,88</b>	<b>0,52</b>	<b>0,77</b>	<b>0,73</b>	<b>0,48</b>	0,23	0,17	<b>0,94</b>
BkF	<b>0,67</b>	<b>0,91</b>	<b>0,80</b>	<b>0,73</b>	<b>0,41</b>	<b>0,91</b>		<b>0,96</b>	<b>0,88</b>	<b>0,95</b>	<b>0,75</b>	<b>0,87</b>	<b>0,85</b>	<b>0,70</b>	0,26	0,09	<b>0,97</b>
BjF	<b>0,75</b>	<b>0,92</b>	<b>0,88</b>	<b>0,71</b>	<b>0,48</b>	<b>0,89</b>	<b>0,96</b>		<b>0,81</b>	<b>0,91</b>	<b>0,66</b>	<b>0,80</b>	<b>0,80</b>	<b>0,61</b>	0,19	0,19	<b>0,98</b>
BaP	<b>0,41</b>	<b>0,79</b>	<b>0,53</b>	<b>0,91</b>	0,26	<b>0,80</b>	<b>0,88</b>	<b>0,81</b>		<b>0,93</b>	<b>0,67</b>	<b>0,97</b>	<b>0,80</b>	<b>0,75</b>	0,28	0,18	<b>0,85</b>
IcP	<b>0,52</b>	<b>0,81</b>	<b>0,66</b>	<b>0,80</b>	0,24	<b>0,88</b>	<b>0,95</b>	<b>0,91</b>	<b>0,93</b>		<b>0,76</b>	<b>0,95</b>	<b>0,90</b>	<b>0,78</b>	0,36	0,18	<b>0,92</b>
DaA	<b>0,41</b>	<b>0,55</b>	<b>0,40</b>	<b>0,44</b>	0,32	<b>0,52</b>	<b>0,75</b>	<b>0,66</b>	<b>0,67</b>	<b>0,76</b>		<b>0,73</b>	<b>0,75</b>	<b>0,90</b>	<b>0,41</b>	-0,05	<b>0,64</b>
BgP	<b>0,40</b>	<b>0,74</b>	<b>0,50</b>	<b>0,90</b>	0,17	<b>0,77</b>	<b>0,87</b>	<b>0,80</b>	<b>0,97</b>	<b>0,95</b>	<b>0,73</b>		<b>0,87</b>	<b>0,80</b>	0,35	0,15	<b>0,83</b>
DIP	<b>0,49</b>	<b>0,68</b>	<b>0,57</b>	<b>0,67</b>	0,13	<b>0,73</b>	<b>0,85</b>	<b>0,80</b>	<b>0,80</b>	<b>0,90</b>	<b>0,75</b>	<b>0,87</b>		<b>0,82</b>	<b>0,39</b>	0,09	<b>0,80</b>
DeP	0,29	<b>0,49</b>	0,27	<b>0,54</b>	0,20	<b>0,48</b>	<b>0,70</b>	<b>0,61</b>	<b>0,75</b>	<b>0,78</b>	<b>0,90</b>	<b>0,80</b>	<b>0,82</b>		<b>0,46</b>	-0,05	<b>0,59</b>
DiP	-0,03	0,10	0,00	0,21	-0,09	0,23	0,26	0,19	0,28	0,36	<b>0,41</b>	0,35	<b>0,39</b>	<b>0,46</b>		-0,02	0,20
DhP	-0,05	0,14	0,12	0,28	0,02	0,17	0,09	0,19	0,18	0,18	-0,05	0,15	0,09	-0,05	-0,02		0,16
PAK <sub>ges</sub>	<b>0,76</b>	<b>0,96</b>	<b>0,89</b>	<b>0,77</b>	<b>0,50</b>	<b>0,94</b>	<b>0,97</b>	<b>0,98</b>	<b>0,85</b>	<b>0,92</b>	<b>0,64</b>	<b>0,83</b>	<b>0,80</b>	<b>0,59</b>	0,20	0,16	

**Markierte** Korrelationskoeffizienten signifikant für  $p < 0,05$ ;  $n = 29$

**Anhang 20: PAK-Korrelationskoeffizienten in nicht-Blattgewürzen (n-BG)**

	BcL	BaA	CHR + TP	CPP	SMC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcP	DaA	BgP	DIP	DeP	DiP	DhP	PAK <sub>ges</sub>
BcL		<b>0,67</b>	<b>0,64</b>	0,18	<b>0,42</b>	<b>0,55</b>	<b>0,58</b>	0,33	<b>0,50</b>	<b>0,65</b>	<b>0,42</b>	<b>0,64</b>	<b>0,51</b>	<b>0,72</b>	0,12	-0,35	<b>0,64</b>
BaA	<b>0,67</b>		<b>0,85</b>	<b>0,65</b>	<b>0,58</b>	<b>0,89</b>	<b>0,83</b>	<b>0,50</b>	<b>0,94</b>	<b>0,94</b>	<b>0,70</b>	<b>0,92</b>	<b>0,52</b>	<b>0,73</b>	0,22	-0,02	<b>0,95</b>
CHR + TP	<b>0,64</b>	<b>0,85</b>		<b>0,46</b>	<b>0,60</b>	<b>0,91</b>	<b>0,86</b>	<b>0,67</b>	<b>0,81</b>	<b>0,78</b>	<b>0,63</b>	<b>0,77</b>	0,24	<b>0,60</b>	0,01	-0,01	<b>0,94</b>
CPP	0,18	<b>0,65</b>	<b>0,46</b>		0,17	<b>0,46</b>	<b>0,59</b>	0,29	<b>0,75</b>	<b>0,72</b>	0,16	<b>0,63</b>	<b>0,57</b>	0,14	<b>0,48</b>	0,13	<b>0,65</b>
SMC	<b>0,42</b>	<b>0,58</b>	<b>0,60</b>	0,17		0,67	0,47	0,22	0,59	0,61	0,75	0,65	0,22	<b>0,67</b>	0,18	0,11	<b>0,60</b>
BbF	<b>0,55</b>	<b>0,89</b>	<b>0,91</b>	<b>0,46</b>	0,67		<b>0,89</b>	<b>0,67</b>	<b>0,89</b>	<b>0,86</b>	<b>0,78</b>	<b>0,84</b>	0,27	<b>0,69</b>	0,12	0,06	<b>0,95</b>
BkF	<b>0,58</b>	<b>0,83</b>	<b>0,86</b>	<b>0,59</b>	0,47	<b>0,89</b>		0,86	0,81	0,83	0,44	0,69	0,42	<b>0,45</b>	0,23	0,03	<b>0,94</b>
BjF	0,33	<b>0,50</b>	<b>0,67</b>	0,29	0,22	<b>0,67</b>	<b>0,86</b>		<b>0,45</b>	<b>0,47</b>	0,14	0,27	0,13	0,09	0,07	0,10	<b>0,68</b>
BaP	<b>0,50</b>	<b>0,94</b>	<b>0,81</b>	<b>0,75</b>	0,59	<b>0,89</b>	<b>0,81</b>	<b>0,45</b>		<b>0,95</b>	<b>0,72</b>	<b>0,94</b>	<b>0,47</b>	<b>0,67</b>	0,25	0,05	<b>0,93</b>
IcP	<b>0,65</b>	<b>0,94</b>	<b>0,78</b>	<b>0,72</b>	0,61	<b>0,86</b>	<b>0,83</b>	<b>0,47</b>	<b>0,95</b>		<b>0,67</b>	<b>0,95</b>	<b>0,62</b>	<b>0,71</b>	0,37	-0,02	<b>0,92</b>
DaA	<b>0,42</b>	<b>0,70</b>	<b>0,63</b>	0,16	0,75	<b>0,78</b>	<b>0,44</b>	0,14	<b>0,72</b>	<b>0,67</b>		<b>0,80</b>	0,17	<b>0,87</b>	0,07	0,06	<b>0,64</b>
BgP	<b>0,64</b>	<b>0,92</b>	<b>0,77</b>	<b>0,63</b>	0,65	<b>0,84</b>	<b>0,69</b>	0,27	<b>0,94</b>	<b>0,95</b>	<b>0,80</b>		0,50	<b>0,82</b>	0,24	-0,11	<b>0,87</b>
DIP	<b>0,51</b>	<b>0,52</b>	0,24	<b>0,57</b>	0,22	0,27	<b>0,42</b>	0,13	<b>0,47</b>	<b>0,62</b>	0,17	0,50		<b>0,46</b>	<b>0,76</b>	0,06	<b>0,43</b>
DeP	<b>0,72</b>	<b>0,73</b>	<b>0,60</b>	0,14	<b>0,67</b>	<b>0,69</b>	<b>0,45</b>	0,09	<b>0,67</b>	<b>0,71</b>	<b>0,87</b>	<b>0,82</b>	<b>0,46</b>		0,14	-0,16	<b>0,63</b>
DiP	0,12	0,22	0,01	<b>0,48</b>	0,18	0,12	0,23	0,07	0,25	0,37	0,07	0,24	<b>0,76</b>	0,14		<b>0,40</b>	0,21
DhP	-0,35	-0,02	-0,01	0,13	0,11	0,06	0,03	0,10	0,05	-0,02	0,06	-0,11	0,06	-0,16	<b>0,40</b>		0,02
PAK <sub>ges</sub>	<b>0,64</b>	<b>0,95</b>	<b>0,94</b>	<b>0,65</b>	<b>0,60</b>	<b>0,95</b>	<b>0,94</b>	<b>0,68</b>	<b>0,93</b>	<b>0,92</b>	<b>0,64</b>	<b>0,87</b>	<b>0,43</b>	<b>0,63</b>	0,21	0,02	

Markierte Korrelationskoeffizienten signifikant für  $p < 0,05$ ;  $n = 27$

**Anhang 21: Vergleich der PAK-Gehalte getrockneter Proben und getrockneter + gefriergetrockneter Proben am Beispiel Winterhecke [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ], (n = 3)**

	vom Landwirt getrocknet, zusätzlich gefriergetrocknet	vom Landwirt getrocknet
BcL	0,03	0,05
BaA	0,30	0,27
CHR + TP	1,05	1,14
CPP	0,12	0,12
5MC	0,10	0,08
BbF	0,44	0,46
BkF	0,06	0,07
BjF	0,17	0,18
<b>BaP</b>	<b>0,33</b>	<b>0,34</b>
IcP	0,29	0,31
DaA	<0,09	<0,09
BgP	0,45	0,46
DIP	<0,09	<0,09
DeP	<0,09	<0,09
DiP	<0,09	<0,09
DhP	<0,03	<0,03
PAK <sub>ges</sub>	3,73	3,87

**Anhang 22: PAK-Gehalte frischer und getrockneter Gewürze bezogen auf die Trockenmasse [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]**

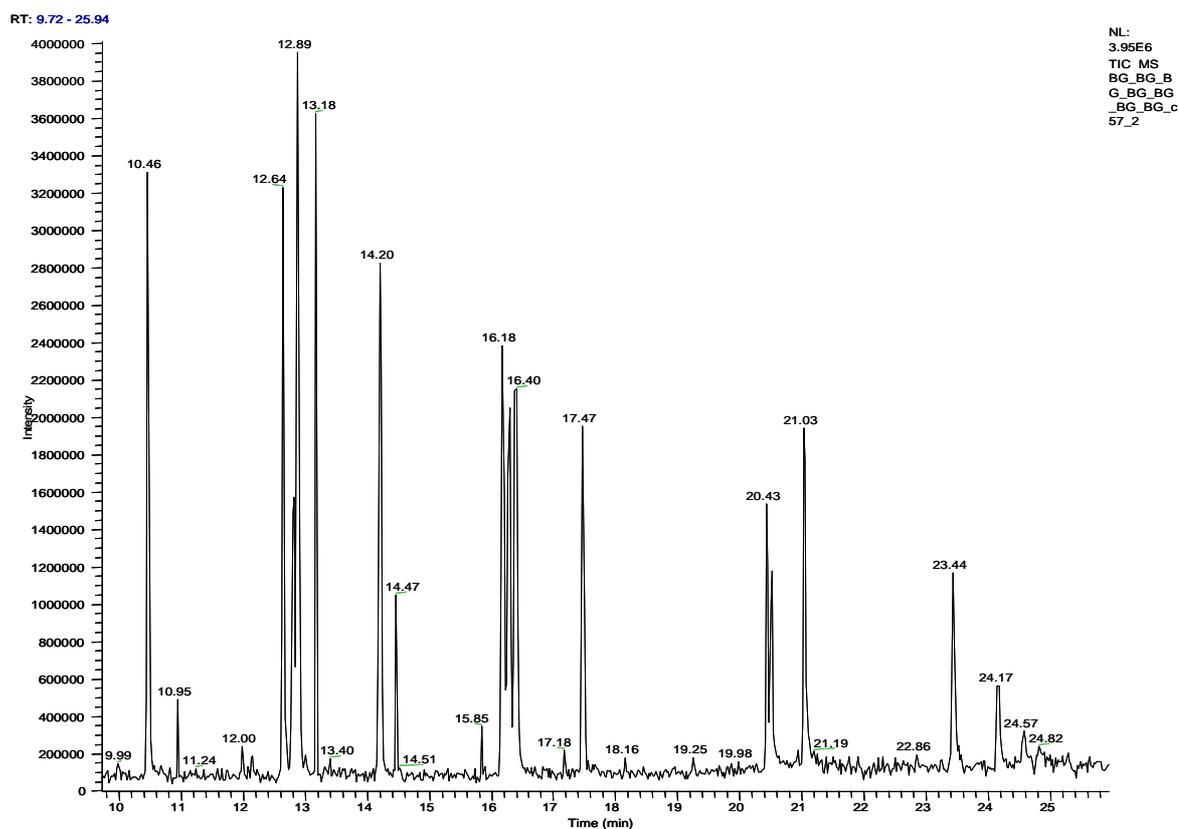
Gewürz Standort	Trocknung		BcL	BaA	CHR + TP	CPP	5MC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcP	DhA	BgP	DIP	DeP	DiP	DhP	PAK <sub>ges</sub>
Pfefferminze Standort B*	Sonnentrocknung	frisch	0,07	0,42	1,02	<0,03	0,05	0,76	0,22	0,34	<b>0,50</b>	0,52	0,10	0,64	<0,09	<0,09	0,10	<0,09	5,04
		getrocknet	0,14	0,60	1,58	0,06	0,09	0,96	0,41	0,44	<b>0,61</b>	0,63	0,10	0,71	<0,09	0,10	<0,09	<0,09	6,70
Pfefferminze Standort B**	Sonnentrocknung	frisch	0,19	1,82	2,34	0,07	0,09	2,51	1,14	1,09	<b>1,90</b>	1,44	0,56	1,58	0,18	0,45	0,32	<0,09	15,77
		getrocknet	0,20	1,08	1,71	0,11	0,08	0,88	0,39	0,37	<b>0,48</b>	0,43	0,20	0,41	<0,09	0,17	0,11	<0,09	6,80
Zitronmelisse Standort B*	Sonnentrocknung	frisch	0,05	0,28	0,48	<0,03	0,07	0,37	0,26	0,24	<b>0,37</b>	0,28	<0,09	0,36	<0,09	0,09	<0,09	<0,09	3,24
		getrocknet	0,08	0,44	0,77	0,03	0,09	0,53	0,33	0,33	<b>0,46</b>	0,33	<0,09	0,44	<0,09	<0,09	<0,09	<0,09	4,28
Zitronmelisse Standort B**	Sonnentrocknung	frisch	0,03	0,59	1,21	<0,01	0,06	0,66	0,61	0,63	<b>1,10</b>	0,33	0,12	0,45	0,07	0,24	0,21	0,05	6,37
		getrocknet	0,03	0,56	1,28	<0,01	0,11	1,25	0,49	0,51	<b>0,90</b>	0,42	0,13	0,42	0,06	0,18	0,12	<0,03	6,50
Petersilie Standort A*	Siebenband-trockner	frisch	0,15	0,23	0,67	0,06	0,04	0,43	0,27	0,30	<b>0,24</b>	0,23	<0,09	0,23	<0,09	<0,09	<0,09	0,09	3,30
		getrocknet	0,09	0,17	0,42	<0,03	0,03	0,27	0,16	0,18	<b>0,16</b>	0,15	<0,03	0,19	<0,03	0,03	<0,03	<0,03	2,00
Petersilie Standort B*	Siebenband-trockner	frisch	<0,03	0,55	1,31	0,00	0,06	1,36	0,56	0,59	<b>0,95</b>	0,34	0,11	0,42	0,07	0,22	0,16	0,04	6,77
		getrocknet	<0,03	0,32	0,99	<0,03	0,11	0,74	0,25	0,30	<b>0,43</b>	0,15	0,05	0,23	<0,03	0,10	0,06	<0,03	3,85
Petersilie Standort B**	Siebenband-trockner	frisch	<0,03	0,11	0,33	<0,03	<0,03	0,14	0,06	0,05	<b>0,07</b>	0,06	<0,09	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	1,15
		getrocknet	0,09	0,49	0,87	0,05	0,06	0,52	0,19	0,18	<b>0,29</b>	0,21	0,09	0,19	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	3,35
Thymian Standort B*	Siebenband-trockner	frisch	0,14	1,21	2,52	0,05	0,12	2,26	0,93	1,01	<b>1,80</b>	1,55	0,33	1,61	0,16	0,38	0,34	0,12	14,53
		getrocknet	0,12	0,99	2,50	0,08	0,12	2,04	0,86	0,97	<b>1,60</b>	1,50	0,29	1,56	0,12	0,32	0,28	<0,09	13,44
Thymian Standort C**	Getreide-trocknung	frisch	0,17	1,67	3,57	0,14	0,11	2,26	1,02	1,22	<b>1,43</b>	1,02	0,32	1,13	<0,03	0,09	0,13	<0,03	14,34
		getrocknet	0,17	1,73	3,60	0,12	0,12	2,44	1,15	1,17	<b>1,53</b>	1,19	0,25	1,22	<0,03	0,10	0,18	<0,03	15,03
Liebstöckel Standort B**	Siebenband-trockner	frisch	0,04	0,63	1,97	0,72	0,09	0,59	0,54	0,57	<b>0,81</b>	0,34	0,09	0,38	0,05	0,19	0,14	0,03	7,18
		getrocknet	<0,03	0,34	1,20	<0,01	0,12	0,34	0,31	0,34	<b>0,54</b>	0,20	0,06	0,23	0,05	0,12	0,09	<0,03	4,01
Schnittlauch Standort A*	Siebenband-trockner	frisch	0,07	0,39	0,77	<0,03	<0,01	0,28	0,14	0,17	<b>0,07</b>	0,04	<0,09	<0,01	<0,03	<0,03	<0,09	<0,09	2,31
		getrocknet	<0,03	0,07	0,39	<0,03	<0,03	0,07	0,03	0,04	<b>&lt;0,01</b>	<0,03	<0,09	<0,03	<0,03	<0,03	<0,09	<0,09	1,09
Majoran Standort C*	Getreide-trocknung	frisch	<0,01	0,50	1,31	<0,01	0,06	1,05	0,45	0,49	<b>0,67</b>	0,33	0,07	0,39	0,04	0,15	0,09	<0,03	5,65
		getrocknet	<0,03	0,28	0,71	<0,01	0,05	0,64	0,26	0,32	<b>0,36</b>	0,19	0,08	0,19	0,05	0,12	0,06	<0,03	3,38

\* Ernte 2005, \*\* Ernte 2006

**Anhang 23: Vergleich der PAK-Konzentrationen in Tee [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ] ermittelt durch Zugabe unterschiedlich konzentrierter Standards**

	Tee_I	Tee_II	Tee_III	Tee_I	Tee_II	Tee_III	Tee_I	Tee_II	Tee_III
	Addierter Standard (60 - 170 ng/ml) Tee-Standardmethode			Addierter Standard (600 - 1700 ng/ml)			Abweichung der Ergebnisse (bezogen auf Tee- Standardmethode) [%]		
BcL	47,0	17,0	194,5	50,5	17,8	215,2	6,8	4,4	9,6
BaA	83,6	59,8	374,6	84,2	57,1	367,4	0,7	-4,7	-2,0
CHR + TP	125,8	116,8	746,4	129,5	119,5	674,5	2,9	2,2	-10,7
CPP	93,8	10,0	168,8	85,5	8,3	157,9	-9,7	-19,9	-6,9
5MC	5,8	4,8	19,2	8,4	6,7	23,4	31,5	27,4	17,9
BbF	63,5	67,8	258,1	63,0	64,3	255,7	-0,9	-5,4	-0,9
BkF	26,0	26,7	87,5	26,7	26,7	87,9	2,7	0,3	0,5
BjF	35,9	36,5	123,5	36,7	35,2	126,8	2,2	-3,6	2,6
BaP	75,8	79,3	236,5	78,0	76,0	248,1	2,8	-4,4	4,7
IcP	64,9	92,2	184,5	64,7	87,9	184,2	-0,2	-4,9	-0,1
DhA	3,8	5,3	13,3	4,8	4,8	13,6	20,2	-9,5	2,1
BgP	61,8	106,2	221,2	72,6	104,5	220,7	14,9	-1,7	-0,2
DIP	2,6	1,6	5,6	2,2	1,8	7,5	-21,9	7,1	25,4
DeP	6,7	8,9	16,1	6,4	7,8	15,4	-4,5	-13,9	-4,9
DiP	5,1	7,4	12,1	6,8	6,5	11,9	25,4	-13,8	-2,1
DhP	0,5	0,4	0,8	0,6	0,6	1,0	15,6	28,4	17,5

### Anhang 24: TIC-Chromatogramm eines nativen Standards aller 16 EFSA-PAK (100 ng/ml)



10,46 min	BcL	12,64 min	BaA
12,89 min	CPP	13,18 min	CHR
14,20 min	5MC	16,18 min	BbF
16,22 min	BkF	16,40 min	BjF
17,47 min	BaP	20,43 min	IcP
20,48 min	DhA	21,03 min	BgP
23,44 min	DIP	24,17 min	DeP
24,57 min	DiP	24,82 min	DhP

Intensität (Höhe):	BaA	1900000	2,5 µg/kg (in Tee)
	BaP	2300000	2,5 µg/kg (in Tee)

**Anhang 25: PAK in Tee [µg/kg] - Teil 1 (\* geröstet)**

	BcL	BaA	CHR + TP	CPP	5MC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcP	DhA	BgP	DlP	DeP	DiP	DhP	PAK <sub>ges</sub>	PAK <sub>ges</sub> (ohne BcL)	BeP
Mate-Tee	54,55	117,73	209,98	131,03	7,74	97,01	38,37	52,65	<b>115,24</b>	100,19	7,94	113,57	4,11	9,58	8,19	0,88	1068,75	1014,21	110,16
Mate-Tee	194,40	374,61	746,33	168,81	18,99	258,10	87,46	123,51	<b>236,48</b>	184,42	13,28	221,10	5,59	16,13	12,09	0,78	2662,08	2467,68	277,58
Mate-Tee	46,94	83,61	125,67	93,77	5,55	63,47	26,00	35,92	<b>75,77</b>	64,85	3,78	61,68	2,62	6,72	5,08	0,48	701,91	654,97	66,08
Mate-Tee*	16,92	59,74	116,74	9,98	4,62	67,74	26,65	36,45	<b>79,28</b>	92,21	5,26	106,15	1,64	8,85	7,43	0,39	640,05	623,13	76,85
Mate-Tee	16,18	44,90	81,86	17,04	2,49	38,87	17,09	23,66	<b>37,80</b>	36,75	3,12	38,87	1,09	3,47	2,11	0,47	365,77	349,59	43,54
Mate-Tee	19,96	38,36	87,33	14,61	2,91	34,11	13,85	19,49	<b>24,77</b>	29,17	2,26	34,39	0,82	2,31	1,36	0,12	325,82	305,86	41,03
Mate-Tee*	124,83	324,55	597,58	31,72	29,08	191,76	88,42	138,33	<b>186,33</b>	140,77	23,10	95,32	6,49	10,86	7,95	0,80	1997,89	1873,06	160,50
Mate-Tee	87,63	132,91	244,07	100,43	8,51	90,64	34,61	48,73	<b>96,65</b>	80,17	6,24	94,11	2,39	8,03	8,15	0,63	1043,90	956,27	92,70
Grüner Tee	4,39	9,67	14,80	2,39	0,86	7,98	4,24	5,28	<b>6,72</b>	6,51	0,84	5,39	0,29	1,27	0,73	0,24	71,60	67,21	6,09
Grüner Tee	3,24	2,99	17,29	0,65	0,73	5,57	2,52	3,22	<b>2,15</b>	3,20	0,39	2,63	0,23	0,73	0,45	0,22	46,21	42,97	3,52
Grüner Tee	1,16	3,60	8,27	0,96	0,16	2,56	1,59	1,65	<b>1,82</b>	1,19	0,14	1,12	<0,06	0,19	0,10	<0,06	24,63	23,47	1,45
Grüner Tee	3,01	3,58	11,23	0,26	0,84	5,25	2,37	3,22	<b>2,74</b>	3,97	0,30	4,44	0,16	0,51	0,20	<0,06	42,14	39,13	3,91
Grüner Tee	12,04	5,90	28,86	0,87	2,12	9,04	3,94	5,23	<b>3,91</b>	4,89	0,44	4,13	0,20	0,76	0,23	<0,06	82,62	70,58	6,65
Grüner Tee	7,17	4,33	28,73	0,44	1,37	6,83	3,11	3,85	<b>2,56</b>	3,48	0,35	3,02	0,11	0,55	0,09	0,11	66,10	58,93	4,40
Grüner Tee	17,44	40,37	61,54	13,40	3,34	33,39	17,05	18,47	<b>32,62</b>	20,34	2,28	21,56	0,62	1,89	1,51	0,26	286,08	268,64	27,32
Grüner Tee	16,15	29,02	47,73	6,00	2,88	20,77	11,45	13,22	<b>17,53</b>	12,88	1,68	11,18	0,43	1,98	1,18	0,12	194,20	178,05	17,80
Grüner Tee	0,89	1,83	6,68	0,23	0,41	2,24	1,21	1,28	<b>1,57</b>	1,42	0,06	1,67	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	19,57	18,68	1,30
Grüner Tee	17,08	22,39	42,35	2,95	3,86	19,72	9,79	11,01	<b>16,17</b>	14,19	1,86	14,24	0,73	2,77	1,50	0,20	180,81	163,73	20,72
Grüner Tee	4,34	11,65	16,66	5,71	1,03	12,64	7,76	8,35	<b>12,54</b>	11,78	0,98	10,20	0,26	0,62	0,55	0,13	105,20	100,86	0,91
Schwarztee	0,74	2,48	6,51	0,21	0,12	2,34	1,41	1,49	<b>1,29</b>	1,44	0,12	0,92	<0,06	0,12	0,13	<0,06	19,44	18,70	1,31
Schwarztee	4,97	8,73	15,38	1,07	0,59	6,81	3,63	4,36	<b>4,33</b>	6,27	0,43	4,19	0,08	0,47	0,37	0,06	61,74	56,77	4,18
Schwarztee	2,93	6,15	8,76	0,18	1,96	3,34	1,48	1,70	<b>1,92</b>	2,23	0,39	1,59	0,07	0,35	0,13	0,10	33,28	30,35	3,77
Schwarztee	0,53	1,98	5,68	0,17	0,27	2,62	1,72	1,92	<b>1,31</b>	1,65	0,12	1,26	0,06	0,21	0,11	<0,02	19,63	19,10	1,61
Schwarztee	0,44	1,55	4,86	0,18	0,27	1,68	1,06	1,20	<b>0,83</b>	1,02	0,06	0,60	0,06	0,08	0,08	0,06	14,03	13,59	0,91
Schwarztee	5,20	13,13	17,32	0,91	0,81	6,74	3,93	4,46	<b>6,90</b>	4,40	0,35	3,97	0,20	0,47	0,28	0,08	69,15	63,95	5,58
Schwarztee	3,10	4,60	11,86	1,25	0,61	5,89	3,12	3,35	<b>8,39</b>	5,66	0,45	7,77	0,12	0,62	0,25	0,14	57,18	54,08	4,59
Schwarztee	6,91	10,21	18,11	0,66	1,48	8,12	4,70	5,39	<b>8,15</b>	8,14	0,85	6,51	0,19	0,82	0,41	0,09	80,74	73,83	6,68

**Anhang 26: PAK in Tee [µg/kg] - Teil 2**

	BcL	BaA	CHR + TP	CPP	SMC	BbF	BkF	BjF	<b>BaP</b>	IcP	DhA	BgP	DlP	DeP	DiP	DhP	PAK <sub>ges</sub>	PAK <sub>ges</sub> (ohne BcL)	BeP
Schwarztee	1,47	1,29	3,42	0,43	0,30	1,53	0,95	0,97	<b>14,10</b>	1,35	0,10	1,54	<0,06	0,19	0,06	<0,06	27,82	26,35	1,06
Schwarztee	4,78	6,97	12,12	0,59	0,66	6,16	3,58	4,05	<b>5,34</b>	6,10	0,50	6,09	0,23	0,70	0,45	0,06	58,38	53,60	4,39
Schwarztee	2,35	1,81	6,79	0,10	0,40	1,86	1,06	1,19	<b>1,82</b>	1,15	0,08	1,11	<0,06	0,13	0,06	<0,02	19,99	17,64	1,10
Schwarztee	6,31	8,23	16,11	0,23	1,46	3,76	1,85	2,36	<b>1,91</b>	2,29	0,50	1,59	<0,06	0,26	<0,02	<0,02	46,96	40,65	2,37
Schwarztee	1,12	2,04	6,11	0,20	0,14	2,12	1,23	1,60	<b>1,68</b>	2,07	0,10	1,46	0,02	0,09	<0,02	<0,02	20,02	18,90	2,13
Schwarztee	4,12	3,79	9,46	0,65	0,17	2,43	1,75	1,94	<b>1,65</b>	2,47	0,11	2,04	0,07	0,16	<0,02	<0,02	30,85	26,73	2,29
Schwarztee	3,83	3,96	11,93	0,44	0,35	4,97	2,58	3,35	<b>2,84</b>	5,01	0,34	3,91	0,08	0,37	0,13	0,10	44,19	40,36	4,10
Schwarztee	1,92	3,71	9,55	0,17	0,30	2,54	1,52	1,72	<b>1,36</b>	1,20	0,06	0,97	<0,02	0,07	<0,02	<0,02	25,15	23,23	2,37
Schwarztee	2,02	7,32	12,93	0,86	0,21	5,91	3,09	4,04	<b>7,87</b>	5,41	0,51	4,82	0,12	0,56	0,92	0,21	56,80	54,78	6,10
Schwarztee	4,64	8,37	17,81	0,83	0,47	7,56	4,15	5,61	<b>5,23</b>	6,84	0,73	5,03	0,16	0,50	0,07	<0,06	68,06	63,42	6,41
Schwarztee	1,35	1,79	3,93	0,11	0,22	1,40	0,64	0,86	<b>0,86</b>	0,81	0,10	0,76	<0,02	<0,06	<0,02	<0,02	12,95	11,60	1,60
Schwarztee	4,09	6,20	15,59	0,76	0,28	5,95	3,14	4,29	<b>3,74</b>	5,50	0,61	4,25	0,16	0,59	0,62	0,28	56,05	51,96	5,16
Schwarztee	2,53	8,94	26,00	0,50	0,27	7,86	2,78	4,45	<b>4,82</b>	4,18	0,56	4,54	0,08	0,32	0,24	<0,02	68,09	65,56	10,41
Weißer Tee	4,34	14,12	18,95	3,19	1,43	14,51	7,04	8,18	<b>11,43</b>	9,71	1,40	11,27	0,32	1,27	0,54	0,16	107,86	103,53	9,88
Weißer Tee	8,71	20,47	34,36	4,24	1,73	18,65	9,36	11,44	<b>15,06</b>	12,95	1,71	14,15	0,50	1,67	1,04	0,08	156,12	147,41	14,71
Weißer Tee	24,40	80,13	95,06	6,09	2,57	44,58	22,19	22,09	<b>19,02</b>	15,93	1,93	13,75	0,35	0,94	0,60	0,09	349,72	325,32	27,65
sonstige	1,60	1,16	4,53	0,22	0,43	1,33	0,58	0,81	<b>0,81</b>	0,91	0,10	0,97	<0,06	0,14	0,11	<0,06	13,82	12,22	1,27
sonstige	2,67	3,49	10,44	0,12	0,65	4,49	1,93	2,46	<b>3,09</b>	2,70	0,32	2,66	0,16	0,45	0,25	<0,06	35,94	33,27	4,20
sonstige	1,46	1,85	3,98	0,22	0,43	1,78	0,81	1,11	<b>1,38</b>	1,20	0,13	1,25	0,06	0,24	0,14	<0,06	16,10	14,64	1,75
sonstige	1,41	2,12	7,28	0,13	0,49	1,70	0,92	1,13	<b>1,39</b>	1,10	0,15	1,19	0,07	0,16	0,16	<0,06	19,46	18,05	1,82
sonstige	2,68	2,82	9,65	0,33	0,37	1,35	0,66	1,01	<b>7,43</b>	1,01	0,10	0,99	0,08	<0,06	<0,02	<0,02	28,58	25,90	1,38
sonstige	2,90	2,62	6,69	0,51	0,58	1,73	0,95	1,20	<b>1,29</b>	1,32	0,18	1,24	0,17	0,23	0,11	<0,02	21,74	18,84	1,72
sonstige	4,57	2,71	8,51	0,16	0,73	2,40	1,13	1,51	<b>1,32</b>	1,42	0,13	1,33	0,25	0,25	0,08	<0,06	26,56	21,99	2,11
sonstige	4,77	3,08	11,59	0,45	0,77	3,62	1,72	2,52	<b>2,36</b>	2,10	0,26	2,27	0,13	0,49	0,21	<0,06	36,40	31,63	3,17
Grüntee-Extrakt*	<0,007	<0,007	<0,007	<0,007	<0,007	<0,007	<0,007	<0,007	<b>&lt;0,007</b>	<0,007	<0,007	<0,007	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02			
Grüntee-Extrakt*	<0,007	<0,007	<0,007	<0,007	<0,007	<0,007	<0,007	<0,007	<b>&lt;0,007</b>	<0,007	<0,007	<0,007	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02			

**Anhang 27: PAK-Korrelationskoeffizienten in Tee**

	BcL	BaA	CHR + TP	CPP	5MC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcP	DhA	BgP	DIP	DeP	DiP	DhP	PAK <sub>ges</sub>	PAK <sub>ges</sub> (ohne BcL)
BcL		<b>0,98</b>	<b>0,98</b>	<b>0,84</b>	<b>0,90</b>	<b>0,98</b>	<b>0,95</b>	<b>0,95</b>	<b>0,96</b>	<b>0,94</b>	<b>0,87</b>	<b>0,91</b>	<b>0,92</b>	<b>0,92</b>	<b>0,90</b>	<b>0,82</b>	<b>0,98</b>	<b>0,98</b>
BaA	<b>0,98</b>		<b>1,00</b>	<b>0,77</b>	<b>0,95</b>	<b>0,99</b>	<b>0,99</b>	<b>0,99</b>	<b>0,97</b>	<b>0,95</b>	<b>0,94</b>	<b>0,89</b>	<b>0,95</b>	<b>0,91</b>	<b>0,88</b>	<b>0,83</b>	<b>0,99</b>	<b>0,99</b>
CHR + TP	<b>0,98</b>	<b>1,00</b>		<b>0,77</b>	<b>0,94</b>	<b>0,99</b>	<b>0,98</b>	<b>0,98</b>	<b>0,97</b>	<b>0,94</b>	<b>0,92</b>	<b>0,90</b>	<b>0,94</b>	<b>0,91</b>	<b>0,88</b>	<b>0,81</b>	<b>0,99</b>	<b>0,99</b>
CPP	<b>0,84</b>	<b>0,77</b>	<b>0,77</b>		<b>0,63</b>	<b>0,82</b>	<b>0,76</b>	<b>0,74</b>	<b>0,85</b>	<b>0,84</b>	<b>0,63</b>	<b>0,89</b>	<b>0,81</b>	<b>0,87</b>	<b>0,88</b>	<b>0,83</b>	<b>0,84</b>	<b>0,83</b>
5MC	<b>0,90</b>	<b>0,95</b>	<b>0,94</b>	<b>0,63</b>		<b>0,93</b>	<b>0,96</b>	<b>0,98</b>	<b>0,92</b>	<b>0,89</b>	<b>0,99</b>	<b>0,79</b>	<b>0,95</b>	<b>0,85</b>	<b>0,82</b>	<b>0,80</b>	<b>0,93</b>	<b>0,93</b>
BbF	<b>0,98</b>	<b>0,99</b>	<b>0,99</b>	<b>0,82</b>	<b>0,93</b>		<b>0,99</b>	<b>0,98</b>	<b>0,99</b>	<b>0,98</b>	<b>0,92</b>	<b>0,94</b>	<b>0,96</b>	<b>0,95</b>	<b>0,93</b>	<b>0,86</b>	<b>1,00</b>	<b>1,00</b>
BkF	<b>0,95</b>	<b>0,99</b>	<b>0,98</b>	<b>0,76</b>	<b>0,96</b>	<b>0,99</b>		<b>1,00</b>	<b>0,98</b>	<b>0,96</b>	<b>0,96</b>	<b>0,90</b>	<b>0,97</b>	<b>0,94</b>	<b>0,91</b>	<b>0,87</b>	<b>0,98</b>	<b>0,99</b>
BjF	<b>0,95</b>	<b>0,99</b>	<b>0,98</b>	<b>0,74</b>	<b>0,98</b>	<b>0,98</b>	<b>1,00</b>		<b>0,98</b>	<b>0,96</b>	<b>0,98</b>	<b>0,88</b>	<b>0,98</b>	<b>0,92</b>	<b>0,90</b>	<b>0,86</b>	<b>0,98</b>	<b>0,98</b>
BaP	<b>0,96</b>	<b>0,97</b>	<b>0,97</b>	<b>0,85</b>	<b>0,92</b>	<b>0,99</b>	<b>0,98</b>	<b>0,98</b>		<b>0,99</b>	<b>0,92</b>	<b>0,96</b>	<b>0,97</b>	<b>0,98</b>	<b>0,96</b>	<b>0,90</b>	<b>0,99</b>	<b>0,99</b>
IcP	<b>0,94</b>	<b>0,95</b>	<b>0,94</b>	<b>0,84</b>	<b>0,89</b>	<b>0,98</b>	<b>0,96</b>	<b>0,96</b>	<b>0,99</b>		<b>0,90</b>	<b>0,98</b>	<b>0,96</b>	<b>0,99</b>	<b>0,98</b>	<b>0,91</b>	<b>0,98</b>	<b>0,98</b>
DhA	<b>0,87</b>	<b>0,94</b>	<b>0,92</b>	<b>0,63</b>	<b>0,99</b>	<b>0,92</b>	<b>0,96</b>	<b>0,98</b>	<b>0,92</b>	<b>0,90</b>		<b>0,79</b>	<b>0,96</b>	<b>0,86</b>	<b>0,84</b>	<b>0,84</b>	<b>0,92</b>	<b>0,92</b>
BgP	<b>0,91</b>	<b>0,89</b>	<b>0,90</b>	<b>0,89</b>	<b>0,79</b>	<b>0,94</b>	<b>0,90</b>	<b>0,88</b>	<b>0,96</b>	<b>0,98</b>	<b>0,79</b>		<b>0,89</b>	<b>0,98</b>	<b>0,98</b>	<b>0,87</b>	<b>0,95</b>	<b>0,95</b>
DIP	<b>0,92</b>	<b>0,95</b>	<b>0,94</b>	<b>0,81</b>	<b>0,95</b>	<b>0,96</b>	<b>0,97</b>	<b>0,98</b>	<b>0,97</b>	<b>0,96</b>	<b>0,96</b>	<b>0,89</b>		<b>0,94</b>	<b>0,92</b>	<b>0,91</b>	<b>0,96</b>	<b>0,97</b>
DeP	<b>0,92</b>	<b>0,91</b>	<b>0,91</b>	<b>0,87</b>	<b>0,85</b>	<b>0,95</b>	<b>0,94</b>	<b>0,92</b>	<b>0,98</b>	<b>0,99</b>	<b>0,86</b>	<b>0,98</b>	<b>0,94</b>		<b>0,99</b>	<b>0,92</b>	<b>0,96</b>	<b>0,96</b>
DiP	<b>0,90</b>	<b>0,88</b>	<b>0,88</b>	<b>0,88</b>	<b>0,82</b>	<b>0,93</b>	<b>0,91</b>	<b>0,90</b>	<b>0,96</b>	<b>0,98</b>	<b>0,84</b>	<b>0,98</b>	<b>0,92</b>	<b>0,99</b>		<b>0,92</b>	<b>0,94</b>	<b>0,94</b>
DhP	<b>0,82</b>	<b>0,83</b>	<b>0,81</b>	<b>0,83</b>	<b>0,80</b>	<b>0,86</b>	<b>0,87</b>	<b>0,86</b>	<b>0,90</b>	<b>0,91</b>	<b>0,84</b>	<b>0,87</b>	<b>0,91</b>	<b>0,92</b>	<b>0,92</b>		<b>0,87</b>	<b>0,87</b>
PAK <sub>ges</sub>	<b>0,98</b>	<b>0,99</b>	<b>0,99</b>	<b>0,84</b>	<b>0,93</b>	<b>1,00</b>	<b>0,98</b>	<b>0,98</b>	<b>0,99</b>	<b>0,98</b>	<b>0,92</b>	<b>0,95</b>	<b>0,96</b>	<b>0,96</b>	<b>0,94</b>	<b>0,87</b>		<b>1,00</b>
PAK <sub>ges</sub> (ohne BcL)	<b>0,98</b>	<b>0,99</b>	<b>0,99</b>	<b>0,83</b>	<b>0,93</b>	<b>1,00</b>	<b>0,99</b>	<b>0,98</b>	<b>0,99</b>	<b>0,98</b>	<b>0,92</b>	<b>0,95</b>	<b>0,97</b>	<b>0,96</b>	<b>0,92</b>	<b>0,87</b>	<b>1,00</b>	<b>1,00</b>

**Markierte** Korrelationskoeffizienten signifikant für  $p < 0,05$ ;  $n = 51$

**Anhang 28: PAK in Schokolade [µg/kg] - Teil 1**

Bezeichnung	Kakaoanteil (%)	Herkunft (Kakao)	BcL	BaA	CHR + TP	CPP	5MC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcP	DhA	BgP	DIP	DeP	DiP	DhP	PAK <sub>ges</sub>
weiße Schokolade	nur Kakaobutter		0,55	0,88	1,26	0,69	0,05	0,16	0,19	0,37	<b>0,53</b>	0,31	<0,06	0,49	<0,02	<0,06	<0,06	<0,02	5,70
Vollmilch	30		0,51	1,15	1,80	0,34	0,09	0,31	0,31	0,41	<b>0,60</b>	0,43	0,08	0,62	<0,06	<0,06	<0,06	<0,02	6,85
Zartbitter	52		0,36	0,32	0,66	0,08	0,03	0,23	0,07	0,14	<b>0,13</b>	0,07	<0,02	0,10	<0,02	<0,06	<0,02	<0,02	2,33
Edelbitter	70		0,33	0,54	0,99	0,13	<0,02	0,67	0,21	0,25	<b>0,42</b>	0,27	0,07	0,39	<0,06	<0,06	<0,02	<0,02	4,45
Edelbitter	85		0,47	0,33	0,71	0,07	<0,02	0,30	0,08	0,20	<b>0,16</b>	0,13	<0,02	0,20	<0,06	<0,06	<0,02	<0,02	2,85
NOIRISSIME	99		0,80	1,06	1,86	0,45	0,06	0,64	0,20	0,36	<b>0,42</b>	0,19	<0,02	0,23	<0,02	<0,06	<0,02	<0,02	6,41
Edel-Vollmilch	37	Java	0,49	0,84	1,40	0,51	<0,006	0,60	0,22	0,37	<b>0,55</b>	0,23	<0,06	0,35	<0,02	<0,06	<0,02	<0,02	5,75
Herbe-Vollmilch- Sahne	46	Madagaskar	0,40	0,45	0,86	0,18	0,03	0,32	0,09	0,19	<b>0,20</b>	0,11	<0,02	0,15	<0,02	<0,06	<0,02	<0,02	3,12
Edel-Zartbitter	56	Venezuela	0,39	0,36	0,76	0,13	<0,006	0,32	0,10	0,16	<b>0,16</b>	0,11	<0,02	0,18	<0,02	<0,06	<0,02	<0,02	2,82
Edel-Bitter	60	Amazonas	0,28	0,39	0,78	0,14	0,04	0,29	0,09	0,17	<b>0,23</b>	0,07	<0,02	0,13	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	2,71
Extra-Bitter	70	Ecuador	0,19	0,24	0,59	0,12	0,03	0,21	0,05	0,13	<b>0,17</b>	<0,06	<0,02	0,14	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	2,03
Extra-Bitter	75	Trinidad	0,22	0,31	0,73	0,12	<0,006	0,25	0,08	0,17	<b>0,16</b>	<0,06	<0,02	0,06	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	2,27
Edelbitter	60		0,31	0,50	0,88	0,13	0,04	0,32	0,12	0,20	<b>0,24</b>	0,08	<0,02	0,09	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	3,01
Edelbitter	72		0,32	0,25	0,49	0,21	0,03	0,22	0,05	0,13	<b>0,12</b>	<0,06	<0,02	0,07	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	2,05
Edelbitter	85		0,27	0,24	0,48	0,28	0,03	0,22	0,09	0,15	<b>0,17</b>	0,06	<0,06	0,10	<0,06	<0,02	<0,02	<0,02	2,27
Edelbitter	63		0,24	0,31	0,66	0,18	<0,006	0,31	0,10	0,17	<b>0,24</b>	0,09	<0,06	0,12	<0,06	<0,02	<0,02	<0,02	2,61
Edelbitter	75		0,36	0,45	0,92	0,43	0,05	0,39	0,13	0,25	<b>0,33</b>	0,10	<0,02	0,14	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	3,65
Edelbitter	60		0,19	0,12	0,32	0,06	<0,006	0,16	0,05	0,12	<b>0,09</b>	<0,06	<0,02	0,05	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	1,33
Zartbitter	50		0,26	0,14	0,49	0,05	<0,006	0,18	0,03	0,16	<b>0,08</b>	0,08	<0,02	<0,006	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	1,58
Edelbitter	85		0,44	0,47	1,07	0,23	0,07	0,46	0,16	0,29	<b>0,31</b>	0,18	<0,06	0,20	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	4,02

**Anhang 29: PAK in Schokolade [µg/kg] - Teil 2**

Bezeichnung	Kakaoanteil (%)	Herkunft (Kakao)	BcL	BaA	CHR +TP	CPP	5MC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcP	DhA	BgP	DIP	DeP	DiP	DhP	PAK <sub>ges</sub>
Edelbitter- Extraherb	86		0,52	0,64	1,34	0,35	0,07	0,51	0,17	0,32	<b>0,38</b>	0,13	<0,06	0,22	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	4,79
keine Angaben	70		0,51	1,14	1,98	0,48	0,10	0,70	0,25	0,39	<b>0,63</b>	0,22	<0,06	0,31	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	6,85
Edel-Vollmilch	35	Nouméa	0,42	0,64	1,25	0,25	0,07	0,47	0,16	0,27	<b>0,35</b>	0,11	<0,06	0,16	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	4,29
Edel-Vollmilch	37	Java	0,30	0,52	0,95	0,21	0,04	0,39	0,13	0,23	<b>0,32</b>	0,08	<0,02	0,11	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	3,38
Edel-Vollmilch	39	Madagaskar	0,21	0,27	0,55	0,12	<0,006	0,23	0,09	0,16	<b>0,16</b>	0,07	<0,06	0,08	<0,06	<0,02	<0,02	<0,02	2,13
Edel-Vollmilch	43	Puerto Cabello	0,23	0,43	0,76	0,10	0,04	0,36	0,13	0,21	<b>0,30</b>	0,08	<0,06	0,14	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	2,92
Supreme Chocolat	33	Java	0,34	0,75	1,42	0,32	0,06	0,55	0,18	0,38	<b>0,44</b>	0,22	0,06	0,26	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	5,06
Supreme Chocolat	37	Costa Rica	0,50	0,65	1,31	0,27	0,08	0,45	0,15	0,31	<b>0,32</b>	0,17	<0,06	0,09	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	4,44
Supreme Chocolat	42	Venezuela	0,56	0,72	1,51	0,31	0,14	0,60	0,19	0,44	<b>0,40</b>	0,19	<0,06	0,32	<0,02	0,07	<0,02	<0,02	5,57
Supreme Chocolat	51	Ecuador	0,22	0,11	0,40	0,27	<0,02	0,14	<0,02	0,14	<b>0,09</b>	0,07	<0,06	0,11	<0,02	<0,06	<0,02	<0,02	1,77
Supreme Chocolat	70	Santo Domingo	0,40	0,24	0,74	0,11	0,02	0,26	0,07	0,24	<b>0,18</b>	0,13	<0,06	0,17	<0,06	<0,06	<0,02	<0,02	2,78
Supreme Chocolat	84	Ghana	0,30	0,23	0,64	0,11	0,03	0,22	0,02	0,18	<b>0,15</b>	0,08	<0,06	0,10	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	2,20
Weißer Schokolade	nur Kakaobutter		0,29	0,41	0,89	0,24	0,03	0,26	0,09	0,25	<b>0,20</b>	0,11	<0,06	0,12	<0,06	<0,06	<0,02	<0,02	3,11
Weißer Schokolade	nur Kakaobutter		0,26	0,32	0,80	0,22	0,03	0,22	0,05	0,21	<b>0,14</b>	0,09	<0,02	0,12	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	2,56
Edelbitter	77	San Martin Peru	0,39	0,34	0,88	0,21	0,03	0,32	0,08	0,27	<b>0,18</b>	0,10	<0,06	0,14	<0,02	<0,06	<0,02	<0,02	3,12
Edelbitter	78	Papua Neuguinea	0,59	0,96	2,09	0,43	0,08	0,51	0,17	0,39	<b>0,36</b>	0,14	<0,06	0,19	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	6,05
Edel Herbe Sahne	45		0,23	0,39	0,76	0,19	0,05	0,24	0,05	0,23	<b>0,18</b>	0,11	<0,02	0,17	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	2,70
Zartbitter	50		0,22	0,14	0,38	0,17	<0,006	0,15	0,03	0,14	<b>0,07</b>	0,08	<0,06	0,05	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	1,58
Halbbitter	50		0,36	0,39	0,88	0,11	0,04	0,25	0,05	0,18	<b>0,26</b>	0,10	<0,06	0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	2,78
Edel-Bitter	60	Amazonas	0,41	0,32	0,76	0,15	0,04	0,23	0,05	0,19	<b>0,12</b>	0,09	<0,06	0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	2,52

**Anhang 300: PAK-Korrelationskoeffizienten in Schokolade**

	BcL	BaA	CHR + TP	CPP	5MC	BbF	BkF	BjF	BaP	IcP	BgP	PAK <sub>ges</sub>
BcL		<b>0,79</b>	<b>0,82</b>	<b>0,64</b>	<b>0,62</b>	<b>0,64</b>	<b>0,66</b>	<b>0,77</b>	<b>0,65</b>	<b>0,61</b>	<b>0,55</b>	<b>0,82</b>
BaA	<b>0,79</b>		<b>0,96</b>	<b>0,76</b>	<b>0,70</b>	<b>0,73</b>	<b>0,91</b>	<b>0,90</b>	<b>0,93</b>	<b>0,79</b>	<b>0,75</b>	<b>0,98</b>
CHR + TP	<b>0,82</b>	<b>0,96</b>		<b>0,71</b>	<b>0,76</b>	<b>0,78</b>	<b>0,85</b>	<b>0,93</b>	<b>0,86</b>	<b>0,71</b>	<b>0,65</b>	<b>0,97</b>
CPP	<b>0,64</b>	<b>0,76</b>	<b>0,71</b>		<b>0,50</b>	<b>0,46</b>	<b>0,66</b>	<b>0,76</b>	<b>0,75</b>	<b>0,61</b>	<b>0,62</b>	<b>0,78</b>
5MC	<b>0,62</b>	<b>0,70</b>	<b>0,76</b>	<b>0,50</b>		<b>0,57</b>	<b>0,62</b>	<b>0,77</b>	<b>0,63</b>	<b>0,50</b>	<b>0,47</b>	<b>0,72</b>
BbF	<b>0,64</b>	<b>0,73</b>	<b>0,78</b>	<b>0,46</b>	<b>0,57</b>		<b>0,77</b>	<b>0,74</b>	<b>0,75</b>	<b>0,50</b>	<b>0,47</b>	<b>0,79</b>
BkF	<b>0,66</b>	<b>0,91</b>	<b>0,85</b>	<b>0,66</b>	<b>0,62</b>	<b>0,77</b>		<b>0,85</b>	<b>0,95</b>	<b>0,84</b>	<b>0,83</b>	<b>0,93</b>
BjF	<b>0,77</b>	<b>0,90</b>	<b>0,93</b>	<b>0,76</b>	<b>0,77</b>	<b>0,74</b>	<b>0,85</b>		<b>0,87</b>	<b>0,79</b>	<b>0,74</b>	<b>0,95</b>
BaP	<b>0,65</b>	<b>0,93</b>	<b>0,86</b>	<b>0,75</b>	<b>0,63</b>	<b>0,75</b>	<b>0,95</b>	<b>0,87</b>		<b>0,84</b>	<b>0,82</b>	<b>0,94</b>
IcP	<b>0,61</b>	<b>0,79</b>	<b>0,71</b>	<b>0,61</b>	<b>0,50</b>	<b>0,50</b>	<b>0,84</b>	<b>0,79</b>	<b>0,84</b>		<b>0,93</b>	<b>0,83</b>
BgP	<b>0,55</b>	<b>0,75</b>	<b>0,65</b>	<b>0,62</b>	<b>0,47</b>	<b>0,47</b>	<b>0,83</b>	<b>0,74</b>	<b>0,82</b>	<b>0,93</b>		<b>0,79</b>
PAK <sub>ges</sub>	<b>0,82</b>	<b>0,98</b>	<b>0,97</b>	<b>0,78</b>	<b>0,72</b>	<b>0,79</b>	<b>0,93</b>	<b>0,95</b>	<b>0,94</b>	<b>0,83</b>	<b>0,79</b>	

**Markierte** Korrelationskoeffizienten signifikant für  $p < 0,05$ ;  $n = 40$

DIP, DeP, DhP, DiP wurden wegen ihrer geringen Gehalte nicht in die Berechnung mit einbezogen

## 10 Literaturverzeichnis

Afolabi, O. A., Adesulu, E. A., Oke, O. L. (1983): Polynuclear Aromatic-Hydrocarbons in some Nigerian preserved fresh-water fish species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 31 (5), 1083-1090.

Ali, M. Y., Cole, R. B. (2001): SFE-plus-C-18 lipid cleanup and selective extraction method for GC/MS quantitation of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (9), 4192-4198.

Andersson, J. T., Weis, U. (1994): Gas-chromatographic determination of polycyclic aromatic-compounds with fluorinated analogs as internal standards. *Journal of Chromatography A* 659 (1), 151-161.

AOAC: Official Methods of Analysis (1970) 11<sup>th</sup> Ed., AOAC, Washington, D.C., Secs. 21.001-21.009.

Ariese, F., Gooijer, C., Velthorst, N. H., et al. (1991): Shpol'skii Fluorometric-Determination of polycyclic aromatic-hydrocarbons in complex environmental-samples. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 339 (10), 722-724.

Aromenverordnung vom 2. Mai 2006 (BGBl. I Nr. 23 vom 15.05.2006, S. 1127).

Asche, W., Oelert, H. H. (1975): Systematics of anomalies in gel-chromatography of hydrocarbons on polystyrol gels. *Journal of Chromatography* 106 (2), 490-497.

BDSI Bundesverband der Deutschen Süßwarenindustrie e.V., Bonn, 07/2006.

[http://www.bdsi.de/de/zahlen\\_fakten/suesswaren\\_allgemein.html](http://www.bdsi.de/de/zahlen_fakten/suesswaren_allgemein.html).

Belitz, H.-D., Grosch, W., Schieberle, P. (2001): Lehrbuch der Lebensmittelchemie, 5. Auflage, Springer Verlag, 584.

Bergmann, J. G., Duffy, L. J., Stevenso, R. B. (1971): Solvent effects in gel permeation chromatography. *Analytical Chemistry* 43 (1), 131.

Berset, J. D., Holzer, R., Hani, H. (1998): Solving coelution problems on a smectic liquid crystalline polysiloxane capillary column for the determination of priority polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples. *Journal of Chromatography A* 823 (1-2), 179-187.

Binnemann, P. H. (1979): Benzo(a)pyrene contents of meat-products. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 169 (6), 447-452.

Bishnoi, N. R., Mehta, U., Sain, U., et al. (2005): Quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea and coffee samples of Mumbai City (India) by high performance liquid chromatography. *Environmental Monitoring and Assessment* 107 (1-3), 399-406.

Boom, M. M. (1987): The determination of polycyclic aromatic-hydrocarbons in indigenous and translated mussels (*Mytilus-Edulis* L.) along the dutch coast. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 31 (2-4), 251-261.

Bouvrette, P., Hrapovic, S., Male, K. B., et al. (2006): Analysis of the 16 Environmental Protection Agency priority polycyclic aromatic hydrocarbons by high performance liquid chromatography-oxidized diamond film electrodes. *Journal of Chromatography A* 1103 (2), 248-256.

Brown, R. S., Szolar, O. H. J., Luong, J. H. T. (1996): Cyclodextrin-aided capillary electrophoretic separation and laser-induced fluorescence detection of polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs). *Journal of Molecular Recognition* 9 (5-6), 515-523.

Camargo, M. C. R., Toledo, M. C. F. (2002): Coffee and mate tea as dietary sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the Campinas population. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 22 (1), 49-53.

Cavagnino, D., Magni, P., Zilioli, G., et al. (2003): Comprehensive two-dimensional gas chromatography using large sample volume injection for the determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in complex matrices. *Journal of Chromatography A* 1019 (1-2), 211-220.

Cejpek, K., Hajslova, J., Jehlickova, Z., et al. (1995): Simplified extraction and cleanup procedure for the determination of PAHs in fatty and protein-rich matrices. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 61 (1), 65-80.

Chen, B. H., Wang, C. Y., Chiu, C. P. (1996): Evaluation of analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in meat products by liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44 (8), 2244-2251.

Chen, B. H., Lin, Y. S. (1997): Formation of polycyclic aromatic hydrocarbons during processing of duck meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45 (4), 1394-1403.

Chen, J., Chen, S. (2005): Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons by low density polyethylene from liquid model and roasted meat. *Food Chemistry* 90 (3), 461-469.

Chu, M., Chen, C. (1984): Evaluation and estimation of potential carcinogenic risks of polynuclear aromatic hydrocarbons. Paper presented at the Symposium on polycyclic aromatic hydrocarbons in the workplace. Pacific Rim Risk Conference. Honolulu, Hi, U.S.A..

- Ciemniak, A. (2004): Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in herbal and fruit tea infusions. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* 37 (1), 25-29.
- Ciemniak, A. (2005): Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in herbal and fruit teas. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny* 56 (4), 317-322.
- Clement Associates, Inc. (Clement) (1988): Comparative potency approach for estimating the cancer risk associated with exposure to mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons (Interim final report). Prepared for EPA under contract 68-02-4403. ICF-Clement Associates, Fairfax, VA..
- Collins, J. F., Brown, J. P., Alexeeff, G. V., Salmon, A. G. (1998): Potency equivalency factors for some polycyclic aromatic hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbon derivatives. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 28, 45-54.
- Containerhandbuch (2005). Band III: „Die Ware im Container“. Erschienen beim Gesamtverband der Deutschen Versicherungswirtschaft e. V. (GDV), Berlin.
- Culp, S. J., Gaylor, D. W., Sheldon, W. G., et al. (1998): A comparison of the tumors induced by coal tar and benzo[a]pyrene in a 2-year bioassay, *Carcinogenesis* 19 (1), 117-124.
- Dachler, M., Pelzmann, H. (1999): Arznei- und Gewürzpflanzen, Anbau - Ernte - Aufbereitung, Österreichischer Agrarverlag, 2. Auflage, ISBN: 3-7040-1360-9.
- David, H. A., Harley, H. O., Pearson, E. S. (1954): *Biometrika* 41, 482-506.
- Dennis, M. J., Cripps, G. S., Tricker, A. R., et al. (1984a): N-nitroso compounds and polycyclic aromatic-hydrocarbons in Icelandic smoked cured mutton. *Food and Chemical Toxicology* 22 (4), 305-306.
- Dennis, M. J., Massey, R. C., McWeeny, D. J., Larsson, B., Eriksson, A., Sahlberg, G. (1984b): Comparison of a capillary gas chromatographic and a high-performance liquid chromatographic method of analysis for polycyclic aromatic hydrocarbons in food. *Journal of Chromatography* 285 (1), 127-133.
- Dennis, M. J., Massey, R. C., Cripps, G., et al. (1991): Factors affecting the polycyclic aromatic hydrocarbon content of cereals, fats and other food-products. *Food Additives and Contaminants* 8 (4), 517-530.
- DGPT (2000): Stellungnahme der Sektion Toxikologie der Deutschen Gesellschaft für experimentelle und klinische Pharmakologie und Toxikologie (DGPT) zur möglichen Gesundheitsgefährdung durch erhöhte Konzentrationen an polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAKs) im Trinkwasser.

DLB Deutsches Lebensmittelbuch, Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse vom 27./28.11.1997 (Beilage zum BAnz. Nr. 134 vom 25.7.1975, GMBI. Nr. 23 S. 489 vom 25.7.1995), zuletzt geändert am 2.10.2001 (BAnz. Nr. 199 vom 24.2.2001, GMBI. Nr. 38 S. 754 ff vom 30.10.2001).

DLB Deutsches Lebensmittelbuch, Leitsätze für Tee, teeähnliche Erzeugnisse, deren Extrakte und Zubereitungen vom 2.12.1998 (BAnz. Nr. 66a vom 9.4.1999, GMBI. Nr. 11 S. 228 vom 26.4.1999).

DLB Deutsches Lebensmittelbuch, Leitsätze für Gewürze und andere würzende Zutaten vom 27.5.1998 (BAnz. Nr. 138a vom 30.9.1998, GMBI. Nr. 30 S. 577 vom 30.9.1998).

Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), Forschungsbericht (2004): Polycyclische Aromatische Kohlenwasserstoffe, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.

Deutscher Teeverband e.V., <http://www.teeverband.de/frames.html>.

Diletti, G., Scortichini, G., Scarpone, R., et al. (2005): Isotope dilution determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in olive pomace oil by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1062 (2), 247-254.

Doerge, D. R., Clayton, J., Fu, P. P., et al. (1993): Analysis of polycyclic aromatic-hydrocarbons using liquid-chromatography particle-beam mass-spectrometry. *Biological Mass Spectrometry* 22 (11), 654-660.

Doremire, M. E., Harmon, G. E., Pratt, D. E. (1979): 3,4-Benzopyrene in charcoal grilling meats. *Journal of Food Science* 44, 622-623.

Duedahl-Olesen, L., White, S., Binderup, M. L. (2006): Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in Danish smoked fish and meat products. *Polycyclic Aromatic Compounds* 26 (3), 163-184.

EFSA (2007): A report from the Unit of Data Collection and Exposure on a request from the European Commission. Findings of the EFSA Data Collection on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food. Issued on 29 June 2007.

[http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific\\_Document/datex\\_report\\_pah.pdf](http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific_Document/datex_report_pah.pdf)

Empfehlung der Kommission vom 4. Februar 2005 über die genauere Ermittlung der Mengen von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen in bestimmten Lebensmitteln (EG/108/2005).

Environmental Protection Agency (EPA) (1982): Test method, Polynuclear Aromatic Hydrocarbons – Method 610. Cincinnati, USA: Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring and Support Laboratory.

Environmental Protection Agency (EPA) (1984): Health effects assessment for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH). EPA 549/1-86-013. Environmental criteria and assessment office. Cincinnati, OH, U.S.A..

Eskinja, M., Eskinja, I., Soljic, Z., Schmid, E. R. (1995): Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in white lime tea, chamomile tea, and mallow root tea. *Ernaehrung* (Vienna) 19 (12), 600-602.

Fazio, T., White, R. H., Howard, J. W. (1973): Collaborative study of multicomponent method for Polycyclic Aromatic-Hydrocarbons in foods. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 56 (1), 68-70.

Fellenberg, G. (1992): Chemie der Umweltbelastung. B.G. Teubner: Stuttgart.

Fernandez, P., Bayona, J. M. (1992): Use of off-line gel-permeation chromatography normal-phase liquid-chromatography for the determination of polycyclic aromatic-compounds in environmental-samples and standard reference materials (air particulate matter and marine sediment). *Journal of Chromatography* 625 (2), 141-149.

Fiedler, H., Cheung, C. K., Wong, M. H. (2002): PCDD/PCDF, chlorinated pesticides and PAH in Chinese teas. *Chemosphere* 46 (9-10), 1429-1433.

Fleisch-Verordnung, BGBl I, S. 533, 1973

Flipovic, J., Tóth, L. (1971): Polycyclische Kohlenwasserstoffe in geräucherten jugoslawischen Fleischwaren, *Fleischwirtschaft* 71, 1323-1325.

Fontcuberta, M., Arques, J. F., Martinez, M., et al. (2006): Polycyclic aromatic hydrocarbons in food samples collected in Barcelona, Spain. *Journal of Food Protection* 69 (8), 2024-2028.

Fretheim, K. (1976): Carcinogenic polycyclic aromatic-hydrocarbons in norwegian smoked meat sausages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 24 (5), 976-979.

Fromberg, A., Hojgard, A., Duedahl-Olesen, L. (2007): Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables oils combining gel permeation chromatography with solid phase extraction clean-up. *Food Additives and Contaminants* 24 (7), 758-767.

Gao, Y., Zhu, L. (2004): Plant uptake, accumulation and translocation of phenanthrene and pyrene in soils. *Chemosphere* 55, 1169-1178.

Garcia-Falcon, M. S., Simal-Gandara, J., Carril-Gonzalez-Barros, S. T. (2000): Analysis of benzo[a]pyrene in spiked fatty foods by second derivative synchronous spectrofluorimetry after microwave-assisted treatment of samples. *Food Additives and Contaminants* 17 (12), 957-964.

Garcia-Falcon, M. S., Perez-Lamela, M., Simal-Gandara, J. (2004): Comparison of strategies for extraction of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons from drinking waters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (23), 6897-6903.

Garcia-Falcon, M. S., Simal-Gandara, J. (2005): Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoke from different woods and their transfer during traditional smoking into chorizo sausages with collagen and tripe casings, *Food Additives and Contaminants* 22 (1), 1-8.

Gerstel GmbH & Co. KG (2004): SBSE – Die neue Extraktionstechnik für die Schadstoffanalytik. *Laborpraxis* 12, [http://www.laborpraxis.de/fachartikel/lp\\_fachartikel\\_1699055.html](http://www.laborpraxis.de/fachartikel/lp_fachartikel_1699055.html).

Gertz, C. (1978): Rapid method for isolation and quantitative-analysis of 3,4-benzpyrene [benzo(a)pyrene] in food. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 167 (4), 233-237.

Gomaa, E. A., Gray, J. I., Rabie, S., et al. (1993): Polycyclic aromatic-hydrocarbons in smoked food-products and commercial liquid smoke flavorings. *Food Additives and Contaminants* 10 (5), 503-521.

Gonzalez-Pinuela, C., Alonso-Salces, R. M., Andres, A., et al. (2006): Validated analytical strategy for the determination of polycyclic aromatic compounds in marine sediments by liquid chromatography coupled with diode-array detection and mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1129 (2), 189-200.

Gordon, R. J., Trivedi, N. J., Singh, B. P. (1988): Characterization of Aerosols Organics by Diffuse Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Environmental Science & Technology* 22, 672-677.

Grimm, H. (1999): Der Benzo(a)pyrengelhalt von Räucherwaren in Abhängigkeit von der angewandten Räuchertechnologie, Dissertation, Leipzig, Univ..

Grimmer, G., Hildebrandt, A. (1967): Kohlenwasserstoffe in der Umgebung des Menschen; Der Gehalt polyzyklischer Kohlenwasserstoffe in Fleisch und Räucherwaren. *Zeitschrift Krebsforschung* 69, 223–229.

Grimmer, G., Hildebrandt, A. (1972): Concentration and estimation of 14 polycyclic aromatic-hydrocarbons at low levels in high protein foods, oils, and fats. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 55 (3), 631 ff.

Grimmer, G., Böhnke, H. (1975): Polycyclic Aromatic Hydrocarbon profile analysis of high-protein foods, oils, and fats by gas-chromatography. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 58 (4), 725-733.

Grimmer, G. (1983): Environmental Carcinogens: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, U.S.A..

- Grob, K., Artho, A., Biedermann, M., et al. (1993): Contamination of hazelnuts and chocolate by mineral-oil from jute and sisal bags. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 197 (4), 370-374.
- Gottwald, W. (2000): Statistik für Anwender. Hrsg. U. Gruber und W. Klein, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim.
- Guillen, M. D., Sopelana, P., Partearroyo, M. A. (2000a): Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in commercial liquid smoke flavorings of different compositions by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48 (2), 126-131.
- Guillen, M. D., Sopelana, P., Partearroyo, M. A. (2000b): Polycyclic aromatic hydrocarbons in liquid smoke flavorings obtained from different types of wood. Effect of storage in polyethylene flasks on their concentrations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48 (10), 5083-5087.
- Guillen, M. D., Sopelana, P. (2004): Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked cheese, *Journal of Dairy Science* 87 (3), 556-564.
- Handbuch Aromen und Gewürze (2006): Hrsg.: Hall/Sieweck/Gerhardt, Behr's Verlag, 23 Aktualisierungsaufgabe.
- Haas, K. (1974): Untersuchungen zum chemischen Aufbau der Cutikula während der Organogenese von Blättern und Früchten sowie zur Cutikulartranspiration. Dissertation, Universität Hohenheim.
- Higginbotham, S., Ramakrishna, N., Johansson, S., Rogan, E., Cavalieri, E. (1993): Tumor-initiating activity and carcinogenicity of dibenzo[a,l]pyrene versus 7,12-dimethylbenz[a]anthracene and benzo[a]pyrene at low-doses in mouse skin. *Carcinogenesis* 14, 875-878.
- Heddeghem, A. V., Huyghebart, A., DeMoor, H. (1980): Determination of polycyclic aromatic-hydrocarbons in fat products by high-pressure liquid-chromatography. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 171 (1), 9-13.
- Heindl, A. und Müller, J. (1997): Trocknung von Arznei- und Gewürzpflanzen. *Z. f. Arznei- und Gewürzpfl.* 2 (2) 90-97.
- Homann, K. H. (1983): Schadstoffbildung und ihre Vermeidung. *Nachr. Chem. Tech. Lab.* 31, Nr. 4, 258-262.
- IJO (International Jute Organisation) (1998): IJO Standard 98/01 [Special Criteria for the Manufacture of Jute Bags used in the Packing of Selected Food Grade Materials (Cocoa Beans, Coffee Beans and Shelled Nuts)].

IRMM, Institute for Reference Materials and Measurements (2006): Interlaboratory comparison: PAH in edible oils.

[http://www.irmm.jrc.be/html/interlaboratory\\_comparisons/index.htm](http://www.irmm.jrc.be/html/interlaboratory_comparisons/index.htm)

ISO 939 (1980): Gewürze und Würzstoffe; Bestimmung des Feuchtigkeitsgehaltes; Wasserentzugsmethode.

IUPAC Inform, Bull., Tech. Rept. No. 4 (Feb. 1972).

Järvenpää, E., Huopalahti, R., Tapanainen, P. (1996): Use of supercritical fluid extraction-high performance liquid chromatography in the determination of polynuclear aromatic hydrocarbons from smoked and broiled fish. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 19 (9), 1473-1482.

JECFA (2005): Summary and Conclusion of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Sixty-Fourth meeting, Rome, 8-17 February 2005, JECFA/64/SC.

Jira, W. (2004): A GC/MS method for the determination of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in smoked meat products and liquid smokes. *European Food Research and Technology* 218 (2), 208-212.

Jira, W. (2005): Benzo[a]pyrene in smoked meat products - Leading substance for the PAH-related carcinogenic potential. *Fleischwirtschaft* 85 (9), 112-116.

Joe, F. L., Salemme, J., Fazio, T. (1984): Liquid-chromatographic determination of trace residues of polynuclear aromatic-hydrocarbons in smoked foods. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* (6), 1076-1082.

Karl, H., Leinemann, M. (1996): Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fishery products from different smoking kilns. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 202 (6), 458-464.

Kayali-Sayadi, M. N., Rubio-Barroso, S., Cuesta-Jimenez, M. P., et al. (1998): Rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea infusion samples by high-performance liquid chromatography and fluorimetric detection based on solid-phase extraction. *Analyst* 123 (10), 2145-2148.

Kazerouni, N., Sinha, R., Hsu, C. H., et al. (2001): Analysis of 200 food items for benzo[a]pyrene and estimation of its intake in an epidemiologic study. *Food and Chemical Toxicology* 39 (5), 423-436.

Kim, P. M., Deboni, U., Wells, P. G. (1997): Peroxidase-Dependent Bioactivation and Oxidation of DNA and Protein in Benzo[a]Pyrene-Initiated Micronucleus Formation. *Free Radical Biology and Medicine* 23 (4), 579-596.

- Kleinhenz, S., Jira, W., Schwind, K.-H. (2006): Dioxin and polychlorinated biphenyl analysis: Automation and improvement of clean-up established by example of spices. *Mol. Nutr. Food Res.* 50, 362 – 367.
- Klettner, P. G. (1979): Heutige Räuchertechnologien bei Fleischerzeugnissen. *Fleischwirtschaft* 59/1, 17-24.
- Klimisch, H. J., Reese, D. (1972): Gel Chromatographic separation of hydrocarbons, amines and phenols on a polystyrene gel column – preparative fractionation of cigarette-smoke condensate for biological experiments. *Journal of Chromatography* 67 (2), 299.
- Köhler, W., Schachtel, G., Voleske, P. (1996): Biostatistik – Einführung in die Biometrie für Biologen und Agrarwissenschaftler. 2. Auflage, Springer Verlag, Berlin Heidelberg.
- Kolarovic, L., Traitler, H. (1982): Determination of polycyclic aromatic-hydrocarbons in vegetable-oils by caffeine complexation and glass-capillary gas-chromatography. *Journal of Chromatography* 237 (2), 263-272.
- Kolattukudy, P. E. (1976): Introduction to natural waxes, in: P. E. Kolattukudy (Hrsg.): Chemistry and biochemistry of natural waxes. Elsevier, Amsterdam, 1-15.
- Kozin, I. S., Gooijer, C., Velthorst, N. H. (1995): Direct determination of dibenzo[a,l]pyrene in crude extracts of environmental-samples by laser-excited shpol'skii spectroscopy. *Analytical Chemistry* 67 (9), 1623-1626.
- Lafleur, A. L., Wornat, M. J. (1988): Multimode separation of polycyclic aromatic-compounds by size exclusion chromatography with poly(divenylbenzene). *Analytical Chemistry* 60 (11), 1096-1102.
- Larsson, B. K. (1982): Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 174 (2), 101-107.
- Larsson, B. K., Sahlberg, G. P., Eriksson, A. T., et al. (1983): Polycyclic aromatic-hydrocarbons in grilled food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 31 (4), 867-873.
- Larsson, B. K. (1986): Formation of polycyclic aromatic hydrocarbons during the smoking and grilling of food. *Genetic Toxicology of the Diet* 206, 169-180.
- Lawrence, J. F., Weber, D. F. (1984): Determination of polycyclic aromatic-hydrocarbons in some canadian commercial fish, shellfish, and meat-products by liquid-chromatography with confirmation by capillary gas-chromatography mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 32 (4), 789-794.
- Laxhuber, S. (1998): Neue Trends bei der Trocknung von Arzneipflanzen und Kräutern. *Drogenreport* 11 (19), 37-42.

Lee, M. L., Novotny, M., Bartle, K. D. (1976): Gas Chromatographie/Mass Spectrometric and Nuclear Magnetic Resonance Spectrometric Studies of carcinogenic Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in Tobacco and Marijuana Smoke Condensates. *Analytical Chemistry* 48, 405-416.

Lijinsky, W. (1991): The formation and occurrence of polynuclear aromatic-hydrocarbons associated with food. *Mutation Research* 259 (3-4), 251-261.

Lin, D. H., Zhu, L. Z. (2004): Polycyclic aromatic hydrocarbons: Pollution and source analysis of a black tea. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 52 (26), 8268-8271.

Lin, D. H., Tu, Y. Y., Zhu, L. Z. (2005): Concentrations and health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea. *Food and Chemical Toxicology* 43 (1), 41-48.

Lin, D. H., Zhu, L. Z., Luo L. (2006a): Factors affecting transfer of polycyclic aromatic hydrocarbons from made tea to tea infusion. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 54 (12), 4350-4354.

Lin, D., Zhu, L., He, W., Tu, Y. (2006b): Tea Plant Uptake and Translocation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Water and around Air Department of Environmental Science, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (10), 3658-3662.

Lodovici, M., Dolara, P., Casalini, C., et al. (1995): Polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in the Italian diet. *Food Additives and Contaminants* 12 (5), 703-713.

Loutfy, N., Fuerhacker, M., Tundo, P., et al. (2007): Monitoring of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans, dioxin-like PCBs and polycyclic aromatic hydrocarbons in food and feed samples from Ismailia city, Egypt. *Chemosphere* 66 (10), 1962-1970.

Mastovska, K., Lehotay, S. J. (2003): Review: Practical approaches to fast gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1000, 153-180.

McClure, P., Schoeny, R. (1995): Evaluation of a component-based relative potency approach to cancer risk assessment for exposure to PAH. In *Fifteenth International Symposium on Polycyclic Aromatic Compounds: Chemistry, Biology and Environmental Impact, Belgrate, Italy, 19-22 Sept. 1995*, European Commission (eds). Joint Research Center: Ispra, 1995; 161.

McKay, J. F., Latham, D. R. (1973): Polyaromatic hydrocarbons in high-boiling petroleum distillates – isolation by gel permeation chromatography and identification by fluorescence spectrometry. *Analytical Chemistry* 45 (7), 1050-1055.

Means, J. C., Wood, S. G., Hasset, J. J., Banwart, W. L. (1980): Sorption of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons by Sediments and Soils. *Environmental Science & Technology* 14, 1524-1528.

Means, J. C. (1998): Compound-Specific Gas Chromatographic/Mass Spectrometric Analysis of Alkylated and Parent Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Waters, Sediments, and Aquatic Organism. *Journals of AOAC International* 81, 657-672.

Meudec, A., Dussauze, J., Jourdin, M., et al. (2006): Gas chromatographic-mass spectrometric method for polycyclic aromatic hydrocarbon analysis in plant biota. *Journal of Chromatography A* 1108 (2), 240-247.

Möhler, K. (1978): Das Räuchern, Fleischforschung und Praxis Schriftreihe 11, Verlag Rhein Hessische Druckwerkstätte E. Dietl & Co.; Alzey.

Moret, S., Grob, K., Conte, L. S. (1996): On-line high-performance liquid chromatography solvent evaporation high-performance liquid chromatography capillary gas chromatography flame ionisation detection for the analysis of mineral oil polyaromatic hydrocarbons in fatty foods. *Journal of Chromatography A* 750 (1-2), 361-368.

Moret, S., Grob, K., Conte, L. S. (1997): Mineral oil polyaromatic hydrocarbons in foods, eg. from jute bags, by on-line LC-solvent evaporation (SE)-LC-GC-FID. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A-Food Research and Technology* 204 (3), 241-246.

Moret, S., Conte, L., Dean, D. (1999): Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon content of smoked fish by means of a fast HPLC/HPLC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47 (4), 1367-1371.

Mottier, P., Parisod, V., Turesky, R. J. (2000): Quantitative determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in barbecued meat sausages by gas chromatography coupled to mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48 (4), 1160-1166.

Müller, P., Leece, B., Raha, D. (1995): Estimated risk of cancer from exposure to PAH fractions of complex mixtures. In *Fifteenth International Symposium on Polycyclic Aromatic Compounds: Chemistry, Biology and Environmental Impact, Belgirate, Italy, 19-22 Sept. 1995*, European Commission (eds). Joint Research Center: Ispra, 1995; 159-160.

Nam, K., Chung, N., Alexander, M. (1998): Relation Chip between Organic Matter Content of Soil and the Sequestration of Phenenthren. *Environmental Science and Technology* 32, 3785-3788.

Nisbet, C., LaCoy, P. (1992): Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 16, 290-300.

Nyman, P. J., Perfetti, G. A., Joe, F. L., et al. (1993): Comparison of two clean-up methodologies for the gas chromatographic/mass spectrometric determination of low nanogram/gram levels of polynuclear aromatic-hydrocarbons in seafood. *Food Additives and Contaminants* 10 (5), 489-501.

Oelert, H. H., Latham, D. R., Haines, W. E. (1970): Characterization of crude oils by gel permeation chromatography. *Separation Science* 5 (5), 657.

Ogbadu, G. H., Ogabdu, L. J. (1989): Levels of benzo(a)pyrene in some smoked ready-to-eat nigerian foods. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* 22 (5), 313-314.

Pepperworld: <http://www.pepperworld.com/kulinarisch/pimenton.htm> (06/2007).

Pfannhauser, W. (1991): Polyzyklische Aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) in der Nahrung und auf ausgewählten Gemüseproben in Österreich. *Mitteilung Gebiete Lebensmittel Hygiene* 82, 66-79.

Poster, D. L., Schantz, M. M., Kucklick, J. R., et al. (2004): Three new mussel tissue standard reference materials (SRMs) for the determination of organic contaminants. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 378 (5), 1213-1231.

Pott, P. (1775): Chirurgische observations relative to the cataract, the polypus of the nose, the cancer of the scrotum, the different kinds of ruptures, and the mortification of toes and feet. Hawes, Clarke, and Collins, London [Neugedruckt in *Natl. Cancer Inst. Monogr.* 10, 7-13, 1963].

Potthast, K. (1975): Probleme beim Räuchern von Fleisch und Fleischerzeugnissen, *Fleischwirtschaft* 11, 1492-1496.

Potthast, K., Eigner, G. (1975): A new method for the rapid isolation of polycyclic aromatic hydrocarbons from smoked meat products. *Journal of Chromatography* 103, 173-176.

Potthast, K., Eigner, G., Eichner, R., (1977): 3,4-Benzopyrengehalt in Gewürzen. *Fleischwirtschaft* 57 (7), 1294-1296.

Potthast, K. (1978): Smoking methods and their effect on content of 3,4-benzopyrene and other constituents of smoke in smoked meat-products. *Fleischwirtschaft* 58 (3), 371-375.

Potthast, K. (1985): Das Räuchern. Ein altes Verfahren aus der Sicht neuer Erkenntnisse. *Laborpraxis* 84/85, Sh. „Labor 2000“, 166.

Rauter, W. (1997): Content of benzo(a)pyrene in smoked foodstuffs. *Ernährung* 21, 447 ff.

Reinik, M., Tamme, T., Roasto, M., et al. (2007): Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in meat products and estimated PAH intake by children and the general population in Estonia. *Food Additives and Contaminants* 24 (4), 429-437.

Rhee, K. S., Bratzler, L. J. (1970): Benzo(a)pyrene in smoked meat products. *Journal of Food Science* 35 (2), 146 ff.

Roda, A., Simoni, P., Ferri, E. N., et al. (1999): Determination of PAHs in various smoked meat products and different samples by enzyme immunoassay. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79 (1), 58-62.

RÖMPP Lexikon, Lebensmittelchemie (1995), Hrsg.: Eisenbrand, G, Schrier, P., Georg Thieme Verlag Stuttgart, 828.

Rose, M., White, S., Macarthur, R., Petch, R. G., Holland, J., Damant, A. P. (2007): Single-laboratory validation of a GC/MS method for the determination of 27 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in oils and fats. *Food Additives and Contaminants* 6, 635–651.

Ruschenburg, U., Jahr, D. (1986): Benzo-a-pyren contents of coffee and some other food-products. *Cafe Cacao The* 30 (1), 3-6.

Saim, N., Dean, J. R., Abdullah, M. P., et al. (1997): Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soil using Soxhlet extraction, pressurised and atmospheric microwave-assisted extraction, supercritical fluid extraction and accelerated solvent extraction. *Journal of Chromatography A* 791 (1-2), 361-366.

Saito, Y., Sekita, H., Takeda, M. et al. (1978): Determination of Benzo(a)pyrene in foods. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 61 (1), 129-135.

Samsøe-Petersen, L., Larsen, E. H., Larsen, P. B., Bruun, P. (2002): Uptake of Trace Elements and PAHs by Fruit and Vegetables from Contaminated Soils. *Environ. Sci. Technol.* 36 (14), 3057-3063.

Sanders, L. C., Wise, S. A. (1997). Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Index. NIST Special Publication 922. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg.  
<http://ois.nist.gov/pah/pages/index.pdf>

Sauvain, J. J., Vu Duc, T., Huynh, C. K. (2001): Development of an analytical method for the simultaneous determination of 15 carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons and polycyclic aromatic nitrogen heterocyclic compounds. Application to diesel particulates. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 371 (7), 966-974.

Sauvain, J. J., Vu Duc, T. (2004): Approaches to identifying and quantifying polycyclic aromatic hydrocarbons of molecular weight 302 in diesel particulates. *Journal of Separation Science* 27 (1-2), 78-88.

SCF, Scientific Committee on Food (2002): Opinion of the Scientific Committee on Food on the Risks to Human Health of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food (expressed on 4 December 2002).

[http://europa.eu.int/comm/food/food/chemicalsafety/contaminants/out153\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/food/chemicalsafety/contaminants/out153_en.pdf).

- Schaad, R. (1970): Chromatography of (carcinogenic) polycyclic aromatic hydrocarbons. *Chromatogr. Rev.* 13, 61.
- Schapitz, E. (1992): Das Räuchern unter besonderer Berücksichtigung des Immissionssschutzes. *Fleischwirtschaft* 72, 229-232.
- Schlemitz, S., Pfannhauser, W. (1997): Supercritical fluid extraction of mononitrated polycyclic aromatic hydrocarbons from tea - correlation with the PAH concentration. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A-Food Research and Technology* 205 (4), 305-310.
- Schmit, J. A., Henry, R. A., Williams, R. C., et al. (1971): Applications of high speed reversed-phased liquid chromatography. *Journal of Chromatographic Science* 9 (11), 645.
- Schneider, R., Scherer, R. A., Janssens, M. J. J. (2006): Argentinischer Mate-Tee: Verwendung – Verarbeitung – Geschmacksprofil. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 102. Jahrgang, Heft 7, 313-318.
- Schober, W., Luch, A., Soballa, V. J. (2006): On the species-specific biotransformation of dibenzo[a,l]pyrene. *Chemico-Biological Interactions* 161 (1), 37-48.
- Schubert, P., Schantz, M. M., Sander, L. C., et al. (2003): Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons with molecular weight 300 and 302 in environmental-matrix standard reference materials by gas chromatography/mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 75 (2), 234-246.
- Seidel, A., Frank, H., Behnke, A., et al. (2004): Determination of dibenzo[a]pyrene and other fjord-region PAH isomers with MW 302 in environmental samples. *Polycyclic Aromatic Compounds* 24 (4-5), 759-771.
- Shatta, A. A. (1999): Polycyclic aromatic hydrocarbons in tea. *Advances in Food Sciences* 21 (5/6), 170-176.
- Sielaff, H. (1996): *Fleischtechnologie*. Behr's Verlag, Hamburg, S. 379.
- Simko, P., Karovicova, J., Kubincova, M. (1991a): Changes in benzo(a)pyrene content in fermented salami. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 193 (6), 538-540.
- Simko, P., Gombite, M., Karovicova, J. (1991b): Determination and occurrence of benz(a)pyrene in smoked meat products. *Nahrung-Food* 35 (1), 103-104.
- Simko, P., Gergely, S., Karovicova, J., et al. (1993a): Influence of cooking on benzo(a)pyrene content in smoked sausages. *Meat Science* 34 (3), 301-309.

Simko, P., Brunckova, B. (1993b): Lowering of polycyclic aromatic-hydrocarbons concentration in a liquid smoke flavour by sorption into polyethylene packaging. *Food Additives and Contaminations* 10 (2), 257-263.

Simko, P. (2002): Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked meat products and smoke flavouring food additives. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Science* 770 (1-2), 3-18.

Simon, R., de la Calle, B., Palme, S., et al. (2005): Composition and analysis of liquid smoke flavouring primary products, *Journal of Separation Science* 28 (9-10), 871-882.

Simon, R., Palme, S., Anklam, E., et al. (2006): Method validation for determination of the 15 European-priority polycyclic aromatic hydrocarbons in primary smoke condensates by gas chromatography/mass spectrometry: Interlaboratory study. *Journal of AOAC International* 89 (3), 772-781.

Simon, R., Wenzl, T. (2007): Report of the inter-laboratory comparison on the 15+1 EU priority PAHs. EUR 22945 EN – Joint Research Centre – Institute for Reference and Materials and Measurements.

Simonich, S. L., Hites, R. A. (1994): Vegetation-Atmosphere Partitioning of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Environmental Science & Technology* 28 (5), 939-943.

SLMB Schweizerisches Lebensmittelbuch, Kap.Nr. 75B Mate, Mai 2000, Hrsg.: Bundesamt für Gesundheit, Abteilung Lebensmittelsicherheit, Schweiz.

Specht, W. (1982): Organochlor und Organophosphor-Verbindungen sowie stickstoffhaltige und andere Pflanzenschutzmittel. DFG-Methodensammlung, Methode S 19.

Speer, K. (1987): A Contribution to determining benzo(a)pyrene in vegetal material. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 83 (3), 80-83.

Speer, K., Montag, A. (1988): Polycyclic Aromatic-Hydrocarbons in native vegetable-oils. *Fett Wissenschaft Technologie-Fat Science Technology* 90 (5), 163-167.

Speer K., Horstmann, P., Steeg, E., et al. (1990): PAH analysis in vegetable samples. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 191 (6), 442-448.

Speer, K. (1994): Bestimmung von PAK in Lebensmitteln. Lebensmittel- und Umweltanalytik mit der Kapillar-GC, Hrsg. Lothar Matter, VCH Verlagsgesellschaft mbH, 75 ff.

Statistisches Bundesamt (21.02.2006): Zahl der Woche vom 21.02.2006 - 42 000 Tonnen Tee im Jahr 2005 importiert.

Stiftung Warentest (2007): Dunkler Genuss – Bitterschokolade, test 12, 16-22

Stijve, T., Hischenhuber, C. (1987): Simplified determination of benzo(a)pyrene and other polycyclic aromatic-hydrocarbons in various food materials by HPLC and TLC. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 83 (9), 276-282.

Tao, S., Jiao, X. C., Chen, S. H., et al. (2006): Accumulation and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in rice (*Oryza sativa*). *Environmental Pollution* 140 (3). 406-415.

Teuscher, E. (2003): Gewürzdrogen – Ein Handbuch der Gewürze, Gewürzkräuter, Gewürzmischungen und ihrer ätherischen Öle. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, S. 73.

Thorslund, T., Farrer, D. (1991): Development of relative potency estimates for PAHs and hydrocarbon combustion product fractions compared to benzo[a]pyrene and their use in carcinogenic risk assessments. United States Environmental Protection Agency.

Tóth, L. (1970): Spectrofluorometric in-situ analysis of polycyclic aromatic compounds after separation on acetylated cellulose layers I. Qualitative and quantitative evaluation. *Journal of Chromatography* 50 (1), 72.

Tóth, L., Blaas, W. (1972a): Einfluß der Räuchertechnologie auf den Gehalt von geräucherten Fleischwaren an cancerogenen Kohlenwasserstoffen, II. Mitt., *Fleischwirtschaft* 11 , 1419-1422.

Tóth, L., Blaas, W. (1972b): Einfluß der Räuchertechnologie auf den Gehalt von geräucherten Fleischwaren an cancerogenen Kohlenwasserstoffen, I. Mitt., *Fleischwirtschaft* 9, 1121-1124.

Tóth, L. (1973): Einfluss verschiedener Verfahren des Räucherns und Grillens auf den Gehalt von Fleisch und Fleischerzeugnissen an cancerogenen Stoffen. DFG-Abschlussbericht: Teil I.

Tóth, L. (1976): Einfluss verschiedener Techniken des Räucherns und der Anwendung von Räuchermitteln auf den Gehalt von Fleischwaren an cancerogenen Kohlenwasserstoffen, Phenolen und anderen Rauchbestandteilen. DFG-Abschlussbericht.

Tóth, L. (1983): Chemie der Räucherung, Wissenschaftliche Papiere der Senatskommission zur Prüfung von Lebensmittelzusatz und -inhaltsstoffen, Verlag Chemie Weinheim.

Tóth, L., Wittkowski, R. (1985): Das Räuchern aus der Sicht der Chemie. *Chemie unserer Zeit*, 19 No. 2.

Traag, W., Hoogenboom, L. Weg, G., Baars, A., Schouten, T. (2001): Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in animal feeds, animal fats, vegetable oils/fats, fatty acids, Report 006. Institute of Food Safety.

Varlet, V., Serot, T., Monteau, F., Le Bizec, B., Prost, C. (2007): Determination of PAH profiles by GC-MS/MS in salmon processed by four cold-smoking techniques. *Food Additives and Contaminants* 24 (7), 744-757.

Van der Wielen, J. C. A., Jansen, J. T. A., Martena, M. J., et al. (2006): Determination of the level of benzo[a] pyrene in fatty foods and food supplements. *Food Additives and Contaminants* 23 (7), 709-714.

Verordnung (EG) Nr. 2065/2003 über Raucharomen zur tatsächlichen oder beabsichtigten Anwendung in oder auf Lebensmitteln.

Verordnung (EG) Nr. 208/2005 der Kommission vom 4. Februar 2005 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 im Hinblick auf polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe.

Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 der Kommission vom 19.12.2006 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln (ABl. EU, L 364, S. 5)

Verordnung über Kakao- und Schokoladenerzeugnisse (Kakaoverordnung - KakaoV) Vom 15. Dezember 2003 [Verkündet am 23. Dezember 2003; BGBl. I Nr. 63 vom 23.12. 2003 S. 2738] zuletzt geändert durch Artikel 9 V v 22.02.2006 BGBl. I 444.

Veyrand B, Brosseaud A, Sarcher L, et al. (2007): Innovative method for determination of 19 polycyclic aromatic hydrocarbons in food and oil samples using gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry based on an isotope dilution approach. *Journal of Chromatography A* 1149 (2), 333-344.

Vreuls, J. J., Dejong, G. J., Brinkman, U. A. C. (1991): Online coupling of liquid-chromatography, capillary gas-chromatography and mass-spectrometry for the determination and identification of polycyclic aromatic-hydrocarbons in vegetable-oils. *Chromatographia* 31 (3-4), 113-118.

Wang, G. D., Lee, A. S., Lewis, M., et al. (1999): Accelerated solvent extraction and gas chromatography mass spectrometry for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked food samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47 (3), 1062-1066.

White, R. H., Howard, J. W., Barnes, C. J. (1971): Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in liquid smoke flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 19 (1), 143.

Yabiku, H. Y., Martins, M. S., Takahashi, M. Y. (1993): Levels of benzo[a]pyrene and other polycyclic aromatic-hydrocarbons in liquid smoke flavor and some smoked foods. *Food Additives and Contaminants* 10 (4), 399-405.

Zuin, W. G., Montero, L., Bauer, C., et al. (2005): Stir bar sorptive extraction and high-performance liquid chromatography-fluorescence detection for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Mate teas. *Journal of Chromatography A* 1091 (1-2), 2-10.

**Versicherung und Erklärung gemäß Promotionsordnung § 5, 1.5:**

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht. Die Arbeit wurde bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Die vorliegende Arbeit wurde am Max Rubner-Institut (MRI), Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel (ehemals Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel (BfEL)) am Standort Kulmbach durchgeführt und von Herrn Prof. Dr. K. Speer seitens der Technischen Universität Dresden wissenschaftlich betreut.

Weiterhin versichere ich hiermit, dass keine früheren erfolglosen Promotionsverfahren stattgefunden haben.

Hiermit erkenne ich die Promotionsordnung der Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften der Technischen Universität vom 20.03.2000 (in der geänderten Fassung vom 16.04.2003) an.

.....

Ort, Datum

.....

Katja Ziegenhals