

Jan Kuhlmann

Methodenentwicklung und Bestimmung anthropogener
organischer Kontaminanten, ihrer Transformationsprodukte und
potentiell biogener Organohalogenverbindungen in der
aquatischen Umwelt

Dissertation

Universität Hamburg 2007

Methodenentwicklung und Bestimmung anthropogener
organischer Kontaminanten, ihrer Transformationsprodukte und
potentiell biogener Organohalogenverbindungen in der
aquatischen Umwelt

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades des Fachbereichs Chemie der
Universität Hamburg

vorgelegt von **Jan Kuhlmann**

Hamburg 2007

Diese Arbeit ist im Zeitraum April 2001 bis August 2005 am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg im Arbeitskreis von Prof. Dr. H. Hühnerfuss angefertigt worden.

Tag der letzten mündlichen Prüfung (Disputation): 1.02.2008

1. Gutachter: Prof. Dr. H. Hühnerfuss

2. Gutachter: Prof. Dr. Dr. h. c. W. Francke

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 organische Spurenanalytik.....	1
1.2 organische Substanzen in der aquatischen Umwelt.....	2
1.2.1 Eintrag & Verteilung.....	2
1.2.2 organische Xenobiotika in aquatischen Systemen.....	4
1.2.3 Metaboliten & Transformationsprodukte.....	7
1.2.4 Biogene Biozide.....	8
1.3 Zielsetzung.....	10
2 Auswahl der Standardsubstanzen	11
2.1 externe Standardsubstanzen.....	11
2.1.1 Chlorierte Benzoesäuren.....	12
2.1.2 Chlorierte Phenylethansäuren.....	14
2.1.3 Phenoxyalkylcarbonsäuren.....	15
2.1.4 Weitere Carbonsäuren.....	17
2.1.5 Halogenierte Phenole.....	19
2.1.6 Steroide.....	21
2.1.7 Halogenierte Aniline.....	23
2.1.8 Weitere stickstoffhaltige Verbindungen.....	24
2.1.9 Halogenierte Anisole.....	27
2.1.10 Weitere Verbindungen.....	28
2.2 interne Standardsubstanzen.....	30
3 Derivatisierung von Referenzsubstanzen	33
3.1 Silylierungen.....	34
3.1.1 Silylierung von Steroiden.....	36
3.1.2 Untersuchungen zur Silylierung von Referenzsubstanzen.....	42
3.1.3 Zusammenfassung.....	56
3.2 Alkylierungen und Acylierungen.....	57
3.2.1 Derivatisierung acider Analyten.....	58
3.2.2 Bekannte Derivatisierungen mit Chlormethanoatreagenzien.....	58
3.2.2.1 Entwicklung und Verwendung spezieller Chlormethanoate.....	61
3.2.2.2 Spezielle Variationen der Reaktionsführung bei der Umsetzung von Carbonsäuren mit Chlormethanoaten.....	63
3.2.3 Untersuchungen zur Derivatisierung acider Referenzsubstanzen mit Alkylchlormethanoaten.....	67
3.2.3.1 Derivatisierung mit Alkylchlormethanoat und dem korrespondierenden Alkohol (<i>homogene Derivatisierungen</i>).....	68
3.2.3.2 Einschränkungen bei der homogenen Derivatisierung acider Analyten.....	76
3.2.3.3 Derivatisierung mit Alkylchlormethanoat und einem nicht korres- pondierenden Alkohol (<i>heterogene Derivatisierungen</i>).....	77

3.2.3.4 Untersuchung der Ursachen für die ausbleibende Veresterung von o,o'-disubstituierten Benzoessäuren bei Umsetzungen mit Alkyl- chlormethanoaten.....	88
3.2.4 Zusammenfassung.....	101
4 Probenahme & Analytenanreicherung.....	103
4.1 Entwicklung eines Wasserschöpfers.....	103
4.2 Entwicklung einer Filtrationseinheit.....	106
4.3 Festphasenextraktion.....	109
4.3.1 Verwendete Festphasen.....	109
4.3.2 Einfluß des pH-Wertes auf die SPE.....	110
4.3.3 Entwicklung einer Extraktionseinheit.....	110
4.4 Elution.....	115
4.4.1 Fraktionierende Elution von SDB-1 bei der Analyt- anreicherung aus dotierten Leitungswasserproben.....	116
4.4.2 Fraktionierende Elution von Oasis HLB bei der Analyt- anreicherung aus dotierten Leitungswasserproben.....	120
4.5 Zusammenfassung.....	125
5 Validierung und Optimierung der analytischen Methoden zur Bestimmung östrogenen Analyten.....	126
5.1 Ermittlung quantitativer Parameter bei der Bestimmung östrogenen Steroide und Triclosan.....	126
5.2 Entwicklung einer zweistufigen Derivatisierung von Steroiden.....	132
5.3 Zusammenfassung.....	138
6 Entwicklung einer Gesamtmethode zur parallelen Bestimmung saurer, neutraler und basischer Analyten.....	139
6.1 Optimierung der Anreicherung und Derivatisierung acider Analyten.....	139
6.1.1 Untersuchung des Einflusses einer natürlichen Wassermatrix auf die Festphasenextraktion und Derivatisierung acider Analyten.....	141
6.1.2 Entwicklung einer Arbeitsvorschrift für die Derivatisierung von Umweltprobenextrakten.....	143
6.1.3 Bestimmung des Einflusses einer natürlichen Probenmatrix auf die Derivatisierung mit MCF und ECF.....	145
6.1.4 Etablierung einer I/I-Extraktion zur Matrixanreicherung vor der Derivatisierung.....	148
6.1.5 Bestimmung von Wiederfindungsraten acider Analyten nach der Festphasenextraktion dotierter Leitungswasser- und Umweltproben.....	151
6.1.6 Auswirkungen einzelner Komponenten der Probenaufarbeitung auf die Wiederfindung saurer Targetanalyten.....	156
6.2 Orientierende Untersuchung undotierter Umweltproben auf saure Analyten.....	158
6.3 Orientierende Untersuchung undotierter Umweltproben auf saure neutrale und basische Analyten.....	163

6.3.1 Untersuchung der Verteilung polarer Analyten in unbehandelten oder sauer/basisch extrahierten Realprobeneluat	163
6.4 Untersuchung der Verteilung polarer Analyten in sauer oder basisch extrahierten Realprobeneluat	174
6.4.1 Untersuchung der Verteilung unpolarer Analyten in den Eluat von Realproben	180
6.5 Kombination aller optimierten Arbeitsschritte zu einer analytischen Gesamtmethode	182
6.6 Zusammenfassung	183
7 Bestimmung ausgewählter Analyten in Realproben	185
7.1 Probenahmestellen	186
7.2 Ergebnisse der Targetanalysen	187
7.2.1.1 Pharmazeutika, Personal Care Products & ihre Metaboliten	188
7.2.1.2 Zusammenfassung PPCPs & Metaboliten	197
7.2.2.1 Pestizide & Pestizidmetaboliten	197
7.2.2.2 Zusammenfassung Pestizide & Pestizidmetaboliten	202
7.2.3 Halogenamine, -anisoole, -indole und -phenole	202
7.2.4.1 Benzoe- und Phenylethansäurederivate	204
7.2.4.2 Zusammenfassung Benzoe- und Phenylethansäurederivate	215
8 Zusammenfassung	216
9 Summary	220
10 Experimenteller Teil	224
10.1 Ermittlung quantitativer Parameter bei der Bestimmung acider Analyten	224
10.1.1 Bestimmung der Retentionszeiten, Quantifizierungen und relativen Signalfächen der Derivate aus S I nach Umsetzung mit ECF/Pyridin/F ₃ EtOH und MCF/Pyridin/MeOH/H ₂ O	225
10.1.2 Bestimmung der Reproduzierbarkeit bei der homogenen und heterogenen Umsetzungen mit Alkylchlormethanoaten	230
10.1.3 Variation der extraktiven Reaktionsaufarbeitung	234
10.2 Methodvalidierung	236
10.3 verwendete Instrumente	250
10.4 Methoden	250
10.5 Synthesen	251
10.6 Verwendete Chemikalien	260
11 Literaturverzeichnis	265
Eidesstattliche Versicherung	292
Danksagung	293
Anhang	294

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Schematische Darstellung der Haupteintragsquellen von anthropogenen Schadstoffen in die Umwelt und des möglichen Stoffaustauschs zwischen allen Kompartimenten.....	4
Abb. 2: Strukturformeln, Trivialnamen und wichtigste Anwendungen einiger im Rahmen dieser Arbeit in Wasserproben detektierter Xenobiotica	6
Abb. 3: Strukturformeln, Trivialnamen und Klassifizierungen einiger im Rahmen dieser Arbeit untersuchter Transformationsprodukte.....	8
Abb. 4: Grundstrukturen und Substitutionsmuster mono-, di- und trichlorierter Benzoe- und Phenylethansäuren.....	13
Abb. 5: Konstitutionsformeln der Strukturisomere Clofibrinsäure und Mecoprop.....	16
Abb. 6: Strukturformeln der PPCP-Metaboliten Ibu-COOH, Ibu-OH und Bayrepele-COOH unter Kennzeichnung der stereogenen Centren.....	18
Abb. 7: Grundstruktur und Substitutionsmuster der eingesetzten einfachen Phenolderivate.....	20
Abb. 8: Strukturformeln der in Tabelle 6 aufgeführten Steroide.....	22
Abb. 9: Grundstruktur und Substitutionsmuster der eingesetzten Anilinderivate.....	24
Abb. 10: Ausgesuchte Strukturformeln und Bezeichnungen von Standardanalyten aus der Gruppe der stickstoffhaltigen Verbindungen, Teil 1.....	25
Abb. 11: Ausgesuchte Strukturformeln und Bezeichnungen von Standardanalyten aus der Gruppe der stickstoffhaltigen Verbindungen, Teil 2.....	26
Abb. 12: Grundstruktur und Substitutionsmuster der eingesetzten Anisolderivate.....	27
Abb. 13: Strukturformeln und Bezeichnungen der in Tabelle 10 aufgeführten Verbindungen.....	29
Abb. 14: Strukturformeln und Bezeichnungen der in Tabelle 11 aufgeführten sauren und basischen Surrogatstandards.....	31
Abb. 15: Strukturformeln und Bezeichnung des in Tabelle 11 aufgeführten neutralen Surrogatstandards und des Volumenstandards.....	31
Abb. 16: Strukturformeln der Silylierungsreagenzien MSTFA, MTBSTFA und BSTFA.....	35
Abb. 17: Umsetzung von Mestranol und Ethinylöstradiol mit BSTFA nach <i>Díaz-Cruz et al.</i>	38
Abb. 18: Silylierung von Estron, Östradiol und Ethinylöstradiol mit MTBSTFA nach <i>Kelly</i>	39
Abb. 19: Silylierung von Estron, Östradiol, Mestranol und Ethinylöstradiol nach <i>Holtz-Weber et al.</i>	40
Abb. 20: Trimethylsilylenoletherbildung bei Estron und Testosteron.....	41
Abb. 21a: GC/MS Chromatogramm (full scan) der Umsetzung von je 5 ng Estron, Östradiol, Mestranol und Ethinylöstradiol nach SOP 1.....	43
Abb. 21b: Massenspektren der derivatisierten Analyten aus Abbildung 21a.....	44
Abb. 22: Auswertung des GC/MS Chromatogramms aus Abbildung 21 auf den Ionenspuren 342 + 416 + 367 + 425.....	45
Abb. 23: GC/MS Chromatogramm der Umsetzung von 1 µg Ethinylöstradiol nach SOP 1, ausgewertet auf den Ionenspuren 342 + 399 + 425.....	46

Abb. 24: Stereoisomere Strukturen von 2,3-Dihydroxy-1,4-butandithiol.....	47
Abb. 25a: GC/MS Chromatogramm (full scan) der Umsetzung von je 5 ng Estron, Östradiol, Mestranol und Ethinylöstradiol mit MSTFA/TMIS/2-ME (100:1:1).....	48
Abb. 25b: Massenspektrum des Bis-TMS-estronderivates aus Abbildung 25a.....	48
Abb. 25c: Auswertung des GC/MS Chromatogramms aus Abbildung 25a auf den Ionenspuren 342 + 399 + 416 + 367 + 425.....	49
Abb. 26: Auswertung des GC/MS Chromatogramms aus Abbildung 25a auf den Ionenspuren 342, 399 und 414.....	50
Abb. 27: Vorschlag einer Reaktionsgleichung zur Silylgruppenübertragung von MSTFA auf 1-Hydroxy-2-ethanthiol und einen Alkohol.....	51
Abb. 28: Relative Signalfächen der silylierten Steroidderivate (je 50 ng Analyt) in Abhängigkeit von dem verwendeten Lösungsmittel...53	53
Abb. 29: Ionenspuren 342 + 399 + 416 + 367 + 425 aus dem GC/MS Chromato- gramm der Umsetzung von je 5 ng Estron, Östradiol, Mestranol und Ethinylöstradiol mit MSTFA/TMIS/2-ME, Injektion mit dem Reagenz in <i>n</i> -Hexan.....	56
Abb. 30: Allgemein formulierte Reaktionsgleichungen der Umsetzung von Carbonsäuren mit Alkylchlormethanoaten und der Bildung ver- schiedener Decarboxylierungsprodukte nach <i>Husek et al.</i>	60
Abb. 31: Allgemeine Reaktionsgleichungen der Umsetzung von Carbon- säuren und Phenolen mit Alkylchlormethanoaten in Anwesenheit polarer Lösungsmittel und Pyridin(derivaten) nach <i>Husek</i>	61
Abb. 32: Schematische Darstellung der Bildung zweier Produkte bei der Decarboxylierung eines gemischten Anhydrids in Anwesenheit eines nicht zum Reagenz korrespondierenden Alkohols nach <i>Husek</i>	63
Abb. 33: Mögliche Reaktionswege bei der Umsetzung von Carboxylgruppen Mit Alkylchlormethanoaten und nachfolgender Esterbildung bei Anwesenheit eines zum Reagenz nicht korrespondierenden Alkohols (in Anlehnung an <i>Wang et al.</i>).....	64
Abb. 34: Modell des Reaktionsmechanismus der pyridinkatalysierten Ester- Bildung bei der Umsetzung von Carbonsäuren mit Alkylchlor- methanoaten in Anwesenheit korrespondierender oder nicht korrespondierender Alkohole.....	65
Abb. 35: Modell des Reaktionsmechanismus der Umsetzung von Phenolen mit Alkylchlormethanoaten.....	66
Abb. 36: Schematische Darstellung der selektiven Derivatisierung mit Alkylchlormethanoaten und nachfolgender flüssig – flüssig Extraktion.....	69
Abb. 37: Reaktionsgleichungen der Umsetzung von Carboxyibuprofen und Gentisinsäure mit MCF.....	74
Abb. 38: GC/MS Chromatogramm (Full-Scan, TIC) der Umsetzung einer Mischung acider Analyten mit MCF gemäß SOP 4B.....	75
Abb. 39: Schematische Übersicht der mit verschiedenen Alkoholen durch- geführten Veresterungen von Carbonsäuren mit Ethylchlor- methanoat.....	80
Abb. 40: Reaktionsgleichung für die Derivatisierung von 2-Hydroxybenzoesäure mit MCF oder ECF in Anwesenheit von D ₃ C-OD und Pyridin.....	81

Abb. 41: Massenspektren der Derivate von 2-Hydroxybenzoesäure aus Umsetzungen mit MCF/Pyridin/MeOH und MCF/Pyridin/D ₃ C-OD	82
Abb. 42: Massenspektren der Derivate von 2-Hydroxybenzoesäure aus Umsetzungen mit ECF/Pyridin/MeOH und ECF/Pyridin/D ₃ C-OD	82
Abb. 43: Fragmentierungsmuster der Derivate von 2-Hydroxybenzoesäure aus Umsetzungen mit MCF/Pyridin/MeOH und MCF/Pyridin/D ₃ C-OD	83
Abb. 44: Fragmentierungsmuster der Derivate von 2-Hydroxybenzoesäure aus Umsetzungen mit ECF/Pyridin/MeOH und ECF/Pyridin/D ₃ C-OD	84
Abb. 45: Modell der Ausbildung phenolischer Fragmentationen aus aromatischen Ethylcarbonaten über einen sechsgliedrigen Übergangszustand	84
Abb. 46: GC/MS Chromatogramm (Full-Scan, Ionenspur 161) einer Mischung von 10 Ibuprofenestern (je ca. 100 ng)	85
Abb. 47: Massenspektren ausgewählter Ibuprofenester aus Abbildung 46	87
Abb. 48: GC/MS Chromatogramme (Full-Scan, TIC) der Umsetzungen von je 500 ng 2,4- und 2,6-Dibromphenol mit MCF gemäß SOP 4B	89
Abb. 49: Schematische Übersicht des Verhaltens ausgewählter <i>o,o'</i> -disubstituierter acider Analyten in Reaktionen mit MCF, H ⁺ /MeOH, TMSH/MeOH und DMC/DBU	91
Abb. 50: Vereinfachte Darstellung der unterschiedlichen sterischen Hinderung bei der Umsetzung <i>o,o'</i> -disubstituierter Benzoesäuren mit H ⁺ /Methanol oder TMSH	92
Abb. 51: Aspekte der sterischen Hinderung bei der Reaktion <i>o,o'</i> -disubstituierter Benzoesäuren mit Alkylchlormethanoaten und Pyridin	93
Abb. 52: Übersicht der Umsetzung <i>o,o'</i> -disubstituierter Benzoesäuren mit Alkylchlormethanoaten und Pyridin in unpolaren Lösungsmitteln	94
Abb. 53a: Massenspektren und Strukturformeln der alkoxy-carbonylierten Derivate von 2,6-DCBA	94
Abb. 53b: Massenspektren und Strukturformeln der alkoxy-carbonylierten Derivate von 2,6-DMeOBA	95
Abb. 54a: Strukturformel und Massenspektrum der mutmaßlich methoxy-carbonylierten Pentafluorbenzoesäure	95
Abb. 54b: Strukturformeln und Massenspektren von Pentafluorbenzoesäure und ihres mutmaßlich ethoxy-carbonylierten Derivates	96
Abb. 55: GC/MS Chromatogramm (Full-Scan, Ionenspur 173) einer Mischung von zwei 2,6-DCBA-Alkoxylierungsextrakten, der freien Säure sowie 2 µLTMSH (0,25 m in MeOH)	97
Abb. 56: GC/MS Chromatogramme (Full-Scan, Ionenspuren 195, 212, 226) einer Mischung zweier Alkoxylierungsextrakte von Pentafluorbenzoesäure sowie der underivatisierten Mutterverbindung	98
Abb. 57: Modell der Reaktion sterisch gehinderter gemischter Anhydride mit Pyridin	99
Abb. 58: Vergleichende Übersicht der Wirkung von Pyridin und Triethylamin auf die Produktbildung bei Umsetzungen <i>o,o'</i> -disubstituierter Benzoesäuren mit Alkylchlormethanoaten	100
Abb. 59: GC/MS Chromatogramm (Full-Scan, Ionenspur 213 + 247) der Umsetzung von je 500 ng 2,6-DCBA und 2,3,6-TCBA mit MCF/MeOH/Et ₃ N	100

Abb. 60: Schematische Darstellung des entwickelten Wasserschöpfers.....	104
Abb. 61: Schematische Darstellung der entwickelten Filtrationseinheit.....	107
Abb. 62: Schematische Darstellung der Packungsreihenfolge bei der verwendeten Extraktionsgeometrie.....	112
Abb. 63a: Entwicklung der Flußraten bei Oberflächenwasserproben (Elbe) in Abhängigkeit von der Filtrations-/Extraktionsdauer, dem angelegten Unterdruck und der verwendeten Festphase.....	113
Abb. 63b: Entwicklung der Flußraten bei Oberflächenwasserproben (Sielzug) in Abhängigkeit von der Filtrations-/Extraktionsdauer, dem angelegten Unterdruck und der verwendeten Festphase.....	113
Abb. 64a: Darstellung der linearen Regression von 0,5 bis 500 ng Ethinyl- östradiol für die Ionenspuren 425+426+427 nach Derivatisierung mittels MSTFA/TMIS/2-ME gemäß SOP 3.....	127
Abb. 64b: Darstellung der linearen Regression von 0,5 bis 25 ng bei Ethinyl- östradiol für die Ionenspur 425+426+427 nach Derivatisierung mittels MSTFA/TMIS/2-ME gemäß SOP 3.....	128
Abb. 65a: Darstellung der linearen Regression von 0,5 bis 500 ng bei Ethinyl- östradiol für die Ionenspur 285 nach Derivatisierung mittels MSTFA/TMIS/2-ME gemäß SOP 3.....	129
Abb. 65b: Darstellung der linearen Regression von 0,5 bis 25 ng bei Ethinyl- östradiol für die Ionenspur 285 nach Derivatisierung mittels MSTFA/TMIS/2-ME gemäß SOP 3.....	129
Abb. 66: Reaktionsprodukte der Pentafluorbenzoylierung von Estron, Östradiol und Ethinylöstradiol gemäß SOP 7.....	134
Abb. 67: Umsetzung von Estron, Östradiol, Ethinylöstradiol und Mestranol in einer zweistufigen Derivatisierung gemäß SOP 7 + 3.....	135
Abb. 68: Massenspektren der PFBz-TMS-derivate von Estron, Östradiol und Ethinylöstradiol nach einer zweistufigen Derivatisierung gemäß SOP 7 + 3.....	136
Abb. 69: GC/MS Chromatogramm (Full-Scan, Ionenspur 414+416+367+425) der Silylierung des Festphasenextraktes einer mit je 50 ng Estron, Östradiol, Mestranol und Ethinylöstradiol dotierten 2,8 L-Umweltprobe.....	137
Abb. 70: GC/MS Chromatogramme (Full-Scan, Ionenspuren 367, 52, 448, 548) der gekoppelten Pentafluorbenzoylierung - Silylierung des Fest- phasenextraktes einer mit je 50 ng Estron, Östradiol, Mestranol und Ethinylöstradiol dotierten 2,8 L-Umweltprobe.....	137
Abb. 71: GC/MS-Chromatogramm (Full-Scan, Ionenspuren 119, 246) des methanolischen Eluates einer 1,3 L-Umweltprobe (Sielzug Kaltenhörn, Nordfriesland, August 2004) nach Festphasenextraktion und Derivatisierung gemäß SOP 9.....	146
Abb. 72: Vergleich der Massenspektren von Hydroxyibuprofen- trifluorethylester aus der Umweltprobe in Abbildung 71 mit einer Referenzprobe.....	146
Abb. 73: Wiederfindungsraten der Analyten bei heterogener Derivatisierung mit ECF/F ₃ EtOH entsprechend SOP 9 in Anwesenheit einer natürlichen Matrix.....	147
Abb. 74: Wiederfindungsraten der Analyten bei homogener Derivatisierung mit MCF/MeOH entsprechend SOP 8 in Anwesenheit einer natürlichen Matrix.....	147

Abb. 75: Wiederfindungsraten der aciden Analyten nach I/I-Extraktion bei heterogener Derivatisierung.....	150
Abb. 76: Wiederfindungsraten der aciden Analyten aus Referenzmatrix nach I/I-Extraktion bei heterogener Derivatisierung.....	150
Abb. 77: Wiederfindungsraten der aciden Analyten in den Methanoleluaten dotierter 1-Leitungswasserproben (50 bis 500 ng/L) nach Festphasenextraktion (1 g Oasis HLB), fraktionierender Elution sowie I/I-Extraktion und homogener Derivatisierung.....	152
Abb. 78: Wiederfindungsraten der aciden Analyten in den Chloroformeluaten dotierter 1 L-Leitungswasserproben (50 bis 500 ng/L) nach Festphasenextraktion (1 g Oasis HLB), fraktionierender Elution sowie I/I-Extraktion und homogener Derivatisierung.....	152
Abb. 79: Wiederfindungsraten der aciden Analyten in den Methanoleluaten dotierter 1 L-Umweltproben (50 bis 500 ng/L) nach Festphasenextraktion (1 g Oasis HLB), fraktionierender Elution sowie I/I-Extraktion und heterogener Derivatisierung.....	153
Abb. 80: Wiederfindungsraten der aciden Analyten in den Chloroformeluaten dotierter 1 L-Umweltproben (50 bis 500 ng/L) nach Festphasenextraktion (1 g Oasis HLB), fraktionierender Elution sowie I/I-Extraktion und heterogener Derivatisierung.....	153
Abb. 81: Wiederfindungsraten der aciden Analyten in den Methanoleluaten dotierter 1 L-Umweltproben (50 bis 500 ng/L) nach Festphasenextraktion (1 g Oasis HLB), fraktionierender Elution sowie I/I-Extraktion und homogener Derivatisierung.....	154
Abb. 82: Wiederfindungsraten der aciden Analyten in den Chloroformeluaten dotierter 1 L-Umweltproben (50 bis 500 ng/L) nach Festphasenextraktion (1 g Oasis HLB), fraktionierender Elution sowie I/I-Extraktion und homogener Derivatisierung.....	154
Abb. 83: Mittelwerte und relative Standardabweichungen der Gesamtwiederfindungsraten ausgewählter acider Analyten aus dotierten Leitungswasser- und Umweltproben.....	155
Abb. 84: Mittelwerte der Gesamtwiederfindungsraten ausgewählter acider Analyten aus dotierten Leitungswasser- und Umweltproben.....	156
Abb. 85: Detektionsminderung bei sauren Analyten und homogener oder heterogener Derivatisierung durch verschiedene Probenaufarbeitungsschritte.....	157
Abb. 86: Rechnerische Anteile verschiedener Probenaufarbeitungsschritte an der Detektionsminderung saurer Analyten bei homogener Derivatisierung mit MCF.....	158
Abb. 87: GC/MS-Chromatogramm (Full-Scan, Ionenspur 224) des Chloroformeluates einer 2,7 L-Elbprobe (Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH I) nach SPE und Derivatisierung gemäß SOP 9.....	161
Abb. 88: GC/MS-Chromatogramm (Full-Scan, Ionenspur 156) des Chloroformeluates einer 2,7 L-Elbprobe (Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH I) nach SPE und Derivatisierung gemäß SOP 8.....	162
Abb. 89a: Massenspektren von Bayrepel-säure-trifluorethylester aus der Elbprobe Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH I und der synthetisierten Referenzverbindung.....	162
Abb. 89b: Massenspektren von Bayrepel-säure-methylester aus der Elbprobe Hamburg, 08/2004, Serie HH I und der synthetisierten Referenzverbindung.....	162

Abb. 90: GC/MS-Chromatogramm des mit MCF derivatisierten Chloroform- eluates der Elbprobe Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH I (Full-Scan, Ionenspur 119+200+214+277+215+182+257).....	165
Abb. 91: GC/MS-Chromatogramm der mit MCF derivatisierten vereinigten polaren Eluate der Elbprobe Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH II (Full-Scan, Ionenspur 119+200+214+277+215+182+257).....	167
Abb. 92: Extraktionsschema A - Aufarbeitung einer Mischung der polaren Eluate aus 2,8 L-Elbwasserproben (Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH II).....	168
Abb. 93a: GC/MS-Chromatogramm der underivatisierten organischen Phase III aus der Elbprobe Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH II (Full-Scan, Ionenspur 119+200+214+277+194+215+182+257).....	170
Abb. 93b: GC/MS Chromatogramm eines Chloroformeluates der Elbprobe Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH II (Full-Scan, Ionenspur 277).....	171
Abb. 94: GC/MS-Chromatogramm (Full-Scan, Ionenspur 141+162) des heterogen derivatisierten Eluates einer 2,8-L Elbprobe (Hamburg, Fähranleger Neu- mühlen, 10/2004, Serie HH III).....	172
Abb. 95: Massenspektren von MCPA-trifluorethylester aus der Elbprobe, Hamburg, Kühlhauskai Neumühlen, 10/2004, Serie HH III und von der Referenzverbindung.....	172
Abb. 96: Massenspektren von Dichloprop-trifluorethylester aus der Elbprobe Hamburg, Kühlhauskai Neumühlen, 10/2004, Serie HH III und von der Referenzverbindung.....	173
Abb. 97: GC/MS Chromatogramm (Full-Scan, Ionenspur 141+162) des heterogen derivatisierten Eluates einer 2,8 L-Elbprobe (Hamburg, Kühlhauskai Neumühlen, 10/2004, Serie HH IV).....	176
Abb. 98: GC/MS-Chromatogramm eines Elbproben-Chloroformeluates nach I/I-Extraktion aus basischem Milieu mit Toluol/EE ((10:1, v,v)) (Full-Scan, Ionenspur 190+200+214+277+194+215+236) (Hamburg, Kühlhauskai Neumühlen, 10/2004, Serie HH IV).....	179
Abb. 99: Schema der Gesamtmethode zur Bestimmung neutraler, basischer und saurer Analyten aus matrixreichen Umweltproben.....	182
Abb. 100: Zahl der PPCP-Positivbefunde in den 21 untersuchten Oberflächen- und Leitungswasserproben der Probenserie II.....	190
Abb. 101: Zahl der Positivbefunde von PPCP-Metaboliten in den 21 untersuchten Oberflächen- und Leitungswasserproben der Probenserie II.....	191
Abb. 102: Durchschnittlich ermittelte Konzentrationen ausgewählter PPCPs in den 21 untersuchten Oberflächen- und Leitungswasserproben der Proben- serie II.....	192
Abb. 103: Durchschnittliche ermittelte Konzentrationen ausgewählter PPCP- Metaboliten in den 21 untersuchten Oberflächen- und Leitungswasser proben der Probenserie II.....	192
Abb. 104: Vergleich der durchschnittliche Konzentration ausgewählter PPCP Analyten in Proben der Probenserie II aus Europa und Vietnam.....	194
Abb. 105: Vergleich der relativen Anteile von Ibuprofen und seinen Hauptmetaboliten in unterschiedlichen Proben.....	196
Abb. 106: Zahl der Positivbefunde von Pestiziden und Pestizidmetaboliten in den 21 untersuchten Oberflächen- und Leitungswasserproben der Proben- serie II.....	199

Abb. 107: Durchschnittlich ermittelte Konzentrationen der Pestizidanalyten in den 21 untersuchten Oberflächen- und Leitungswasserproben der Probenreihe II	200
Abb. 108: Detektion von Atrazin und Terbutylazin in Havel, Elbe und Moldau.....	201
Abb. 109: Zahl der Positivbefunde von Halogenaminen, -anisolen, -indolen und -phenolen in den 26 untersuchten Oberflächen- Leitungs- und Abwasserproben der Probenreihe II.....	204
Abb. 110: GC/MS-Chromatogramm (Full-Scan: 80 bis 800 amu) des methanolischen Eluates einer 2,8 L-Umweltprobe (Husumer Hafen, April 2003) nach Festphasenextraktion und Derivatisierung gemäß SOP 6	206
Abb. 111: Massenspektren der Verbindungen I und II aus Abbildung 110.....	206
Abb. 112: Vergleichende Übersicht der Massenspektren zweier mutmaßlicher Chlorphenylethansäurederivate und verfügbarer Referenzsubstanzen.....	208
Abb. 113: Zahl der Positivbefunde von Phenylethansäure und ausgewählten chlorierten Benzoe- (CBA) und Phenylethansäurederivaten (CPAA) in den 21 untersuchten Realproben der Probenreihe II.....	211
Abb. 114: Durchschnittlich ermittelte Konzentrationen der am häufigsten detektierten chlorierten Benzoe- (CBA) und Phenylethansäurederivate (CPAA) in den 21 untersuchten Oberflächen- und Leitungswasserproben der Probenreihe II.....	212
Abb. 115: Konzentration der in den Klärwerksproben vorwiegend gefundenen Phenylethansäure (PAA) und chlorierten Phenylethansäurederivate.....	213
Abb. 116: Konzentration der in den Klärwerksproben vorwiegend gefundenen chlorierten Benzoessäurederivate.....	214
Abb. 117: Differenzen der Retentionszeiten der heterogen derivatisierten Analyten gegenüber den homogen derivatisierten Analyten aus Standardmischung SI bei Verwendung einer 15 m GC-Kapillarsäule des Typs VB1701	226
Abb. 118: Massenspektren von Pentachlorphenolmethyl- und -ethylcarbonat.....	228
Abb. 119: Relation ionenspurspezifischer Signalfächen von heterogen und homogen erzeugten Derivaten.....	229
Abb. 120: Diagramm der relativen Standardabweichungen für n = 3 bei den Derivaten der Standardmischung S I nach Umsetzung mit ECF/Pyridin/F ₃ EtOH	230
Abb. 121: Wiederfindung der Analyten nach dem Abblasen der Edukte 10 s und 30 s über den Trockenpunkt hinaus.....	232
Abb. 122a: Relative Standardabweichungen (n = 3) der Derivatpeakflächen nach Umsetzung der Standardmischung S I mit MCF/Pyridin/MeOH/H ₂ O.....	233
Abb. 122b: Relative Standardabweichungen (n = 3) der Derivatpeakflächen nach Umsetzung der Standardmischung S I mit ECF/Pyridin/F ₃ EtOH.....	233
Abb. 123a: Relation der Derivatpeakflächen bei Aufarbeitung der MCF/Pyridin/MeOH/H ₂ O – Ansätze mit n-Hexan-Diethylether (1:1) oder n-Hexan.....	234
Abb. 123b: Relation der Derivatpeakflächen bei Aufarbeitung der ECF/Pyridin/F ₃ EtOH – Ansätze mit n-Hexan-Diethylether (1:1) oder n-Hexan.....	235
Abb. 124: Darstellung der für Salicylsäure im Rahmen der Gesamtmethode ermittelten Trendlinien, Geradengleichungen und Regressionskoeffizienten.....	238
Abb. 125: Vergleich der linearen Regressionen III und IV für Salicylsäure.....	240
Abb. 126: Graphische Darstellung der Entwicklung normierter Signalfächen bei der Messung von Wiederfindungsproben und Standardsubstanzmengen am Beispiel von Salicylsäure.....	241

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Bezeichnungen nach IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) und Kurzbeschreibungen der eingesetzten chlorierten Benzoensäuren.....	14
Tab.2: Bezeichnungen nach IUPAC und Kurzbeschreibungen der eingesetzten chlorierten Phenylethansäuren.....	15
Tab. 3: Bezeichnungen und Kurzbeschreibungen der eingesetzten Phenoxyalkylcarbonsäuren.....	16
Tab. 4: Bezeichnungen und Kurzbeschreibungen aller eingesetzter weiteren Carbonsäuren.....	19
Tab. 5: Bezeichnungen und Kurzbeschreibungen der eingesetzten Phenolderivate.....	21
Tab. 6: Bezeichnungen und Kurzbeschreibungen der eingesetzten Steroide.....	23
Tab. 7: Bezeichnungen und Kurzbeschreibungen der eingesetzten Halogenaniline.....	24
Tab. 8: Bezeichnungen und Kurzbeschreibungen der eingesetzten weiteren stickstoffhaltigen Verbindungen.....	26
Tab. 9: Bezeichnungen und Kurzbeschreibungen der eingesetzten halogenierten Anisole.....	28
Tab. 10: Bezeichnungen und Kurzbeschreibungen der eingesetzten weiteren Verbindungen.....	29
Tab. 11: Bezeichnungen und Kurzbeschreibungen der eingesetzten internen Standardverbindungen.....	32
Tab. 12: Übersicht über die in den zitierten Literaturstellen eingesetzten östrogenen Edukte, Reagenzien, Reaktionsbedingungen und Produkte.....	37
Tab. 13: Zusammensetzung und Anwendung spezieller Chlormethanoat-Reagenzien.....	62
Tab. 14: Alkylierung funktioneller Gruppen bei halogenierten Benzoe- (CBA) und Phenylethansäuren (CPAA) sowie den deuterierten Surrogatstandards durch Derivatisierungen gemäß SOP 4B und 4C.....	72
Tab. 15: Alkylierung funktioneller Gruppen bei Phenoxyalkylcarbonsäuren durch Derivatisierungen gemäß SOP 4B und 4C.....	72
Tab. 16: Alkylierung und Alkoxy-carbonylierung funktioneller Gruppen bei weiteren Carbonsäuren durch Derivatisierungen gemäß SOP 4B & 4C.....	73
Tab. 17: Alkoxy-carbonylierung funktioneller Gruppen bei Phenolen durch Derivatisierungen gemäß SOP 4B und 4C.....	73
Tab. 18: Zuordnung der Analyten und ihrer eingesetzten absoluten Mengen zu den Derivatsignalen aus Abb. 38.....	75
Tab. 19: Übersicht technischer Daten einiger handelsüblicher Glasfaser-rundfilter.....	108
Tab. 20: Detektion ausgewählter Analyten in verschiedenen Eluaten nach der Festphasenextraktion dotierter 2,8 L-Leitungswasserproben mit SDB-1.....	116
Tab. 21: Wiederfindungsraten ausgewählter polarer Analyten in verschiedenen Eluatfraktionen nach der Festphasenextraktion dotierter 2,8 L-Leitungswasserproben mit SDB-1.....	117

Tab. 22: Detektion ausgewählter Steroide in verschiedenen Eluatfraktionen nach Festphasenextraktion einer dotierten 2,8 L - Leitungswasserprobe mit SDB-1.....	118
Tab. 23: Detektion ausgewählter polarer und mittelpolarer Analyten in verschiedenen Eluatfraktionen nach der Festphasenextraktion einer dotierten 2,8 L-Leitungswasserprobe mit SDB-1.....	119
Tab. 24: Wiederfindungsraten ausgewählter polarer und mittelpolarer Analyten in verschiedenen Eluatfraktionen nach der Festphasenextraktion dotierter 2,8 L-Leitungswasserproben mit SDB-1.....	119
Tab. 25: Detektion ausgewählter polarer und mittelpolarer Analyten in verschiedenen Eluatfraktionen nach der Festphasenextraktion einer dotierten 2,8 L-Leitungswasserprobe mit Oasis HLB.....	120
Tab. 26: Wiederfindungsraten ausgewählter polarer und mittelpolarer Analyten in verschiedenen Eluatfraktionen nach der Festphasenextraktion dotierter 2,8 L-Leitungswasserproben mit Oasis HLB.....	121
Tab. 27: Detektion von 70 ausgewählten Analyten in verschiedenen Eluatfraktionen nach der Festphasenextraktion von dotierten 2,8 L-Leitungswasserproben mit Oasis HLB.....	123
Tab. 28: Reproduzierbarkeit, Bestimmungsgrenzen und Koeffizienten der linearen Regression ausgewählter Analyten bei der Silylierung mit MSTFA/TMIS/2-ME gemäß SOP 3.....	130
Tab. 29: Wiederfindungsraten östrogenen Analyten aus 2,8 L-Leitungswasser nach Festphasenextraktion, fraktionierender Elution und Derivatisierung des Chloroformeluates mittels MSTFA/TMIS/2-ME.....	131
Tab. 30: Analytische Parameter der Festphasenextraktion saurer Analyten aus dotierten 10 L-Reinstwasserproben und der Derivatisierung mit Methylchlormethanoat.....	140
Tab. 31: Übersicht der mit verschiedenen Derivatisierungen erzielten Signal/Rausch-Verhältnisse von Target-Analyten einer Realprobe.....	142
Tab. 32: Übersicht über die mit verschiedenen Methoden erzielten Ionenspur-spezifischen Signal/Rausch-Verhältnisse von Target-Analyten in einer 2,7 L-Elbprobe.....	159
Tab. 33: Übersicht über die in den polaren Eluatfraktionen von 2,8 L-Elbproben (Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH I) detektierten basischen und neutralen Umweltkontaminanten.....	164
Tab. 34: Übersicht über die ohne I/I-Extraktion in den polaren Eluatfraktionen von 2,8 L-Elbproben (Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH II) detektierten sauren, basischen und neutralen Umweltkontaminanten.....	166
Tab. 35: Übersicht über die mit I/I-Extraktion in den polaren Eluatfraktionen von 2,8 L-Elbproben (Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH II) detektierten sauren, neutralen und basischen Umweltkontaminanten.....	169
Tab. 36: Übersicht über die mit unterschiedlichen I/I-Extraktionen in polaren Eluaten von 2,8 L-Realproben (Elbe, Hamburg, Kühlhauskai Neumühlen, 10/2004, Serie HH IV) detektierten sauren Targetanalyten.....	175
Tab. 37: Übersicht über die mit unterschiedlichen I/I-Extraktionen in polaren Eluaten von 2,8 L-Realproben (Elbe, Hamburg, Kühlhauskai Neumühlen, 10/2004, Serie HH IV) detektierten neutralen und basischen Targetanalyten.....	177
Tab. 38: Für die Untersuchung von Realproben ausgewählte Analyten.....	185
Tab. 39: Detektion ausgewählter Analyten in 9 untersuchten Oberflächenwasserproben der Probenserie I.....	188

Tab. 40: Detektion ausgewählter PPCP-Analyten in den 21 Oberflächen- und Leitungswasserproben der Probenserie II.....	189
Tab. 41: Detektion ausgewählter PPCP-Analyten in 5 untersuchten Klärwerksproben bzw. Proben mit Abwasseranteilen aus der Probenserie II.....	195
Tab. 42: Detektion ausgewählter Pestizide und Pestizidmetaboliten in den 26 untersuchten Oberflächen-, Leitungs- und Abwasserproben der Probenserie II.....	198
Tab. 43: Detektion ausgewählter Halogen-amine, -anisole, -indole und -phenole in den 26 untersuchten Oberflächen-, Leitungs- und Abwasserproben der Probenserie II.....	203
Tab. 44: Detektion von Phenylethansäure und ausgewählten chlorierten Benzoe- und Phenylethansäurederivaten in den 26 untersuchten Oberflächen-, Leitungs- und Abwasserproben der Probenserie II.....	210
Tab. 45: Einzelkomponenten und ihre Konzentrationen in der Standardmischung S I.....	225
Tab. 46: Auflistung der Quantifizierungsionen (Quant.-Ion) für die Bestimmung von Derivatignalflächen nach Umsetzungen von Standardanalyten mit ECF/Pyridin/F ₃ EtOH (ECF*) oder MCF/Pyridin/MeOH/H ₂ O (MCF*).....	227
Tab. 47: Übersicht über die Retentionsfolgen, Siedepunkte und in Abbildung 120 aufgeführten relativen Standardabweichungen der Analyten mit phenolischen Funktionen.....	231
Tab. 48: Normierte Signalflächen, Koeffizienten linearer Regressionen, Wiederfindungsraten, und Standardabweichungen für Salicylsäure im Rahmen der Gesamtmethode.....	237
Tab. 49: Validierungsparameter carboxylischer Analyten aus Methanoleluaten nach I/I-Extraktion und heterogener Derivatisierung mittels ECF/F ₃ EtO.....	242
Tab. 50: Validierungsparameter phenolischer Analyten aus Methanoleluaten nach I/I-Extraktion und heterogener Derivatisierung mittels ECF/F ₃ EtOH.....	243
Tab. 51: Validierungsparameter phenolischer Analyten aus Chloroformeluaten nach I/I-Extraktion und heterogener Derivatisierung mittels ECF/F ₃ EtOH.....	244
Tab. 52: Validierungsparameter der Summe phenolischer Analyten aus den Chloroform- und Methanoleluaten, jeweils nach I/I-Extraktion und heterogener Derivatisierung mittels ECF/F ₃ EtOH.....	245
Tab. 53: Validierungsparameter neutraler und basischer Analyten aus Chloroformeluaten nach I/I-Extraktion.....	246
Tab. 54: Validierungsparameter neutraler und basischer Analyten aus den <i>n</i> -Hexaneluaten nach I/I-Extraktion.....	247
Tab. 55: Validierungsparameter der Summe neutraler und basischer Analyten aus <i>n</i> -Hexan- und Chloroformeluaten nach I/I-Extraktion.....	248
Tab. 56: Validierungsparameter carboxylischer Analyten aus Methanoleluaten nach I/I-Extraktion und homogener Derivatisierung mittels MCF/MeOH.....	249
Tab. 57: Synthetisierte und isolierte Referenzsubstanzen.....	251
Tab. 58: Verwendete Lösungsmittel, Referenzsubstanzen und Reagenzien.....	264
Tab. 59: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe.....	295
Tab. 60: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Elbe bei Hamburg, Kühlhauskai Neumühlen.....	296
Tab. 61: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Elbe bei Stade.....	297

Tab. 62: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Weser bei Berne	298
Tab. 63: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Weser bei Brake	299
Tab. 64: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe aus dem Hunte-Osthafen bei Oldenburg	300
Tab. 65: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Hunte in Oldenburg, Ufer Amalienstraße	301
Tab. 66: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe des Nord-Ostseekanals bei Borgstedt	302
Tab. 67: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Mühlenau in Husum	303
Tab. 68: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Ostsee bei Maasholm	304
Tab. 69: Detektion ausgewählter Analyten in einer Klärwerksablaufprobe aus Schleswig-Holstein, Nordfriesland	305
Tab. 70: Detektion ausgewählter Analyten in einer Klärwerkszulaufstichprobe aus Schleswig-Holstein, Nordfriesland	306
Tab. 71: Detektion ausgewählter Analyten in einer Klärwerkszulaufmischprobe aus Schleswig-Holstein, Nordfriesland	307
Tab. 72: Detektion ausgewählter Analyten in einer Leitungswasserprobe aus Potsdam/Clara-Zetkin-Straße	308
Tab. 73: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Havel bei Potsdam, Fähranleger Pfaueninsel	309
Tab. 74: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Havel an der Bundesgrenze Berlin-Brandenburg, Griebnitzsee	310
Tab. 75: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe aus dem Templiner See in Potsdam	311
Tab. 76: Detektion ausgewählter Analyten in einer Ostseeprobe aus Saksköbing	312
Tab. 77: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe aus Dänemark, Maribo-See	313
Tab. 78: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Moldau bei Prag, Roztoky u Prahy	314
Tab. 79: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Moldau bei Prag-Bubenec	315
Tab. 80: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Moldau bei Prag-Podbaba	316
Tab. 81: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Moldau bei Prag-Sedlec	317
Tab. 82: Detektion ausgewählter Analyten in einer Leitungswasserprobe aus Hanoi-City	318
Tab. 83: Detektion ausgewählter Analyten in einer kommunal belasteten Oberflächenwasserprobe aus Vietnam, Hanoi-Stadt	319
Tab. 84: Detektion ausgewählter Analyten in einer kommunal und industriell belasteten Oberflächenwasserprobe aus Vietnam, Hanoi-Stadt	320
Tab. 85: Detektion ausgewählter Analyten in Oberflächenwasserproben aus Hamburg	321
Tab. 86: Detektion ausgewählter Analyten in Oberflächenwasserproben aus Schleswig-Holstein	322

Abkürzungsverzeichnis	
2,4,5-T	2,4,5-Trichlorphenoxyethansäure
2,4-D	2-(2,4-Dichlorphenoxy)propansäure
2-ME	2-Hydroxy-1-ethanthiol (2-Mercaptoethanol)
4-C-3-MePOH	4-Chlor-3-methylphenol
Abb.	Abbildung
AD10	Anthracen-D ₁₀
amu	atomar mass unit
Bayrepelel-COOH	2-Carboxymethylpiperidin-1-(1-methylpropyl)methanoat
BPOH	Bromphenol
BSA	Bis(trimethylsilyl)ethanamid
BSTFA	<i>N,O</i> -Bis(trimethylsilyl)trifluoethanamid
CBA	Chlorbenzoesäure
CPAA	Chlorphenylethansäure (Chlorphenylessigsäure)
CPOH	Chlorphenol
DBPOH	Dibromphenol
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCBA	Dichlorbenzoesäure
DCBA-Me	Dichlorbenzoesäuremethylester
DCPAA	Dichlorphenylethansäure (Dichlorphenylessigsäure)
DCPOH	Dichlorphenol
DCPPA	Dichlorphenylpropansäure
DDT	1,1,1-Trichlor-2,2- <i>bis</i> -chlorphenylethan
DEET	<i>N,N</i> -Diethyltoluylamid
Dichloprop	2-(4-Chlor-2-methylphenoxy)propansäure
DMC	1,1- <i>Bis</i> -(4-chlorphenyl)-ethanol
DMeOBA	Dimethoxybenzoesäure
DTE	1,4-Dihydroxy-2,3-butandithiol (Dithioerythrit, Dithioerythrol)
ECM	Ethylchloromethanoat (Ethylchlorformiat)
f.d.GC	Für die Gaschromatographie
GC	Gaschromatographie
GC/MS/MS	Gaschromatographie/Tandemmassenspektrometrie
ggf.	gegebenenfalls
HCB	Hexachlorbenzol
HCH	Hexachlorcyclohexan
HFBA	Heptafluorbutansäureanhydrid
HHCb	1,3,4,6,7,8-Hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethylcyclopenta-8g)-2-benzopyran

HHCB-on	1,3,4,6,7,8-Hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethylcyclopenta-8g)-2-benzopyran-1-on
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
iBCF	1-Methylpropylchlormethanoat (Isobutylchlorformiat)
Ibu-COOH	3-[4-(1-Carboxyethyl)phenyl]-2-methylpropansäure
Ibu-OH	2-[4-(2-Hydroxy-2-methylpropyl)phenyl]-propansäure
iPCF	1-Methylethylchlormethanoat (Isopropylchlorformiat)
iStd	Interner Standard
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
k.A.	keine Angabe
l/l	flüssig/flüssig
Lit.	Literatur
LOD	Nachweisgrenze (Limit of Determination)
LOQ	Quantifizierungsgrenze (Limit of Quantification)
m/z	Masse/Ladung
MBTFA	<i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -trifluoethanoyl-trifluoethanamid
MCM	Methylchlormethanoat (Methylchlorformiat)
MCPA	4-Chlor-2-methylphenoxy)ethansäure
MD3	Mecoprop-D ₃
MeI	Methyliodid
mögl.	mögliches
MS	Massenspektrometrie
MSTFA	<i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -trimethylsilyltrifluoethanamid
MTBSTFA	<i>N</i> -Dimethyl(dimethylethyl)silyl)- <i>N</i> -methyltrifluoethanamid
n.d.	nicht detektiert
NCI	Negative Chemische Ionisation
<i>n</i> H/TCM/MeOH	<i>n</i> -Hexan/Trichlormethan/Methanol
p.	purum
PAA	Phenylethansäure (Phenylelessigsäure)
p.a.	pro analysi
PAA-D5	Phenylethansäure-D ₅ (Phenylelessigsäure-D ₅)
PAH	Polycyclische Aromatische Kohlenwasserstoffe
PCB	Polychlorierte Biphenyle
PCF	<i>n</i> -Propylchlormethanoat (<i>n</i> -Propylchlorformiat)
PCPOH	Pentachlorphenol
PFBA	Pentafluorbenzoesäure
PFBnBr	Pentafluorbenzylbromid
PFBzCl	Pentafluorbenzoylchlorid
PFPA	Pentafluorpropansäureanhydrid
POP	Persistent Organic Pollutants
PPCP	Pharmaceuticals and Personal Care Products

rel. Stabw.	relative Standardabweichung
SOP	Standard-Operation-Procedure
SPE	Solid-Phase-Extraction
SPME	Solid-Phase-Micro-Extraction
Std	Standard
Tab.	Tabelle
TBDMCS	Chlordimethyl(dimethyl)ethylsilan
TBPOH	Tribromphenol
TCBA	Trichlorbenzoesäure
TCPAA	Trichlorphenylethansäure (Trichlorphenylethansäure)
TCPOH	Trichlorphenol
TCPP	Tris(chlorpropyl)phosphat
TFAA	Trifluoethansäureanhydrid
<i>t</i> -HCE	<i>trans</i> -Heptachlorepoxyd
TLC	Thin Layer Chromatography
TMAH	Tetramethylammoniumhydroxid
TMCS	Chlortrimethylsilan (Trimethylchlorsilan)
TMIS	Trimethyliodsilan
TMS	Trimethylsilyl
TMSH	Trimethylsulfoniumhydroxid
TMSIM	Trimethylsilylimidazol
u.a.	unter anderem
Us	Ultraschall
v/v	Volumen/Volumen
Vol.	Volumen
Wf	Wiederfindung
WFR	Wiederfindungsrate
z.A.	Zur Analyse
z.B.	zum Beispiel

1. Einleitung

1.1 organische Spurenanalytik

Das nachfolgend vorgestellte Promotionsvorhaben befaßt sich mit mehreren zentralen Fragestellungen der aktuellen organischen Umwelt- und Spurenanalytik. Die Bedeutung dieser Analytik für Politik, Wirtschaft und den Verbraucher wird deutlich, wenn man sich erinnert, daß die Aufklärung der jüngsten Lebensmittel- und Umweltkontaminationen nur durch spurenanalytische Methoden möglich war. Als am stärksten öffentlich diskutierte Beispiele der letzten Jahre seien der Nachweis von Nitrofen in Geflügel- und Getreide^[1,2], Antibiotika in Lebensmitteln wie Honig^[3,4] bzw. asiatischen Garnelen^[5-7] oder Acrylamid in erhitzten stärkehaltigen Produkten wie Knäckebrot, Pommes frites oder Lebkuchen aufgeführt^[8-10]. Die hier genannten Substanzen sind entweder toxisch (Nitrofen: giftig, krebserzeugend, fruchtschädigend^[11], Acrylamid: giftig, krebserzeugend, erbgutverändernd, sensibilisierend, fortpflanzungsgefährdend^[12]) oder können selbst bei bestimmungsgemäßer Anwendung erhebliche Nebenwirkungen aufweisen.

Der Nachweis kleinster Substanzmengen ist die tägliche Praxis in praktisch allen Bereichen des Lebens, so beispielsweise in der routinemäßigen Überwachung von Lebensmitteln und Gebrauchsgegenständen, bei der Entwicklung, Erzeugung, Anwendung und Entsorgung industrieller Produkte, in der klinischen Diagnostik ebenso wie in der Kriminalistik, Forensik usw. Sogar im Sport wird regelmäßig spurenanalytisch auf unzulässig verwendete Substanzen geprüft, was in den letzten Jahren, insbesondere bei Spitzensportlern, unerfreulich häufig zu Positivbefunden führte. Ein aktuelles Beispiel hierfür ist die gegenwärtig aufgedeckte Dopingpraxis im Fahrradrennsport^[13]. Für eine Bewertung der hier nur auszugsweise angeführten Untersuchungen sind quantitative Ergebnisse zumeist unerlässlich. Diese müssen von hoher oder höchster Zuverlässigkeit sein, wenn aus den ermittelten Daten politische, legislative oder wirtschaftliche Konsequenzen abgeleitet werden. Entsprechend angemessen muß die Qualitätssicherung bei der Entwicklung und Anwendung analytischer Verfahren berücksichtigt werden.

1.2 organische Substanzen in der aquatischen Umwelt

Selbstverständlich ist auch die Qualität des allgemeinen Lebensgutes Wasser ein weit über die Naturwissenschaften hinaus relevantes Thema, so daß zahlreiche Gesetze und Richtlinien zum Schutze und zur Reinhaltung aller Arten von Wässern, insbesondere von Trinkwasser, ins Leben gerufen wurden^[15]. Da aber nur geregelt werden kann, was bekannt ist, müssen über die Erfassung bekannter Analyten hinaus für die Neubestimmung von Fremd- und Schadstoffen zunehmend empfindlichere, spezialisierte -und deshalb häufig aufwendige Analysemethoden entwickelt werden^[16], denn einerseits nimmt die Zahl neu angewendeter und damit in die Umwelt eingetragener Wirkstoffe beständig zu, und andererseits zeigt sich, daß viele Fremdstoffe erst spät entdeckt werden. Die analytische Erfassung durch Struktur- aufklärung, Quellenermittlung, Quantifizierung und auch die entsprechende Risikobewertung erfolgen aufgrund fehlender Methoden oder Untersuchungen oft lange, nachdem die entsprechenden Substanzen bereits in die Umwelt eingetragen wurden und sich darin weiträumig verteilt haben^[17].

1.2.1 Eintrag & Verteilung

Organische Verbindungen können aus diversen Quellen und über eine Vielzahl möglicher Transportwege in die aquatische Umwelt gelangen, so daß es hierzu nur wenig gesicherte Daten gibt. Deshalb soll an dieser Stelle nur ein genereller Überblick gegeben werden. Prinzipiell können Stoffe in die Umwelt gelangen, sobald sie produziert und angewendet werden. Dabei stellen die Produktions-, Lager- oder Entsorgungsstandorte, wenn von ihnen Emissionen ausgehen, zumeist Punktquellen dar, während der Einsatz der in den Verkehr gebrachten Produkte, also beispielsweise Konservierungsmittel, Pharmazeutika, oder Agrarchemikalien üblicherweise zu diffusen Einträgen in die Umwelt führt. Haupteintragspfade von Xenobiotika (der Natur fremde, biologisch aktive Substanzen) in die aquatische Umwelt sind industrielle, kommunale und private Abwässer. Diese werden zumeist direkt in Flüsse, Seen oder das Meer eingeleitet. Als weitere wichtige Eintragsquelle sind Auswaschungen von Böden oder Anlagen anzusehen. Hier stellt praktisch die gesamte vom Menschen irgendwie genutzte und mit Wasser in Kontakt stehende Fläche eine mögliche Quelle von Umweltkontaminationen dar. Zu diesen Quellen zählen natürlich insbesondere die Agrarflächen, auf die große Mengen biologisch aktiver Chemikalien ausgebracht werden. Letztlich aber ist davon auszugehen, daß auch von technischen Einrichtungen wie Gebäuden, Schiffen, Hafenanlagen, Automobilen usw. beständig anthropogene Substanzen abgelöst werden und auch in die aquatische Umwelt gelangen. Gleiches gilt für Einträge aus dem Luftkörper. Mit der Luftmassenbewegung können gasförmige oder an Stäube gebundene Chemikalien über weite Strecken transportiert werden, um dann mit Regen & Schnee wieder niederzugehen. Auf diese Weise findet sogar ein Schadstoffeintrag bis in polare Regionen statt^[17].

In Abhängigkeit von ihrer Struktur können sich Substanzen nach ihrer Freisetzung unterschiedlich schnell in den Umweltkompartimenten Luft, Wasser, Boden verteilen (Abb. 1). So ist z. B. von sehr großen unpolaren Molekülen, die, wie viele künstliche Polymere, haltbare und formgebende Eigenschaften haben, eine geringe Mobilität zu erwarten, während sich hingegen kleine, flüchtige Moleküle wie beispielsweise die den Kunststoffen als Weichmacher zugesetzten „Plasticiser“ (vorwiegend Phthalsäure- und Phosphorsäureester) so schnell und weiträumig ausbreiten, daß sie als allgegenwärtige Umweltschadstoffe auftreten^[18]. Ebenso strukturabhängig ist dann nachfolgend der Austausch zwischen den Umweltkompartimenten. Weniger polare Substanzen, wie etwa 1,1,1-Trichlor-2,2-bis-chlorphenylethan (DDT) oder Hexachlorcyclohexan (HCH), können zumeist leicht an Austauschprozessen an der Grenzfläche Wasser-Luft oder Wasser-Boden teilnehmen oder sich in lebenden Organismen anreichern^[19], so daß hier nicht nur ein Eintrag in das Wasser stattfindet, sondern auch Abreicherungsprozesse möglich sind. Polarere Verbindungen mit niedriger Flüchtigkeit hingegen, wie beispielsweise viele Pharmazeutika, sind vorwiegend an die wäßrige Phase gebunden. Das bedeutet, daß für solche Stoffe der Transport und Eintrag in das aquatische Ökosystem vorrangig durch Einleitungen und Auswaschungen vonstatten geht, die Stoffe dann aber bis zu einem möglichen Abbau hauptsächlich im Wasserkörper verbleiben.

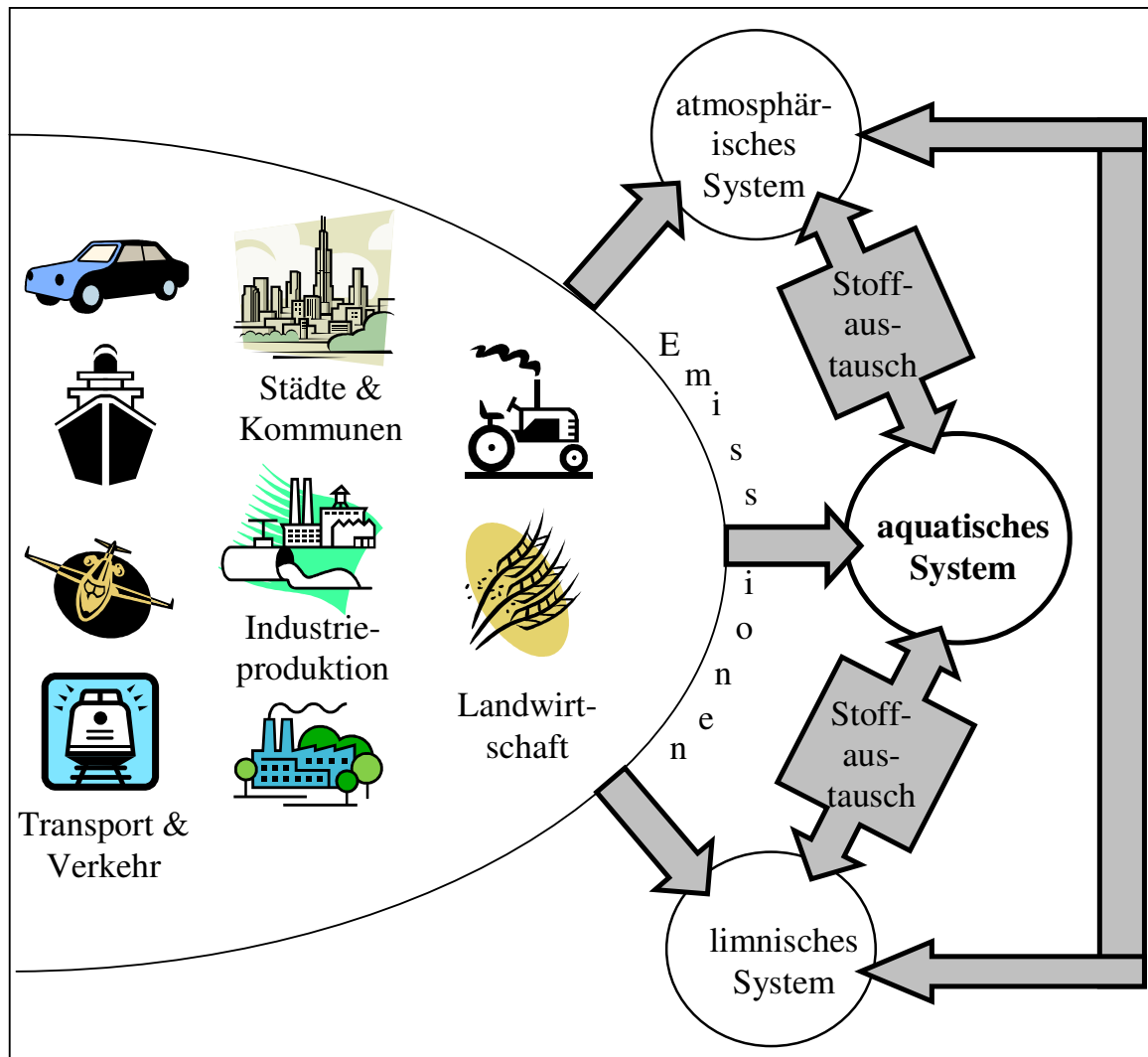


Abb. 1: Schematische Darstellung der Haupteintragsquellen von anthropogenen Schadstoffen in die Umwelt und des möglichen Stoffaustauschs zwischen allen Kompartimenten

1.2.2 organische Xenobiotika in aquatischen Systemen

Grundsätzlich ist davon auszugehen, daß alle organischen Verbindungen, die in großem Maßstab produziert werden, letztlich in die Umwelt gelangen. Ob diese Stoffe dann tatsächlich in Wässern nachgewiesen werden können, hängt überwiegend von der insgesamt freigesetzten Menge, der Verteilung in den Umweltkompartimenten und von der jeweiligen Stoffpersistenz ab. Zudem müssen entsprechend leistungsfähige Analysemethoden verfügbar sein und natürlich auch die Kenntnis über die gesamte in Frage kommende chemische Produktpalette. Gerade die beiden letztgenannten Punkte haben dazu geführt, daß, wie bereits unter Abschnitt 1.2 erwähnt, ganze Substanzgruppen sehr spät, also lange nach ihrer weiträumigen Verbreitung, in der Umwelt nachgewiesen wurden. Beispiele hierfür sind das Vor-

kommen von Moschusduftstoffen in Luft, Wasser und lebenden Organismen^[20,21a,b] oder von Pharmazeutika in Flüssen, Meer- und Trinkwasser^[22-25]. Solche Substanzen, die zu der Gruppe der sogenannten PPCPs (*Pharmaceuticals & Personal Care Products*) gehören, kamen im Gegensatz zu altbekannten Umweltschadstoffen erst in den letzten Jahren unter analytische Beobachtung, obwohl sie in großtechnischen Mengen produziert und weltweit angewendet werden. Beispielsweise wurden in den Jahren 1980 bis 2000 allein in Deutschland jährlich zwischen 0,65 und 1,1 Milliarden (!) Arzneimittelverordnungen ausgestellt^[26]. In diesen Konsum gehen weder veterinärmedizinische Anwendungen noch die Verwendung rezeptfreier Pharmazeutika ein. Ursächlich für die späte Entdeckung ihrer Umweltpräsenz war einerseits ein Mangel an entsprechenden Methoden um diese zumeist polarerer Verbindungen aus einer Umweltmatrix heraus anzureichern und empfindlich nachzuweisen, andererseits fehlte auch einfach das Bewußtsein, daß die Anwendung von Medikamenten oder Körperpflegemitteln zu einem erheblichen Umwelteintrag führt.

Weitere „neue“ Schadstoffklassen, die in den letzten Jahren verstärkt in der aquatischen Umwelt (inclusive mariner Biota und Sedimenten) beobachtet werden, sind u.a. polybromierte Flammschutzmittel, (polyfluorierte) oberflächenaktive Verbindungen und Weichmacher aus der Kunststoffindustrie^[17,27-31]. Zu den klassischen organischen Kontaminanten der aquatischen Systeme zählen beispielsweise PAHs (*Polycyclische Aromatische Kohlenwasserstoffe*) PCBs (*Polychlorierte Biphenyle*), metallorganische Verbindungen und praktisch alle Pestizide^[32-38]. Wie umfangreich solche Substanzgruppen – und damit auch die analytischen Anforderungen für ihre Bestimmung sein können, wird zum Beispiel bei den Pestiziden deutlich, von denen in Europa etwa 800 Wirkstoffe zugelassen sind. Allein in Deutschland werden davon jährlich etwa 100 000 t produziert und ca. 30 000 t eingesetzt^[39]. Es ist angesichts dieser Vielfalt offenkundig, daß auch sehr universell ausgerichtete spurenanalytische Verfahren niemals die gesamte Schadstoffpalette einer Umweltprobe, sondern immer nur eine sehr eingeschränkte Zahl von Analyten erfassen können. In der nachfolgenden Grafik (Abb. 2) sind beispielhaft einige Xenobiotika aufgeführt, die im Rahmen dieser Arbeit häufig in Umweltproben detektiert wurden.

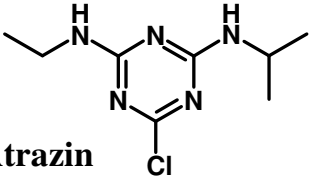
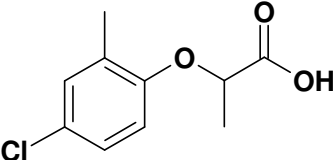

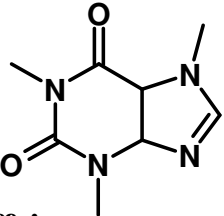
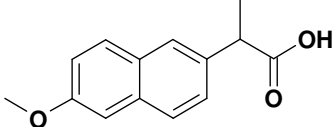
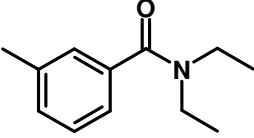
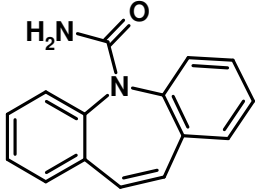
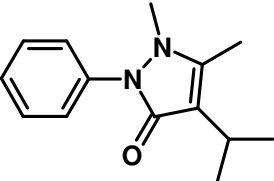
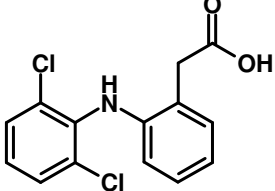
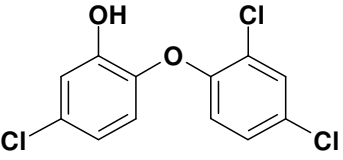
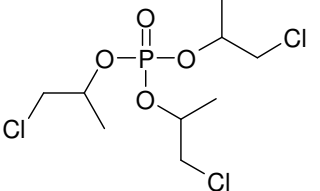
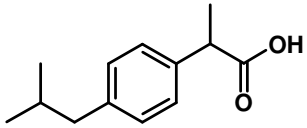
 <p>Atrazin Herbizid Verbot in BRD seit 1991</p>	 <p>Mecoprop Herbizid</p>	 <p>Irgarol Antifloulungsmittel</p>
 <p>Coffein Genußmittel, Psychoanaleptikum</p>	 <p>Naproxen Schmerzstilller, Entzündungshemmer</p>	 <p>N,N-Diethyltoluylamid (DEET) Insekten- abwehrmittel. Ehem. Wirkstoff von Autan®</p>
 <p>Carbamazepin Schmerzstilller, Antiepileptikum</p>	 <p>Propyphenazon Schmerzstilller, Entzündungshemmer</p>	 <p>Diclofenac Schmerzstilller, Entzündungshemmer</p>
 <p>Triclosan antibakterieller Wirkstoff</p>	 <p>Tris(2-chlor-1-methyl-ethyl)-phosphat Flammschutzmittel</p>	 <p>Ibuprofen Schmerzstilller, Entzündungshemmer</p>

Abb. 2: Strukturformeln, Trivialnamen und wichtigste Anwendungen einiger im Rahmen dieser Arbeit in Wasserproben detektierter Xenobiotica

1.2.3 Metaboliten & Transformationsprodukte

Hinsichtlich des Fremdstoffinventars der aquatischen Umwelt muß auch berücksichtigt werden, daß praktisch keine organische Substanz während ihrer Anwendung oder nachfolgend in der Umwelt dauerhaft unverändert bleibt, sondern aus einer Mutterverbindung regelmäßig eine Reihe von neuen Substanzen entsteht. Begründet liegt dies in biologischen Stoffwechselreaktionen, die entsprechende Metaboliten erzeugen oder in abiotischen Transformationsprozessen wie z.B. Redox- oder Photoreaktionen. Nicht selten übersteigt die Menge der in der Natur auftretenden Sekundärsubstanzen die der Ausgangsverbindung. Da die Struktur solcher neuen Stoffe in den meisten Fällen unbekannt ist, wird der Nachweis und die Bewertung möglicher Effekte ungleich viel schwieriger als die Suche nach den industriell erzeugten und somit recht gut zugänglichen Muttersubstanzen. Während für klassische Schadstoffe bereits ein recht breites Wissen über ihre Transformationsprodukte vorliegt^[19,40,41], gibt es deutlich weniger gesicherte Daten bei den in Abschnitt 1.2.2 erwähnten „neuen“ Xenobiotika. Tatsächlich aber zeigt eine zunehmende Zahl von nachgewiesenen Tochtersubstanzen, daß wir an diesem Punkt insbesondere bei den PPCPs und bromiertem Flammschutzmitteln erst am Anfang einer Schadstoffinventur stehen^[42]. Mit einem Wort: unsere Wässer enthalten viel mehr anthropogene Stoffe als wir ahnen. Ein Auswahl von Metaboliten, die im Rahmen dieser Arbeit eine Rolle spielen, zeigt Abbildung 3.

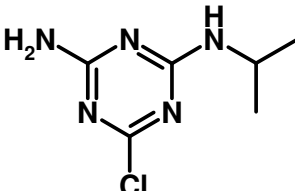
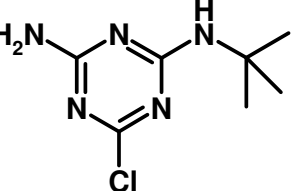
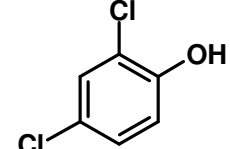
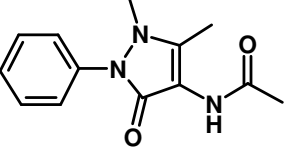
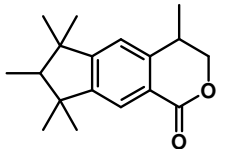
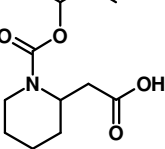
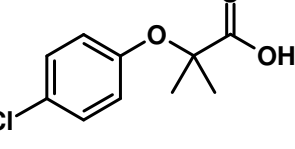
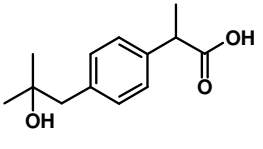
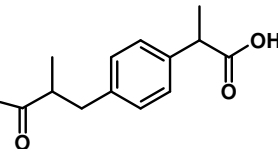
 <p>Desethylatrazin Transformations- produkt von Atrazin</p>	 <p>Desethylterbuthylazin Transformations- produkt von Terbuthylazin</p>	 <p>2,4-Dichlorophenol Industriechemikalie Transformationsprodukt z.B. von Dichloprop</p>
 <p>4-Acetamidoantipyrin Metabolit von Metamizol</p>	 <p>HHCB-Lacton Transformations- produkt v. Galaxolid</p>	 <p>Bayrepel-Säure Transformations- produkt v. Bayrepel®</p>
 <p>Clofibrinsäure Metabolit von Clofibrat u.a.</p>	 <p>Hydroxy-ibuprofen Metabolit von Ibuprofen</p>	 <p>Carboxy-ibuprofen Metabolit von Ibuprofen</p>

Abb. 3: Strukturformeln, Trivialnamen und Klassifizierungen einiger im Rahmen dieser Arbeit untersuchter Transformationsprodukte

1.2.4 Biogene Biozide

Es kann nicht oft genug in Erinnerung gerufen werden, daß nicht nur der Mensch toxische oder anderweitig bioaktive Chemikalien einsetzt, um seinen Standort gegen andere Lebensformen zu verteidigen, sondern dies ein universelles biologisches Prinzip ist. Eine Vielzahl von Organismen produziert aus der gleichen Veranlassung teilweise hochwirksame und mitunter auch für den Menschen extrem giftige Verbindungen. Es ist mit Sicherheit davon auszugehen, daß die Zahl und Gesamtmenge der in der Natur produzierten bioziden organischen Substanzen vielfach höher ist als die der anthropogenen Analoga. Trotzdem gibt es signifikante Unterschiede, die dazu führen, daß die erheblichsten Umweltkontaminationen doch durch den Menschen verursacht werden. Die wichtigsten Gründe hierfür sind, daß die Natur häufig spezifische Wirkstoffe bevorzugt, die ausschließlich bei Vertretern einer oder weniger eng verwandter Spezies wirken, während der Mensch im Gegenteil Biozide mit sehr breiter Wirkung anwendet. Weiterhin sind fast alle biogenen

Wirkstoffe in der Natur sehr schnell abbaubar und nicht bioakkumulierbar, so daß sie nur im produzierenden Organismus oder in seinem Nahbereich wirken können. Der Mensch hingegen hat nicht nur toxische, sondern auch äußerst persistente (persistent organic pollutants: POPs) und zudem bioakkumulierbare Substanzen hergestellt und in die Umwelt eingebracht. Schließlich führt auch unsere weltweite Verbreitung und die hohe Besiedlungsdichte der großen Städte zusammen mit den vorstehend genannten Gründen dazu, daß der Begriff „Umweltverschmutzer“ der Species Mensch weitgehend vorbehalten bleibt.

Tatsächlich sind die Grenzen zwischen anthropogener und biogener Herkunft etlicher biologisch aktiver Substanzen fließend. So wird das in einigen Lebensmitteln nachgewiesene und seit den 50er Jahren synthetisch hergestellte Antibiotikum Chloramphenicol auch von dem Bakterium *Streptomyces venezuelae* produziert, so daß dieser Wirkstoff nicht nur anthropogen entstehen kann^[3,4,43,44]. Weitere Beispiele für toxische Verbindungen, die mutmaßlich biogenen Ursprungs sind, von denen einige aber auch industriell produziert werden, stellen Bromphenole und Bromindole dar, die in marinen Organismen, Gewässern und Sedimenten nachgewiesen wurden^[45-47]. Solche Befunde erschweren die eindeutige Zuordnung des Verursachers einer Belastung. Zudem können Produzenten und Anwender in diesen Fällen darauf verweisen, ein natürliches Produkt einzusetzen, wobei diese Argumentation gerne herangezogen wird, um die Harmlosigkeit einer in Frage gestellten Substanz zu suggerieren. Dies ist natürlich irreführend, wenn man bedenkt, daß die potentesten Toxine biogenen Ursprungs sind. Auf der anderen Seite kann die Verwendung natürlicher oder naturidentischer Wirkstoffe auch erhebliche Vorteile mit sich bringen. Während eine häufig bessere Verträglichkeit für den Menschen hier nicht zur Rede steht, kann aber hinsichtlich des weiteren Schicksals eines natürlichen oder naturidentischen Wirkstoffes in der Umwelt mit hoher Wahrscheinlichkeit von einer besseren Abbaubarkeit ausgegangen werden, so daß er im Idealfall nach seiner Anwendung schnell und vollständig in dem Pool natürlicher Stoffwechselcyclen aufgeht.

Analytisch besonders schwierig zu bewerten, und deshalb interessant, ist eine Umweltpresenz von halogenierten Verbindungen, die nicht zur Palette der industriell hergestellten Chemikalien gehören. Solche Analyten können dann entweder unbekannte Neben- oder Transformationsprodukte industrieller Prozesse sein oder aber biogener Herkunft. Jüngere Forschungen weisen zunehmend häufiger halogenorganische Verbindungen mutmaßlich oder erwiesenermaßen biogenen Ursprungs in der Umwelt nach, so daß hier ein Umdenkprozeß bezüglich der Anzahl, Gesamtmenge und Umweltrelevanz dieser Naturprodukte in Gang gekommen ist^[48,49]. Es gibt allerdings nur in minimalem Umfang gesicherte Daten über die generellen Toxizitäten, Persistenzen und Mengen der natürlich entstehenden halogenorganischen Stoffe, so daß noch keine verlässlichen Aussagen bezüglich eines Einflusses auf die Umwelt möglich sind. Mit einiger Wahrscheinlichkeit gibt es also außer dem Menschen noch weitere Umweltverschmutzer.

1.3 Zielsetzung

Meine Intention war, eine möglichst universelle Gesamtmethode zur spurenanalytischen Bestimmung organischer Kontaminanten, die sich in der aktuellen Diskussion befinden, für Wasserproben zu entwickeln und auf eine solide Anzahl von Umweltproben anzuwenden. Damit gliederte sich die Arbeit in zwei wesentliche Abschnitte. Im ersten Teil wurde die Entwicklung des Zubehörs und der analytischen Methoden angestrebt, während der zweite Teil in der Untersuchung von Realproben aus der aquatischen Umwelt bestand. Für den ersten Teil sollten technische Komponenten zur Probenaufarbeitung, geeignete Festphasenextraktionen zur Analytenanreicherung und Derivatisierungsmethoden für die quantitative gaschromatographisch-massenspektrometrische Bestimmung polarer organischer Verbindungen entwickelt werden. Die Festlegung auf eine gaschromatographische Separation der Analyten erfolgte, weil diese Methode die höchste Trenneffizienz bei komplex zusammengesetzten Substanzgemischen aufweist und in Kombination mit einem massenspektrometrischen Detektor im Vergleich zur Flüssigchromatographie eine höhere Stabilität bei quantitativen Untersuchungen zeigt.

In dem zweiten Teil dieser Arbeit war beabsichtigt, anthropogen geprägte Oberflächenwässer aus dem Süß- und Salzwasserbereich mittels der zuvor etablierten Methoden auf ein breites Spektrum von sehr unpolaren bis hin zu polaren organischen Substanzen zu untersuchen. Dabei sollte ein besonderer Schwerpunkt die Bestimmung der Verteilung und Konzentration solcher Analyten sein, die wie viele PPCPs und ihre Transformationsprodukte schwierig zu erfassen sind und für die deswegen neue Ergebnisse zu einem erheblichen Informationsgewinn führen sollten.

2 Auswahl der Standardsubstanzen

Im Rahmen der Entwicklung eines Analyseverfahrens zur Bestimmung organischer Spurenverbindungen in wäßrigen Proben wurden zwei Gruppen von Analyten berücksichtigt. Einerseits wurde die Methode unter Verwendung von Standardsubstanzen stufenweise etabliert und optimiert, die als mögliche Targetanalyten betrachtet wurden. Dementsprechend wurden sie hinsichtlich ihrer gaschromatographisch-massenspektrometrischen Eigenschaften geprüft, gegebenenfalls derivatisiert und nachfolgend in unterschiedlichen Konzentrationen in Anreicherungsversuchen eingesetzt. Diese Analyten dienten also zunächst der Entwicklung und Optimierung der Gesamtmethode, und wurden, wenn möglich, nachfolgend auch bei der Methodvalidierung eingesetzt, so daß es sich hier um *externe Standards* handelte. Während in diese Gruppe vorzugsweise Verbindungen aufgenommen wurden, deren Vorkommen in der aquatischen Umwelt besonders wahrscheinlich erschien, sollten andere, in der Umwelt nicht auftretende Verbindungen ausgesucht werden, um sie bei der späteren Untersuchung von Umweltproben als *interne Standards* einzusetzen.

2.1 Externe Standardsubstanzen

Die nachfolgend beschriebene Zusammenstellung der in die Methodenentwicklung einbezogenen Standardsubstanzen erfolgte nach den folgenden Auswahlkriterien:

- Vorzugsweise berücksichtigt wurden PPCPs oder andere anthropogene Kontaminanten, deren Vorkommen in der aquatischen Umwelt bereits beschrieben wurde, zu denen aber die Datenlage erweiterungsbedürftig erschien.
- Ebenso ausgewählt wurden halogenorganische Verbindungen ungeklärter oder mutmaßlich biogener Herkunft, deren Vorkommen in der aquatischen Umwelt bereits beschrieben oder aufgrund eigener Messungen im Rahmen dieser Arbeit belegt wurde.
- Eine prinzipielle Voraussetzung war, daß die Analyten gaschromatographisch erfaßbar erschienen, wobei dies gegebenenfalls nach einer Derivatisierung ermöglicht wurde. Da in diesem Zusammenhang in einer vorangegangenen Diplomarbeit acide Spurenanalyten erfolgreich untersucht wurden^[50], lag die Auswahl von Carbonsäuren und Phenolen besonders nahe.
- Als weiteres Auswahlkriterium wurde herangezogen, daß die Analyten über eine Struktur verfügten, die aus systematischen Gründen interessant für die Methodenentwicklung war.

Aus Gründen der besseren Übersichtlichkeit und der einfacheren Bewertung der in den nachfolgenden Abschnitten dargelegten Entwicklungsarbeiten sind alle im Verlauf der Methodenentwicklung eingesetzten Analyten in den nachfolgenden Tabellen (1 bis 10) aufgeführt, wobei eine Unterteilung anhand der jeweils wichtigsten chemischen Grundstrukturen vorgenommen wurde. Nicht alle Verbindungen, die bei den durchgeführten Derivatisierungen eingesetzt wurden, sind auch bei den anschließenden Versuchen zur Analytanreicherung verwendet worden. Unter Vernachlässigung einiger Überschneidungen liegen 10 Substanzgruppen vor, die in den nachfolgenden Abschnitten vorgestellt werden:

1. Chlorierte Benzoesäuren
2. Chlorierte Phenylethansäuren
3. Phenoxyalkansäuren
4. Weitere Carbonsäuren
5. Halogenierte Phenole
6. Steroide
7. Halogenierte Aniline
8. Weitere stickstoffhaltige Verbindungen
9. Halogenierte Anisole
10. Weitere Verbindungen

2.1.1 Chlorierte Benzoesäuren

Chlorbenzoesäuren sind aus mehreren Gründen potentielle Kontaminanten der aquatischen Umwelt. Einerseits sind es technische Chemikalien, die beispielsweise als Zwischenprodukte in der industriellen Produktion von Farbstoffen, Pharmazeutika und Pestiziden eingesetzt werden^[51], andererseits werden mehrfach chlorierte Benzoesäuren auch als Wirkstoffe direkt in die Umwelt eingetragen. So wird beispielsweise 2,3,6-Trichlorbenzoesäure als Herbizid verwendet^[52,53]. Weiterhin ist auch die Transformation von halogenierten Verbindungen zu Chlorbenzoesäuren in der Umwelt möglich. Bereits einige der in den nachfolgenden Tabellen vorgestellten Verbindungen enthalten Chlorbenzylstrukturen, aus denen, wie beim Bezafibrat, Indometacin oder Dichlobenil, durch chemische oder enzymatische Hydrolyse chlorierte Benzoesäuren entstehen könnten. Sogar die mikrobielle Carboxylierung chlorierter Phenole zu Chlorbenzoesäuren ist eine wenig bekannte, aber mögliche Quelle für diese Stoffgruppe^[54]. Allerdings ist das Auftreten chlorierter Benzoesäuren in der aquatischen Umwelt nur in Einzelfällen beschrieben worden^[55,56], so daß diese Verbindungen bislang nicht als häufige Kontaminanten aufgefallen sind. Da aber durch eigene Untersuchungen im Rahmen der hier vorgestellten Arbeit einige Vertreter dieser Substanzklasse in Oberflächenwässern detektiert werden konnten, wurde der Analytik der mono-, di- und trichlorierten Benzoesäuren besondere Beachtung geschenkt.

Da für eine sichere Identifizierung einzelner Isomerer die Unterscheidung zu allen anderen Substitutionsisomeren sichergestellt sein sollte, wurden entsprechend

auch alle Congenere der mono-, di- und trichlorierten Benzoesäuren, wie sie in Abbildung 4 und Tabelle 1 aufgeführt sind, in die Untersuchungen einbezogen.

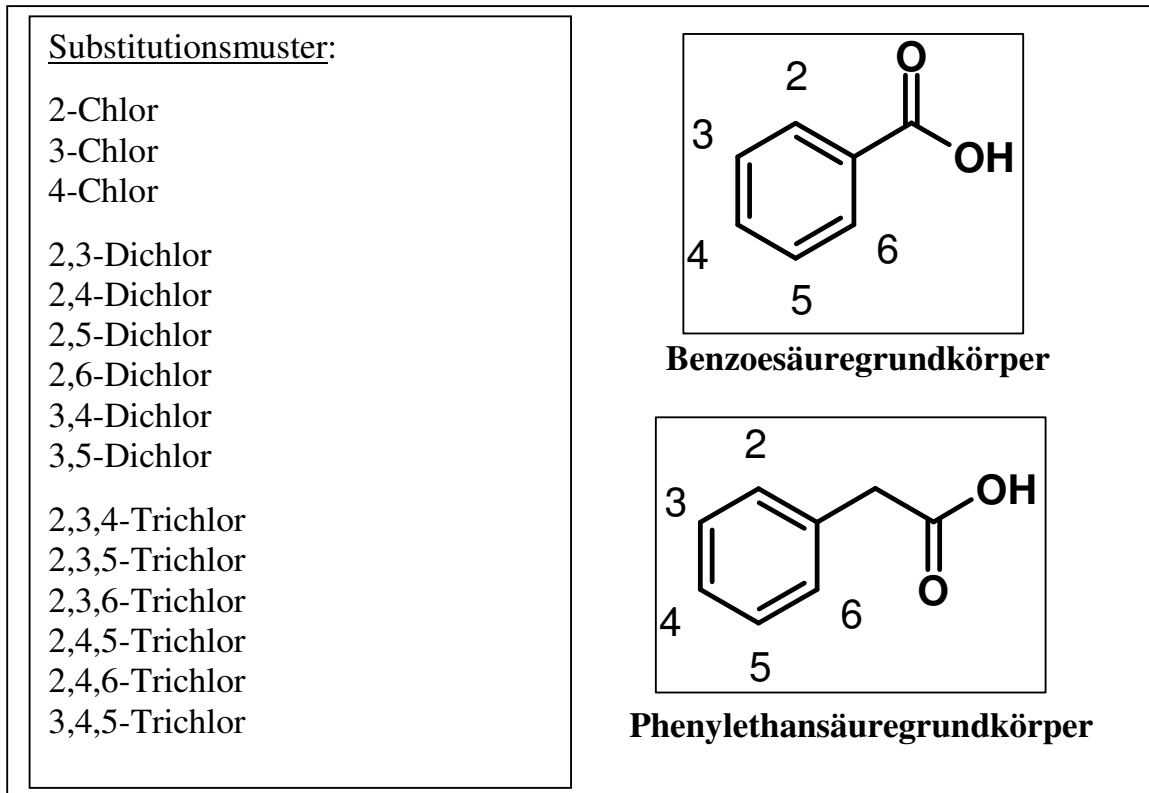


Abb. 4: Grundstrukturen und Substitutionsmuster mono-, di- und trichlorierter Benzoe- und Phenylethansäuren

Chlorierte Benzoessäuren		
Trivialname oder Kürzel	Name nach IUPAC	Kurzbeschreibung
2-CBA	2-Chlorbenzoesäure	technische Chemikalie
3-CBA	3-Chlorbenzoesäure	technische Chemikalie
4-CBA	4-Chlorbenzoesäure	technische Chemikalie
2,3-DCBA	2,3-Dichlorbenzoesäure	technische Chemikalie
2,4-DCBA	2,4-Dichlorbenzoesäure	technische Chemikalie
2,5-DCBA	2,5-Dichlorbenzoesäure	technische Chemikalie
2,6-DCBA	2,6-Dichlorbenzoesäure	technische Chemikalie
3,4-DCBA	3,4-Dichlorbenzoesäure	technische Chemikalie
3,5-DCBA	3,5-Dichlorbenzoesäure	technische Chemikalie
2,3,4-TCBA	2,3,4-Trichlorbenzoesäure	keine Anwendung bekannt
2,3,5-TCBA	2,3,5-Trichlorbenzoesäure	technische Chemikalie
2,3,6-TCBA	2,3,6-Trichlorbenzoesäure	Herbizid
2,4,5-TCBA	2,4,5-Trichlorbenzoesäure	keine Anwendung bekannt
2,4,6-TCBA	2,4,6-Trichlorbenzoesäure	technische Chemikalie
3,4,5-TCBA	3,4,5-Trichlorbenzoesäure	keine Anwendung bekannt
<i>In dieser Tabelle grau unterlegt: nur bei Derivatisierungen, nicht bei Anreicherungsversuchen eingesetzt</i>		

Tab. 1: Bezeichnungen nach IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) und Kurzbeschreibungen der eingesetzten chlorierten Benzoessäuren

2.1.2 Chlorierte Phenylethansäuren

Auch einige chlorierte Phenylethansäuren werden technisch produziert und angewendet, wenn auch in geringerem Umfang als die halogenierten Benzoessäuren. Beispielsweise weist analog zur 2,3,6-Trichlorbenzoesäure auch das an den gleichen Positionen chlorierte Phenylethansäureisomer herbizide Wirkungen auf und wird unter dem Namen *Chlorfenac* bzw. *Fenac* gehandelt^[53]. Zwar sind chlorierte Phenylethansäuren, auch Chlorfenac, nicht als häufige Umweltkontaminanten bekannt, allerdings wurden in jüngster Zeit chlorierte Phenylethansäuren im Umfeld von Klärwerksprozessen identifiziert, ohne daß allerdings ihre Herkunft endgültig geklärt werden konnte^[55,56]. Weil diese Befunde im Verlauf dieser Arbeit teilweise bestätigt und erweitert werden konnten, wurde den Chlorphenylethansäuren besondere Beachtung geschenkt. In Tabelle 2 finden sich die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten mono-, di- und trichlorierten Verbindungen, Abbildung 4 zeigt die Grundstruktur und die möglichen Substitutionsmuster. Die nichtchlorierte Phenylethansäure selbst wurde ebenso in die Untersuchungen miteinbezogen, wird aber in der Gruppe der weiteren Carbonsäuren aufgeführt.

Chlorierte Phenylethansäuren		
Trivialname oder Kürzel	Name nach IUPAC	Kurzbeschreibung
2-CPAA	2-Chlorphenylethansäure	technische Chemikalie
3-CPAA	3-Chlorphenylethansäure	technische Chemikalie
4-CPAA	4-Chlorphenylethansäure	technische Chemikalie
2,3-DCPAA	2,3-Dichlorphenylethansäure	keine Anwendung bekannt
2,4-DCPAA	2,4-Dichlorphenylethansäure	technische Chemikalie
2,5-DCPAA	2,5-Dichlorphenylethansäure	keine Anwendung bekannt
2,6-DCPAA	2,6-Dichlorphenylethansäure	technische Chemikalie
3,4-DCPAA	3,4-Dichlorphenylethansäure	technische Chemikalie
3,5-DCPAA	3,5-Dichlorphenylethansäure	keine Anwendung bekannt
2,3,4-TCPAA	2,3,4-Trichlorphenylethansäure	keine Anwendung bekannt
2,3,5-TCPAA	2,3,5-Trichlorphenylethansäure	keine Anwendung bekannt
2,3,6-TCPAA (Chlor-)Fenac	2,3,6-Trichlorphenylethansäure	Herbizid
2,4,5-TCPAA	2,4,5-Trichlorphenylethansäure	keine Anwendung bekannt
2,4,6-TCPAA	2,4,6-Trichlorphenylethansäure	keine Anwendung bekannt
3,4,5-TCPAA	3,4,5-Trichlorphenylethansäure	keine Anwendung bekannt
<i>In dieser Tabelle grau unterlegt: nur bei Derivatisierungen, nicht bei Anreicherungsversuchen eingesetzt</i>		

Tab. 2: Bezeichnungen nach IUPAC und Kurzbeschreibungen der eingesetzten chlorierten Phenylethansäuren

2.1.3 Phenoxyalkylcarbonsäuren

Phenoxy-carbonsäurederivate sind weit verbreitete bioaktive Verbindungen, die weltweit in großen Mengen produziert^[51,57] und, wie in Tabelle 3 aufgeführt, zu sehr verschiedenen Zwecken eingesetzt werden. Die für unsere Untersuchungen ausgewählten Analyten umfaßten deshalb so unterschiedlich eingesetzte Wirkstoffe wie die Herbizide 2,4,5-Trichlorphenoxyethansäure (2,4,5-T), 2-(2,4-Dichlorphenoxy)-propansäure (*Dichloprop*), (4-Chlor-2-methylphenoxy)ethansäure (*MCPA*) und 2-(4-Chlor-2-methylphenoxy)propansäure (*Mecoprop*), aber auch die Pharmazeutika Gemfibrozil und Bezafibrat. 2,4,5-T ist eine, vor allem aufgrund ihrer produktionstechnisch bedingten Verunreinigung mit dem hochgiftigen 2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-*p*-dioxin, weitgehend aus dem Handel genommene Hauptkomponente des bereits im Vietnamkrieg unter dem Namen „Agent Orange“ zu trauriger Berühmtheit gelangten Entlaubungsmittels. Hingegen zählen Dichloprop, MCPA und Mecoprop zu den heutzutage meistverwendeten Herbiziden^[58], während Gemfibrozil und Bezafibrat als moderne Lipidregulatoren eingesetzt werden^[59]. Ein häufig in der aquatischen Umwelt detektierter Analyt ist Clofibrinsäure. Diese Verbindung entsteht im Organismus als eigentlich pharmakologisch wirksame Komponente nach der

Verabreichung von Lipidregulatoren wie beispielsweise Clofibrin, Clofibrat oder Etofibrat^[59]. Clofibrinsäure ist in mehrfacher Hinsicht eine besonders interessante und relevante Substanz, weil hier ein Beispiel für den Fall vorliegt, daß nicht der angewendete Stoff sondern ausschließlich ein Transformationsprodukt als Umweltkontaminante auftritt. Tatsächlich liegt mit der Clofibrinsäure ein Beispiel vor, bei dem der Metabolit wesentlich stabiler als die eingesetzten Mutterverbindungen ist. So konnte Clofibrinsäure mittlerweile nicht nur in Trink- und Oberflächenwässern^[60], sondern darüber hinaus auch in weiten Bereichen der Nordsee detektiert werden^[24,61]. Schließlich wird an dem Vergleich der Isomere Clofibrinsäure und Mecoprop, die sich, wie in Abb. 5 gezeigt, nur in der Position einer Methylgruppe unterscheiden, deutlich, daß bereits geringfügige Modifikationen einer chemischen Struktur zu sehr unterschiedlich wirksamen und einzusetzenden Substanzen führen können.

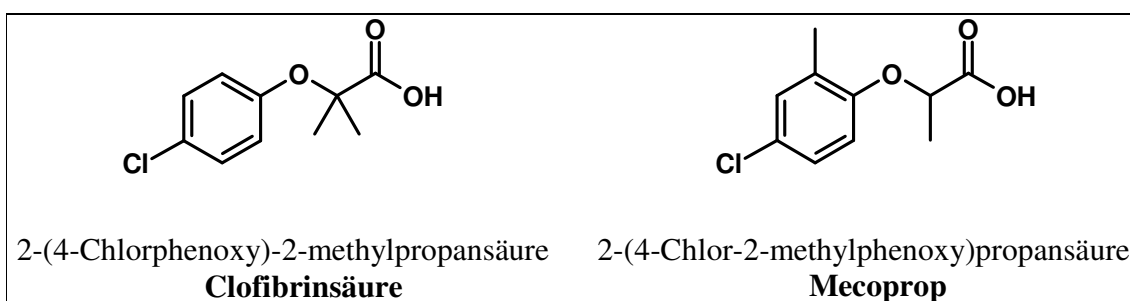


Abb. 5: Konstitutionsformeln der Strukturisomere Clofibrinsäure und Mecoprop

Phenoxyalkylcarbonsäuren		
Trivialname oder Kürzel	Name nach IUPAC	Kurzbeschreibung
2,4,5-T	2,4,5-Trichlorphenoxyethansäure	Altherbizid
Bezafibrat	2-[4-[2-(4-Chlorbenzamido)-ethyl]phenoxy]-2-methylpropansäure	Lipidregulator
Clofibrinsäure	2-(4-Chlorphenoxy)-2-methylpropansäure	Metabolit und Wirkstoff von Lipidregulatoren
Dichloprop Dichlorprop	2-(2,4-Dichlorphenoxy)propansäure	Herbizid
Gemfibrozil	2,2-Dimethyl-5-(2,5-dimethylphenoxy)pentansäure	Lipidsenker
MCPA	(4-Chlor-2-methylphenoxy)ethansäure	Herbizid
Mecoprop	2-(4-Chlor-2-methylphenoxy)propansäure	Herbizid

Tab. 3: Bezeichnungen und Kurzbeschreibungen der eingesetzten Phenoxyalkylcarbonsäuren

2.1.4 Weitere Carbonsäuren

Viele PPCPs, insbesondere Schmerzstilller (*Analgetika*) und Entzündungshemmer (*Antiphlogistika*) sind Carbonsäuren bzw. tragen Carboxylfunktionen^[59]. Diese Pharmazeutika werden nicht nur in erheblichen Mengen verschrieben^[26], sondern gelangen teilweise auch durch freien Verkauf an den Konsumenten. Handelt es sich zudem um Verbindungen, die nicht oder nur teilweise metabolisiert wieder ausgeschieden werden, so ist ihr Eintrag in die aquatische Umwelt über Abwässer besonders wahrscheinlich. Tatsächlich wurden beispielsweise Diclofenac, Ibuprofen, Fenoprofen, Indometacin, Ketoprofen oder Naproxen, die zu diesen Medikamentengruppen gehören, verbreitet in Klärwerksabläufen und anthropogen geprägten Oberflächenwässern sowie in Einzelfällen sogar im Trinkwasser nachgewiesen^[62-64], so daß hierin die Veranlassung gesehen wurde, diese Verbindungen in die vorliegenden Untersuchungen einzubeziehen.

Einem zentralen Ansatz dieser Arbeit entsprechend, zählen zu den ausgewählten Carbonsäuren auch mehrere PPCP-Metaboliten, wie etwa Hydroxy- und Carboxy-ibuprofen (Ibu-OH und Ibu-COOH), deren spurenanalytische Bestimmung allein aufgrund des Mangels an Referenzmaterial deutlich schwieriger ist als die der Mutterverbindung und für die demzufolge nur begrenzt Daten zum Vorkommen in der Umwelt vorliegen. Tatsächlich haben jüngere Untersuchungen gezeigt, daß die in der aquatischen Umwelt gemessenen Konzentrationen von Ibu-OH und Ibu-COOH signifikant höher sein können als die von Ibuprofen selbst^[64]. Noch aktueller ist die von Knepper 2004 beschriebene Bildung von 2-Carboxymethylpiperidin-1-(1-methylpropyl)-methanoat (Bayrepel-COOH) aus Bayrepel[®], dem heutigen Wirkstoff des Bayer[®]-Produktes Autan[®], der das bis etwa 1999 eingesetzte *N,N*-Diethyltoluylamid (DEET) ablöste. Nach unserem Wissen wurden Bayrepel[®] und Bayrepel-COOH bislang zwar in Klärwerkszuflüssen, nicht aber in Klärwerksabflüssen oder in der aquatischen Umwelt nachgewiesen^[65,66]. Wie aus Abbildung 6 ersichtlich, verfügen die hier aufgeführten Metaboliten Ibu-OH, Ibu-COOH und Bayrepel-COOH über stereogene Centren. Zwar waren enantioselektive Untersuchungen, die Rückschlüsse auf die Art der Bildung dieser Substanzen erlauben können, im Rahmen dieser Arbeit nicht beabsichtigt. Aber die in den nachfolgenden Kapiteln vorgestellte Methodenentwicklung zum Zwecke des grundsätzlichen Nachweises dieser Metaboliten in Umweltproben sind die wesentlichsten Voraussetzungen, um darauf aufbauend auch Aspekte der Chiralität zu untersuchen.

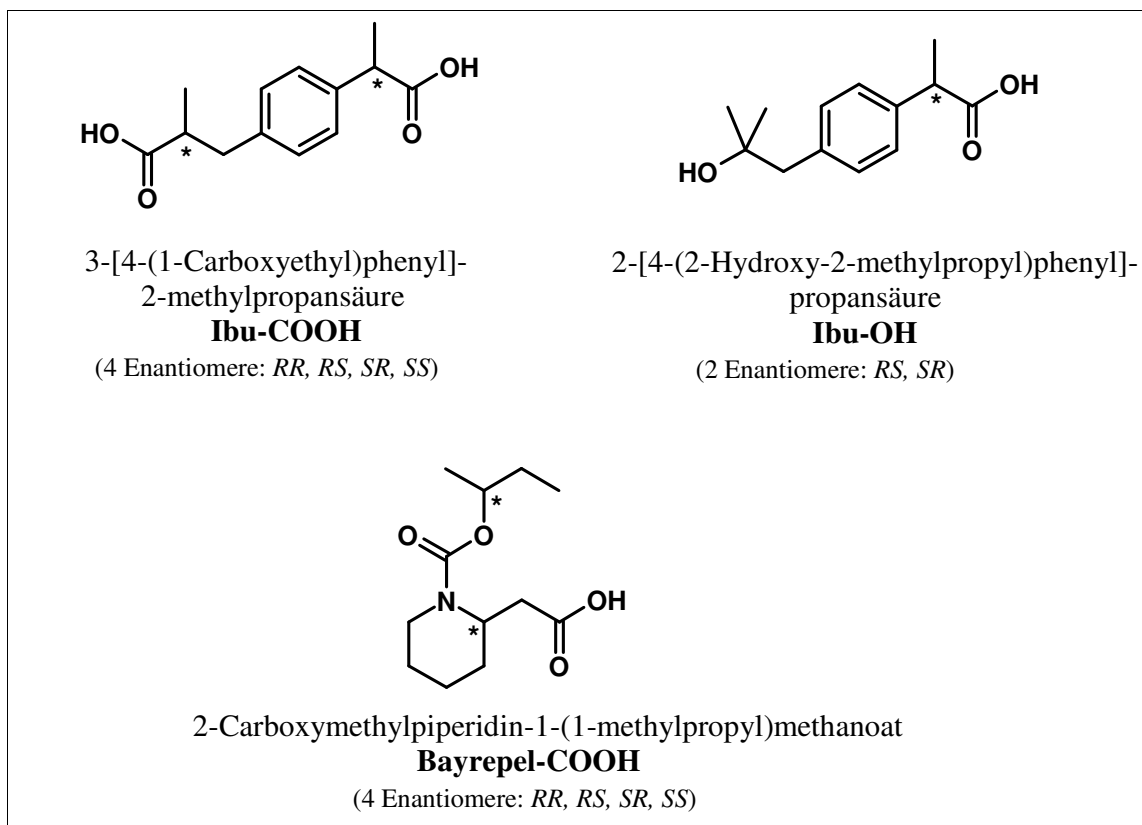


Abb. 6: Strukturformeln der PPCP-Metaboliten Ibu-COOH, Ibu-OH und Bayrepel-COOH unter Kennzeichnung der stereogenen Centren

Schließlich gehören auch Gentisin- und Salicylsäure als Acetylsalicylsäure-metaboliten zu den eingesetzten carboxylischen Standardsubstanzen, obwohl sie aufgrund ihres natürlichen Vorkommens und geringen toxischen Potentials nicht als bedeutende Umweltkontaminanten angesehen werden müssen^[59]. Trotzdem hatten diese Verbindungen wegen ihrer für organische Moleküle vergleichsweise polaren Struktur, insbesondere für die Aspekte der Derivatisierung und Analytanreicherung aus wässrigen Proben, Modellcharakter.

Weitere Carbonsäuren		
Trivialname oder Kürzel	Name nach IUPAC	Kurzbeschreibung
Bayrepel-COOH	2-Carboxymethyl-piperidin-1-(1-methylpropyl)methanoat	Bayrepel [®] -Metabolit
Diclofenac	[2-(2,6-Dichloranilino)phenyl]-ethansäure	Analgetikum, Antiphlogistikum, Antirheumatikum
Fenoprofen	2-(3-Phenoxyphenyl)-propansäure	Analgetikum, Antiphlogistikum, Antipyretikum
Gentisinsäure	2,4-Dihydroxybenzoesäure	Salicylsäuremetabolit
Ibuprofen	2-(4-(2-Methylpropyl)phenyl)-propansäure	Analgetikum, Antiphlogistikum, Antirheumatikum Antarthritikum
Ibuprofen-OH Ibu-OH	2-[4-(2-Hydroxy-2-methylpropyl)phenyl]propansäure	Ibuprofen-Metabolit
Ibuprofen-COOH Ibu-COOH	3-[4-(1-Carboxy-ethyl)-phenyl]-2-methylpropansäure	Ibuprofen-Metabolit
Indometacin	1-(4-Chlorbenzoyl)-5-methoxy-2-methyl-3-indoylethansäure	Antiphlogistikum, Antirheumatikum Antarthritikum
Ketoprofen	2-(3-Benzoylphenyl)-propansäure	Antiphlogistikum, Antirheumatikum
Naproxen	2-(6-Methoxy-2-naphthyl)-propansäure	Analgetikum, Antiphlogistikum, Antipyretikum
Phenylethansäure PAA	Phenylethansäure	natürlicher Metabolit & technische Chemikalie
Salicylsäure	2-Hydroxybenzoesäure	Naturstoff technische Chemikalie Acetylsalicylsäure- metabolit

Tab. 4: Bezeichnungen und Kurzbeschreibungen aller eingesetzter weiteren Carbonsäuren

2.1.5 Halogenierte Phenole

Aufgrund der verbreiteten Anwendung und gleichzeitig relativ hohen Toxizität von halogenierten Phenolen werden diese in Untersuchungen des Schadstoffinventars von Umweltkompartimenten regelmäßig einbezogen. Da für die quantitative

Bestimmung halogener Phenole aufgrund ihrer polaren Struktur und der Vielzahl an isomeren Verbindungen anspruchsvolle spurenanalytische Methoden erforderlich sind, ist deren Entwicklung nach wie vor Gegenstand aktueller Untersuchungen^[67,68]. Die Einträge dieser Verbindungen in die aquatischen Umwelt sind allerdings uneinheitlich. Einerseits ist die direkte Kontamination durch großtechnisch produzierte und angewendete Produkte wie beispielsweise 2,4,6-Tribrom- oder Pentachlorphenol möglich^[62,69]. Andererseits sind chlorierte Phenole auch die Haupttransformationsprodukte von anthropogenen halogenierten Phenoxyverbindungen wie beispielsweise 2,4-D oder MCPA^[70-72]. Schließlich besteht aufgrund des Nachweises vorwiegend bromierter Phenole in der Umwelt, beispielsweise in marinen Ökosystemen, der Verdacht, daß eine Biosynthese durch regionale Kolonien von Meeresorganismen zur Verbreitung dieser Verbindungen im aquatischen System führen kann^[45,46,73,74]. Um diesen Aspekten Rechnung zu tragen, wurden die in Abbildung 7 und Tabelle 5 aufgelisteten halogenierten Phenole ausgewählt.

Untersucht wurden darüber hinaus auch 5-Chlor-2-(2,4-dichlorphenoxy)-phenol (Triclosan) und das Analgetikum *N*-(4-Hydroxyphenyl)ethanamid (Paracetamol) als phenolische PPCPs, deren Vorkommen in Ab- und Oberflächenwässern beschrieben wurde^[63,64,75,76]. Insbesondere das vielen Konsumgütern als Bakterizid zugesetzte Triclosan ist als ernstzunehmende Umweltkontaminante Gegenstand zunehmend intensiver Untersuchungen über Eintrag, Verteilung, Verbleib und Effekte dieser Substanz in der aquatischen Umwelt^[76-78].

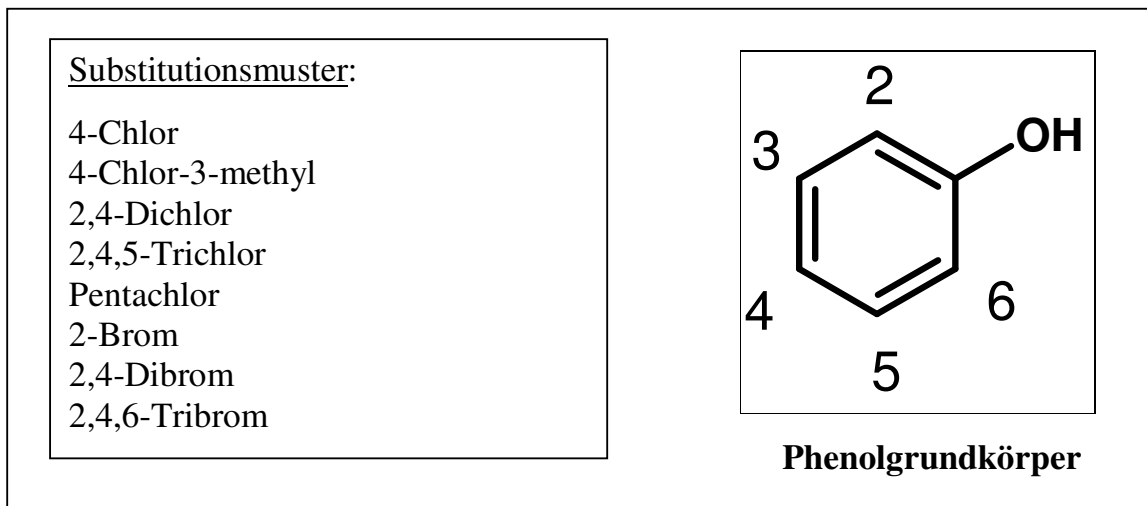


Abb. 7: Grundstruktur und Substitutionsmuster der eingesetzten einfachen Phenolderivate

halogenierte Phenole		
Trivialname oder Kürzel	Name nach IUPAC	Kurzbeschreibung
4-CPOH	4-Chlorphenol	technische Chemikalie mögl. Transformations- oder Naturprodukt
4-C-3-MePOH	4-Chlor-3-methylphenol	technische Chemikalie mögl. Transformations- oder Naturprodukt
2,4-DCPOH	2,4-Dichlorphenol	technische Chemikalie mögl. Transformations- oder Naturprodukt
2,4,5-TCPOH	2,4,5-Trichlorphenol	technische Chemikalie mögl. Transformations- oder Naturprodukt
2-BPOH	2-Bromphenol	technische Chemikalie Naturstoff mögl. Transformationsprodukt
2,4-DBPOH	2,4-Dibromphenol	technische Chemikalie Naturstoff mögl. Transformationsprodukt
2,4,6-TBPOH	2,4,6-Tribromphenol	technische Chemikalie Antiseptikum Naturstoff mögl. Transformationsprodukt
PCPOH	Pentachlorphenol	technische Chemikalie Fungizid, Herbizid Insektizid, Bakterizid Konservierungsmittel
Paracetamol	<i>N</i> -(4-Hydroxyphenyl)-ethanamid	Analgetikum, Antipyretikum
Triclosan	5-Chlor-2-(2,4-dichlorphenoxy)phenol	Konservierungsmittel Antimikrobiotikum

Tab. 5: Bezeichnungen und Kurzbeschreibungen der eingesetzten Phenolderivate

2.1.6 Steroide

Östrogene Steroidhormone gehören zu den PPCPs, denen in den letzten Jahren große Aufmerksamkeit hinsichtlich eines möglichen Auftretens in der aquatischen Umwelt zuteil wurde^[62,79]. Als Grund hierfür ist, neben der weit verbreiteten Anwendung als schwangerschaftsverhütende Substanzen (*Kontrazeptiva*), die enorme

Wirkpotenz dieser Verbindungen zu sehen, die üblicherweise um Größenordnungen über denen gewöhnlicher Pharmazeutika liegt. Zudem führen hormonelle Effekte zu viel umfassenderen und tiefgreifenderen physiologischen Veränderungen, als dies bei anderen Wirkstoffen wie etwa den bereits erwähnten Analgetika der Fall ist^[59]. Aufgrund ihres chemischen Aufbaus sind viele Steroidhormone gaschromatographisch schlecht zu erfassen, so daß üblicherweise entweder eine flüssigchromatographische Trennung der Analyse vorausgeht^[80] oder entsprechende Derivatisierungen vor der Anwendung gaschromatographischer Methoden eingesetzt werden. In Abbildung 8 sind die Strukturen der in Tabelle 6 aufgeführten vier östrogenen Steroide, die im Rahmen dieser Arbeit hinsichtlich möglicher Derivatisierungsmethoden und Anreicherungsverfahren untersucht wurden, aufgeführt. Gleichwohl wurde der Nachweis dieser Verbindungen in der aquatischen Umwelt nicht als Schwerpunkt gesetzt, weil die Umweltkonzentrationen für normal belastete Oberflächenwässer im Bereich von weniger als 1 ng/L zu erwarten waren. Dies hätte entsprechend aufwendige Methoden wie etwa negative chemische Ionisation^[81,82] oder eine mehrdimensionale Massenspektrometrie bei der Detektion dieser Östrogene erfordert^[83,84].

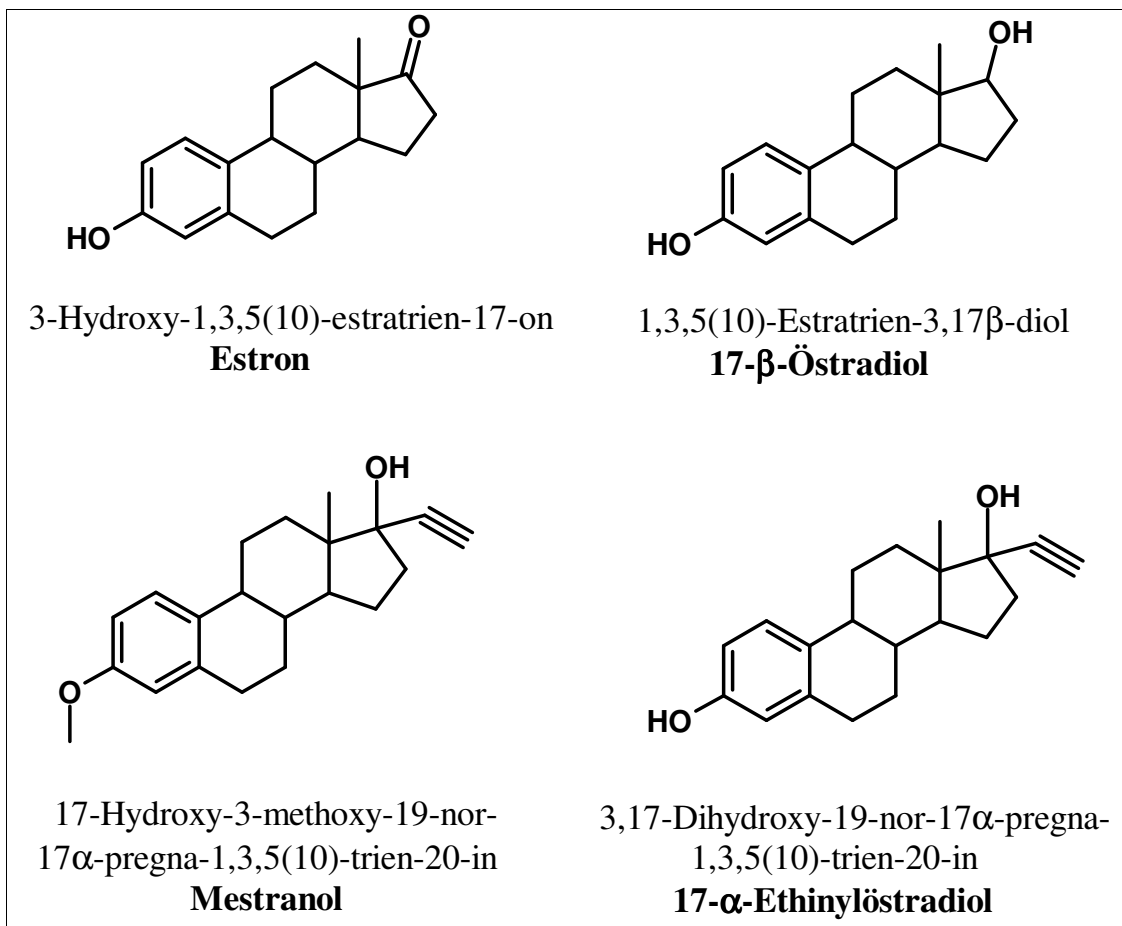


Abb. 8: Strukturformeln der in Tabelle 6 aufgeführten Steroide

Steroide		
Trivialname oder Kürzel	Name nach IUPAC	Kurzbeschreibung
Estron	3-Hydroxy-1,3,5(10)-estratrien-17-on	Natürliches Östrogen Anabolikum Antikonzeptivum Zytostatikum
17- α -Ethinyl- östradiol	3,17-Dihydroxy-19-nor-17 α -pregna-1,3,5(10)-trien-20-in	Anabolikum Antikonzeptivum Zytostatikum
17- β -Östradiol	1,3,5(10)-Estratrien-3,17 β -diol	Natürliches Östrogen Anabolikum Antikonzeptivum Zytostatikum
Mestranol	17-Hydroxy-3-methoxy-19-nor-17 α -pregna-1,3,5(10)-trien-20-in	Anabolikum Antikonzeptivum Zytostatikum

Tab. 6: Bezeichnungen und Kurzbeschreibungen der eingesetzten Steroide

2.1.7 Halogenierte Aniline

Analog den in Abschnitt 2.1.5 vorgestellten Halogenphenolen sind chlorierte Aniline großtechnisch hergestellte toxische Chemikalien, die allein aufgrund ihres vielfachen Einsatzes bei der Produktion von Pharmazeutika, Farbstoffen, und Pestiziden^[51,59,85] in die Umwelt gelangen können. Tatsächlich werden Vertreter dieser Verbindungsklasse weiträumig verteilt in Oberflächenwässern und anderen aquatischen Kompartimenten nachgewiesen^[42,73,86]. Ähnlich wie bei den halogenierten Phenolen ist auch hier die Herkunft der detektierten Chloraniline nicht mit endgültiger Sicherheit festzulegen, denn ebenso wie primäre Einträge zur Belastung von Wasserkörpern oder Sedimenten führen können, ist auch eine Bildung aus Vorläuferverbindungen unter Umwelteinfluß möglich. So führt beispielsweise der mikrobielle Abbau chlorierter Phenylharnstoffpestizide wie Linuron oder Diuron im Bodenkörper oder die Hydrolyse dieser Stoffe in Wasser zu den chlorierten Anilinen^[87,88]. Weiterhin ist die Reduktion von chlorierten Nitroaromaten zu den entsprechenden Anilinen unter anaeroben Bedingungen bekannt, wie auch, daß höher chlorierte Aniline zu niedriger substituierten Halogenderivaten transformiert werden können^[89,90]. Die Verwendung der in Abbildung 9 und Tabelle 7 aufgeführten chlorierten und bromierten Anilinderivate als Standardsubstanzen ergab sich einerseits aus dem Bestreben, diese Verbindungen in Umweltproben zu detektieren, andererseits aber auch aus systematischen Gründen, weil hiermit eine Gruppe basischer Verbindungen in die Untersuchungen eingehen konnte, die als Antipoden zu den sauren Phenolen und Carbonsäuren fungierten.

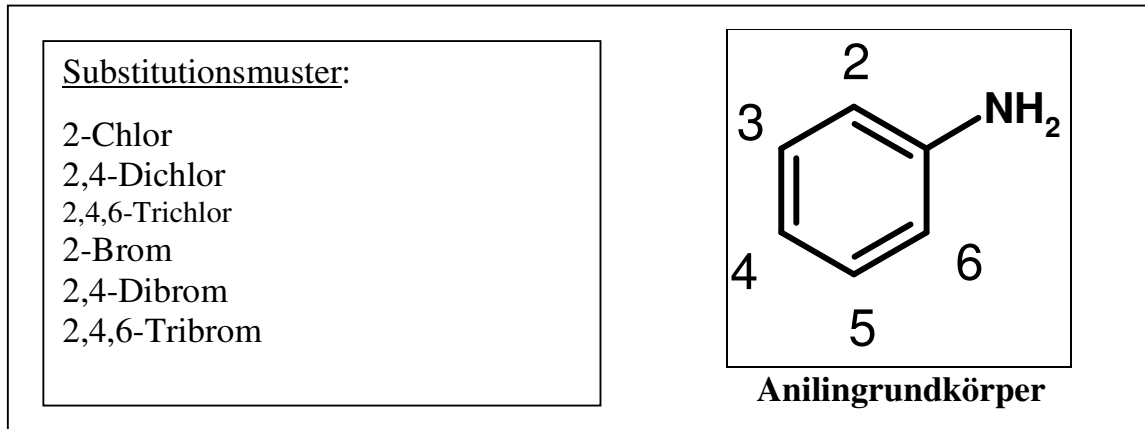


Abb. 9: Grundstruktur und Substitutionsmuster der eingesetzten Anilinderivate

Halogenierte Aniline		
Trivialname oder Kürzel	Name nach IUPAC	Kurzbeschreibung
2-Bromanilin	2-Brombenzolamin	technische Chemikalien & mögl.Transformationsprodukte
2-Chloranilin	2-Chlorbenzolamin	
2,4-Dibromanilin	2,4-Dibrombenzolamin	
2,4-Dichloranilin	2,4-Dichlorbenzolamin	
2,4,6-Trichloranilin	2,4,6-Trichlorbenzolamin	
2,4,6-Tribromanilin	2,4,6-Tribrombenzolamin	

Tab.7: Bezeichnungen und Kurzbeschreibungen der eingesetzten Halogenaniline

2.1.8 Weitere stickstoffhaltige Verbindungen

Zu den weit verbreiteten Pestiziden gehören die Triazine, eine Gruppe von etwa 25 herbizid wirkenden Verbindungen, die vorwiegend in den Jahren 1956 bis 1972 entwickelt wurden^[57,58]. Das in der Vergangenheit mengenmäßig meistproduzierte Atrazin ist, ebenso wie Simazin, aufgrund von Anwendungsverböten in Europa durch andere Triazinderivate, vor allem Terbutylazin, ersetzt worden^[91]. Irgarol 1051 ist ein Triazin, das seit der Einschränkung der Verwendung von Organozinnverbindungen als Antifoulingmittel in Schiffsanstrichen einen vermehrten Einsatz insbesondere in der Sportschifferei findet^[92]. Da die Triazinderivate als häufige Kontaminanten der aquatischen Umwelt auftreten^[93-96], wurden mit Atrazin, Terbutylazin und Irgarol drei wichtige Vertreter dieser Substanzgruppe als Standards in dieser Arbeit exemplarisch eingesetzt. Als weiteres Herbizid, das seit August 2004 in der BRD nicht mehr zugelassen ist^[97,98], wurde Dichlobenil berücksichtigt. Diese relativ einfach aufgebaute toxische Umweltkontaminante wurde

vorwiegend in Klärwerksabläufen detektiert^[99]. Dichlobenil kann mikrobiell zu 2,6-Dichlorbenzamid abgebaut werden^[100], welches mehrfach in Grund- und Trinkwässern nachgewiesen wurde^[101,102]. Andererseits aber liegt in der marinen Umwelt eine erhebliche Persistenz vor, so daß die Mutterverbindung Dichlobenil von *Weigel* praktisch im gesamten Nordseebereich gefunden wurde^[42]. Neben der Auswahl der vorstehend genannten Pestizide lag es nahe, eine Reihe von weit verbreiteten stickstoffhaltigen PPCPs wie Coffein, Carbamazepin, Propyphenazon, und DEET in die Untersuchungen einzubeziehen, weil davon auszugehen war, daß diese Verbindungen in praktisch allen anthropogen belasteten Oberflächenwässern auftreten^[42,64,103-104]. Insbesondere Coffein und Carbamazepin sind so ubiquitär in der aquatischen Umwelt vertreten, daß sie als Indikatoren für eine anthropogene Belastung geeignet erscheinen^[24,105-106]. Als weiteres Personal Care Product wurde aus Gründen, die bereits in Abschnitt 2.1.4 erwähnt wurden, auch Bayrepel[®] berücksichtigt. Die Auswahl von 4-Bromindol resultierte aus der Feststellung, daß bromierte Indole sowohl in marinen Sedimenten und Wasserproben als auch in marinen Organismen nachgewiesen wurden. Da halogenierte Indolderivate praktisch keine technische Verwendung finden, kann vermutet werden, daß diese Verbindungen biogenen Ursprungs sind^[42,46,47,73,107]. Bei Stoffen so unterschiedlicher Anwendung und Struktur (Strukturformelbeispiele sind in den Abbildung 10 und 11 aufgeführt) stellte sich einerseits die analytische Herausforderung ihrer Parallelbestimmung aus einer Probe heraus, andererseits wurde durch die Bestimmung dieser Verbindungen in Umweltproben ein wesentlicher Informationsgewinn hinsichtlich ihrer Bedeutung als Umweltkontaminanten erwartet.

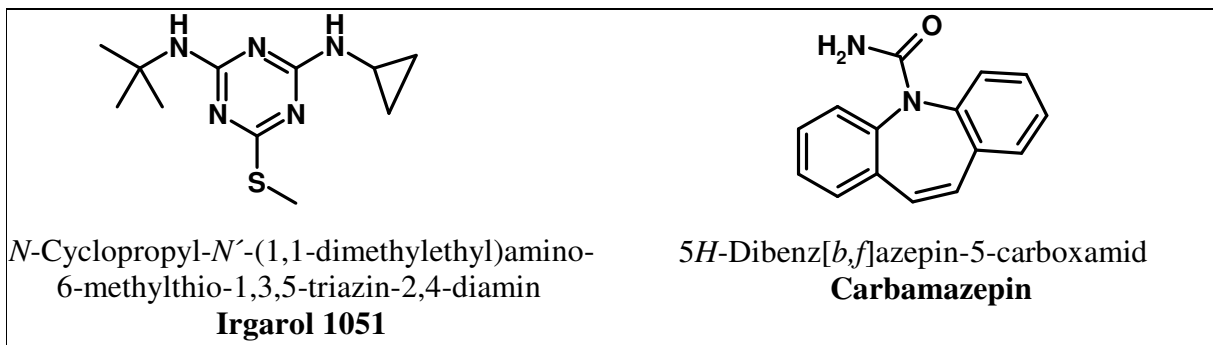


Abb. 10: Ausgesuchte Strukturformeln und Bezeichnungen von Standardanalyten aus der Gruppe der stickstoffhaltigen Verbindungen, Teil 1

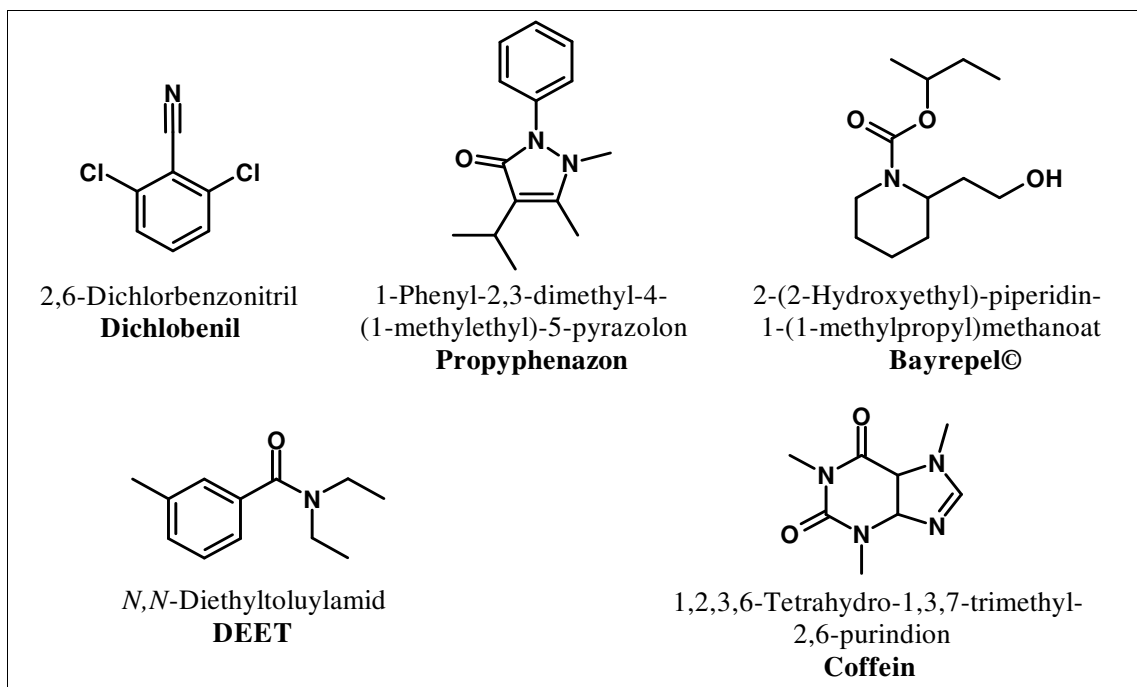


Abb. 11: Ausgesuchte Strukturformeln und Bezeichnungen von Standardanalyten aus der Gruppe der stickstoffhaltigen Verbindungen, Teil 2

Weitere stickstoffhaltige Verbindungen		
Trivialname	Name nach IUPAC	Kurzbeschreibung
Atrazin	2-Chlor-6-ethylamino-4-methyl-ethylamino-1,3,5-triazin	(Alt-)pestizid
Bayrepel®	2-(2-Hydroxyethyl)-piperidin-1-(1-methylpropyl)methanoat	Insekten abwehrender Wirkstoff von Autan®
4-Bromindol	4-Brom-1- <i>H</i> -indol	Naturstoff
Carbamazepin	5 <i>H</i> -Dibenz[<i>b,f</i>]azepin-5-carboxamid	Pharmazeutikum, Anti-epileptikum, Analgetikum
Coffein	1,2,3,6-Tetrahydro-1,3,7-trimethyl-2,6-purindion	Naturstoff, Genußmittel Psychoanaleptikum
DEET	<i>N,N</i> -Diethyltoluylamid	Wirkstoff von Autan® technische Chemikalie
Dichlobenil	2,6-Dichlorbenzonitril	Herbizid
Irgarol 1051 Irgarol	4-(Dimethylethyl)amino-6-cyclopropylamino-2-methylthio-1,3,5-triazin	Anifoulingwirkstoff von Schiffsanstrichen
Propyphenazon	1-Phenyl-2,3-dimethyl-4-(1-methylethyl)-5-pyrazolon	Analgetikum, Anti-phlogistikum, Antipyretikum
Terbutylazin	2-Chlor-4-(dimethylethyl)-amino-6-ethylamino-1,3,5-triazin	Pestizid

Tab. 8: Bezeichnungen und Kurzbeschreibungen der eingesetzten weiteren stickstoffhaltigen Verbindungen

2.1.9 Halogenierte Anisole

Das Auftreten halogener Anisole in aquatischen Systemen ist relativ wenig untersucht, obwohl chlorierte und bromierte Anisole prinzipiell weit verbreitet in der Umwelt nachgewiesen werden können^[16,73,86,108,109]. Auch bei diesen Verbindungen ist die Frage nach einer anthropogenen oder biogenen Herkunft nicht eindeutig zu beantworten. Einerseits werden halogenierte Anisole, wenn auch in begrenztem Umfang, industriell hergestellt, wobei chlorierte Produkte gegenüber den bromierten dominieren. Andererseits ist bekannt, daß eine erhebliche Anzahl chlorierter und bromierter Anisole durch unterschiedliche Organismen (z.B. Bakterien, Pilze) produziert werden^[110-112] und weit verbreitet in marinen Organismen^[113-115] und in Sedimenten auftreten^[116]. Von besonderem Interesse in diesem Zusammenhang ist die mikrobielle Methylierung von halogenierten Phenolen zu den entsprechenden Anisolen. Dieses Phänomen ist aus der Lebensmittelanalytik seit längerem bekannt^[111,112,117], ob aber diese Prozesse in nennenswertem Umfang auch unter anaeroben Bedingungen in Sedimenten oder Kläranlagen ablaufen, scheint allerdings noch nicht ausreichend untersucht zu sein. Vereinzelt konnten solche Biomethylierungen in Böden und Kläranlagen nachgewiesen werden^[71,118,119].

Die nachfolgend in Abbildung 12 und Tabelle 9 aufgeführten Anisolderivate wurden als Standardsubstanzen eingesetzt.

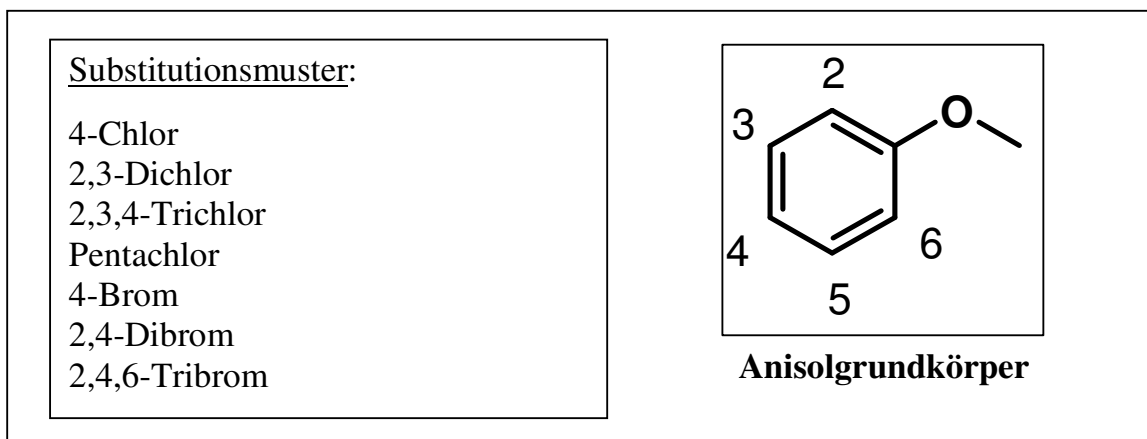


Abb. 12: Grundstruktur und Substitutionsmuster der eingesetzten Anisolderivate

Halogenierte Anisole		
Trivialname oder Kürzel	Name nach IUPAC	Kurzbeschreibung
4-Chloranisol	1-Chlor-4-methoxybenzol	technische Chemikalien und mögliche Transformations- oder Naturprodukte
4-Bromanisol	1-Brom-4-methoxybenzol	
2,3-Dichloranisol	1,2-Dichlor-3-methoxybenzol	
2,4-Dibromanisol	1,3-Dibrom-4-methoxybenzol	
2,3,4-Trichloranisol	1,2,3-Trichlor-4-methoxybenzol	
2,4,6-Tribromanisol	1,3,5-Tribrom-6-methoxybenzol	

Tab. 9: Bezeichnungen und Kurzbeschreibungen der eingesetzten halogenierten Anisole

2.1.10 Weitere Verbindungen

Um ein möglichst großes Substanzspektrum bei den geplanten methodischen Untersuchungen abzudecken, wurden schließlich mit Hexachlorbenzol (HCB) und 1,1,1-Trichlor-2-(2-chlorphenyl)-2-(4-chlorphenyl)ethan (*o,p'*-DDT) relativ unpolare Altpestizide ausgewählt, deren ubiquitäres Vorkommen in der Umwelt seit vielen Jahren als bekannt anzusehen ist^[51,120]. Weil entsprechend leistungsfähige Analysemethoden zur Bestimmung dieser Analyten etabliert sind, stand weniger ihre mögliche Detektion in Umweltproben als die Untersuchung methodischer Aspekte im Vordergrund. Demhingegen sollten *E*-1-Methoxy-4-(1-propenyl)benzol (*trans*-Anethol) und 1,2,4,6,7,8-Hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethylcyclo-penta(*g*)-2-benzopyran-1-on (HHCB-Lacton) als aktuellere Vertreter einer Gruppe von wenig polaren PPCPs untersucht werden. Während *trans*-Anethol, das als etherisches Öl von Pflanzen produziert wird und u.a. wegen seiner fungiziden, schleimlösenden und odorischen Eigenschaften Bestandteil von Lebensmitteln, aber auch diverser pharmazeutischer oder antiseptischer Produkte ist^[51,59,121], bislang nur vereinzelt in Umweltproben nachgewiesen wurde^[42,122], ist HHCB-Lacton, der Hauptmetabolit des Moschusduftstoffes Galaxolid®, offensichtlich eine weit verbreitete Umweltkontaminante, die zunehmend öfter Gegenstand entsprechender Untersuchungen ist^[123-125]. In Abb. 13 sind die Strukturformeln der aufgeführten Verbindungen dargestellt.

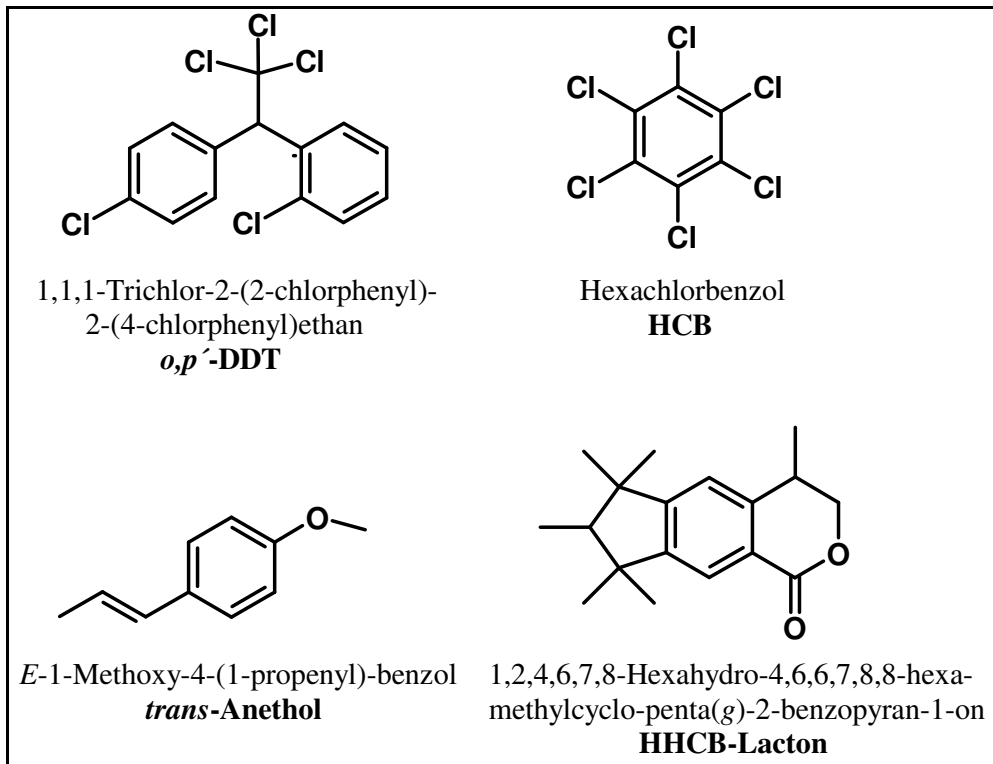


Abb. 13: Strukturformeln und Bezeichnungen der in Tabelle 10 aufgeführten Verbindungen

Weitere Verbindungen		
Trivialname oder Kürzel	Name nach IUPAC	Kurzbeschreibung
<i>trans</i> -Anethol	<i>E</i> -1-Methoxy-4-(1-propenyl)-benzol	Naturprodukt Antitussivium Expektorans
HCB	Hexachlorbenzol	Altpestizid Verbrennungsprodukt technische Chemikalie
<i>o,p'</i> -DDT	1,1,1-Trichlor-2-(2-chlorphenyl)-2-(4-chlorphenyl)ethan	Altpestizid
HHCB-Lacton HHCB-on	1,2,4,6,7,8-Hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethylcyclo-penta(g)-2-benzopyran-1-on	Moschusduftstoff- Metabolit

Tab. 10: Bezeichnungen und Kurzbeschreibungen der eingesetzten weiteren Verbindungen

2.2 interne Standardsubstanzen

Werden einer Probe interne Standardsubstanzen vor Beginn der Aufarbeitung zugegeben, so dienen diese *Surrogatstandards* der quantitativen Berücksichtigung aller Verluste, die Targetanalyten während der gesamten analytischen Prozedur unterliegen. Dementsprechend müssen Surrogatstandards in ihrer chemischen Struktur den Analyten möglichst ähnlich sein, dürfen aber nicht zum Schadstoffinventar der untersuchten Probenmatrices gehören. Während bei nicht strukturspezifischen Detektoren interne Standardverbindungen nicht mit anderen Analyten coeluiieren dürfen, bietet die massenspektrometrische Detektion die Möglichkeit der Verwendung isopenmarkierter Analyten^[126-130]. Aus diesem Grund wurden während der praktischen Arbeiten die in Abbildung 14 und Tabelle 11 vorgestellten Surrogatstandards eingesetzt. Als Vertreter für die sauren Analyten dienten jeweils in deuterierter Form Phenylethansäure, 3-(3,4-Dichlorphenyl)propansäure und Mecoprop. Als Surrogatverbindung für basische Analyten wurde ¹⁵N-markiertes Coffein verwendet und für neutrale Verbindungen *trans*-Heptachlorepoxyd (1,4,5,6,7,8,8-Heptachlor-1,2,3a,4,7,7a-hexahydro-4,7-methanoinden-*endo*-2,3-epoxyd). Während ein Vorkommen der isopenmarkierten Verbindungen in Umweltproben an sich auszuschließen war, konnte dies für *trans*-Heptachlorepoxyd (*t*-HCE) immerhin mit hoher Sicherheit angenommen werden. *cis*-Heptachlorepoxyd ist ein Metabolit des in der Anwendung verbotenen Insektizides *Heptachlor* (1,4,5,6,7,8,8-Heptachlor-3a,4,7,7a-tetrahydro-4,7-methanoinden), wobei die Metabolisierung so enantioselektiv zum *cis*-Isomer führt, daß die *trans*-Verbindung in der Umwelt bislang nicht detektiert werden konnte^[51,59,129].

Neben der Verwendung von Surrogatstandards ist auch die Dotierung der aufgearbeiteten Probenextrakte unmittelbar vor der Messung mit einem *Volumenstandard* üblich. Volumenstandards dienen in erster Linie der Nivellierung gerätetechnischer Detektionsschwankungen, können aber durchaus auch zur Quantifizierung dienen, wenn die Linearität und Reproduzierbarkeit der Gesamtmethode bekannt ist. Als Volumenstandard wurde perdeuteriertes Anthracen (Anthracen-D₁₀) eingesetzt, dessen Eignung als interner Standard vielfach belegt ist^[130-132]. Die Strukturen von *trans*-Heptachlorepoxyd und Anthracen-D₁₀ sind in der Abbildung 15 aufgeführt.

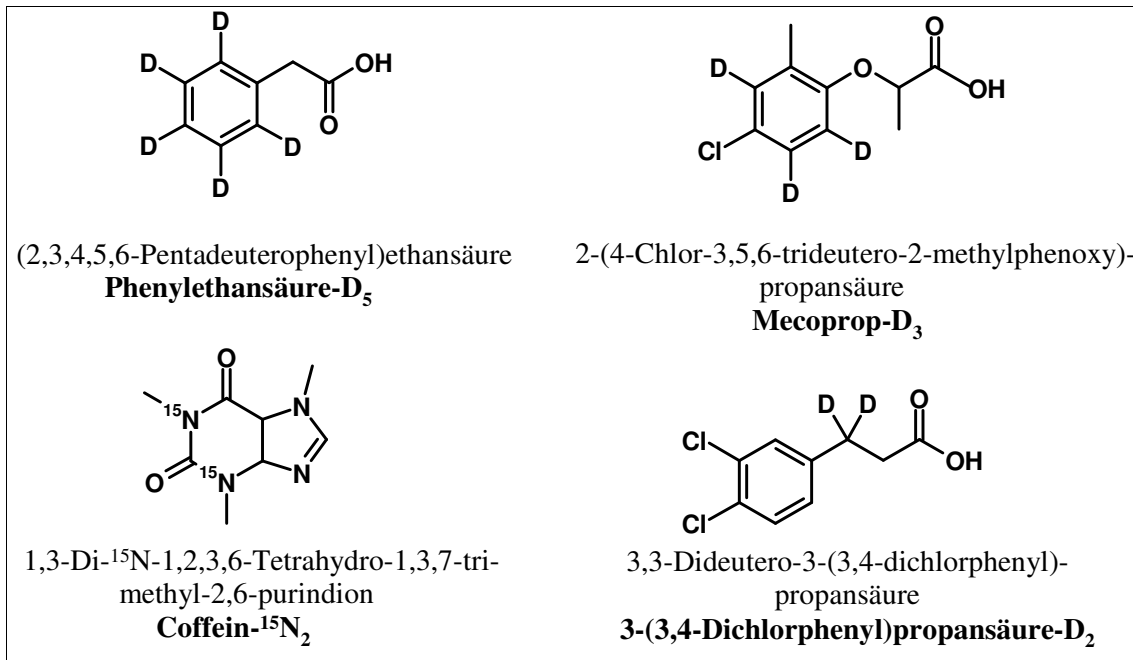


Abb. 14: Strukturformeln und Bezeichnungen der in Tabelle 11 aufgeführten sauren und basischen Surrogatstandards

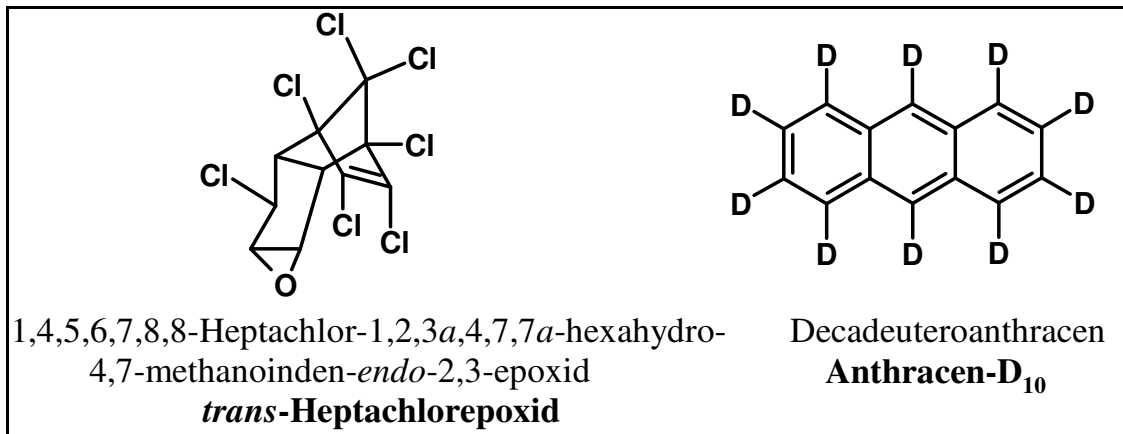


Abb. 15: Strukturformeln und Bezeichnung des in Tabelle 11 aufgeführten neutralen Surrogatstandards und des Volumenstandards

Interne Standardverbindungen		
Trivialname, Kürzel	Name nach IUPAC	Kurzbeschreibung
Phenyllessigsäure-D ₅ PAA-D ₅	(2,3,4,5,6-Pentadeuterophenyl)- ethansäure	saure Surrogatstandards
3,4-DCPPA-D ₂	3,3-Dideutero-3-(3,4-Dichlor- phenyl)propansäure	
Mecoprop-D ₃ MD ₃	2-(4-Chlor,3,5,6-trideutero-2- methylphenyl)propansäure	
Coffein- ¹⁵ N ₂ ¹⁵ N ₂	1,3-Di ¹⁵ N-1,2,3,6-Tetrahydro- 1,3,7-trimethyl-2,6-purindion	basischer Surrogat- standard
<i>trans</i> -Heptachlorepoxyd <i>t</i> -HCE	1,4,5,6,7,8,8-Heptachlor- 1,2,3a,4,7,7a-hexahydro-4,7- methanoinden- <i>endo</i> -2,3-epoxyd	neutraler Surrogatstandard
Anthracen-D ₁₀ AD ₁₀	Decadeuteroanthracen	Volumenstandard

Tab. 11: Bezeichnungen und Kurzbeschreibungen der eingesetzten internen Standardverbindungen

3 Derivatisierung von Referenzsubstanzen

Wenn eine große Zahl von Analyten nebeneinander bestimmt werden soll, wie es in der Umwelt- oder Lebensmittelanalytik häufig der Fall ist, werden gaschromatographische Methoden wegen ihrer herausragenden Trennschärfe und Reproduzierbarkeit bevorzugt eingesetzt. Der wesentlichste Nachteil der Gaschromatographie liegt darin, solche Verbindungen nicht zu erfassen, die unter den üblichen Trennbedingungen thermisch instabil sind. Dieses Problem kann allerdings in vielen Fällen überwunden werden, indem polare Analyten durch entsprechende Reaktionen so modifiziert werden, daß sich ihre Flüchtigkeit und thermische Stabilität ausreichend erhöht^[126-128]. Derivatisierungen werden darüber hinaus auch zu anderen Zwecken eingesetzt. So kann beispielsweise die Flüchtigkeit niedermolekularer Verbindungen erniedrigt werden, um eine bessere Chromatographierbarkeit oder Detektionsempfindlichkeit zu erreichen^[133-136]. Natürlich bleibt der Einsatz von Derivatisierungen nicht auf die Gaschromatographie beschränkt, sondern ist beispielsweise ein wichtiges Werkzeug für viele grundlegende analytische Methoden wie die Kernresonanzspektroskopie^[137-140], Dünnschichtchromatographie (TLC)^[141] oder Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC). Bei Analyten, die flüssigchromatographisch getrennt werden sollen, können entsprechende Funktionalisierungen vor allem zum Zwecke einer empfindlicheren oder spezifischeren Detektion oder auch einer Verbesserung der Separation dienen. Grundsätzlich kann bei der HPLC die Derivatisierung vor einer flüssigchromatographischen Trennung (*pre-column Derivatisierung*) durchgeführt werden, was sowohl Einfluß auf die Detektierbarkeit der Analyten als auch auf ihre chromatographischen Eigenschaften hat^[142-145], oder es wird die gewünschte Funktionalisierung nach der Separation durchgeführt (*post-column Derivatisierung*), wodurch nur die Detektion beeinflußt wird^[146,147]. Inzwischen ist eine schwer überschaubare Fülle entsprechender Reaktionen und Reagentien entwickelt worden^[148,149], von denen sich aber nicht alle für die quantitative organische Spurenanalyse von Umweltproben eignen. Denn dazu ist vor allem erforderlich, daß die eingesetzten Reaktionen bei kleinsten Ansatzgrößen möglichst vollständig, vor allem aber reproduzierbar und mit einem vertretbaren Zeitaufwand verlaufen, keine störenden Nebenprodukte erzeugen und unempfindlich gegenüber dem Vorhandensein einer natürlichen Matrix sind^[126-128]. Selbsterklärend, aber oft schwer realisierbar ist, daß die Derivate, die zur Erzeugung guter chromatographischer Eigenschaften generiert wurden, zudem von dem verwendeten Analysesystem möglichst empfindlich detektiert werden können. Dementsprechend soll eine Derivatisierung neben der Erzeugung gaschromatographisch nötiger Eigenschaften bei der Verwendung spezieller Analysetechniken, wie etwa der Elektroneneinfangdetektion, der Stickstoff-Phosphor-detektion oder der Massenspektrometrie mit negativer chemischer Ionisation (MS-NCI), auch entsprechend signalvermittelnde Gruppen in die Analyten einbringen. Für eine non-target-Analytik ist darüber hinaus erwünscht, möglichst viele polaritätsvermittelnde chemische Funktionen verschiedener Substanzklassen in einem Schritt umzuwandeln,

während für eine target-Analytik meist eine selektive Reaktion angestrebt wird, die nur die Zielanalyten erfaßt^[50, 150].

Im Rahmen einer vorausgegangenen Arbeit, in der auch eine kurze Übersicht über die grundsätzlichen Methoden bei der Derivatisierung polarer organischer Verbindungen und ihrer gaschromatographischen Bestimmung gegeben wird, haben sich zwei Reaktionstypen bei der Umsetzung einer Reihe von pharmazeutischen Verbindungen als besonders geeignet erwiesen^[50]. Dies war einerseits die Bildung von Trimethylsilylethern an aliphatischen und aromatischen Hydroxyfunktionen und andererseits die parallele Umsetzung von Carbonsäuren zu den entsprechenden Carbonsäureestern und von Phenolen zu Alkylkohlen säureestern. Beide Reaktionen sollten innerhalb dieses Promotionsvorhabens für die Untersuchung von Umweltproben optimiert und erweitert werden.

3. 1 Silylierungen

Silylierungen sind sowohl in der präparativen als auch in der analytischen Chemie weit verbreitet und stellen vermutlich den zahlenmäßig größten Anteil unter den Derivatisierungsreaktionen. So sind beispielsweise über 200 verschiedene Silylierungsreagenzien durch einen bekannten Chemiekalienvertrieb lieferbar^[151]. Für die Silylierung polarer Analyten in der Spuren- und Umweltanalytik finden allerdings nur wenige Verbindungen breite Anwendung. Dazu gehören vor allem:

N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluorethanamid
(*N,O*-Bis-(trimethylsilyl)trifluoracetamid = BSTFA)

N-Methyl-*N*-dimethyl(dimethylethyl)silyl)trifluorethanamid
(*N*-tert-Butyldimethylsilyl-*N*-methyltrifluoracetamid = MTBSTFA)

N-Methyl-*N*-trimethylsilyl)trifluorethanamid
(*N*-Methyl-*N*-trimethylsilyl)trifluoracetamid = MSTFA)

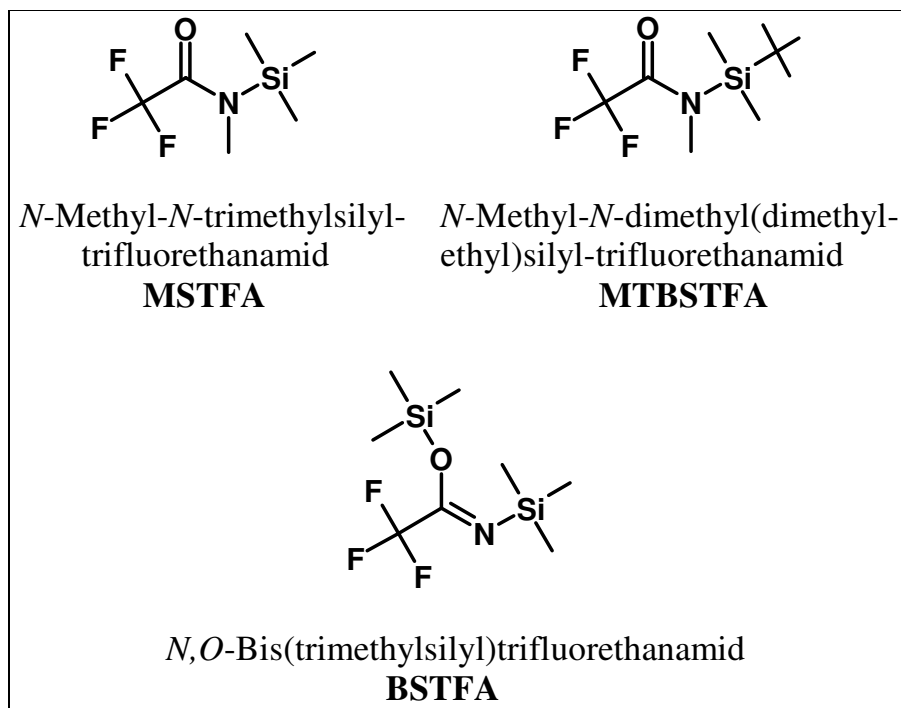


Abb. 16: Strukturformeln der Silylierungsreagenzien MSTFA, MTBSTFA und BSTFA

BSTFA, MTBSTFA und MSTFA, deren Strukturen in Abbildung 16 dargestellt sind, zeichnen sich im Vergleich zu klassischen Silylierungsreagenzien wie etwa Chlortrimethylsilan (TMCS), Hexamethyldisilazan (HMDS) oder *N,O*-Bis(trimethylsilyl)ethanamid (BSA) durch eine vergleichbare oder höhere Silylierungskraft aus, so daß eine Vielzahl von Analyten wie beispielsweise aliphatische Alkohole, Phenole, Carbonsäuren, Aminosäuren, Aniline usw. umgesetzt werden können. Dabei sind BSTFA und MSTFA etwa gleich reaktiv, während MTBSTFA aufgrund der Sperrigkeit der Dimethylethylgruppe sterisch gehinderte Funktionen weniger gut umsetzt. Auf der anderen Seite sind die aus Umsetzungen mit MTBSTFA resultierenden Dimethyl(dimethylethyl)silylderivate erheblich hydrolysestabiler als die Trimethylsilylverbindungen, die durch BSTFA und MSTFA generiert werden. Der besondere Vorteil der drei Trifluoroethanamidreagenzien aber ist, daß sie in der Gaschromatographie als Lösungsmittel für die Analyten selbst fungieren können. Begründet liegt dies einerseits in der hohen Flüchtigkeit dieser Substanzen, die, wie andere Lösungsmittel auch, die Säule vor den Analyten passieren, und andererseits darin, daß auch durch eine thermische Zersetzung, wie sie beispielsweise im heißen Injektor oder auf der Trennsäule stattfinden kann, nur unpolare und leicht flüchtige Nebenprodukte entstehen, die die stationäre Trennphase nicht zerstören. Diese Eigenschaften führen dazu, daß die Reagenzien im Überschuß eingesetzt werden können und vor der Messung nicht abgetrennt werden müssen, so daß geringe Substanzverluste und hohe Umsatzraten resultieren^[149,151]. Durch die Verträglichkeit gaschromatographischer Systeme mit den genannten Silylierungsreagenzien muß die Derivatisierung nicht zwangsläufig vor der Einbringung in das Analysesystem stattgefunden haben,

sondern kann ebenso im Injektorraum selbst durchgeführt werden (*intra-injector derivatisation*)^[152-155]. Weiterhin ermöglicht der Zusatz von Katalysatoren oder Coreaktanden, wie es beispielsweise die entsprechenden Chloralkylsilane oder 1-(Alkylsilyl)imidazole sind, eine zusätzliche Steigerung der Reaktivität. Dennoch stehen den geschilderten Vorteilen auch einige Nachteile entgegen. So sind viele Silylderivate hydrolyseempfindlich, wobei etwa folgende Reihenfolge gilt: *N*-Silylderivate > Carbonsäuresilylester > Silylether. Daraus resultieren wichtige Einschränkungen: Einerseits ist die Umsetzung feuchter Proben weitgehend ausgeschlossen, weiterhin können bereits derivatisierte Proben nur begrenzt gelagert werden und schließlich ist eine quantitative Bestimmung von Analyten, deren Derivate in Abhängigkeit von variablen äußeren Faktoren, wie etwa der Probenzusammensetzung oder –aufarbeitung, unterschiedlich stark hydrolysiert werden können, ungenau^[149,151].

3.1.1 Silylierung von Steroiden

Obwohl in der Umweltanalytik Silylierungsreaktionen für eine ganze Reihe unterschiedlicher Analyten entwickelt wurden, besteht die wesentlichste Anwendung in der Derivatisierung von Phenolen und aliphatischen Alkoholen. Insbesondere die Umsetzung von Steroiden zu den Silylethern sind weit verbreitet, denn Steroide sind aufgrund ihrer relativ hohen Molmasse und des Auftretens polaritätsvermittelnder chemischer Funktionen sehr anspruchsvolle Analyten für eine gaschromatographische Trennung. Daneben ist die flüssigchromatographische Analyse dieser Substanzen eine wichtige Alternativmethode, die in der Vergangenheit nur aufgrund einer geringeren Detektionsempfindlichkeit der Gaschromatographie nachstand. In den letzten Jahren konnte dieser Nachteil allerdings durch die Einführung hochempfindlicher Geräte und Messtechniken ausgeglichen werden^[80,81]. Da dies jedoch aufwendige und kostenintensive Systeme voraussetzt, die Gaschromatographie aber insbesondere hinsichtlich der Methodenentwicklung vergleichsweise unkompliziert ist und relativ einfache, schnelle und reproduzierbare Messungen ermöglicht, liegt hinsichtlich der spurenanalytischen Bestimmung von östrogenen Steroiden eine Situation vor, in der beide chromatographischen Verfahren gleich geeignet erscheinen und auch immer noch parallel entwickelt werden^[82,152]. Um den östrogenen Steroiden ausreichend gute gaschromatographische Eigenschaften zu vermitteln, ist für den spurenanalytischen Nachweis eine Derivatisierung praktisch unumgänglich. Obgleich eine ganze Reihe unterschiedlicher Reaktionen in diesem Zusammenhang bereits angewendet wurden^[156-160], scheinen Silylierungen bevorzugt eingesetzt zu werden. Gründe hierfür sind, daß die Reaktionen zumeist unkompliziert durchzuführen sind, vollständige Umsetzungen erlauben und die resultierenden Derivate z.B. in Vergleich zu den acylierten Verbindungen eine höhere Stabilität und geringere Polarität aufweisen^[83,84,159-161].

Zur Silylierung von Steroiden werden praktisch ausschließlich die bereits in Abschnitt 3.1 erwähnten Reagenzien BSTFA, MTBSTFA und MSTFA verwendet,

wobei in den meisten Fällen Katalysatoren oder Coreaktanden mit in die Reaktionen eingebracht werden. In Tabelle 12 sind einige der angeführten Veröffentlichungen hinsichtlich der darin beschriebenen Untersuchung östrogenen Analyten und ihrer Umsetzung zu den Silylderivaten ausgewertet:

Steroide	Reagenzien	Reaktion	Derivate	Literatur
Estron, 17 β -Östradiol Mestranol, Estriol 17 α -Ethinylöstradiol	BSTFA	keine Angabe	Per-TMS-ether außer bei Mestranol	[161] <i>Díaz-Cruz et al.</i>
Estron 17- β -Östradiol Mestranol 17 α -Ethinylöstradiol	MSTFA : 500 TMSIM : 1 DTE : 1 (v,v,v)	1 h 333 K	keine Angabe (<i>Per-TMS-ether wahrscheinlich</i>)*	[84] <i>Ternes et al.</i>
*: Zuordnung aufgrund der angegebenen maximalen m/z - Werte				
Estron 17 β -Östradiol Mestranol 17 α -Ethinylöstradiol Estriol	MSTFA : 98 Pyridin:2 (v,v) + 1 % BSA : 3 TMSIM : 3 TMCS :2 (v,v,v)	30 min 293 K	TMS-Estron Di(TMS)-ethinyl- östradiol weitere Derivate nicht erwähnt (<i>Per-TMS-ether wahrscheinlich</i>)*	[152] <i>Holtey-Weber et al.</i>
Estron, 17 β -Östradiol Mestranol 17 α -Ethinylöstradiol Estriol	MSTFA : 500 TMSI : 2 DTE : 1 (v,v,v)	30 min 333 K	Per-TMS-ether (<i>Estronderivat vermutlich TMS-enoether</i>)*	[159] <i>Kuch & Ballschmiter</i>
Estron 17 β -Östradiol 17 α -Ethinylöstradiol	MTBSTFA : 99 TBDMCS : 1 (v,v)	32 min 293 K Us	<i>mono</i> -TBDMS- ether an Ring A	[83] <i>Kelly</i>
<u>verwendete Abkürzungen und Trivialbezeichnungen:</u> BSA : <i>N,O</i> -Bis(trimethylsilyl)ethanamid BSTFA : <i>N,O</i> -Bis(trimethylsilyl)-trifluorethanamid DTE : 1,4-Dimercapto-2,3-butandiol (Dithioerythr-it/-ol) MSTFA : <i>N,O</i> -Bis(trimethylsilyl) trifluorethanamid MTBSTFA : <i>N,O</i> -Bis-(trimethylsilyl)trifluorethanamid m/z : Masse/Ladung von massenspektrometrisch erzeugten Analytionen TBDMS : Dimethyl(dimethyl)ethylsilyl TBDMCS : Chlordimethyl(dimethyl)ethylsilan TMIS : Iodtrimethylsilan TMS : Trimethylsilyl TMSIM : Trimethylsilylimidazol Us : Ultraschall				

Tab. 12: Übersicht über die in den zitierten Literaturstellen eingesetzten östrogenen Edukte, Reagenzien, Reaktionsbedingungen und Produkte

Eine genauere Auswertung der in Tabelle 12 angeführten Literatur zeigt einerseits die Vielfältigkeit der entwickelten Silylierungsmethoden, andererseits aber auch, daß viele Applikationen mit bestimmten Einschränkungen verbunden sind. Geradezu

erstaunlich ist, wie wenig genau in einigen Fällen die Strukturen der resultierenden Derivate beschrieben wurden, so daß eine Zuordnung dem Leser nur aufgrund der für die massenspektrometrischen Detektionen ausgewählten Ionenspuren möglich ist.

Umsetzungen verschiedener Steroide mit BSTFA sind von mehreren Gruppen beschrieben worden^[161-163]. Die Veröffentlichung von *Díaz-Cruz et al.*^[161] wurde angeführt, weil hier die umweltanalytisch wichtigsten Östrogene untersucht wurden. Unter anderen war ein Resultat dieser Arbeit, daß die Verwendung von BSTFA bei Mestranol nicht zu der Umsetzung der aliphatischen Hydroxylgruppe an Position 17 führte. Dies ist um so erstaunlicher, als das parallel derivatisierte strukturell äußerst ähnliche Ethinylöstradiol an der gleichen Position zum TMS-Derivat reagierte. Diese Umsetzungen sind in der Abbildung 17 dargestellt.

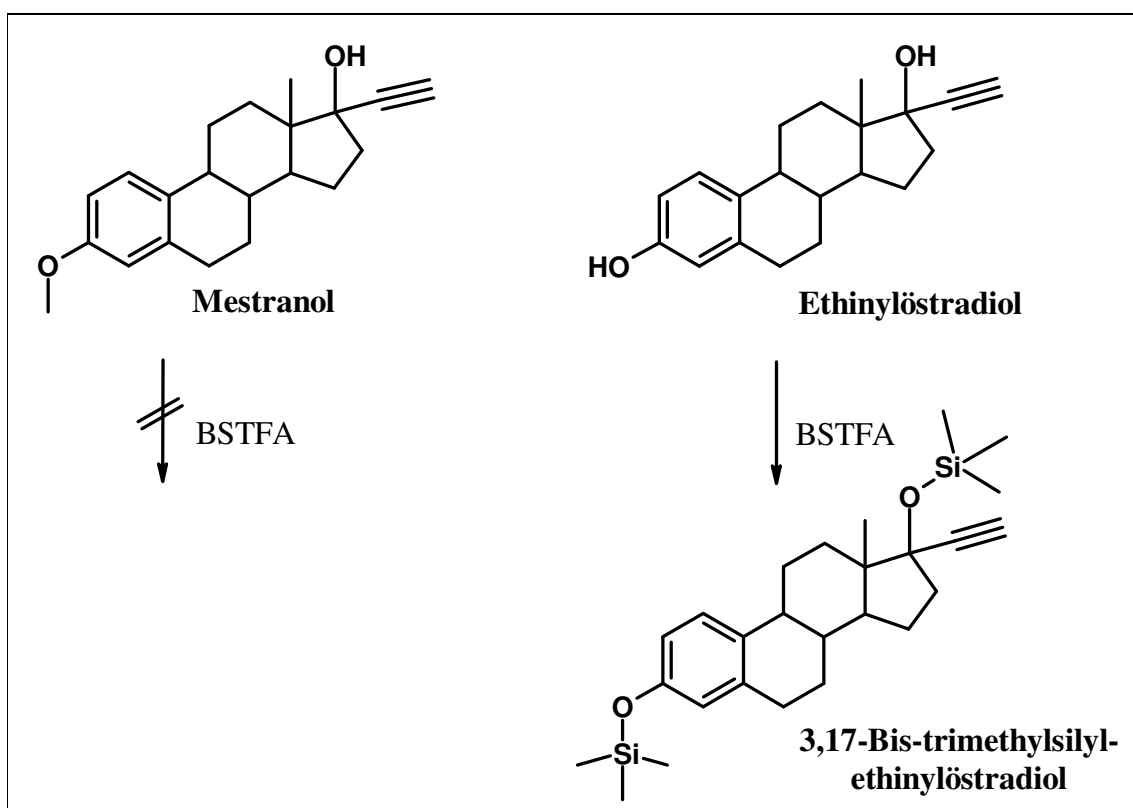


Abb. 17: Umsetzung von Mestranol und Ethinylöstradiol mit BSTFA nach *Díaz-Cruz et al.*^[161]

Die von *Kelly*^[83] beschriebene Derivatisierung mit MTBSTFA führt zur Bildung der relativ hydrolysestabilen TBDMS-ether. Allerdings wurden nur die phenolischen Hydroxylgruppen umgesetzt, während die aliphatischen Funktionen an Ring D des Steroidgrundgerüsts unverändert verblieben (siehe Abb. 18). Diese nicht umgesetzten polaren Gruppen führten insbesondere bei Östradiol und Ethinylöstradiol zu einem Tailing der erzeugten Derivatsignale.

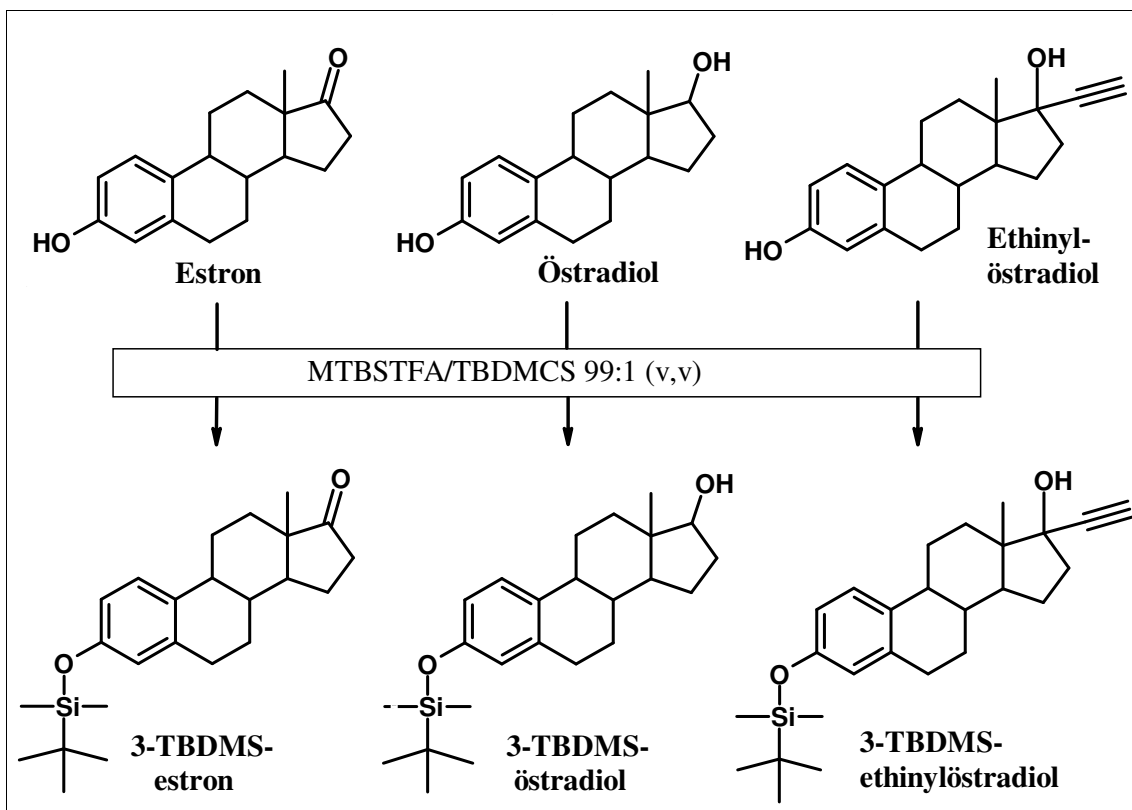


Abb. 18 : Silylierung von Estron, Östradiol und Ethinylöstradiol mit MTBSTFA nach Kelly^[83]

Durch die Verwendung von Reagenzmischungen, die MSTFA enthielten, konnten hingegen alle aromatischen und aliphatischen Hydroxylgruppen der untersuchten Analyten zu den entsprechenden Trimethylsilylethern umgesetzt werden (siehe Abb. 19). Insbesondere *Holtey-Weber et al.*^[152] untersuchten den Einfluß verschiedener Parameter wie Reaktionsdauer, Anteil an Lösungsmittel und Katalysatormenge in der Reaktionsmischung etc., so daß die in Tabelle 12 bei Literaturstelle [152] aufgeführten Daten denen der optimierten Versuchsführung entsprechen. Darüber wurde gezeigt, daß bei einem Anteil von $\leq 0,5\%$ Katalysatormischung in dem MSTFA/Pyridin-Reagenz bei Ethinylöstradiol teilweise die Alkynylgruppe eliminierte, so daß anteilig Trimethylsilylestron entstand. Parallel wurde diese Eliminierung von *Shareef et al.*^[164] ebenso bei der Verwendung von BSTFA/TMSI/TMCS 100:2:1 und von MTBSTFA ohne Katalysatorzusatz beobachtet. Daraus wurde geschlußfolgert, daß dieser Effekt bei Untersuchungen, die sich dieser Silylierungsreaktionen bedienen, zu einer möglichen Überbestimmung von Estron und Unterbestimmung von Ethinylöstradiol geführt haben könnte.

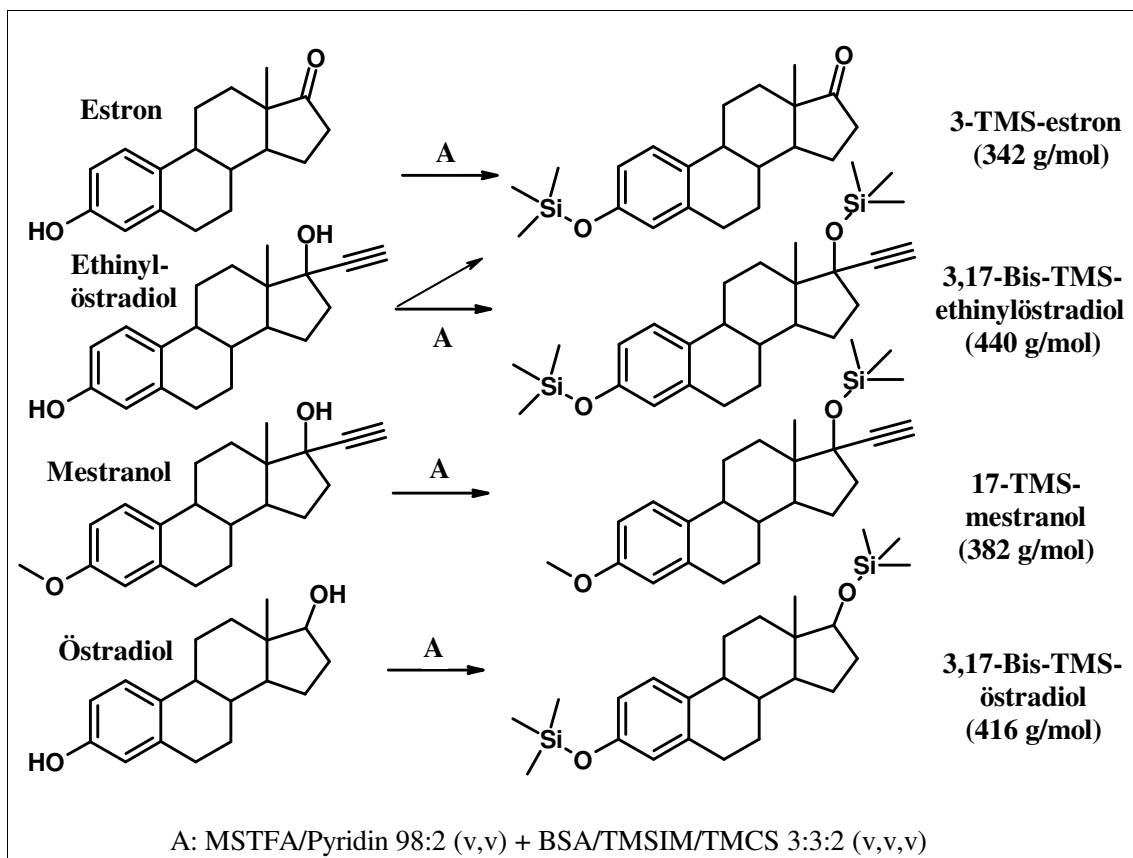


Abb. 19: Silylierung von Estron, Östradiol, Mestranol und Ethinylöstradiol nach Holtey-Weber et al.^[152]

Auch die Verwendung von Dithioerythrol und Iodtrimethylsilan als Katalysatoren für die Silylierung mittels MSTFA wurde von *Holtey-Weber et al.*^[152,160] untersucht, jedoch nicht weiter verfolgt, da diese Reaktion trotz guter Derivatausbeuten mit der Bildung sehr intensiver Nebenproduktsignale einhergingen. *Kuch & Ballschmiter*^[159], haben mittels der letztgenannten Umsetzung u.a. eine Reihe von Östrogenen silyliert. Besonders interessant dabei ist, daß mit einiger Wahrscheinlichkeit ein Bis-TMS-derivat des Estrons detektiert wurde, wie die dabei massenspektrometrisch bestimmten Ionen mit $m/z = 414$ und 415 vermuten lassen. Dies ließe sich durch die Bildung und Umsetzung des entsprechenden Enolethers erklären. *Ternes et al.*^[84] haben hingegen nach Verwendung des gleichen Reagenzes und einer Katalysatormischung von Dithioerythrol und Trimethylsilylimidazol massenspektrometrisch ein Estronderivat detektiert, dessen größter m/z - Wert 342 betrug, was dem Molekülion der monosilylierten Verbindung entspricht. Die Einführung von Iodtrimethylsilan als Katalysator bei der Silylierung von Steroiden beruht auf einer Arbeit von *Donike & Zimmermann*^[166], die erstmals die unterschiedlichen Effekte von Halogen-trimethylsilanen bei der Umsetzung des anabolen Steroids Testosteron mittels MSTFA beschrieben. Dabei wurde festgestellt, daß die Silylierungskraft des Reagenzes durch Verbindungen des Typs Me_3SiX ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$) gesteigert wird, wobei Chlortrimethylsilan dabei den geringsten und Iodtrimethylsilan den stärksten Effekt aufwies. Während MSTFA/TMCS – Mischungen praktisch nur die aliphatische

Hydroxyfunktion in den Silylether überführten, konnten Mischungen von MSTFA und TMIS auch die α,β -ungesättigte Ketofunktion vollständig zum Trimethylsilylenolether umsetzen. Analoge Trimethylsilylenolisierungen durch MSTFA/TMIS wurden ebenfalls mit einer Reihe anderer α,β -ungesättigter Ketosteroide erzielt, wobei die Bildung iodierter Nebenprodukte durch den Zusatz geringer Mengen an Dithioerythrol unterdrückt wurde. Diese Substanz wirkt reduzierend und fängt freies Iod ab, das aus TMIS abgespalten wird, so daß hierin die Begründung für den Einsatz von DTE gesehen werden kann^[166,167]. Die Kombination der Ergebnisse von *Kuch & Ballschmiter* sowie *Donike & Zimmermann* lassen vermuten, daß eine gleichartige Trimethylsilylenolisierung auch bei Estron mit seiner gesättigten Ketofunktion möglich ist. Abbildung 20 zeigt die mutmaßliche Bildung von Trimethylsilylenol-ethern von Estron und Testosteron, wobei aus dem ungesättigten Edukt theoretisch zwei mögliche Produktisomere entstehen können.

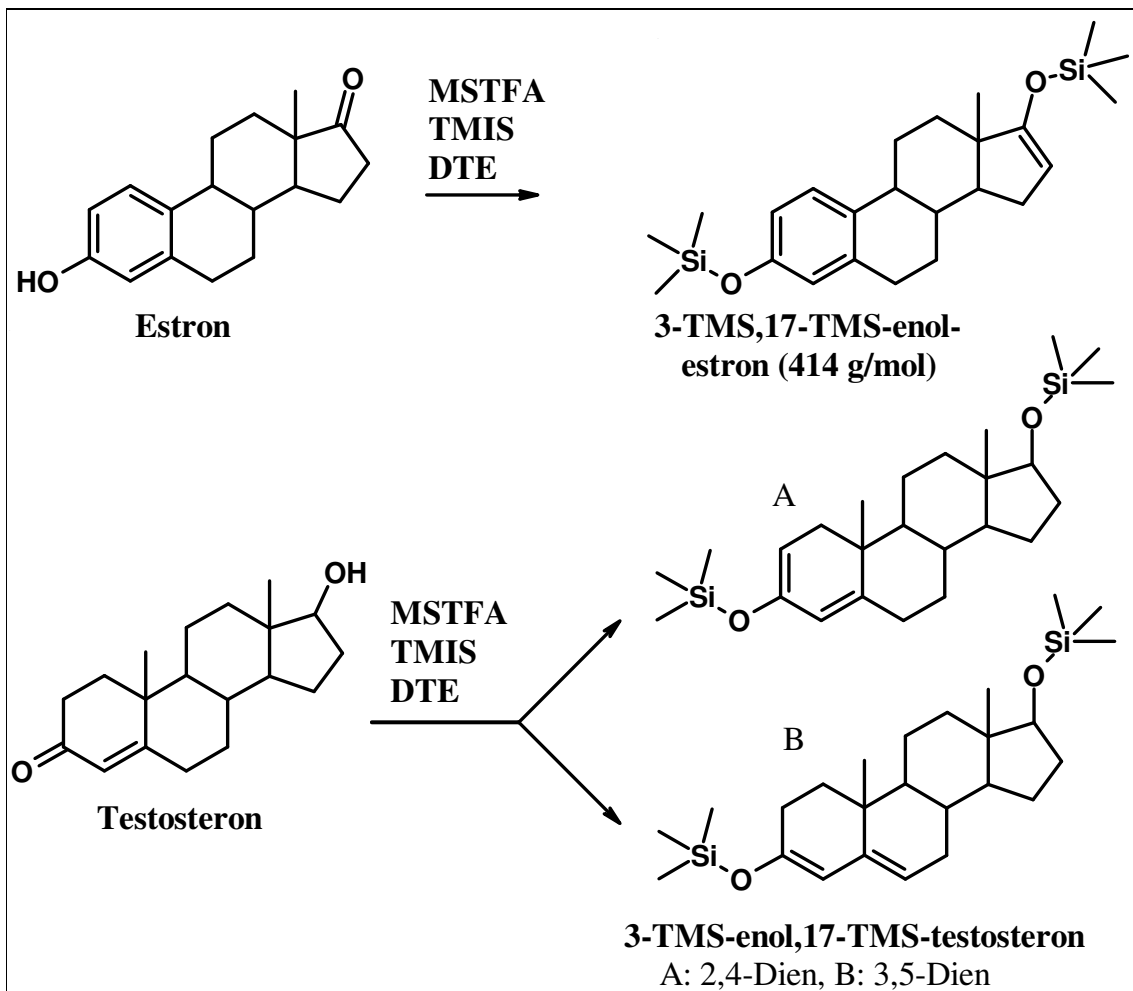


Abb. 20: Trimethylsilylenoletherbildung bei Estron und Testosteron

3.1.2 Untersuchungen zur Silylierung von Referenzsubstanzen

Unter Berücksichtigung der in den vorangehenden Abschnitten 3.1 und 3.1.1 erläuterten Einschränkungen, die mit der Erzeugung von Silylderivaten verbunden sind, lag es nahe, von den ausgewählten Analyten (siehe Abschnitt 2) insbesondere die vier östrogenen Steroide entsprechenden Silylierungsreaktionen zu unterziehen. Im Rahmen einer Diplomarbeit waren mit diesen Steroiden bereits Derivatisierungsversuche vorgenommen worden. Dabei führten Acylierungsreaktionen mit Trifluoressigsäureanhydrid und Heptafluorbutansäureanhydrid zu gaschromatographisch instabilen Derivaten der alkylierten Steroide Mestranol und Ethinylöstradiol, während hingegen mit einer Mischung von MSTFA/TMIS/DTE 500:1:1 bis 100:1:1 (v,v,v) alle Analyten innerhalb weniger Minuten erfolgreich zu den Per-TMS-ethern umgesetzt wurden. Als nachteilig erwies sich allerdings das bereits von *Holtey-Weber*^[160] beschriebene Auftreten sehr intensiv detektierter Reaktionsnebenprodukte und eine geringe Haltbarkeit der Reagenzmischung. Weiterhin konnte die parallele Bildung zweier Estronderivate beobachtet werden, wobei es sich um das *mono*-TMS-Derivat und den 3-TMS,17-TMS-enoether handelte. Durch Erniedrigung der Temperatur auf 248 K (-25 °C) bei der Zugabe der Reagenzmischung zu den Analyten war es möglich, ausschließlich das *mono*-TMS-Estronderivat zu erhalten, während gleichzeitig alle freien Hydroxylgruppen von Östradiol, Mestranol und Ethinylöstradiol trimethylsilyliert wurden^[50].

Die praktische Anwendung der Silylierung mit MSTFA/TMIS/DTE wurde im Rahmen dieser Arbeit gemäß der nachfolgend vorgestellten *Standard-Operation-Procedure* (SOP) durchgeführt:

SOP 1: Lösungen von Referenzsubstanzen werden in einem vial von 1,5 mL Innenvolumen mittels eines Stickstoffstroms zur Trockene eingengt und im Gefrierschrank mindestens 30 min auf 248 K (-25 °C) abgekühlt. Sofort nach Entnahme der gekühlten Probe aus der Kälte werden 50 µL der ebenfalls auf 248 K abgekühlten Reagenzmischung MSTFA/TMIS/DTE 500:1:1 (v,v,v) zu dem trockenen Rückstand gegeben. Diese Mischung wird unmittelbar anschließend für 30 min im Stickstoffstrom zur Trockene abgeblasen, der Rückstand in 100 µL einer Lösung des Volumenstandards *t*-HCE oder AD10 in *n*-Hexan aufgenommen und für die Messung mittels GC/MS in ein 150 µL insert überführt.

Abbildung 21a zeigt ein Totalionenchromatogramm, das aus der Umsetzung der vier Östrogene (eingesetzte Mengen: je 4 ng absolut) nach SOP 1 resultiert. Die Massenspektren der trimethylsilylierten Steroidderivate sind in Abbildung 21b dargestellt, und eine Auswertung des Chromatogramms auf den Spuren der intensivsten Derivationen gibt Abbildung 22 wieder.

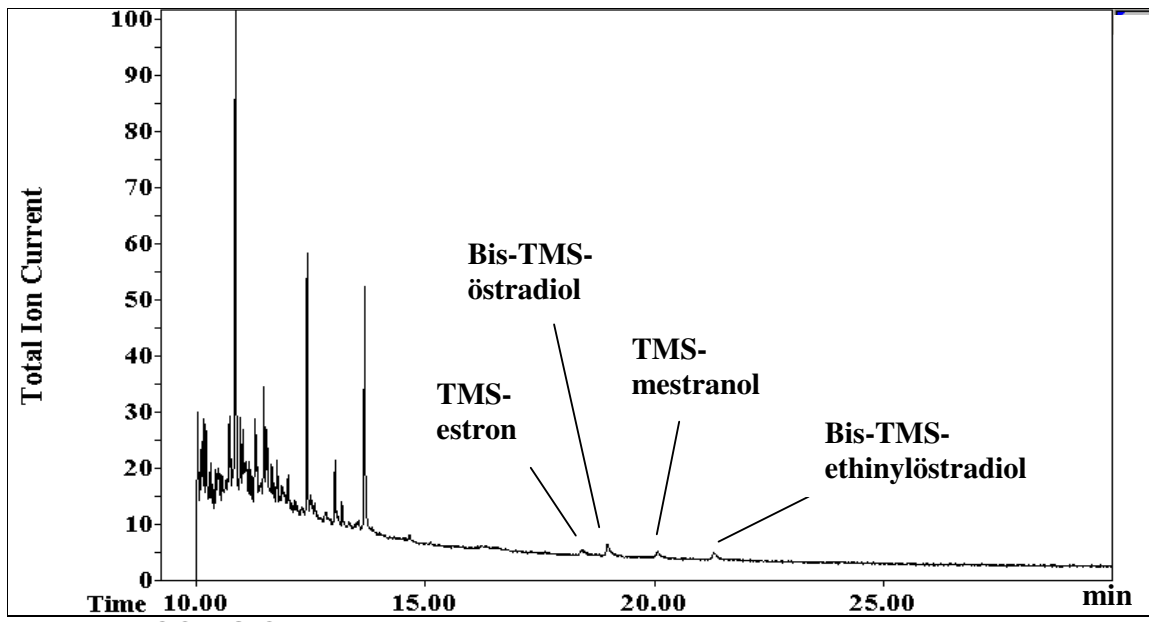


Abb. 21a: GC/MS Chromatogramm (full scan) der Umsetzung von je 5 ng Estron, Östradiol, Mestranol und Ethinylöstradiol nach SOP 1
 (Säule: 30 m DB5-MS, 2 min 333 K, → 533 K: 20 K/min, 23 min 533 K)

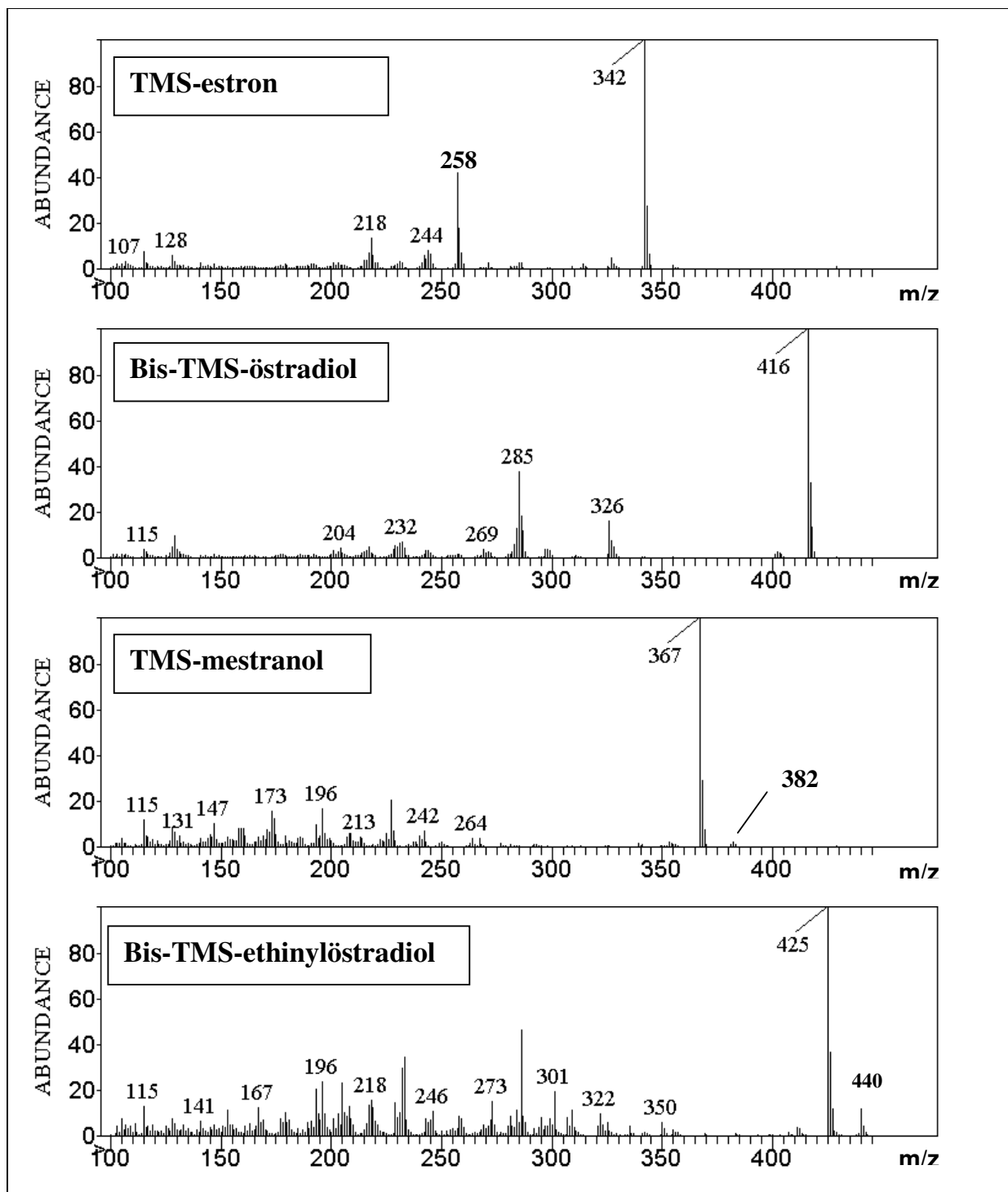


Abb. 21b: Massenspektren der derivatisierten Analyten aus Abbildung 21a

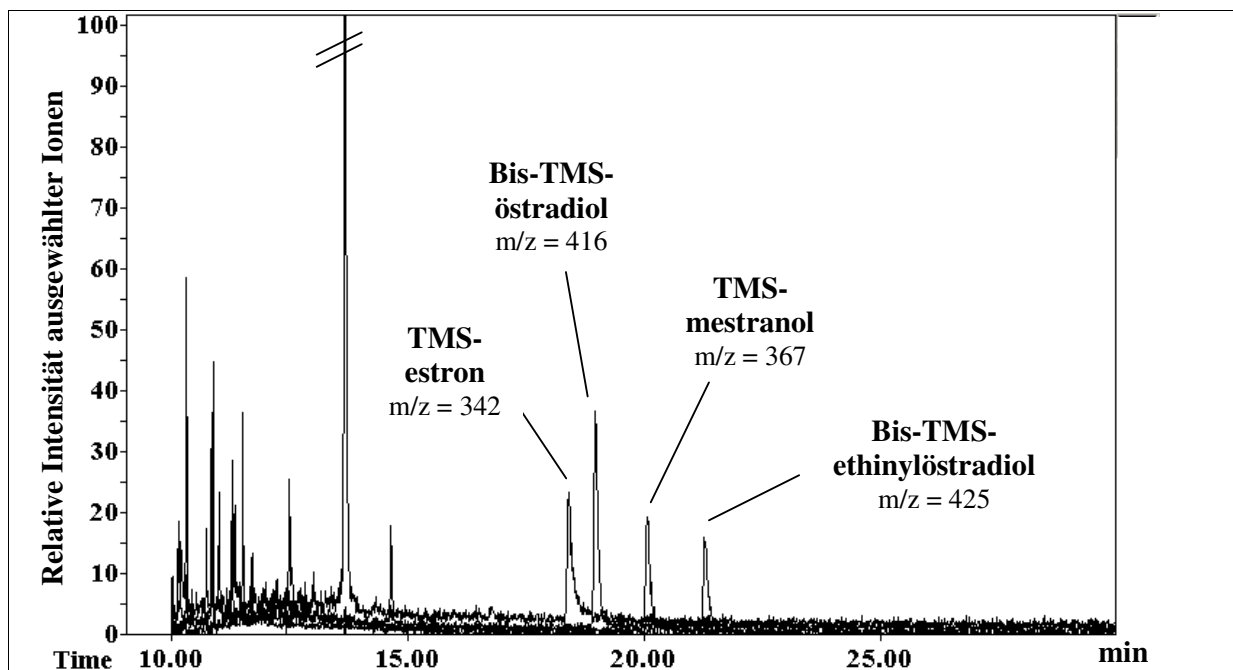


Abb. 22: Auswertung des GC/MS Chromatogramms aus Abbildung 21a auf den Ionenspuren 342 + 416 + 367 + 425

(Säule: 30 m DB5-MS, GC-Programm: 2 min 333 K, → 533 K: 20 K/min, 23 min 533 K)

Um eine mögliche Dealkinylierung von Ethinylöstradiol zu überprüfen, wie sie von *Holtey-Weber et al.*^[152] und *Shareef et al.*^[164] beschrieben wurde, wurde dieser Analyt in einer vergleichsweise hohen Konzentration gemäß SOP 1 umgesetzt. In der aufgearbeiteten Probe konnte kein Estronderivat nachgewiesen werden, so daß davon auszugehen war, daß mit der verwendeten Silylierungsmischung keine Eliminierung am Ethinylöstradiol eintritt. Abbildung 23 zeigt ein auf den für Bis-TMS-Ethinylöstradiol und die beiden möglichen Estronderivate repräsentativen Ionenspuren ausgewertetes Chromatogramm dieser Umsetzung. Auch bei einer stark vergrößerten Darstellung der Chromatogrammgrundlinie sind keinerlei Signale der beiden möglichen Trimethylsilylderivate des Dealkinylierungsproduktes zu erkennen. Die veränderte Retentionszeit gegenüber Abbildung 22 resultiert aus einem langsameren Temperaturprogramm.

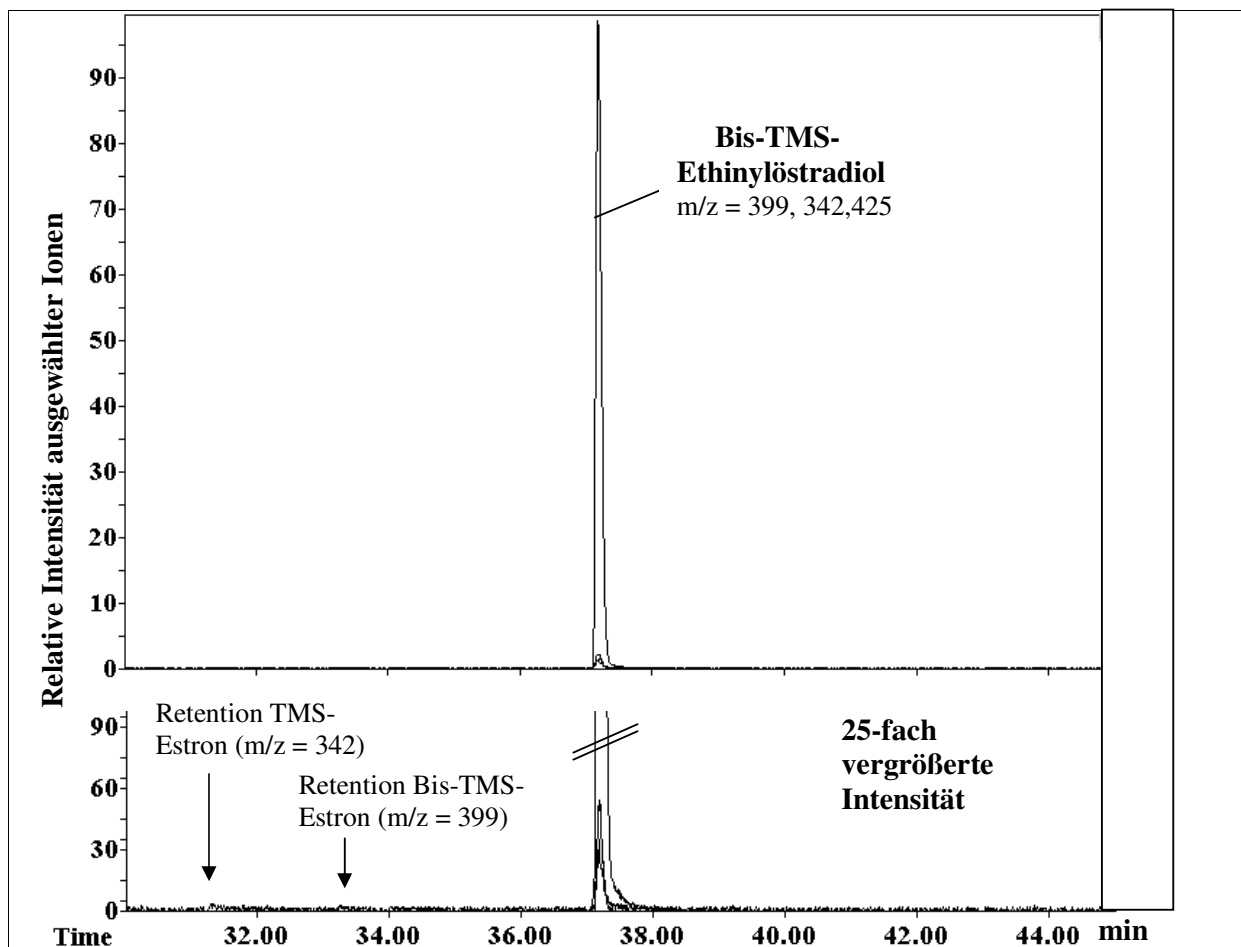


Abb. 23: GC/MS Chromatogramm der Umsetzung von 1 µg Ethinylöstradiol nach SOP 1, ausgewertet auf den Ionenspuren 342 + 399 + 425
 (Säule: 30 m DB5-MS, GC-Programm: 2 min 333 K, → 533 K: 7 K/min, 19 min 533 K)

Für die weitere Anwendung sollte diese Methode optimiert werden, wobei vor allem eine Substitution des DTE im Vordergrund stand, das für die Bildung der störenden Nebenprodukte verantwortlich war. Die Verwendung anderer Silylierungsreagenzien wie etwa BSTFA oder MTBSTFA wurde nicht verfolgt, weil aufgrund der Literaturrecherche die in Abschnitt 3.1.1. aufgeführten Schwierigkeiten bei der Verwendung dieser Substanzen zu befürchten waren. Bei DTE handelt es sich, wie in Abbildung 24 gezeigt, um die *meso*-Form von 2,3-Dihydroxy-1,4-ethandithiol, einem leicht oxidierbaren, niedrigschmelzenden Feststoff (Festpunkt: 354-358K (81-85 °C)), der in den benötigten kleinen Mengen schlecht abgemessen werden konnte, was sich negativ auf die Reproduzierbarkeit des Ansatzes frischer Silylierungsmischungen auswirkte. Zudem konnten wir eine drastische Zunahme der störenden Nebenprodukte nach der Derivatisierung feststellen, wenn die Reagenzmischung länger als einige Tage aufbewahrt worden war bzw. als DTE aus einem angebrochenen Gebinde verwendet wurde, obgleich dieses gut verschlossen und gekühlt aufbewahrt worden war.

Bei der Suche nach einer alternativ zu DTE einzusetzenden Substanz wurde zunächst 2-Hydroxy-1-ethanthiol (2-Mercaptoethanol = 2-ME) ausgewählt, das als

monomeres Strukturelement von DTE angesehen werden kann, sich aber mit einem Siedepunkt von 430K (157 °C) durch eine wesentlich größere Flüchtigkeit auszeichnet.

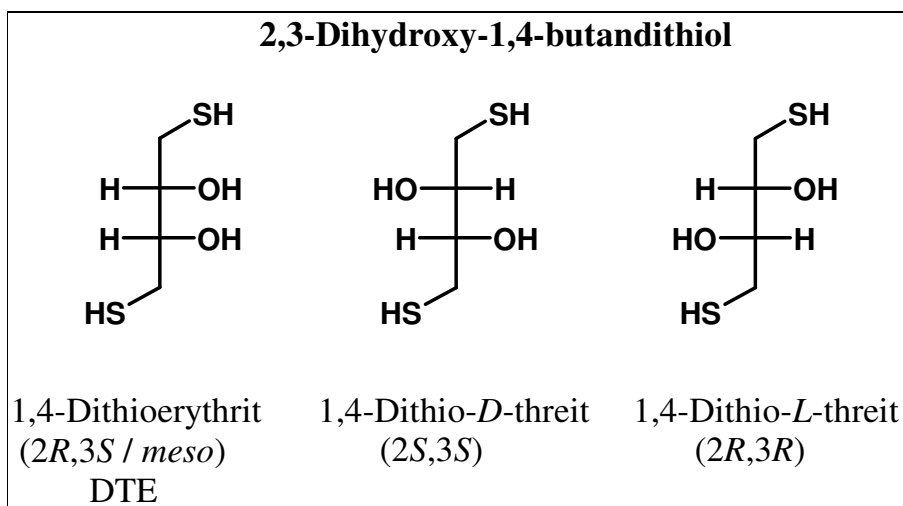


Abb. 24: Stereoisomere Strukturen von 2,3-Dihydroxy-1,4-butandithiol

Durch Verwendung einer Silylierungsmischung MSTFA/TMIS/2-ME 100:1:1 (v,v,v), unter ansonsten gleichen Bedingungen wie bei der zuvor beschriebenen Umsetzung in Anwesenheit von DTE, konnten auf Anhieb alle 4 Östrogene persilyliert werden. Allerdings war das Silylierungspotential dieser Mischung stärker, so daß trotz Umsetzung in der Kälte erhebliche Anteile des Estron-TMS-enolethers detektiert wurden. Abbildung 25a zeigt das Totalionenchromatogramm der Umsetzung, Abbildung 25b das Massenspektrum des Bis-TMS-Estronderivats und Abbildung 25c die Auswertung auf den Ionenspuren. Auch bei Verwendung von 2-ME wurden vor allem ein Nebenproduktsignal sehr hoher Intensität detektiert. Es wies aber eine so niedrige Retentionszeit auf, daß keine Koelution mit den Analyten oder den internen Standards auftrat und es somit möglich war, dieses Signal durch entsprechende Gestaltung des massenspektrometrischen Meßprogramms auszublenden.

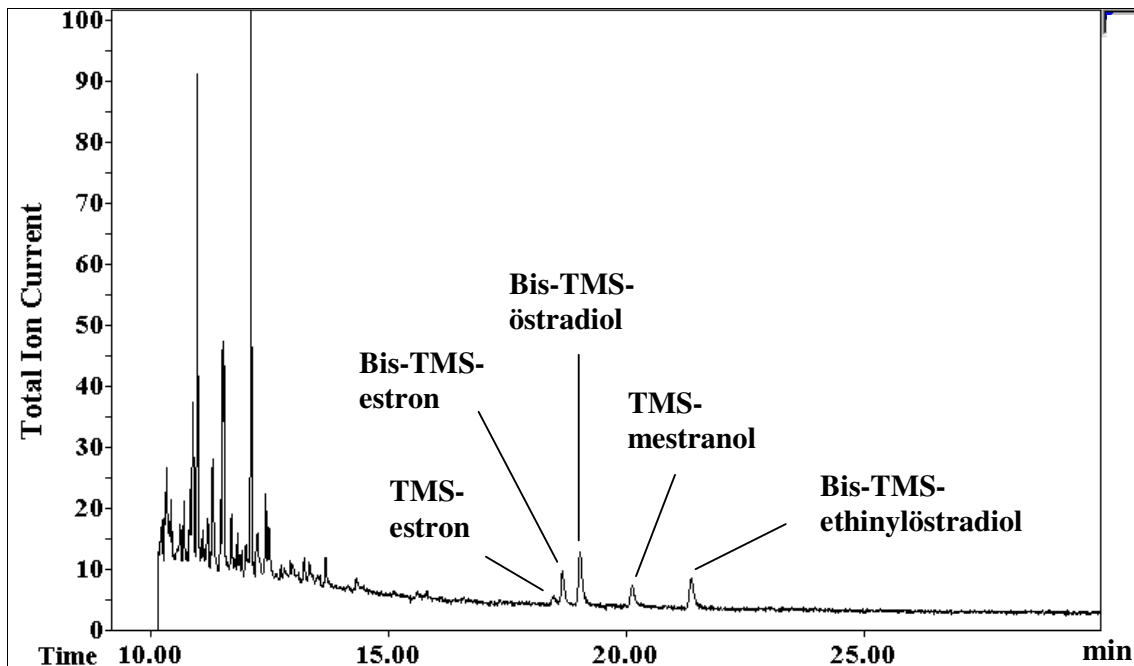


Abb. 25a: GC/MS Chromatogramm (full scan) der Umsetzung von je 5 ng Estron, Östradiol, Mestranol und Ethinylöstradiol mit MSTFA/TMIS/2-ME (100:1:1)
 (Säule: 30 m DB5-MS, GC-Programm: 2 min 333 K, → 533 K: 20 K/min, 23 min 533 K)

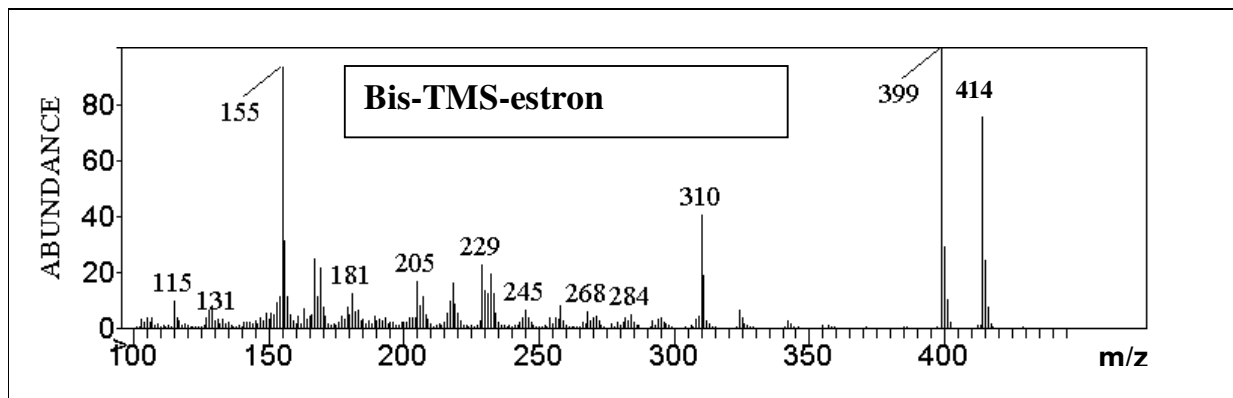


Abb. 25b: Massenspektrum des Bis-TMS-estronderivates aus Abbildung 25a

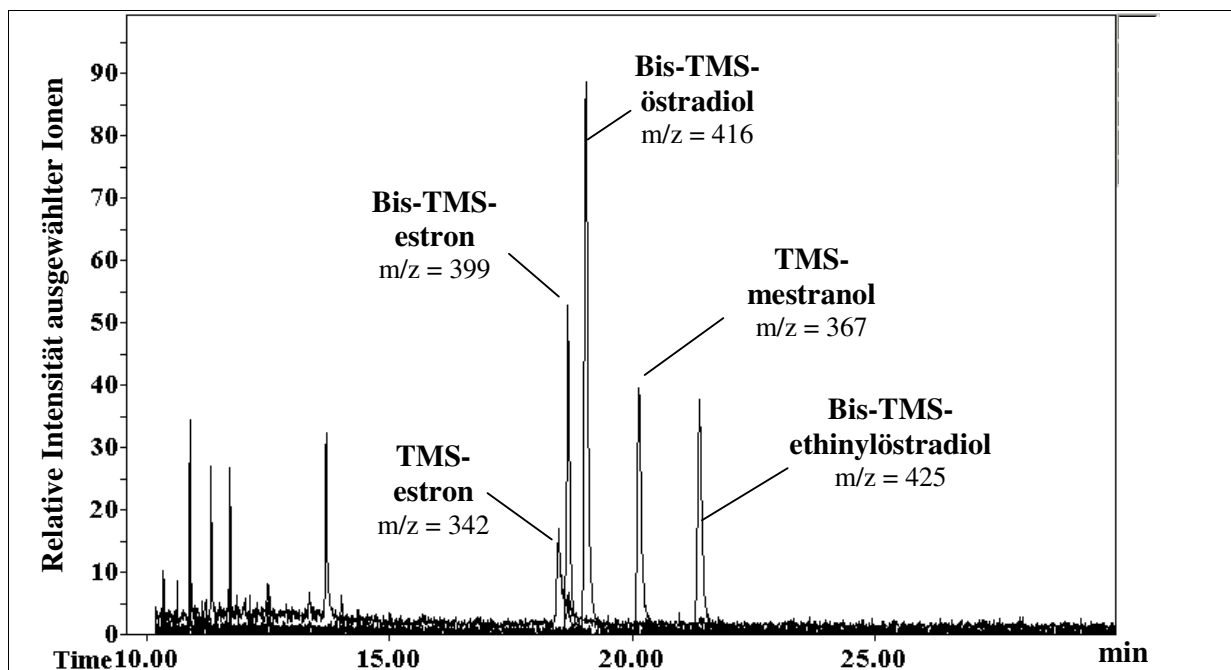


Abb. 25c: Auswertung des GC/MS Chromatogramms aus Abbildung 25a auf den Ionenspuren 342 + 399 + 416 + 367 + 425

(Säule: 30 m DB5-MS, 2 min 333 K, → 533 K: 20 K/min, 23 min 533 K)

Die Auswertung der in den Abbildungen 22 und 24 dargestellten Chromatogramme zeigt, daß mit der neuen Silylierungsmischung alle Steroide umgesetzt wurden. Gleichzeitig trat eine signifikante Verminderung der Nebenproduktbildung ein, so daß insbesondere bei der Detektion der Derivate auf den Ionenspuren weniger Störsignale und erheblich bessere Signal/Rausch-verhältnisse resultierten, obwohl die fünffache Katalysatormenge eingesetzt worden war. Der Vergleich der Detektion beider Estronderivate ist, wie in Abbildung 26 gezeigt, ein hervorragendes Beispiel dafür, welche positiven Effekte Silylierungen auf die Chromatographie und Nachweisempfindlichkeit haben können. Die Ketogruppe des monosilylierten Estrons führte zu einem deutlichen Signaltailing, das beim Enolether fast ganz fehlt, und zugleich ist der Rauschuntergrund auf den für das Bis-TMS-Estronderivat relevanten Ionenspuren 399 und 414 wesentlich schwächer. Um diese Effekte für den empfindlicheren Nachweis von Estron ausnutzen zu können, wurden weitere Versuche mit dem Ziel unternommen, die Derivatisierung so zu gestalten, daß ausschließlich das zweifach silylierte Derivat gebildet wird.

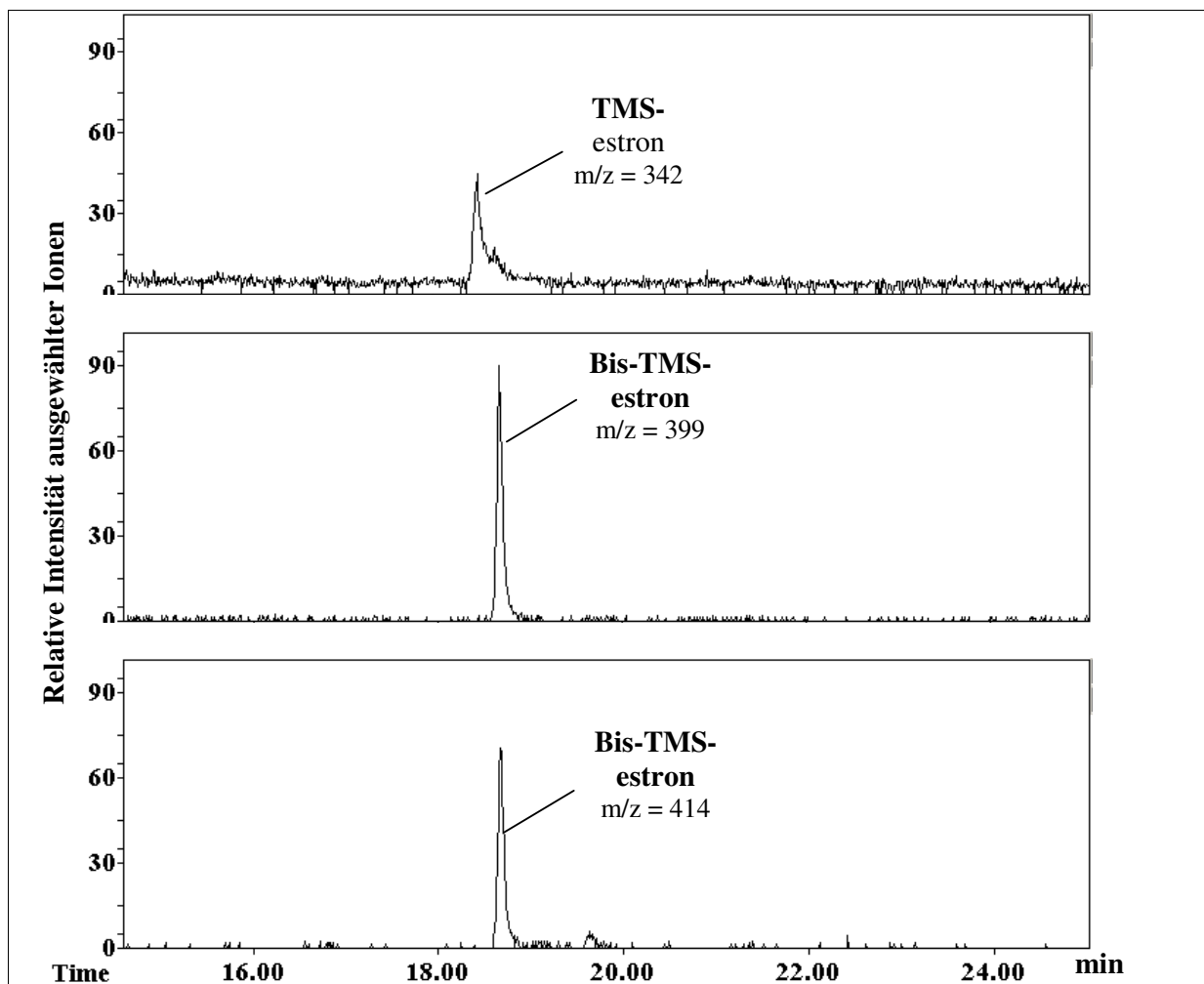


Abb. 26: Auswertung des GC/MS Chromatogramms aus Abbildung 25a auf den Ionenspuren 342, 399 und 414

(Säule: 30 m DB5-MS, 2 min 333 K, → 533 K: 20 K/min, 23 min 533 K)

Für die Optimierung der Silylierung mit MSTFA/TMIS/2-ME wurden unter Beibehaltung der prinzipiellen Arbeitsschritte aus SOP 1 in Vorversuchen die wichtigsten Parameter wie Reaktionsdauer, Temperatur oder eingesetzte Lösungsmittel variiert. Weiterhin wurde der Einfluß untersucht, den eine Änderung des Anteils an TMIS und 2-ME auf die Umsetzungen hat, und ob 2-ME durch die strukturell ähnlichen Verbindungen 1,2-Ethandithiol oder Ethanthiol ersetzt werden kann. Aus dieser Vielzahl von Versuchen werden nachfolgend die wesentlichsten Ergebnisse vorgestellt:

- Eine Halbierung oder Verdoppelung des Anteils an TMIS in der Reaktionsmischung hatte keinen signifikanten Einfluß auf die Derivatbildung.
- Auch die Halbierung oder Verdoppelung des Anteils an 2-ME in der Reaktionsmischung wirkte sich nicht erkennbar auf die Umsetzungen aus. Fehlte es jedoch ganz, so fand die Silylierung der Analyten nur unvollständig statt. Offensichtlich dient also das Hydroxythiol nicht nur dem Abfang freien Iods, sondern verstärkt auch die Übertragung der Silylgruppen. Mögliche Ursache hierfür ist die in Abbildung 27 vorgeschlagene Bildung von Silylthioethern in der Reagenzmischung, die sicherlich ein hervorragendes Potential zur Übertragung der Trimethylsilylgruppen auf die Hydroxyfunktionen der Analyten aufweisen.

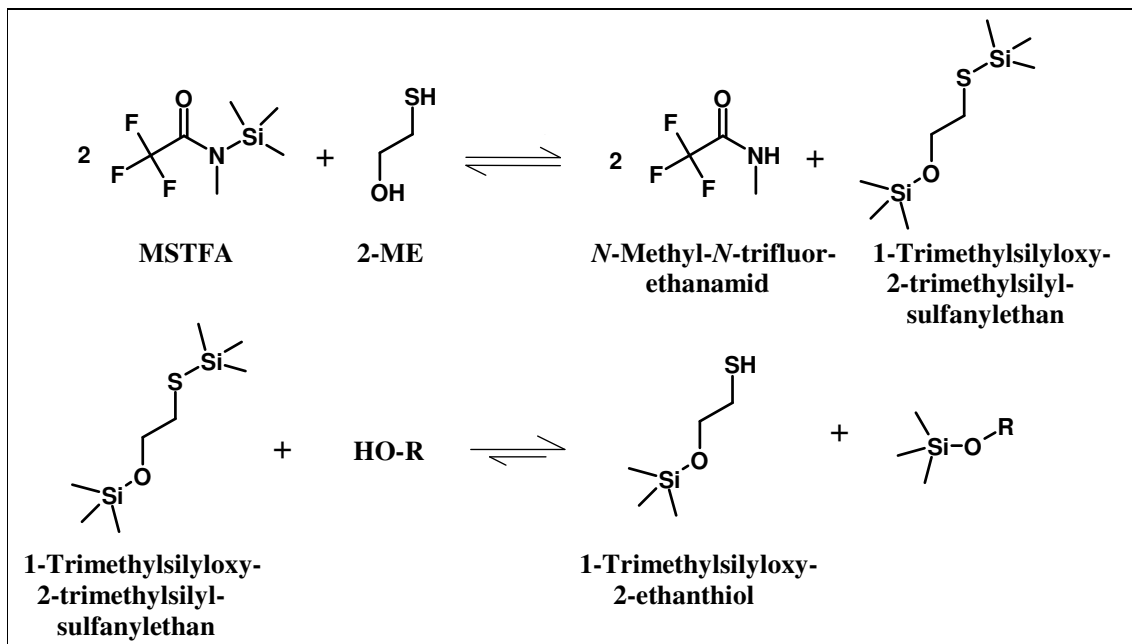


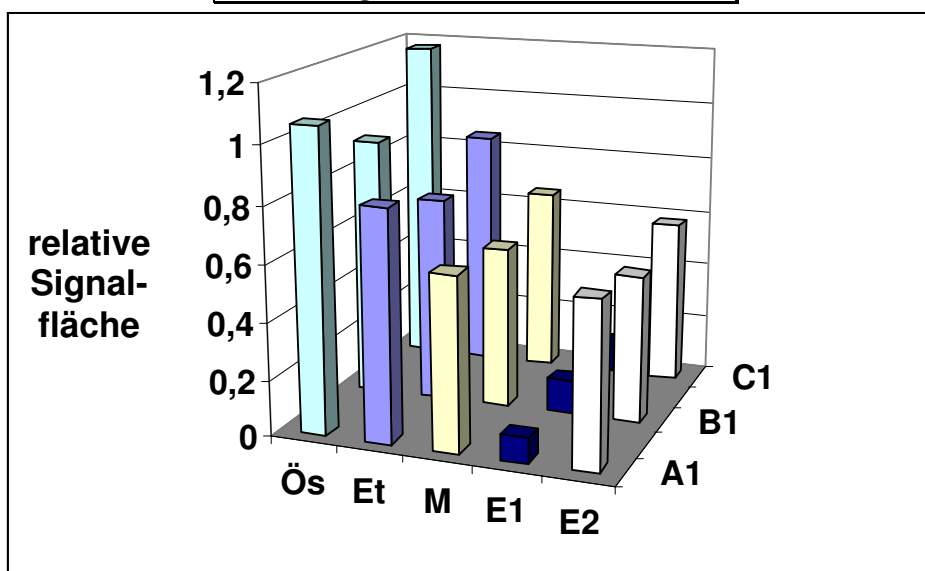
Abb. 27: Vorschlag einer Reaktionsgleichung zur Silylgruppenübertragung von MSTFA auf 1-Hydroxy-2-ethanthiol und einen Alkohol

- 1,2-Ethandithiol und Ethanethiol konnten 2-ME in Umsetzungen, die ansonsten entsprechend der SOP-1 durchgeführt wurden, ersetzen. Es resultierten vergleichbare Derivatausbeuten wie bei Umsetzungen mit 2-ME, allerdings traten etwa vergleichbare Nebenproduktsignale auf, so daß kein ausgesprochener Vorteil in dem Einsatz der Thiole gesehen wurde.
- Fertige Reagenzmischungen mit 2-ME, 1,2-Ethandithiol oder Ethanethiol waren bei einer Aufbewahrung im Kühlschrank und unter Vermeidung langer Öffnungszeiten über Wochen haltbar, ohne daß eine Verminderung der Silylierungskraft beobachtet wurde.

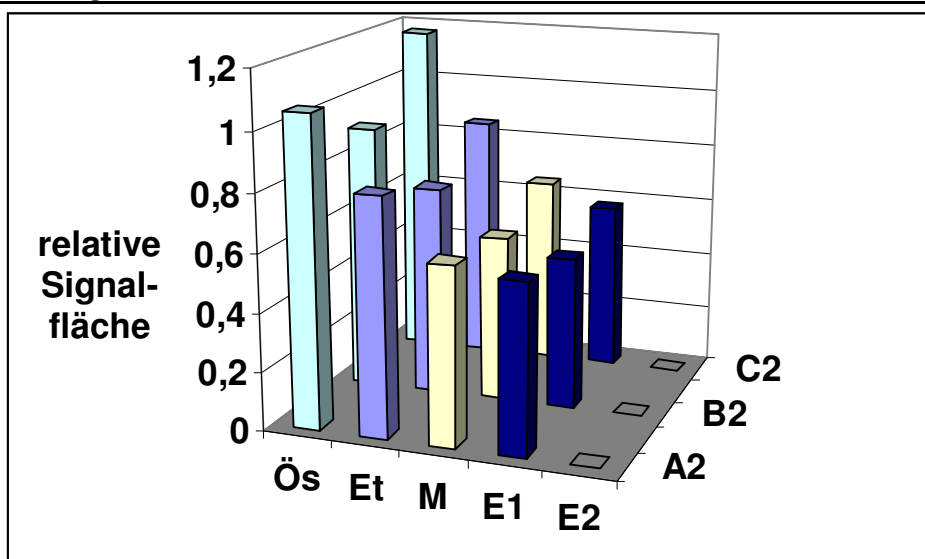
- Reagenzmischungen mit MSTFA, TMIS und 2-ME, 1,2-Ethandithiol oder Ethanthiol konnten ohne weiteres auch zur Silylierung anderer Analyten als den genannten Östrogenen verwendet werden. So wurden Carbonsäuren und Phenole, wie etwa Clofibrinsäure, Ibuprofen Diclofenac oder Triclosan, zu den Silylestern und -ethern umgesetzt. Während von diesen Derivaten die Silylester erwartungsgemäß sehr schnell hydrolysierten, zeigten die silylierten Phenole wie auch die Steroide eine Stabilität, die die Aufbewahrung über mehrere Wochen erlaubte.
- Durch eine längere Umsetzungsdauer und Verwendung von *n*-Hexan für die Aufnahme des zur Trockene abgeblasenen Reaktionsrückstandes konnte das Bis-TMS-estronderivat gegenüber dem *mono*-TMS-estron bis zu einem Überschuß von etwa 70 % detektiert werden. Es war auf diese Weise aber nicht möglich, ausschließlich zu dem gewünschten Produkt zu kommen.
- Bei Verwendung polarererer Lösungsmittel wie etwa Dichlormethan oder Toluol konnte überhaupt kein Bis-TMS-Estronderivat detektiert werden, während die anderen Analyten reproduzierbare Signalausbeuten lieferten.

Da ein solcher Lösungsmittelleffekt bei der Detektion silylierter Östrogene bisher nicht bekannt war, wurde in drei Ansätzen jeweils eine Mischung der Analyten zunächst bei Raumtemperatur silyliert, dann entsprechend SOP 1 eingeeengt, in *n*-Hexan aufgenommen, und mittels GC/MS gemessen. Direkt anschließend wurden die Proben mit dem gleichen Volumen eines polareren Lösungsmittels versetzt und erneut gemessen. In Abbildung 28 sind die dabei ermittelten Signalfächen aller detektierten Derivate in Relation zu dem verwendeten Volumenstandard AD10 aufgelistet.

Messung in *n*-Hexan (A1-C1)



Messung in *n*H/Toluol (A2), *n*H/CH₂Cl₂ (B2), *n*H/CHCl₃ (C2)



Ös: Bis-TMS-östradiol Et: Bis-TMS-ethinylöstradiol M: TMS-mestranol
 E1: TMS-Estron E2: Bis-TMS-estron

Relative Standardabweichungen A1,2,3-C1,2,3:

Ös: 9 % Et: 8 % M: 9 %

Abb. 28: Relative Signalflächen der silylierten Steroidderivate (je 50 ng Analyt) in Abhängigkeit von dem verwendeten Lösungsmittel

Die Auswertung der Meßergebnisse zeigt, daß in allen zunächst in *n*-Hexan gemessenen Proben (A1-C1) zunächst ein erheblicher Überschuß des Bis-TMS-estrons gegenüber der *mono*-TMS-Verbindung vorlag. Bei der jeweils zweiten Messung, in der die ursprüngliche Lösung mit dem gleichen Volumen an Toluol,

Dichlormethan oder Trichlormethan versetzt worden war (A2-C2), wurde das Bis-TMS-estron nicht mehr detektiert, während die Signalflächen für das monosilylierte Derivat etwa um dem Faktor 8 erhöht waren. Damit konnte gezeigt werden, daß allein durch die Verwendung der genannten Lösungsmittel, außer *n*-Hexan, unter den beschriebenen Bedingungen die TMS-enoethergruppe des Estrons quantitativ in die Ketofunktion überführt wurde. Die Signalflächen der Derivate von Östradiol, Mestranol und Ethinylöstradiol zeigen mit relativen Standardabweichungen von 8 bis 9 % Schwankungen im üblichen Rahmen, was sowohl eine hinreichende Reproduzierbarkeit der Derivatisierung, als auch eine entsprechende Stabilität der Verbindungen belegt.

Die Verwendung von Di- und Trichlormethan sowie Toluol bei der Silylierung der eingesetzten Steroide hatte sich zwar als ungeeignet erwiesen, ausschließlich das Bis-TMS-Derivat zu generieren, aber unerwarteterweise ergab sich der Vorteil, daß auf sehr einfache Weise die Reaktion ausschließlich zur Bildung des *mono*-TMS-estrone gelenkt wurde. Durch die Standardisierung der Reaktionsdurchführung (SOP 2) wurde eine Silylierung etabliert, mittels derer die untersuchten Östrogene reproduzierbar in die entsprechenden gesättigten persilylierten Ether überführt werden konnten.

SOP 2: Lösungen von Referenzsubstanzen werden in einem vial von 1,5 mL Innenvolumen mittels eines Stickstoffstroms zur Trockene eingengt und nachfolgend, ohne Unterbrechung der Stickstoffzufuhr, mit 50 µL einer Reagenzmischung MSTFA/TMIS/2-ME 100:1:1 bis 200:1:1 (v,v,v) versetzt. Anschließend wird das Gefäß mittels eines Schraubdeckels verschlossen und 30 min bei Raumtemperatur belassen. Die Mischung wird daraufhin im Stickstoffstrom zur Trockene abgeblasen, der Rückstand in 100 µL einer Lösung des Volumenstandards *t*-HCE oder AD10 in Dichlormethan, Chloroform, Toluol oder einer Mischung dieser Lösungsmittel mit *n*-Hexan aufgenommen und für die Messung mittels GC/MS in ein insert überführt.

Die offenkundige Labilität des Bis-TMS-estronderivates ließ vermuten, daß die bei der Verwendung von *n*-Hexan als Lösungsmittel detektierten *mono*-TMS-estronanteile nicht nur durch eine unvollständige Silylierung, sondern vermutlich auch durch eine partielle Rückreaktion im Gaschromatographen verursacht worden waren. Um diesen Effekt zu unterdrücken, wurden Messungen durchgeführt, bei denen die Analyten zusammen mit der Silylierungsmischung gemäß der nachfolgenden SOP 3 in den heißen GC-Injektorraum injiziert wurden.

SOP 3: Lösungen von Referenzsubstanzen werden in einem vial von 1,5 mL Innenvolumen mittels eines Stickstoffstroms zur Trockene eingengt und nachfolgend ohne Unterbrechung der Stickstoffzufuhr mit 50 µL einer Reagenzmischung MSTFA/TMIS/2-ME 100:1:1 bis 200:1:1 (v,v,v) versetzt. Anschließend wird das Gefäß mittels eines Schraubdeckels verschlossen und 30 min bei Raumtemperatur belassen. Die Mischung wird daraufhin mit 100 µL einer Lösung des Volumenstandards *t*-HCE oder AD10 in *n*-Hexan aufgenommen und für die Messung mittels GC/MS in ein insert überführt.

Das Einbringen reaktiver Derivatisierungsreagenzien in das Analysesystem war bislang vermieden worden, weil damit eine unerwünschte Beeinträchtigung der stationären Phase und des Detektionssystems wahrscheinlich wird. Die Ergebnisse dieser Versuche bestätigten dann die in diesem Zusammenhang getroffenen Vermutungen. Einerseits wurde auf Anheb ausschließlich das Bis-TMS-Estronderivat detektiert, während das *mono*-TMS-Estron nicht mehr gemessen wurde. Östradiol, Mestranol und Ethinylöstradiol wurden, wie zuvor, vollständig zu den bereits beschriebenen Silylderivaten umgesetzt. Andererseits trat auch eine Zunahme von Störsignalen in den Chromatogrammen auf, und die Massenspektren der Derivate zeigten, obwohl im Elektroneneinfang- (*electron impact*) modus gemessen wurde, Effekte chemischer Ionisation in Form einer verstärkten Detektion der entsprechenden Molekulationen gegenüber den Fragmentationen sowie das Auftreten von Fragment- und Molekulationen mit $m/z + 1$. Diese Einschränkungen waren aber nicht so bedeutend, daß die Bestimmung der Analyten dadurch prinzipiell verhindert worden wäre. Zum einen konnten sie auf den relevanten Ionenspuren ohne Störungen detektiert werden, und andererseits ist das Auftreten von Ionen mit $m/z + 1$ Werten gerade bei den Steroiden ein bekannter Effekt^[159], der die quantitative Auswertung nicht beeinträchtigt. Abbildung 29 zeigt ein Chromatogramm, das aus der Umsetzung der vier östrogenen Analyten mit einer Mischung von MSTFA/TMIS/2-ME 200:1:1 (v,v,v) resultiert, wobei nach einer Reaktionsdauer von 30 min der Ansatz ohne vorheriges Einengen im Stickstoffstrom in *n*-Hexan aufgenommen und gemessen wurde.

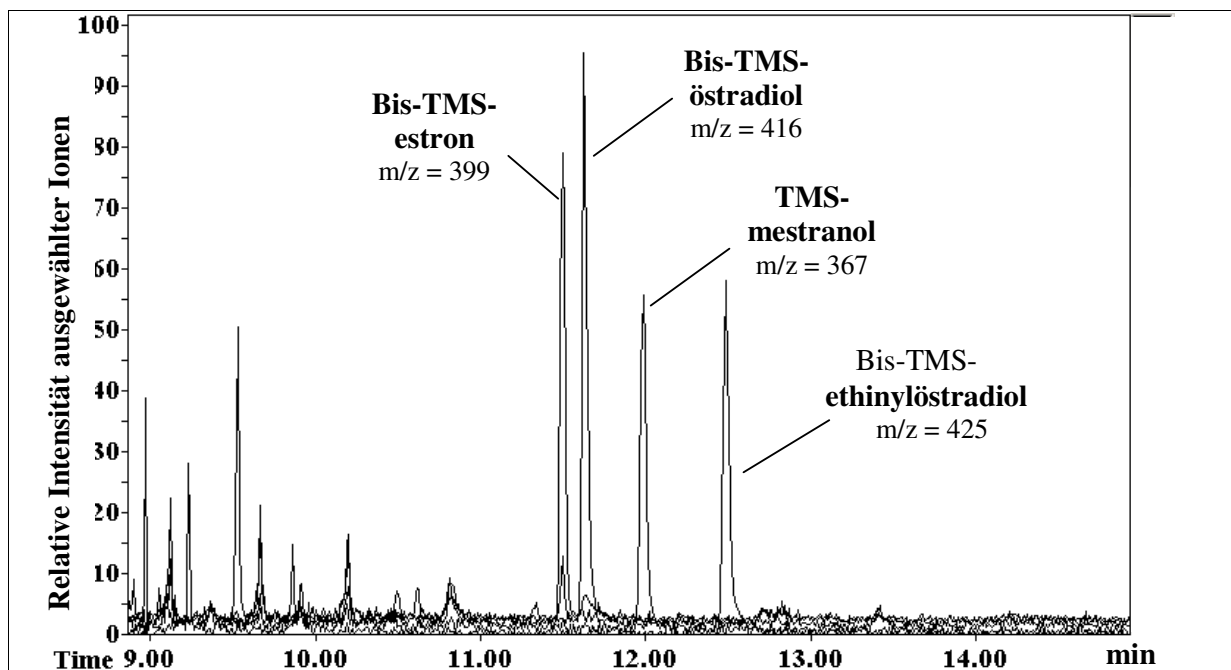


Abb. 29: Ionenspuren 342 + 399 + 416 + 367 + 425 aus dem GC/MS Chromatogramm der Umsetzung von je 5 ng Estron, Östradiol, Mestranol und Ethinylöstradiol mit MSTFA/TMIS/2-ME, Injektion mit dem Reagenz in *n*-Hexan

(Säule: 15 m HP5-MS, 2 min 333 K, → 533 K: 25 K/min, 5 min 533 K)

3.1.3 Zusammenfassung

Durch die vorangehend geschilderten Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß der Ersatz von Dithioerythrol durch 1-Hydroxy-2-ethanthiol (Mercaptoethanol), 1,2-Ethandithiol oder Ethanthiol in Silylierungsmischungen die MSTFA und TMIS enthalten, zu einer verbesserten Anwendbarkeit führt. Die Reagenzmischungen sind länger haltbar, erzeugen weniger Nebenprodukte (oder solche mit höherer Flüchtigkeit) und haben ein mindestens gleichwertiges Silylierungspotential bei der Umsetzung östrogenen Steroide. Durch Variation der Reaktions- und Meßbedingungen entsprechend der beschriebenen Arbeitsvorschriften SOP 2 und 3 kann die Bildung des Trimethylsilylenolethers aus der Ketofunktion des Estrons entweder vollkommen unterdrückt oder gänzlich zum Produkt hin verschoben werden. Es lagen damit zwei universell einsetzbare Silylierungsverfahren vor, die auch bei der Bestimmung des Elutionsverhaltens der Analyten eingesetzt wurden (Abschnitt 4).

3.2 Alkylierungen und Acylierungen

Alternativ zu den im vorausgegangenen Abschnitt 3.1 geschilderten Silylierungen werden diverse weitere Derivatisierungsreaktionen eingesetzt, um polare Analyten der Gaschromatographie zugänglich zu machen^[150,168-170]. Zu den universellsten Derivatisierungsreagenzien gehören Diazoverbindungen, die in einem Reaktionsschritt eine relativ breite Palette von chemischen Funktionen alkylieren können. Diazomethan ist hierbei das bekannteste Reagenz, das neben vielen weiteren Anwendungen auch verbreitet für umweltanalytische Methoden eingesetzt wird^[171-175]. Ähnlich unspezifisch anwendbar sind tri- und tetraalkylierte Ammonium-, Sulfonium- und Anilinohydroxide, wobei mit diesen Verbindungen häufig Intra-Injektor-Alkylierungen durchgeführt werden. Die gebräuchlichsten Reagenzien aus dieser Gruppe sind Tetramethylammoniumhydroxid (TMAH) und Trimethylsulfoniumhydroxid (TMSH)^[168,176,177]. Ein weiteres universell eingesetztes Alkylierungsreagenz ist Pentafluorbenzylbromid (PFBnBr), dessen Verwendung besonders in der Umwelt- und Spurenanalytik in den letzten Jahren zugenommen hat, weil pentafluorbenzylierte Analyten durch entsprechende Detektionsmethoden, wie beispielsweise ECD oder MS/NCI, empfindlicher nachzuweisen sind als etwa die analogen Methyl-derivate^[178-182]. Schließlich gehören auch die basenkatalysierten Umsetzungen polarer Analyten mit gesättigten Alkylhalogeniden wie etwa Methyljodid (MeI) zu den universellen Derivatisierungsreaktionen der gaschromatographischen Analytik und werden als klassische Verfahren immer noch in der modernen Spurenanalyse eingesetzt^[150,183-185].

Weiterhin wird auch eine Reihe selektiverer Verbindungen bei der Derivatisierung polarer Analyten für die spurenanalytische Gaschromatographie angewendet. Beispielsweise dienen „moderne Reagenzien“ wie perfluorierte Carbonsäureanhydride, vor allem Trifluoethansäureanhydrid (TFAA), Pentafluorpropansäureanhydrid (PFPA) und Heptafluorbutansäureanhydrid (HFBA), der Acylierung von Hydroxy- und Aminofunktionen^[186-190]. Für analoge Umsetzungen von Phenolen, Alkoholen und/oder Aminen werden Acyl-halogenide, -imidazole oder -ethanamide eingesetzt, wobei wiederum fluorierte Reagenzien wie Pentafluorbenzoylchlorid (PFBzCl)^[189-193], Perfluoracylimidazol-derivate^[150,194,195] oder *N*-Methyl-*N*-trifluoethanoyl-trifluoethanamid (MBTFA)^[196-200] bevorzugt werden. Für die selektive Derivatisierung von Carboxylgruppen wird die altbekannte Bortrifluorid- bzw. säurekatalysierte Veresterung von Carboxylfunktionen mit Alkoholen (*Carbonsäurealkoholyse*) angewendet^[199-203], wobei diese Methode mittlerweile in der Spurenanalytik etwas an Aktualität verloren hat und beispielsweise durch alternative Verfahren wie etwa die Reaktion mit Chloralkylmethanoaten (Chlorformiate) ersetzt werden kann. Mit diesen Reagenzien können, in Abhängigkeit von der Reaktionsführung, sowohl Carboxylfunktionen als auch Amino- Thiol- und aktivierte Hydroxylgruppen zu einer Vielzahl von Derivaten umgesetzt werden^[204].

3.2.1 Derivatisierung acider Analyten

Zu den wichtigsten Umweltanalyten mit aciden Funktionen zählen, wie in Kapitel 2 erläutert, viele Phenole und Carbonsäuren. Während für erstere eine ganze Reihe etablierter Methoden zur Silylierung, Alkylierung und Acylierung zur Verfügung steht, ist die Auswahl an Derivatisierungsreagenzien bei den Carbonsäuren beschränkter. Letztere werden vorwiegend durch die in Abschnitt 3.2 erwähnten universellen Alkylierungen oder mittels säurekatalysierter Alkoholyse bzw. durch Chlormethanoate verestert^[205]. Zwar sind auch Silylierungsreaktionen bei der Bestimmung von Carbonsäuren vereinzelt bereits eingesetzt worden^[206], aber sie zählen nicht zu den häufig angewendeten Verfahren. Untersuchungen, in denen Methoden zur Veresterungen von Carbonsäuren miteinander verglichen wurden, zeigten, daß beispielsweise die Silylierung von Aminosäuren aufgrund der Hydrolyseempfindlichkeit der Derivate und einer nötigen aufwendigen Matrix-abreicherung deutlich weniger geeignet war als die Acylierung bzw. Alkylierung mittels Alkylchlormethanoat^[207]. Im Vergleich der Methylierung acider Herbizide mit Bortrifluorid/Methanol zeigte diese Umsetzung weniger Reaktionsnebenprodukte und eine höhere Reproduzierbarkeit als der Einsatz von Diazomethan^[168] oder die Pentafluorbenzylierung mit PFBnBr^[208]. Ebenso brachte die säurekatalysierte Veresterung halogener Ethansäuren mit Methanol gegenüber dem Einsatz von Diazomethan bessere Reaktionsausbeuten und zeigte eine höhere Reproduzierbarkeit^[209]. Tatsächlich hat die sehr weit verbreitete Umsetzung mit Diazomethan eine ganze Reihe von Nachteilen hinsichtlich des Einsatzes für quantitative Untersuchungen. So ist neben den bereits erwähnten Einschränkungen auch die Isomerisierung von Analyten bekannt^[210]. Zudem muß das Reagenz relativ aufwendig vor Ort hergestellt werden, ist carcinogen, explosiv, hydrolyseempfindlich und praktisch nicht lager- und transportfähig^[211a]. Die Bildung unerwünschter analytanaloger Nebenprodukte kann nicht nur bei der Methylierung mit Diazomethan auftreten, sondern auch bei der intra-Injektor-Derivatisierung mit TMAH^[168].

3.2.2 Bekannte Derivatisierungen mit Chlormethanoatreagenzien

Der prinzipielle Nachteil, den alle aufgeführten universellen Derivatisierungsmethoden, insbesondere aber die intra-Injektor-Umsetzungen, hinsichtlich einer Targetanalytik aufweisen, ist die Miterfassung erheblicher Matrixanteile. Daraus resultiert eine schnellere Verschmutzung des Trennsystems, was mit einer raschen Verschlechterung der chromatographischen Eigenschaften, beziehungsweise einem höheren Zeit- und Kostenaufwand zur Wiederherstellung einer guten Geräteperformance verbunden ist. Weiterhin kommt es durch eine intensive Matrix zu einer Verkleinerung des Signal/Rausch-Verhältnisses und damit zu einer Verminderung der Detektionsempfindlichkeit. Und schließlich verursachen hohe Matrixanteile verstärkt das Auftreten von Coelutionen, die eine Identifizierung oder Quantifizierung ausgewählter Analyten beeinträchtigen oder verhindern. Selektivere Derivatisierungsmethoden ermöglichen zwar häufig eine bessere oder einfachere Abtrennung bestimmter Analytgruppen von der Probenmatrix, weisen aber den

Nachteil auf, nur eine begrenzte Zahl von Analyten in einem Reaktionsschritt zu erfassen. Eine Ausnahme in diesem Zusammenhang stellen Alkylchlormethanoate dar, weil diese Reagenzien den Vorteil bieten, je nach Reaktionsführung unterschiedliche funktionelle Gruppen zu derivatisieren. So können beispielsweise Carbonsäuren zu Anhydriden oder Estern, Phenole zu Carbonaten und Amine zu Carbamaten umgesetzt werden. Diese Methoden sind, verglichen mit den alternativen Derivatisierungen, besonders interessant, weil eine relativ große Palette funktioneller Gruppen erfaßt werden kann und zudem häufig die Möglichkeit besteht, die Reaktion so gestalten, daß polare Matrixanteile einfach abgetrennt werden. Weiterhin sind die Reaktionen bei üblicher Durchführung völlig unempfindlich gegenüber der Anwesenheit von Feuchtigkeit in der Probe, was bei der quantitativen Bestimmung von Umweltextrakten aus dem aquatischen Bereich ein signifikanter Vorteil gegenüber anderen Verfahren wie beispielsweise der Carbonsäurealkoholyse ist. Auch die Bildung der Kohlensäureester aus phenolischen Analyten kann als besonderer Vorteil in der Umweltanalytik angesehen werden, weil das Vorkommen dieser Derivate in Wasserproben sehr unwahrscheinlich ist, während beispielsweise die Anisole, die aus Umsetzungen von Phenolen mit Diazomethan oder TMSH resultieren, häufig in der Umwelt auftreten, so daß bei einem positiven Nachweis unter Umständen nicht geklärt werden kann, ob ein Phenol oder das entsprechende Anisol in der Probe vorgelegen hat. Schließlich hat die Verwendung von Chlormethanoaten auch ganz praktische Aspekte, denn es handelt sich insbesondere bei den einfach alkylierten Reagenzien um relativ preiswerte und sehr lange lagerfähige Verbindungen, von deren Gebrauch, soweit bekannt, kein cancerogenes oder mutagenes Potential ausgeht und die die einfache und schnelle Umsetzung zu einer Vielzahl von gewünschten Derivaten ermöglichen.

Chlormethanoatreagenzien, vor allem Methyl-, Ethyl-, *n*-Propyl-, 1-Methylethyl- (*Isopropyl*-) und 2-Methylpropyl- (*Isobutyl*-)chlormethanoat (MCF, ECF, PCF, iPCF, und iBCF), wurden bereits seit den 70er Jahren dazu verwendet, Aminofunktionen in Carbamate und Phenole in Carbonate zu überführen, wobei diese Reaktionen häufig dazu dienen, Aminosäuren gaschromatographisch bestimmbar zu machen. Da bei der in diesen Fällen eingesetzten Reaktionsführung die Aminosäurecarboxylgruppen nicht berührt wurden, war ein zweiter Derivatisierungsschritt notwendig, in dem beispielsweise mit Diazomethan oder Silylierungsreagenzien die entsprechenden Ester generiert wurden. Noch länger bekannt als die Carbamat- und Carbonatbildung ist die Reaktion von Carbonsäuren mit Chlormethanoaten zu gemischten Anhydriden, die bei hohen Temperaturen bzw. unter Basenkatalyse unspezifisch zu gemischten Estern (I) oder den symmetrisch substituierten Carbonsäureanhydriden und Carbonaten (II) decarboxylieren^[204]. Diese möglichen Reaktionswege sind in Abbildung 30 dargestellt.

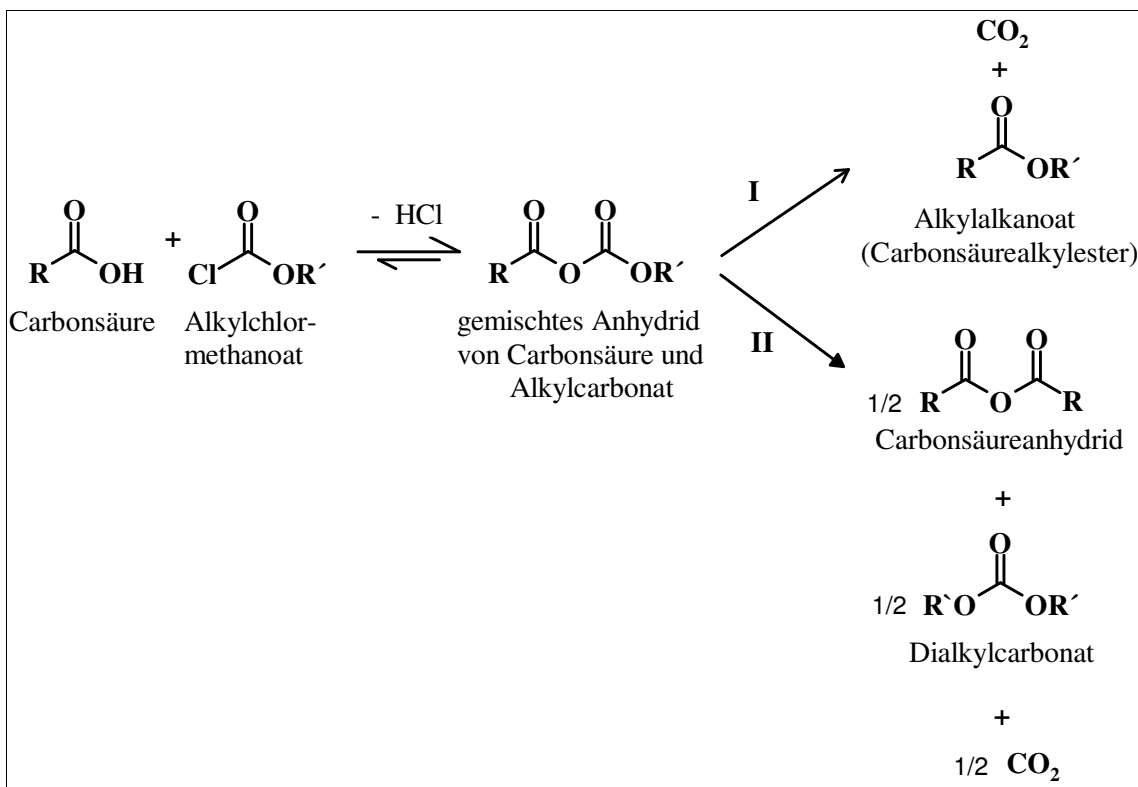


Abb. 30: Allgemein formulierte Reaktionsgleichungen der Umsetzung von Carbonsäuren mit Alkylchloromethanoaten und der Bildung verschiedener Decarboxylierungsprodukte nach *Husek et al.* ^[204,212-216]

Husek et al. ^[204,212-216] haben dann Pionierarbeit bei der Anpassung dieser Reaktionen an die gaschromatographische Bestimmung u.a. von Fett- und Aminosäuren sowie Oxo-, Hydroxy, Di- und Tricarbonensäuren im Mikromaßstab geleistet und dabei eingehend den Einfluß verschiedener Lösungsmittel und Coreaktanden untersucht. Es wurde gezeigt, daß unter definierten Reaktionsbedingungen nicht nur Aminofunktionen zu den Carbamaten umgesetzt werden, sondern zugleich, wie in Abbildung 31 gezeigt, Carbonsäuren und Phenole zunächst gemischte Anhydride und Kohlensäureester bilden, von denen dann in Anwesenheit polarer Lösungsmittel und Pyridin nur die Carbonsäurederivate quantitativ zu den Estern decarboxylieren, während die Phenolderivate unverändert bleiben. Bei diesen Untersuchungen wurde eine Vielzahl von Basen auf ihre Eignung als Decarboxylierungskatalysatoren geprüft, wobei in der Reihenfolge Pyridin > *N*-Methylpyridin > 4-(Dimethylamino)pyridin > 3-Methylpyridin mit Abstand am wirkungsvollsten waren. Bei Verwendung von Piperazin, Piperidin oder Pyrrol hingegen wurde keinerlei Esterbildung festgestellt, während mit einfachen Alkylaminen in Bezug auf die durch Pyridin erzielten Decarboxylierungen Umsetzungen von etwa 20 % erzielt wurden.

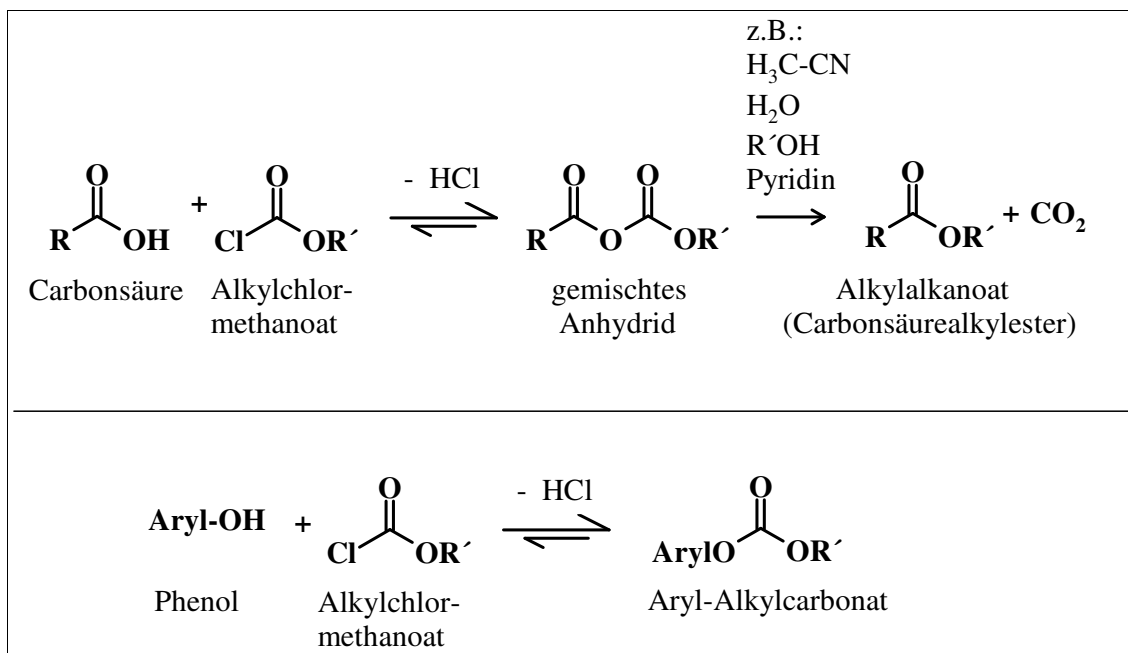


Abb. 31: Allgemeine Reaktionsgleichungen der Umsetzung von Carbonsäuren und Phenolen mit Alkylchloromethanoaten in Anwesenheit polarer Lösungsmittel und Pyridin(derivaten) nach Husek^[213]

3.2.2.1 Entwicklung und Verwendung spezieller Chlormethanoate

Seit den Arbeiten *Huseks* ist die Anwendung einer breiten Palette von Chlormethanoaten für sehr unterschiedliche analytische Aspekte beschrieben worden, so daß mehrere Übersichtsartikel in diesem Zusammenhang verfügbar sind^[150,204,217]. Deshalb werden hier nur grundlegende oder im Rahmen dieser Arbeit wichtige Aspekte erwähnt. Dazu zählt die Entwicklung und Anwendung polyhalogener sowie chiraler oder langkettiger Chlormethanoate. In Tabelle 13 sind beispielhaft einige dieser speziellen Reagenzien und die untersuchten Analyten aufgeführt.

Spezielle Chlormethanoate der allgemeinen Struktur RO-(C=O)-Cl		
R	Analyten	Literatur
2,2,2-Trifluorethyl	Diamine Aminosäuren	[218-219]
2,2,3,3,3-Trifluorpropyl	Aminosäuren	[220]
2,2,3,3,4,4,5,5-Octafluorpentyl	Aminosäuren, Aminoalkohole Carbonsäuren, Phenole etc.	[221,222]
2-Trifluormethyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluorpropyl)-	Amine, Alkohole, Thiole	[223]
3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-Tridecafluorocetyl	Aminosäuren, Aminoalkohole Carbonsäuren, Phenole etc.	[221,222]
Pentafluorbenzyl	Aminosäuren, Aminoalkohole Carbonsäuren, Phenole etc.	[221,222,224]
2,2,2-Trichlorethyl	Amine	[225]
(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-2-Methylethyl-5-methyl-cyclohexyl (= <i>D</i> -Menthyl)	Aminofunktionen chiraler β -Blocker	[226,227]
2-(6-Methoxy-2-naphthyl)propyl	Aminofunktionen chiraler β -Blocker & Antiarrhythmica	[228]
<i>n</i> -Hexyl	Aminophenole, Aminoalkohole Carbamate, Hydroxylamine etc.	[229a] [229b]

Tab. 13: Zusammensetzung und Anwendung spezieller Chlormethanoat-reagenzien

Die Entwicklung der in Tabelle 13 vorgestellten speziellen Chlormethanoate begründet sich aus mehreren analytisch wichtigen Aspekten:

- Fluorierte Derivate zeigen aufgrund ihrer höheren Flüchtigkeit praktisch immer bessere chromatographische Eigenschaften als die homologen nichtfluorierten Alkylverbindungen.
- Polyhalogenierte Analyten sind, wie bereits mehrfach erwähnt, durch entsprechende Detektionsmethoden wesentlich empfindlicher zu detektieren als die einfachen Alkylderivate.
- Einige der polyhalogenierten Reagenzien zeigen eine verbesserte Reaktivität gegenüber den nichthalogenierten Verbindungen.
- Chirale Reagenzien erlauben enantioselektive Untersuchungen ohne den aufwendigen Einsatz chiraler Trennsäulen.
- Alle aufgeführten Reagenzien können auch für gänzlich oder partiell wässrige Analytlösungen eingesetzt werden.

3.2.2.2 Spezielle Variationen der Reaktionsführung bei der Umsetzung von Carbonsäuren mit Chlormethanoaten

Eine weitere wichtige Entwicklung bei der Anwendung von Chlormethanoat-reagenzien für die Derivatisierung von Carboxylfunktionen ist die Aminolyse oder Alkoholyse der intermediär gebildeten gemischten Anhydride. Während die Aminolyse gemischter Anhydride eine bereits seit 1951 etablierte und damit altbekannte Peptidkupplungsreaktion ist^[230], beschrieb *Husek* erst 1990, daß bei der Umsetzung von Carbonsäuren in Anwesenheit eines zum Reagenz nicht korrespondierenden Alkohols, dessen Alkylgruppe also nicht identisch zu der des Chlormethanoates ist, zwei Esterprodukte parallel gebildet werden^[212], wie es in der Abb. 32 dargestellt ist.

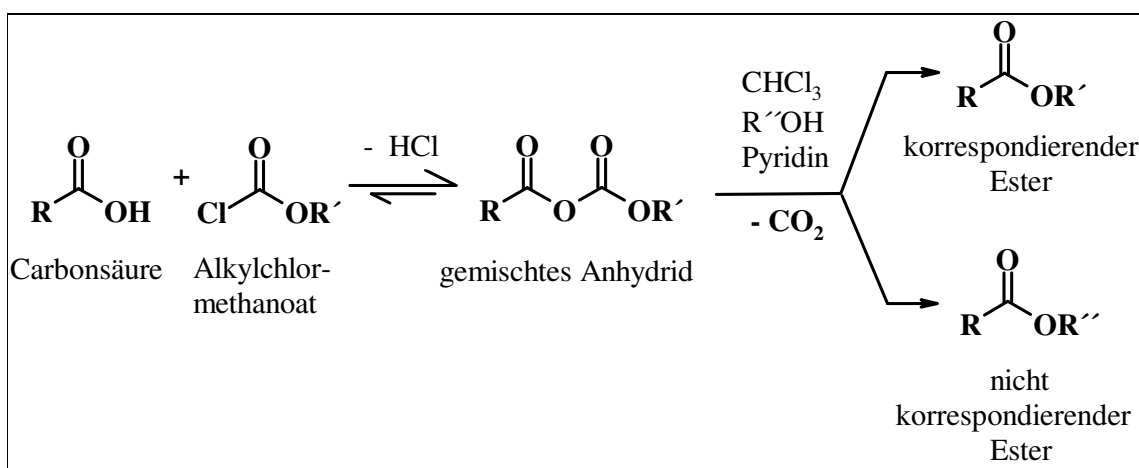


Abb. 32: Schematische Darstellung der Bildung zweier Produkte bei der Decarboxylierung eines gemischten Anhydrids in Anwesenheit eines nicht zum Reagenz korrespondierenden Alkohols nach *Husek*^[212]

Husek erklärte die Bildung der korrespondierenden Produkte durch eine direkte Decarboxylierung der gemischten Anhydride: Der durch das Reagenz eingeführte Alkylrest wird nach dem Austritt von Kohlendioxid direkt auf die Carboxylgruppe der Eduktcarbonsäure übertragen. Für die Bildung der nicht korrespondierenden Produkte wurde hingegen eine säurekatalysierte Veresterung der Eduktcarbonsäure mit dem nicht korrespondierenden Alkohol und der aus dem Reagenz freigesetzten Salzsäure vorgeschlagen. Diese Vorstellung wurde einige Jahre später revidiert, als *Wang et al.*^[231] in einer systematischen Untersuchung eine Reihe von Aminosäuren mit Ethyl-, *n*-Propyl- oder 2-Methylpropylchlormethanoat in der Anwesenheit korrespondierender und nicht korrespondierender Alkohole wie Trifluorethanol, Pentafluorpropanol, Heptafluorbutanol und Trimethylsilylmethanol in wässrigem Medium umsetzten. Wie in Abbildung 33 gezeigt, entstanden dabei als Hauptprodukte durchgehend die Ester, deren Alkylreste durch den Alkohol in der Reaktionsmischung geliefert wurden, was eine Alkoholyse der intermediär gebildeten gemischten Anhydride nahelegte (A). Die Art der Entstehung der zum jeweiligen Reagenz korrespondierenden Nebenprodukte konnten von *Wang et al.* nicht eindeutig

geklärt werden, da sowohl die von *Husek* vorgeschlagene direkte Decarboxylierung eingetreten sein konnte (B), als auch eine Alkoholyse durch die Alkohole, die aus den jeweiligen Reagenzien gebildet wurden (C):

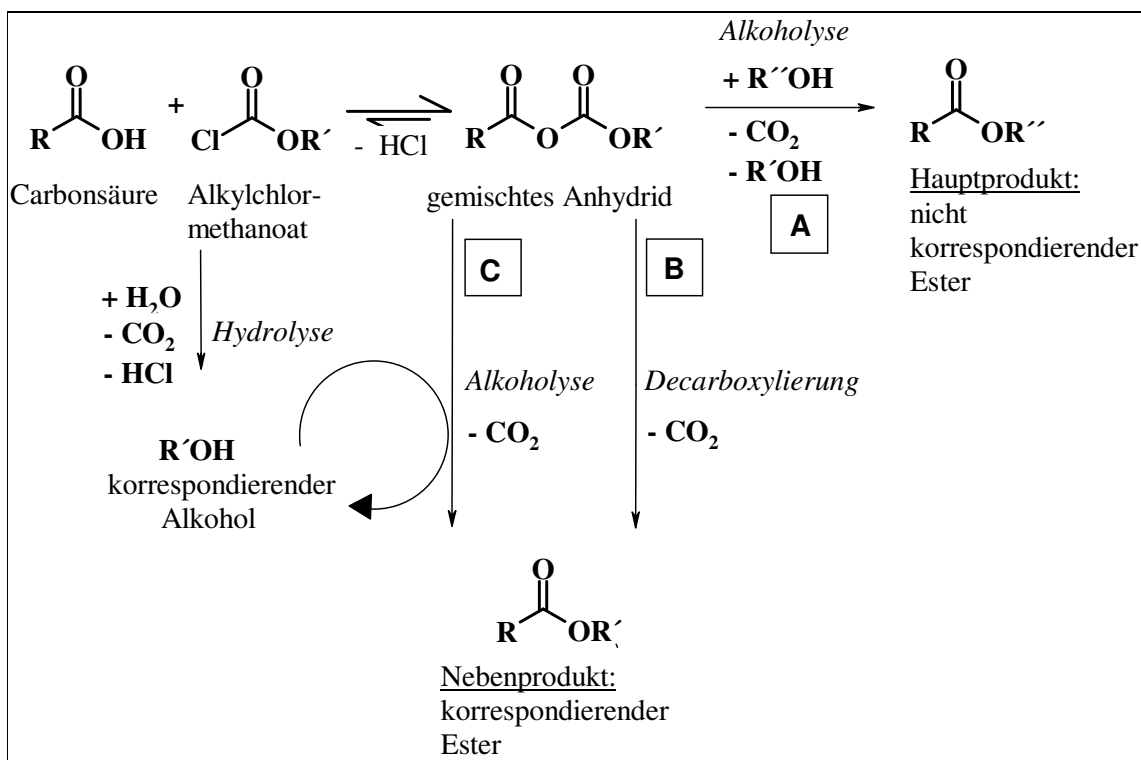


Abb. 33: Mögliche Reaktionswege bei der Umsetzung von Carboxylgruppen mit Alkylchloromethanoaten und nachfolgender Esterbildung bei Anwesenheit eines zum Reagenz nicht korrespondierenden Alkohols (in Anlehnung an Wang et al. [231])

Hinsichtlich des möglichen Reaktionsmechanismus der in Abbildung 33 dargestellten Alkoholyse wurde von *Simpson* et al. [224] der direkte nucleophile Angriff eines Alkohols auf die Carbonylgruppe der Carbonsäurekomponente des gemischten Anhydrids vorgeschlagen. In diesem Zusammenhang stellt sich allerdings die Frage nach der Rolle der bei dieser Reaktion eingesetzten Basen. Hierzu sind nach Wissen des Autors keine gezielten Untersuchungen veröffentlicht worden. Da aber offensichtlich Pyridin oder seine Derivate eine wesentliche Rolle bei der Esterbildung spielen, ist eher davon auszugehen, daß zunächst das gemischte Anhydrid mit Pyridin zu einem aktivierten *N*-Acylpyridiniumsalz reagiert. Ein entsprechender Vorschlag zu dem mechanistischen Ablauf der pyridinkatalysierten Esterbildung aus Carbonsäuren und Chlormethanoaten ist in Abbildung 34 dargestellt.

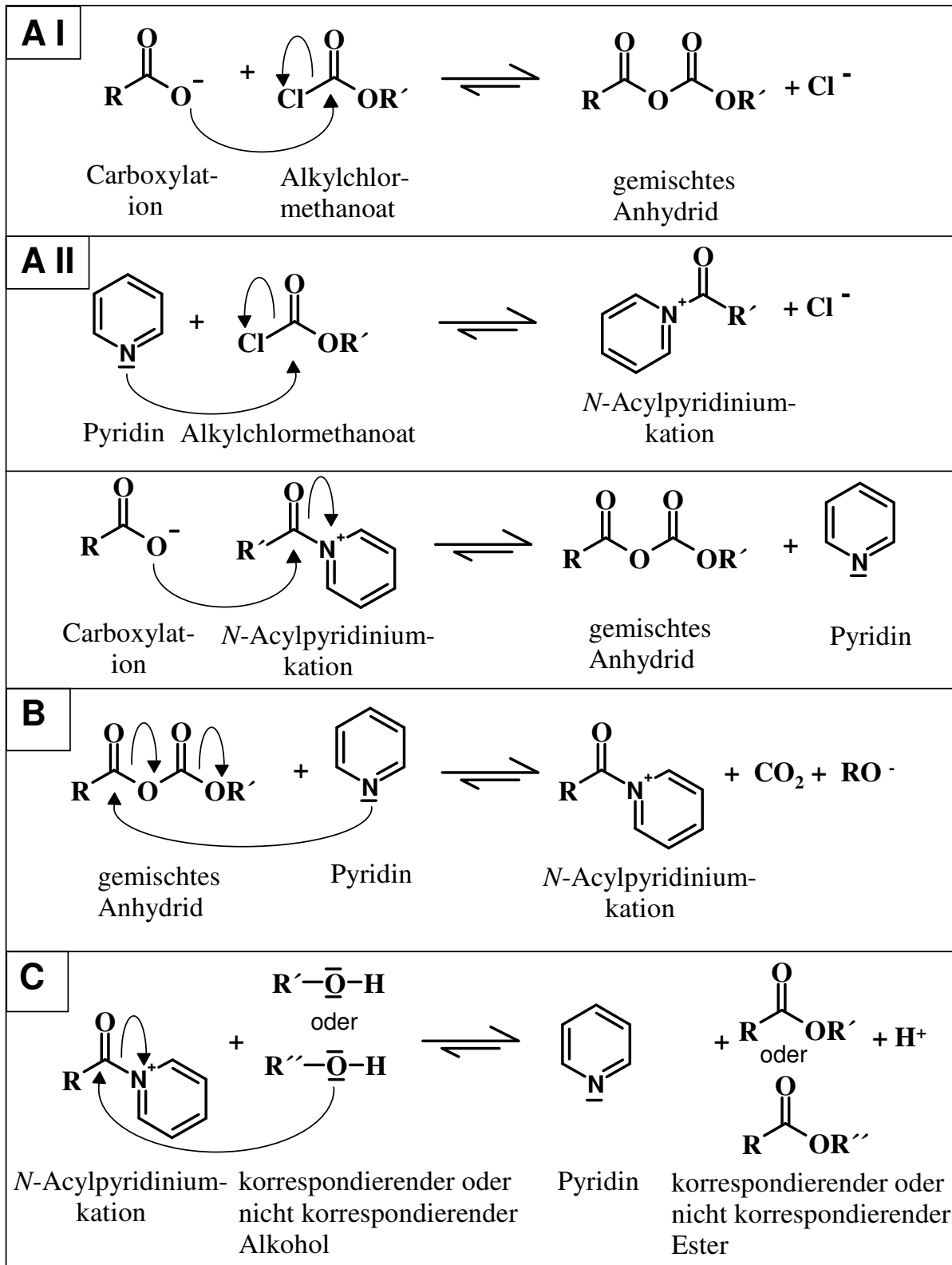


Abb. 34: Modell des Reaktionsmechanismus der pyridinkatalysierten Esterbildung bei der Umsetzung von Carbonsäuren mit Alkylchloromethanoaten in Anwesenheit korrespondierender oder nicht korrespondierender Alkohole

Diese *N*-Acylpyridiniumsalzbildung [B] entspricht dem altbekannten Prinzip der Aktivierung von Carbonsäurederivaten durch Pyridin oder Pyridinderivate und wurde im Zusammenhang mit der Umsetzung von Carboxylfunktionen mit Chlor-methanoaten von *Henriksen et al.*^[232,233] vorgeschlagen. Das derart gebildete *N*-Acylpyridiniumkation kann dann nucleophil von einem Alkohol substituiert werden [C]. Analog ist auch eine Aktivierung des Alkylchlor-methanoates durch die Reaktion mit Pyridin denkbar [AIII]. Da aber die Bildung der gemischten Anhydride auch in Anwesenheit einfacher Basen wie beispielsweise Triethylamin stattfindet, kann ebenso die direkte Reaktion von Carbonsäure und Chlormethanoat erfolgen [AI]. In diesem Fall dient die Base nur der Deprotonierung der Carbonsäure bzw. zur Neutralisation des entstehenden Chlorwasserstoffes. Phenole reagieren analog zu den Sequenzen AI und AII, allerdings mit dem Unterschied, daß der nucleophile Angriff auf das (aktivierte) Reagenz als Phenol oder Phenolat und nicht als Carboxylat erfolgt, wie in Abbildung 35 dargestellt:

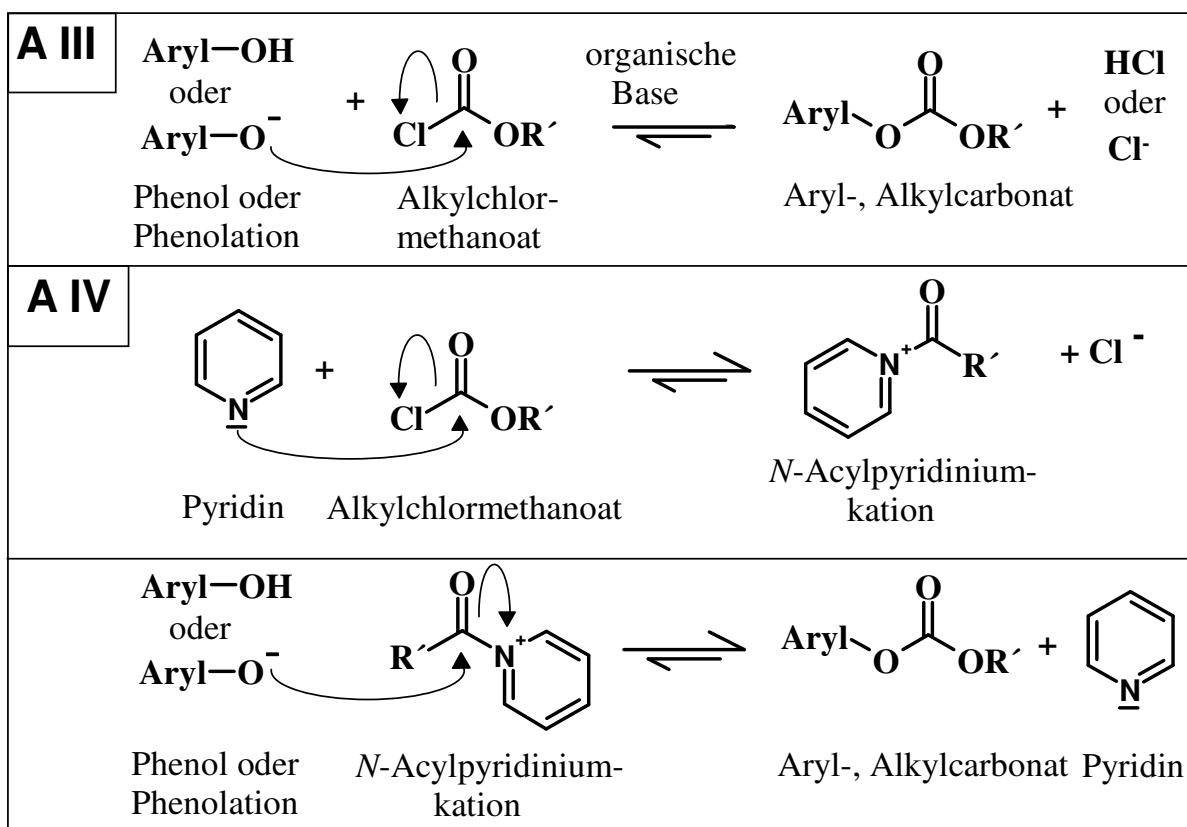


Abb. 35: Modell des Reaktionsmechanismus der Umsetzung von Phenolen mit Alkylchlor-methanoaten

Die nucleophile Substitution an gemischten Anhydriden erlaubt auf sehr einfachem Wege die Derivatisierung von Carbonsäuren zu einer Vielzahl von gewünschten Produkten. Damit können unter Verwendung von Alltagschemikalien wie etwa MCF oder ECF nur durch die Variation des bei der Reaktion verwendeten Nucleophils praktisch maßgeschneiderte Carbonsäurederivate erzeugt werden, so daß in diesen Fällen (nicht aber bei der Derivatisierung von Amino- oder Hydroxy-

funktionen) auch die mitunter problematische Synthese spezieller Chlormethanoat-reagenzien entfällt. Trotz dieser Vorteile hat sich die spezielle Reaktionsführung bei der Verwendung von Chlormethanoaten in der analytischen Chemie nur wenig etabliert. Einige Anwendungen aus den 80er Jahren beschränken sich auf die enantioselektive flüssigchromatographische Bestimmung chiraler 2-Arylpropansäure-analgetika wie beispielsweise Naproxen, Ketoprofen, Ibuprofen oder Indoprofen nach deren Umsetzung mit Alkylchlormethanoaten und anschließender Aminolyse der resultierenden gemischten Anhydride durch ebenfalls chirale Aminoderivate^[234-238]. Erst ab Mitte der 90er Jahre, nach den bereits erwähnten Veröffentlichungen von *Husek* und *Wang*, wurde auch die Alkoholyse von gemischten Anhydriden mittels fluorierter Alkohole wie F₃EtOH, F₅PrOH oder F₇BuOH zur Bestimmung von Aminosäurederivaten mittels Gaschromatographie eingesetzt^[239-241].

3.2.3 Untersuchungen zur Derivatisierung acider Referenzsubstanzen mit Alkylchlormethanoaten

Aufgrund der in dem vorangehenden Abschnitt 3.2 aufgeführten Vorteile der Derivatisierung polarer organischer Verbindungen in matrixreichen Umweltproben mittels Chlormethanoat-reagenzien erschien diese Methode als besonders geeignet zur Bestimmung der in Rahmen dieser Arbeit ausgewählten sauren Analyten. In der Vergangenheit sind Chlormethanoate für die gaschromatographische Bestimmung saurer Umweltkontaminanten im Spurenbereich nur vereinzelt eingesetzt worden, so daß entsprechende Veröffentlichungen selten sind^[242]. Es ist aber zu vermuten, daß dies weniger an der grundsätzlichen Eignung der Methode liegt als an ihrem vorwiegenden Einsatz für biochemische und pharmazeutische Zwecke, so daß in der Umweltanalytik die Kenntnis über diese Derivatisierungen schlicht fehlte. Es waren *Butz* und *Stan*^[243], die 1993 erstmals Methyl-, Ethyl- und *n*-Butylchlormethanoat bei der Methodenentwicklung für die spurenanalytische Bestimmung saurer Herbizide in Grundwasser verwendeten. Unlängst setzten auch *Henriksen* et al.^[232] *n*-Butyl- und *n*-Hexylchlormethanoat für die Derivatisierung von aciden Pestiziden und Transformationsprodukten aus Grundwasserproben nach Anreicherung mittels SPME ein. Allerdings konnten von den untersuchten 12 Substanzen nur 6 in ausreichendem Umfang derivatisiert werden. Unter den Verbindungen, die nicht umgesetzt werden konnten, waren einige Nitrophenolderivate, ein Sulfonsäurederivat und Dicamba (3,6-Dichlor-2-methoxybenzoesäure). Der wesentlichste Grund für die Entscheidung, Chlormethanoate als Derivatisierungsreagenzien für diese Arbeit zu verwenden, war aber vor allem der erfolgreiche Nachweis saurer Pharmazeutika wie Clofibrinsäure, Diclofenac und Ibuprofen in matrixreichen Elbwasser- und Nordseeprobenextrakten nach Umsetzung mit Methylchlormethanoat im Rahmen der Diplomarbeit des Autors^[50].

3.2.3.1: Derivatisierung mit Alkylchlormethanoat und dem korrespondierenden Alkohol (homogene Derivatisierungen)

Die praktische Durchführung der Derivatisierung saurer Analyten mit Alkylchlormethanoaten kann hinsichtlich der Art und Menge der verwendeten Lösungsmittel relativ variabel gestaltet werden. Allerdings gibt es offensichtlich für jedes Chlormethanoatreagenz und jede Gruppe von Analyten optimale Reaktionsbedingungen, so daß eine Vielzahl von Versuchsvorschriften publiziert ist^[204]. Auf den vorausgegangenen Untersuchungen basierend, und in Anlehnung an die Arbeit von *Butz* und *Stan*^[243], wurde zu Beginn dieser Arbeit die nachfolgend vorgestellte Arbeitsvorschrift SOP 4A für die Derivatisierung saurer Analyten mit MCF oder ECF und den korrespondierenden Alkoholen (MeOH oder EtOH) eingesetzt, bei der in beiden Fällen die gleichen Lösungsmittel/Katalysatorverhältnisse verwendet wurden, während die eben zitierten Autoren variierende Anteile eingesetzt hatten.

SOP 4A: Korrespondierende Alkylierung von Carbonsäuren und Alkoxy-carbonylierungen von Phenolen mit MCF oder ECF, Methode A

Lösungen von Referenzsubstanzen werden in einem vial von 1,5 mL Innenvolumen mittels eines Stickstoffstroms gerade zur Trockene eingengt und der Rückstand nachfolgend in 100 µL einer Mischung von Acetonitril, Alkohol, Wasser und Pyridin 5/2/2/1 (v,v,v,v) aufgenommen. Nach der Zugabe von 7 µL MCF oder ECF in die Lösung hinein wird das Reaktionsgefäß verschlossen und kurz geschüttelt. Anschließend wird der Ansatz mit 200 µL Wasser versetzt und die Mischung mit 600 µL *n*-Hexan, in dem der Volumenstandard AD10 enthalten ist, ausgeschüttelt. Die wäßrige Phase wird abpipettiert und verworfen, während die organische Phase noch zweifach mit jeweils 400 µL Wasser gewaschen und schließlich über einer Spatelspitze wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet wird. Dieser Trocknungsschritt wird so oft wiederholt, bis das Trockenmittel in der Lösung seine feinkörnige Konsistenz behält. Für die nachfolgende GC/MS Messung niedriger Analytmengen (etwa < 50 ng) wird die Lösung zuvor im Stickstoffstrom auf ein Volumen von ca. 100 µL reduziert, während bei größeren Analytmengen (etwa > 500 ng) proportional verdünnt wird.

MCF: Methylchlormethanoat, ECF: Ethylchlormethanoat, AD10: Anthracen-D₁₀

SOP 4A besteht im wesentlichen aus drei Schritten, die schematisch in Abbildung 36 dargestellt sind.

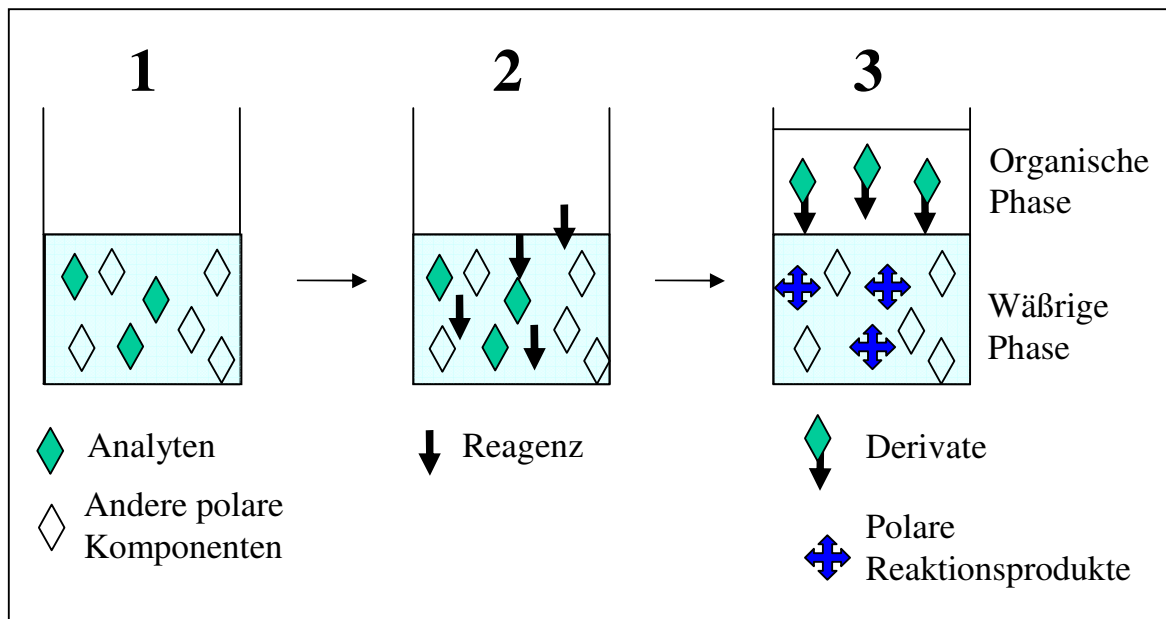


Abb. 36: Schematische Darstellung der selektiven Derivatisierung mit Alkylchloromethanoaten und nachfolgender flüssig – flüssig Extraktion

Zunächst liegt die Probe in einem polaren Reaktionsmedium gelöst vor (1). Dann erfolgt die selektive Derivatisierung der Analyten (2) und die nachfolgende Aufarbeitung, bei der vorwiegend die Derivate in das bewußt sehr unpolar gewählte Extraktionslösungsmittel *n*-Hexan übergehen (3). Die Aufarbeitung ist so gestaltet, daß durch das Auswaschen und Trocknen der organischen Phase sehr effektiv alle unerwünschten polaren Anteile der Mischung abgetrennt werden können. Dazu zählen die polaren Lösungsmittel Wasser, Alkohol und Acetonitril, der Katalysator Pyridin und Reaktionsprodukte wie Pyridiniumhydrochlorid, die sämtlich das für die abschließende Messung einzusetzende gaschromatographische System belasten würden. An dieser Stelle ist also ein sehr effektives *Reaktions - clean up* und die Analytanreicherung ohne ein Einengen zur Trockene etabliert worden, worin sich die vorgestellte Methode von der Durchführung nach *Butz & Stan* unterscheidet. Die extraktive Aufarbeitung ist einerseits weniger zeitaufwendig als das langwierige Einengen oder Abblasen wäßrig-alkoholischer Lösungen, vor allem aber besteht nicht die Gefahr des Verlustes von Analyten, die durch die Derivatisierung ja zu flüchtigen Verbindungen umgesetzt wurden. Bereits in der erwähnten Diplomarbeit^[50] wurde gezeigt, daß ein Abblasen von Chlormethanoatansätzen, in denen saure Pharmazeutika methyliert worden waren, zum völligen Verlust wichtiger Analyten wie Ibuprofen führen kann. *Henriksen et al.*^[232] umgingen dieses Problem, indem die untersuchten wäßrigen Proben direkt derivatisiert und die Derivate dann mittels Festphasenmikroextraktion (SPME) angereichert wurden. Unbefriedigende Wiederfindungsraten und Kalibrierparameter sowie deutliche Abweichungen zu parallelen Ergebnissen, die aus einer flüssigchromatographischen Bestimmung der Analyten resultierten, zeigten allerdings Beschränkungen dieses Verfahrens für quantitative Untersuchungen. Das von uns bevorzugte Prinzip der extraktiven Aufarbeitung der

Derivatisierungsansätze sollte über die erwähnten Aspekte hinaus auch für eine Abtrennung polarer Matrixanteile von Umweltproben (*Proben – clean up*) dienen, was in einem der nachfolgenden Kapitel beschrieben wird.

Bei Untersuchungen innerhalb dieses Abschnittes wurde für homogene Derivatisierungen von Referenzsubstanzen überwiegend MCF eingesetzt, weil die resultierenden Methyl-derivate bekannter Analyten im Gegensatz zu den Ethyl-derivaten häufig in entsprechenden Massenspektrenbibliotheken registriert sind. Zur Vereinfachung der Reaktion wurden bei qualitativen Untersuchungen die Methylierung bzw. Methoxycarbonylierung der ausgewählten Standardanalyten ohne die Anwesenheit von Acetonitril und Wasser bei der Reaktion durchgeführt. Die analogen Umsetzungen zu den entsprechenden Ethyl- und Ethoxycarbonyl-derivaten wurden vorwiegend durchgeführt, um Ergebnisse aus den Umsetzungen mit MCF zu bestätigen. Beide Verfahrensweisen sind als SOP 4B und SOP 4C formuliert:

SOP 4B: Korrespondierende Alkylierung von Carbonsäuren und Methoxycarbonylierung von Phenolen mit MCF, Methode B

Lösungen von Referenzsubstanzen werden in einem vial von 1,5 mL Innenvolumen mittels eines Stickstoffstroms gerade zur Trockene eingengt und der Rückstand nachfolgend mit 100 µL MeOH und 10 µL Pyridin versetzt. Nach der Zugabe von 7 µL MCM in die Lösung hinein wird das Reaktionsgefäß verschlossen und kurz geschüttelt. Anschließend wird der Ansatz mit 600 µL *n*-Hexan, in dem ggf. der Volumenstandard AD10 enthalten ist, versetzt und dreifach mit jeweils ca. 400 µL Wasser ausgeschüttelt. Die wäßrigen Phasen werden jeweils verworfen, während die organische Phase abschließend über einer Spatelspitze wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet wird. Dieser Trocknungsschritt wird so oft wiederholt, bis das Trockenmittel in der Lösung seine feinkörnige Konsistenz behält. Für die nachfolgende GC/MS Messung niedriger Analytmengen (etwa < 50 ng) wird die Lösung zuvor im Stickstoffstrom auf ein Volumen von ca. 100 µL reduziert, während bei größeren Analytmengen (etwa > 500 ng) proportional verdünnt wird

MCF: Methylchlormethanoat, AD10: Anthracen-D₁₀

SOP 4C: Korrespondierende Alkylierung von Carbonsäuren und Ethoxycarboxylierung von Phenolen mit ECF

Lösungen von Referenzsubstanzen werden in einem vial von 1,5 mL Innenvolumen mittels eines Stickstoffstroms gerade zur Trockene eingengt und der Rückstand nachfolgend mit 100 µL EtOH und 10 µL Pyridin versetzt. Nach der Zugabe von 7 µL ECM in die Lösung hinein wird das Reaktionsgefäß verschlossen und kurz geschüttelt. Anschließend wird der Ansatz mit 600 µL *n*-Hexan, in dem ggf. der Volumenstandard AD10 enthalten ist, versetzt und dreifach mit jeweils ca. 400 µL Wasser ausgeschüttelt. Die wäßrigen Phasen werden jeweils verworfen, während die organische Phase abschließend über einer Spatelspitze wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet wird. Dieser Trocknungsschritt wird so oft wiederholt, bis das Trockenmittel in der Lösung seine feinkörnige Konsistenz behält. Für die nachfolgende GC/MS Messung niedriger Analytmengen (etwa < 50 ng) wird die Lösung zuvor im Stickstoffstrom auf ein Volumen von ca. 100 µL reduziert, während bei größeren Analytmengen (etwa > 500 ng) proportional verdünnt wird

ECF: Ethylchlormethanoat, AD10: Anthracen-D₁₀

Mittels dieser Arbeitsvorschriften wurden im Rahmen der Methodenentwicklung sämtliche in Kapitel 2 aufgeführten aciden Analyten, also chlorierte Benzoe- und Phenylethansäuren, Phenoxyalkylcarbonsäuren, weitere Carbonsäuren, Phenol-derivate und die drei sauren Surrogatstandardverbindungen in Einzel- sowie in Mischungsversuchen mit bis zu 40 Analyten umgesetzt. Bei systematischen Untersuchungen im Rahmen der Methodenentwicklung sowie für die Auswertung von Umweltproben wurden weitere acide Analyten in analogen Reaktionen derivatisiert, was an entsprechender Stelle erwähnt wird. Die qualitativen Ergebnisse der Umsetzungen hinsichtlich der genannten Analyten sind in den nachfolgenden Tabellen 14 bis 17 aufgeführt, wobei die Identifizierung der Derivate durch den Abgleich mit Massenspektrenbibliotheken oder die Bestimmung der Molekül- und Fragmentationen in den aufgenommenen Massenspektren erfolgte. Stellungsisomere Analyten mit gleichen Eigenschaften sind aus Gründen der Übersichtlichkeit in entsprechenden Zeilen zusammengefaßt.

Benzoensäuren & Phenylethansäuren	Anzahl acider Funktionen		Anzahl derivatisierter Funktionen
	-COOH	Aryl-OH	
2-/3-/4-CBA	Je 1	0	Je 1
2,3-/2,4-/2,5-/3,4-/3,5-DCBA	Je 1	0	Je 1
2,6-DCBA	1	0	0
2,3,4-/2,3,5-/2,4,5-/ 3,4,5-TCBA	Je 1	0	Je 1
2,3,6-/2,4,6-TCBA	Je 1	0	0
2-/3-/4-CPAA	Je 1	0	Je 1
2,3-/2,4-/2,5-/2,6-/3,4-/3,5-DCPAA	Je 1	0	Je 1
2,3,4-/2,3,5-/2,3,6-/2,4,5-/2,4,6 /3,4,5-TCPAA	Je 1	0	Je 1
Phenylethansäure-D5 (PAA-D5)	1	0	1
3,4-Dichlorphenyl-3-propansäure-D2 (3,4-DCPPA-D2)	1	0	1
Mecoprop-D3 (MD3)	1	0	1

Tab. 14: Alkylierung funktioneller Gruppen bei halogenierten Benzoe- (CBA) und Phenylethansäuren (CPAA) sowie den deuterierten Surrogatstandards durch Derivatisierungen gemäß SOP 4B und 4C (Abkürzungen siehe Kapitel 2)

Phenoxyalkylcarbonsäuren	Anzahl acider Funktionen		Anzahl derivatisierter Funktionen
	-COOH	Aryl-OH	
2,4,5-Trichlorphenoxyethansäure (2,4,5-T)	1	0	1
Bezafibrat	1	0	1
Clofibrinsäure	1	0	1
Dichloprop	1	0	1
Gemfibrozil	1	0	1
(4-Chlor-2-methylphenoxy)ethansäure (MCPA)	1	0	1
Mecoprop	1	0	1

Tab. 15: Alkylierung funktioneller Gruppen bei Phenoxyalkylcarbonsäuren durch Derivatisierungen gemäß SOP 4B und 4C

Weitere Carbonsäuren	Anzahl acider Funktionen		Anzahl derivatisierter Funktionen
	-COOH	Aryl-OH	
Bayrepel-COOH	1	0	1
Diclofenac	1	0	1
Fenoprofen	1	0	1
Gentisinsäure	1	2	3
Ibuprofen (Ibu)	1	0	1
Ibu-OH	1	0	1
Ibu-COOH	2	0	2
Indometacin	1	0	1
Ketoprofen	1	0	1
Naproxen	1	0	1
Phenylelessigsäure	1	0	1
Salicylsäure	1	1	2

Tab. 16: Alkylierung und Alkoxy-carbonylierung funktioneller Gruppen bei weiteren Carbonsäuren durch Derivatisierungen gemäß SOP 4B & 4C

Phenole	Anzahl acider Funktionen		Anzahl derivatisierter Funktionen
	-COOH	Aryl-OH	
4-Chlorphenol (4-CPOH)	0	1	1
4-Chlor-3-methylphenol (4-C-3-MePOH)	0	1	1
2,4-Dichlorphenol (2,4-DCPOH)	0	1	1
2,4,5-Trichlorphenol (2,4,5-TCPOH)	0	1	1
2-Bromphenol (2-BPOH)	0	1	1
2,4-Dibromphenol (2,4-DPOH)	0	1	1
2,4,6-Tribromphenol (2,4,6-TBPOH)	0	1	1
Pentachlorphenol (PCPOH)	0	1	1
Paracetamol	0	1	nicht detektiert
Triclosan	0	1	1

Tab. 17: Alkoxy-carbonylierung funktioneller Gruppen bei Phenolen durch Derivatisierungen gemäß SOP 4B und 4C

Die in den Tabellen 13 bis 17 präsentierten Ergebnisse belegen, daß sämtliche eingesetzten Analyten bis auf drei halogenierte Benzoesäuren und Paracetamol erfolgreich umgesetzt, in *n*-Hexan angereichert und die entsprechenden Derivate gaschromatographisch/massenspektrometrisch detektiert wurden. Die Alkylierungen fanden an primären, sekundären und tertiären aliphatischen Carboxylgruppen ebenso statt wie an aromatischen Säurefunktionen. Phenolische Gruppen wurden alkoxy-carbonyliert. Die Anwesenheit mehrerer acider Substituenten (Ibuprofen-COOH, Salicylsäure, Gentisinsäure) hatte ebensowenig nachteiligen Einfluß auf die

Derivatisierung wie die Anwesenheit weiterer funktioneller Gruppen, die nachfolgend aufgelistet sind.

- Alkyl-OH (Ibuprofen-OH)
- Aryl-NH-Aryl (Diclofenac)
- Alkyl-N(C=O)O-Alkyl (Bayrepelel-COOH)
- Aryl-N-(C=O)-Aryl (Indometacin)
- Alkyl-NH-(C=O)-Aryl (Bezafibrat)

Eindrucksvolle Beispiele für die Anwendung der homogenen Derivatisierung für die gaschromatographische Untersuchung anspruchsvoller Analyten sind die Bildung und Detektion des zweifach methylierten Derivates von Carboxyibuprofen und der gemischtfunktionellen Derivate von Salicylsäure und Gentisinsäure. Hier zeigt sich, daß auch anspruchsvolle Analyten vollständig derivatisiert und durch *n*-Hexan angereichert werden. Darüber hinaus sind die Derivate sowohl bei der Injektion in den heißen Injektor als auch während der GC – Passage thermisch stabil, was insbesondere bei den Kohlensäureestern erstaunen mag. Abbildung 37 zeigt die entsprechenden Reaktionen am Beispiel von Carboxyibuprofen und Gentisinsäure

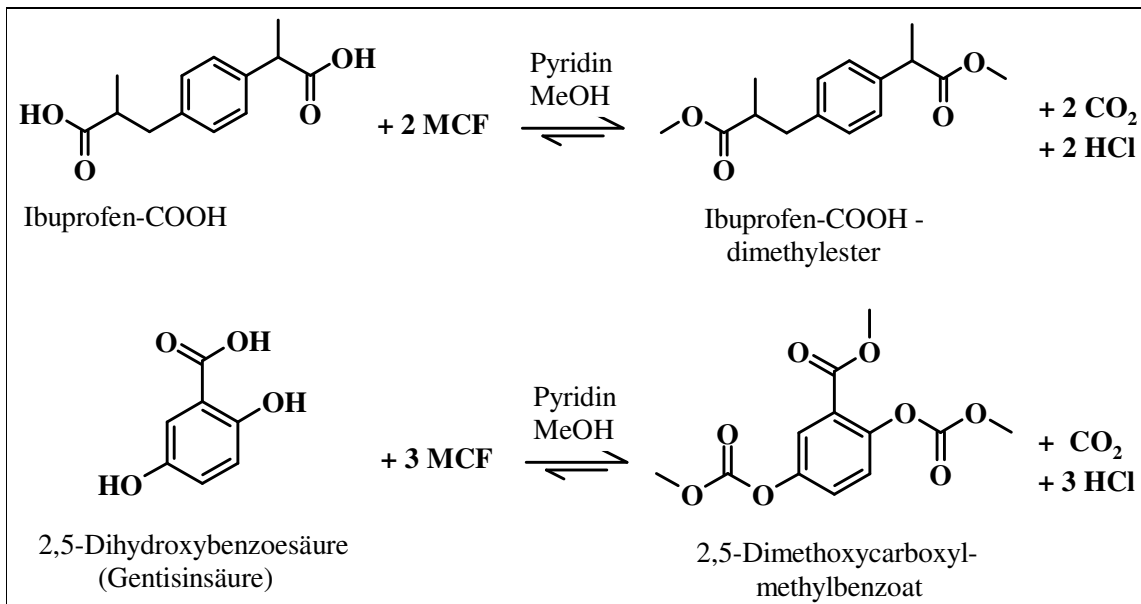


Abb. 37: Reaktionsgleichungen der Umsetzung von Carboxyibuprofen und Gentisinsäure mit MCF

In welchem Umfang die parallele Umsetzung einer Vielzahl von aciden Analyten mittels Alkylmethanoaten zu den Alkyl- und Alkoxy-carbonylderivaten die GC/MS Bestimmung polarer Analyten ermöglichen kann, ist in Abbildung 38 und Tabelle 18 dargestellt.

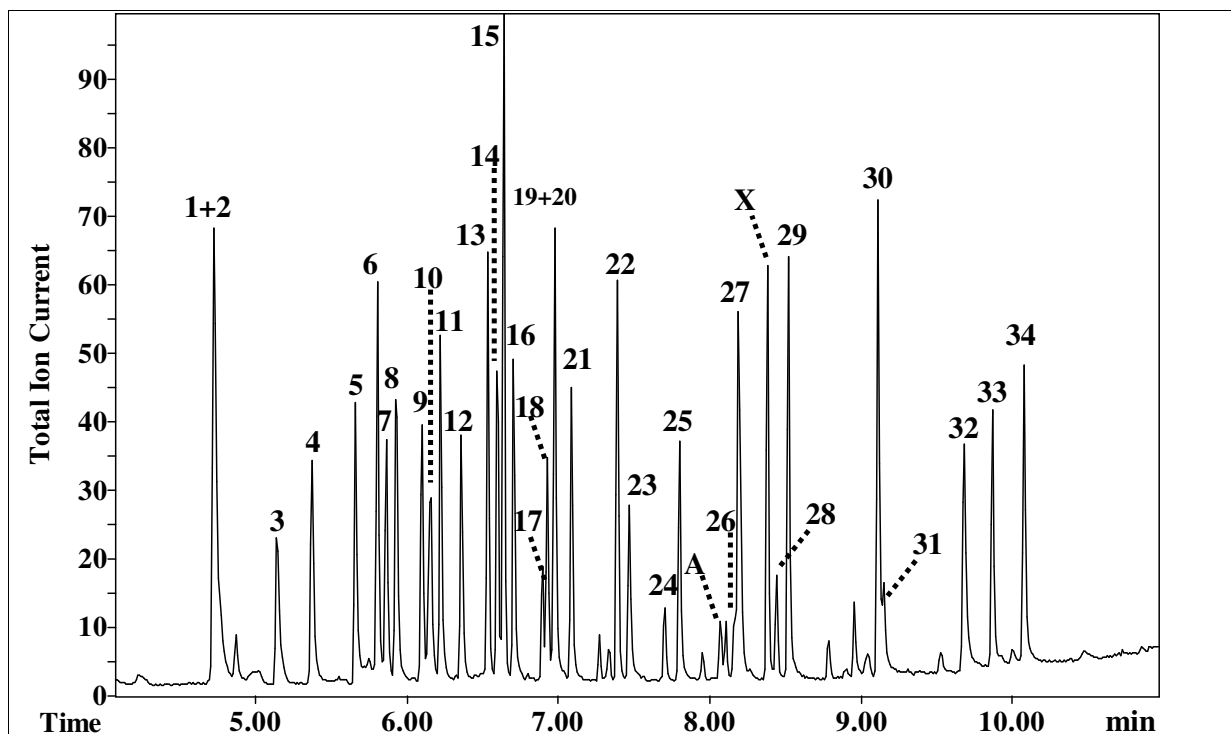


Abb. 38: GC/MS Chromatogramm (Full-Scan, TIC) der Umsetzung einer Mischung acider Analyten mit MCF gemäß SOP 4B

(Säule: 15 m VB-1701, 2 min 333 K, → 543 K: 25 K/min, 4,6 min 543 K)

N°	Analyt	Menge	N°	Analyt	Menge
1	PAA	500 ng	19	Salicylsäure	195 ng
2	PAA-D ₅	500 ng	20	3,4-DCPAA	250 ng
3	2-CBA	250 ng	21	2,4,5-TCPOH	250 ng
4	4-CBA	250 ng	22	2,3,6-TCPAA	250 ng
5	4-CPOH	250 ng	23	3,4-DCPPA-D ₂	100 ng
6	2-CPAA	250 ng	24	Ibu-OH	250 ng
7	3,5-DCBA	250 ng	25	3,4,5-TCPAA	250 ng
8	4-CPAA	250 ng	A	AD10	50 ng
9	2,4-DCBA	250 ng	26	Gemfibrozil	250 ng
10	3,4-DCBA	250 ng	27	Ibu-COOH	250 ng
11	4-C-3-MePOH	250 ng	28	Pentachlorphenol	250 ng
12	2,4-DCPOH	250 ng	X	Phthalat-Kontaminante	
13	2,6-DCPAA	250 ng	29	Fenoprofen	250 ng
14	Clofibrinsäure	250 ng	30	Naproxen	250 ng
15	Ibuprofen	250 ng	31	Gentisinsäure	250 ng
16	3,5-DCPAA	250 ng	32	Ketoprofen	250 ng
17	MD3	50 ng	33	Diclofenac	250 ng
18	3,4,5-TCBA	250 ng	34	Triclosan	250 ng

Tab. 18: Zuordnung der Analyten und ihrer eingesetzten absoluten Mengen zu den Derivatsignalen aus Abb. 38

(Abkürzungen: siehe Abkürzungsverzeichnis oder Kapitel 2)

Der dargestellte Chromatogrammausschnitt resultiert aus der Messung einer Probe, in der eine Mischung von 36 aciden Analyten gemäß SOP 4B umgesetzt wurde. Zwei der Derivate (die Methylester von Indometacin und Bezafibrat) eluierten so spät, daß die entsprechenden Signale außerhalb des dargestellten Bereiches liegen. Diese Ergebnisse sollen belegen, daß mittels der hier vorgestellten Derivatisierung eine große Zahl acider Analyten parallel und in kurzer Zeit umgesetzt und empfindlich detektiert werden konnte. Die Umsetzung, Aufarbeitung und Messung der Analyten aus Abbildung 38 erfolgte innerhalb von 30 min. Bemerkenswert für die Derivatisierung einer so komplexen Mischung im Vergleich zu anderen Verfahren ist das untergeordnete Auftreten von Nebenprodukten, was vorwiegend ein Resultat der extraktiven Aufarbeitung der Reaktionsansätze ist.

3.2.3.2 Einschränkungen bei der homogenen Derivatisierung acider Analyten

Eine unzureichende Detektion der Derivate bei der homogenen Derivatisierung mit MCF oder ECF wurden nur bei vier der in den Tabellen 13 bis 17 aufgeführten Analyten festgestellt. So konnten die alkoxylierten Paracetamolderivate nur sehr schwach und die Alkylester dreier Benzoesäuren gar nicht detektiert werden. Bei Paracetamol lag die Ursache für die geringe Detektion der entsprechenden Derivate weniger in einer unvollständigen Umsetzung als in der immer noch beträchtlichen Polarität der amidischen Verbindungen mit geringer Molmasse. Dadurch waren die Derivate in Spuren Mengen vermutlich ausreichend wasserlöslich, und sie reicherten sich nur wenig in dem zur extraktiven Aufarbeitung verwendeten *n*-Hexan an. Dies konnte dadurch belegt werden, daß die alkoxy-carbonylierten Paracetamolderivate in normalem Umfang detektiert wurden, wenn Diethylether, Di(methylethyl)ether oder Mischungen dieser Lösungsmittel mit *n*-Hexan anstelle von reinem *n*-Hexan bei der extraktiven Aufarbeitung des Reaktionsansatzes eingesetzt wurden.

Überraschend hingegen sind die fehlenden Detektionen der Methyl- und Ethylester von 2,6-Dichlorbenzoesäure sowie 2,3,6- und 2,4,6-Trichlorbenzoesäure. Da sämtliche anderen Benzoesäuren erfolgreich umgesetzt werden konnten, liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit in der *o,o'*-Chlorierung die Ursache für eine Hinderung der Reaktion. Die naheliegendsten Auswirkungen dieses Substitutionsmusters sind einerseits eine sterische Abschirmung der Carboxylgruppe durch die zwei voluminösen Chlorsubstituenten, wie auch ein elektronischer Effekt in Form einer Verringerung der Elektronendichte der Säurefunktion. Beide Argumente können aber nicht wirklich überzeugend das Ausbleiben einer Derivatisierung erklären, weil beispielsweise die sterisch und/oder elektronisch noch stärker gehinderten Phenole 2,6-Dibrom- und 2,4,6-Tribromphenol sowie Pentachlorphenol problemlos mit MCF und ECF reagiert hatten. In der bis hier zitierten Literatur sind keine erfolgreichen Alkylierungen von 2,6-disubstituierten Benzoesäuren mit Alkylchlormethanoaten beschrieben worden. Eigene Untersuchungen zur Aufklärung dieser Zusammenhänge werden im Abschnitt 3.2.4 behandelt.

3.2.3.3 Derivatisierung mit Alkylchlormethanoat und einem nicht korrespondierenden Alkohol (*heterogene Derivatisierungen*)

Obwohl heterogene Derivatisierungen mit Alkylchlormethanoaten in der spurenanalytischen Bestimmung von aciden Analyten in Umweltproben nach Wissen des Autors bislang nicht eingesetzt worden sind, erschienen die möglichen Anwendungen dieses Reaktionstyps so vielversprechend, daß im Rahmen dieser Arbeit versucht werden sollte, eine entsprechende Methode für die ausgewählten aciden Referenzverbindungen zu entwickeln. Dazu wurden 5 repräsentative acide Analyten (Clofibrinsäure, Ibuprofen, Ketoprofen, Diclofenac und Triclosan) in Anlehnung an SOP 4A in einer Mischung von Acetonitril, Alkohol, Wasser und Pyridin mit MCM umgesetzt, wobei Ethanol, 1-Propanol, 2-Propanol (Isopropylalkohol), 1-Butanol, 2-Butanol und 2-Methyl-2-propanol (*tert*-Butanol) als nichtkorrespondierende Alkoholkomponenten eingesetzt wurden. Aus diesen Versuchen konnten bei allen Carbonsäureanalyten die entsprechenden Ester der primären und sekundären Alkohole detektiert werden. Nur bei der Reaktion in Anwesenheit des tertiären Alkohols ließ sich kein entsprechendes Derivat nachweisen. Das phenolische Triclosan hingegen wurde durchgehend und erwartungsgemäß in das Methylcarbonat überführt. In Übereinstimmung mit der in Abschnitt 3.2.1 zitierten Literatur wurden in allen Fällen parallel zu den nicht korrespondierenden Derivaten auch die korrespondierenden Methylester der Carbonsäuren gebildet. Die Tendenz der Methylesterbildung stieg dabei mit zunehmender Kettenlänge und sterischen Anspruch der eingesetzten Alkohole an, so daß die Methylderivate teilweise stärker detektiert wurden als die nichtkorrespondierenden Ester.

Da für die beabsichtigte Anwendung der heterogenen Derivatisierungen in der Umweltanalytik insbesondere die Bildung der zum Reagenz korrespondierenden Methylester unerwünscht war, wurden diverse Variationen in der Reaktionsführung erprobt. Die nachfolgende Auflistung faßt die wesentlichsten Ergebnisse in Kürze zusammen:

- Weder die An- oder Abwesenheit von Acetonitril noch eine Verlängerung der Reaktionsdauer von einigen Sekunden bis zu 15 Minuten hatten einen signifikanten Einfluß auf die Produktbildung
- Die Durchführung der Umsetzungen bei höheren Temperaturen führte zu deutlichen Verlusten des phenolischen Triclosanderivates
- Die Anteile der korrespondierenden Methyl-ester im Verhältnis zu den nicht korrespondierenden Estern reduzierte sich auf ein Minimum, wenn die Reaktionen mit MCF in Abwesenheit von Wasser durchgeführt wurden:
 - $\leq 1\%$ bei Perdeuteromethanol
 - $\leq 2\%$ bei Ethanol
 - $\leq 3\%$ bei 1-Propanol
 - $\leq 7\%$ bei 1-Butanol
- Durch die Verwendung von Ethylchloromethanoat als Reagenz und Durchführung der Reaktionen in einem wasserfreien Reaktionsmedium wurde die Entstehung der korrespondierenden Ethylester so weit unterdrückt, daß sie in den meisten Fällen nicht mehr detektiert werden konnten.

Zusammengefaßt führte diese Optimierung der Reaktionsbedingungen bei der heterogenen Derivatisierung zu einer Methode, durch die schnell und unkompliziert eine Vielzahl erwünschter Carbonsäurederivate erzeugt werden konnte. Weil mit ECF als Reagenz bei der heterogenen Derivatisierung von Carbonsäuren weniger korrespondierende Nebenprodukte entstanden, wurde das Reagenz in weiteren Untersuchungen bevorzugt eingesetzt. Da aber bei der Derivatisierung von phenolischen Komponenten mit MCF und ECF die entsprechenden Methyl- oder Ethylcarbonate gebildet werden, die sich hinsichtlich ihrer chromatographischen und massenspektrometrischen Eigenschaften deutlich unterscheiden, wurde auch die heterogene Derivatisierung mit MCF weitergeführt. Eine entsprechende allgemeine Durchführungsvorschrift ist als SOP 5 formuliert:

SOP 5: Heterogene Alkylierung von Carbonsäuren und Ethoxycarbonylierung von Phenolen mit MCF und ECF

Lösungen von Referenzsubstanzen werden in einem vial von 1,5 mL Innenvolumen mittels eines Stickstoffstroms gerade zur Trockene eingengt und der Rückstand nachfolgend mit 200 µL eines nicht korrespondierenden Alkohols und 20 µL Pyridin versetzt. Nach der Zugabe von 14 µL MCF oder ECF in die Lösung hinein wird das Reaktionsgefäß verschlossen und für ca. 3 s geschüttelt. Anschließend wird der Ansatz mit 600 µL *n*-Hexan, in dem ggf. der Volumenstandard AD10 enthalten ist, gründlich vermischt und nachfolgend dreifach mit je 500 µL Wasser ausgeschüttelt. Die wäßrigen Phasen werden jeweils verworfen, während die organische Phase abschließend über einer Spatelspitze wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet wird. Dieser Trocknungsschritt wird so oft wiederholt, bis das Trockenmittel in der Lösung seine feinkörnige Konsistenz behält. Für die nachfolgende GC/MS Messung niedriger Analytmengen (etwa < 50 ng) wird die Lösung zuvor im Stickstoffstrom auf ein Volumen von ca. 100 µL reduziert, während bei größeren Analytmengen (etwa > 500 ng) proportional verdünnt wird.

MCF: Methylchlormethanoat, ECF: Ethylchlormethanoat, AD10: Anthracen-D₁₀

Nachdem die heterogenen Derivatisierungen mit MCF und insbesondere ECF für die Umsetzung von Referenzsubstanzen so gut anwendbar erschien, wurden die Untersuchungen unter Einbeziehung ausgewählter acider Referenzsubstanzen auch auf die Erzeugung weiterer Ester ausgeweitet. Als nicht korrespondierende Alkohole wurden dabei 2,2,2-Trifluorethanol (F₃EtOH), 2,2,3,3,3-Pentafluor-1-propanol (F₅PrOH), 1,1,1,3,3,3-Hexafluor-2-propanol (F₆PrOH) und 2,2,3,3,4,4,4-Heptafluor-1-butanol (F₇BuOH) eingesetzt. Auch diese Reaktionen führten zu den entsprechenden deuterierten und fluorierten Estern, ohne daß die parallele Entstehung der korrespondierenden Ethylderivate detektiert wurde. Während Umsetzungen in Anwesenheit der geradkettigen fluorierten Alkohole in den meisten Fällen zu vergleichbaren Signalausbeuten führten, lagen diese deutlich niedriger, wenn F₆PrOH als nicht korrespondierender Alkohol fungierte, so daß hieraus auf eine eingeschränkte Umsetzung geschlossen wurde. Eine Übersicht über die mit ECF erfolgreich durchgeführten Reaktionen ist in Abbildung 39 gegeben.

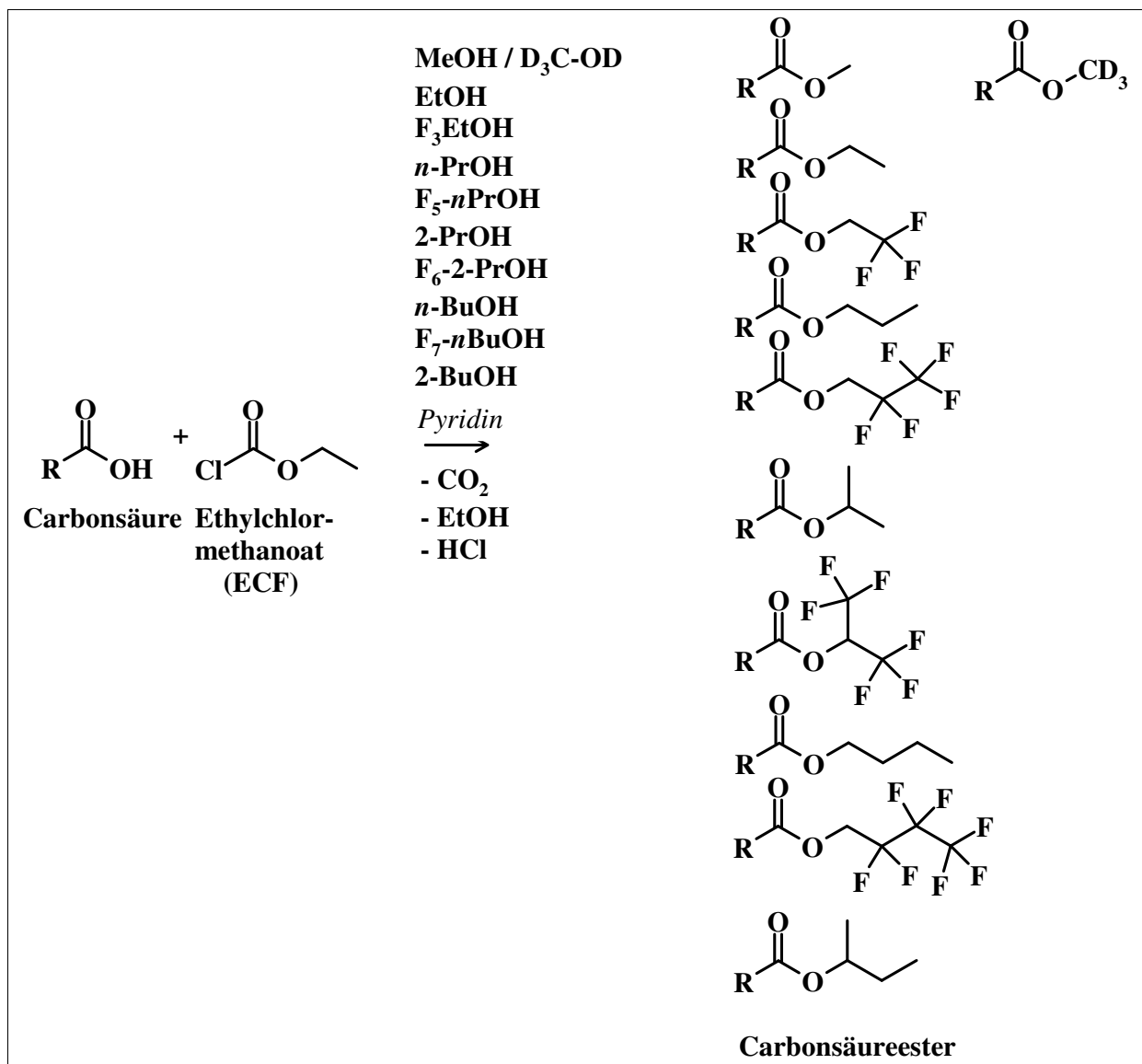


Abb. 39: Schematische Übersicht der mit verschiedenen Alkoholen durchgeführten Veresterungen von Carbonsäuren mit Ethylchloromethanoat

Die Umsetzungen in Anwesenheit von perdeutertem Methanol ($\text{D}_3\text{C-OD}$) sind sicherlich eine besondere Variation der heterogenen Derivatisierung, weil die deuterierten Derivate sich in den meisten ihrer chemischen und physikalischen Eigenschaften praktisch nicht von den einfachen Methylestern unterscheiden. Aus diesem Grunde zeigen isotopenmarkierte Verbindungen gegenüber den nichtmarkierten Homologen keine oder nur minimal unterschiedliche Retentionseigenschaften. Bei der massenspektrometrischen Detektion allerdings wird die jeweilige Zunahme des Molekulargewichts der deuterierten Analyten bzw. Fragmentionen registriert. Als Beispiel sind nachfolgend in den Abbildungen 40 bis 42 die Umsetzung von 2-Hydroxybenzoesäure (Salicylsäure) mit MCF oder ECF in Anwesenheit von $\text{D}_3\text{C-OD}$ und Pyridin sowie die entsprechenden Massenspektren der deuterierten bzw. nicht-deuterierten Derivate dargestellt. Salicylsäure wurde als Beispiel ausgewählt, weil die

Verbindung sowohl eine phenolische Gruppe, als auch eine Carboxylfunktion enthält und somit sowohl von ihrem Verhalten in den Umsetzungen als auch bei der massenspektrometrischen Detektion repräsentativ für beide Gruppen von Analyten steht. Das Derivat trägt dementsprechend einen nichtdeutierten Carbonatrest aus dem jeweiligen Reagenz und zudem eine D₃-Methylesterfunktion, die von dem deutierten Methanol stammt.

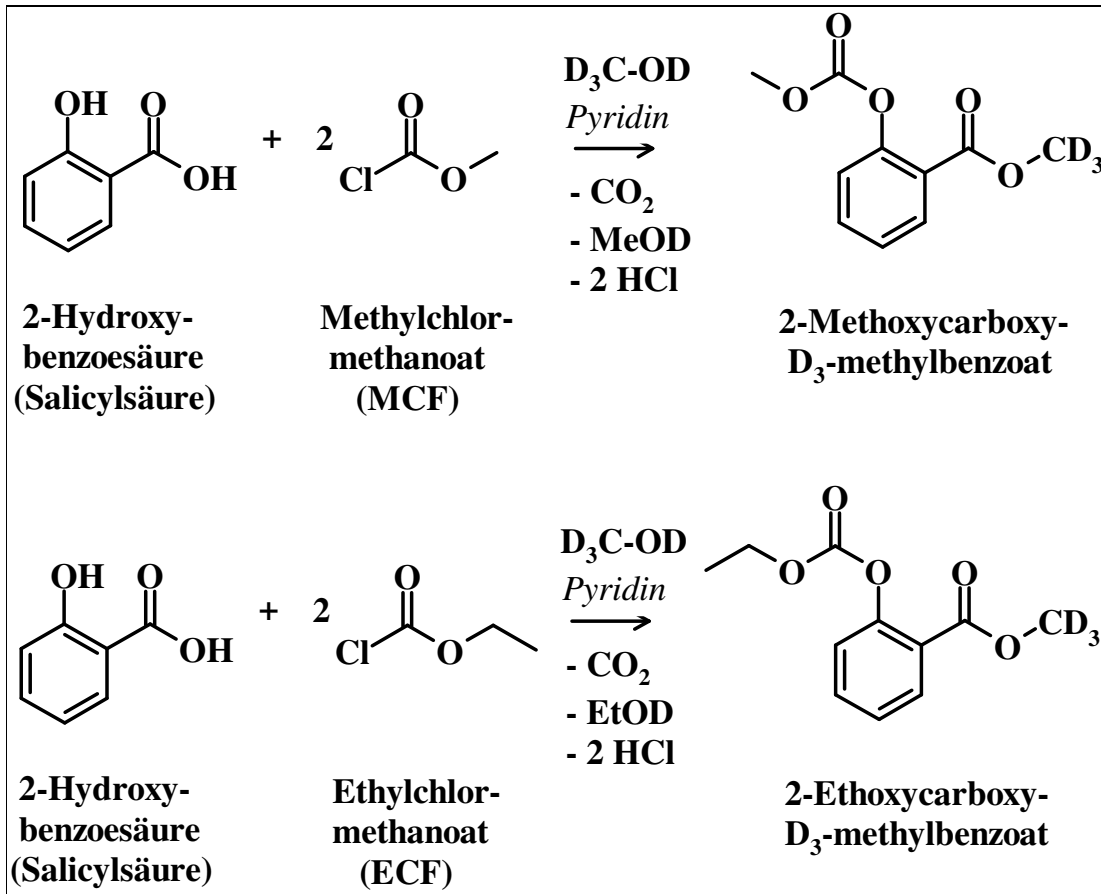


Abb. 40: Reaktionsgleichung für die Derivatisierung von 2-Hydroxybenzoesäure mit MCF oder ECF in Anwesenheit von D₃C-OD und Pyridin

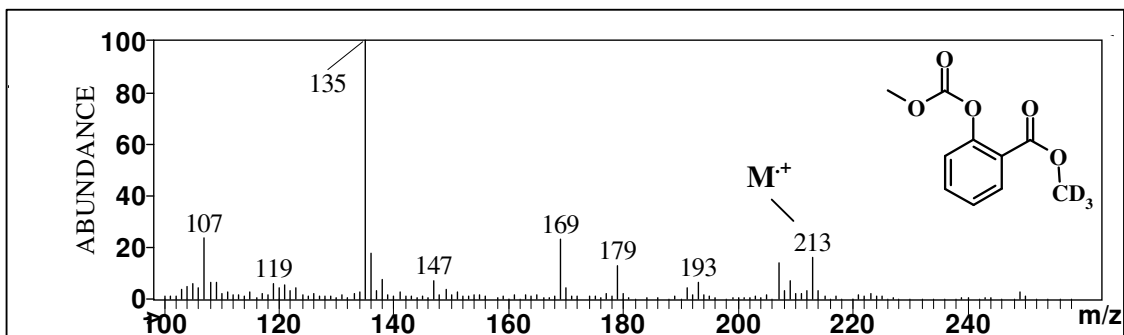
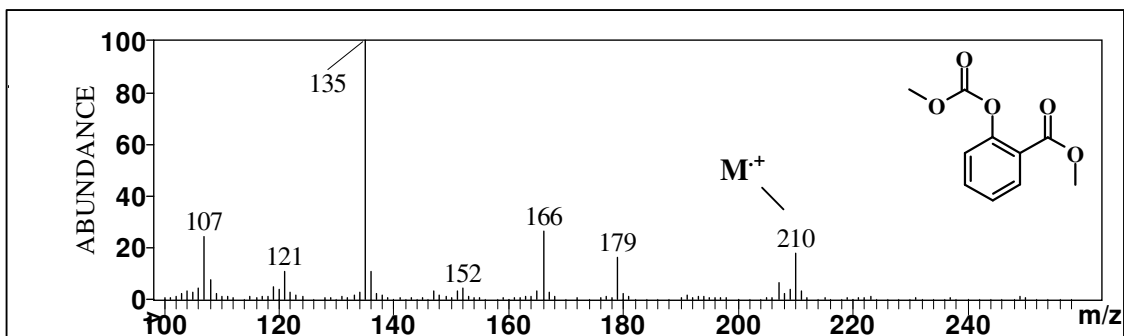


Abb. 41: Massenspektren der Derivate von 2-Hydroxybenzoesäure aus Umsetzungen mit MCF/Pyridin/MeOH und MCF/Pyridin/D₃C-OD

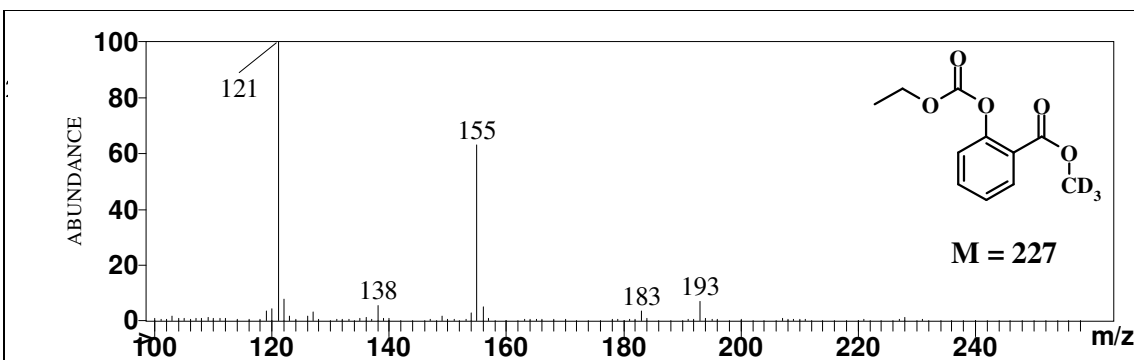
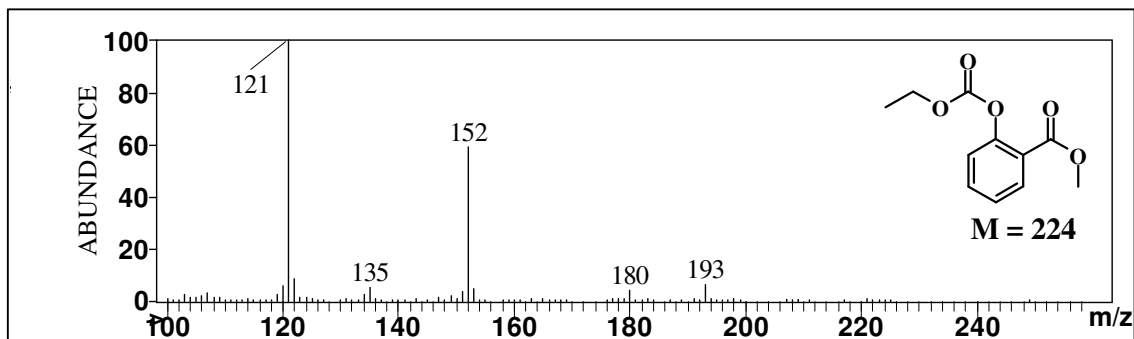


Abb. 42: Massenspektren der Derivate von 2-Hydroxybenzoesäure aus Umsetzungen mit ECF/Pyridin/MeOH und ECF/Pyridin/D₃C-OD

Durch den Vergleich beider Spektren aus den Umsetzungen mit MCF können die entsprechenden Fragmentierungsmuster relativ sicher aufgestellt werden (Abbildung 43). Neben der Detektion der beiden unfragmentierten Molekülonen bei 210 und 213 amu tritt an der Methylcarbonatgruppe vor allem eine Decarboxylierung auf, aus der die bei 166 und 169 amu detektierten Fragmentionen resultieren (**b**). Der Verlust einer Methoxygruppe des jeweiligen Methylesters (**a**) führt bei beiden Verbindungen zu dem jeweils gleichen Fragmention von 179 amu. Die bei Carbonsäureestern üblicherweise sehr intensive Abspaltung der gesamten Estergruppe (**c**) ist bei den Benzoesäurederivaten wegen der direkten Anknüpfung an den aromatischen Ring untergeordnet ausgeprägt und wird in den hier abgebildeten Massenspektren nur in Kombination mit der Decarboxylierung durch das Auftreten der Fragmentionen mit 107 amu angezeigt. Am intensivsten hingegen werden die Fragmentionen 135 detektiert, die aus einer Kombination der beiden häufigsten Einzelfragmentierungen (**a + b**) resultieren.

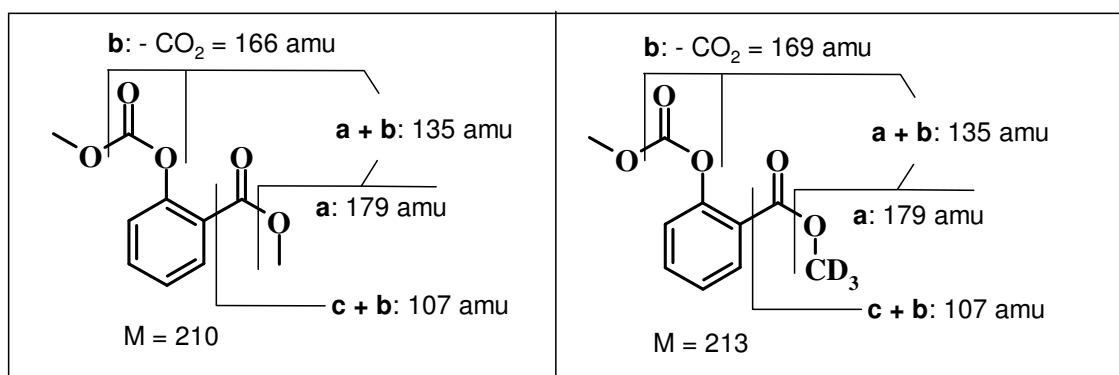


Abb. 43: Fragmentierungsmuster der Derivate von 2-Hydroxybenzoesäure aus Umsetzungen mit MCF/Pyridin/MeOH und MCF/Pyridin/D₃C-OD

Die ethoxycarbonylierten Derivate hingegen zeigen gegenüber den Methylcarbonaten ein völlig anderes Fragmentierungsmuster, das vermutlich auf einer McLaffarty-Umlagerung beruht, die nur bei den Ethylderivaten möglich ist. Tatsächlich wurde diese Reaktion bei allen im Rahmen dieser Arbeit untersuchten ethoxycarbonylierten Phenolen festgestellt. Nachfolgend ist ein massenspektrometrisches Fragmentierungsschema der ethoxycarbonylierten Salicylsäuremethylester sowie der Ablauf der Umlagerungsreaktion nach McLaffarty dargestellt. Diese Umlagerung (**d** in Abbildung 44) wird in den entsprechenden Massenspektren durch das intensive Auftreten der Fragmentionen 152 bzw. 155 angezeigt. Analog zu den Fragmentierungen der methoxycarbonylierten Verbindungen findet sich auch hier die Abspaltung der Methoxygruppe (**a**), wodurch die Ionen mit 193 amu entstehen. Sehr schwach tritt auch bei den Ethylderivaten die Decarboxylierung (**b**) auf. Dabei beweist die Detektion des Fragmentionen 183 bei dem deuterierten Isomer eindeutig, daß die CO₂-Abspaltung an der Carbonatgruppe und nicht an der Carboxylgruppe stattgefunden hat, was bei den methoxycarbonylierten Derivaten immerhin theoretisch möglich gewesen wäre. Die Detektion der Ionen 135 und 138 deuten auf den Verlust der kompletten Ethoxycarboxygruppe hin (**e**), die allerdings bei den Methyl-

carbonaten nicht auftrat. Aus diesem Grunde ist anzunehmen, daß es sich hier um eine Sekundärreaktion handelt, bei der die Hydroxyfunktion von dem phenolischen Fragmention 152 abgespalten wird.

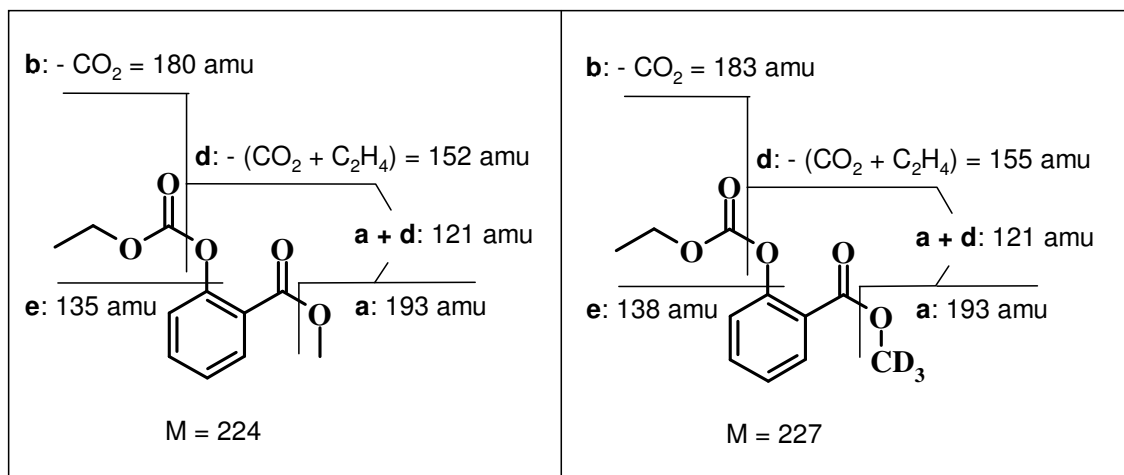


Abb. 44: Fragmentierungsmuster der Derivate von 2-Hydroxybenzoesäure aus Umsetzungen mit ECF/Pyridin/MeOH und ECF/Pyridin/D₃C-OD

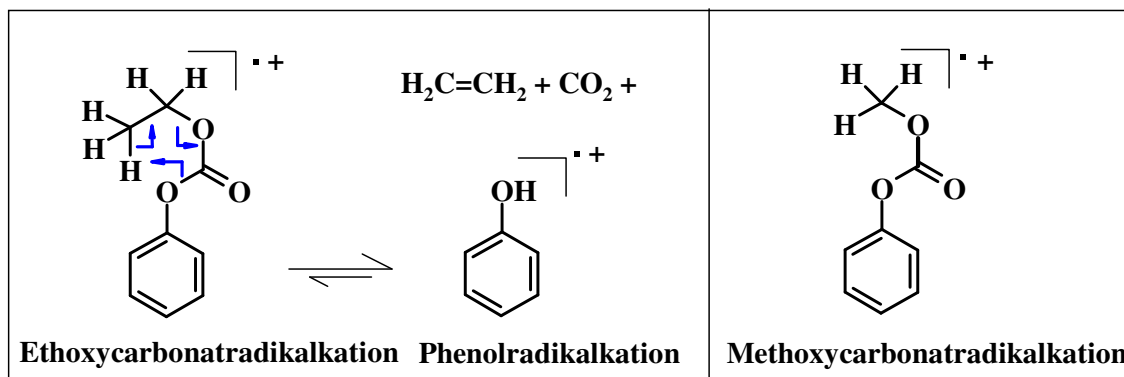


Abb. 45: Modell der Ausbildung phenolischer Fragmentionen aus aromatischen Ethylcarbonaten über einen sechsgliedrigen Übergangszustand

In Abbildung 45 wird schematisch veranschaulicht, daß die angenommene Umlagerung über einen hexagonalen Übergangszustand verläuft, der nur bei den Ethylcarbonaten möglich ist, nicht aber bei den analogen Methylderivaten. Tatsächlich scheint diese Reaktion energetisch derart bevorzugt zu sein, daß die Massenspektren ethoxycarbonylierter Derivate bei den im Rahmen dieser Arbeit untersuchten monofunktionalisierten Phenolen in den meisten Fällen praktisch identisch zu den Spektren der Edukte waren, während bei den methoxycarbonylierten Derivate entsprechende phenolische Fragmentionen fehlten. Die hier vorgestellten Reaktionen zur Einführung deuterierter Substituenten wurden unternommen, weil die resultierenden Informationen generell sehr wertvoll für die Aufklärung von Fragmentierungsreaktionen sind, die ihrerseits nicht nur das massenspektrometrische Verhalten bekannter Analyten charakterisieren, sondern insbesondere für die Strukturaufklärung unbekannter Analyten von hoher Bedeutung sein können.

Da der wesentlichste Grund für die Entwicklung der heterogenen Derivatisierung von Carbonsäuren darin lag, auf einfache Weise Derivate zu erzeugen, die bestimmte analytische Eigenschaften besitzen, werden nachfolgend am Beispiel einer Reihe von Ibuprofenderivaten die aus analytischer Sicht wesentlichsten chromatographischen Eigenschaften der fluorierten und nichtfluorierten Ester aufgezeigt und verglichen. Für eine entsprechende graphische Darstellung wurde eine Mischung einiger Ibuprofenester gaschromatographisch/massenspektrometrisch analysiert und in dem nachfolgendem Chromatogramm dargestellt.

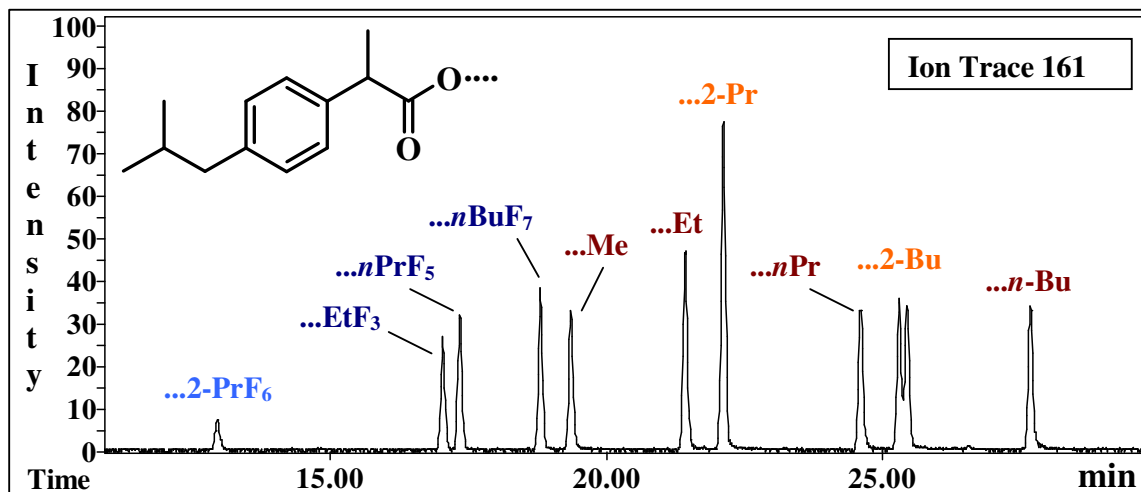


Abb. 46: GC/MS Chromatogramm (Full-Scan, Ionenspur 161) einer Mischung von 10 Ibuprofenestern (je ca. 100 ng)
 (Säule: 15 m HP-5MS, 2 min 333 K, → 423 K: 3 K/min, → 553 K: 25 K/min, 6,2 min 553 K)

Für die Messung wurden in 10 separat durchgeführten Ansätzen jeweils 1 µg Ibuprofen zu verschiedenen Estern umgesetzt, wobei die Methylierung und Ethylierung entsprechend der SOPs 4B und 4C als homogene Derivatisierungen durchgeführt wurden, die heterogenen Reaktionen hingegen gemäß SOP 5 verliefen. Nachfolgend wurden Aliquote der Extrakte gemischt, so daß eine Verdünnung um den Faktor 10 resultierte. Abbildung 46 zeigt neben der Grundstruktur der Analyten die Detektion der gebildeten Ester bezüglich des Fragmentions 161, das in allen Massenspektren dominant vertreten ist. Dabei wird deutlich, daß auf dieser Ionenspur die Signalausbeuten für alle Derivate in der gleichen Größenordnung liegen, nur die Umsetzung zum sekundären F₆Pr-Ester war deutlich geringer ausgefallen. Die unfluorierten *n*-alkylierten Ester zeigen erwartungsgemäß mit zunehmender Kettenlänge und Molmasse eine proportionale Zunahme in der Retentionszeit. Sehr anschaulich wird in dem Chromatogramm der Effekt deutlich, daß die Anwesenheit von Fluoratomen trotz der damit verbundenen zusätzlichen Polarität und Molmasse der Analyten zu einer signifikant verminderten Retention führt. Alle fluorierten Derivate, bis hin zum Heptafluorbutylester, der eine im Vergleich zum Methylester 75 % größere Molmasse besitzt, eluieren vor allen nichtfluorierten Analyten. Deutlich wird auch die Auswirkung einer Verzweigung in den Alkylketten der Estergruppen, die in allen drei Fällen zu einer Erniedrigung der Retentionszeiten im

Vergleich zu den unverzweigten Isomeren führte. Im Fall des sekundären Butylesters wird bei Ibuprofen als chiraalem Analyten der besondere Effekt der Diastereomerenbildung durch eine Signalaufspaltung angezeigt. Die hier am Beispiel der Ibuprofen-derivate angeführten grundlegenden chromatographischen Eigenschaften der verschiedenen Alkylester können generell auf andere analog veresterte Carbonsäureanalyten übertragen werden.

Neben den chromatographischen Aspekten waren im Rahmen dieser Arbeit im Zusammenhang mit der spurenanalytischen Detektion von Umweltkontaminanten vor allem die massenspektrometrischen Eigenschaften der Analyten von Bedeutung. Dabei veränderte die Einführung verschiedener Estergruppen die Massenspektren der untersuchten Substanzen in sehr unterschiedlichem Maße. Generell aber können einige Tendenzen aufgezeigt werden. So unterscheiden sich die Spektren der nichtfluorierten Derivate in den meisten Fällen nur wenig, außer es handelt sich um Analyten, bei denen das Molekülion verhältnismäßig intensiv auftritt, so daß hier der entsprechende Massezuwachs detektiert wird. Im Vergleich zu den Methyl- oder Ethylestern werden häufig bei zunehmender Kettenlänge oder dem Auftreten von Verzweigungen der Esterfunktionen die entsprechenden Gesamtmolekülionen schwächer oder gar nicht gefunden. Erwartungsgemäß zeigen die fluorierten Derivate deutliche Veränderungen in ihren Massenspektren gegenüber den nichtfluorierten Verbindungen. Dabei tritt neben veränderten Fragmentierungsmustern oft eine stärkere Detektion des jeweiligen Molekülions auf. In Abbildung 47 sind nachfolgend die Massenspektren einiger ausgewählter Ibuprofenderivate aufgeführt, die diese Effekte repräsentieren.

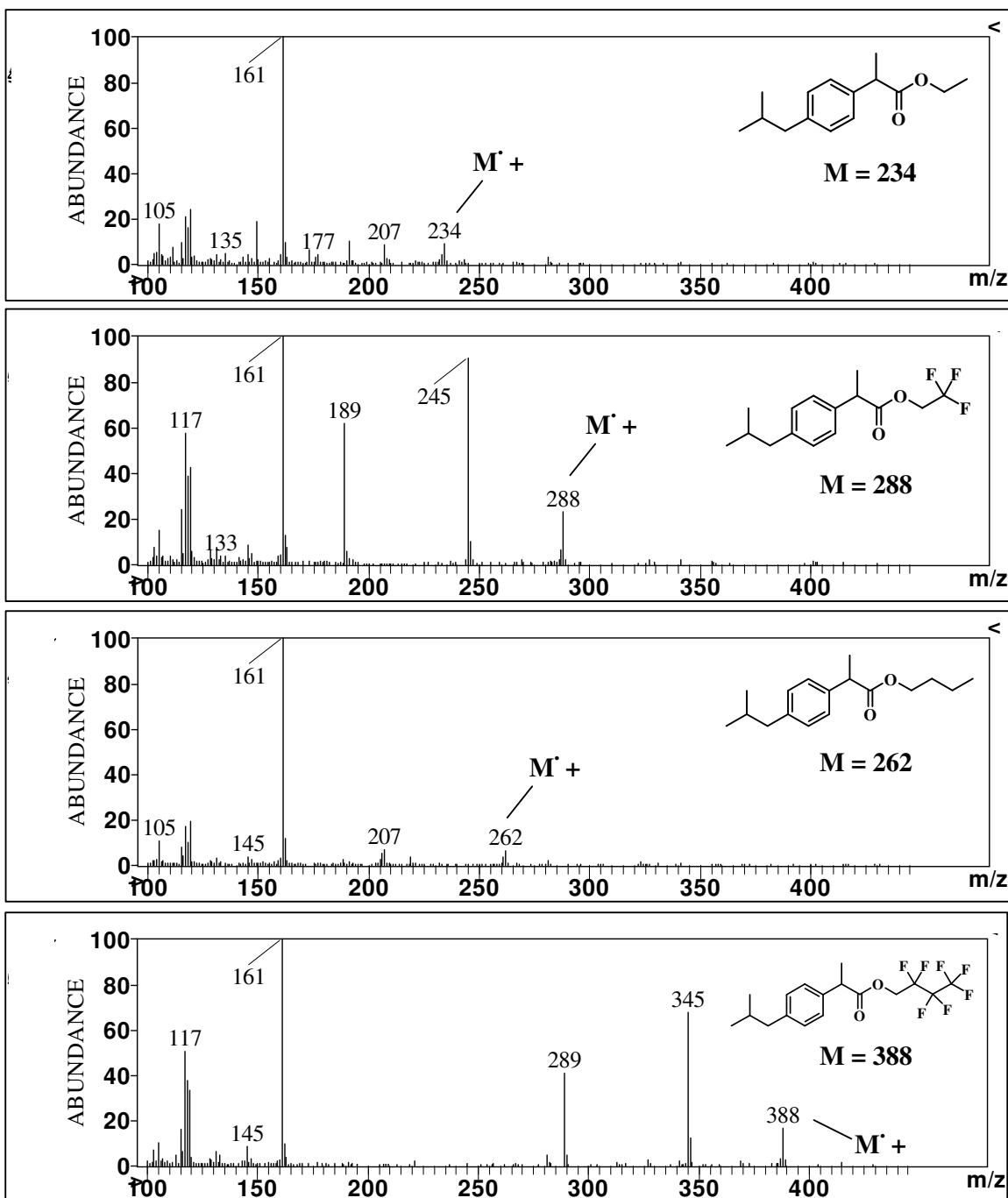


Abb. 47: Massenspektren ausgewählter Ibuprofenester aus Abbildung 46

Die hier ausgewählten Umsetzungen stellen natürlich nur einen sehr begrenzten Ausschnitt der möglichen Anwendungen der heterogenen Derivatisierung dar. Aufgrund der erzielten Ergebnisse läßt sich abschätzen, daß auch eine Vielzahl weiterer Carbonsäurederivate auf diese Weise dargestellt werden kann. So ist die Verwendung weiterer funktionalisierter Alkohole naheliegend, durch die dann beispielsweise für die Verwendung entsprechender Detektionssysteme auch andere Halogene als Fluor oder stickstoffhaltige Funktionen etc. an die Analyten geknüpft

werden können. Ebenso ist die Umsetzung mit Aminen zu den entsprechenden Amidderivaten denkbar, die dann allerdings schlechtere gaschromatographische Eigenschaften als die mit Alkoholen erzeugten Ester aufweisen sollten.

3.2.3.4 Untersuchung der Ursachen für die ausbleibende Veresterung von *o,o'*-disubstituierten Benzoesäuren bei Umsetzungen mit Alkylchlor-methanoaten

Nach der im vorangehenden Abschnitt vorgestellten Optimierung der heterogenen Derivatisierungen mit ECF und MCF wurden die 2,6-dichlorierten Benzoesäuren, die in homogenen Derivatisierungen nicht verestert wurden, ebenfalls in heterogenen Umsetzungen gemäß SOP 5 eingesetzt. Allerdings konnten auch hier keine Reaktionsprodukte mittels GC/MS Analyse detektiert werden. Da Umsetzungen von Benzoesäurederivaten mit Alkylchlormethanoaten in der Literatur nur wenig beschrieben sind, konnten in diesem Zusammenhang praktisch keine weiteren Erkenntnisse aus den bis hier angeführten Publikationen gewonnen werden. Eine Ausnahme ist die bereits erwähnte und zu unseren Ergebnissen analoge Beobachtung von *Henriksen et al.*^[232], daß sich 3,6-Dichlor-2-methoxybenzoesäure (*Dicamba*) nicht mit *n*-Butyl- und *n*-Hexylchlormethanoat umsetzen ließ. Zur Klärung der widersprüchlichen Ergebnisse, daß *o,o'*-disubstituierte Benzoesäuren im Gegensatz zu *o,o'*-disubstituierten Phenolen bei Umsetzungem mit Alkylchlormethanoaten keine Derivate liefern, wurde zunächst untersucht, ob bei den Phenolen sterische Effekte bei der Derivatisierung mit MCF überhaupt eine Rolle spielen. Dazu wurden gleiche Mengen 2,4- und 2,6-Dibromphenol (2,4- und 2,6-DBPOH) in parallelen Umsätzen entsprechend SOP 4B methoxycarboxyliert. Abbildung 48 zeigt die resultierenden Chromatogramme und die Bestimmung der Derivatpeakflächen in bezug auf den internen Standard AD10:

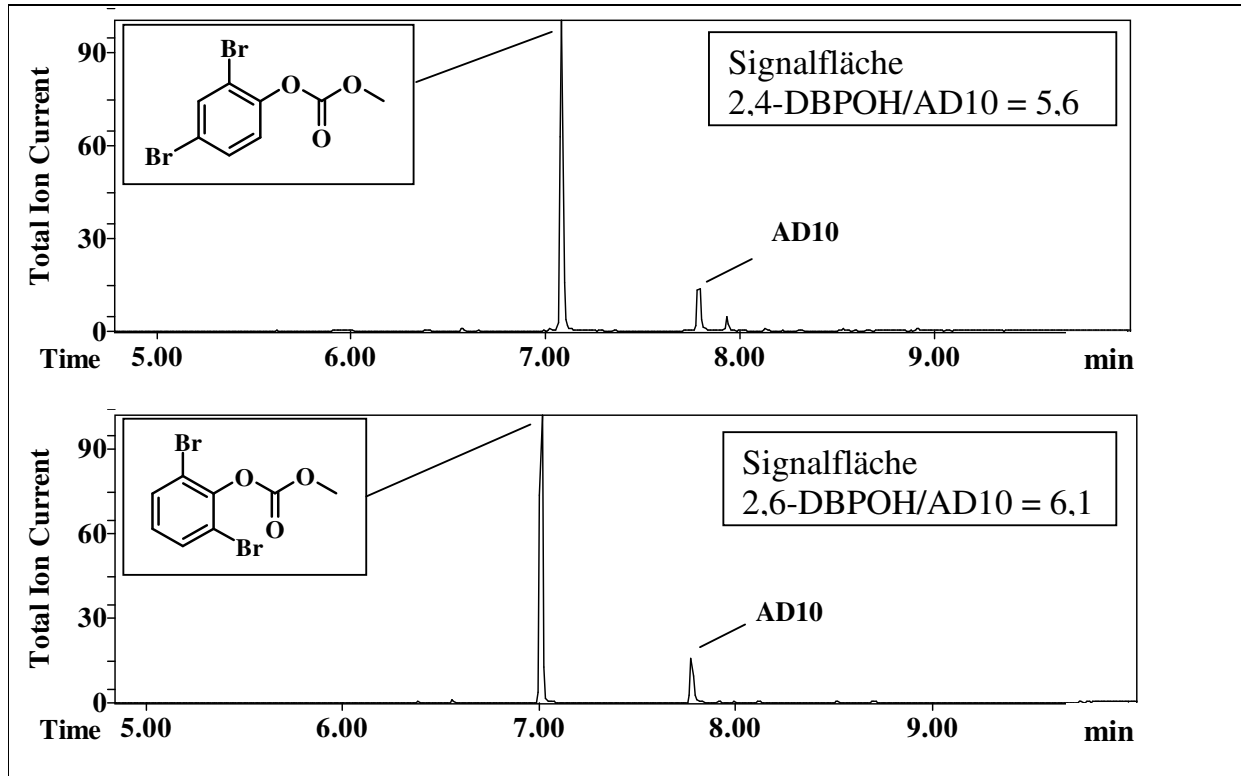


Abb. 48: GC/MS Chromatogramme (Full-Scan, TIC) der Umsetzungen von je 500 ng 2,4- und 2,6-Dibromphenol mit MCF gemäß SOP 4B
 (Säule: 15 m VB-1701, 2 min 333 K, → 543 K: 25 K/min, 4,6 min 543 K)

Aus Abbildung 48 läßt sich hinsichtlich der Umsetzung des 2,6-Dibromisomers mit MCF keinerlei sterischer Einfluß auf die Methoxycarbonylierung durch die *o,o'*-Disubstitution erkennen. Tatsächlich wurde 2,6-DBPOH sogar geringfügig stärker detektiert als das 2,4-Isomer, wobei dieser Unterschied allerdings innerhalb der üblichen Schwankungsbreite der Messung unterschiedlich halogener Isomere nach einer Derivatisierung liegt.

Um die Ursachen für die ausbleibende Methylesterbildung bei *o,o'*-dichlorierten Benzoesäuren weiter zu untersuchen, wurden in parallelen Ansätzen Pentafluorbenzoesäure (PFBA) und 2,6-Dimethoxybenzoesäure (2,6-DMeOBA) gemäß SOP 4B und 4C mit MCF sowie mit ECF umgesetzt. Die beiden Benzoesäure- Edukte repräsentieren acide Analyten, die bei ähnlichem sterischen Anspruch der *o,o'*-Substituenten sehr unterschiedliche Elektronendichten an der Carboxylgruppe aufweisen. Pentafluorbenzoesäure besitzt eine elektronenarme Carboxylfunktion, während 2,6-Dimethoxybenzoesäure durch die wesentlich geringere Elektronegativität der Methoxygruppen im Vergleich dazu eine deutlich höhere Elektronendichte an seiner Säuregruppe aufweist. In keinem dieser Versuche konnten die entsprechenden Methyl- oder Ethylester oder eine andere GC - gängige Verbindung detektiert werden. Aus den wäßrigen Phasen der Ansätze, die normalerweise verworfen wurden, ließen sich aber die Edukte nach dem Ansäuern mit Diethylether ausschütteln und in der organischen Phase mittels GC/MS oder Dünnschicht-

chromatographie nachweisen, wenn die Analyten in ausreichend hoher Konzentration eingesetzt worden waren.

Weiterhin wurden 2,6- und 2,4-Dichlorbenzoesäure in klassischer Weise mit Methanol säurekatalysiert umgesetzt^[211b]. Auch hierbei wurde ausschließlich das 2,4-Isomer methyliert, während 2,6-DCBA unverändert blieb. Erst durch die Verwendung von TMSH (0,25 m in MeOH) konnte mittels einer Derivatisierung im 543 K (270 °C) heißen GC-Injektor auch der 2,6-Dichlorbenzoesäuremethylester erzeugt werden. Interessant hinsichtlich der Alkylierung von 2,6-disubstituierten Benzoesäuren sind auch zwei Publikationen von *Shieh et al.*^[244,245], die eine durch 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) katalysierte Methylierung von Carbonsäuren mit Dimethylcarbonat beschreibt, die der Reaktion mit Alkylchlormethanoaten formal ähnlich ist. Ihm gelang bei Umsetzungen im Mikrowellenautoklaven bei 433 K (160 °C) bzw. durch Sieden unter Rückfluß bei 363 K (90 °C) unter anderem die Veresterung von 2,6-DCBA und 2,6-Dimethoxybenzoesäure in präparativem Maßstab und mit hervorragenden Ausbeuten. Eine Übersicht der in diesem Zusammenhang durchgeführten und zitierten Reaktionen ist in Abbildung 49 aufgeführt:

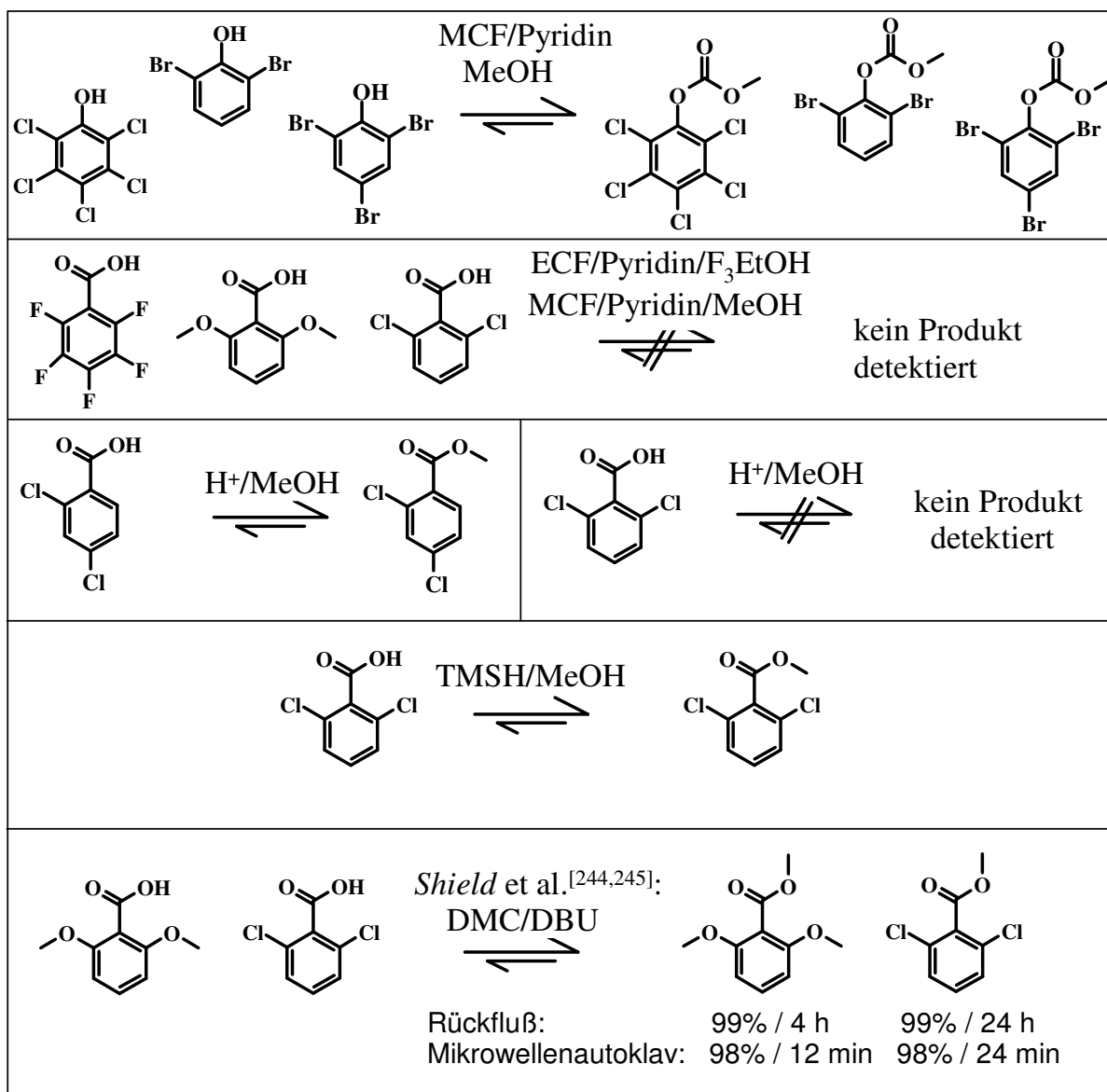


Abb. 49: Schematische Übersicht des Verhaltens ausgewählter *o,o'*-disubstituierter acider Analyten in Reaktionen mit MCF, H⁺/MeOH, TMSH/MeOH und DMC/DBU (DMC: Dimethylcarbonat)

Die hier vorgestellten Ergebnisse belegen, daß offensichtlich eher sterische als elektronische Effekte dafür verantwortlich sind, daß die *o,o'*-disubstituierten Säuren durch MCF bzw. ECF nicht alkyliert werden. Zieht man die Ergebnisse aus den Umsetzungen mit H⁺/MeOH und TMSH/MeOH hinzu, so läßt sich aus den zunächst gegensätzlichen Resultaten beider Reaktionen der gleiche Schluß ziehen, daß nämlich eine sterische Hinderung durch die *o,o'*-Disubstitution nur dann gegeben ist, wenn die Reaktion am ringnahen Carbonylkohlenstoff stattfindet, nicht aber, wenn der ringfernere Carboxylatsauerstoff reagiert. Zur Verdeutlichung sind in Abbildung 50 beide Reaktionsmechanismen aufgezeigt. Während bei der säurekatalysierten Methylierung der nucleophile Alkohol den sterisch abgeschirmten Carbonylkohlen-

stoff angreifen muß (**D**), wird bei der Umsetzung mit TMSH eine Methylgruppe direkt auf einen weniger abgeschirmten Carboxylatsauerstoff übertragen^[246] (**E**).

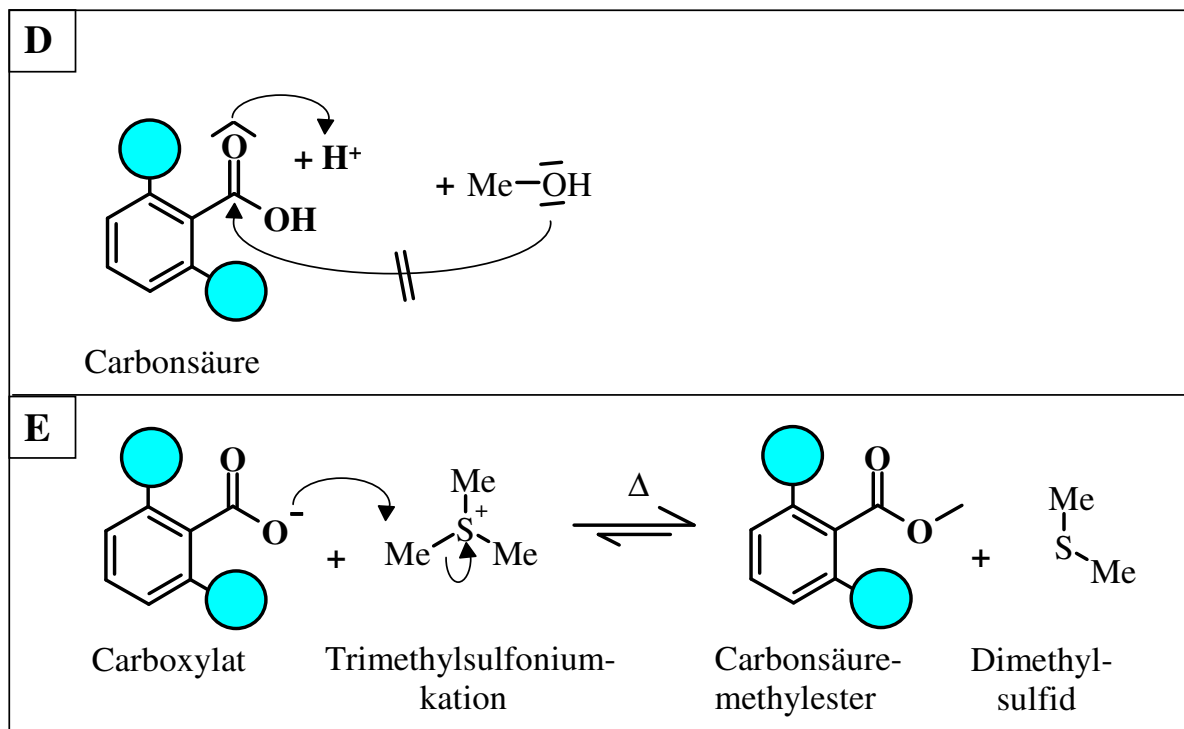


Abb. 50: Vereinfachte Darstellung der unterschiedlichen sterischen Hinderung bei der Umsetzung *o,o'*-disubstituierter Benzoesäuren mit H⁺/Methanol (in Anlehnung an *Organikum*^[211b]) oder TMSH (in Anlehnung an *Färber et al.*^[246])

Überträgt man diese Betrachtung auf die Umsetzung mit Alkylchlormethanoaten, so wird deutlich, daß in dem ersten Reaktionsschritt, der in dem Angriff des nucleophilen Analyten auf den Carbonylkohlenstoff des Reagenz besteht, eine sterische Hinderung keine Rolle spielen sollte. Hierfür spricht auch die schnelle und vollständige Umsetzung der *o,o'*-disubstituierten Phenole zu den methoxycarbonylierten Derivaten. Erst der nachfolgende Angriff des voluminösen Pyridins auf den benzylicischen Carboxylkohlenstoff des gemischten Anhydrids ist bei *o,o'*-disubstituierten Analyten sterisch eindeutig erschwert (siehe Abb. 51).

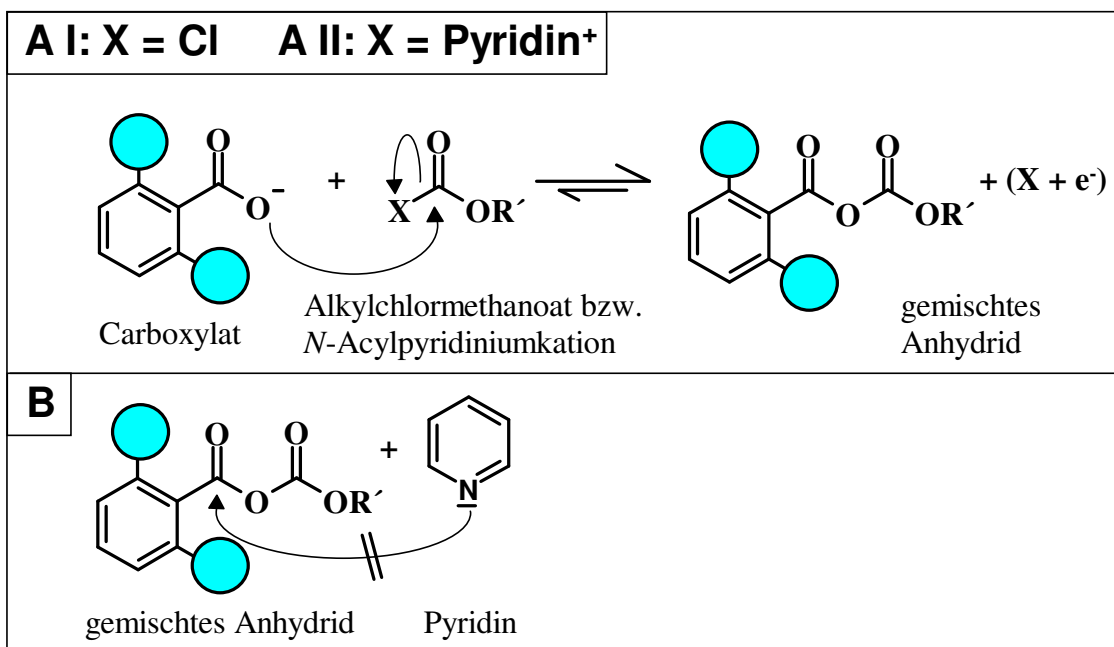


Abb. 51: Aspekte der sterischen Hinderung bei der Reaktion *o,o'*-disubstituierter Benzoesäuren mit Alkylchloromethanoaten und Pyridin

Um die Hypothese zu prüfen, daß die Bildung der gemischten Anhydride prinzipiell auch bei den *o,o'*-disubstituierten Verbindungen möglich sein muß, wurden alle in Abbildung 49 aufgeführten *o,o'*-disubstituierten Benzoesäuren entsprechend einer geringfügig modifizierten Arbeitsvorschrift von *Husek et al.*^[212,247] mit MCF bzw. ECF und Pyridin in einem unpolaren Lösungsmittelgemisch umgesetzt, wie es in SOP 6 formuliert ist.

SOP 6: Lösungen von Referenzsubstanzen werden in einem vial von 1,5 mL Innenvolumen mittels eines Stickstoffstroms gerade zur Trockene eingengt und der Rückstand nachfolgend mit 500 µL *n*-Hexan/Trichlormethan 4:1 (v,v) sowie 10 µL Pyridin versetzt. Nach der Zugabe von 15 µL MCF oder ECF in die Lösung hinein wird das Reaktionsgefäß verschlossen und für einige Sekunden geschüttelt. Anschließend wird der Ansatz mit einer Lösung des Volumenstandards AD10 in *n*-Hexan versetzt und dreifach mit 500 µL Wasser ausgeschüttelt. Die wäßrigen Phasen werden jeweils verworfen, während die organische Phase über einer Spatelspitze wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet wird. Dieser Trocknungsschritt wird so oft wiederholt, bis das Trockenmittel in der Lösung seine feinkörnige Konsistenz behält. Für die nachfolgende GC/MS Messung niedriger Analytmengen (etwa < 50 ng) wird die Lösung zuvor im Stickstoffstrom auf ein Volumen von ca. 100 µL reduziert, während bei größeren Analytmengen (etwa > 500 ng) proportional verdünnt wird.

MCF: Methylchloromethanoat, ECF: Ethylchloromethanoat, AD10: Anthracen-D₁₀

Tatsächlich wurden nach einer gaschromatographisch/massenspektrometrischen Analyse der Ansätze die entsprechenden gemischten Anhydride als Hauptprodukte identifiziert. Abbildung 52 zeigt eine schematische Übersicht der Reaktionen.

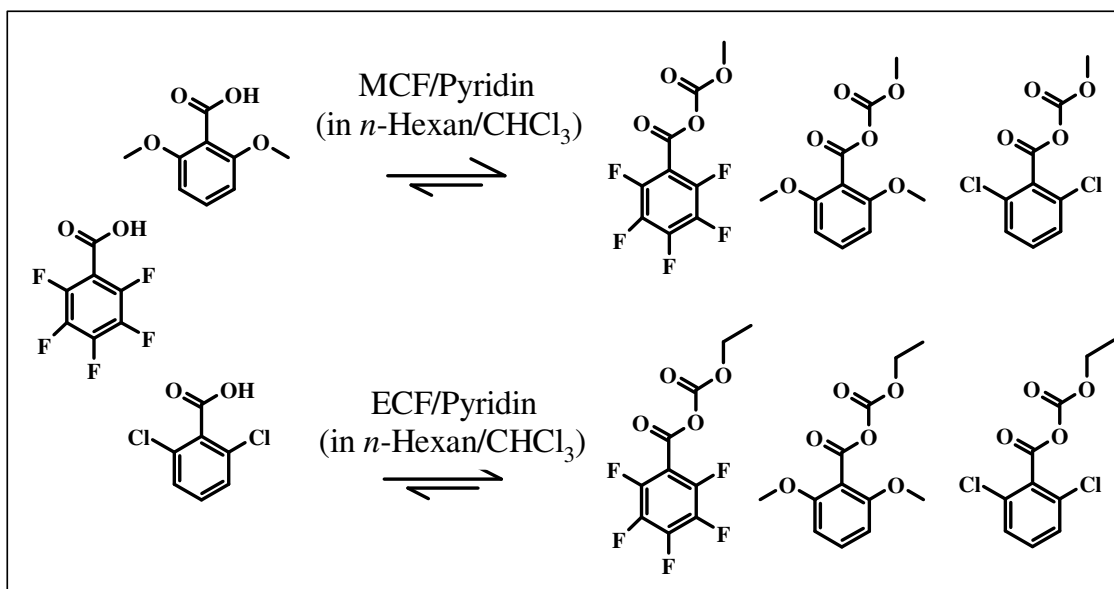


Abb. 52: Übersicht der Umsetzung *o,o'*-disubstituierter Benzoesäuren mit Alkylchloromethanoaten und Pyridin in unpolaren Lösungsmitteln

Da es sich bei diesen alkoxy-carbonylierten Derivaten um relativ ungewöhnliche Verbindungen handelt, sind in den nachfolgenden Abbildungen 53a und 53b die entsprechenden Massenspektren aufgeführt:

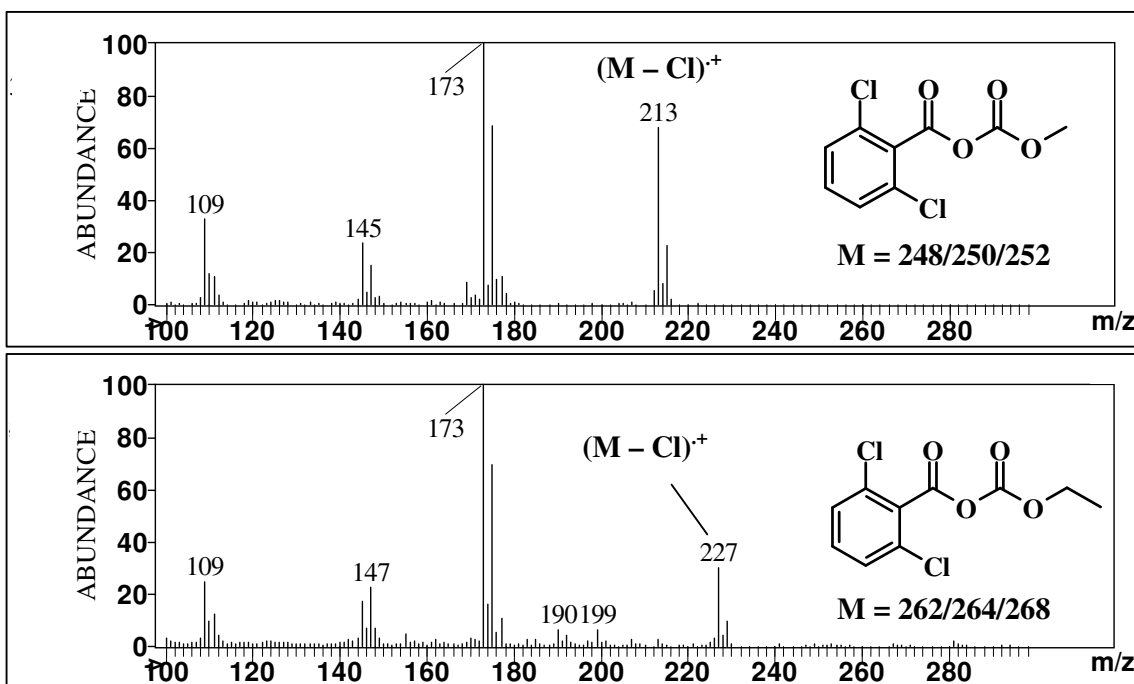


Abb. 53a: Massenspektren und Strukturformeln der alkoxy-carbonylierten Derivate von 2,6-DCBA

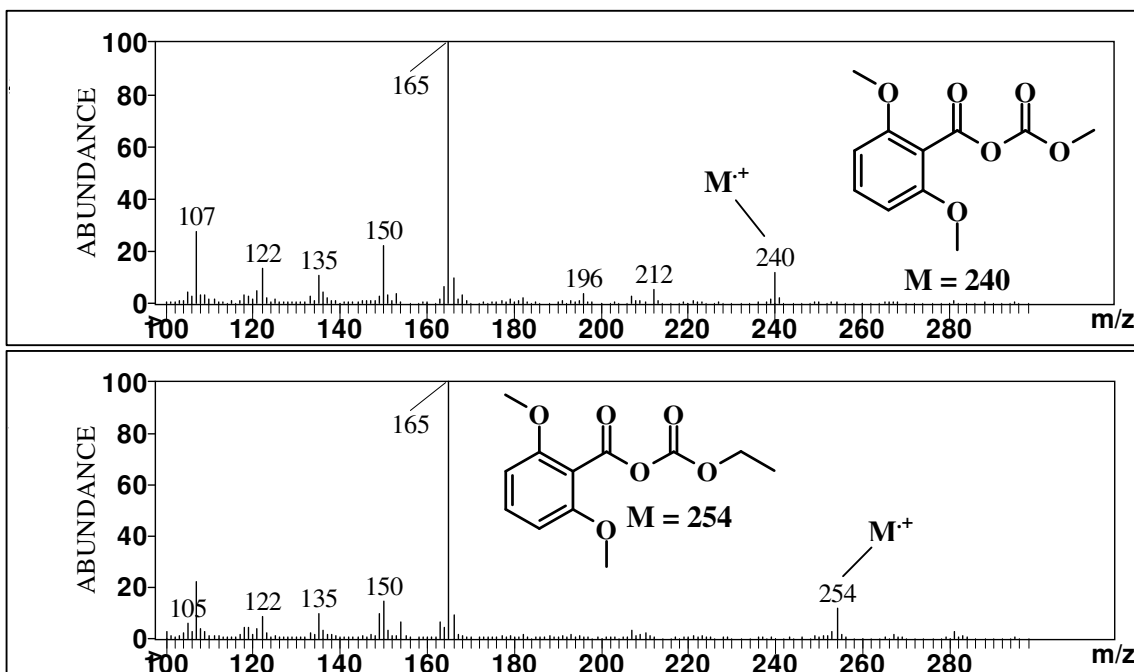


Abb. 53b: Massenspektren und Strukturformeln der alkoxy-carbonylierten Derivate von 2,6-DMeOBA

Während die Identifizierung der methoxy- und ethoxycarbonylierten Derivate von 2,6-DCBA und 2,6-DMeOBA durch die Zuordnung entsprechend charakteristischer Molekül- oder Fragmentionen erfolgte, war die Auswertung der in den Abbildungen 54a und 54b aufgeführten Massenspektren der PFBA-Anhydride nicht eindeutig, so daß die Strukturzuordnungen indirekt getroffen wurden und als nicht endgültig abgesicherte Vorschläge zu verstehen sind.

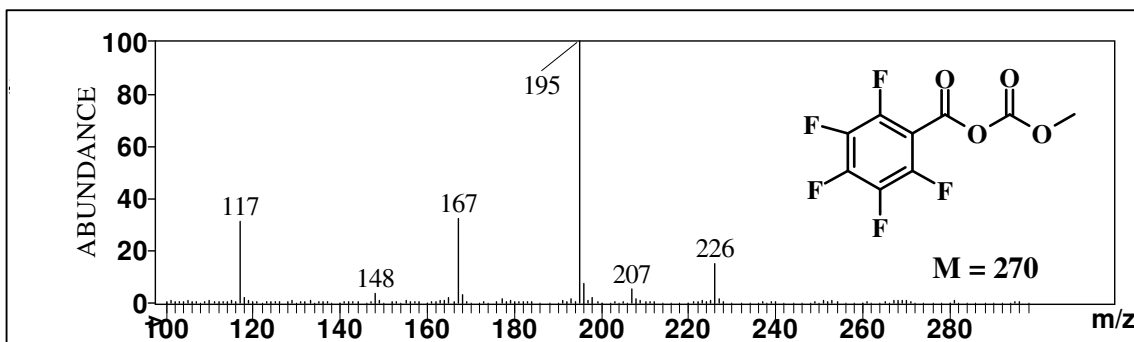


Abb. 54a: Strukturformel und Massenspektrum der mutmaßlich methoxycarbonylierten Pentafluorbenzoesäure

Das Massenspektrum des Derivates aus der methoxycarbonylierenden Umsetzung von PFBA ist praktisch identisch mit einem Literaturreferenzspektrum von Pentafluorbenzoesäuremethylester, so daß im Massenspektrometer vermutlich eine quantitative Decarboxylierung des gemischten Anhydrids stattgefunden hat. Diese Reaktion wäre dann analog zu der in Abschnitt 3.2.3.3 aufgeführten CO₂-Abspaltung aus Methylcarbonaten verlaufen (Abb. 43).

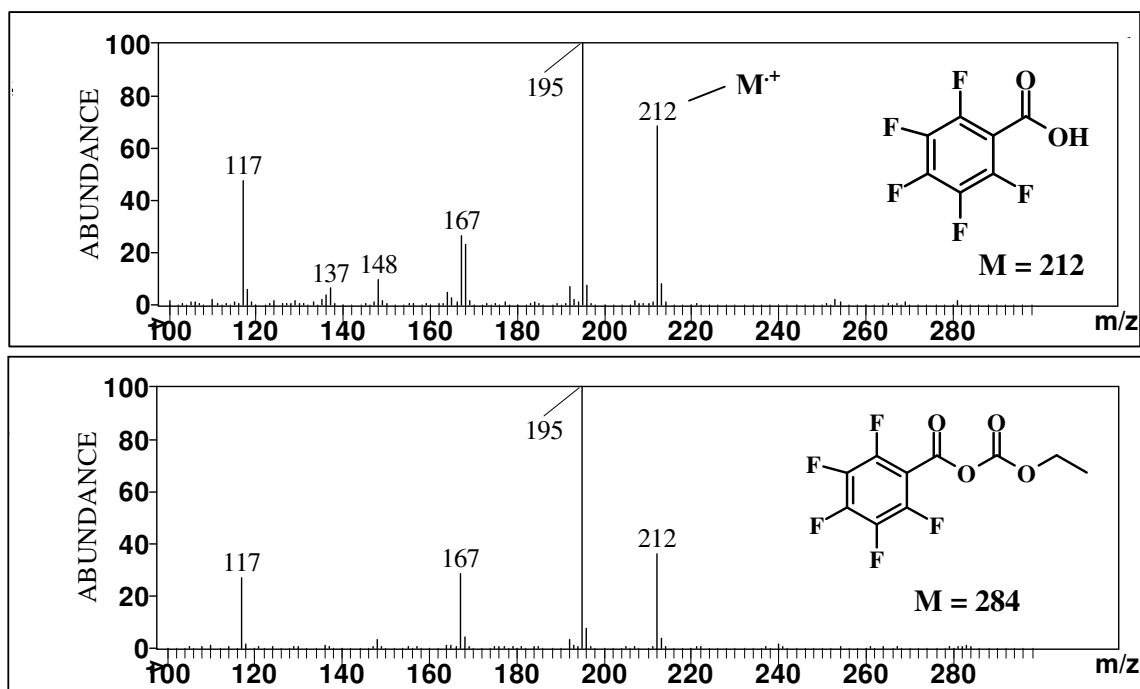


Abb. 54b: Strukturformeln und Massenspektren von Pentafluorbenzoesäure und ihres mutmaßlich ethoxycarbonylierten Derivates

Auch dem Massenspektrum des Derivates, das aus den durchgeführten Ethoxycarbonylierungsreaktionen hervorging, fehlt das erwartete Molekülionensignal. Zudem liegt eine verblüffende Ähnlichkeit mit dem Referenzspektrum der Mutterverbindung, der freien Pentafluorbenzoesäure, vor. Aber auch dieser Effekt läßt sich gut durch den Vergleich mit dem massenspektrometrischen Verhalten der ethoxycarbonylierten Phenole verstehen, denn auch bei dem ethylierten Anhydrid kann die Umlagerung eines γ -ständigen Wasserstoffes, wie sie in Abbildung 45 vorgeschlagen ist, stattfinden, nur daß aufgrund der gegenüber dem Carbonat um eine zusätzliche Carbonylgruppe erweiterten Struktur des Anhydrids in diesem Falle ein Carbonsäureradikalkation gebildet wird. Daß tatsächlich die vermuteten Alkoxycarbonylderivate vorgelegen haben, wurde zudem durch die hohen Retentionszeiten beider Reaktionsprodukte bestätigt, die über der der freien Säure lagen, wie es analog auch bei 2,6-DCBA und 2,6-DMeOBA beobachtet wurde. Die entsprechenden Methylester hingegen haben eine deutlich höhere Flüchtigkeit und eluieren bei Verwendung der in Rahmen dieser Arbeit eingesetzten universellen Kapillarsäulen des Typs DB-5MS/HP-5MS und VB1701 üblicherweise deutlich vor den underivatisierten Benzoesäuren und ihren alkoxy-carbonylierten Derivaten, wie es in den Abbildungen 55 und 56 an den Beispielen der 2,6-DCBA- und PFBA-derivate gezeigt ist.

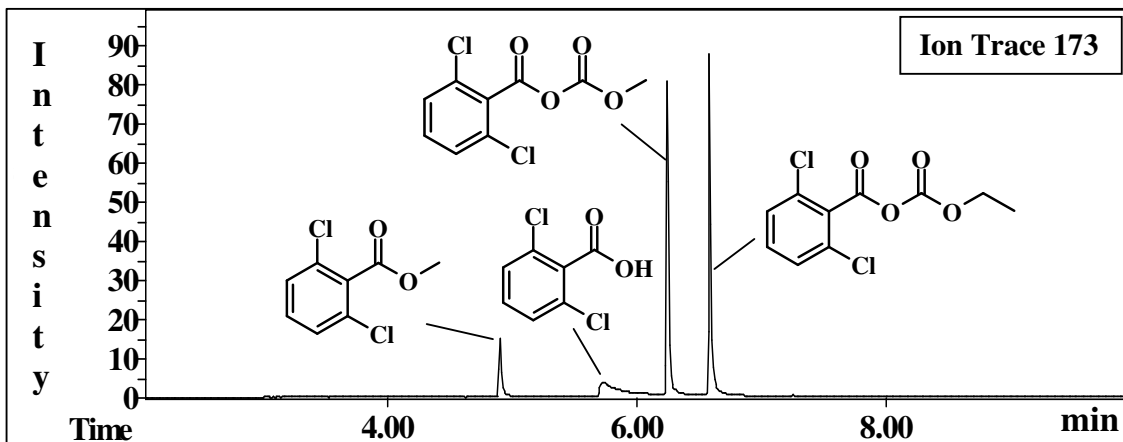


Abb. 55: GC/MS Chromatogramm (Full-Scan, Ionenspur 173) einer Mischung von zwei 2,6-DCBA-Alkoxylierungsextrakten, der freien Säure sowie 2 μ L TMSH (0,25 m in MeOH)
 (Säule: 15 m HP-5MS, 2 min 333 K, \rightarrow 543 K: 25 K/min, 4,6 min 543 K)

Das Chromatogramm aus Abbildung 55 resultiert aus einer Mischung (1:1 / v,v) der organischen Phasen der Methoxy- und Ethoxyalkylierung von je 500 ng 2,6-DCBA gemäß SOP 6. Um ebenfalls die Signale der freien Säure und des Methylesters aufzeichnen zu können, wurden der Mischung 1 μ g freie 2,6-DCBA und 2 μ L TMSH (0,25 m in MeOH) zugegeben. Das Reagenz setzte durch die Injektion der Probe in den 270 °C heißen Injektor einen Teil der freien Säure zum Methylester um.

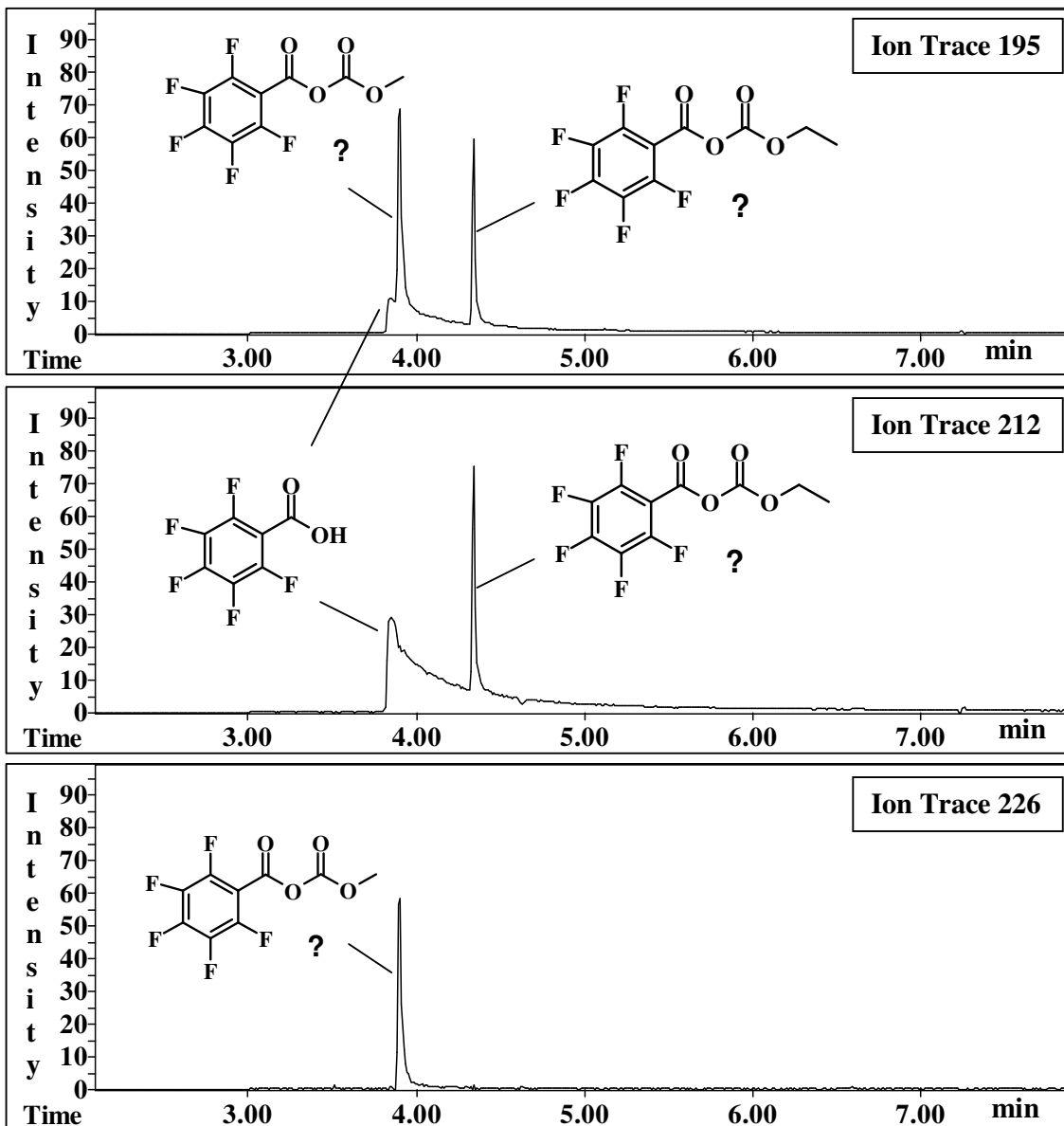


Abb. 56: GC/MS Chromatogramme (Full-Scan, Ionenspuren 195, 212, 226) einer Mischung zweier Alkoxylierungsextrakte von Pentafluorbenzoesäure sowie der unterivatisierten Mutterverbindung

(Säule: 15 m HP-5MS, 2 min 333 K, → 543 K: 25 K/min, 4,6 min 543 K)

Die Chromatogramme aus Abbildung 56 resultieren aus einer Mischung (1:1 / v,v) der organischen Phasen der Methoxy- und Ethoxyalkylierung von je 500 ng PFBA gemäß SOP 6. Dieser Mischung wurden 5 µg der freien Säure zugegeben, um ebenfalls das zugehörige Signal detektieren zu können. Auf die Zugabe von TMSH wurde hier verzichtet, weil Vorversuche gezeigt hatten, daß bei derartigen Umsetzungen mit PFBA kein Methylierungsprodukt detektiert werden konnte.

Die Identifizierung der primären Reaktionsprodukte aus Umsetzungen von sterisch anspruchsvollen *o,o'*-disubstituierten Benzoesäuren mit MCF und ECF bestätigt einerseits die Annahme, daß sterische Einflüsse erst zu einem späteren Zeitpunkt der Reaktion, also nach Entstehung der gemischten Anhydride, die Esterbildung verhindern. Andererseits bleibt die Frage offen, warum anstelle dieser Verbindungen nur die Edukte detektiert wurden, wenn die gleichen Referenzverbindungen entsprechend der SOPs 4B und 4C mit Alkylchlormethanoaten in Anwesenheit von Alkohol und Pyridin umgesetzt worden waren. Ein Erklärungsansatz ist, wie in Abbildung 57 veranschaulicht, daß das Pyridin mit den primär gebildeten gemischten Anhydriden weiterreagiert:

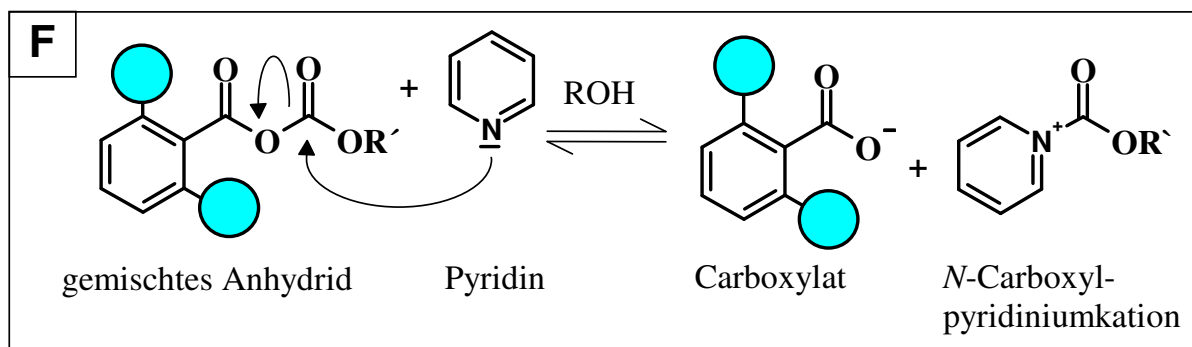


Abb. 57: Modell der Reaktion sterisch gehinderter gemischter Anhydride mit Pyridin

Um diesen Ansatz zu überprüfen, wurden die zuvor untersuchten *o,o'*-disubstituierten Benzoesäuren in Anwesenheit der korrespondierenden Alkohole mit MCF und ECF analog zu SOP 4B und 4C umgesetzt, allerdings unter Verwendung von Triethylamin anstelle von Pyridin. Tatsächlich konnten daraufhin die gemischten Anhydride der drei untersuchten Verbindungen detektiert werden, was belegt, daß die Anwesenheit des Pyridins dafür verantwortlich war, daß in den Derivatisierungen, die entsprechend SOP 4A,B,C und 5 durchgeführt worden waren, keine *o,o'*-disubstituierten Derivate detektiert werden konnten. Abbildung 58 zeigt schematisch die allgemeinen Ergebnisse dieser Versuche und in Abbildung 59 ist ein Beispielchromatogramm aufgeführt, das aus der Umsetzung von 2,6-DCBA und 2,3,6-TCBA mit MCF/MeOH/Et₃N resultiert.

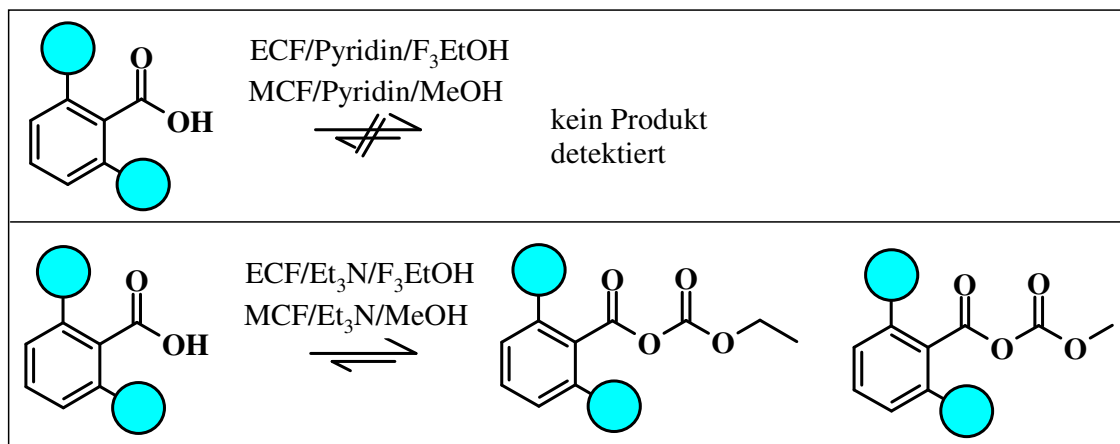


Abb. 58: Vergleichende Übersicht der Wirkung von Pyridin und Triethylamin auf die Produktbildung bei Umsetzungen *o,o'*-disubstituierter Benzoesäuren mit Alkylchloromethanoaten

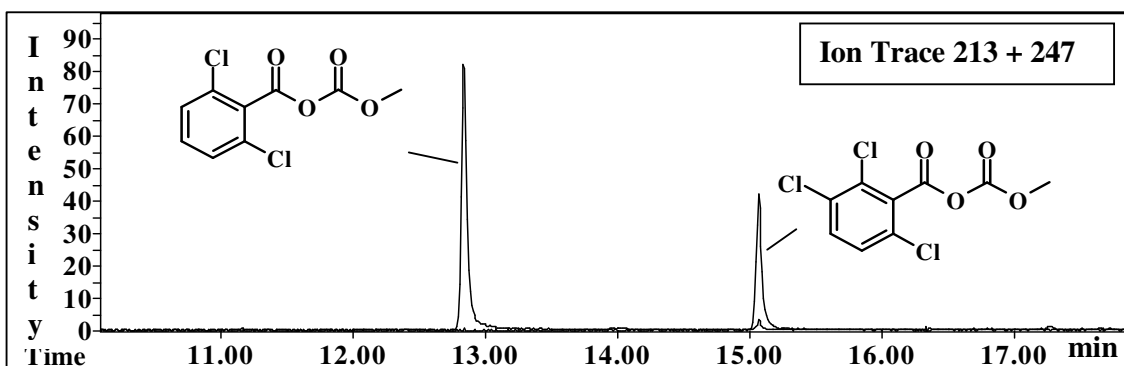


Abb. 59: GC/MS Chromatogramm (Full-Scan, Ionenspur 213 + 247) der Umsetzung von je 500 ng 2,6-DCBA und 2,3,6-TCBA mit MCF/MeOH/Et₃N
 (Säule: 15 m HP-5MS, 2 min 333 K, → 543 K: 7 K/min, 8 min 543 K)

Durch den Beweis der Bildung gemischter Anhydride von sterisch anspruchsvollen *o,o'*-disubstituierten Benzoesäuren lassen sich die bis hier festgestellten Beobachtungen widerspruchlos erklären. Legt man einen Reaktionsmechanismus zugrunde, wie er in Abbildung 34 aufgeführt ist, so reagieren auch die *o,o'*-disubstituierten Säuren zunächst gemäß Schritt **AI** oder **AII** mit Chlormethanoat in Anwesenheit von Pyridin zu den gemischten Anhydriden. Wahrscheinlich findet dann die Aktivierung des gemischten Anhydrids in Schritt **B** durch den Angriff des voluminösen Pyridins an den sterisch abgeschirmten Carboxylkohlenstoff nicht statt. Die Rückbildung der Carbonsäure, die in den entsprechenden Ansätzen nachgewiesen wurden, ließe sich durch einen analogen Angriff an den Carboxylkohlenstoff der Carbonatgruppe (**F**) erklären, wie es in Abbildung 57 modellhaft dargestellt ist.

3.2.4 Zusammenfassung:

In Abschnitt 3.2 wird die Untersuchung und Optimierung von Derivatisierungsreaktionen mit Alkylchlormethanoaten für die Umsetzung saurer Analyten in zwei grundsätzlichen Verfahren beschrieben. Dies sind einerseits *homogene Derivatisierungen*, in denen saure Analyten mit Alkylchlormethanoat und einem zum Reagenz korrespondierenden Alkohol umgesetzt werden, und andererseits *heterogene Derivatisierungen*, bei denen ein zum Reagenz nicht korrespondierender Alkohol eingesetzt wird. In diesem Zusammenhang wurden mehrere Arbeitsvorschriften entwickelt, mittels derer eine große Bandbreite unterschiedlicher Carbonsäuren und Phenole in einem Schritt und unter minimalen Zeitaufwand zu Derivaten umgesetzt werden können, die im Gegensatz zu den Edukten hervorragende gaschromatographische Eigenschaften aufweisen. Durch die Etablierung einer extraktiven Aufarbeitung der Reaktionsansätze konnte ein effektives Reaktions-clean-up erreicht werden, so daß störende Reaktionsnebenprodukte die Messungen nicht beeinträchtigen und die Analyten sehr empfindlich detektiert werden können. Die heterogene Derivatisierung konnte erfolgreich optimiert werden, so daß einerseits die Bildung unerwünschter, zum Reagenz korrespondierender Nebenprodukte gänzlich oder weitgehend unterdrückt wird, und andererseits unter Verwendung alltäglicher Reagenzien eine Vielzahl verschiedener Carbonsäurederivate schnell und einfach generiert werden kann. Eine vergleichende Auswertung des analytischen Verhaltens mehrerer Ibuprofenester belegte die besonderen Eigenschaften der fluorierten Derivate. Anhand der Umsetzung von Salicylsäure als repräsentativen Analyten für carboxylische und phenolischer Verbindungen wurde ein Beispiel für eine besondere Anwendung der heterogenen Derivatisierung gezeigt. Die dabei generierten deuterierten Produkte ermöglichten, die Aufklärung charakteristischer massenspektrometrischer Fragmentierungen der wichtigsten Derivatfunktionen, die bei den Umsetzungen saurer Analyten mit Alkylchlormethanoaten entstehen. Aufgrund dieser Ergebnisse ließen sich dann im weiteren Verlauf der Untersuchungen auch ungewöhnliche Massenspektren von Pentafluorbenzoesäurederivaten schlüssig aufklären.

Eingehend wurden ebenfalls die Einschränkungen der entwickelten Methoden untersucht. Dabei zeigte sich bei den homogenen Derivatisierungen, daß bei der Alkylierung sehr polarer Analyten ggf. die Polarität des zur Extraktion des Reaktionsansatzes verwendeten Lösungsmittels erhöht werden muß, um die Derivate ausreichend aus einer wäßrigen in die organische Phase zu überführen. Bei den heterogenen Derivatisierungen konnten keine Derivate detektiert werden, wenn 2-Methyl-2-propanol (*tert. Butanol*) als nicht korrespondierender Alkohol eingesetzt wurde. Schwache Ausbeuten traten mit 1,1,1,3,3,3-Hexafluor-2-propanol (*Hexafluor-isopropanol*) auf. Als generelles Charakteristikum der Derivatisierung mit Alkylchlormethanoaten wurde festgestellt, daß *o,o'*-disubstituierte Benzoessäuren im Gegensatz zu anderen Benzoessäuren und allen weiteren untersuchten Carbonsäuren nicht zu den entsprechenden Alkylestern reagieren. Im Rahmen der Ursachenforschung für diese Beobachtung wurde gezeigt, daß auch *o,o'*-disubstituierte

Benzoensäuren zunächst zu gemischten Anhydriden reagieren und daß das für die Veresterung sterisch nicht gehinderter Carboxylfunktionen nötige Pyridin gleichzeitig die Ursache für das beobachtete Ausbleiben der Esterbildung ist. In diesem Zusammenhang wird ein Reaktionsmechanismus vorgeschlagen.

4 Probenahme & Analytanreicherung

Die grundlegenden Arbeitsschritte bei der spurenanalytischen Bestimmung organischer Verbindungen von wäßrigen Umweltproben sind üblicherweise Probenahme und –konditionierung sowie die Anreicherung der Analyten. Die Probenahme ist kontaminationsfrei zu gestalten und sollte so weit wie möglich gewährleisten, daß der entnommene Anteil repräsentativ für den beprobten Wasserkörper ist. Die jeweilige Konditionierung wird dann auf die Art der zu bestimmenden Analyten, das Anreicherungsverfahren und schließlich das Analysesystem abgestimmt. Zur Konditionierung einer Probe zählen beispielsweise das Einstellen physikalischer Parameter wie Temperatur oder pH-Wert, Reinigungsschritte wie Zentrifugation oder Filtration und ggf. auch die Zugabe von Standardsubstanzen. Für die Anreicherung von Analyten aus einer wäßrigen Phase stehen mehrere Verfahren, wie unter anderen etwa die Extraktion mittels organischer Lösungsmittel oder Festphasen, zur Auswahl, wobei hier vor allem die Bandbreite der Eigenschaften der zu analysierenden Substanzen die erfolgversprechendste Methodik vorgibt^[42].

4.1 Entwicklung eines Wasserschöpfers

Die Festlegung einer angemessenen Probengröße resultiert hauptsächlich aus der mutmaßlichen Umweltkonzentration der Zielanalyten und der Empfindlichkeit, mit der sie aus Realprobenextrakten heraus detektiert werden können. Im Idealfall ist die Probenmenge so gewählt, daß alle zu bestimmenden Analyten gerade noch ausreichend detektiert werden können. Man versucht größere Probenvolumina zu vermeiden, weil damit auch weitere Parameter einer Analyse größer werden. Dazu zählen beispielsweise die Menge einzusetzender Hilfschemikalien, die Größe der benötigten Gerätschaften, die Arbeitszeit und letztlich auch die Kosten. Ein zweiter wichtiger Grund, die Probemenge zu limitieren, kann in dem natürlichen Matrixgehalt liegen. Wenn dieser so hoch ist, daß bei der Messung der aufbereiteten Probe das Signalrauschen praktisch nicht mehr von der analytischen Methodik, sondern nur noch von der natürlichen Matrix abhängt, so führt eine Vergrößerung des Probenvolumens nicht zu einer Vergrößerung der Analytensignale relativ zu dem Rauschen. Es wird dann also keine verbesserte Detektion erzielt, wohl aber durch eine insgesamt höhere Substanzmenge das Meßsystem belastet, was gerade in der Gaschromatographie/Massenspektrometrie schnell zu einer Abnahme der Detektionsempfindlichkeit führen kann. Eine Vorhersage der optimalen Probegröße ist allerdings unmöglich, wenn die Analyten oder ihre Konzentrationen unbekannt sind. In unserem Falle aber lagen durch vorausgegangene Arbeiten, bei denen 10 L-Elb- und Meerwasserproben im Rahmen eines non-target screenings auf ihr Schadstoffinventar untersucht wurden^[248,249], Ergebnisse vor, die eine Einschätzung erlaubten. So hatte sich gezeigt, daß der dabei verwendete Wasserschöpfer^[250], der für die mechanisch unterstützte Probenahme von Schiffen aus konzipiert war, allein wegen seines Leergewichtes von ca. 15 kg für den Einsatz bei der manuellen

Beprobung von Flüssen, Seen oder Hafengebäcken nicht optimal geeignet erschien, insbesondere, wenn man bedenkt, daß solche Beprobungen nicht selten von Brücken aus durchgeführt werden müssen. Weiterhin war ersichtlich geworden, daß bei matrixreichen Wässern, wie die Elbe sie repräsentiert, eben dieser Matrixgehalt und auch der Schwebstoffanteil bei einem Probenvolumen von 10 L aufwendige Filtrations- und Matrixabreicherungsverfahren erforderlich machte. Aufgrund dieser Erfahrungen wurde für die Entwicklung der analytischen Gesamtmethode eine maximale Probenmenge von 3 L angenommen und ein variabler Wasserschöpfer entwickelt, der Gefäße von etwa 0,25 L bis 3 L Volumen aufnehmen kann.

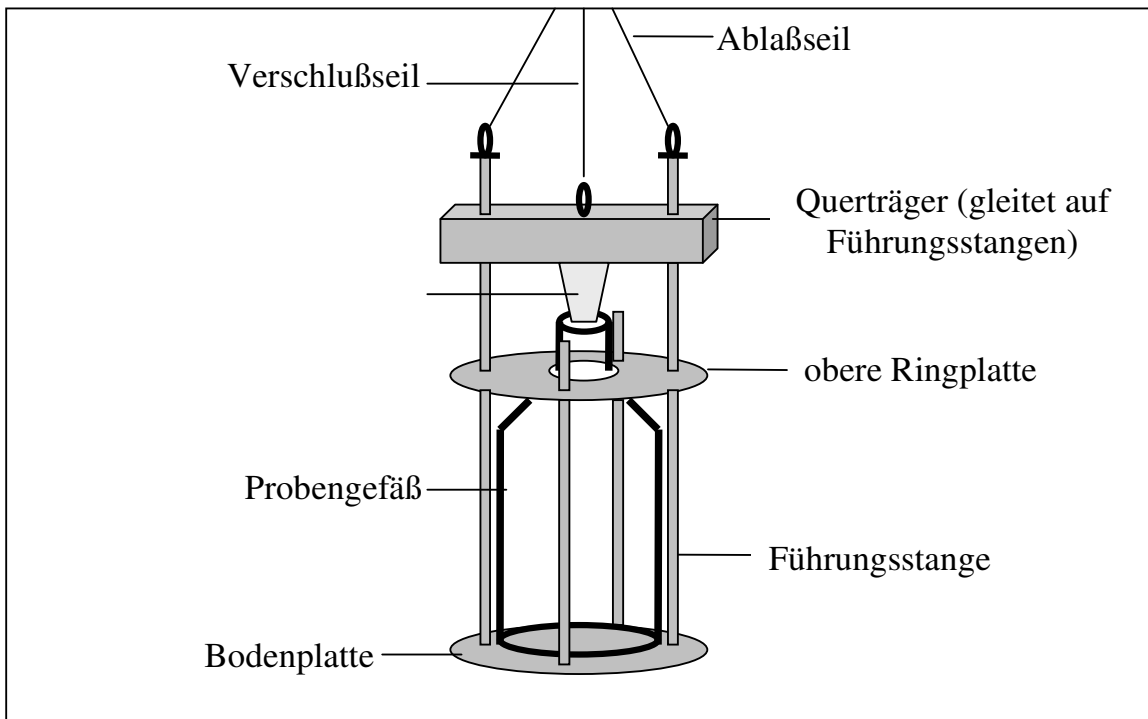


Abb. 60: Schematische Darstellung des entwickelten Wasserschöpfers

Dieser Schöpfer, von dem mehrere Exemplare gefertigt wurden, kam bei fast allen nachfolgend erwähnten Probenahmen zum Einsatz. Wie die obenstehende Abbildung 60 zeigt, besteht er aus einer Bodenplatte mit vier äquidistant angeordneten senkrechten Stangen mit Gewinden, die einerseits einen stabilen Käfig für das Probengefäß darstellen und andererseits als Führung für eine obenliegende Ringplatte und den Verschlussmechanismus dienen. Die Ringplatte kann durch den Einsatz von Muttern variabel höhenverstellt werden und fixiert das jeweils eingesetzte Probengefäß. Der Verschlussmechanismus besteht aus einem bleigefüllten Querträger an den mittig ein konischer Teflonstopfen und diesem gegenüberliegend eine Öse mit Zugseil angebracht ist. Mittels entsprechender Bohrungen wird der Verschluss so auf zwei der Führungsstangen gesetzt, daß der Teflonstopfen die Öffnung des Probengefäßes abdichtet. An den oberen Enden der gleichen Führungsstangen werden nachfolgend Ösen befestigt. Sie dienen zur Sicherung des

Verschlußmechanismus und weiterhin der Befestigung eines Hauptseiles mit dem der gesamte Schöpfer abgelassen und wieder aufgeholt wird. Die Bedienung des bestückten Schöpfers erfolgt, indem er mittels des Hauptseiles bei losem Verschlußseil in den Wasserkörper abgesenkt wird. Wenn die gewünschte Tiefe erreicht ist, wird das Verschlußseil angezogen und gleichzeitig Lose auf das Ablaufseil gegeben. Dadurch öffnet sich der Verschluß, und das Probengefäß wird befüllt. Ist dieser Vorgang abgeschlossen, wird wieder Lose auf das Verschlußseil gegeben und Zug auf das Ablaufseil. Dadurch wird das Probengefäß verschlossen und der Schöpfer kann aufgeholt werden. Diese Handhabung ist bei einem Leergewicht von ca. 4,3 kg problemlos durch eine Person durchzuführen. Das geschilderte Funktionsprinzip gewährleistet eine wichtige analytische Anforderung, die darin besteht, das Probengefäß verschlossen in das Wasser einzubringen und auch wieder verschlossen herauszuholen, damit tatsächlich nur der Wasserkörper beprobt wird und keine Anteile des Oberflächenfilms in die Probe gelangen. Für die organische Spurenanalytik ist weiterhin von Bedeutung, daß Beprobungen möglichst kontaminationsfrei erfolgen, weswegen die Anwesenheit der meisten Kunststoffe aufgrund ihres Gehaltes an Weichmachern und ihrer adsorptiven Eigenschaften zu vermeiden ist. Dem wurde Rechnung getragen, indem der Schöpfer ausschließlich aus den Werkstoffen Edelstahl (V4A), Blei und Teflon gefertigt wurde. Diese Materialien bieten außerdem den Vorteil, daß sie bis etwa 523 K (250 °C) thermostabil sind und somit eine bequeme Reinigung durch Ausheizen möglich ist. Zudem treten nach Salzwasserbeprobungen keine Korrosionserscheinungen auf. Neben diesen grundsätzlichen Anforderungen und der einfachen Handhabung des Schöpfers bewährte sich bei der routinemäßigen Anwendung vor allem der Einsatz handelsüblicher Braunglasflaschen, in denen die in jedem analytischen Labor benötigten Lösungsmittel und Grundchemikalien geliefert werden, als Probengefäße. Diese Flaschen gibt es in diversen Größen, sie sind stabil, können nach Entfernung der Gebindeetiketten, z.B. durch Ausheizen, einfach gereinigt werden, und sie fallen praktisch kostenneutral an. Nicht zuletzt erlauben die üblicherweise relativ großen Flaschenöffnungen eine sehr zügige Befüllung. In Feldexperimenten wurden Befüllungsraten von 60 mL s^{-1} bis 100 mL s^{-1} ermittelt.

4.2 Entwicklung einer Filtrationseinheit

Die Abtrennung von Schwebstoffen aus Wasserproben war im Rahmen dieser Arbeit unabdingbar, weil sich die analytischen Untersuchungen auf gelöste, nicht aber an Sedimente oder Partikel gebundene Verbindungen beschränken sollten. Des Weiteren sollte die Analytanreicherung, wie in dem nächsten Abschnitt beschrieben, mittels Festphasenextraktion (SPE, *Solid Phase Extraction*) erfolgen. Diese Methode ist im Gegensatz zur oft alternativ eingesetzten flüssig/flüssig (l/l) Extraktion sehr empfindlich gegenüber der Anwesenheit von Schwebstoffen, weil diese beim Überleiten der Probe über feinporige Fritten bzw. pulverförmige Sorbentien zu irreversiblen Verstopfungen führen. Selbstverständlich sind in der analytischen Chemie eine Vielzahl von Materialien und Methoden zur Filtration wäßriger Medien zugänglich. In der organischen Spurenanalytik haben sich Glasfasermaterialien weitgehend als Filterstoffe durchgesetzt, weil sie aufgrund ihrer anorganischen Natur wenig organische Kontaminanten aufweisen und zudem vor der Verwendung durch Ausheizen gereinigt werden können. Glasfaserfilter ohne organische Binder sind bis etwa 773 K (500 °C) thermisch stabil.

Man unterscheidet im wesentlichen zwei Filterklassen^[248,251], wobei die klassischen Membranfilter Partikel auf einer zweidimensionalen Oberfläche zurückhalten, während Tiefenfilter über eine dreidimensionale Oberfläche verfügen. Somit gestatten letztere höhere Probendurchlaufkapazitäten, sind allerdings auch teurer und nicht so weit verbreitet, so daß nicht für alle Anforderungen ein entsprechendes Filtersystem einfach verfügbar ist. Dementsprechend aufwendig gestaltet sich oft die Suche nach einem geeigneten Filterhalter, der, wie alle Teile, mit denen die Proben in Kontakt kommen, möglichst keine Kontaminationsquelle darstellen sollte. Prinzipiell kommen bei der Filtration zwei Bauformen in Betracht. Einerseits gibt es Reservoirfiltereinheiten, deren einfachste Form der klassische Büchner-Trichter ist, die aber weniger geeignet für große Probenvolumina sind. Die Alternative dazu sind on-line-Filtereinheiten, bei denen die Probe direkt aus dem Probengefäß über einen Filter geleitet wird. Ein Beispiel für so ein on-line-System ist die von Weigel entwickelte Filtrationseinheit, bei der großvolumige Wasserproben (10 L bis 100 L) mittels einer Zahnradschleife über einen in einem zylindrischen Edelstahlträger befindlichen Tiefenfilter (Glasfaserwickel) geleitet und nachfolgend direkt in eine Festphasenextraktionseinheit geführt wurden^[248]. Dieses System erwies sich mit Flußraten von 500 mL min⁻¹ als sehr effektiv bei der Behandlung so großer Proben, erschien aber nicht optimal geeignet für die beabsichtigte Schwebstoffabtrennung bei Probenvolumina zwischen 1 L und 3 L. Aufgrund eines relativ großen Totvolumens hätten entsprechend erhebliche Probenverluste resultiert. Weiterhin existierte nur ein System, so daß nicht mehrere Proben parallel aufzuarbeiten waren, und schließlich wäre die nach jedem Probendurchgang durchzuführende Reinigung aller Bauteile in Relation zum aufgearbeiteten Wasservolumen unangemessen aufwendig.

Da in der Anfangsphase dieser Arbeit auch kein alternatives Filtrationssystem einfach verfügbar war, wurde eine on-line-Filtrationseinheit entwickelt, die die nachstehend aufgeführten Ansprüche erfüllt:

- on-line-System
- geringes Totvolumen
- einfache Bauweise (erlaubt die Verwendung handelsüblicher Schlauchanschlüsse und Filter)
- spurenanalytisch unbedenkliche Materialien
- niedrige Kosten (ermöglichen die Anschaffung mehrerer Einheiten)

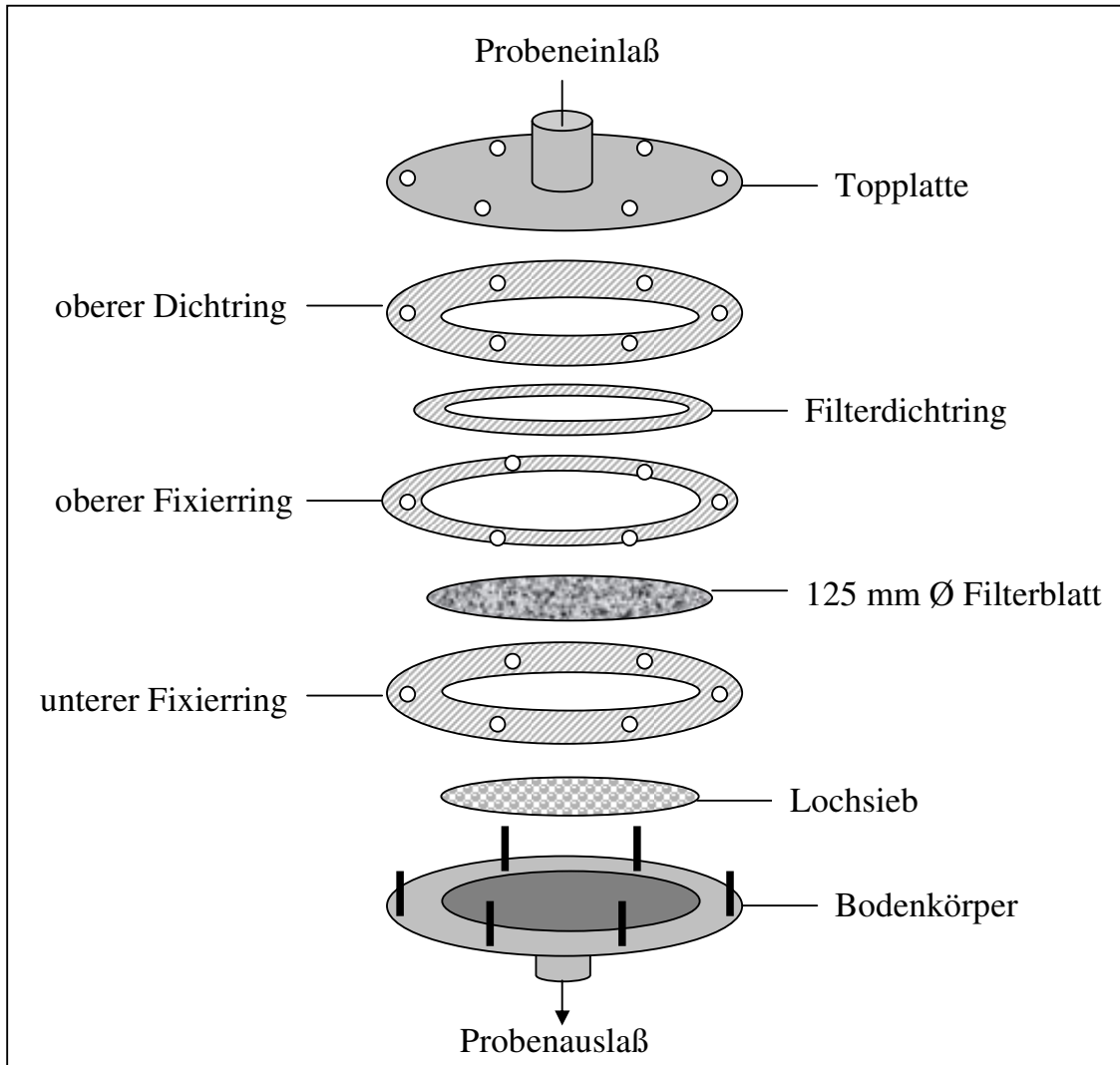


Abb. 61: Schematische Darstellung der entwickelten Filtrationseinheit

Die unter diesen Vorgaben entwickelte Filtereinheit, von der 6 Exemplare in Eigenarbeit bzw. in der technischen Werkstatt der Universität Hamburg gefertigt wurden, besteht aus einem Edelstahlboden (150 mm Ø) mit 6 senkrecht eingesetzten M4-Gewinden, die als Führung für 3 Teflonringe und die Topplatte dienen. Der untere Ring dient der Fixierung eines Lochsiebes aus Edelstahl, der mittlere der Positionierung eines Rundfilters von 125 mm Durchmesser und der obere dichtet diese Anordnung zu einer Topplatte hin ab. Zur Fixierung und Abdichtung des Rundfilters wird noch ein kleinerer Teflonring in den mittleren eingesetzt. Je ein

Stutzen auf der Boden- und Topplatte dient mit einer durchgehenden Bohrung von 2,9 mm Durchmesser dem Anschluß handelsüblicher Teflonschläuche mit einem Außendurchmesser von 3 mm. In Abbildung 61 ist die Filtrationseinheit schematisch dargestellt. Zur Inbetriebnahme des bestückten Filtersystems wird die Topplatte mittels entsprechender Muttern verschraubt, so daß alle Komponenten fest aufeinandergedreht werden. Die Probe schließlich wird durch Anlegen eines Vakuums an die Auslaßöffnung durch die Filtereinheit geleitet. Bei der Auswahl des Filtermaterials wurde nach einigen Vorversuchen ein mit einem Durchmesser von 125 mm relativ groß dimensionierter Glasfaserrundfilter mit einer Ausschlußgröße von 1,6 µm gewählt. Diese Wahl ist Teil des Konzeptes, die Filtration so zu gestalten, daß eine Oberflächenbelegung mit Partikeln nur an der hier beschriebenen Filtereinheit stattfindet, nicht aber nachfolgend auf einer Fritte oder dem Festphasenmaterial, weil diese, wie in Abschnitt 2.3 beschrieben, bei den meisten Extraktionssystemen auf einem kleinen Durchmesser von der Probe durchströmt werden und eine Belegung hier sofort zu einer Erniedrigung der Flußrate führen würde. Die Ausschlußgröße von 1,6 µm erlaubt einerseits eine zügige Filtration, andererseits stehen noch größporigere Materialien zur Verfügung, die in der nachgeschalteten Extraktionseinheit verwendet werden können. Eine kleine Auswahl handelsüblicher Glasfaserrundfilter, die in verschiedenen genormten Größen angeboten werden, zeigt die untenstehende Tabelle 19.

Technische Angaben* zu einigen handelsüblichen Glasfaserfiltern ohne organische Binder ^[251,252]				
Hersteller *	Sorte	Ausschlußgröße	Filtrationszeit **	Dicke
Whatman	GF C	1,2 µm	100 s	260 µm
Whatman	GF A	1,6 µm	62 s	260 µm
Whatman	GF D	2,7 µm	41 s	680 µm
Schleicher & Schüll	GF 6	< 1 µm	200 s	350 µm
Schleicher & Schüll	GF 50	ca. 2,5 µm	100 s	300 µm
Schleicher & Schüll	GF 53	ca. 3 µm	70 s	590 µm
* Die angegebenen Daten stammen teilweise aus dem Jahr 2002. Mittlerweile sind die Firmen Whatman und Schleicher & Schüll zu einem Konzern (Whatman Schleicher & Schüll) fusioniert ^[252]				
** nach Herzberg (t/100 mL)				

Tab. 19: Übersicht technischer Daten einiger handelsüblicher Glasfaser-rundfilter

Im praktischen Einsatz eignete sich diese Konstruktion hervorragend bei der Filtration auch hoch schwebstoffbelasteter Proben von bis zu 3 L Volumen, wie sie beispielsweise bei der Beprobung von Häfen des nordfriesischen Wattenmeeres anfielen. Überschreitungen der Filterkapazität traten nur bei Proben auf, die aus

einem Klärwerkszulauf stammten. Hier mußte zur Filtration von 1 L Probenflüssigkeit der Filter gewechselt werden.

4.3 Festphasenextraktion

Die gängigsten Methoden zur Anreicherung organischer Spurenanalyten aus den unterschiedlichsten Matrices sind mittlerweile vielfach beschrieben^[253a], so daß hier nicht weiter darauf eingegangen werden soll. Durch eine Vielzahl aktueller Veröffentlichungen kann dabei als gesichert angesehen werden, daß sich die Festphasenextraktion bei Wasserproben als effektivste Methode zur Anreicherung eines breiten Spektrums organischer Substanzen, insbesondere solcher mit höherer Polarität, durchgesetzt hat. Moderne Sorbentien bestehen aus oberflächenreichen organischen Polymeren, die aufgrund ihrer Struktur und gegebenenfalls vorhandenen chemischen Funktionalisierungen verschiedene Wechselwirkungen mit organischen Molekülen eingehen und diese aus einer Wasserphase heraus adsorptiv binden können. Durch Überleiten geeigneter organischer Lösungsmittel über das Festphasenmaterial werden die Analyten nach der Extraktion dann von der stationären Phase eluiert und können nachfolgend direkt gemessen oder weiter aufkonzentriert und weiterbehandelt werden^[253b,c]. Eine ausführliche Beschreibung moderner Festphasenmaterialien und ihres Einsatzes bei der Analyse unterschiedlicher Substanzgruppen ist parallel zu dieser Arbeit in der Gruppe von *Hühnerfuss* durch *Weigel et al.*^[42,254] vorgenommen worden. Auf diesen Ergebnissen aufbauend, lag der Schwerpunkt meiner Aktivitäten weniger in der Erprobung verschiedener Festphasenprodukte als in der praktischen Umsetzung und Fortführung der zitierten Arbeiten.

4.3.1 Verwendete Festphasen

Aufgrund der bereits angeführten Arbeiten^[50,244] stand zu Beginn dieser Arbeit mit dem Sorbens SDB-1 ein modernes Copolymer als Festphase zur Verfügung, das in Form von bulk-Material zu beziehen waren und dessen Eignung zur Anreicherung polarer wie unpolarer organischer Analyten aus wäßrigen Proben als erwiesen angesehen werden konnte. Zu einem späteren Zeitpunkt wurde von *Weigel et al.* aufgrund der Ergebnisse aus einer Testreihe, in der verschieden Sorbentien vergleichend zur Extraktion unterschiedlich polarer organischer Analyten untersucht wurden, Oasis HLB als Festphase routinemäßig eingesetzt^[254]. SDB-1 ist auf der Basis von Polystyrol-Divinylbenzol aufgebaut, Oasis HLB besteht aus einem Polystyrol-*N*-Vinylpyrrolidon-Copolymer. Eigene Vorversuche, in denen ein octadecyl-modifiziertes Kieselgel (C18 Polar Plus) zur Extraktion von Carbonsäuren, östrogenen Steroiden und einer phenolischen Verbindung aus Leitungswasser eingesetzt worden war, zeigten, daß dieses Sorbens älterer Konzeption nicht geeignet war, die carboxylischen Analyten ausreichend zu binden^[255]. Dementsprechend

wurden im weiteren Verlauf meiner Arbeit vorwiegend die beiden erstgenannten Sorbentien (SDB-1 und Oasis HLB) eingesetzt.

4.3.2 Einfluß des pH-Wertes auf die SPE

Um bei der Festphasenextraktion protonierbarer oder deprotonierbarer organischer Analyten (Carbonsäuren, Amine etc.) aus wäßrigen Lösungen eine optimale Adsorption an der stationären Phase zu erzielen, ist eine Einstellung des pH-Wertes, die das Dissoziationsgleichgewicht zu den neutralen Verbindungen hin verschiebt, gängige Praxis. Aus diesem Grunde sind zur selektiven Anreicherung saurer oder basischer Analyten mittels SPE entsprechende Methoden etabliert, bei denen der pH-Wert wäßriger Proben für die Extraktion von aciden Analyten < 7 bzw. für die Extraktion von basischen Stoffen > 7 eingestellt wird^[254-258]. Die Belassung der zu untersuchenden Proben bei ihrem nativen pH-Wert oder die Einstellung auf ein in etwa neutrales Milieu wird angewendet, um neutrale, basische und saure Analyten gleichzeitig anzureichern. Tatsächlich zeigen eine Reihe von Untersuchungen, daß dies bei der Verwendung geeigneter Festphasenmaterialien in geeigneter Weise bei der Parallelextraktion neutraler, basischer und saurer organischer Verbindungen realisiert werden kann^[254,259]. Um dem einleitend vorgestellten zentralen Ansatz dieser Arbeit, der Erfassung eines möglichst breiten Substanzspektrums, Rechnung zu tragen, wurden alle in den nachfolgenden Kapiteln erwähnten Wasserproben bei etwa neutralem pH Wert extrahiert. Tatsächlich konnten dadurch in einem Extraktionsschritt so unterschiedlich polare Verbindungen wie beispielsweise Phenoxycarbonsäuren, organische Phosphorsäureester, Triazine und halogenierte Kohlenwasserstoffe angereichert werden. Ein zusätzliches Argument, die SPE unter neutralen Bedingungen durchzuführen, ergab sich für uns zu einem späteren Zeitpunkt durch die Beobachtung von Reddersen et al., die zeigten, daß das Ansäuern von matrixreichen Wasserproben bei bestimmten Analyten wie Diclofenac zur Bildung eines Artefaktes und damit zu einer Unterbestimmung der Mutterverbindung führen kann^[260].

4.3.3 Entwicklung einer Extraktionseinheit

Im Handel ist eine Vielzahl von Materialien für die SPE erhältlich, wobei die Auswahl an fertig gepackten Produkten erheblich größer ist als an losem (bulk) Material. Bei der Festphasenextraktion wäßriger Proben kommen im wesentlichen zwei Arten von Extraktionsgeometrien zu Einsatz. Dabei stellen Kartuschen, bei denen ein gewöhnlicher Spritzenkörper das relativ dick gepackte Sorbens aufnimmt, das gebräuchlichste System dar. Aufgrund des relativ kleinen Durchmessers dieser Kartuschen sind die realisierbaren Flußraten allerdings niedrig, so daß dies die bevorzugte Methode bei der Extraktion kleinvolumiger Proben ist. Für großvolumigere Proben können sogenannte disks eingesetzt werden, bei denen das Sorbens auf einem größeren Durchmesser sehr flach gepackt ist. Dadurch sind

erheblich höhere Flußraten zu realisieren. Allerdings enthalten die direkt einsetzbaren Extraktionsgeometrien häufig gewöhnliche Kunststoffanteile in Form von Fritten oder Gehäusen. Zudem sind die eingesetzten Mengen an Sorbentien selten für größere Probenvolumina, wie sie in dieser Arbeit angestrebt waren, ausgelegt. Aufgrund der bereits zitierten Arbeiten^[248,249] war der Einsatz von bis zu 2 g Sorbens für die Extraktion von Proben mit 3 L Volumen geplant. Gerade diese relativ große Menge stellte einen stark limitierenden Faktor bei der Beschaffung von Fertigprodukten dar, die keine Kunststoffe außer Teflon enthalten sollten.

Um dennoch ein Extraktionssystem verwenden zu können, das optimal den gewünschten Anforderungen entsprach, wurde eine geeignete Kartuscheneinheit entwickelt. Daß nicht eine disk-Version bevorzugt wurde, die eigentlich besser zur Extraktion größerer Probenvolumina geeignet erschien, lag darin, daß ein solches System technisch schwieriger zu realisieren ist. Dazu zählt, daß der Diskkörper aus Glas oder Metall speziell hätte angefertigt werden müssen. Auch ist die manuelle Realisierung einer gleichmäßigen, dünnen Packungsdichte bei großen Durchmessern problematisch, und nicht zuletzt hatte sich bei kommerziell erhältlichen Produkten gezeigt, daß sich die der Extraktion nachfolgende Trocknung mittels eines Stickstoffstromes äußerst schwierig gestaltete, weil das Gas vorwiegend die inneren, weniger aber die äußeren Bereiche des mit Sorbens belegten Kartuschenbodens durchströmte. Bei unserem System dient eine handelsübliche Glaskörperspritze mit Luer Konus-Auslaß und 19,5 mm Innendurchmesser als Kartuschenkörper. Die Bestückung erfolgt, wie in Abbildung 62 gezeigt, durch Einlegen eines Teflonsiebes (19 mm Ø), eines Glasfaserrundfilters (22 mm Ø) mit einer Ausschlußgröße von 2,7 µm, und der gewünschten Sorbensmenge. Nach oben hin wird diese durch einen zweiten Glasfaserfilter und ein zweites Teflonsieb begrenzt. Das Sorbens wird schließlich durch Einpressen eines Teflonringes (20 mm Ø) verdichtet. Die genannten Glasfaser- und Teflonteile wurden mittels handelsüblicher Locheisen aus einfach erhältlichen größeren Einheiten bzw. Meterware ausgestanzt und sind bis auf die Filter wiederverwendbar. Zum Einpressen der Filter und des Ringes dient ein Teflonstempel, der aus Gründen des Druckausgleiches mit einer Längsbohrung ausgestattet ist. Zur Entnahme der genannten Bauteile nach erfolgter Extraktion dient ein einfacher Haken, wie er beispielsweise aus einer laborüblichen Edelstahlkanüle selbst gefertigt werden kann. Die Probenzuführung erfolgt über einen Teflonadapter mit 20 mm Außendurchmesser und eine von 4 mm auf 2,9 mm verengte Bohrung. Diese zweistufige Bohrung erlaubt sowohl den Anschluß von handelsüblichen Teflonschläuchen als auch von Bauteilen mit Luer-Konus. Dadurch ist sowohl die direkte Verbindung mit einer in Abschnitt 4.2 beschriebenen Vorfiltereinheit möglich, als auch beispielsweise das Aufsetzen eines entsprechenden Hahnes, Ventils oder einer weiteren Kartusche. Die gleichen Bauteile können, sowie sie über eine Luer-Hülse verfügen, an den Auslaßkonus der Extraktionseinheit angeschlossen werden. Der Durchtritt der flüssigen Phase durch das Extraktionssystem wird durch Anlegen eines Vakuums an die Auslaßseite bewirkt. Um möglichst konstante Flußraten zu erzielen, kann zu Beginn einer Extraktion ein schwaches Vakuum angelegt werden, das dann stufenweise verstärkt wird.

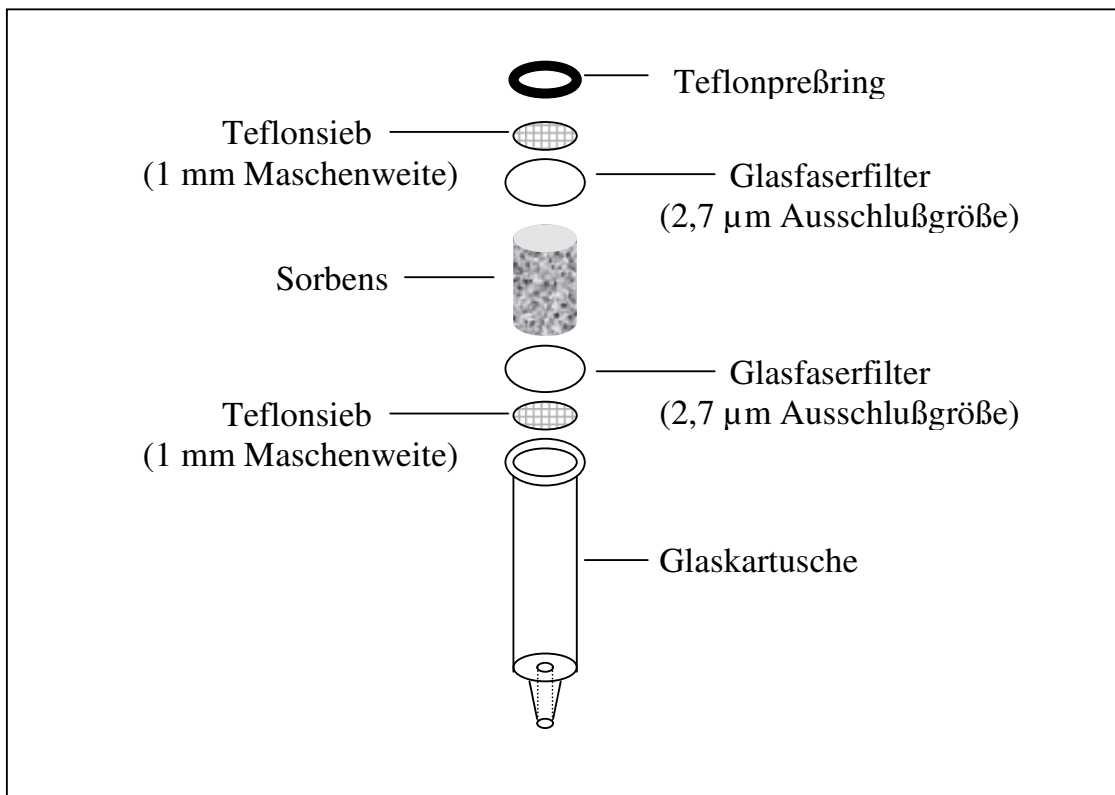


Abb. 62: Schematische Darstellung der Packungsreihenfolge bei der verwendeten Extraktionsgeometrie

Dieses kostengünstige System hat sich durch seine universelle Einsetzbarkeit und Variabilität mittlerweile seit mehreren Jahren bei der Extraktion von Wasserproben bewährt. Als besonders erfolgreich erwies sich die Substitution der ansonsten zur Sorbensfixierung verwendeten Fritten durch die erwähnten großporigen Glasfaserfilter. Insbesondere Teflonfritten sind nicht nur kostenintensiv in der Anschaffung, sondern üblicherweise auch sehr feinporig, so daß in entsprechend durchgeführten Vorversuchen trotz Vorfiltration eine Belegung der Fritten zu drastisch erniedrigten Flußraten oder zum Versuchsabbruch führte. Durch das hier vorgestellte Prinzip, das Sorbens durch Filter großer Porenweite zu begrenzen, die Vorfiltration aber mit großdimensionierten Filtern mittlerer Porenweite durchzuführen, treten praktisch keine Schwebstoffbelegungen innerhalb der Extraktionseinheit auf, und es können relativ hohe Flußraten erzielt werden. In der Praxis wurden bei den meisten der im Rahmen dieser Arbeit in einem Arbeitsschritt filtrierte und extrahierten natürlichen Wasserproben durchschnittliche Flußraten von 30 mL min^{-1} bis 50 mL min^{-1} realisiert, ohne die Kapazität des Systems voll auszuschöpfen. Abbildungen 63a und 63b zeigen die Entwicklung der Flußraten während der parallel durchgeführten Filtration & Extraktion verschieden stark mit Schwebstoffen belasteter Umweltproben unter Verwendung zweier verschiedener Festphasenmaterialien.

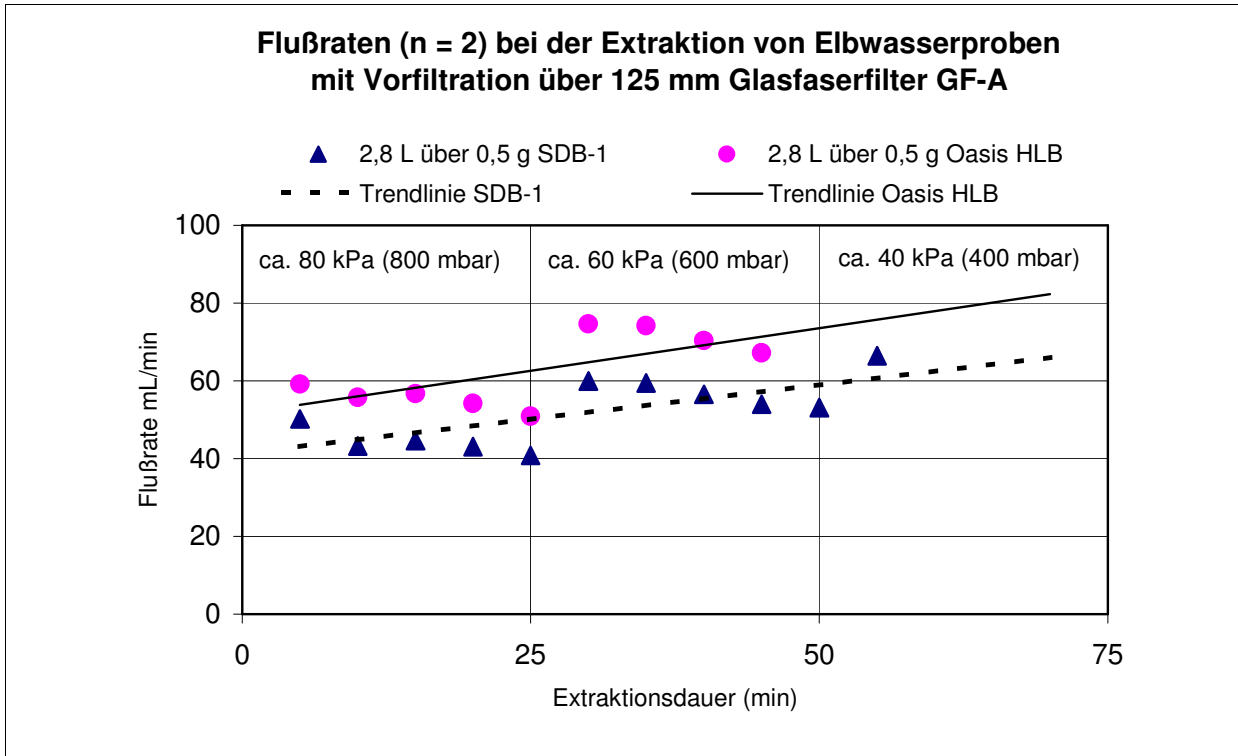


Abb. 63a: Entwicklung der Flußraten bei Oberflächenwasserproben (Elbe) in Abhängigkeit von der Filtrations-/Extraktionsdauer, dem angelegten Unterdruck und der verwendeten Festphase

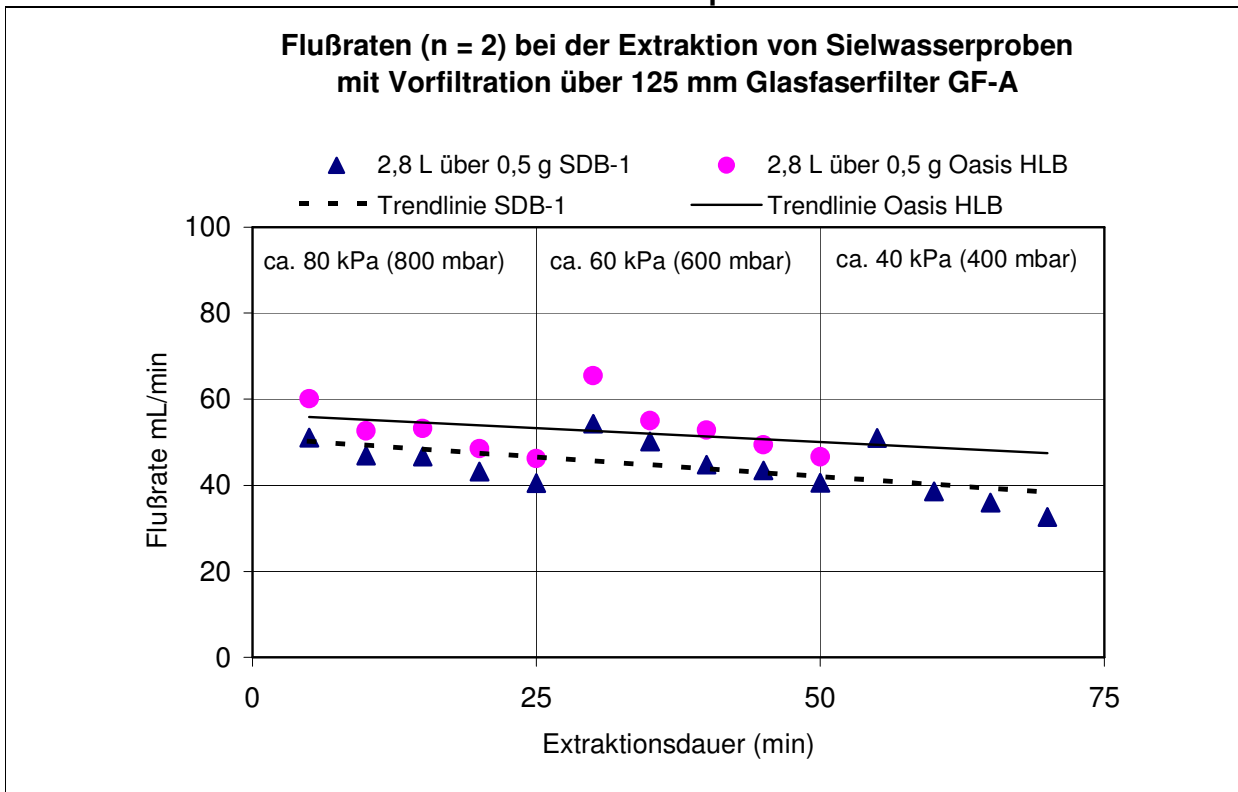


Abb. 63b: Entwicklung der Flußraten bei Oberflächenwasserproben (Sielzug) in Abhängigkeit von der Filtrations-/Extraktionsdauer, dem angelegten Unterdruck und der verwendeten Festphase

Die vorstehenden Graphiken veranschaulichen, daß die verwendeten Festphasenmaterialien aufgrund ihrer Partikelgröße eine unterschiedliche Auswirkung auf die erzielten Flußraten und damit auch auf die die Gesamtextraktionszeiten haben. Deutlich wird ebenfalls, wie durch eine zunehmende Filterbelegung die Flußraten in den Intervallen konstanten Druckes etwa linear absinken, um dann bei einer Druckerniedrigung um etwa 20 kPa (jeweils nach 25 und 50 min) wieder anzusteigen. Die hier extrahierten Elbproben stammten aus dem Bereich des Hamburger Hafens und waren mäßig bis stark schwebstoffbelastet, während die Sielwasserproben aus einem nordfriesischen Entwässerungsgraben eine besonders hohe Partikelfracht enthielten. Aufgrund der unterschiedlich stark zunehmenden Filterbelegung weisen die den Elbproben zugeordneten Trendlinien auch im Gegensatz zu denen der Sielwasserproben eine positive Tendenz in der Entwicklung der Flußrate während der Extraktion auf.

4.4 Elution

Durch geeignete Lösungsmittel und die Reihenfolge, mit der diese eingesetzt werden, kann die Elution dazu dienen, bestimmte Matrixanteile nach einer Festphasenextraktion abzutrennen oder Stoffe in Abhängigkeit von ihrer Struktur gruppenweise zu isolieren. Dies sind in der Spurenanalytik matrixreicher Proben wichtige Verfahren zur Verbesserung der Detektionsempfindlichkeit. So ist es grundsätzlich möglich, sehr unpolare Analyten durch gleichfalls unpolare Lösungsmittel von der zuvor zu trocknenden Festphase zu eluieren, wobei polarere Probenbestandteile auf dem Sorbens verbleiben^[42]. Umgekehrt kann eine Elution auch erfolgen, indem mit einem sehr polaren Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch eluiert wird, so daß bevorzugt polare Komponenten mobilisiert werden und die unpolaren Verbindungen auf der stationären Phase verbleiben. Dabei kann die Elutionsrichtung mit dem Probenfluß bei der Extraktion übereinstimmen (*forward-flush*), oder auch, wie beispielsweise für die Anreicherung sehr polarer Analyten, entgegengesetzt ausgerichtet (*back-flush*) werden^[261-263]. Nicht nur mit der Art, sondern auch mit der Menge und der Reihenfolge der für die Elution verwendeten Lösungsmittel bestimmt man letztlich, in welchem Maße ein Analyt oder Analytengruppen und Matrixanteile von einer bestimmten Festphase abgelöst werden.

Die fraktionierende Elution einer Probe, in der Lösungsmittel mit abgestufter Polarität nacheinander eingesetzt werden, bietet für die Analyse strukturell unterschiedlicher Analyten die Möglichkeit, verschiedene Stoffklassen in entsprechenden Fraktionen zu isolieren^[264,265]. Einerseits ist mit einer stufenweisen Elution auch ein clean-up-Effekt verbunden, weil sich störende Matrixanteile über alle Fraktionen verteilen, während idealerweise einzelne Analyten nur in jeweils einer Fraktion auftreten. Andererseits können so Gruppen von Analyten, deren Bestimmung eine einander ausschließende Behandlung erfordert, nebeneinander nachgewiesen werden. Gerade für die gaschromatographische Trennung ist eine Derivatisierung polarer Analyten häufig unerlässlich, um ausreichende Nachweisempfindlichkeiten zu erzielen. Da solche Derivatisierungen aber immer spezifisch auf bestimmte Substanzgruppen ausgerichtet sind, bietet eine geeignete Fraktionierung unter Umständen die Möglichkeit, mehrere Stoffklassen aus einer Probe heraus mit der jeweils optimalen Methode zu bestimmen. Einschränkend muß allerdings berücksichtigt werden, daß die fraktionierende Elution ein sehr grobes Trennverfahren ist, bei dem einzelne Analyten häufig auf mehrere Eluate verteilt werden. Wenn sehr viele unterschiedliche Stoffe parallel bestimmt werden sollen, kann dieses Verfahren nicht vollkommen erfolgreich sein. Um dennoch die Vorteile dieser Methode nutzen zu können, sollte im Rahmen dieser Arbeit, die Eignung verschiedener Lösungsmittel bei der fraktionierenden Elution unterschiedlicher Analyten untersucht werden.

4.4.1 Fraktionierende Elution von SDB-1 bei der Analytanreicherung aus dotierten Leitungswasserproben

Bei den zu einem sehr frühen Zeitpunkt dieser Arbeit durchgeführten Extraktionsversuchen wurden jeweils 5 Analyten zur Dotierung von 2,8 L Leitungswasser eingesetzt. Es handelte sich dabei um zwei Carbonsäuren (Clofibrinsäure, Ibuprofen), zwei difunktionelle Verbindungen (Ketoprofen mit Carboxyl- und Keto-funktion sowie Diclofenac mit Carboxyl- und sekundärer Aminogruppe) und ein halogenierter phenolischer Analyt (Triclosan). Bei jedem Versuch betrug die Dotierungskonzentrationen 18 ng/L für jeden Analyten, als Festphasenmaterial wurde jeweils 500 mg SDB-1 (J.T. Baker) eingesetzt und dieses nach erfolgter Extraktion und Trocknung mit den in Tabelle 20 aufgeführten Lösungsmitteln eluiert. Die resultierenden Eluate wurden gemäß SOP 4A Abschnitt 3.2.2.1) derivatisiert und qualitativ auf das Vorkommen der Analyten geprüft.

Elution der Festphasenextrakte (500 mg SDB-1) von dotierten 2,8 L-Leitungswasserproben (5 Analyten: je 18 ng/L)						
Elution		Detektion der Analyten				
Eluat	Volumen	Clofibrin-säure	Ibu-profen	Keto-profen	Dichlo-fenac	Triclo-san
<i>n</i> -Hexan (nH)	15 mL	-	-	-	-	-
Toluol	15 mL	-	-	-	-	-
Dichlormethan	15 mL	-	-	-	-	-
2-Methoxy-2-methylpropan	15 mL	-	-	-	-	(+)
2-Propanol	15 mL	-	-	-	-	+
Ethylacetat	15 mL	-	(+)	-	-	+
Aceton	15 mL	-	(+)	-	-	+
Methanol (MeOH)	15 mL	+	+	+	+	+
Ethansäure	15 mL	+	+	+	+	-
+: detektiert (+): schwach detektiert - : nicht detektiert						

Tab. 20: Detektion ausgewählter Analyten in verschiedenen Eluaten nach der Festphasenextraktion dotierter 2,8 L-Leitungswasserproben mit SDB-1

Die in Tabelle 20 dargestellten Ergebnisse zeigen deutlich an, daß die Gruppe der untersuchten Carbonsäuren nur durch die polarsten der eingesetzten Lösungsmittel von der verwendeten Festphase eluiert werden. Ibuprofen und vor allem Triclosan werden anteilig auch von etwas weniger elutropen Solventien wie Ethylacetat oder Aceton mobilisiert.

In einer zweiten, quantitativen Versuchsreihe wurden bei analoger Durchführung die Leitungswasserextrakte fraktionierenden Elutionen unterzogen, um die für eine vollständige Ablösung der Analyten nötigen Lösungsmittelmengen zu

bestimmen. Als Bewertungsmaßstab wurden hierzu die in Tabelle 21 aufgelisteten Wiederfindungsraten gegenüber den reinen Standards bestimmt.

Elution der Festphasenextrakte (500 mg SDB-1) von dotierten 2,8 L-Leitungswasserproben (5 Analyten: je 18 ng/L)						
Elutionsfolge A		Wiederfindung der Analyten				
Fraktion	Volumen	Clofibrin- säure	Ibu- profen	Keto- profen	Dichlo- fenac	Triclo- san
<i>n</i> -Hexan	15 mL	-	-	-	-	-
Ethylacetat	15 mL	-	-	-	-	47 %
Methanol	5 mL	16 %	16 %	10 %	12 %	18 %
Methanol	5 mL	8 %	11 %	7 %	7 %	12 %
Methanol	5 mL	8 %	10 %	7 %	8 %	7 %
Ethansäure	5 mL	25 %	40 %	49 %	63 %	0 %
- : nicht detektiert						
Elutionsfolge B		Wiederfindung der Analyten				
Fraktion	Volumen	Clofibrin- säure	Ibu- profen	Keto- profen	Dichlo- fenac	Triclo- san
<i>n</i> -Hexan/Dichlor- methan 1: 1 (v,v)	35 mL	-	-	-	-	-
<i>n</i> -Hexan/Ethylacetat 1: 1 (v,v)	35 mL	-	-	-	-	15 %
Methanol/Ethansäure 9:1 (v,v)	10 mL	56 %	70 %	69 %	79 %	60 %
Methanol/Ethansäure 1:1 (v,v)	10 mL	-	-	5 %	6 %	5 %
Ethansäure	10 mL	-	-	-	-	-
- : nicht detektiert						

Tab. 21: Wiederfindungsraten ausgewählter polarer Analyten in verschiedenen Eluatfraktionen nach der Festphasenextraktion dotierter 2,8 L-Leitungswasserproben mit SDB-1

Es zeigte sich, daß die Carbonsäuren auch durch relativ große Mengen unpolarer Lösungsmittel wie 35 mL *n*-Hexan oder *n*-Hexan/Ethylacetat 1:1 nicht von der Festphase abgelöst werden. Nur Triclosan konnte durch die letztgenannte Mischung in geringem Umfang mobilisiert werden. Die Elution der sauren Analyten ging selbst bei der Verwendung von Methanol nur schleppend vonstatten, aber bereits geringe Mengen an Ethansäure im Eluenten verbesserten die Resultate signifikant. Auf diesen Ergebnissen aufbauend, wurde eine analoge Extraktionsserie durchgeführt, in der vier östrogene Wirkstoffe (Estron, Östradiol, Ethinylöstradiol, Mestranol) als Vertreter einer zusätzliche Substanzklasse zu den bereits bekannten Analyten bezüglich ihres Elutionsverhaltens untersucht wurden.

Wie nachfolgend aufgeführt, wurde in einem ersten Versuch geprüft, ob eine Elutionsfolge C (*n*-Hexan/Dichlormethan/Ethansäure) geeignet ist, die Steroide so zu eluieren, daß sie nur in den Dichlormethanfraktionen auftreten, um diese Substanzen von den zuvor untersuchten sauren Analyten abzutrennen. Da die Ergebnisse dieses Versuches anzeigten, daß Dichlormethan tatsächlich einen Großteil der Analyten eluiert, kleinere Mengen aber auch in der polarsten Fraktion auftreten, wurde eine Elutionsfolge D eingesetzt, in der Dichlormethan durch Trichlormethan ersetzt wurde. Da für dieses Lösungsmittel noch keine Resultate hinsichtlich der sauren Analyten vorlagen, wurden diese mitbestimmt, indem alle Eluate geteilt und separat auf die östrogenen oder sauren Analyten untersucht wurden. Für die Detektion der Steroide wurden die entsprechenden Eluatliquote einer Derivatisierung gemäß SOP 2 (Abschnitt 3.1.2) unterzogen. Tatsächlich konnte durch die Verwendung von Trichlormethan (TCM) der erwünschte Effekt einer vollständigen Abtrennung der Steroide von den Carbonsäuren und Triclosan erzielt werden. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in den Tabellen 22 und 23 aufgeführt.

Elution des Festphasenextraktes (500 mg SDB-1) einer dotierten 2,8 L-Leitungswasserprobe (5 Analyten: je 18 ng/L)					
Elutionsfolge C		Detektion der Analyten			
Fraktion	Volumen	Estron	Östra- diol	Ethinyl- östradiol	Mestranol
<i>n</i> -Hexan	30 mL	-	-	-	-
Dichlormethan	15 mL	+	+	+	+
Dichlormethan	15 mL	-	(+)	-	-
Ethansäure	30 mL	-	(+)	-	(+)
+ : detektiert		(+) : schwach detektiert		- : nicht detektiert	

Tab. 22: Detektion ausgewählter Steroide in verschiedenen Eluatfraktionen nach Festphasenextraktion einer dotierten 2,8 L - Leitungswasserprobe mit SDB-1

Elution des Festphasenextraktes (500 mg SDB-1) einer dotierten 2,8 L-Leitungswasserprobe (9 Analyten: je 18 ng/L)										
Elutionsfolge D		Detektion der Analyten								
Fraktion	Vol.	Es	Ö	Et	M	T	C	I	K	D
<i>n</i> -Hexan	30 mL	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trichlormethan	15 mL	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Trichlormethan	15 mL	-	(+)	-	(+)	-	-	-	-	-
Ethansäure	30 mL	-	-	-	-	+	+	+	+	+

+ : detektiert (+): schwach detektiert - : nicht detektiert
E: Estron / Ö: Östradiol / Et: Ethinylöstradiol / M: Mestranol
T: Triclosan / C: Clofibrinsäure / I : Ibuprofen / K : Ketoprofen / D : Diclofenac

Tab. 23: Detektion ausgewählter polarer und mittelpolarer Analyten in verschiedenen Eluatfraktionen nach der Festphasenextraktion einer dotierten 2,8 L-Leitungswasserprobe mit SDB-1

Da die Elutionen A bis D den Status von einfachen Vorversuchen hatten, wurde die Extraktion aller Analyten aus Leitungswasser mit nachfolgender fraktionierender Elution mit je 30 mL *n*-Hexan/Trichlormethan/Ethansäure bei ansonsten zu den vorangegangenen Versuchen analoger Durchführung dreifach wiederholt und quantitativ ausgewertet, wie in Tabelle 24 gezeigt.

Elution der Festphasenextrakte (500 mg SDB-1) von dotierten 2,8 L-Leitungswasserproben (9 Analyten: je 18 ng/L)										
Elutionsfolge E		% -Wiederfindung der Analyten für n = 3 (relative Standardabweichung für n = 3)								
Fraktion	Vol.	Es	Ö	Et	M	T	C	I	K	D
<i>n</i> -Hexan	30 mL	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.
TCM	30 mL	85 (4%)	95 (9%)	87 (4%)	100 (9%)	-	-	-	-	-
Ethansäure	30 mL	/	/	/	/	43 (10%)	28 (9%)	50 (6%)	54 (8%)	64 (8%)

-: nicht detektiert / n.u.: nicht untersucht
E: Estron / Ö: Östradiol / Et: Ethinylöstradiol / M: Mestranol
T: Triclosan / C: Clofibrinsäure / I : Ibuprofen / K : Ketoprofen / D : Diclofenac

Tab. 24: Wiederfindungsraten ausgewählter polarer und mittelpolarer Analyten in verschiedenen Eluatfraktionen nach der Festphasenextraktion dotierter 2,8 L-Leitungswasserproben mit SDB-1

Tatsächlich konnten die Vorergebnisse insoweit bestätigt werden, daß durch die fraktionierende Elution mit den in Tabelle 24 genannten Lösungsmitteln eine vollständige Separation beider Analytengruppen erzielt werden kann und somit eine getrennte Analyse aus einer Probe heraus möglich erscheint. Der Einsatz von *n*-Hexan bei allen bis hier geschilderten Elutionen hatte zum Zweck, bei der Auf-

arbeitung von Umweltproben eine unpolare Fraktion zu erhalten, mit der einerseits Matrixanteile abgetrennt werden, die demzufolge nicht in den polareren Eluaten stören können, in der andererseits aber auch entsprechend unpolare Analyten wie beispielsweise PAHs enthalten sind und somit detektiert werden können^[47]. Die Verwendung von Ethansäure anstelle eines ebenso elutionskräftigen Methanol/Ethansäure-Gemisches ergab sich aus der praktischen Beobachtung, daß reine Ethansäure einfacher, das heißt bei konstantem Druck, verdampft werden kann, während hingegen bei Methanol/Ethansäure-Gemischen das Vakuum am Rotationsverdampfer regelmäßig nachjustiert werden muß. Das Einengen der Eluate ist unerlässlich für die Analytanreicherung bzw. zur Vorbereitung auf die Derivatisierungen.

4.4.2 Fraktionierende Elution von Oasis HLB bei der Analyt-anreicherung aus dotierten Leitungswasserproben

Als sich neben dem SDB-1 Material auch Oasis HLB (Waters Corporation) als potentiell geeignete Festphase erwiesen hatte, wurde dieses Sorbens in analog durchgeführten Extraktionen von dotiertem Leitungswasser eingesetzt und das Elutionsverhalten der bereits zuvor untersuchten Analyten bestimmt. In einem Vorversuch wurde dieselbe Elutionsreihenfolge eingehalten, die auch bei SDB-1 erfolgreich war, wobei mit den beiden wichtigsten Lösungsmitteln Chloroform und Methanol eine Unterfraktionierung durchgeführt wurde, um eine Abschätzung der einzusetzenden Elutionsvolumina zu ermöglichen. Tabelle 25 zeigt die Verteilung der Analyten in den entsprechenden Eluatfraktionen.

Elution des Festphasenextraktes (500 mg Oasis HLB) einer dotierten 2,8 L-Leitungswasserprobe (9 Analyten: je 18 ng/L)										
Elutionsfolge F bei Oasis HLB		Detektion der Analyten								
Fraktion	Vol.	Es	Ö	Et	M	T	C	I	K	D
<i>n</i> -Hexan	30 mL	-	-	-	-	-	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.
Trichlormethan	20 mL	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Trichlormethan	10 mL	(+)	(+)	(+)	(+)	+	-	-	-	-
Methanol	20 mL	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	+	+	+	+	+
Methanol	10 mL	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	-	(+)	-	-	-

+ : detektiert / (+): schwach detektiert / - : nicht detektiert / n.u.: nicht untersucht
 E: Estron / Ö: Östradiol / Et: Ethinylöstradiol / M: Mestranol
 T: Triclosan / C: Clofibrinsäure / I : Ibuprofen / K : Ketoprofen / D : Diclofenac

Tab. 25: Detektion ausgewählter polarer und mittelpolarer Analyten in verschiedenen Eluatfraktionen nach der Festphasenextraktion einer dotierten 2,8 L-Leitungswasserprobe mit Oasis HLB

Die erzielten Ergebnisse belegen, daß auch bei diesem Sorbens die gleiche Elutionsfolge grundsätzlich geeignet ist, eine Separation der Analyten zu bewirken. Allerdings scheint Oasis HLB die Analyten weniger stark zu adsorbieren als SDB-1, so daß Triclosan bereits zusammen mit den Steroiden eluierte. Der gleiche Effekt führte dazu, daß die sauren Analyten fast vollständig in der ersten methanolischen Fraktion auftraten, wodurch auf die Verwendung von Ethansäure verzichtet werden konnte. Um diese ersten Befunde abzusichern, wurden nach entsprechender Wiederholung der Extraktion dotierter Leitungswasserproben (Dotierungskonzentration Steroide: je 18 ng/L, saure Analyten: je 36 ng/L) bei gleicher Elutionsreihenfolge die Wiederfindungsraten gegenüber den reinen Standards bestimmt.

Elution der Festphasenextrakte (500 mg Oasis HLB) von dotierten 2,8 L-Leitungswasserproben (9 Analyten: je 18 ng/L oder 36 ng/L)										
Elutionsfolge E bei Oasis HLB		%-Wiederfindung der Analyten für n = 3 (%-relative Standardabweichung für n = 3)								
Fraktion	Vol.	Es	Ö	Et	M	T	C	I	K	D
<i>n</i> -Hexan	30 mL	/	/	/	/	/	/	/	/	/
TCM	30 mL	90 (12%)	89 (2%)	106 (17%)	99 (5%)	16 (24%)	-	-	-	-
Methanol	30 mL	/	/	/	/	71 (4%)	87 (7%)	73 (15%)	82 (5%)	91 (11%)

+ : detektiert / - : nicht detektiert / n.u.: nicht untersucht
 E: Estron / Ö: Östradiol / Et: Ethinylöstradiol / M: Mestranol
 T: Triclosan / C: Clofibrinsäure / I : Ibuprofen / K : Ketoprofen / D : Diclofenac

Tab. 26: Wiederfindungsraten ausgewählter polarer und mittelpolarer Analyten in verschiedenen Eluatfraktionen nach der Festphasenextraktion dotierter 2,8 L-Leitungswasserproben mit Oasis HLB

Die in Tabelle 26 zusammengefaßten Ergebnisse bestätigten die Voruntersuchungen und zeigten, daß mit der eingesetzten Elutionsfolge die untersuchten Steroide gut von den Carbonsäuren abgetrennt werden konnten. Triclosan allerdings trat hier im Gegensatz zu den Extraktionen mit SDB-1 sowohl in der Trichlormethanfraktion als auch im methanolischen Eluat auf. Dieser Nachteil relativiert sich allerdings dadurch, daß dieser phenolische Analyt aufgrund seiner chemischen Struktur einfach silyliert werden kann und sowohl parallel mit den Steroiden als auch zusammen mit den Säuren derivatisiert werden konnte. Die relativ geringe Standardabweichung der Triclosanwiederfindung in der Trichlormethanfraktion wies zudem auf eine gute Reproduzierbarkeit der Methode hin, so daß die hier vorgestellte Elutionsfolge von je 30 mL *n*H/TCM/MeOH bei der Verwendung von Oasis HLB beibehalten wurde.

Um schließlich einen Überblick über das Elutionsverhalten einer möglichst breiten Palette von Analyten zu bekommen, wurden zu einem späten Zeitpunkt der Arbeit, als praktisch alle Aspekte der Methodenentwicklung abgeschlossen waren, Leitungswasser mit einer Mischung von 70 Standardanalyten dotiert, die sowohl

aufgrund ihres möglichen Auftretens in der Umwelt, als auch hinsichtlich ihrer chemischen Struktur ausgewählt waren. Eine ausführliche Erläuterung dieser Auswahl findet sich ebenso wie die IUPAC-Bezeichnungen der Analyten in Kapitel 2. Die zuvor untersuchten Steroide wurden hier nicht mehr berücksichtigt, weil sich, wie in dem folgenden Kapitel 5 beschrieben, bei der Anwendung der Silylierung nach SOP 3 auf Realproben Einschränkungen der Methode ergeben hatten. Die sauren Analyten wurden hier entsprechend SOP 5 mit ECF/F₃EtOH derivatisiert (Kapitel 3.2). In der untenstehenden Auflistung ist das Elutionsverhalten dieser Substanzen nach der Festphasenextraktion mit 1 g Oasis HLB aufgeführt. Aus Platzgründen werden Abkürzungen und Trivialnamen verwendet.

Elution der Festphasenextrakte (1g Oasis HLB) von dotierten 2,8 L-Leitungswasserproben (Analyten: je 18 ng/L, *: 36 ng/L **: 180 ng/L)							
Neutrale & basische Analyten, Phenole				Phenole, Carbonsäuren			
Analyt	<i>n</i> -H	TCM	MeOH	Analyt	<i>n</i> -H	TCM	MeOH
Anethol	+	-	-	Pentachlorphenol	-	-	+
HCB	+	-	-	Triclosan	-	+ (8)	+
<i>t</i> -HCE	+	-	-	PAA, PAA-D5	-	-	+
4-Chloranisol	+	-	-	2-CBA	-	-	+
4-Bromanisol	+	-	-	4-CBA	-	-	+
2,3-Dichloranisol	+	+ (6)	-	2-CPAA	-	-	+
2,4-Dibromanisol	+	+ (11)	-	4-CPAA	-	-	+
2,3,4-Trichloranisol	+	+ (19)	-	3,5-DCBA	-	-	+
2,4,6-Tribromanisol	+	-	-	2,4-DCBA	-	-	+
<i>o,p</i> -DDT	+	+ (12)	-	3,4-DCBA	-	-	+
Dichlobenil	+ (19)	+	-	2,6-DCPAA	-	+ (2)	+
DEET	-	+	-	3,4-DCPPA/D ₂ **	-	-	+
Bayrepel®	-	+	-	3,5-DCPAA	-	-	+
HHCB-Lacton	-	+	-	3,4-DCPAA	-	-	+
2-Chloranilin	-	+	-	3,4,5-TCBA	-	-	+
2-Bromanilin	-	+	-	2,3,6-TCPAA	-	-	+
4-Bromindol	-	+	-	2,4,5-T	-	-	+
2,4-Dichloranilin	-	+	-	Mecoprop, MD3	-	-	+
2,4-Dibromanilin	-	+	-	MCPA	-	+ (2)	+
2,4,6-Trichloranilin	+ (7)	+	-	Dichloprop	-	-	+
2,4,6-Tribromanilin	+ (2)	+	-	Clofibrinsäure	-	-	+
Atrazin	-	+	-	Ibuprofen	-	-	+
Terbuthylazin	-	+	-	Ibu-OH	-	-	+
Coffein, C15N2	-	+	-	Ibu-COOH	-	-	+
Propyphenazon	-	+	-	Bayrepel-Säure	-	-	+
Irgarol	-	+	-	Gemfibrozil	-	-	+
Carbamazepin	-	+	-	Fenoprofen	-	-	+
2-Chlorphenol	-	+ (19)	+	Naproxen	-	-	+
4-Cl-3-Me-phenol	-	+ (28)	+	Ketoprofen	-	-	+
2-Bromphenol	-	+	+ (38)	Diclofenac	-	-	+
2,4-Dichlorphenol	-	+ (21)	+	Indometacin	-	-	+
2,4-Dibromphenol	-	-	+	Bezafibrat	-	-	+
2,4,5-Trichlorphenol	-	-	+	Salicylsäure*	-	-	+
2,4,6-Tribromphenol	-	-	+				

+: detektiert (): %-Anteil -: nicht detektiert

Tab. 27: Detektion von 70 ausgewählten Analyten in verschiedenen Eluatfraktionen nach der Festphasenextraktion von dotierten 2,8 L-Leitungswasserproben mit Oasis HLB

Für eine einfachere Bewertung wurden die Verbindungen grob in vier Gruppen eingeteilt. Bei weitgehend neutralen Stoffen sowie den Carbonsäuren sind die Felder nicht hinterlegt, bei überwiegend basischen Analyten sind sie schwach grau, bei den leicht aciden Phenolen stärker grau hinterlegt.

Die tabellarische Übersicht (Tab. 27) zeigt, daß die weitgehend neutralen Analyten ausschließlich oder vorwiegend mit *n*-Hexan und/oder Trichlormethan eluierten. Dabei führt die Anwesenheit polaritätsvermittelnder funktioneller Gruppen in den Molekülen zu einer stärkeren Bindung an das Sorbens, so daß die Analyten mit Amid-, Nitril-, Lacton- oder aliphatischer Hydroxyfunktion, also DEET, Dichlobenil, HHCB-Lacton und Bayrepel nur wenig oder nicht mit *n*-Hexan, aber vollständig mit Trichlormethan eluierten. Bei der Gruppe der basischen Verbindungen, die allgemein eine etwas ausgeprägtere Polarität aufweisen, fand eine Ablösung von der Festphase praktisch vollständig durch Trichlormethan statt, nur die beiden trihalogenierten Aniline waren in geringen Anteilen in der *n*-Hexanfraktion zu detektieren. Wie sich bereits in den vorangegangenen Versuchen abzeichnete, wiesen die untersuchten Phenole das uneinheitlichste Elutionsverhalten auf und wurden in unterschiedlichen Anteilen sowohl in der Chloroform- als auch in der Methanolfraktion gefunden. Die am stärksten polaren Analyten hingegen wurden praktisch ausschließlich durch Methanol von dem Sorbens gelöst. Nur zwei Verbindungen, 2,6-Dichlorphenylethansäure (2,6-DCPAA) und (4-Chlor-2-methylphenoxy)ethansäure (MCPA) waren in sehr geringen Anteilen auch in der Trichlormethanfraktion nachzuweisen.

Die hier vorgestellten Ergebnisse belegten, daß mittels der beschriebenen fraktionierenden Elution unterschiedliche Klassen von Analyten zwar nicht vollständig, aber weitgehend voneinander getrennt werden konnten. Die zu erwartenden Vorteile dieser Auftrennung lagen darin, daß die sauren Analyten ohne Verluste an neutralen oder basischen Analyten separat derivatisiert werden konnten. Zudem war eine deutliche Matrixbelastung der einzelnen Fraktionen zu erwarten. Diese Gründe führen dazu, daß das Konzept der fraktionierenden Elution sowohl für weitere methodische Versuche als auch bei der Analyse von Realproben eingesetzt wurde.

4.5 Zusammenfassung

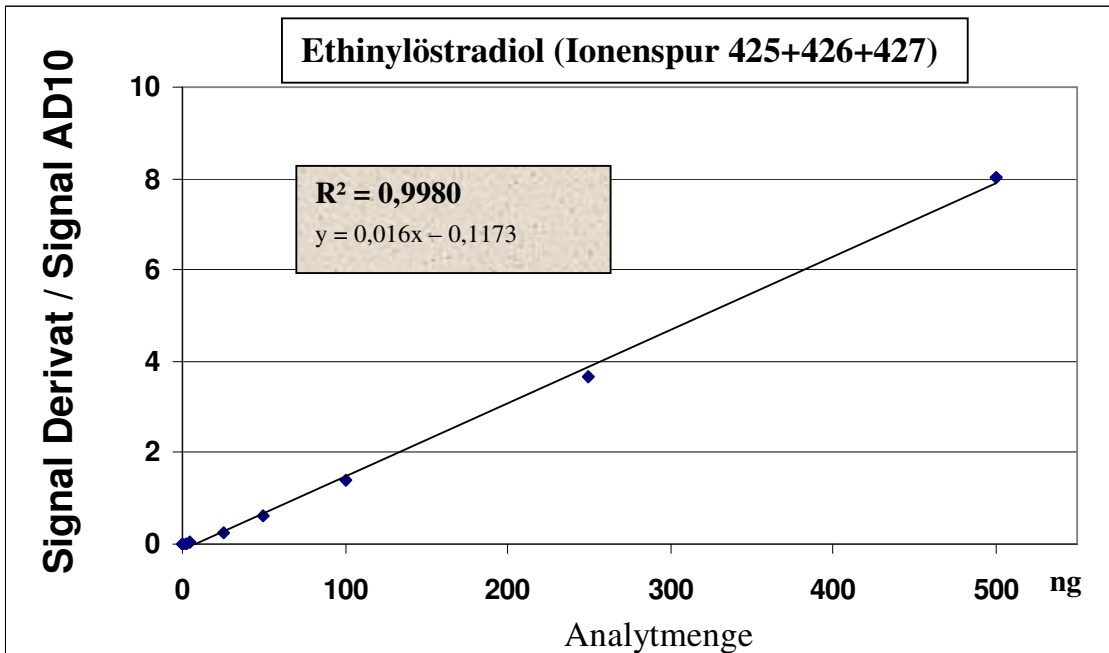
Für die spezielle Ausrichtung dieser Arbeit, der spurenanalytischen Bestimmung einer größeren Anzahl organischer Analyten in unterschiedlichen aquatischen Systemen, wurden die technischen Komponenten für eine möglichst unkomplizierte und gleichzeitig effektive Analytanreicherung entwickelt oder optimiert. Dazu zählt ein Wasserschöpfer zur kontaminationsfreien Entnahme von Wasserproben von 0,25 bis 3 L Volumen, eine Filtrationseinheit, mittels der auch hoch partikelbelastete Proben *on-line* filtriert werden können, sowie eine wiederverwendbare Extraktionsgeometrie für die Aufnahme variabler Mengen an losem Festphasenmaterial (*bulk material*). Die besondere Geometrie der Filtereinheit sowie der Ersatz handelsüblicher Fritten durch Glasfasermaterialien erlauben hohe Flußraten, woraus eine zügige Probenaufarbeitung resultiert. Für die stufenweise Elution von Analyten unterschiedlicher Polarität nach der Festphasenextraktion dotierter Leitungswasserproben wurden unterschiedliche Lösungsmittelsequenzen an zwei ausgewählten Festphasenmaterialien (SDB-1 und Oasis HLB) getestet. Aus diesen Versuchen wurde eine fraktionierende Elution entwickelt, die eine Mischung von bis zu 70 Analyten in drei Gruppen auftrennt, wobei die unpolarsten, neutralen Verbindungen eher mit *n*-Hexan eluieren, mittelpolare und basische Verbindungen bevorzugt mit Trichlormethan und stärker polare, saure Analyten mit Methanol. Die Auftrennung ist bei vielen Verbindungen vollständig, einige Analyten allerdings verteilen sich über zwei Fraktionen, wobei aber in den meisten Fällen die bevorzugte Anreicherung ($\geq 80\%$) in einem Lösungsmittel erfolgt.

5 Validierung und Optimierung der analytischen Methoden zur Bestimmung östrogenen Analyten

Nach der Etablierung der in Abschnitt 3.1.2 als SOP 2 und 3 beschriebenen Silylierungsreaktionen sollten diese Methoden hinsichtlich ihrer Eignung zur quantitativen Bestimmung östrogenen Analyten unter Realbedingungen, das heißt vor allem über einen größeren Konzentrationsbereich und in Anwesenheit natürlicher Matrices, untersucht werden.

5.1 Ermittlung quantitativer Parameter bei der Bestimmung östrogenen Steroide und Triclosan

Zunächst wurden Linearität, Reproduzierbarkeit und Detektionsgrenzen der reinen Derivatisierung für die Steroide Estron, Östradiol, Mestranol und Ethinylöstradiol sowie für das phenolische Personal Care-Product Triclosan bestimmt. Dazu wurden in dreifacher Wiederholung Mischungen dieser Verbindungen, in denen die Analyten jeweils in definierten Konzentrationen vorlagen, gemäß SOP 3 umgesetzt, ein Aliquot von 2 µL der jeweiligen Probe in das GC/MS-Analysesystem injiziert, und die resultierenden Derivatsignalfächen ausgesuchter Fragmentationen in bezug zu der Signalfäche des Volumenstandards Anthracen-D₁₀ (AD10) auf der Ionenspur 188 gesetzt. Dieses Vorgehen wurde für insgesamt 8 unterschiedliche Konzentrationsstufen wiederholt. Auf diese Weise wurde für jede derivatisierte Menge eines Analyten (die Absolutmengen an Analyt pro Probe lagen zwischen 500 pg und 500 ng) hinsichtlich der ausgewählten Ionenspuren ein Signalfächenquotient ermittelt. Diese Vorgehensweise erlaubte eine gut reproduzierbare Auswertung, die unabhängig von den eingesetzten Probenvolumina war. Die Bestimmung der Linearität der Derivatisierung erfolgte dann, indem für jeden Analyten eine lineare Regression über die gegen die jeweiligen Stoffmengen aufgetragenen Signalfächenquotienten durchgeführt wurde. Zur Veranschaulichung ist in Abbildung 64 eine lineare Regression über den gesamten Konzentrationsbereich für Ethinylöstradiol gegeben, das in diesem Beispiel auf den Ionenspuren 425+426+427 ausgewertet wurde.



**Abb. 64a: Darstellung der linearen Regression von 0,5 bis 500 ng Ethinyl-
 östradiol für die Ionenspuren 425+426+427 nach Derivatisierung
 mittels MSTFA/TMIS/2-ME gemäß SOP 3**

In Abbildung 64a sind die ermittelten Signalflächenverhältnisse gegen die eingesetzten Absolutmengen (0,5 ng / 2,5 ng / 5 ng / 25 ng / 50 ng / 100 ng / 250 ng / 500 ng) aufgetragen. Die lineare Regression sowie die Bestimmung des Regressionskoeffizienten und der Geradengleichung wurden durch ein automatisches Tabellenkalkulationsprogramm erstellt. Die Bestimmung der Derivatsignalfläche auf der Summe mehrerer Ionenspuren erfolgte aufgrund der Beobachtung, daß die massenspektrometrische Detektion einzelner Ionen hoher Masse bei den Steroidsilylderivaten nicht exakt war. Dieser bei Ionenfallendetektoren bekannte Effekt kann oft durch die Auswertung eines Massebereiches ausgeglichen werden kann. Obwohl ein Regressionskoeffizient von 0,999 zunächst ein gutes Ergebnis darstellt, sollen anhand des vorgestellten Beispiels die Einschränkungen einer solchen automatischen Einzelauswertung aufgezeigt werden. Tatsächlich wurde der Wert des Regressionskoeffizienten in diesem Fall überwiegend durch die weit voneinander entfernten Meßpunkte bei den höheren Konzentrationen bestimmt. Anhand der gegebenen Abbildung ist aber keine gesicherte Aussage zu der Linearität bei niedrigeren Konzentrationen gegeben, die ja in der Spurenanalytik von besonderer Wichtigkeit sind. Die Betrachtung der Verteilung der Meßpunkte gegenüber der Regressionsgeraden deutet zudem auf einen schwach potentiell geprägten Verlauf. Eine analoge Betrachtung für die vier Meßpunkte zwischen 500 pg und 25 ng zeigt hingegen einen schlechteren Wert des Regressionskoeffizienten, wie es in Abbildung 64b vorgestellt ist.

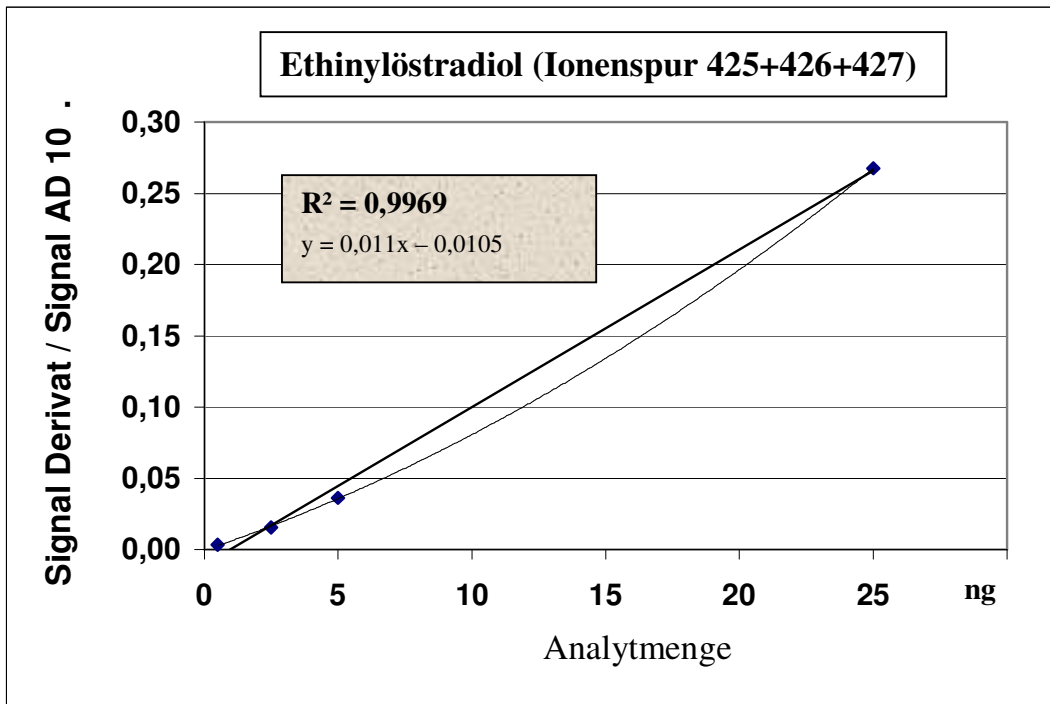


Abb. 64b: Darstellung der linearen Regression von 0,5 bis 25 ng bei Ethinylöstradiol für die Ionenspur 425+426+427 nach Derivatisierung mittels MSTFA/TMIS/2-ME gemäß SOP 3

Hier wird zudem der Effekt deutlicher, daß der wahre Verlauf nicht der linearen Trendlinie entspricht, sondern eher eine potentielle Funktion vorliegt, wie es die dünn gezeichnete Linie verdeutlicht. Dieser Effekt trat auch bei der Auswertung der Molekülionen der anderen untersuchten Steroidderivaten auf, so daß mit hoher Wahrscheinlichkeit keine zufällige Streuung der Meßpunkte zu einem potentiellen Verlauf geführt hatte, sondern die Ursache vermutlich eher in der massenspektrometrischen Detektion als in der Derivatisierung lag. Aus diesem Grund wurden die gleichen Messungen hinsichtlich der Detektion des leichteren Fragmentions 285 ausgewertet (Abbildung 65a,b):

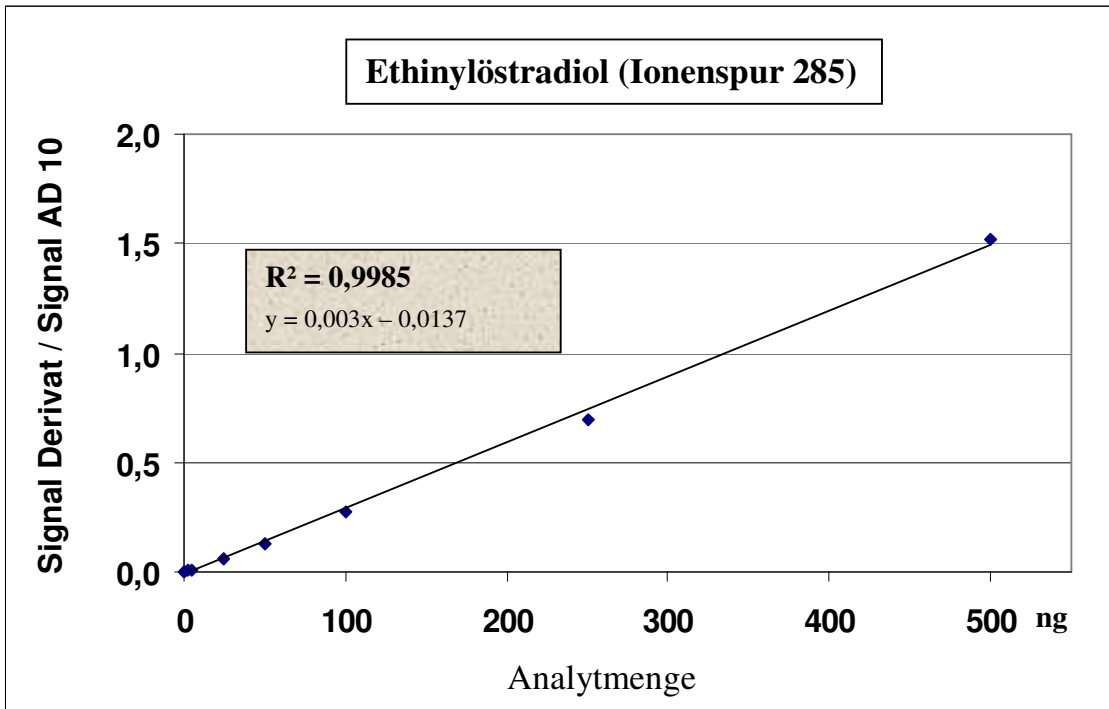


Abb. 65a: Darstellung der linearen Regression von 0,5 bis 500 ng bei Ethinylöstradiol für die Ionenspur 285 nach Derivatisierung mittels MSTFA/TMIS/2-ME gemäß SOP 3

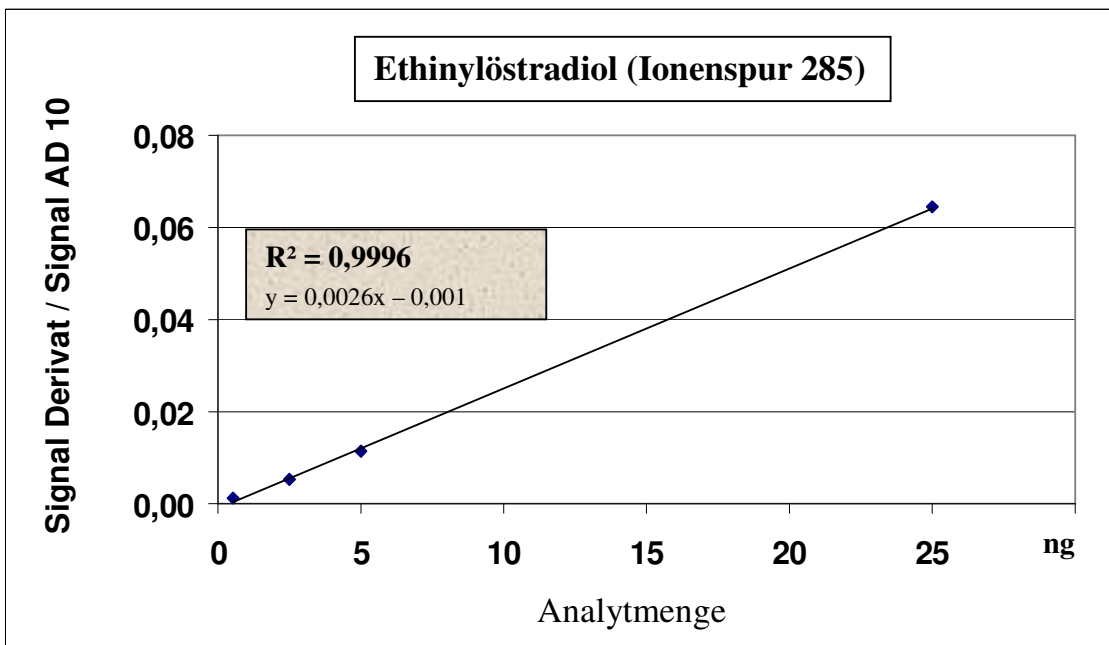


Abb. 65b: Darstellung der linearen Regression von 0,5 bis 25 ng bei Ethinylöstradiol für die Ionenspur 285 nach Derivatisierung mittels MSTFA/TMIS/2-ME gemäß SOP 3

Die in Abbildung 65 a und b vorgestellten Ergebnisse bezüglich des Auswertions 285 zeigten eine verbesserte Linearität sowohl bei einer Regression über den gesamten Meßbereich, als auch bei kleinen Werten von 0,5 bis 25 ng Analytmenge.

Dieser Verbesserung steht allerdings auch der Nachteil einer geringeren Detektionsempfindlichkeit auf der Ionenspur 285 gegenüber, die sich in den Abbildungen in kleineren Signalflächenquotienten ausdrückt. An diesem Beispiel wird deutlich, daß die Analyse von Kalibrierfunktionen optimalerweise über mehrere Meßbereiche durchgeführt und durch eine Inaugenscheinnahme der graphischen Auswertung abgesichert werden sollte. Aus diesem Grund wurden für alle Analyten jeweils mehrere lineare Regressionen über verschiedene Meßbereiche durchgeführt, wie es in der nachfolgenden Tabelle 28 aufgeführt ist.

Reproduzierbarkeit, Bestimmungsgrenzen und Koeffizienten der linearen Regression bei der Silylierung mit MSTFA/TMIS/2-ME					
Meßbereich	Zahl der Meßpunkte	Analyten (Ionenspuren)			
		Estron (399-402)	Östradiol (284-287)	Mestranol (367-368)	Ethinyl- östradiol (285)
0,5-500 ng	8	0,999	0,999	0,998	0,999
0,5-250 ng	7	0,999	0,999	1,000	1,000
0,5-100 ng	6	1,000	0,999	0,999	0,999
0,5-50 ng	5	1,000	1,000	1,000	1,000
0,5-25 ng	4	0,999	0,999	0,999	1,000
LOQ* (s/n ≥ 9)		≤ 0,5 ng	0,5 ng	0,5 ng	0,5 ng
RSD** (n = 3)		1 - 13 %	1 - 4 %	2 - 8 %	1 - 12 %
Meßbereich	Zahl der Meßpunkte	Triclosan (345-347)	*: Bestimmungsgrenze (<i>Limit of Quantification</i>) **: RSD = Relative Standardabweichung der mittleren Derivatsignalflächen für n = 3 Ansätze		
		0,999			
1 - 500 ng	7	1,000			
1 - 200 ng	6	1,000			
1 - 100 ng	5	1,000			
1 - 50 ng	4	1,000			
LOQ (s/n ≥ 9)		≤ 1 ng			
RSD (n = 3)		2 - 9 %			

Tab. 28: Reproduzierbarkeit, Bestimmungsgrenzen und Koeffizienten der linearen Regression ausgewählter Analyten bei der Silylierung mit MSTFA/TMIS/2-ME gemäß SOP 3

Die in Tabelle 28 aufgeführten Ergebnisse belegten für alle Analyten bezüglich der ausgewählten Ionenspuren eine außerordentlich gute Linearität der Silylierungsreaktion. Die relativ geringen Standardabweichungen wiesen zudem eine gute Reproduzierbarkeit der Derivatisierung bei allen untersuchten Analyten über den gesamten Meßbereich nach und die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen waren vielversprechend niedrig, wobei hier allerdings noch keine möglichen Detektionsverluste

durch eine Festphasenextraktion oder den Einfluß einer natürlichen Matrix berücksichtigt wurden

Nach dieser Bewertung des Derivatisierungsschrittes wurde auch die Gesamtmethode geprüft, also die Durchführung einer Festphasenextraktion mit anschließender fraktionierender Elution (je 30 mL *n*-Hexan und Chloroform) und Derivatisierung des Chloroformeluates zur Bestimmung der östrogenen Analyten aus dotierten Leitungswasserproben. Zur Extraktion wurden sowohl 500 mg SDB-1 als auch die gleiche Menge Oasis HLB und C18 Polar Plus als Festphasenmaterial eingesetzt, um die Effektivität dieser Materialien vergleichen zu können (siehe Tabelle 29). Alle Versuche wurden dreifach wiederholt.

Wiederfindung östrogenen Analyten aus dotierten 2,8 L-Leitungswasserproben bei pH 7				
(Dotierungskonzentration: je 18 ng Analyt/L)				
	Analyt			
	Estron	Östradiol	Mestranol	Ethinylöstradiol
WFR C18 Polar Plus	81 %	91 %	94 %	97 %
RSD (n = 3)	4 %	3 %	5 %	6 %
WFR SDB-1	85 %	95 %	100 %	87 %
RSD (n = 3)	4 %	9 %	4 %	9 %
WFR Oasis HLB	90 %	89 %	106 %	99 %
RSD (n = 3)	12 %	2 %	17 %	5 %

Tab. 29: Wiederfindungsraten östrogenen Analyten aus 2,8 L-Leitungswasser nach Festphasenextraktion, fraktionierender Elution und Derivatisierung des Chloroformeluates mittels MSTFA/TMIS/2-ME

Die bei diesen Versuchen erzielten Wiederfindungsraten von 81 bis 106 % sind bei allen eingesetzten Festphasenmaterialien gut, wobei bereits aus der in Kapitel 3.1 zitierten Literatur zu entnehmen war, daß die östrogenen Steroide im allgemeinen relativ hohe Wiederfindungen zeigen. Eine vergleichende Untersuchung in diesem Zusammenhang ist von *Lopez de Alda* und *Barcelo* veröffentlicht worden^[266]. Insgesamt schien damit die Gesamtmethode sehr zufriedenstellende Ergebnisse zu liefern, allerdings zeichnete sich ab, daß bereits durch die Leitungswassermatrix ein hoher Rauschuntergrund gegenüber der Messung reiner Standardverbindungen zu deutlich höheren Nachweis- und Bestimmungsgrenzen führen würde. Aus diesem Grund wurde eine stark matrixbelastete 2,8 L-Umweltprobe von der Hamburger Alster analog zu den Leitungswasseruntersuchungen dotiert und aufgearbeitet, wobei Oasis HLB als Festphasenmaterial eingesetzt wurde. In diesem Versuch konnte auch nach Wiederholung der Untersuchung kein Analyt nachgewiesen werden, gleichzeitig trat aber ein enormer Rauschuntergrund in den entsprechenden Messungen auf. Da unklar war, ob dieser unerwartete Effekt durch matrixinduzierte Einschränkungen der Extraktion, Derivatisierung oder Detektion verursacht worden war, wurde ein

Chloroform-Eluat einer Umweltprobe mit jeweils 50 ng der östrogenen Analyten dotiert und gemäß SOP 3 derivatisiert. Auch in diesem Fall konnten die Analyten nicht mehr detektiert werden. Offensichtlich hatte also die natürliche Matrix einen stark negativen Effekt auf die Derivatisierung und/oder Detektion der Steroidanalyten.

5.2 Entwicklung einer zweistufigen Derivatisierung von Steroiden

Um für eine verbesserte Bestimmung der untersuchten Östrogene den Matrixanteil der Chloroformeluat zu reduzieren, wurde versucht, ein Reaktions-clean-up analog zu der in Abschnitt 3.2 beschriebenen extraktiven Aufarbeitung nach der Derivatisierung saurer Analyten zu realisieren. Dazu wurde auf ein Konzept der Derivatisierung mittels Pentafluorbenzoylchlorid (PFBzCl) in wäßrigem Milieu zurückgegriffen, das ursprünglich von *Renberg*^[267] und *Wahlberg et al.*^[268] für die Bestimmung von Phenolen in Umweltproben etabliert und später von *Kuch* und *Ballschmiter*^[82] auf die Steroidanalytik übertragen wurde. Der besondere Aspekt dieser Methode ist, daß durch die Umsetzung in wäßrigem Milieu nur phenolische Gruppen acyliert werden, während aliphatische Alkohole unverändert bleiben. Durch eine anschließende 1/1-Extraktion des Reaktionsansatzes verbleibt ein großer Teil der Matrix in der wäßrigen Phase, während die Analytderivate in der organischen Phase angereichert werden. Die Peracylierung aller Hydroxygruppen von Steroiden mit PFBzCl in Abwesenheit von Wasser, wie sie beispielsweise von *Xiao et al.*^[269] eingesetzt wurde, ist bei der Analyse von matrixreichen Umweltproben nur unter Verwendung hochselektiver Detektionsmethoden wie etwa der Massenspektrometrie mit negativer chemischer Ionisation ausreichend empfindlich. Zudem nimmt mit jeder derivatisierten Funktion die Molmasse des entsprechenden Analyten um 194 amu zu, so daß bei di- oder trihydroxylierten Verbindungen sehr hohe Molekulargewichte resultieren. *Xiao et al.* detektierten beispielsweise im MS/NCI-Modus das Di-PFBz-Östradiol bei 660 amu und Tri-PFBz-Estriol bei 870 amu.

Für die Pentafluorbenzoylierung der östrogenen Analyten im Rahmen dieser Arbeit wurde die Durchführungsvorschrift SOP 7 entwickelt, die sich eng an den Literaturvorgaben orientiert:

SOP 7: Pentafluorbenzoylierung phenolischer Analyten in wäßriger Lösung

Lösungen von Referenzsubstanzen oder Festphasenextrakte werden in einem vial von 1,5 mL Innenvolumen mittels eines Stickstoffstroms gerade zur Trockene eingeeengt und der Rückstand nachfolgend mit 1 mL Wasser sowie 50 µL 1 N Kalilauge versetzt. Das Gefäß wird verschlossen und entweder für 20 s manuell geschüttelt oder kurz mit Ultraschall behandelt, um den Rückstand in Lösung zu bringen. Anschließend werden 10 µL Toluol und 2 µL Pentafluorbenzoylchlorid auf die wäßrige Phase gegeben, die Reaktionsmischung im geschlossenen Gefäß kurz geschüttelt, dann auf etwa 343 K (70 °C) erwärmt und nachfolgend für weitere 60 s geschüttelt. Nachdem der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt ist, wird er zweifach mit je 400 µL *n*-Hexan, dem der Volumenstandard AD10 zugesetzt ist, extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 400 µL Wasser gewaschen und nach dem Abtrennen der wäßrigen Phase über einer Spatelspitze wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Dieser Trocknungsschritt wird so oft wiederholt, bis das Trockenmittel in der Lösung seine feinkörnige Konsistenz behält. Für die nachfolgende GC/MS Messung niedriger Analytmengen (etwa < 100 ng) wird die Lösung zuvor im Stickstoffstrom auf ein Volumen von ca. 100 µL reduziert, während bei größeren Analytmengen (etwa > 500 ng) proportional verdünnt wird.

Bei der Umsetzung von Estron, Östradiol, Ethinylöstradiol und Mestranol entsprechend SOP 7 wurden die entsprechenden monopentafluorbenzoylierten Derivate der drei erstgenannten Analyten detektiert, während Mestranol aufgrund des Fehlens einer Phenolfunktion erwartungsgemäß kein Derivat lieferte. In Abbildung 66 ist die Umsetzung der phenolischen Edukte zu den entsprechenden PFBz-Derivaten schematisch dargestellt.

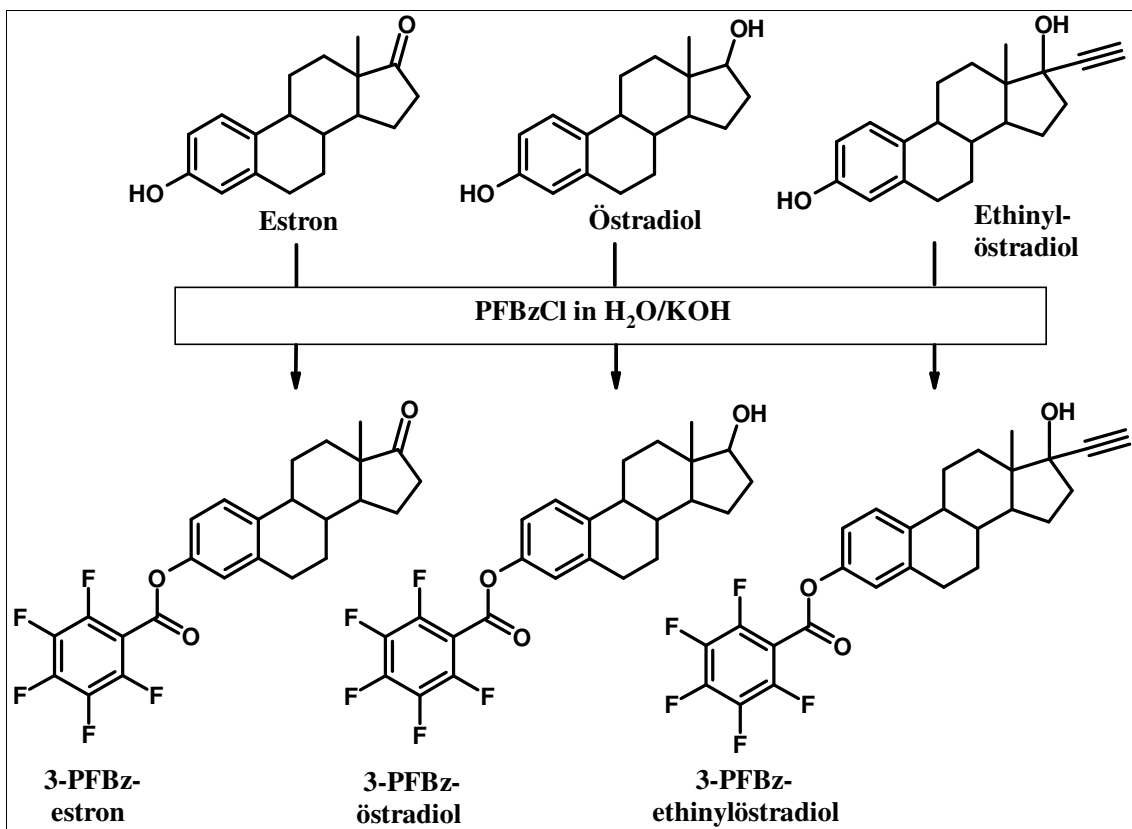


Abb. 66: Reaktionsprodukte der Pentafluorbenzoylierung von Estron, Östradiol und Ethinylöstradiol gemäß SOP 7

Allerdings zeigten alle drei Pentafluorbenzoylderivate und ebenso wie das freie Mestranol auf dem verwendeten Meßsystem wenig zufriedenstellende chromatographische Eigenschaften, die vor allem auf das Vorhandensein der freien Hydroxygruppen bei Mestranol und den Diolderivaten sowie der Ketofunktion bei Estron zurückzuführen waren, so daß die Methode in dieser Form ungeeignet für die spurenanalytische Erfassung der Steroide erschien. Um diesen Nachteil auszugleichen, wurde die beschriebene Pentafluorbenzoylierung mit einer Silylierung entsprechend SOP 3 gekoppelt, um die verbleibenden polaritätsvermittelnden chemischen Funktionen in unpolare Trimethylsilylether zu überführen. Tatsächlich konnten in diesen gekoppelten Umsetzungen die entsprechenden Pentafluorbenzoyl-trimethylsilylderivate sowie das bereits bekannte Trimethylsilylmestranol erzeugt werden. Die Abbildungen 67 und 68 geben eine Übersicht über das Reaktionsschema und die resultierenden Massenspektren der gemischtderivatisierten Analyten.

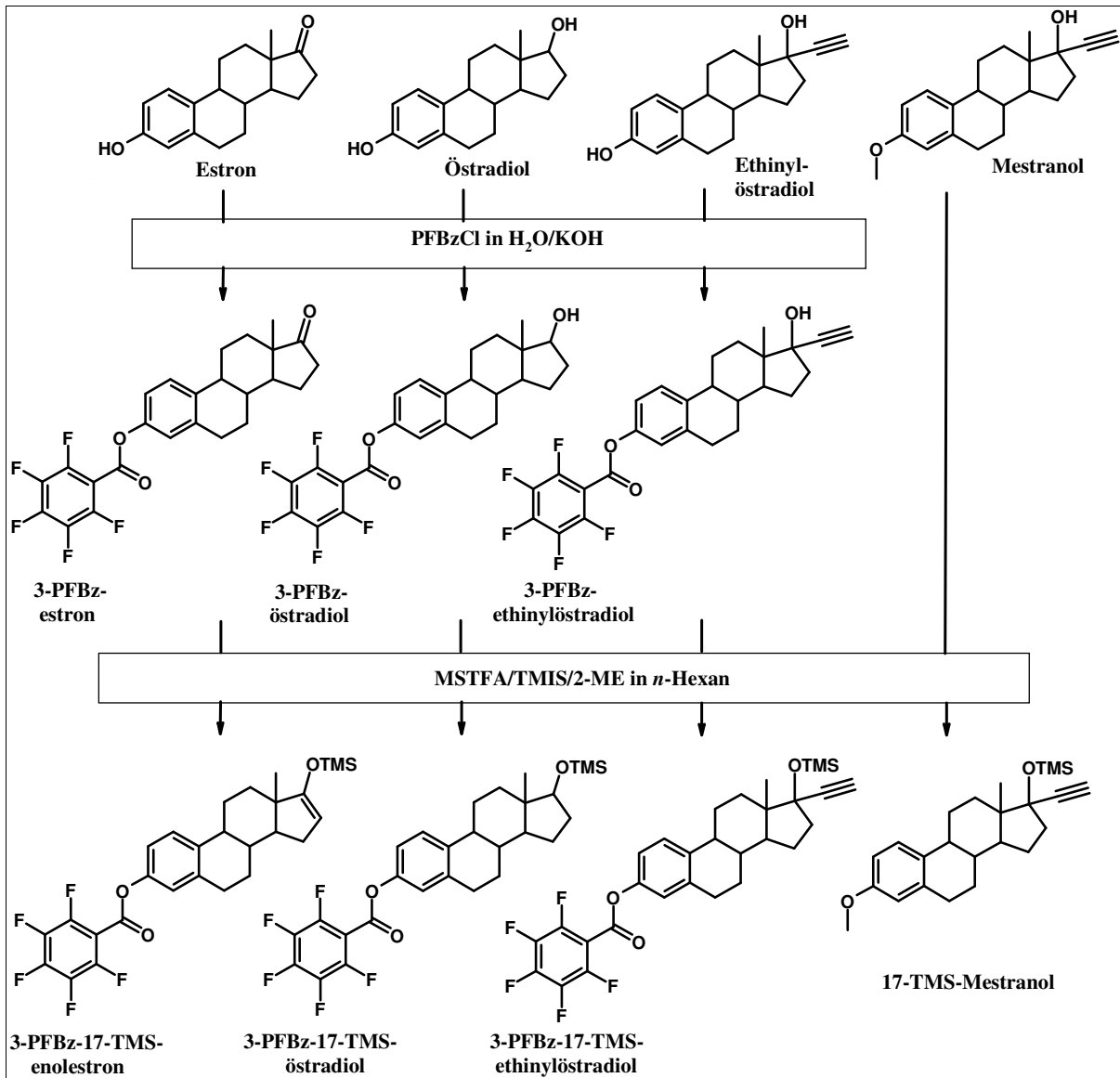


Abb. 67: Umsetzung von Estron, Östradiol, Ethinylöstradiol und Mestranol in einer zweistufigen Derivatisierung gemäß SOP 7 + 3

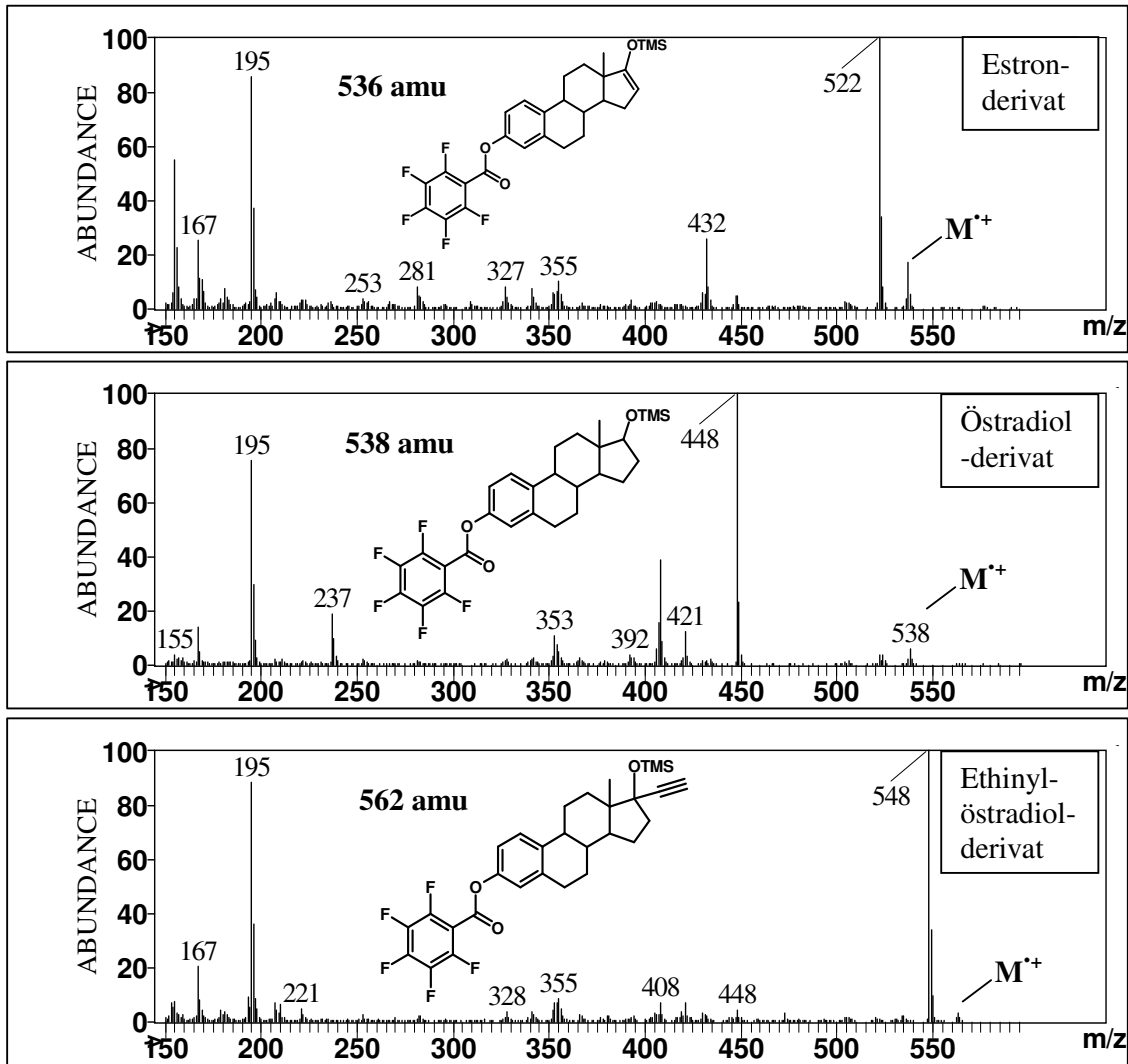


Abb. 68: Massenspektren der PFBz-TMS-derivate von Estron, Östradiol und Ethinylöstradiol nach einer zweistufigen Derivatisierung gemäß SOP 7 + 3

Die wichtigste Fragestellung hinsichtlich dieser zweistufigen Derivatisierung war natürlich, ob der Extraktionsschritt bei der Pentafluorbenzoylierung zu einer ausreichenden Matrixabreicherung geführt hatte. Deshalb wurden 2 identische 2,8 L-Umweltproben mit den Steroidanalyten dotiert (je 18 ng/L) und analog zu den vorigen Versuchen aufgearbeitet. Die jeweiligen Chloroformeluate wurden gemischt und dann wieder in zwei Aliquote aufgeteilt, von denen das erste entsprechend SOP 3 nur silyliert wurde, das zweite hingegen in einer zweistufigen Derivatisierung zunächst gemäß SOP 7 und nachfolgend gemäß SOP 3 umgesetzt wurde. Bei der anschließenden Analyse mittels GC/MS konnte nach der reinen Silylierung kein Derivat nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu waren alle Derivate der zweistufigen Derivatisierung zu detektieren, wie es in den nachfolgenden Abbildungen 69 und 70 dargestellt ist:

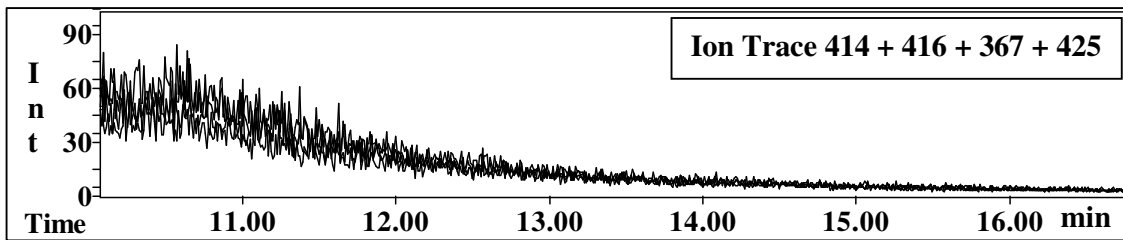


Abb. 69: GC/MS Chromatogramm (Full-Scan, Ionenspur 414+416+367+425) der Silylierung des Festphasenextraktes einer mit je 50 ng Estron, Östradiol, Mestranol und Ethinylöstradiol dotierten 2,8 L-Umweltprobe (Hamburg, Alster, 07/2003)
 (Säule: 15 m HP-5MS, 2 min 378 K, → 553 K: 20 K/min, 6,25 min 553 K)

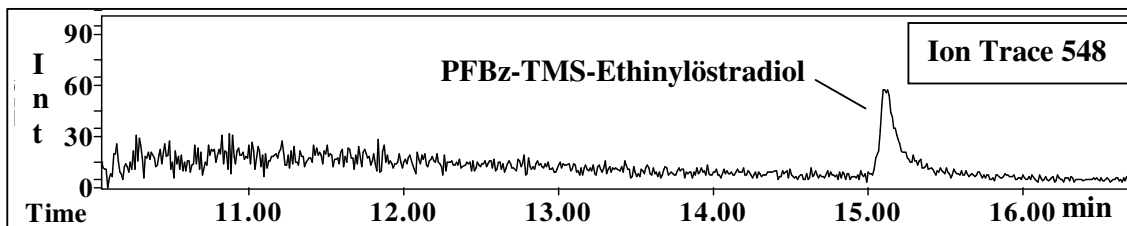
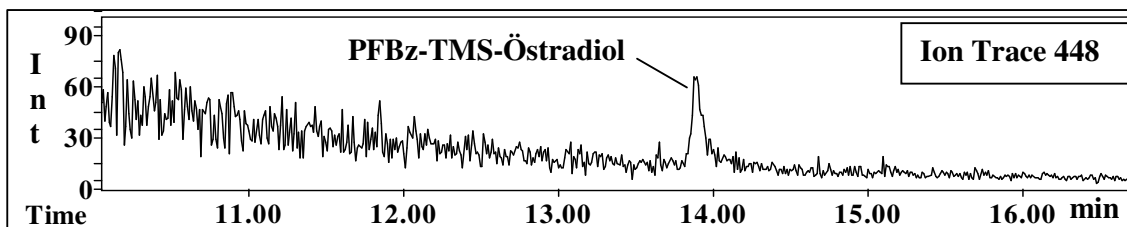
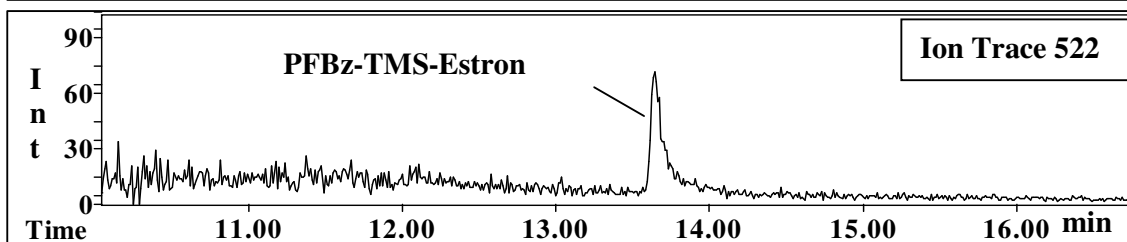
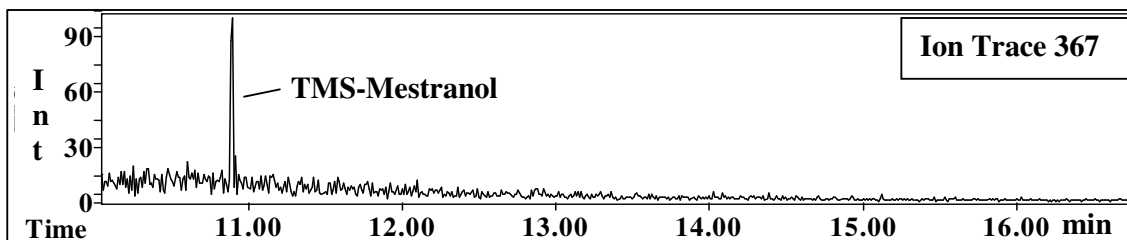


Abb. 70: GC/MS Chromatogramme (Full-Scan, Ionenspuren 367, 52, 448, 548) der gekoppelten Pentafluorbenzoylierung - Silylierung des Festphasenextraktes einer mit je 50 ng Estron, Östradiol, Mestranol und Ethinylöstradiol dotierten 2,8 L-Umweltprobe (Hamburg, Alster, 07/2003)
 (Säule: 15 m HP-5MS, 2 min 378 K, → 553 K: 20 K/min, 6,25 min 553 K)

Die Detektion aller Analyten durch die zweistufige Derivatisierung bestätigt das Konzept, durch Matrixanreicherung eine verbesserte Detektion der Steroidanalyten zu erzielen. Besonders deutlich wird dies an der Wiederfindung des TMS-Mestranols

im Falle der zweistufigen Umsetzung, weil hier das Derivat identisch zu dem der einstufigen Silylierung ist. Dadurch zeigt sich, daß weniger die Pentafluorbenzoylierung der Analyten als die Matrixabreicherung durch die extraktive Reaktionsaufarbeitung der wesentliche Grund für die Detektion aller Analyten in dem zweiten Versuch ist. Trotz dieser Erfolge wurde die Methode nicht weiterentwickelt, weil sich anhand der Signal-Rausch-Verhältnisse in Abbildung 70 abschätzen ließ, daß die erforderlichen Detektionsgrenzen von ≤ 1 ng/L nicht ohne grundsätzliche Umstellung der Gesamtmethode bzw. des Detektionssystems zu erreichen waren. Diese Einschätzung wurde im Nachhinein durch eine etwa zeitgleich publizierte Veröffentlichung von *Fine et al.*^[270] unterstützt, die ebenfalls eine zweistufige Derivatisierung zur Bestimmung von Östrogenen entwickelt hatten. Nach einer gekoppelten Alkylierung – Silylierung mittels PFBnBr und TMSI konnten beispielsweise Bestimmungsgrenzen von etwa 1 ng/L für dotierte Grundwasserproben erzielt werden, wobei GC/MS/MS und GC/MS(NCI)-Analysesysteme eingesetzt wurden.

5.3 Zusammenfassung

In dem vorstehenden Abschnitten 5.1 und 5.2 wurde zunächst beschrieben, daß die in Kapitel 3 erörterte Silylierung östrogenen Analyten bei der Umsetzung von Referenzsubstanzen zwar hinreichend linear verlief, sich aber für die Untersuchung von Umweltproben mit einer starken natürlichen Matrix als nicht geeignet erwies. Als Alternative wurde eine zweistufige Derivatisierung entwickelt, mittels der gemischte Pentafluorbenzoyl-trimethylsilylderivate dargestellt wurden. Ein zwischengeschalteter Extraktionsschritt erlaubte dabei eine zusätzliche Matrixabreicherung. Dieses Konzept war insofern erfolgreich, als daß die Analyten nunmehr in dotierten Umweltproben bestimmt werden konnten. Andererseits zeigten Detektionsgrenzen im unteren ng/L-Bereich, daß die Anwendung dieser neuen Methode für die Bestimmung von Realproben nur unter Verwendung noch empfindlicherer Detektionssysteme Erfolg versprach. Da solche Detektoren nicht unmittelbar zur Verfügung standen, wurde auf die weitere Anwendung dieser speziellen Methode zur Bestimmung östrogenen Analyten verzichtet und der Schwerpunkt der weiteren Untersuchungen auf die Optimierung einer universell ausgerichteten Methode zur Bestimmung eines breiten Spektrums von Umweltkontaminanten gelegt.

6 Entwicklung einer Gesamtmethode zur parallelen Bestimmung saurer, neutraler und basischer Analyten

In den vorangegangenen Kapiteln wurde die Entwicklung technischer Komponenten und Methoden für die Analytanreicherung und –separation aus wäßrigen Proben mittels Festphasenextraktion und fraktionierender Elution beschrieben. Ebenso wurden Derivatisierungsmethoden für verschiedene Klassen von Analyten etabliert und die grundlegenden analytischen Eigenschaften der resultierenden Derivate aufgezeigt. Da diese Untersuchungen nur qualitativ angelegt waren, sollten die einzelnen Arbeitsschritte im Rahmen einer Gesamtmethode hinsichtlich ihrer Eignung für die quantitative Analyse von Realproben untersucht werden. Von besonderem Interesse waren dabei folgende Parameter bzw. Fragestellungen:

- **Linearität:** Erlauben die Derivatisierungen eine linear konzentrationsabhängige Detektion der Analyten ?
- **Reproduzierbarkeit:** Wie gut reproduzierbar werden die Analyten angereichert und detektiert ?
- **Wiederfindungsraten:** Wie groß sind die Verluste an Analyten bei der Bestimmung aus Wasserproben gegenüber der Detektion von Referenzsubstanzen ?
- **Robustheit:** Wie groß ist der Einfluß realer Faktoren wie beispielsweise die Anwesenheit einer natürlichen Matrix auf die Detektion der Analyten ?
- **Empfindlichkeit:** Welche Nachweis- und Bestimmungsgrenzen werden erreicht, und liegen diese Werte ausreichend niedrig für die zu erwartenden Umweltkonzentrationen ?
- **Optimierung:** Welche Arbeitsschritte und Derivatisierungen zeigen unter Realbedingungen die besten Resultate ?

Diese Untersuchungen schlossen naturgemäß ein, daß bestehende Methoden überarbeitet oder erweitert werden sollten, wenn sie wichtige Vorgaben nicht erfüllen konnten.

6.1 Optimierung der Anreicherung und Derivatisierung acider Analyten

Zu Beginn dieser Arbeit lagen hinsichtlich der Verwendung der homogenen Derivatisierung mit MCF/Pyridin/Methanol bei der Bestimmung acider Analyten bereits Ergebnisse aus der Diplomarbeit des Autors vor^[50], die belegten, daß Umsetzungen ausgewählter Referenzsubstanzen wie etwa Clofibrinsäure, Ibuprofen, Ketoprofen, Diclofenac und Triclosan entsprechend SOP 4A über einen größeren Konzentrationsbereich linear verliefen. Zudem waren nach der Derivatisierung von Eluaten undotierter matrixreicher Umweltproben aus Elbe und Nordsee Clofibrin-

säure, Ibuprofen und Diclofenac als anthropogene Spurenkontaminanten detektiert worden, was zeigte daß die Methode auch in Anwesenheit einer natürlichen Matrix prinzipiell anwendbar war. In der nachfolgenden Tabelle 30 ist eine auszugsweise Zusammenstellung wesentlicher quantitativer Parameter wie etwa Korrelationskoeffizienten der linearen Regression, Wiederfindungsraten und Bestimmungsgrenzen für die angeführten Referenzverbindungen aus der zitierten Diplomarbeit aufgeführt:

Zusammenstellung ausgewählter Ergebnisse aus ^[50]					
	Analyt				
	Clofibrinsäure	Ibuprofen	Diclofenac	Ketoprofen	Triclosan
LOQ _{Deri} (s/n ≥ 6)	1 ng/100 µL	< 1 ng/100 µL	< 1 ng/100 µL	1 ng/100 µL	< 1 ng/100µL
Ø WFR	57 %	57 %	kein Wert	62 %	81 %
RSD _{WFR} (n = 5 - 6)	18 %	15 %	kein Wert	16 %	13 %
LOQ _{WFR} (s/n ≥ 6)	≤ 0,1 ng/L	≤ 0,1 ng/L	ca. 1 ng/L	0,1 ng/L	≤ 0,1 ng/L
Detektion in Realproben	Ja Elbe, Nordsee	Ja Elbe	Ja Elbe	Nein	Nein
LOQ _{Deri} : Bestimmungsgrenze bei der Messung reiner Standardverbindungen ØWFR: Durchschnittliche Wiederfindungsraten aus 10 L-Reinstwasserproben, 6 Dotierungskonzentrationen zwischen 0,1 und 5 ng/L, Festphasen- extraktion mit 2 g SDB 1 bei pH 2, Elution mit 80 mL Methanol RSD _{WFR} : relative Standardabweichung der Wiederfindungsraten LOQ _{WFR} : Bestimmungsgrenzen bei den Wiederfindungsexperimenten					

Tab. 30: Analytische Parameter der Festphasenextraktion saurer Analyten aus dotierten 10 L-Reinstwasserproben und der Derivatisierung mit Methylchlormethanoat^[50]

Die vorgestellten Daten repräsentieren erste Ergebnisse einer Methodenentwicklung, die auf die Analyse großvolumiger Wasserproben ausgerichtet war. Einerseits zeigte sich für die Derivatisierung an sich eine sehr gute Linearität und Empfindlichkeit der Detektion. Die Maximalwerte der relativen Standardabweichungen bei der Umsetzung von Standardsubstanzen lagen höher als gewünscht, wobei allerdings durch die Angabe des Bereiches über 6 Einzelwerte auch Ausreißer erfaßt wurden. Die Werte der Wiederfindung aus 10 L-Reinstwasserproben bei pH 2 konnten bei Triclosan als gut gelten, während die Carbonsäuren in ausreichender Weise extrahiert wurden. Bei Diclofenac war eine starke Streuung der Werte aufgetreten, so daß hier eine Auswertung nicht sinnvoll erschien. Möglicherweise war der beobachtete Effekt auf die Bildung des entsprechenden intramolekularen Kondensationsproduktes bei saurem pH während der Festphasenextraktion zurückzuführen, wie es von *Reddersen* und *Heberer* 2003 beschrieben wurde^[260]. Trotzdem zeigten die Wiederfindungsraten

der anderen Analyten, insbesondere angesichts der sehr niedrigen Dotierungskonzentrationen, eine akzeptable Reproduzierbarkeit.

Durch die in den vorangegangenen Kapiteln beschriebenen Neuerungen gegenüber der in der Diplomarbeit vorgestellten Methode, also der Vervielfachung der Zahl an Analyten, der Einführung von Oasis HLB als alternativ einzusetzende Festphase, der fraktionierenden Elution sowie der vielfachen Variation der Derivatisierungen mit Alkylchlormethanoaten sollten auch für die Bestimmung der aciden Analyten entsprechende Versuche zur Prüfung der einzelnen Arbeitsschritte sowie der Gesamtmethode durchgeführt werden. Um die anstehenden Untersuchungen überschaubar zu halten, wurde zunächst eine Auswahl bei den Derivatisierungen getroffen, nach der nur die vielversprechendsten Methoden weiter verfolgt werden sollten. So wurde bei den homogenen Derivatisierungen nur noch die Umsetzung mit der Mischung MCF/Pyridin/MeOH methodisch weiter untersucht, weil diese Methode bereits erprobt war und, wie bereits erwähnt, die Massenspektren der resultierenden Methylester häufig in Spektrenbibliotheken verfügbar sind. Bei den heterogenen Derivatisierungen wurde ausschließlich die Umsetzung mit ECF/Pyridin und den fluorierten *n*-Alkylalkoholen weiter verfolgt, weil die daraus resultierenden Derivate die gaschromatographisch - massenspektrometrisch besten Eigenschaften aufwiesen. Dabei war die vorwiegende Verwendung von Trifluor-ethanol beabsichtigt, weil diese Verbindung gegenüber den höher fluorierten Derivaten selbst in technischer Qualität geringer mit störenden Verunreinigungen belastet war und zudem die beste Wasserlöslichkeit unter den untersuchten Fluoroalkoholen aufwies, so daß F₃EtOH bei der extraktiven Aufarbeitung der Reaktionsansätze am weitestgehendsten abzutrennen war.

In einer Reihe von Versuchen wurden die homogene und heterogene Derivatisierung acider Analyten vergleichend untersucht. Dabei wurden beispielsweise verschiedene Reaktionsparameter variiert und der Einfluß natürlicher Probenmatrices auf die Umsetzungen geprüft. Ebenso wurden die Wiederfindungen der Analyten aus dotierten Wasserproben bestimmt und eine l/l-Extraktion der Festphaseneluate zum Zwecke einer verbesserten Matrixabreicherung eingeführt. Die wichtigsten der in diesem Zusammenhang durchgeführten Untersuchungen werden nachfolgend vorgestellt, alle darüber hinausgehenden Versuchsreihen werden im experimentellen Teil dieser Arbeit ausführlich beschrieben.

6.1.1 Untersuchung des Einflusses einer natürlichen Wassermatrix auf die Festphasenextraktion und Derivatisierung acider Analyten

Von besonderem Interesse war die Untersuchung der Frage, wie stark sich eine natürliche Probenmatrix auf die Detektion der aciden Analyten auswirkt. Mit den homogenen Umsetzungen hatten sich ja bereits einige saure Analyten im Vorfelde nachweisen lassen, so daß vor allem die heterogenen Derivatisierungen in diesem Zusammenhang vergleichend geprüft werden sollten. Dazu wurden zu einem sehr frühen Zeitpunkt dieser Arbeit, als sich die Derivatisierungen noch in der Erprobungsphase befanden, in 4 Einzelextraktionen insgesamt 7,7 L Elbwasser aus

dem Hamburger Raum (Fähranleger Neumühlen) mit je 500 mg SDB-1 extrahiert und fraktionierend eluiert. Die polaren Eluate wurden vereinigt, eingengt, wieder in 4 Aliquote aufgeteilt und nachfolgend verschieden derivatisiert:

- 1: Umsetzung mit MCF/MeOH entsprechend SOP 4 A
- 2: Umsetzung mit 117 µL MCF/Pyridin/F₃EtOH 7:10:100 (v,v,v)
- 3: Umsetzung mit 117 µL MCF/Pyridin/F₅ PrOH 7:10:100 (v,v,v)
- 4: Umsetzung mit 117 µL MCF/Pyridin/F₇BuOH 7:10:100 (v,v,v)

Nach einer Messung mittels GC/MS wurden die derivatisierten Proben auf das Vorhandensein bekannter acider Analyten untersucht. Für eine vergleichende Betrachtung wurden die maximalen Signal/Rausch-Verhältnisse auf ausgewählten Ionenspuren ermittelt, wie es in der folgenden Tabelle 31 dargestellt ist.

Detektierte Analyten in den Aliquoten einer Hamburger Elbprobe 03/2002				
Analyt	Signal/Rausch (<i>Ionenspur</i>)			
Clofibrinsäure	36 <small>(128)</small>	-	-	-
Ibuprofen	318 <small>(161)</small>	259 <small>(189)</small>	246 <small>(239)</small>	48 <small>(343)</small>
Ibu-OH	17 <small>(118)</small>	172 <small>(246)</small>	57 <small>(296)</small>	31 <small>(331)</small>
Diclofenac	101 <small>(214)</small>	67 <small>(214)</small>	34 <small>(427)</small>	11 <small>(477)</small>
Triclosan	21 <small>(252)</small>	22 <small>(252)</small>	11 <small>(252)</small>	-
Indometacin	4 <small>(139)</small>	< 3 <small>(139)</small>	-	-
	Aliquot 1	Aliquot 2	Aliquot 3	Aliquot 4

Tab. 31: Übersicht über die mit verschiedenen Derivatisierungen erzielten Signal/Rausch-Verhältnisse von Target-Analyten einer Realprobe (Elbe, Hamburg, 03/2002)

Neben der interessanten Beobachtung, daß bei diesen Untersuchungen eine deutlich größere Zahl von Analyten nachgewiesen werden konnte als in der vorangegangenen Diplomarbeit, zeigten die ermittelten Werte, daß bei den heterogenen Derivatisierungen Defizite bei den Umsetzungen aufgetreten waren. Nur die Umsetzung in Anwesenheit von Trifluorethanol konnte etwa vergleichbare Resultate wie die homogene Derivatisierung liefern. Insbesondere das Trifluorethylderivat von Hydroxyibuprofen wurde signifikant stärker detektiert, was sich beispielsweise durch eine bessere Anreicherung bei der Aufarbeitung des Reaktionsansatzes mit *n*-Hexan erklären ließ, wie es im vorangegangenen Abschnitt dargelegt wurde. Darüber hinaus war die Detektion auf der Ionenspur 246 wesentlich rauschärmer als auf der Spur des praktisch allgegenwärtigen Ions 118. Unerwartet aber, und zu diesem Zeitpunkt nicht zu erklären, war die Tatsache, daß nur Clofibrinsäure ausschließlich bei der homogenen Derivatisierung detektiert werden konnte, nicht aber bei den heterogenen Umsetzungen. Dieser Aspekt wird in dem nachfolgenden Abschnitt wieder aufgegriffen werden.

Nach den vorgestellten Entwicklungen und Verbesserungen bei den Umsetzungen mit Alkylmethanoaten, insbesondere der Einführung von ECF bei der heterogenen Derivatisierung, sollte zunächst der Einfluß einer Probenmatrix sowohl auf die Reaktionen als auch auf die Gesamtmethode systematisch untersucht werden, denn durch Matrixeffekte kann es einerseits, wie im vorliegende Fall, zu einer verminderten Detektion von Analyten in Umweltproben gegenüber der Detektion von Referenzverbindungen kommen, andererseits aber ist auch der gegenteilige Effekt (*matrix enhancement*) möglich^[273,274]. Schwierig in diesem Zusammenhang gestaltete sich dabei insbesondere die Beschaffung von matrixreichen, möglichst auch anthropogen beeinflussten, zugleich aber nicht mit den ausgewählten Targetanalyten kontaminierten Wasserproben. Schließlich wurde hierfür auf Proben aus einem wenig fließenden nordfriesischen Entwässerungssystem zurückgegriffen, bei dem ausschließlich private, aber keine kommunalen Einleitungen vorlagen. Durch eine hohe Belebtheit mit Flora und Fauna sowie einer nährstoffreichen, tonigen Bodenbeschaffenheit wies dieses Wasser zudem einen sehr hohen Gehalt an natürlicher Matrix auf. Für alle nachfolgend beschriebenen Versuche wurden auf pH 7 eingestellte 1 L-Aliquote einer 25 L-Probe aus diesem Gewässer über jeweils 1 g Oasis HLB extrahiert, die Festphasenextrakte im Stickstoffstrom getrocknet und fraktionierend mit je 30 mL *n*-Hexan, Chloroform und Methanol eluiert. Die methanolischen Eluate wurden auf ein Volumen < 1 mL eingengt, vermischt und wieder in Aliquote aufgeteilt, so daß jeweils identische, für eine 1 L-Probe repräsentative Referenzmatrices gewonnen wurden.

6.1.2 Entwicklung einer Arbeitsvorschrift für die Derivatisierung von Umweltprobenextrakten

Die bis hier festgestellten Einflüsse einer natürlichen Probenmatrix auf die Derivatisierung mit Alkylchlormethanoaten führten zu dem Versuch, die bei der Umsetzung von Umweltextrakten verwendete Pyridinmenge zu erhöhen. Dieser Schritt beruhte auf der Annahme, daß in den Matrices von Umweltproben erhebliche Anteile sauer reagierender Substanzen wie etwa Fett- und Huminsäuren vorliegen können. Da beispielsweise die trockenen Rückstände der methanolischen Eluate von Umweltproben eine Masse von bis zu 5 mg aufwiesen, war eine teilweise Deaktivierung des in den Derivatisierungen notwendigen Pyridins durch Neutralisationseffekte denkbar. Deshalb wurden in allen weiteren Umsetzungen matrixreicher Proben 25 µL Pyridin und 14 µL Alkylchlormethanoat eingesetzt. Wegen der größeren Pyridinmenge mußte dann anschließend eine Behandlung mit Kupfer(II)-sulfatlösung durchgeführt werden, um überschüssiges Pyridin zu komplexieren und damit besser wasserlöslich zu machen. Auf die Aufarbeitung mit polareren Lösungsmitteln, wie etwa der untersuchten Mischung von *n*-Hexan/Diethylether, wurde ganz verzichtet, weil diese Anwendung nur bei wenigen Analyten eine Verbesserung der Detektion bewirkt hatte. Gleichzeitig war aber die Mitanreicherung erheblich größerer Matrixanteile als bei der Aufarbeitung mit reinem *n*-Hexan zu erwarten, wodurch eine unerwünschte Belastung des Analysesystems und eine

schlechtere Detektion der Analyten resultieren würde. Diese aufgeführten Änderungen sind in den nachfolgend vorgestellten SOPs 8 und 9 festgehalten.

SOP 8: Homogene Derivatisierung von Festphasenextrakten mit MCF

Probenextrakte bzw. Standardlösungen werden in einem vial von 1,5 mL Innenvolumen mittels eines Stickstoffstroms etwa zur Trockene eingeeengt und der Rückstand nachfolgend mit 100 µL Methanol, 150 µL Wasser sowie 25 µL Pyridin versetzt. Etwaige ungelöste Anteile werden durch Schütteln oder eine Ultraschallbehandlung aufgelöst oder suspendiert. Nach der Zugabe von 14 µL MCF in die Lösung hinein wird das Reaktionsgefäß verschlossen und kurz geschüttelt. Anschließend wird der Ansatz mit 200 µL einer konzentrierten wässrigen Kupfer(II)-sulfatlösung versetzt und gründlich geschüttelt. Nach der Extraktion mit 600 µL *n*-Hexan, in dem der Volumenstandard AD10 enthalten ist, wird die wässrige Phase abgetrennt und verworfen, während die organische Phase so oft mit je 500 µL Wasser ausgeschüttelt wird, bis die anfänglich blaue Färbung vollständig verschwunden ist. Die wässrigen Phasen werden jeweils verworfen, während die organische Phase abschließend über einer Spatelspitze wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet wird. Dieser Trocknungsschritt wird so oft wiederholt, bis das Trockenmittel in der Lösung seine feinkörnige Konsistenz behält. Für die nachfolgende GC/MS-Messung niedrig belasteter Proben (z.B. Leitungswasser) wird die Lösung zuvor im Stickstoffstrom auf ein Volumen von ca. 100 µL reduziert, während bei hoch matrixbelasteten Proben (z.B. Klärwerkszu- und abläufe) proportional verdünnt wird.

SOP 9: Heterogene Derivatisierung von Festphasenextrakten mit ECF

Probenextrakte bzw. Standardlösungen werden in einem vial von 1,5 mL Innenvolumen mittels eines Stickstoffstroms gerade zur Trockene eingengt und der Rückstand nachfolgend mit 200 µL eines nicht korrespondierenden Alkohols und 25 µL Pyridin versetzt. Etwaige ungelöste Anteile werden durch Schütteln oder eine Ultraschallbehandlung aufgelöst oder suspendiert. Nach der Zugabe von 14 µL ECF in die Lösung hinein wird das Reaktionsgefäß verschlossen und kurz geschüttelt. Anschließend wird der Ansatz mit 600 µL *n*-Hexan, in dem der Volumenstandard AD10 enthalten ist, versetzt und gründlich geschüttelt. Sofort anschließend wird die Mischung mit 200 µL einer konzentrierten wäßrigen Kupfer(II)-sulfatlösung versetzt und erneut gründlich geschüttelt. Die wäßrige Phase wird abgetrennt und verworfen, während die organische Phase so oft mit je 500 µL Wasser ausgeschüttelt wird, bis die anfänglich blaue Färbung vollständig verschwunden ist. Die wäßrigen Phasen werden jeweils verworfen, während die organische Phase abschließend über einer Spatelspitze wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet wird. Dieser Trocknungsschritt wird so oft wiederholt, bis das Trockenmittel in der Lösung seine feinkörnige Konsistenz behält. Für die nachfolgende GC/MS-Messung niedrig belasteter Proben (z.B. Leitungswasser) wird die Lösung zuvor im Stickstoffstrom auf ein Volumen von ca. 100 µL reduziert, während bei hoch matrixbelasteten Proben (z.B. Klärwerkszu- und abläufe) proportional verdünnt wird.

6.1.3 Bestimmung des Einflusses einer natürlichen Probenmatrix auf die Derivatisierung mit MCF und ECF

Ein Aliquot der für die weiteren Versuche eingesetzten Referenzmatrix wurde zunächst ohne Dotierung gemäß SOP 8 und SOP 9 derivatisiert und auf das Vorkommen der Targetanalyten untersucht. Dabei wurden neben Spuren von Diclofenac (29) und Ibuprofen-COOH (24) erhebliche Mengen von Hydroxyibuprofen (23) detektiert. Im Nachhinein konnten diese Befunde durch eine lokale Einleitung über eine private Sickergrube erklärt werden, deren Besitzerin regelmäßig eine Rheumasalbe mit dem Wirkstoff Diclofenac benutzte und zudem etwa einen Monat vor der Probenahme über einen Zeitraum von ein bis zwei Wochen größere Mengen ibuprofenhaltiger Schmerzmedikamente eingenommen hatte. Während die geringen Spuren von Diclofenac und Carboxyibuprofen für die weiteren Untersuchungen ohne Belang waren, konnten quantitative Auswertungen hinsichtlich des Hydroxyibuprofens nur sehr eingeschränkt vorgenommen werden. Dieser Umstand wird in einigen der nachfolgend präsentierten Graphiken durch den Verweis 23: n.b. (Analyt 23 : nicht bestimmt) gekennzeichnet. In Abbildung 71 sind Chromatogramme auf den für diese Verbindung typischen Ionenspuren 119 und 246 aus der Umsetzung der verwendeten natürlichen Standardmatrix nach Derivatisierung gemäß SOP 9 gezeigt.

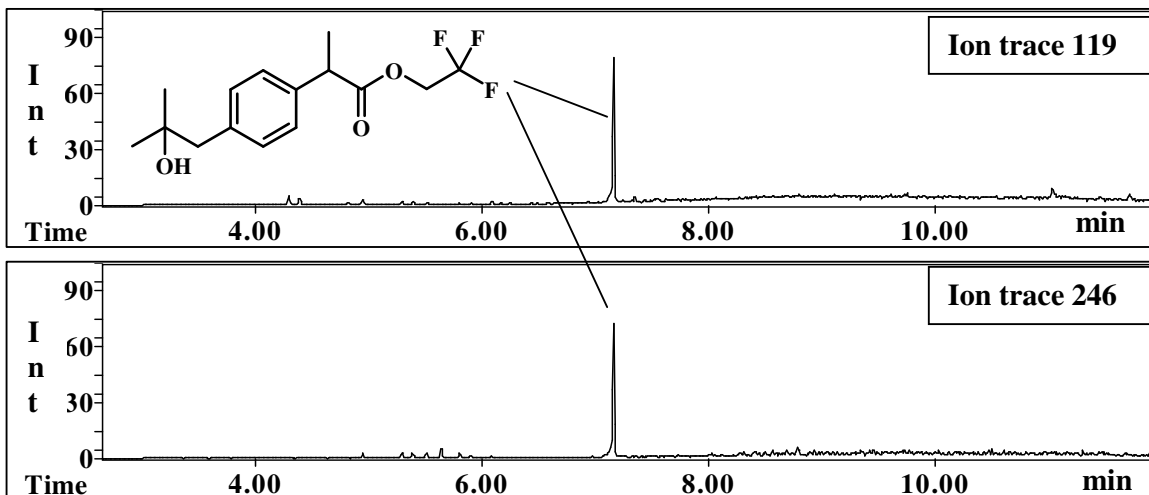


Abb. 71: GC/MS-Chromatogramm (Full-Scan, Ionenspuren 119, 246) des methanolischen Eluates einer 1,3 L-Umweltprobe (Sielzug Kaltenhörn, Nordfriesland, August 2004) nach Festphasenextraktion und Derivatisierung gemäß SOP 9

(Säule: 15 m VB-1701, 2 min 333 K, → 553 K: 25 K/min, 4 min 553 K)

In der nachfolgenden Abbildung 72 ist dargestellt, wie dieser Analyt anhand seines Massenspektrums durch den Vergleich mit einem Referenzspektrum identifiziert wurde:

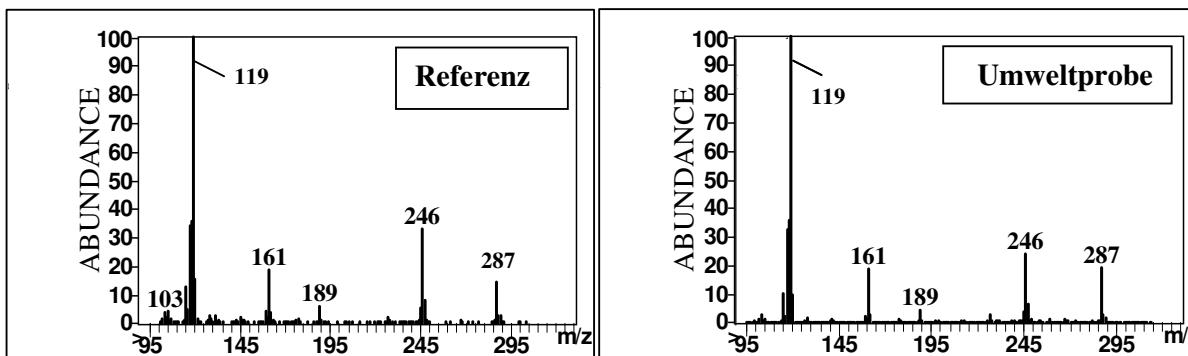


Abb. 72: Vergleich der Massenspektren von Hydroxyibuprofentrifluoethylester aus der Umweltprobe in Abbildung 71 mit einer Referenzprobe

In der Referenzmatrix war die Verbindung 23 aus spurenanalytischer Sicht so hoch konzentriert, daß in dem Chromatogramm aus Abbildung 71 ein leicht asymmetrisches Signal vorliegt, wobei die Flanke nicht nach rechts *tailt*, sondern nach links abfällt, also ein *fronting* vorliegt. Auch die in dem Massenspektrum der Probe etwas erhöhte Intensität des Molekülions ist ein typischer Effekt, der sehr oft beobachtet wird, wenn größere Substanzmengen in den Ionenfallendetektor gelangen.

Zur Prüfung des Einflusses der natürlichen Probenmatrix auf die Derivatisierungen wurden zunächst Referenzmatrices mit 100 µL der Standardmischung S I dotiert und nachfolgend entsprechend SOP 8 und 9 umgesetzt. Aus diesen jeweils

dreifach wiederholten Versuchen wurden die Wiederfindungsraten gegenüber den Derivatisierungen der reinen Standardmischungen bestimmt.

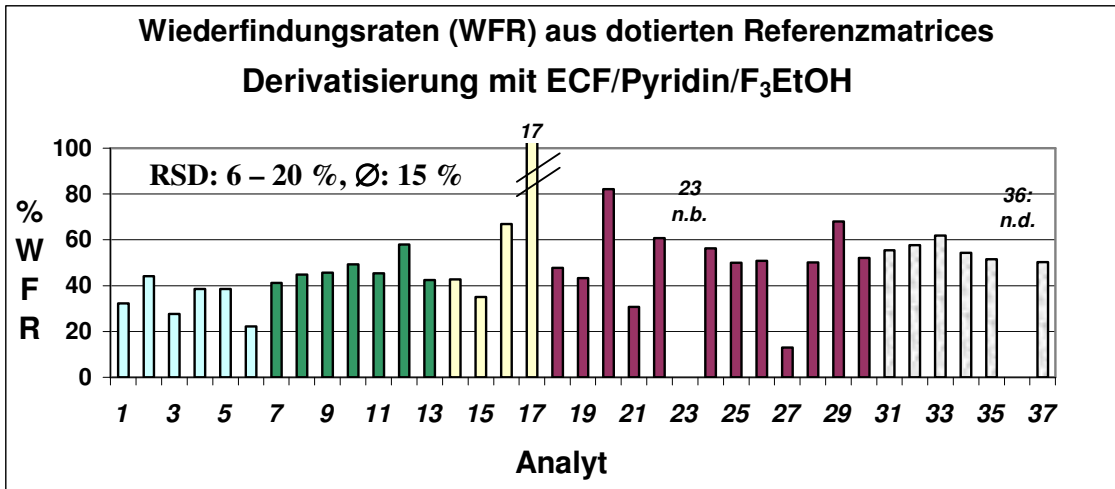


Abb. 73: Wiederfindungsraten der Analyten bei heterogener Derivatisierung mit ECF/F₃EtOH entsprechend SOP 9 in Anwesenheit einer natürlichen Matrix

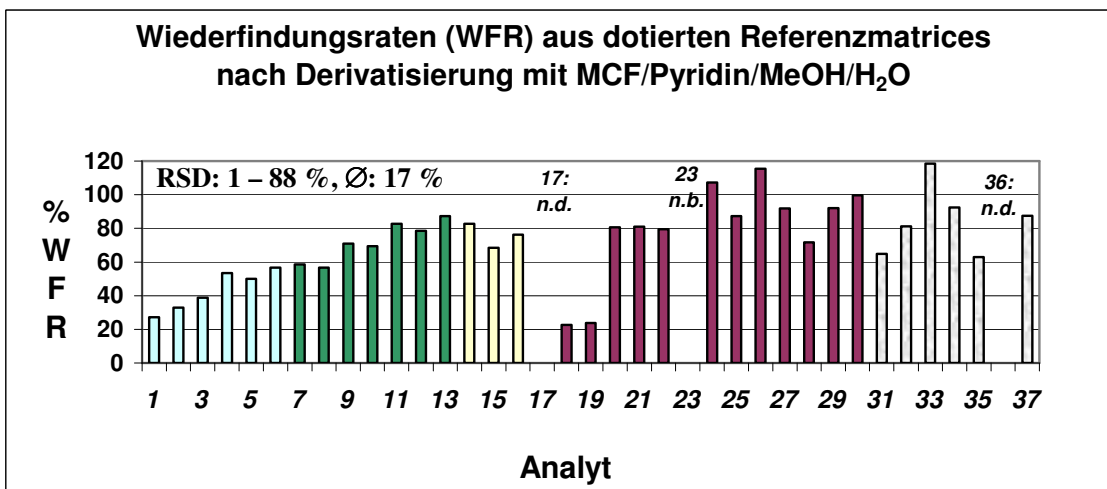


Abb. 74: Wiederfindungsraten der Analyten bei homogener Derivatisierung mit MCF/MeOH entsprechend SOP 8 in Anwesenheit einer natürlichen Matrix

In dieser Versuchsserie zeigte sich ein stark repressiver Effekt der natürlichen Matrix auf die heterogene Umsetzung mit ECF (Abb. 73). Die durchschnittlichen Wiederfindungen lagen etwa um 50 %. Nur Bezafibrat (17) wurde zu über 200 % detektiert. Dies ist möglicherweise auf einen *matrix-enhancement*- Effekt zurückzuführen: Durch die natürliche Matrix werden Fehlstellen des chromatographischen Trennsystems abgesättigt, wodurch es insbesondere bei polaren oder thermolabilen Verbindungen zu weniger Substanzverlusten während der GC-Passage kommt ^[273,274]. Zudem wird die Signalform zuvor tailender Verbindungen deutlich verbessert, so daß damit gleich zwei Effekte zu einer verstärkten Detektion führen. Gentsinsäure (27)

wurde in dieser Versuchsserie nur schwach wiedergefunden, Paracetamol (36) konnte nicht detektiert werden. Im Vergleich dazu wurden durch die Umsetzung mit MCF (Abb. 74) wesentlich bessere Wiederfindungsraten erzielt, die im Durchschnitt etwa bei 75 % lagen. Allerdings wiesen die Ergebnisse einiger Substanzen ungewöhnlich hohe Standardabweichungen auf, während die relativen Standardabweichungen bei den Umsetzungen mit ECF dagegen sehr einheitlich ausfielen. Das wichtigste Resultat dieser Umsetzungen aber war, daß die Verwendung einer höheren Pyridinmenge mit einer entsprechenden Umstellung der SOP zur Derivatisierung mit ECF dazu geführt hatte, daß im Gegensatz zu den im Abschnitt 5.1 präsentierten Ergebnissen alle Analyten auch in Anwesenheit einer starken Umweltmatrix nachgewiesen wurden. Tatsächlich konnte mit Bezafibrat sogar ein schwieriger Analyt detektiert werden, der bei der homogenen Derivatisierung mit MCF nicht erfaßbar war.

6.1.4 Etablierung einer I/I-Extraktion zur Matrixanreicherung vor der Derivatisierung

Um den beobachteten Matrixeffekt insbesondere bei der Umsetzung mit ECF zu reduzieren, sollte ein weiterer clean-up Schritt vor der Derivatisierung etabliert werden. Hier kam vom Grundsatz her beispielsweise eine Aufreinigung durch eine Gelpermeations- oder Säulenchromatographie oder eine klassische flüssig-flüssig Extraktion in Betracht. Unter den genannten Methoden wurde das letztgenannte Verfahren ausgewählt, weil es den geringsten Aufwand beanspruchte und zudem selektiv auf das chemische Charakteristikum der aciden Analyten ausgerichtet werden konnte. In diesem Zusammenhang wurden in einer Reihe von Vorversuchen ausgewählte Analyten der Standardmischung I in wäßrigen Säuren und Laugen unterschiedlicher Art und Konzentration gelöst und diese Lösungen mit Diethylether extrahiert. Dieses Vorgehen entsprach einem klassischen Trennungsgang, bei dem die Fähigkeit saurer und basischer Verbindungen zur Salzbildung bei entsprechendem pH-Wert dazu ausgenutzt wurde, sie so gut wasserlöslich zu machen, daß sie im Gegensatz zu einem Großteil nichtionischer organischer Verbindungen durch eine nachfolgende I/I-Extraktion in der wäßrigen Phase verblieben. Im Fall der selektiven Anreicherung acider Verbindungen in der wäßrigen Phase erfolgte die Rückgewinnung der Analyten dann durch Versetzen der basischen Lösung mit einer anorganischen Säure, woraufhin die Analyten mittels einer I/I-Rückextraktion wieder in eine organische Phase überführt werden konnten. Aus diesen Versuchen heraus wurden folgende Arbeitsvorschriften etabliert:

SOP I/1 a : Matrixanreicherung durch I/1-Extraktion bei saurem pH-Wert

Probenlösungen bzw. Standardlösungen werden in einem vial von 1,5 mL Innenvolumen mittels eines Stickstoffstroms gerade zur Trockene eingedunstet und der Rückstand nachfolgend mit 500 µL Schwefelsäure (25 %) sowie zwei Spatelspitzen Natriumchlorid versetzt. Nach gründlichem Schütteln der Mischung wird diese zweifach mit je 500 µL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 10 Tropfen Wasser gewaschen und über einer Spatelspitze wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Dieser Trocknungsschritt wird so oft wiederholt, bis das Trockenmittel in der Lösung seine feinkörnige Konsistenz behält.

SOP I/1 b : Matrixanreicherung durch I/1-Extraktion bei basischem pH-Wert

Probenlösungen bzw. Standardlösungen werden in einem vial von 1,5 mL Innenvolumen mittels eines Stickstoffstroms gerade zur Trockene eingedunstet und der Rückstand nachfolgend mit 500 µL 1 N Natronlauge versetzt. Nach gründlichem Schütteln der Mischung wird diese mit 500 µL Diethylether extrahiert. Anschließend wird die wäßrige Phase abgetrennt, mit 200 µL Schwefelsäure (25%) angesäuert und zweifach mit je 500 µL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte der sauren Lösung werden mit 10 Tropfen Wasser gewaschen und über einer Spatelspitze wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Dieser Trocknungsschritt wird so oft wiederholt, bis das Trockenmittel in der Lösung seine feinkörnige Konsistenz behält.

Es wurden zwei Verfahren etabliert, weil damit verschiedene Konzepte verfolgt werden konnten. Die in SOP I/1 a beschriebene Extraktion aus saurer Lösung war weniger aufwendig und versprach geringere Analytverluste. Auf der anderen Seite stand auch zu erwarten, daß nur sehr gut wasserlösliche und basische Matrixanteile abzutrennen waren. Die in SOP I/1 b zusammengefaßte Extraktion aus zunächst basischer und dann angesäuerter Lösung beinhaltete einen größeren Arbeitsaufwand und stärkere Analytverluste, insbesondere bei den Phenolen, versprach aber eine sehr effektive Matrixanreicherung. Beide Methoden wurden sowohl unter Verwendung reiner Standardsubstanzen als auch von dotierten Referenzmatrices vergleichend geprüft. Dabei zeigten beide Extraktionsverfahren in Vorversuchen vergleichbare Ergebnisse, so daß zunächst die einfachere Variante SOP I/1 a weitergeführt wurde. Eine entsprechend statistisch abgesicherte Auswertung für alle Analyten der Standardmischung S I bei heterogener Derivatisierung findet sich in den nachfolgend vorgestellten Diagrammen der Abbildungen 75 und 76:

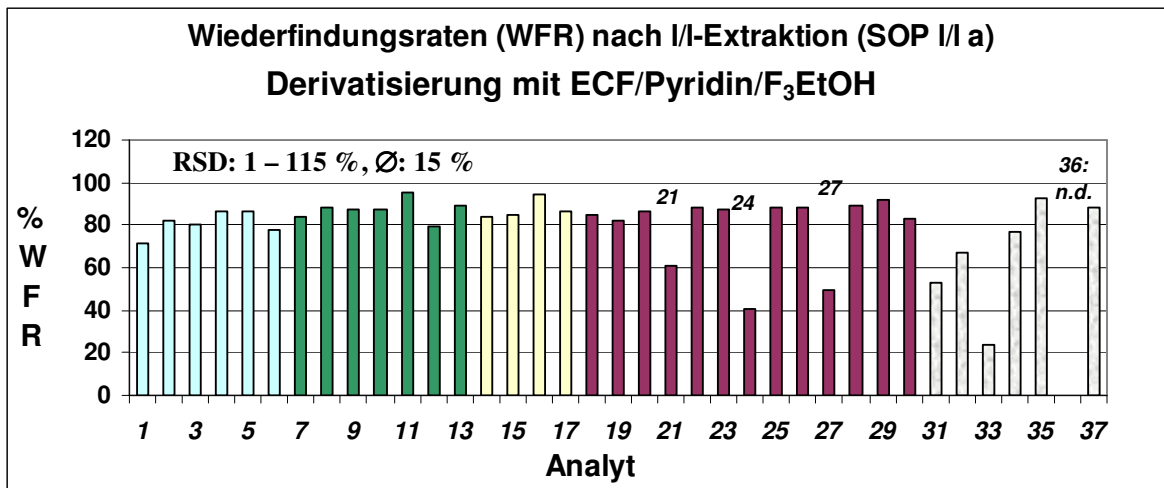


Abb. 75: Wiederfindungsraten der aciden Analyten nach I/I-Extraktion bei heterogener Derivatisierung

Die Verluste, die durch die I/I-Extraktion entstanden, betragen für die meisten Analyten im Durchschnitt etwa 15 % bis 20 %. Nur die polaren, niedermolekularen Verbindungen wie Salicylsäure (21), Carboxyibuprofen (24), Gentsinsäure (27), und Paracetamol (36) wurden aufgrund ihrer vermehrten Wasserlöslichkeit in geringeren Anteilen wiedergefunden. Die teilweise sehr schlechten Werte bei den Phenolen hingegen waren auf Verluste beim Abblasen zurückzuführen, weil dieser Effekt bei der Versuchsdurchführung noch nicht berücksichtigt worden war. Dies drückt sich auch in den Maximalwerten der relativen Standardabweichungen aus. Hier zeigten nur die niederen Phenole (31-35) und Bezafibrat (17) Werte über 15 %.

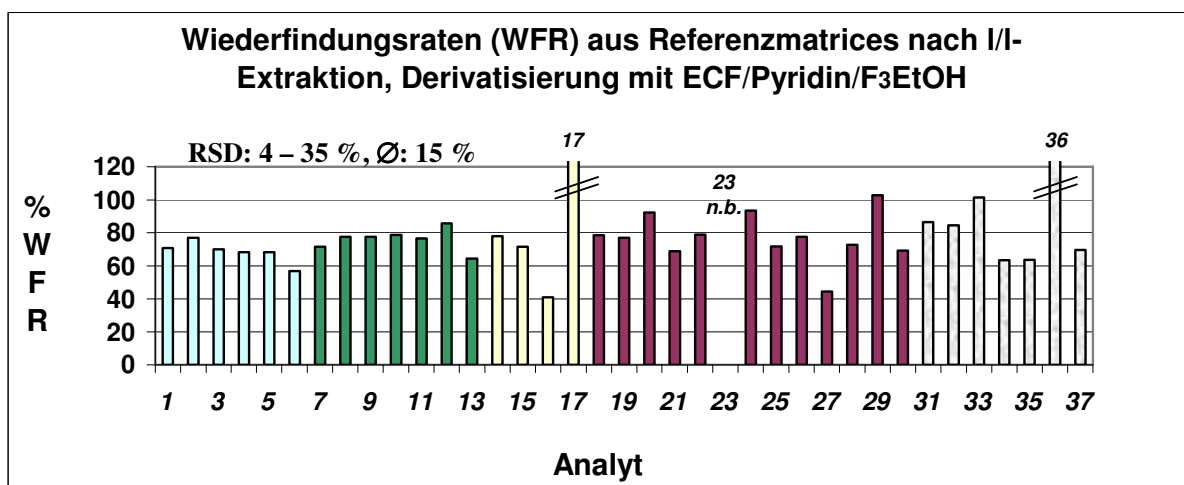


Abb. 76: Wiederfindungsraten der aciden Analyten aus Referenzmatrix nach I/I-Extraktion bei heterogener Derivatisierung

Die Ergebnisse aus den in Abbildung 76 ausgewerteten Versuchen, bei denen dotierte Referenzextrakte einer I/I-Extraktion unterzogen und dann heterogen derivatisiert wurden, weisen für die meisten Analyten Verluste von etwa 25 % aus,

was geringfügig unter den Werten bei Anwendung der I/I-Extraktion bei der reinen Standardmischung liegt. Erwartungsgemäß verbesserte die Matrix hingegen die Wiederfindung aller polaren Analyten, so daß nicht nur Bezafibrat (17), sondern auch Paracetamol (36) so stark detektiert wurden, daß eine quantitative Auswertung in bezug auf die derivatisierte Standardmischung nicht sinnvoll erschien. Zufriedenstellend waren die ermittelten relativen Standardabweichungen, nur die Werte für Gentsinsäure (27) und Ketoprofen (28) lagen über 20 %. Eine analoge Versuchsreihe, in der die homogene Derivatisierung sowohl nach der I/I-Extraktion der reinen Standardmischungen als auch der dotierten Referenzmatrices angewendet wurde, zeigte weitgehend vergleichbare Ergebnisse.

Die wesentliche Aussage aus diesen Versuchen war, daß die beabsichtigte Verminderung des Matrixeffektes auf die Derivatisierung durch die Einführung einer I/I-Extraktion in zufriedenstellender Weise erreicht wurde. Während die durchschnittlichen Detektionsverluste durch die Matrix ohne vorheriges clean-up für alle Analyten unter Vernachlässigung von Bezafibrat, Ibu-OH und Paracetamol etwa 55 % bei der heterogenen Derivatisierung und 30 % bei der homogenen Derivatisierung betragen, so waren es bei beiden Derivatisierungsmethoden nur noch etwa 21 % bis 26 %, wenn zuvor die I/I-Extraktion gemäß SOP I/I a angewendet wurde. Dabei ist zu berücksichtigen, daß dieser Wert etwa zur Hälfte durch Verluste bei der Extraktion selbst bestimmt wurde, so daß der Effekt der Matrix auf die Derivatisierung in diesen Fällen durchschnittlich nur etwa 10 bis 13 % betrug.

6.1.5 Bestimmung von Wiederfindungsraten acider Analyten nach der Festphasenextraktion dotierter Leitungswasser- und Umweltproben

Nachdem in den vorangestellten Abschnitten, insbesondere bei der heterogenen Derivatisierung, die negative Wirkung einer natürlichen Probenmatrix auf die Detektion acider Analyten festgestellt und durch Einführung eines extraktiven clean-up-Schrittes vor den Umsetzungen minimiert worden war, stand für die Bewertung der analytischen Gesamtmethode vor allem die Untersuchung der Effektivität der Festphasenextraktion mit nachfolgender fraktionierender Elution an. In Fortsetzung der bisherigen Verfahrensweise wurden sowohl Leitungswasserproben als auch Aliquote der Umweltprobe, aus der auch die Referenzmatrices gewonnen wurden, mit den bekannten aciden Referenzsubstanzen der Standardmischung S I dotiert und die Gesamtmethode in Form einer Festphasenextraktion bei pH 7 mit nachfolgender fraktionierender Elution, I/I-Extraktion der eingengten Eluate und deren Derivatisierung angewendet. Aufgrund des Elutionsverhaltens der Phenole und der Verwendung einer neuen Charge des Sorbens wurden sowohl die Methanol- als auch die Chloroformeluate auf das Vorkommen der aciden Analyten untersucht. Die Abbildungen 77 und 78 zeigen die Wiederfindungen der einzelnen Analyten in den entsprechenden Eluaten. Als Festphase wurde jeweils 1 g Oasis HLB eingesetzt.

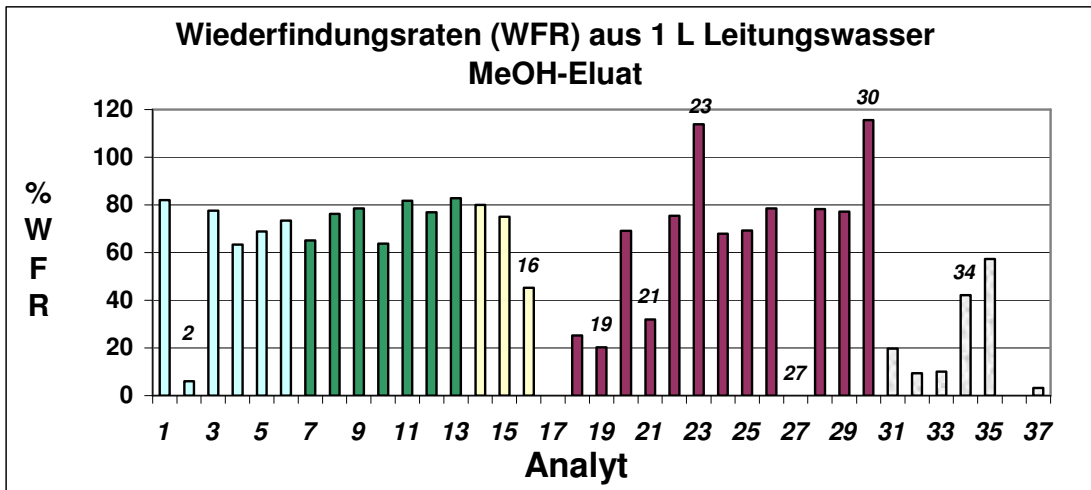


Abb. 77: Wiederfindungsraten der aciden Analyten in den Methanoleluaten dotierter 1-Leitungswasserproben (50 bis 500 ng/L) nach Festphasenextraktion (1 g Oasis HLB), fraktionierender Elution sowie I/I-Extraktion und homogener Derivatisierung

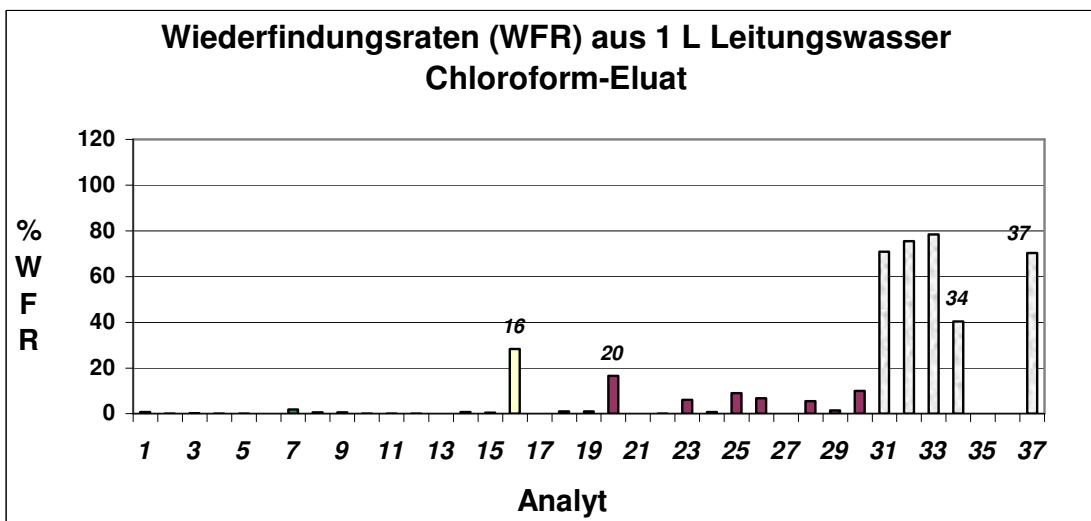


Abb. 78: Wiederfindungsraten der aciden Analyten in den Chloroformeluaten dotierter 1 L-Leitungswasserproben (50 bis 500 ng/L) nach Festphasenextraktion (1 g Oasis HLB), fraktionierender Elution sowie I/I-Extraktion und homogener Derivatisierung

Die Abbildungen zeigen, daß die Wiederfindungsraten der Analyten erheblich divergierten. Bezafibrat (17), Gentsinsäure (27) und Paracetamol (36) konnten nicht mehr detektiert werden. Vor allem die niedermolekularen Carbonsäuren, wie etwa 4-Chlorbenzoesäure (2) und die Phenylethansäuren (18/19) sowie Salicylsäure (21), zeigten nur sehr schwache Wiederfindungen, die auf erhebliche Verluste bei der Festphasenextraktion schließen ließen. Die meisten anderen Carbonsäuren wurden durchschnittlich zu 75 bis 80 % im Methanoleluat gefunden, so daß hier eine zufriedenstellende Anreicherung vorgelegen hatte. Vermutlich hat ein matrix-enhancement Effekt die überhöhten Werte bei Hydroxyibuprofen (23) und Indometacin (30) verursacht. Die Phenole wurden im Gegensatz zu den Säuren

vorwiegend im Chloroformeluat nachgewiesen, nur 2,4,5-Trichlorphenol (34) verteilte sich in etwa gleichen Anteilen auf beide Eluate. Im Gegensatz zu den in Kapitel 4.4 beschriebenen Untersuchungen zum Elutionsverhalten der Analyten konnte Triclosan (37) hier fast ausschließlich im mittelpolaren Eluat wiedergefunden werden. Auch die anteilige Elution von Gemfibrozil (16) und Ibuprofen (20) mit Chloroform zeigte, daß die Sorbenseigenschaften variieren konnten.

In den nachfolgenden Abbildungen 79 bis 82 sind die Ergebnisse der Wiederfindungsversuche mit identisch dotierten und aufgearbeiteten Umweltproben dargestellt:

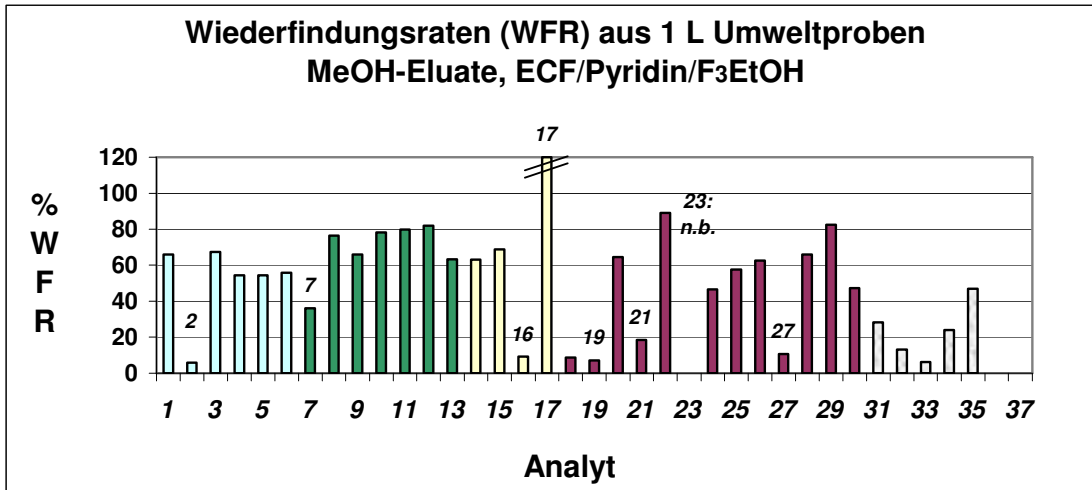


Abb. 79: Wiederfindungsraten der aciden Analyten in den Methanoleluaten dotierter 1 L-Umweltproben (50 bis 500 ng/L) nach Festphasenextraktion (1 g Oasis HLB), fraktionierender Elution sowie I/I-Extraktion und heterogener Derivatisierung

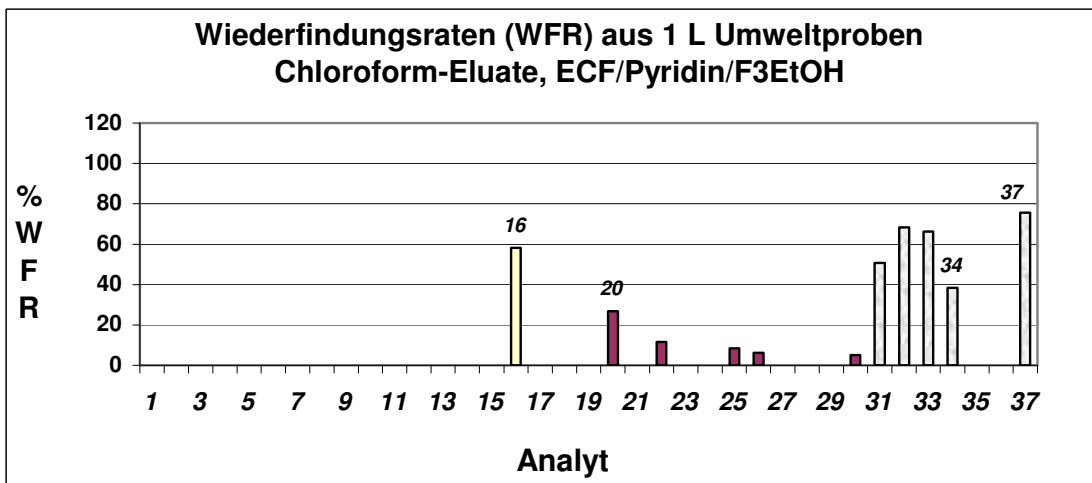


Abb. 80: Wiederfindungsraten der aciden Analyten in den Chloroformeluaten dotierter 1 L-Umweltproben (50 bis 500 ng/L) nach Festphasenextraktion (1 g Oasis HLB), fraktionierender Elution sowie I/I-Extraktion und heterogener Derivatisierung

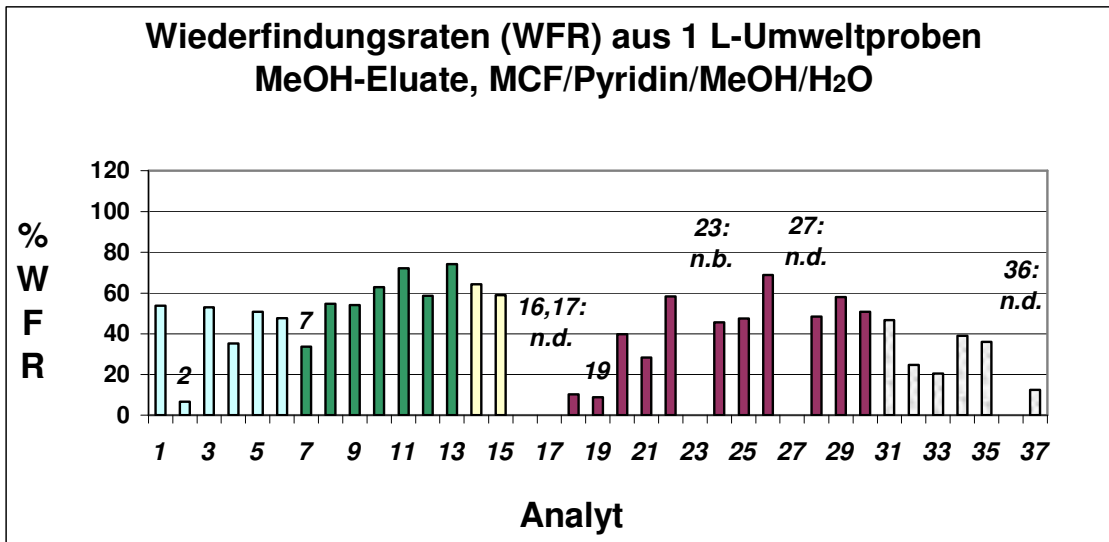


Abb. 81: Wiederfindungsraten der aciden Analyten in den Methanoleluaten dotierter 1 L-Umweltproben (50 bis 500 ng/L) nach Festphasenextraktion (1 g Oasis HLB), fraktionierender Elution sowie I/I-Extraktion und homogener Derivatisierung

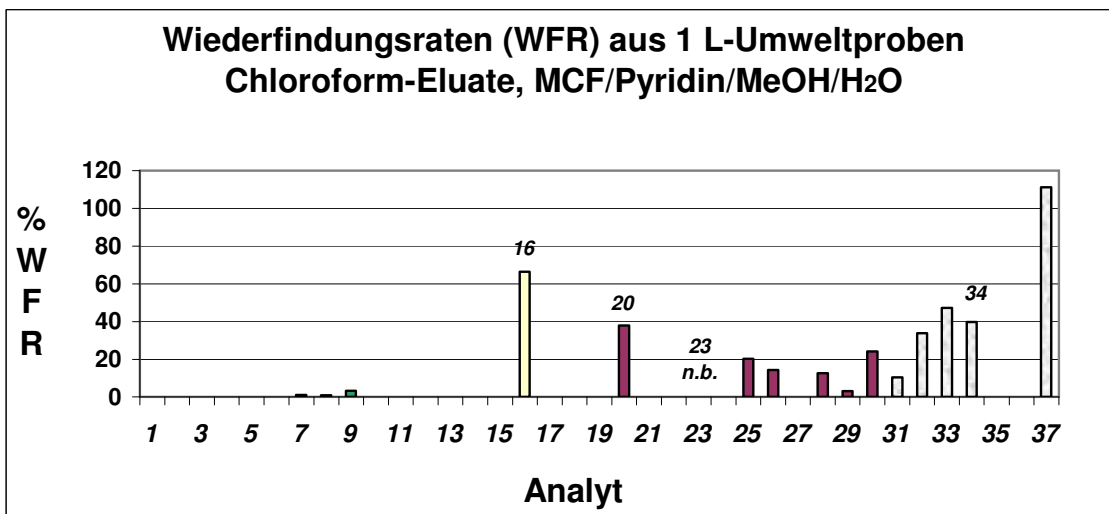


Abb. 82: Wiederfindungsraten der aciden Analyten in den Chloroformeluaten dotierter 1 L-Umweltproben (50 bis 500 ng/L) nach Festphasenextraktion (1 g Oasis HLB), fraktionierender Elution sowie I/I-Extraktion und homogener Derivatisierung

Generell zeigten die Versuche mit dotierten Umwelt- und Leitungswasserproben in etwa vergleichbare Resultate, ebenso wie sich das in den vorangegangenen Versuchen manifestierte Verhalten der Analyten fortsetzte. So konnte Paracetamol (36) in keinem Fall detektiert werden. Bezafibrat (17) und Gentsisinsäure (27) ließen sich nur bei heterogener Derivatisierung nachweisen. Die Limitierung des verwendeten Sorbens bei der Anreicherung niedermolekularer polarer Analyten prägte sich in überdurchschnittlichen Verlusten bei einigen Carbonsäuren aus. Offensichtlich spielten dabei sehr definierte Wechselwirkungen eine Rolle, so daß von den

zwei untersuchten Monochlorbenzoesäuren das in Position 2 chlorierte Isomer (1) in normalem Umfang von etwa 60 % wiedergefunden wurde, das in Position 4 substituierte Isomer (2) jedoch nur zu ungefähr 5 %. Problematisch ist das Elutionsverhalten der niederen Phenole sowie des Ibuprofens (20) und Gemfibrozils (16) zu bewerten, weil diese Analyten bereits anteilig durch Chloroform von der Festphase gelöst wurden. Dadurch wurde zwar, wie in Abbildung 83 dargestellt, die Gesamtwiederfindung dieser Analyten und die Reproduzierbarkeit der Werte kaum beeinträchtigt, jedoch variierten die in den jeweiligen Eluatenserien gefundenen Mengen selbst innerhalb einzelner Dotierungsserien erheblich. Diese Variationen resultieren aus der Empfindlichkeit eines solchen Elutionsgleichgewichtes gegenüber minimalen äußeren Einflüssen.

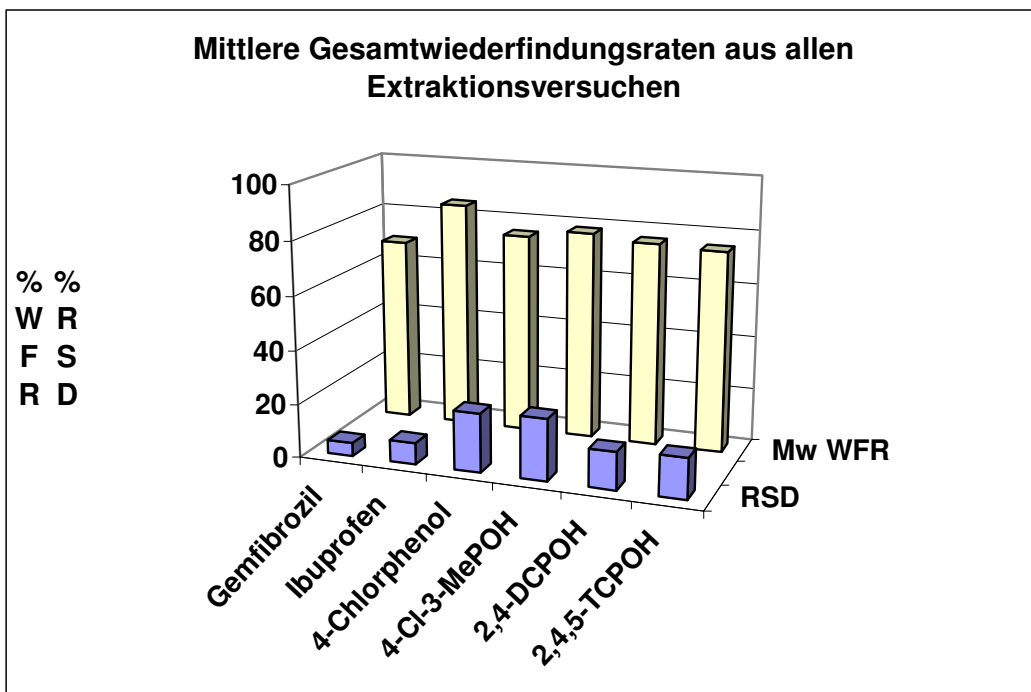


Abb. 83: Mittelwerte und relative Standardabweichungen der Gesamtwiederfindungsraten ausgewählter acider Analyten aus dotierten Leitungswasser- und Umweltproben

Im Rahmen einer ersten Bewertung der Möglichkeiten, die die untersuchten Methoden boten, konnte zu diesem Zeitpunkt festgehalten werden, daß grundsätzlich die überwiegende Zahl aller Analyten sowohl aus Leitungswasser als auch aus Umweltproben ausreichend detektierbar waren. Durch die heterogene Derivatisierung mit ECF/Pyridin/F₃EtOH wurden im Gegensatz zur homogenen Derivatisierung mit MCF/Pyridin/MeOH/H₂O auch sehr polare Analyten wie Bezafibrat detektiert und durchschnittlich etwas höhere Wiederfindungsraten realisiert. Die quantitative Bestimmung von 4-Chlorbenzoesäure (2), Bezafibrat (17), Phenylethansäure (18,19), Hydroxyibuprofen (23) Salicyl- und Gentsinsäure (21,27) sowie Paracetamol (36) war nicht möglich, für die anderen 29 Analyten aber konnten in allen Fällen zufriedenstellende Wiederfindungen erzielt werden. Ein Übersicht der für diese

Analyten gemittelten Werte aus allen Extraktionsversuchen ist in Abbildung 84 gezeigt:

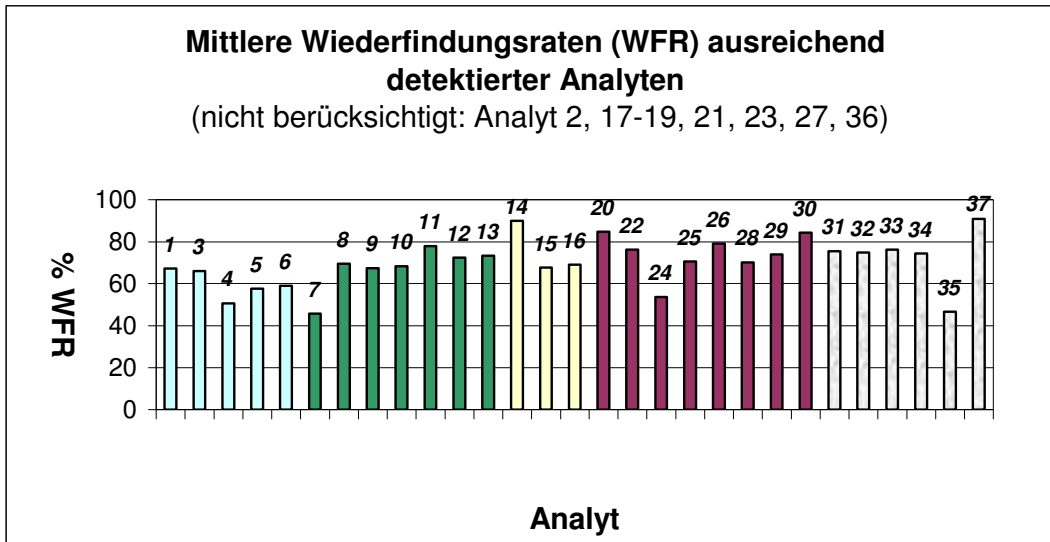


Abb. 84: Mittelwerte der Gesamtwiederfindungsraten ausgewählter acider Analyten aus dotierten Leitungswasser- und Umweltproben

6.1.6 Auswirkungen einzelner Komponenten der Probenaufarbeitung auf die Wiederfindung saurer Targetanalyten

Die durchschnittliche Auswirkung einzelner und kombinierter Arbeitsschritte auf die quantitative Messung der Derivate saurer Analyten ist vergleichend in Abbildung 85 dargestellt. Dabei wurden folgende Arbeitsschritte separat und kombiniert berücksichtigt:

- I/I-Extraktion gemäß SOP I/I a (I/I Ex)
- Anwesenheit einer starken Umweltmatrix bei den Derivatisierungen (Matrix)
- Durchführung einer Festphasenextraktion (SPE)

Um bei diesen Auswertungen den Einfluß schwierig oder nicht bestimmbarer Analyten zu minimieren, wurden erneut die Analyten 2, 17-19, 21,23, 27 und 36 nicht berücksichtigt.

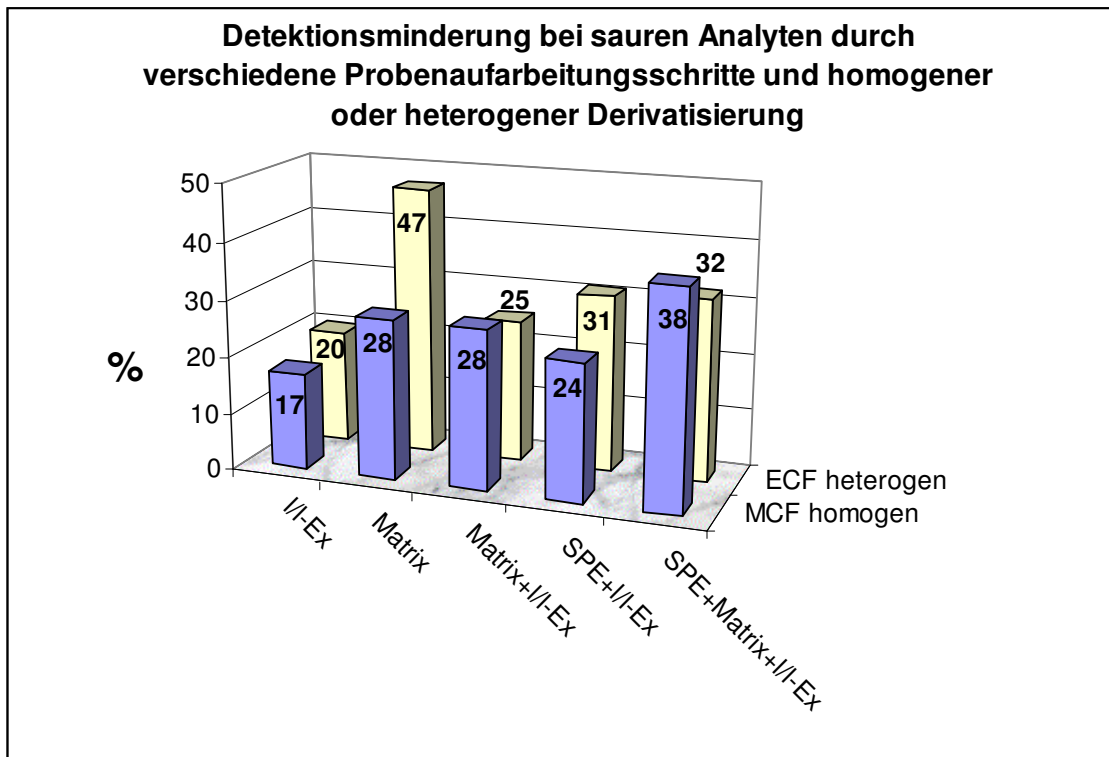


Abb. 85: Detektionsminderung bei sauren Analyten und homogener oder heterogener Derivatisierung durch verschiedene Probenaufarbeitungsschritte

Der graphischen Auswertung kann entnommen werden, daß die durchgeführte flüssig-flüssig Extraktion eine Detektionsminderung von etwa 20 % verursacht, die erwartungsgemäß unabhängig von der Derivatisierungsmethode ist. Nimmt man diese Werte als Bezugspunkt, wirkte sich hingegen die Anwesenheit einer natürlichen Matrix um den Faktor 1,7 bis 2,4 stärker aus, wobei sich die heterogene Derivatisierung wesentlich matrixempfindlicher als die homogene Umsetzung zeigte. Bei der Anwendung der I/I-Extraktion auf eine dotierte Umweltmatrix lagen die Gesamtverluste hingegen nur bei 25 bzw. 28 %. Da dabei die I/I-Extraktion wieder einen von der Größenordnung her gleichen Betrag gehabt haben sollte, hatte sich der Matrixeffekt bei der homogenen Derivatisierung, grob gerundet, von etwa 30 % auf 10 % vermindert, während bei der heterogenen Derivatisierung sogar ein Rückgang von rund 50 auf 5 % erfolgt war. Wendet man die gleiche Betrachtungsweise auf die Kombination der Festphasenextraktion aus Leitungswasser mit nachfolgender I/I-Extraktion an, so resultierten Detektionsminderungen durch die Festphasenextraktionen von etwa 7 bis 11 % bei beiden Derivatisierungen. In der Simulation der Bestimmung saurer Analyten aus Realproben sollten sich theoretisch alle Effekte aufsummieren. Für die homogene Derivatisierung mit MCF wäre damit ein rechnerischer Verlust von

$$17 \% (\text{I/I-Extraktion}) + 11 \% (\text{Matrix}) + 7 \% (\text{SPE}) = 35 \%$$

zu erwarten, wie es in der nachfolgenden Abbildung 86 veranschaulicht ist:

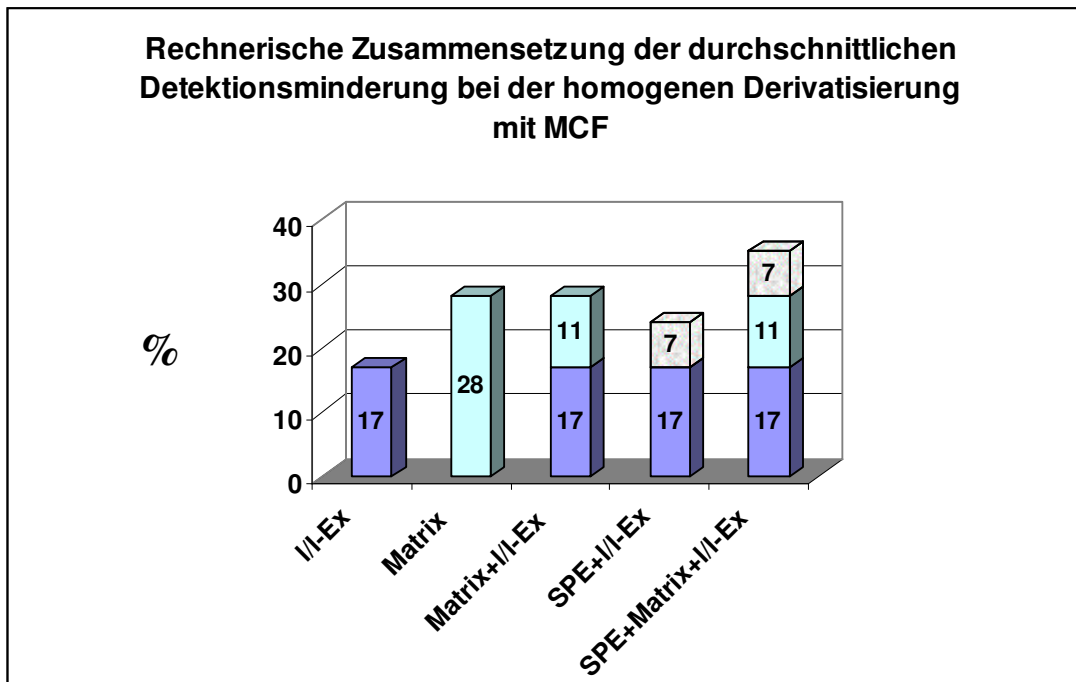


Abb. 86: Rechnerische Anteile verschiedener Probenaufarbeitungsschritte an der Detektionsminderung saurer Analyten bei homogener Derivatisierung mit MCF

Die analoge Betrachtung bei der heterogenen Derivatisierung führt zu einem etwa gleichen Ergebnis:

$$20 \% (\text{I/I-Extraktion}) + 5 \% (\text{Matrix}) + 11 \% (\text{SPE}) = 36 \%$$

Die tatsächlich ermittelten Werte von 38 % Verlust bei MCF und 32 % Verlust bei ECF liegen gut im Erwartungsbereich, wenn man berücksichtigt, daß die ermittelten Werte Schwankungen aufweisen, die vermutlich die Größenordnung der in den vorangegangenen Abschnitten angegebenen relativen Standardabweichungen haben. Als Konsequenz aus diesen Untersuchungen wurde die I/I-Extraktion zu einer wichtigen Komponente des Gesamtverfahrens, weil damit durch die Minimierung des Matrixeffektes auf die Derivatisierung eine wesentlich höhere Reproduzierbarkeit bei der Bestimmung von Umweltproben zu erwarten war.

6.2 Orientierende Untersuchung undotierter Umweltproben auf saure Analyten

Für eine abschließende Bewertung, welche der im vorangegangenen Abschnitt entwickelten Methoden die besten Resultate bei der Detektion acider Analyten in natürlichen Oberflächenwässern zeigte, wurden im weiteren Verlauf dieser Arbeit auch undotierte Realproben untersucht. Für diese Versuche wurden insgesamt vier Elbwasserproben von je 2,8 L Volumen aus der Elbe bei Hamburg (Fähranleger Neumühlen – Museumshafen Övelgönne) analog zu dem in Abschnitt 8.1.4.4 be-

schriebenen Verfahren mittels Oasis-HLB-Festphase extrahiert, fraktionierend extrahiert und die resultierenden methanolischen Eluate entsprechend der in Abschnitt 6.1. vorgestellten SOPs 8 und 9 sowohl homogen als auch heterogen jeweils mit und ohne vorangehende I/I-Extraktion derivatisiert. Die Chloroformeluate wurden ebenfalls verschieden derivatisiert, allerdings ohne Durchführung einer I/I-Extraktion. Für einen semiquantitativen Vergleich der resultierenden GC/MS-Messungen wurden die Signal/Rausch-Verhältnisse identifizierter Targetanalyten bestimmt. Absichtlich ist hier auf die Bestimmung der Signalflächen verzichtet worden, weil einerseits noch keine Methodenkalibrierung vorlag, mit der die absoluten Analytkonzentrationen hätten bestimmt werden können, und weil andererseits die methodenabhängigen Signal/Rausch-Verhältnisse eines Analyten, nicht aber die zugehörigen Signalflächen über die entsprechenden Nachweis- und Bestimmungsgrenzen entscheiden. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß Signal/Rausch – Werte wesentlich stärkeren Schwankungen unterliegen als gegenüber einem Standard normierte Signalflächen, so daß die Ergebnisse eine entsprechend höhere Fehlerbreite aufweisen. In Tabelle 32 ist eine entsprechende Auswertung der positiv nachgewiesenen sauren Verbindungen vorgestellt:

Signal/Rausch–Verhältnisse detektierter acider Analyten in Hamburger Elbproben 08/2004						
Analyt	Signal/Rausch <i>(Ionenspur)</i>					
	Chloroformeluate		Methanoleluate			
	MCF*	ECF*	MCF*		ECF*	
	ohne I/I	ohne I/I	ohne I/I	mit I/I	ohne I/I	mit I/I
	P2831	P2832	P2828	P2827	P2830	J2829
2,4-DCBA	-	-	53 ₍₁₇₃₎	66 ₍₁₇₃₎	92 ₍₁₇₃₎	110 ₍₁₇₃₎
3,4-DCBA	-	-	30 ₍₁₇₃₎	30 ₍₁₇₃₎	17 ₍₁₇₃₎	26 ₍₁₇₃₎
Clofibrinsäure	-	-	30 ₍₁₂₈₎	33 ₍₁₂₈₎	24 ₍₁₂₈₎	50 ₍₁₂₈₎
Mecoprop	-	-	49 ₍₁₆₉₎	25 ₍₁₆₉₎	29 ₍₁₆₉₎	43 ₍₁₆₉₎
3,4-DCPAA	-	-	20 ₍₁₅₉₎	14 ₍₁₅₉₎	19 ₍₁₅₉₎	16 ₍₁₅₉₎
Ibu-OH	9 ₍₁₁₈₎	11 ₍₁₁₉₎	15 ₍₁₁₈₎	13 ₍₁₁₈₎	22 ₍₁₁₉₎	21 ₍₁₁₉₎
Bayrepel-COOH	55 ₍₁₅₆₎	54 ₍₁₅₆₎	24 ₍₁₅₆₎	19 ₍₁₅₆₎	18 ₍₂₁₅₎	15 ₍₂₁₅₎
Diclofenac	-	-	36 ₍₂₁₄₎	28 ₍₂₁₄₎	34 ₍₂₁₄₎	29 ₍₂₁₄₎
MCF*: homogene Derivatisierung mit MCF/Pyridin/MeOH/H ₂ O gemäß SOP 8 ECF*: heterogene Derivatisierung mit ECF/Pyridin/F ₃ EtOH gemäß SOP 9 ohne I/I: ohne I/I-Extraktion vor der Derivatisierung mit I/I: mit I/I-Extraktion vor der Derivatisierung gemäß SOP I/I a						

Tab. 32: Übersicht über die mit verschiedenen Methoden erzielten Ionenspur-spezifischen Signal/Rausch-Verhältnisse von Target-Analyten in einer 2,7 L-Elbprobe (Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie I)

Hinsichtlich der jeweils erzielten Signal/Rausch-Verhältnisse zeigten beide Derivatisierungsmethoden in etwa vergleichbare Resultate. Auch bei den hier untersuchten

Realproben setzte sich die Tendenz aus den Vorversuchen fort, daß die homogene Umsetzung mit MCF etwas robuster gegenüber der Probenmatrix ist, die heterogene Derivatisierung jedoch nach Matrixabreicherung eine mindestens gleich gute Detektion vieler Analyten erlaubte. Tatsächlich wurden an der gleichen Station wenige Tage später Proben genommen, die quantitativ ausgewertet werden konnten. In der Annahme, daß die Analytmengen in beiden Probenserien etwa vergleichbar waren, resultieren die hier vorgestellten Signal-Rausch-Verhältnisse aus geschätzten Konzentrationen von < 0,5 bis 5 ng/L bei 2,4-DCBA, 3,4-DCBA, Clofibrinsäure und Mecoprop, 1 bis 10 ng/L bei Bayrepel-Säure, sowie 5 bis 20 ng/L bei Ibu-OH und Diclofenac.

Ein Nachteil der heterogenen Derivatisierung zeigte sich darin, daß das Einengen nicht matrixabgereicherter Proben vor der Derivatisierung schwieriger war als bei der homogenen Umsetzung, denn aus der Aufarbeitung von Realproben ohne vorherige I/l-Extraktion gingen häufig teerartige Rückstände hervor, die das Abblasen des Elutionsmittels Methanol erschwerten. Während bei den homogenen Derivatisierungen ein Restgehalt an Methanol die in dem gleichen Lösungsmittel durchgeführte Reaktion nicht störte, traten in heterogen derivatisierten Umweltproben gelegentlich methylierte Analytenanteile auf, die aus einer unvollständigen Abtrennung des zur Elution verwendeten Methanols resultierten, weil man bemüht war, die Verluste an leichter flüchtigen Substanzen zu verhindern. Die Durchführung einer I/l-Extraktion vor den Derivatisierungen hob diese Probleme vollständig auf, weil hier einerseits ein vollständiges Entfernen des Methanols vor der Extraktion nicht nötig war, andererseits nach der Extraktion keine teerartigen Rückstände mehr auftraten, und die Proben zudem in Diethylether gelöst waren, der sich schnell und schonend abblasen ließ.

Ein weiterer wesentlicher Aspekt war die äußerst störende Bildung von Emulsionen bei der Aufarbeitung matrixreicher Proben. Zwar kann das bei der I/l-Extraktion von matrixreichen Wasserproben geläufige Auftreten von Emulsionen durch den Einsatz von Festphasenextraktionen umgangen werden, worin ja auch eine der Begründungen für deren Verwendung liegt. Allerdings werden auch dabei oberflächenaktive Substanzen mitextrahiert und aufkonzentriert, so daß das Problem dann zu einem späteren Zeitpunkt bei der Aufarbeitung der Probenextrakte um so stärker auftreten kann. In der Praxis war die extraktive Aufarbeitung der heterogenen Umsetzungen mit ECF/Pyridin/Trifluorethanol wesentlich weniger durch das Auftreten von Emulsionen geprägt als die entsprechenden homogenen Derivatisierungen mit MCF. Nochmals unproblematischer wurde die Aufarbeitung von Eluaten entsprechend matrixbelasteter Proben durch den Einsatz der beschriebenen I/l-Extraktion der eingengten Eluate. Für eine bessere Bewertung sind diese Ergebnisse nachfolgend noch einmal in Kürze aufgelistet:

- Die homogene Derivatisierung von Festphaseneluaten ohne vorherige Matrixabtrennung zeigte sich matrix-unempfindlicher als die heterogene Umsetzung. Zudem war das Abblasen der Proben vor der heterogenen Reaktion unproblematischer.
- Die heterogene Derivatisierung ermöglichte im Durchschnitt etwas empfindlichere Analytdetektionen in matrixarmen Proben und reduzierte das Auftreten von Emulsionen bei der Aufarbeitung von tensidreichen Umwelteluaten.
- Durch die Anwendung einer I/I-Extraktion zur Matrixabreicherung konnte die Emulsionsbildung bei der Aufarbeitung beider Umsetzungen vermindert werden, das Abblasen der Probenlösungen vor der Derivatisierung wurde vereinfacht und die durchschnittliche Detektion der Derivate war verbessert.

Der neue Analyt in Tabelle 31, die Bayrepel-säure, wurde aufgrund eines etwa zeitgleich zu den durchgeführten Arbeiten veröffentlichten Artikels von *Knepper* und *Thomas*^[65] mit in die Auswertung aufgenommen. Bei dieser Verbindung handelt es sich um einem neuen aciden PPCP – Metaboliten, der durch die oxidative Transformation des in dem Bayer-Produkt Autan® enthaltenen insektenabwehrenden Wirkstoffes Bayrepel® entsteht und von den Autoren in Klärwerksabläufen nachgewiesen wurde. Anhand eines in dem gleichen Artikel publizierten Massenspektrums wurden die vorstehend aufgeführten Proben hinsichtlich des Auftretens dieser Verbindung ausgewertet. Da ein analoges Spektrum in den Messungen der methylierten Chloroform- und Methanoleluate tatsächlich vertreten war, wurden auch die Derivate von Bayrepel-COOH nach einer entsprechenden Absicherung des Befundes durch die Synthese der Referenzsubstanz und Bestimmung der Retentionszeiten der zugehörigen Methyl- und Trifluorethylester mit in die Auswertung aufgenommen. In den nachfolgenden Abbildungen 87, 88 und 89a,b sind die Chromatogramme und Massenspektren angeführt, die die Detektion und Identifizierung von Bayrepel-COOH in den Elbproben belegen.

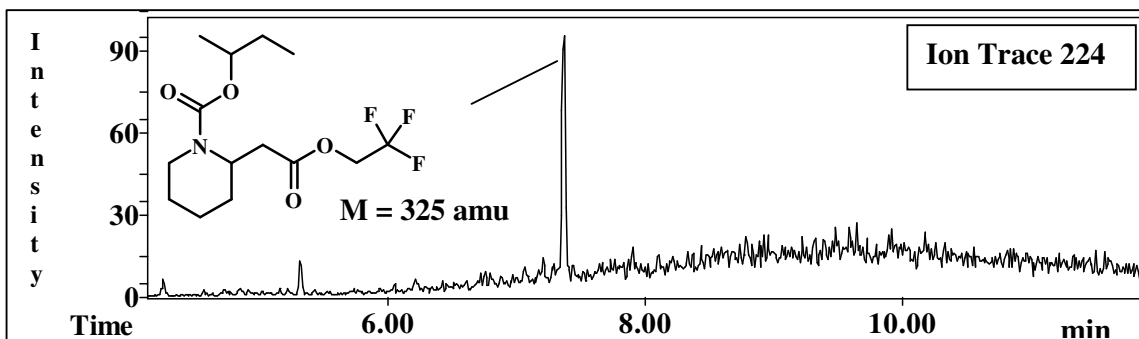


Abb. 87: GC/MS-Chromatogramm (Full-Scan, Ionenspur 224) des Chloroformeluates einer 2,7 L-Elbprobe (Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH I) nach SPE und Derivatisierung gemäß SOP 9
(Säule: 15 m VB-1701, 2 min 333 K, → 553 K: 25 K/min, 4 min 553 K)

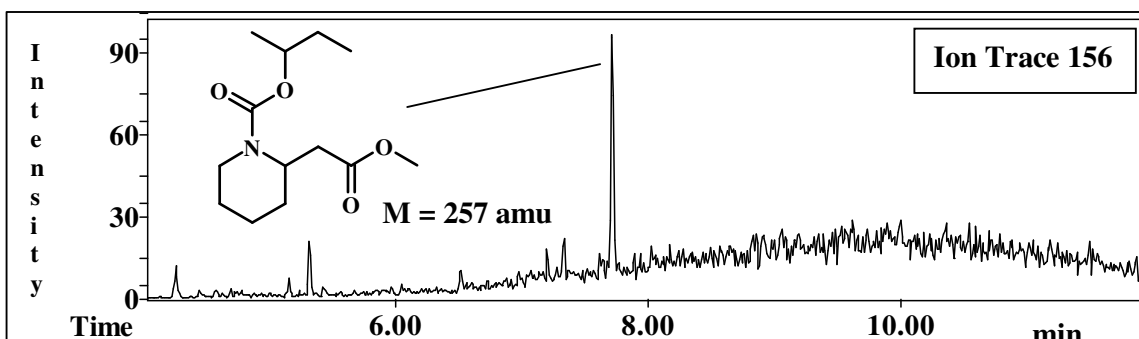


Abb. 88: GC/MS Chromatogramm (Full-Scan, Ionenspur 156) des Chloroformeluates einer 2,7 L-Elbprobe (Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH I) nach SPE und Derivatisierung gemäß SOP 8 (Säule: 15 m VB-1701, 2 min 333 K, → 553 K: 25 K/min, 4 min 553 K)

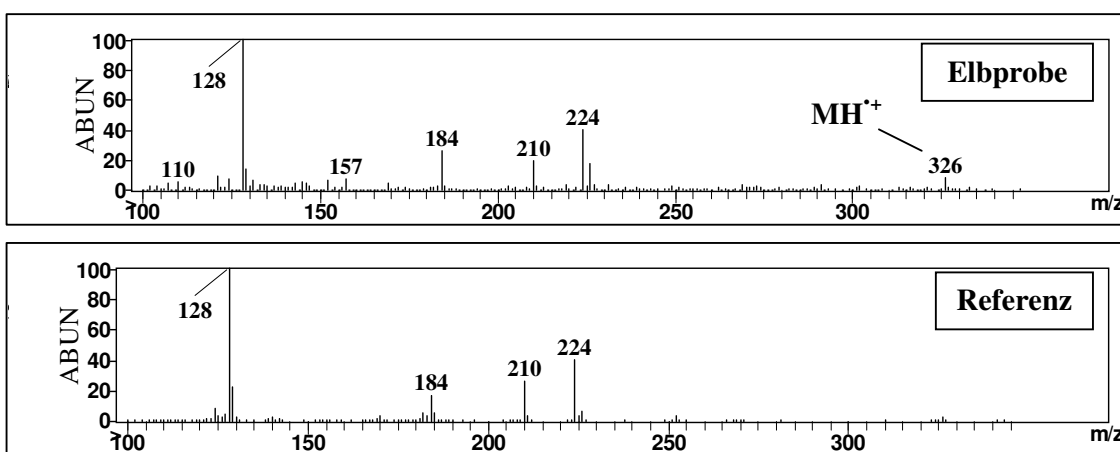


Abb. 89a: Massenspektren von Bayrepelsäure-trifluoethylester aus der Elbprobe Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH I und der synthetisierten Referenzverbindung

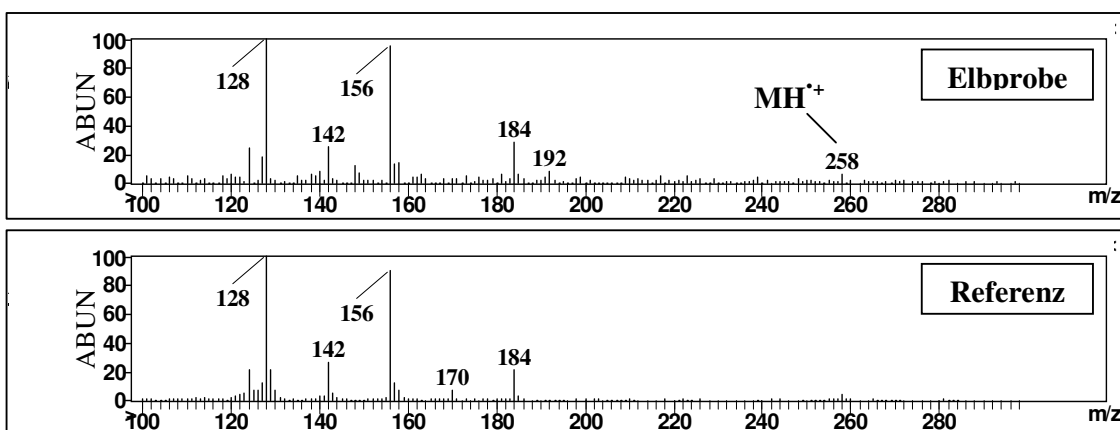


Abb. 89b: Massenspektren von Bayrepelsäure-methylester aus der Elbprobe Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH I und der synthetisierten Referenzverbindung

Der Gang der Identifizierung von Bayrepel-COOH in den untersuchten Elbproben ist ein schönes Beispiel dafür, wie die Anwendung zweier unterschiedlicher

Derivatisierungen auf Aliquote einer Umweltprobe erste Verdachtsmomente bereits weitgehend absichern kann, denn bereits vor der endgültigen Validierung durch die Synthese und Messung der Reinsubstanz zeigte das Auftreten einer um 30 Scanzahlen früher eluierenden Verbindung mit den erwarteten Ionen von 128 amu und 326 amu in der trifluorethylierten Probe den Bayrepel-säure-trifluorethylester an und bestätigte damit die Ergebnisse der Methylierungsreaktion.

6.3 Orientierende Untersuchung undotierter Umweltproben auf saure neutrale und basische Analyten

Da eine der wesentlichen Intentionen dieser Arbeit die Methodenentwicklung zur Bestimmung eines möglichst breiten Spektrums von Analyten war, wurden die in dem vorangehenden Abschnitt aufgeführten Messungen der Elbproben sowie nachfolgend genommene Proben zusätzlich auf das Vorkommen ausgewählter neutraler und basischer Umweltkontaminanten geprüft, wobei besonders die in Kapitel 2 vorgestellten Targetanalyten beziehungsweise Ergebnisse aus vorangegangenen oder parallel durchgeführten Diplom- und Promotionsarbeiten berücksichtigt wurden. In diesem Zusammenhang werden in einigen der nachfolgend vorgestellten Tabellen die in den jeweiligen Messungen ermittelten Signal/Rausch-Verhältnisse der Analyten angegeben. Diese Daten sind nicht als Quantifizierungswerte zu verstehen, sondern sollen dem Betrachter ausschließlich der groben Abschätzung der Effizienz von Analytanreicherung bzw. Matrixabreicherung dienen. Soweit die Bestimmung quantitativer Ergebnisse aus diesen methodischen Voruntersuchungen möglich war, sind die entsprechenden Werte im folgenden Kapitel 7 aufgeführt.

6.3.1 Untersuchung der Verteilung polarer Analyten in unbehandelten oder sauer/basisch extrahierten Realprobeneluat

Die nachfolgende Übersicht der Detektion neutraler und basischer Verbindungen in den bereits beschriebenen Elbproben stellt praktisch eine Fortsetzung von Tabelle 31 dar, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, daß ausschließlich derivatisierte und extraktiv aufgearbeitete Eluate untersucht wurden, in denen die neutralen und basischen Analyten quasi als Beifang auftraten, so daß hier zunächst nur eine rein qualitative Auswertung erfolgte.

Detektion polarer neutraler und basischer Analyten in den Elutaten der Hamburger Elbproben, Fähranleger Neumühlen, 08/2004 Serie HH I				
	+ : positive Detektion		- : nicht detektiert	
	Chloroformeluate		Methanoleluate	
	MCF*	ECF*	MCF oder ECF*	
	ohne l/l	ohne l/l	ohne l/l	mit l/l
neutrale Analyten				
DEET	+	+	-	-
TCPP I	+	+	-	-
TCPP II	+	+	-	-
HHCb-on	+	+	-	-
basische Analyten				
Atrazin	+	+	-	-
Terbutylazin	+	+	-	-
Propyphenazon	< LOD	+	-	-
Coffein	-	-	-	-
Irgarol	+	+	-	-
Carbamazepin	-	-	-	-
DEET: <i>N,N</i> -Diethyltoluylamid TCPP I, II: Tris(chlorpropyl)phosphat Isomer I, II HHCb-on: Galaxolid®-Lacton MCF*: homogene Derivatisierung mit MCF/Pyridin/MeOH/H ₂ O gemäß SOP 8 ECF*: heterogene Derivatisierung mit ECF/Pyridin/F ₃ EtOH gemäß SOP 9 ohne l/l: ohne l/l-Extraktion vor der Derivatisierung mit l/l: mit l/l-Extraktion vor der Derivatisierung gemäß SOP l/l a				

Tab. 33: Übersicht über die in den polaren Eluatfraktionen von 2,8 L-Elbproben (Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH I) detektierten basischen und neutralen Umweltkontaminanten

Die in Tabelle 33 aufgeführte Auswertung zeigt, daß sowohl die chemisch robusten und in größeren Konzentrationen zu erwartenden Verbindungen wie das Repellent DEET, die Weichmacher TCPP I und II und der PPCB-metabolit HHCb-Lacton detektiert wurden als auch die in geringeren Konzentrationen zu erwartenden und chemisch weniger stabilen Triazinherbizide, das Antifoulingmittel Irgarol und das Pharmazeutikum Propyphenazon, die allesamt immerhin die gesamte Derivatisierungs- und Aufarbeitungsprozedur durchlaufen hatten. Im Gegensatz dazu überraschte, daß Coffein und Carbamazepin nicht gefunden wurden. Beide Verbindungen gehören zu den PPCBs, die in Oberflächenwässern wie der Elbe regelmäßig in höheren Konzentrationen nachgewiesen wurden^[42,249]. Wie sich nachfolgend zeigte, lag die Ursache für die ausgebliebene Detektion bei diesen Analyten in ihrer schlechten Löslichkeit in *n*-Hexan, die zu praktisch quantitativen Verlusten bei der extraktiven Aufarbeitung der derivatisierten Proben führte. In der nachfolgenden

Abbildung 90 ist ein Chromatogramm gezeigt, das die Summe der für die detektierten Analyten charakteristischen Ionenspuren ausweist. Auf diese Weise ist eine gute Vergleichbarkeit der Retentionsreihenfolge und Intensitätsverteilung möglich, wenn gleich dabei durch die Überlagerung des jeweiligen Rauschuntergrundes die schwächeren Signale von Propyphenazon und Irgarol etwas diskriminiert werden. Die Intensität der besonders stark rauschenden Spur 119, die DEET repräsentiert, wurde um den Faktor 5 erniedrigt.

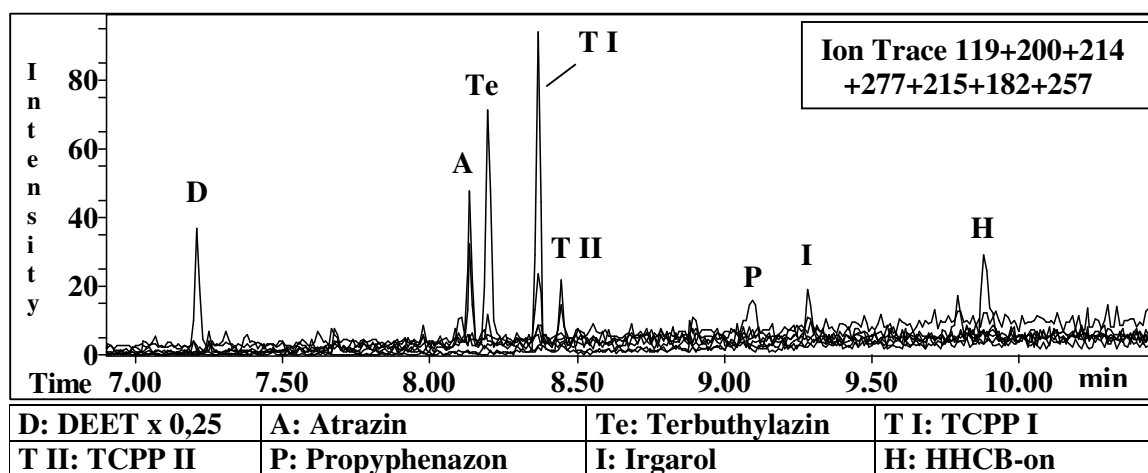


Abb. 90: GC/MS-Chromatogramm des mit MCF derivatisierten Chloroformeluates der Elprobe Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH I (Full-Scan, Ionenspur 119+200+214+277+215+182+257)
(Säule: 15 m VB-1701, 2 min 333 K, → 553 K: 25 K/min, 4 min 553 K)

Bei den hier vorgestellten Auswertungen wurden die aufgeführten neutralen und basischen Verbindungen ausschließlich in den Chloroformeluates detektiert, was sich mit den bisherigen Versuchen zum Elutionsverhalten der untersuchten Verbindungen deckte. Unerwünscht in diesem Zusammenhang war das bereits in Tabelle 31 aufgeführte anteilige Auftreten von Hydroxyibuprofen und Bayrepel-COOH in der mittelpolaren Eluatfraktion, denn die ursprüngliche Intention bei der Etablierung einer fraktionierenden Elution war ja gewesen, eine ausschließliche Anreicherung der carboxylischen Analyten in dem methanolischen Eluat zu erreichen. Um die Verteilung der verschiedenen Analyten weitergehend zu untersuchen, wurde wenige Tage nach der bis hier beschriebenen Probenreihe eine zweite an der gleichen Probenahmestelle (Fähranleger Neumühlen) realisiert, bei der eine Dotierung der Proben mit drei deuterierten Surrogatstandards (Mecoprop-D₃, 3,4-DCPPA-D₂, Coffein-¹⁵N₂) vor der ansonsten analog durchgeführten Festphasenextraktion erfolgte. Die Aufarbeitung wurde so gestaltet, daß nach einer fraktionierenden Elution die entsprechenden Chloroform- und Methanoleluate jeder Einzelprobe vereinigt und durch Vermischen und Aliquotierung aller 4 polaren Probeneluate standardisiert wurden. Zwei dieser Aliquote wurden ohne vorangehende I/I-Extraktion homogen bzw. heterogen derivatisiert und mittels GC/MS gemessen. Die qualitative Auswertung dieser Messungen hinsichtlich des Auftretens saurer, basischer und neutraler Analyten ist in der bekannten Weise in Tabelle 34 dargestellt:

Detektion neutraler, basischer und saurer Analyten in Hamburger Elbproben, Fähranleger Neumühlen, 08/2004 Serie HH II ohne I/I-Extraktion		
	+ : positive Detektion	- : nicht detektiert
	vereinigte Chloroform- und Methanoleluate	
	MCF*	ECF*
saure Analyten		
2,4-DCBA	+	+
3,4-DCBA	+	+
Clofibrinsäure	+	+
Mecoprop- <i>D</i> ₃	+	+
Mecoprop	+	+
3,4-DCPAA	+	< LOD
3,4-DCPPA- <i>D</i> ₂	+	+
Ibu-OH	< LOD	+
Bayrepelel-COOH	+	+
Diclofenac	+	+
neutrale Analyten		
DEET	+	+
TCPP I	+	+
TCPP II	+	+
HCHB-On	+	+
basische Analyten		
Atrazin	+	+
Terbutylazin	+	+
Propyphenazon	-	< LOD
Coffein- ¹⁵ N ₂	-	-
Coffein	-	-
Irgarol	< LOD	< LOD
Carbamazepin	-	-

Abkürzungen: siehe Tabelle 33

Tab. 34: Übersicht über die ohne I/I-Extraktion in den polaren Eluatfraktionen von 2,8 L-Elbproben (Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH II) detektierten sauren, basischen und neutralen Umweltkontaminanten

Die in obenstehender Tabelle 34 aufgeführten Ergebnisse zeigen, daß die Aufarbeitung der vereinigten polaren Fraktionen einerseits zwar den parallelen Nachweis fast aller Analyten, die zuvor getrennt detektiert worden waren, ermöglichte, allerdings resultierte aus einem höheren Matrixgehalt auch ein deutlich höherer Signaluntergrund, so daß hier die signalschwachen Substanzen Propyphenazon und Irgarol nicht mehr nachgewiesen werden konnten. Auch bei dem wichtigen aciden Analyten Hydroxyibuprofen trat dieser Effekt deutlich auf. Das in der nachfolgenden

Abbildung 91 präsentierte Chromatogramm resultierte aus der Messung der homogen derivatisierten Eluatmischung ohne vorherige I/I-Extraktion. Grundlage ist die Summe der Ionenspuren, die für die gleichen neutralen und basischen Analyten wie in der vorangehenden Abbildung 90 charakteristisch sind.

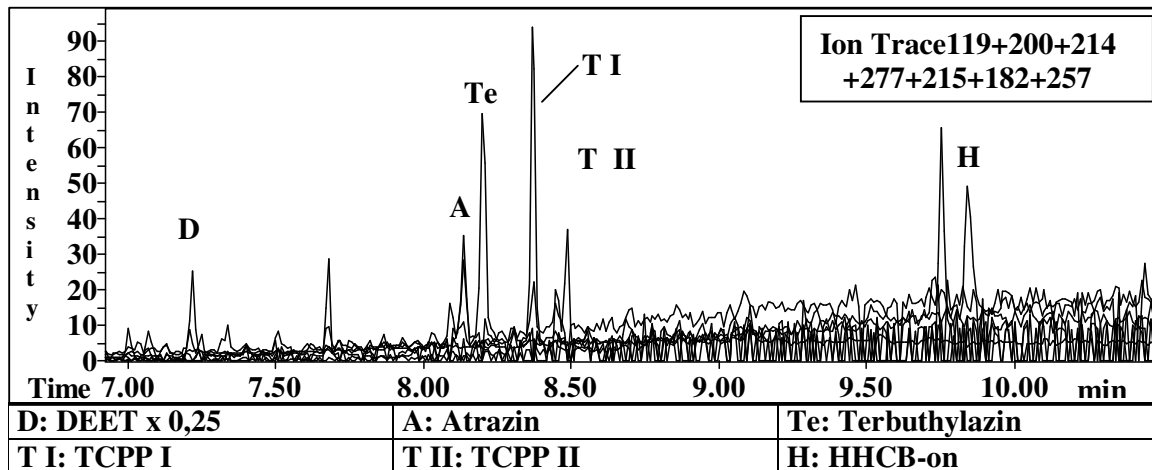


Abb. 91: GC/MS-Chromatogramm der mit MCF derivatisierten vereinigten polaren Eluate der Elbprobe Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH II (Full-Scan, Ionenspur 119+200+214+277+215+182+257)
(Säule: 15 m VB-1701, 2 min 333 K, → 553 K: 25 K/min, 4 min 553 K)

Unter der Annahme, daß in beiden Probenserien ein etwa gleiches Schadstoffinventar vorgelegen hatte, verdeutlicht der Vergleich der Chromatogramme aus den Abbildungen 89 bis 91, wie durch das Fehlen der I/I-Extraktion vor der Derivatisierung und die Vereinigung von Chloroform- und Methanoleluat der Signaluntergrund und die Anzahl von Störsignalen in dem resultierenden Chromatogramm zugenommen hatte.

Um genauer nachvollziehen zu können, wie sich die Analyten in Realproben bei einer I/I-Extraktion verteilen, wurden zwei weitere Aliquote der vereinigten Chloroform-/Methanoleluate gemäß der entsprechenden Arbeitsvorschrift (SOP I/1a) behandelt, wobei die daraus resultierenden organischen Phasen homogen und heterogen derivatisiert wurden, während die sauren wäßrigen Phasen, die bislang verworfen worden waren, mit 2 N Natronlauge basisch gemacht und via I/I-Extraktion in Diethylether aufgenommen wurden. Diese Vorgehensweise hatte zum Ziel, die Trennung von neutralen, basischen und sauren Verbindungen auf extraktivem Wege zu erreichen, wie es in dem folgenden Fließschema (Abbildung 92) veranschaulicht ist:

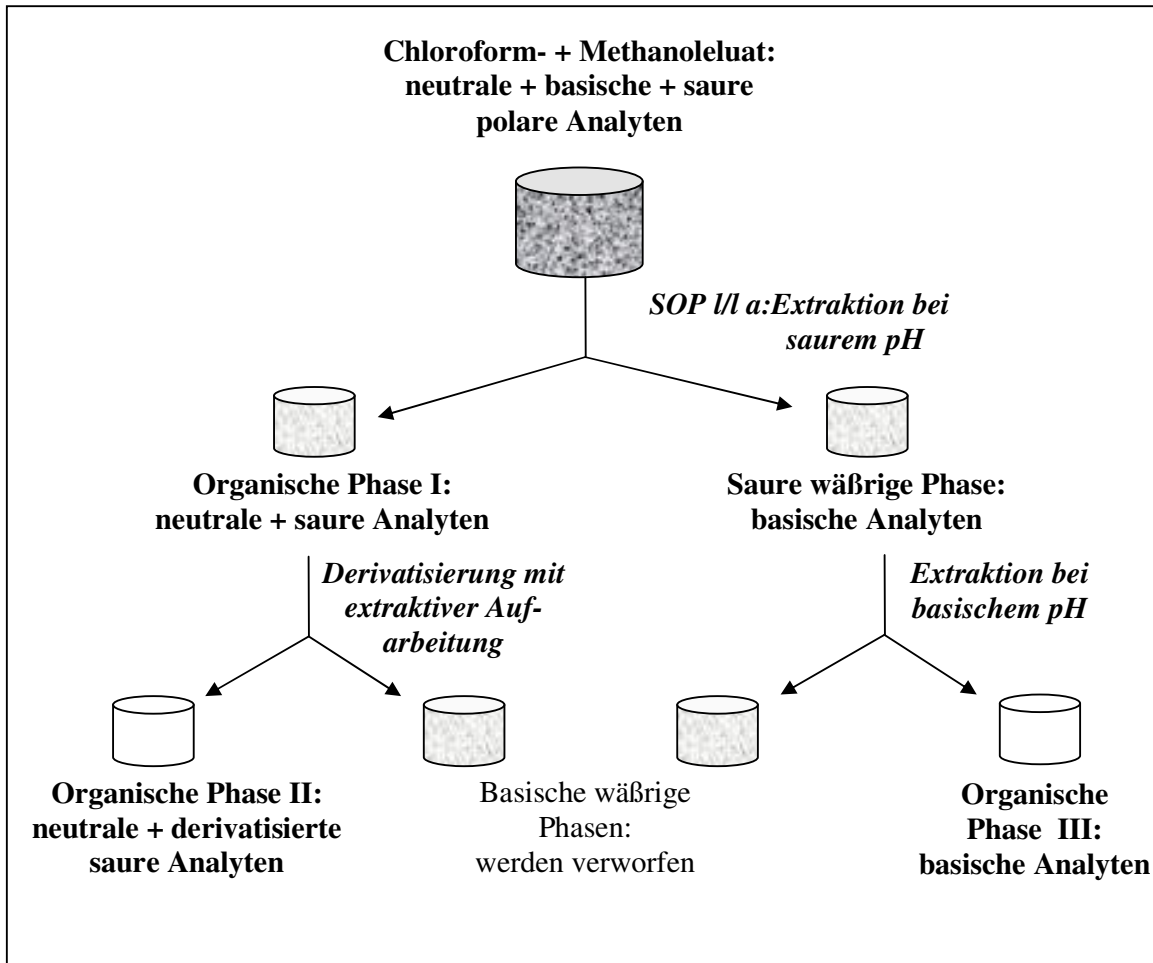


Abb. 92: Extraktionsschema A - Aufarbeitung einer Mischung der polaren Eluate aus 2,8 L-Elbwasserproben (Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH II)

Mit dieser neuen Versuchsführung konnten dann in den derivatisierten Fraktionen die sauren Analyten nach der I/I-Extraktion erwartungsgemäß mindestens gleichwertig detektiert werden wie zuvor. Auch zwischen heterogener und homogener Derivatisierung sowie hinsichtlich der neutralen und basischen Analyten traten unter Berücksichtigung der relativ hohen Streubreite von Signal/Rausch-Werten im Vergleich zu den vorangegangenen Messungen keine signifikant abweichenden Ergebnisse auf. Von Bedeutung war allerdings die Verteilung der untersuchten neutralen und basischen Verbindungen in den derivatisierten Fraktionen und der organischen Phase III, die aus dem basischen I/I-Extraktionsschritt resultierte. Eine entsprechende Übersicht ist in Tabelle 35 dargestellt:

Detektion neutraler, basischer und saurer Analyten in Hamburger Elbproben, Fähranleger Neumühlen, 08/2004 Serie HH II mit I/I-Extraktion			
	vereinigte Chloroform- und Methanoleluate		
	Signal/Rausch <small>(Ionenspur)</small>		
	organische Phase II		organische Phase III
	MCF*	ECF*	nicht derivatisiert
saure Analyten			
2,4-DCBA	72 ₍₁₇₃₎	32 ₍₁₇₃₎	nicht ausgewertet
3,4-DCBA	24 ₍₁₇₃₎	5 ₍₁₇₃₎	
Clofibrinsäure	45 ₍₁₂₈₎	15 ₍₁₂₈₎	
Mecoprop-D ₃	112 ₍₁₇₂₎	76 ₍₁₇₂₎	
Mecoprop	29 ₍₁₆₉₎	22 ₍₁₆₉₎	
3,4-DCPAA	11 ₍₁₅₉₎	8 ₍₁₅₉₎	
3,4-DCPPA-D ₂	55 ₍₁₇₄₎	67 ₍₁₆₁₎	
Ibu-OH	< LOD ₍₁₁₈₎	17 ₍₁₁₉₎	
Bayrepel-COOH	31 ₍₁₂₈₎	40 ₍₁₂₈₎	
Diclofenac	10 ₍₂₁₄₎	9 ₍₂₁₄₎	
neutrale Analyten			
DEET	69 ₍₁₁₉₎	67 ₍₁₁₉₎	41 ₍₁₁₉₎
TCPP I	26 ₍₂₇₇₎	49 ₍₂₇₇₎	190 ₍₂₇₇₎
TCPP II	6 ₍₂₇₇₎	7 ₍₂₇₇₎	23 ₍₂₇₇₎
HHCB-on	8	< LOD	40 ₍₂₅₇₎
basische Analyten			
Atrazin	7 ₍₂₀₀₎	9 ₍₂₀₀₎	23 ₍₂₀₀₎
Terbutylazin	18 ₍₂₁₄₎	15 ₍₂₁₄₎	22 ₍₂₁₄₎
Propyphenazon	-	-	28 ₍₂₁₅₎
Coffein- ¹⁵ N ₂	-	-	39 ₍₁₉₆₎
Coffein	-	-	29 ₍₁₉₄₎
Irgarol	-	-	3 ₍₁₈₂₎
Carbamazepin	-	-	15 ₍₁₉₃₎

Abkürzungen: siehe Tabelle 33

Tab. 35: Übersicht über die mit I/I-Extraktion in den polaren Eluatfraktionen von 2,8 L-Elbproben (Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH II) detektierten sauren, neutralen und basischen Umweltkontaminanten

Der Nachweis der annähernd neutralen Analyten DEET, TCPP I und II sowie HHCB-on sowohl in den derivatisierten Eluaten als auch in der organischen Phase III zeigte, daß diese Stoffe sich in dem ersten I/I-Extraktionsschritt nicht vollständig aus der wäßrigen Phase extrahieren lassen. Gleichzeitig waren die basischen Verbindungen Atrazin und Terbutylazin trotz des sauren Milieus mit in die organische Phase übergegangen. Diese unerwarteten Beobachtungen können durch das

Zusammenwirken mehrerer Effekt verursacht worden sein. Einerseits handelte es sich bei den betreffenden Analyten um relativ niedermolekulare, polare Verbindungen, die im Spurenbereich entsprechend gut wasserlöslich sind, so daß die neutralen Verbindungen durch Diethylether entsprechend unvollständig aus einer wäßrigen Phase extrahiert wurden. Gleichzeitig ist denkbar, daß tensidische Anteile in den Umweltproben für eine Verteilung sowohl neutraler als auch basischer Komponenten zwischen beiden Phasen der Extraktion verantwortlich gewesen sind. Schließlich ist auch noch eine reversible Komplexierung einzelner Analyten in der Form vorstellbar, daß die physikalische Bindung von Substanzen an Matrixkomponenten typisch pH-abhängige Eigenschaften verminderte. Eine mögliche Folge wäre dann, daß beispielsweise eigentlich basisch reagierende Analyten während einer sauren Extraktion nicht ausreichend protoniert wurden und mit in die organische Phase übergingen, wo sie dann durch äußere Einflüsse, wie etwa der drastischen Änderung des pH-Wertes, wieder freigesetzt wurden.

Die Auswertung der gaschromatographisch–massenspektrometrischen Messung der underivatisierten organischen Phase III zeigt hinsichtlich der Empfindlichkeit, mit der die nicht-aciden Analyten detektiert wurden, im Vergleich zu der in Abbildung 90 dargestellten Messung eines derivatisierten Auszuges durchschnittlich verbesserte Signalintensitäten, weniger Rauschuntergrund und praktisch keine Störsignale. Wie zuvor wurden auch hier aus Gründen der besseren Übersichtlichkeit die Signalintensitäten stark detektierter Verbindungen reduziert. Die scheinbare Differenz der in Tabelle 35 angeführten s/n-Werte zu der Abbildung 93a ergibt sich aus der Überlagerung des Rauschens auf den ausgewählten Ionenspuren. Zur Veranschaulichung ist in Abbildung 93b ein Chromatogramm mit einer singulären, für TCPP I und II repräsentativen Ionenspur dargestellt.

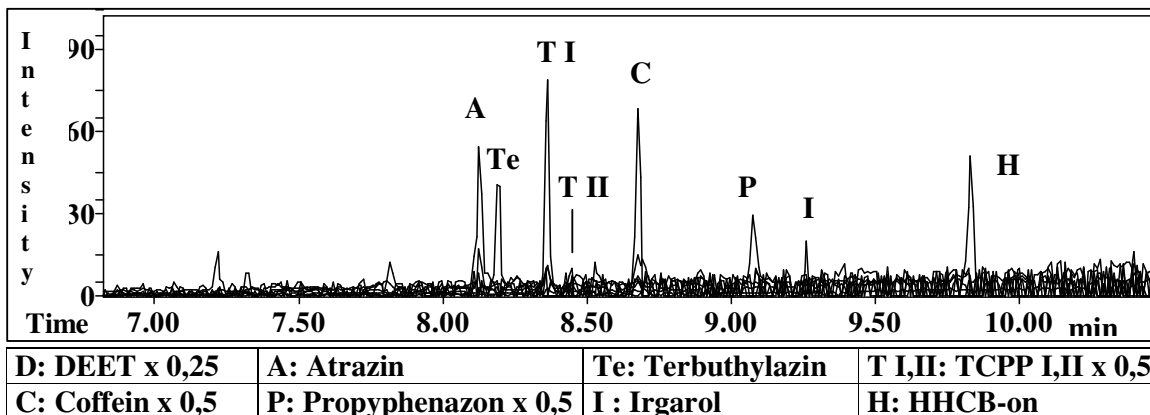


Abb. 93a: GC/MS-Chromatogramm der underivatisierten organischen Phase III aus der Elbprobe Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH II (Full-Scan, Ionenspur 119+200+214+277+194+215+182+257)

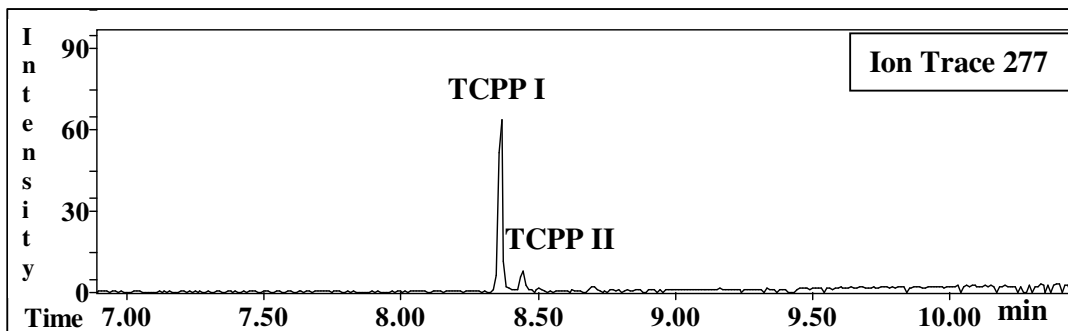


Abb. 93b: GC/MS Chromatogramm eines Chloroformeluates der Elbprobe Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 08/2004, Serie HH II (Full-Scan, Ionenspur 277)
(Säule: 15 m VB-1701, 2 min 333 K, → 553 K: 25 K/min, 4 min 553 K)

Durch die neue Versuchsführung wurden auch Coffein und Carbamazepin nachgewiesen, deren Vorkommen in den Proben erwartet wurde. Dies war mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die höhere Polarität des Extraktionsmittels Diethylether gegenüber dem bei den Derivatisierungen verwendeten *n*-Hexan zurückzuführen.

Für anschließende Untersuchungen zur weiteren Verbesserung der Detektion neutraler und basischer Analyten parallel zu den aciden Verbindungen wurde eine weitere Serie von Hamburger Elbwasserproben genommen und auf die vorangehend beschriebene Weise dotiert, extrahiert, eluiert und die Eluate in identische Aliquote überführt. Da diese Probenserie HH III in einem größeren zeitlichen Abstand gegenüber der vorangegangenen Serie HH II durchgeführt wurde, war davon auszugehen, daß das Schadstoffinventar sich in seiner Zusammensetzung geändert hatte. Deshalb wurde zunächst eine Probe wieder gemäß dem in Abbildung 92 aufgeführten Extraktionsschema A behandelt, um beide Serien vergleichbar zu machen. Bei einer zweiten parallel aufgearbeiteten Probe wurde das bereits bei der Untersuchung von Standardverbindungen eingesetzte Lösungsmittelgemisch *n*-Hexan/Diethylether 1:1 (v,v) bei der extraktiven Aufarbeitung in der Absicht eingesetzt, die Ausbeuten an neutralen und basischen Analyten zu erhöhen. Diese Maßnahme blieb allerdings ohne Erfolg und führte im Gegenteil aufgrund mitangereicherter Matrixanteile zu einer verschlechterten Detektion der sauren Analyten, so daß hier auf eine Vorstellung einer Ergebnisübersicht verzichtet wird. Interessant aber erschien, daß bei der Auswertung der Messungen aus Probenserie HH III (Oktober 2004) das Triazinherbizid Simazin, das saure Analgetikum Naproxen sowie die drei herbiziden Phenoxycarbonsäuren 2,4-D, MCPA und Dichloprop als weitere Analyten identifiziert werden konnten, die in der vorangegangenen Probenserie HH II vom August nicht - oder nur äußerst schwach detektiert worden waren. Insbesondere MCPA und Dichloprop waren in den Oktoberproben so intensiv vertreten, daß sich die Frage nach der jahreszeitlichen Konzentrationsabhängigkeit des Schadstoffinventars in der Elbe stellte. Ein Vergleich der relativen Mengen ausgewählter Analyten aus diesen beiden Serien sowie einer nachfolgenden Probennahme wird deshalb an anderer Stelle aufgeführt. In den

nachfolgenden Abbildungen 94-96 sind die für die Identifizierung wesentlichen Chromatogramme und Massenspektren der entsprechenden Trifluorethylester von MCPA und Dichloprop dargestellt.

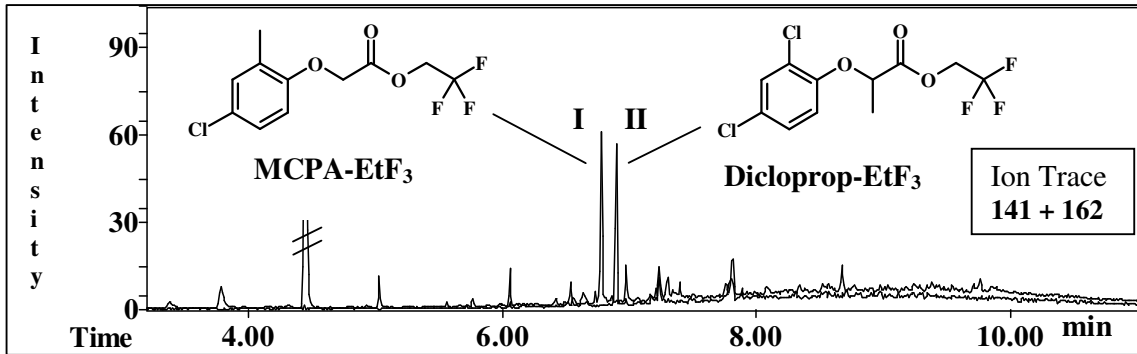


Abb. 94: GC/MS-Chromatogramm (Full-Scan, Ionenspur 141+162) des heterogen derivatisierten Eluates einer 2,8-L Elprobe (Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 10/2004, Serie HH III)

(Säule: 15 m VB-1701, 2 min 333 K, → 553 K: 25 K/min, 4 min 553 K)

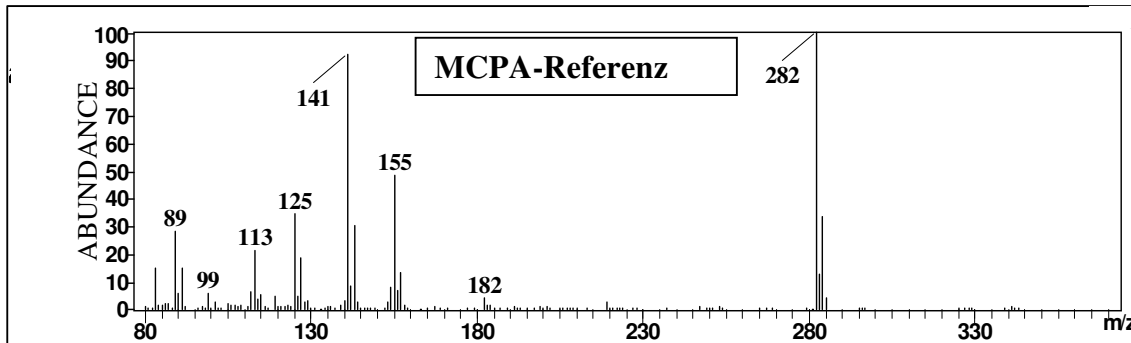
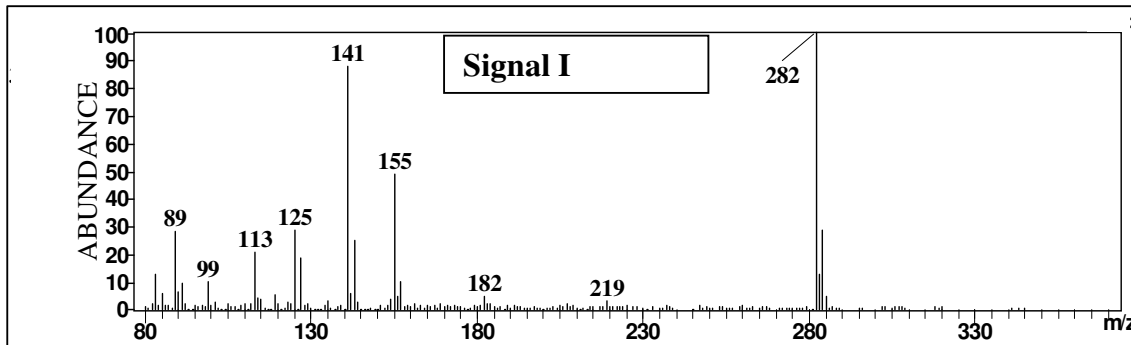


Abb. 95: Massenspektren von MCPA-trifluorethylester aus der Elprobe Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 10/2004, Serie HH III und von der Referenzverbindung

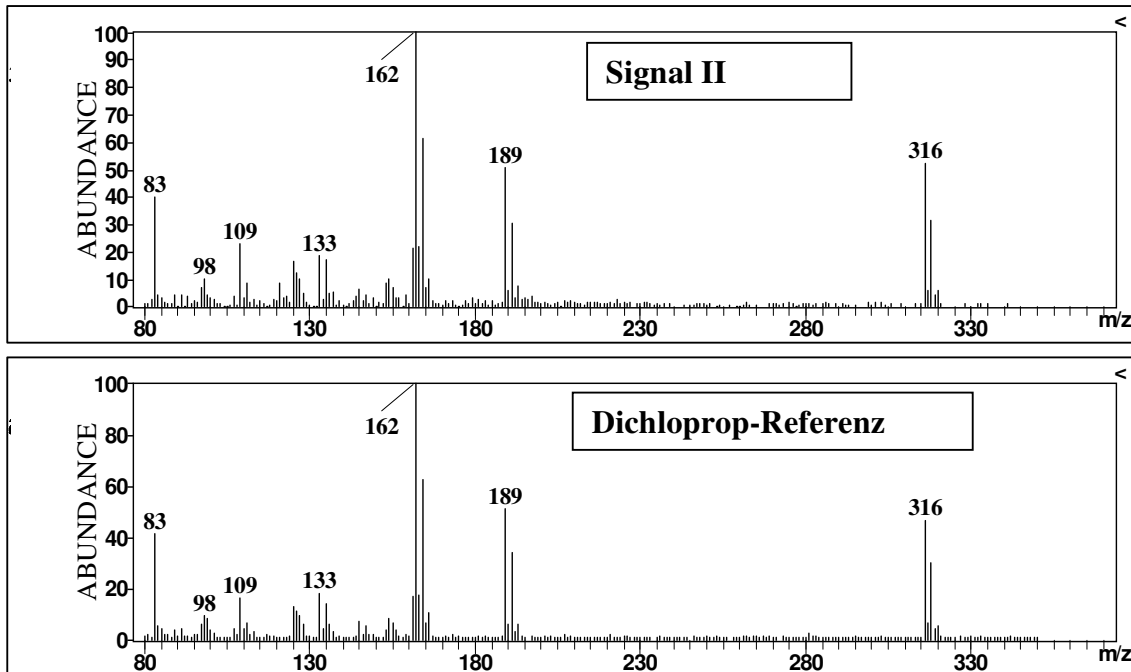


Abb. 96: Massenspektren von Dichloprop-trifluorethylester aus der Elbprobe Hamburg, Fähranleger Neumühlen, 10/2004, Serie HH III und von der Referenzverbindung

Die in diesem Abschnitt beschriebenen Untersuchungen zeigten, daß die Vereinigung der Chloroform- und Methanoleluate von Realproben zu einer matrixbedingten Verschlechterung der Detektion bestimmter Analyten führte. Dieser Nachteil konnte durch die Anwendung einer zweistufigen sauer/basischen I/I-Extraktion vor der Derivatisierung zwar teilweise aufgehoben werden, führte aber zu einer Verteilung etlicher neutraler und basischer Analyten über beide I/I-Extrakte. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde der Ansatz, alle polaren Analyten aus einer Mischung der Chloroform- und Methanoleluate heraus zu bestimmen, nicht weiter verfolgt. Trotzdem sollte auf eine Matrixanreicherung nicht verzichtet werden, denn die bis hier aufgeführten Vorversuche hatten über die dargelegten Ergebnisse hinaus gezeigt, daß insbesondere die Chloroformeluate einen so hohen Matrixgehalt aufwiesen, daß einerseits eine rasche Beeinträchtigung des Meßsystems zu befürchten war und zudem die ausreichend empfindliche Detektion vieler Analyten in Frage stand.

6.4 Untersuchung der Verteilung polarer Analyten in sauer oder basisch extrahierten Realprobeneluat

Um die positiven Effekte einer Matrixabreicherung durch I/l-Extraktion bei Umweltproben weiter zu verfolgen, wurde zwei Wochen nach der Probenserie HH III eine weitere Reihe von 2,8 L-Elbproben (Serie HH IV) nur mit dem Surrogatstandard MD3 dotiert, ansonsten aber analog zu den vorangegangenen Versuchen aufgearbeitet und die resultierenden polaren Eluate vor der Derivatisierung sowohl entsprechend SOP I/la erst sauer, dann basisch als auch entsprechend SOP I/lb erst basisch, dann sauer extrahiert. Die sauren Extrakte wurden für die Bestimmung acider Analyten heterogen derivatisiert, während die basischen Extrakte direkt auf neutrale und basische Targetanalyten untersucht wurden. Analoge Versuche waren bereits im Abschnitt 5.3.4.3 mit aciden Referenzsubstanzen und in Anwesenheit einer Standardmatrix vorgenommen und hinsichtlich der dabei auftretenden Substanzverluste ausgewertet worden. Mit der Anwendung bei Realprobeneluat sollten hier die unterschiedlichen Effekte beider Extraktionsmethoden auf die Detektionsempfindlichkeit geprüft und die Verteilung der neutralen und basischen Verbindungen untersucht werden. In Tabelle 36 ist die entsprechende Auswertung hinsichtlich der Gruppe der sauren Targetanalyten aufgelistet, wobei im Vergleich zu den vorangegangenen Messungen eine Reihe chlorierter Analyten zusätzlich identifiziert wurde. Dabei handelte es sich um 2,4-Dichlorphenol (2,4-DCPOH) 3,4,5-Trichlorbenzoesäure (3,4,5-TCBA), 3,5-Dichlorphenylethansäure (3,5-DCPAA) und 3,4,5-Trichlorphenylethansäure (3,4,5-TCPAA).

Detektion saurer Analyten in polaren Eluatfraktionen von Hamburger Elbproben, Kühlhauskai Neumühlen, 10/2004 Serie HH IV				
saure Analyten (<i>Ionenspur</i>)	Signal/Rausch			
	Methanoleluate		Chloroformeluate	
	SOP I/I a: sauer/basisch	SOP I/I b: basisch/sauer	SOP I/I a: sauer/basisch	SOP I/I b: basisch/sauer
	H ⁺ -Extrakt: ECF*	H ⁺ -Extrakt: ECF*	H ⁺ -Extrakt: ECF*	H ⁺ -Extrakt: ECF*
2,4-DCBA ₍₁₇₃₎	46	52	-	-
3,4-DCBA ₍₁₇₃₎	10	10	-	-
Clofibrinsäure ₍₁₂₈₎	27	21	-	-
Ibuprofen ₍₂₄₅₎	28	24	23	40
3,5-DCPAA ₍₁₅₉₎	7	5	-	-
3,4,5-DCBA ₍₂₀₉₎	4	6	-	-
Mecoprop-D ₃ ₍₁₇₂₎	110	137	-	-
Mecoprop ₍₁₆₉₎	67	35	-	-
2,4-DCPOH ₍₁₆₂₎	16	<LOD	30	-
3,4-DCPAA ₍₁₅₉₎	15	10	-	-
MCPA ₍₁₄₁₎	33	35	-	-
Dichloprop ₍₁₄₁₎	> 500	> 500	-	-
Ibu-OH ₍₂₄₆₎	37	26	<LOD	4
Bayrepel-COOH ₍₁₂₈₎	37	29	<LOD	-
3,4,5-TCPAA ₍₁₉₅₎	12	9	-	-
Naproxen ₍₁₈₅₎	21	10	-	-
Diclofenac ₍₂₁₄₎	73	44	-	-
Triclosan ₍₂₉₀₎	3	-	<LOD	-
Indometacin ₍₁₃₉₎	<LOD	-	-	-

MCF*: homogene Derivatisierung mit MCF/Pyridin/MeOH/H₂O gemäß SOP 8
ECF*: heterogene Derivatisierung mit ECF/Pyridin/F₃EtOH gemäß SOP 9

Tab. 36: Übersicht der mit unterschiedlichen I/I-Extraktionen in polaren Eluaten von 2,8 L-Realproben (Elbe, Hamburg, Kühlhauskai Neumühlen, 10/2004, Serie HH IV) detektierten sauren Targetanalyten

In den derivatisierten sauren Extrakten der Methanoleluate konnten mit beiden Methoden für die Mehrzahl der Analyten etwa vergleichbare Ergebnisse erzielt werden. In einigen Fällen aber, insbesondere bei den phenolischen Analyten Triclosan und 2,4-DCPOH, führten die Substanzverluste durch die basisch/saure Extraktion dazu, daß diese Verbindungen im Gegensatz zur sauer/basischen Trennung nicht mehr detektiert werden konnten. In den sauren I/I-Extrakten der Chloroformeluate wurden Ibuprofen und geringe Anteile der früheluiierenden Carbonsäuren nachgewiesen, worin sich bei diesen Substanzen erneut eine Abweichung von dem in Abschnitt 4.4 beschriebenen Elutionsverhalten bei

matrixarmen Wasserproben andeutete. Das anteilige Auftreten von 2,4-Dichlorphenol in den Chloroformfraktionen war hingegen erwartet worden. Daß dieser Analyt in den sauren Extrakten, denen eine basische Extraktion vorausgegangen war, nicht detektiert wurde, konnte dadurch begründet werden, daß aufgrund seiner gegenüber den Carbonsäuren schwächeren Acidität eine Abtrennung im ersten basischen Extraktionsschritt zusammen mit den neutralen und basischen Verbindungen erfolgte.

Neben diesen methodischen Aspekten fiel erneut die Divergenz der Analyt-zusammensetzung gegenüber den vorangegangenen Probenserien auf. Während einige Verbindungen wie etwa Clofibrinsäure, Mecoprop oder Diclofenac relativ konstant detektiert wurden, zeigten andere Analyten wie MCPA oder Dichloprop starke Schwankungen hinsichtlich ihres Auftretens in den untersuchten Proben. Als Beispiel ist in der untenstehenden Abbildung 97 ein Chromatogramm aus der Messung eines derivatisierten Methanoleluatextraktes aus der Probenserie HH IV dargestellt:

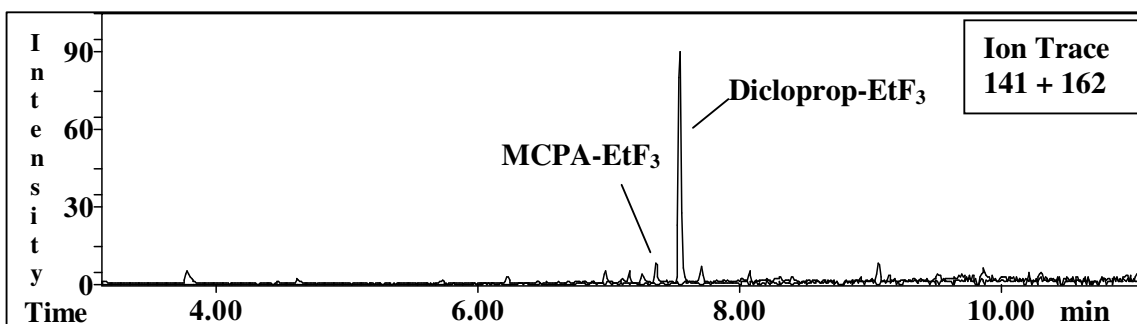


Abb. 97: GC/MS Chromatogramm (Full-Scan, Ionenspur 141+162) des heterogen derivatisierten Eluates einer 2,8 L-Elbprobe (Hamburg, Kühlhauskai Neumühlen, 10/2004, Serie HH IV)

(Säule: 15 m VB-1701, 2 min 333 K, → 553 K: 25 K/min, 4 min 553 K)

Bereits die hohe Signalintensität des Dichlopropderivates zeigt hier im Vergleich zu Abbildung 94, daß in dieser Probe eine erheblich größere Menge des Herbizides vorgelegen haben muß als zwei Wochen zuvor in der Probenserie HH III. MCPA hingegen zeigte eine niedrigere Signalintensität. Tatsächlich ergab sich aus dem Vergleich der auf den Volumenstandard normierten Signalflächen beider Proben, daß Dichloprop in der Probenserie IV etwa um den Faktor 3,5 höher konzentriert vorlag als in der Probenserie HH III, während die Menge an MCPA etwa um den gleichen Faktor abgenommen hatte.

Zur Auswertung der gleichen Proben hinsichtlich der neutralen und basischen Targetanalyten wurden vier unterschiedlich behandelte Chloroformeluate vergleichend untersucht. Eines davon wurde ohne I/l-Extraktion gemessen, um eine Übersicht über die vorhandenen Analyten zu gewinnen. Ein zweites Chloroformeluat wurde entsprechend SOP I/la zunächst sauer und dann basisch extrahiert, während zwei weitere Chloroformeluate nur basisch extrahiert wurden, wobei in einem Fall *n*-Hexan als Extraktionsmittel verwendet wurde, und im zweiten Fall eine Mischung aus Toluol/Ethylacetat (To/EE)10:1. Diese Variation sollte aufzeigen, bei welchen

Analyten sich die unterschiedliche Polarität der Extraktionslösungsmittel am stärksten auswirkt.

Detektion neutraler und basischer Analyten in polaren Eluatfraktionen von Hamburger Elbproben, Kühlhauskai Neumühlen, 10/2004 Serie HH IV				
	+ : positive Detektion		- : nicht detektiert	
	Chloroformeluate			
	ohne I/I-Extraktion	SOP I/I a: sauer/basische Extraktion	basische Extraktion	basische Extraktion
		HO ^o -Extrakt EtOEt	HO ^o -Extrakt <i>n</i> -Hexan	HO ^o -Extrakt To/EE 10:1
neutrale Analyten				
DEET ₍₁₁₉₎	20	16	44	26
TCPP I ₍₂₇₇₎	90	15	90	120
TCPP II ₍₂₇₇₎	27	3	24	26
HHCB-on ₍₂₅₇₎	3	26	7	3
basische Analyten				
Atrazin ₍₂₀₀₎	105	141	190	153
Simazin ₍₁₈₆₎	< LOD	9	4	4
Terbutylazin ₍₂₁₄₎	33	19	45	31
Propyphenazon ₍₂₁₅₎	16	108	32	28
Coffein ₍₁₉₄₎	84	221	18	135
Irgarol ₍₁₈₂₎	3	< LOD	6	< LOD
Carbamazepin ₍₁₉₃₎	13	16	27	50

Tab. 37: Übersicht der mit unterschiedlichen I/I-Extraktionen in polaren Eluaten von 2,8 L-Elbproben (Hamburg, Kühlhauskai Neumühlen, 10/2004, Serie HH IV) detektierten neutralen und basischen Targetanalyten

Die in Tabelle 37 aufgeführten Ergebnisse spiegeln sehr deutlich die in ihrer Wirkung entgegengesetzten Effekte des Matrixeinflusses und der Extraktionskraft der verwendeten Lösungsmittel wider. Vergleicht man die Detektion der Analyten aus dem rohen Eluat mit dem sehr stark matrixabgereicherten Extrakt nach der sauer/basischen Extraktion, so konnten insbesondere bei Propyphenazon und Coffein erheblich bessere Ergebnisse durch die Matrixanreicherung erzielt werden. Daß diese Tendenz nicht bei allen Analyten auftritt, ist vermutlich durch die bereits zuvor festgestellten Verluste bei dem vorgeschalteten sauren Extraktionsschritt zu erklären. An dieser Stelle sei allerdings nochmals darauf hingewiesen, daß die angegebenen Signal/Rausch-Verhältnisse bei unterschiedlich behandelten Proben vor allem die relative Empfindlichkeit der Detektion widerspiegeln, aber nur sehr begrenzt einen Rückschluß auf die Analytmengen zulassen. So beträgt die normierte Signalfläche des Coffeins aus dem sauer/basischen Extrakt trotz der etwa 2,6-fach empfindlicheren Detektion nur 87 % der Signalfläche des gleichen Analyten aus dem unbehandelten

Eluat. Der *n*-Hexanextrakt der basischen Extraktion war aufgrund der geringen Polarität der organischen Phase ebenfalls matrixarm, so daß der Großteil der Analyten empfindlicher detektiert wurde. Allerdings galt dies nicht für Propyphenazon und Coffein, deren Löslichkeit in *n*-Hexan begrenzt ist. Die Verwendung einer polareren organischen Phase bei der basischen Extraktion konnte genau diesen Effekt aufheben, so daß die letztgenannten Analyten durch Verwendung von Toluol/Ethylacetat 10:1 wieder verstärkt nachgewiesen wurden, allerdings führte der in gleichem Maße erhöhte Matrixgehalt der organischen Phase dazu, daß nicht in allen Fällen die gleiche Selektivität wie bei der sauer/basischen Extraktion erreicht wurde. Daß bei der letztgenannten basischen Extraktion Diethylether durch eine Mischung aus Toluol und Ethylacetat ersetzt wurde, resultierte daraus, daß insbesondere Coffein eine anomal geringe Löslichkeit in Diethylether zeigt. So löst es sich darin nur zu 1,8 mg/mL, in Wasser hingegen zu 22 mg/mL (293K) und in Chloroform zu 181 mg/mL^[59]. Aus diesem Grund wurde in einer Reihe von Vorversuchen eine Mischung neutraler und basischer Standardsubstanzen, zu denen unter anderen auch DEET, Atrazin, Simazin, Terbutylazin, Coffein, Propyphenazon und Carbamazepin gehörten, mit verschiedenen Lösungsmittelgemischen von Diethylether, Toluol, Ethylacetat und Chloroform aus basischer Lösung extrahiert. Dabei zeigte sich hinsichtlich der Einfachheit der Aufarbeitung und des durchschnittlichen Extraktionsvermögens eine Mischung von Toluol/Ethylacetat 10:1 (v,v) am geeignetsten. Zusammengefaßt spiegeln die in diesem Abschnitt vorgestellten Ergebnisse eine häufig in der Analytik anzutreffende wechselseitige Abhängigkeit der Methodenempfindlichkeit, der Zahl erfaßter Analyten und dem apparativen oder zeitlichen Aufwand wider. Da der Schwerpunkt dieser Arbeit eher in der Breite der Analyterfassung lag als in der Empfindlichkeit des Nachweises einer kleineren Zahl an Verbindungen, wurde für die Erfassung der neutralen und basischen Analyten bei der weiteren Aufarbeitung von Umweltextrakten eine Extraktion mittels Toluol/Ethylacetat 10:1 (v,v) angewendet.

In der nachfolgenden Abbildung 98 ist ein Chromatogramm dargestellt, das die Detektion der wesentlichsten Analyten aus dem mit diesen Lösungsmitteln extrahierten Chloroformeluat der Probenserie HH IV darstellt.

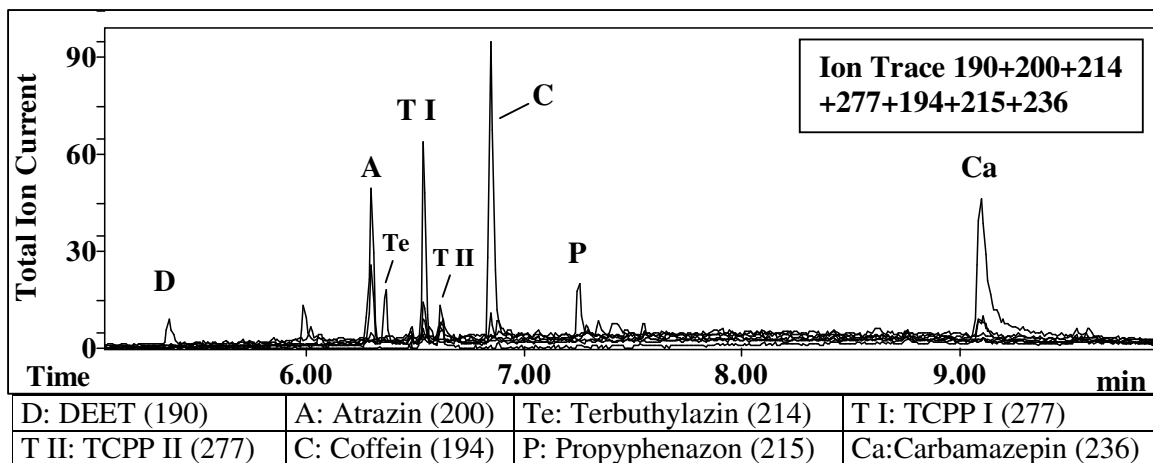


Abb. 98: GC/MS-Chromatogramm eines Elbproben-Chloroformeluates nach I/I-Extraktion aus basischem Milieu mit Toluol/EE ((10:1, v,v)) (Full-Scan, Ionenspur 190+200+214+277+194+215+236) (Hamburg, Kühlhauskai Neumühlen, 10/2004, Serie HH IV) (Säule: 15 m VB-1701, 2 min 378 K, → 543 K: 25 K/min, 6,4 min 543 K)

Die Abbildung zeigt im Vergleich zu den im Rahmen der zuvor präsentierten Chromatogramme für die meisten Analyten eine gleichwertige oder verbesserte Detektion. Insbesondere Carbamazepin wurde ausreichend gut detektiert, so daß das entsprechende Signal auf der Ionenspur 236 mit in den Bildausschnitt aufgenommen wurde.

Im Sinne einer zusammenfassenden Bewertung der in diesem Abschnitt vorgestellten Ergebnisse läßt sich festhalten, daß die parallele Detektion neutraler, basischer und saurer Analyten aus vereinigten und derivatisierten Chloroform- und Methanoleluaten ohne vorherige I/I-Extraktion nur begrenzt realisiert werden konnte, weil bei der extraktiven Aufarbeitung der Reaktionsansätze neutrale und basische Analyten anteilig oder vollständig verlorengingen. Zudem führte die höhere Matrixbelastung der vereinigten Eluate zu einem stärker ausgeprägten Rauschuntergrund und zu dem Auftreten von Störsignalen. Wurden vereinigte Chloroform- und Methanoleluate vor der Derivatisierung einer I/I-Extraktion unterzogen, so verminderte dies die Bildung von Emulsionen und verbesserte die chromatographischen Eigenschaften der Proben. Nachteilig war jedoch, daß eine unvollständige Separation der neutralen und basischen Analyten stattfand. Die optimale Kombination von Matrixabreicherung, Steigerung der Detektionsempfindlichkeit und Verhinderung der Emulsionsbildung konnten schließlich durch eine getrennte Aufarbeitung der polaren Eluate erzielt werden, indem die Methanolfractionen für die Bestimmung saurer Analyten entsprechend SOP I/a extrahiert wurden, während die Chloroformfraktionen entgegengesetzt basisch/sauer extrahiert wurden, so daß in dem basischen Extrakt die basischen und neutralen Analyten anfielen, während mit dem sauren Extrakt frühlühierende acide Analyten abgetrennt wurden. Dieser Trennungsgang für die Chloroformeluate wurde als SOP I/c zusammengefaßt:

SOP I/ c : Matrixanreicherung durch I/I-Extraktion bei basischem/saurem pH-Wert

Probenlösungen werden in einem vial von 1,5 mL Innenvolumen mittels eines Stickstoffstroms gerade zur Trockene eingedunstet und der Rückstand nachfolgend mit einer Spatelspitze NaCl sowie 500 µL 2 N Natronlauge versetzt. Nach gründlichem Schütteln der Mischung wird diese zweifach mit je 500 µL einer Mischung von Toluol/Ethylacetat 10:1 (v,v) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 10 Tropfen gesättigter Natriumchloridlösung ausgewaschen und nachfolgend über einer Spatelspitze wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Dieser Trocknungsschritt wird so oft wiederholt, bis das Trockenmittel in der Lösung seine feinkörnige Konsistenz behält.

Anschließend wird die basische wässrige Phase mit 300 µL Schwefelsäure (25 %) angesäuert und zweifach mit je 500 µL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte der sauren Lösung werden mit 10 Tropfen gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und über einer Spatelspitze wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Dieser Trocknungsschritt wird so oft wiederholt, bis das Trockenmittel in der Lösung seine feinkörnige Konsistenz behält.

6.4.1 Untersuchung der Verteilung unpolarer Analyten in den Eluaten von Realproben

Parallel zu den Untersuchungen der Chloroform- und Methanoleluate wurden auch GC/MS-Messungen von *n*-Hexaneluaten der in den vorangehenden Abschnitten vorgestellten Probenserien qualitativ auf das Auftreten von basischen und neutralen Analyten ausgewertet. Dabei konnten Hexachlorbenzol, α - und γ -HCH sowie ein Tribromanisolisomer detektiert werden. Anteilig wurden auch DEET sowie HHCB-on gefunden. so daß bei diesen Verbindungen unter Realbedingungen offensichtlich eine Verteilung über zwei Eluatfraktionen erfolgte. Neben den genannten Verbindungen wurden die häufig in der aquatischen Umwelt anzutreffenden Moschusduftstoffe Galaxolid® und Tonalid® identifiziert.

Diese Ergebnisse zeigten deutlich die Grenzen der Methode bei der Bestimmung klassischer Kontaminanten auf, denn entsprechende Untersuchungen haben ein weitaus umfangreicheres Schadstoffinventar im Unterlauf der Elbe nachgewiesen^[248]. Tatsächlich wäre für die Analytik vieler der ausgewählten halogenierten Targetverbindungen eine empfindlichere Detektion durch den Einsatz selektiver Detektoren, wie etwa dem ECD oder PND möglich. Ebenso könnten hochauflösende- oder tandemmassenspektrometrische Verfahren ebenso wie die Massenspektrometrie mit negativer chemischer Ionisation die Detektionsgrenzen deutlich senken. Da aber nicht die Bestimmung klassischer unpolarer Umweltkontaminanten im Mittelpunkt dieser Arbeit stand, sondern der Nachweis in jüngerer Zeit in Erscheinung getretener Umweltanalyten, wurden hinsichtlich der Aufarbeitung und

Messung der unpolaren Eluate keine weiteren Optimierungsversuche durchgeführt. Dennoch wurden die Untersuchung der *n*-Hexanfraktionen in die Gesamtmethode aufgenommen, um das Auftreten unpolarer PPCPs ebenso wie etwaige hohe Belastungen mit klassischen Schadstoffen erfassen zu können.

6.5 Kombination aller optimierten Arbeitsschritte zu einer analytischen Gesamtmethode

Durch die Kombination der in den vorangegangenen Kapiteln beschriebenen unterschiedlichen Arbeitsschritte bei der Aufarbeitung von Wasserproben ergab sich eine Gesamtmethode zur Bestimmung neutraler, basischer und saurer Analyten aus matrixreichen Oberflächenwässern, die in der nachfolgenden Abbildung 99 schematisch dargestellt ist.

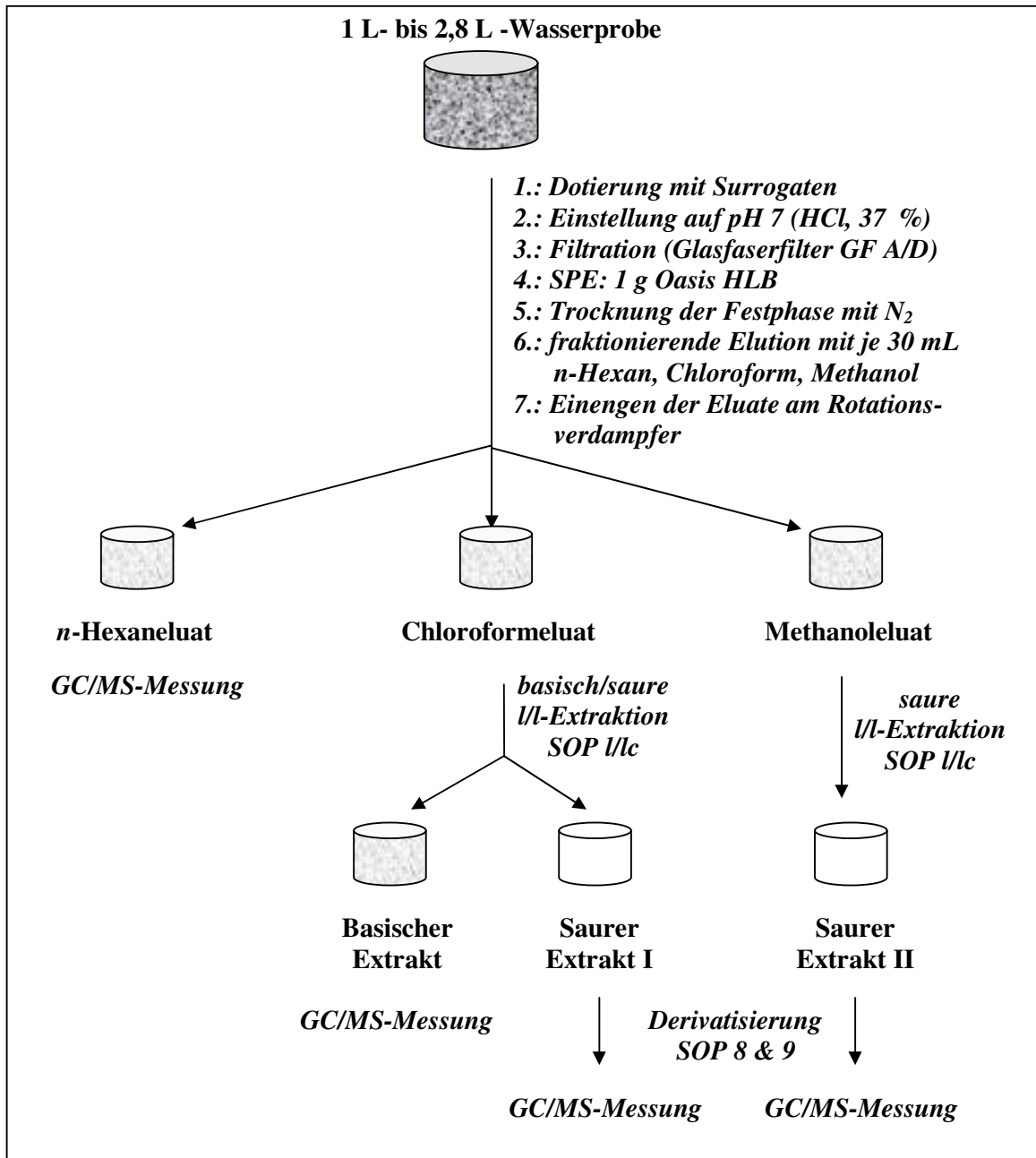


Abb. 99: Schema der Gesamtmethode zur Bestimmung neutraler, basischer und saurer Analyten aus matrixreichen Umweltproben

6.6 Zusammenfassung

Im Rahmen der Entwicklung einer Gesamtmethode zur parallelen Bestimmung saurer, basischer und neutraler Analyten wurde eine Reihe undotierter Realproben aufgearbeitet und die Verteilung der detektierten Targetanalyten in den verschiedenen Eluaten festgestellt, wobei zur Bestimmung der sauren Analyten sowohl die homogene Derivatisierung mit MCF und die heterogene Derivatisierung mit ECF vergleichend eingesetzt wurden. Die Anwendung verschiedener matrixabreichernder l/l-Extraktionsverfahren auf eingeengte Methanol- und Chloroformeluaten führte schließlich zur Entwicklung einer Gesamtmethode, in der nach einer Festphasenextraktion durch eine fraktionierende Elution drei Aliquots resultieren. Davon wird das unpolarste Aliquot direkt gemessen, während das mittelpolare zunächst basisch und dann, wie das polarste Aliquot auch, sauer extrahiert wird. Der basische Extrakt wird direkt gemessen, wohingegen die beiden sauren Extrakte zuvor zu derivatisieren sind.

Bei diesen Untersuchungen wurden parallel zur Methodenentwicklung insgesamt 35 verschiedene PPCPs, Pestizide und halogenorganische Verbindungen sowie Transformationsprodukte nachgewiesen, von denen insbesondere Bayrepel-Säure, das Transformationsprodukt des Autan-Wirkstoffes Bayrepel®, eine herausragende Rolle spielte, weil diese Verbindung zu diesem Zeitpunkt als Kontaminante von Oberflächenwässern außerhalb des unmittelbaren Einflusses von Klärwerksabläufen nicht in Erscheinung getreten war.

7 Bestimmung ausgewählter Analyten in Realproben

Im Laufe der Entwicklung der vorliegenden Promotionsarbeit wurden verschiedene Wasserproben aufgearbeitet und untersucht. Das Spektrum der Proben umfaßte einzelne Leitungs- und Abwässer, vor allem aber Oberflächenwässer mariner und nichtmariner Herkunft. Nicht alle Messungen dieser Proben konnten quantitativ ausgewertet werden, weil in Einzelfällen die Aufarbeitung vor der Etablierung der Gesamtmethode erfolgte, so daß die entsprechenden Ergebnisse nicht unter den gleichen Bedingungen zustande gekommen waren. Ebenso wurden einige Probenextrakte, die aus anderen Forschungsprojekten stammten, ausgewertet oder *vice versa* eigene Eluatfraktionen an Dritte weitergegeben, wodurch dann bestimmte Analyten nicht bestimmt werden konnten. Die genauen Probenahmestellen sind zusammen mit den Meßergebnissen in tabellarischer Form im experimentellen Teil aufgelistet. Die Proben wurden im wesentlichen auf Analyten untersucht, die bereits bei den methodischen Untersuchungen berücksichtigt worden waren. Bei den entsprechenden Meßauswertungen fanden sich in einigen Fällen Hinweise auf das Vorkommen von Desethylatrazin, Desethylterbuthylazin und 4-Acetamidoantipyrin. Die beiden Desethyltriazine sind bekannte Metaboliten der Herbizide Atrazin bzw. Terbuthylazin^[93], während 4-Acetamidoantipyrin ein Metabolit des als Analgetikum verwendeten Metamizols ist^[271]. Da das Auftreten von Metaboliten in der aquatischen Umwelt ein wesentlicher Aspekt dieser Arbeit ist, wurden alle Proben auch auf das qualitative Auftreten von Desethylatrazin, Desethylterbuthylazin und 4-Acetamidoantipyrin geprüft, obwohl für diese Verbindungen keine Validierung durchgeführt worden war.

In der folgenden Tabelle 38 sind sämtliche Analyten aufgelistet, auf deren Vorkommen die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Wasserproben ausgewertet wurden.

PPCPs & Metaboliten	Benzoe- & Phenylethansäurederivate
4-Acetamidoantipyrin***	2-Chlorbenzoesäure
Anethol	4-Chlorbenzoesäure
Bayrepel®	2-Chlorphenylethansäure
Bayrepel-Säure	4-Chlorphenylethansäure
Bezafibrat*	3,5-Dichlorbenzoesäure
Carbamazepin	2,4-/3,4- Dichlorbenzoesäure
Clofibrinsäure	2,6- Dichlorphenylethansäure
Coffein	3,4- Dichlorphenylethansäure
DEET	3,5- Dichlorphenylethansäure
Diclofenac	3,4,5-Trichlorbenzoesäure
Fenoprofen	2,3,6-Trichlorphenylethansäure
Gemfibrozil*	3,4,5-Trichlorphenylethansäure
HHCb-Lacton	Phenylethansäure
Ibuprofen	halogenierte Amine, Anisole, Indole & Phenole
Ibu-OH	
Ibu-COOH	2-Bromanilin
Indometacin*	4-Chloranilin
Ketoprofen	2,4-Dichloranilin
Naproxen	2,4-Dibromanilin
Propyphenazon	2,4,5-Trichloranilin
Salicylsäure	2,4,6-Tribromanilin
Triclosan*	4-Chloranisol
Pestizide & Metaboliten	4-Bromanisol
	2,3-Dichloranisol
Atrazin	2,4-Dibromanisol
<i>o,p</i> -DDT	2,3,4-Trichloranisol
Desethylatrazin**	2,4,6-Tribromanisol
Desethylterbuthylazin***	4-Bromindol
Dichlobenil	3-Bromphenol
Dichloprop	4-Chlorphenol
HCB	4-Chlor-3-methylphenol
Irgarol	2,4-Dibromphenol
MCPA	2,4-Dichlorphenol
Mecoprop	2,4,5-Trichlorphenol
2,4,5-TCP	2,4,6-Tribromphenol
Terbuthylazin	Pentachlorphenol
* keine quantitative Bestimmung wegen schlechter Linearität bei der Validierung	
** sichere qualitative Bestimmung über den Abgleich von Retentionszeit & Massenspektrum der jeweiligen Referenzsubstanz	
*** unsichere qualitative Bestimmung über das Massenspektrum, keine Verifizierung	

Tab. 38: Für die Untersuchung von Realproben ausgewählte Analyten

7.1 Probenahmestellen

In der folgenden Auflistung ist die regionale Herkunft zweier Probenserien beschrieben, für die im weiteren Verlauf dieser Arbeit qualitative oder quantitative Ergebnisse vorgestellt werden. In Klammern gesetzte Kürzel bezeichnen dabei die Probenahmestellen für die in diesem Kapitel Ergebnisse in tabellarischer Übersicht gegeben werden. Eine genauere Beschreibung der Probenahmestellen und aller zugehörigen Meßergebnisse finden sich im Anhang.

Probenserie I (März bis April 2003)

Deutschland:

Hamburg:

Hamburger Stadtgebiet: Elbe Fähranleger Neumühlen (HH3, HH4)
Isebekkanal (HH5)
Alster (HH6)

Schleswig-Holstein:

Tönning: Eider (SH7)
Tetenbüll: Tetenbüllspiker (SH8)
Oldenswort: Sielzug (SH9)
Nordstrand: Fährhafen Nordstrand (SH10)
Husum: Husumer Hafen (SH11)

Probenserie II (April 2003 bis Oktober 2004)

Deutschland:

Hamburg:

Hamburger Stadtgebiet: Elbe Fähranleger Neumühlen (HH1)
Elbe Kühlhauskai Neumühlen (HH2)

Niedersachsen:

Stade: Elbe (Nie1)
Berne: Weser (Nie2)
Brake: Weser (Nie3)
Oldenburg i. Ol: Hunte (Nie4)
Bad Zwischenahn: Zwischenahner Meer (Nie5)

Schleswig-Holstein:

Borgstedt: Nord-Ostsee-Kanal (SH1)
Maasholm: Maasholm Yachthafen (SH2)
Husum: Mühlenau (SH3) / Klärwerksablauf (SH4)
Klärwerkszulauf Stichprobe (SH5)
Klärwerkszulauf 24 h Mischprobe (SH6)

Berlin/Brandenburg:

Potsdam: Leitungswasser (BB1)
Pfaueninsel: Havel (BB2)
Klein Glienicke: Griebnitzsee, Glienicker Lake (BB3)
Potsdam: Havel, Templiner See (BB4)

Dänemark:

Saksköbing:	Ostsee (D1)
Maribo:	Maribo-See (D2)

Tschechische Republik:

Großraum Prag:

Roztoky:	Moldau (T1)
Bubenec:	Moldau (T2)
Praka-Podbaba:	Moldau (T3)
Sedlec:	Moldau (T4)

Vietnam:

Großraum Hanoi:

Hanoi City:	Leitungswasser (V1) Oberflächenwasser mit privaten bzw. kommunalen Abwasseranteilen (V2, V3)
-------------	--

7.2 Ergebnisse der Targetanalysen

Aus Gründen einer besseren Übersichtlichkeit werden die quantitativen Ergebnisse der Auswertungen der Proben für die einzelnen Substanzgruppen getrennt vorgestellt. Die nachfolgenden Angaben beziehen sich dabei auf die im experimentellen Teil beschriebenen Quantifizierungsmethoden sowie die bei der Validierung ermittelten Nachweis- und Bestimmungsgrenzen.

Die Proben der Serie I waren vor der Etablierung der Gesamtmethode aufgearbeitet worden und konnten nur auf ein eingeschränktes Spektrum saurer PPCPs untersucht werden. Die Aufarbeitung erfolgte analog dem Schema der Gesamtmethode zur Bestimmung neutraler, basischer und saurer Analyten aus matrixreichen Umweltproben (Abb. 92, S. 168), allerdings ohne Matrixanreicherung durch eine Extraktion der Festphaseneluate. Die methanolischen Eluate wurden nachfolgend entsprechend SOP4A mittels Methylchlormethanoat/Methanol umgesetzt, so daß die carboxylischen Targetanalyten zu den entsprechenden Methylestern reagierten.

Alle Proben der Probenserie II stammen aus dem Zeitraum von April 2003 bis Oktober 2004. Die Aufarbeitung erfolgte in allen Fällen gemäß dem im vorangehenden Kapitel 6 vorgestelltem Schema der Gesamtmethode zur Bestimmung neutraler, basischer und saurer Analyten aus matrixreichen Umweltproben (Abb. 99, S. 182). Die Probenvolumina betragen bei den drei Proben aus Vietnam (V1-3) jeweils 1 L und für alle anderen Stationen je 2,8 L. Für die Station Potsdam (BB1) wurden 4 x 2,8 L Leitungswasser aufgearbeitet und nachfolgend die aus der jeweils gleichen Behandlung hervorgegangenen Extrakte vereinigt. Die sauren Extrakte aller Proben wurden gemäß SOP 9 (S. 145) heterogen mit Ethylchlormethanoat/Trifluorethanol umgesetzt, so daß Carbonsäuren zu Trifluorethylestern und Phenole zu den jeweiligen Ethylcarbonaten derivatisiert wurden.

7.2.1.1 Pharmazeutika, Personal Care Products & ihre Metaboliten

Obwohl durch die in den vorangegangenen Kapiteln zitierten Veröffentlichungen zu erwarten war, daß eine Reihe von PPCPs und ihre Metaboliten in der aquatischen Umwelt verbreitet auftreten, überrascht doch die Häufigkeit und Verteilung mit der diese Verbindungen in den hier untersuchten Proben vertreten waren. So waren zwei von 9 Proben der Serie I mit dem kleinen Analytenspektrum und nur eine von den 26 Proben der Serie II mit dem großen Analytenspektrum ohne Positivbefund. In den folgenden Tabellen 39 und 40 sind die entsprechenden Ergebnisse für beide Probenserien aufgeführt.

	HH4	HH5	HH6	HH7	SH7	SH8	SH9	SH10	SH11
	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L
Clo	3,8	4,8	0,4	3,5	1,2	n.d.	n.d.	7,2	1,5
Dic	13	25	1,6	21	4,1	n.d.	n.d.	34	13
Ibu	1,4	2,4	1,0	1,7	1,2	n.d.	n.d.	0,9	5,2
IOH	+	+	+	+	+	n.d.	n.d.	+	+
ICX	+	+	+	+	+	n.d.	n.d.	+	+
Keto	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
n.d.: nicht detektiert / +: qualitativ detektiert									
Clo: Clofibrinsäure / Dic: Diclofenac / Ibu: Ibuprofen / IOH: Ibuprofen-OH ICX: Ibuprofen-COOH / Keto: Ketoprofen									

Tab. 39: Detektion ausgewählter Analyten in 9 untersuchten Oberflächenwasserproben der Probenserie I

	HH2	HH3	Nie1	Nie2	Nie3	Nie4	Nie5	SH1	SH2	SH3	BB1	BB2	BB3	BB4	D1	D2	T1	T2	T3	T4	V1
	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L
B-s	4	5	1,5	1,4	2,7	1,9	4,0	n.d.	1,6	n.d.	n.d.	n.d.	36	36	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Bez	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Car	114	137	94	318	133	333	119	n.d.	55	13	n.d.	777	>Qg	>Qg	n.d.	n.d.	44	55	43	68	n.d.
Clo	<0,9*	n.d.	1,1	n.d.	<0,9*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	5,4	n.d.	10	8,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Cof	15	29	29	54	28	31	26	74	100	12	n.d.	42	47	37	n.d.	8,7	51	29	20	59	n.d.
DEE	18	4	1,6	5,4	5,0	3,4	1,6	n.d.	1,3	n.d.	n.d.	7,1	23	13	n.d.	n.d.	2,3	1,4	3,2	4,9	n.d.
Dic	11	14	<4*	6,9	4	10	4,2	n.d.	6,9	n.d.	n.d.	3,8	50	4,5	n.d.	n.d.	16	8,4	11	12	n.d.
HHC	29	9	129	29	21	23	15	n.d.	7,1	n.d.	n.d.	7,0	140	4,5	5,6	n.d.	15	17	18	18	n.d.
Ibu	1,0	2	n.d.	<0,5*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,5	n.d.	n.d.	6,1	2,7	2,1	n.d.	n.d.	10	10	8,3	14	n.d.
IOH	11	8	7,4	6,1	1,2	n.d.	n.d.	n.d.	32	n.d.	n.d.	22	6,6	4,0	n.d.	n.d.	90	72	47	81	n.d.
ICX	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	11	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	8,0	9,0	n.d.	10	n.d.
Indo	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.
Nap	<4*	<4*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<4*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<4*	14	5,1	n.d.	n.d.	<4*	n.d.	n.d.	<4*	n.d.
Pro	3	n.d.	2,2	2,8	<0,9*	3,0	n.d.	1,5	n.d.	n.d.	n.d.	16	22	25	n.d.	n.d.	<0,9*	n.d.	<0,9*	1,5	n.d.
Sali	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<4*	<4*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Tri	+	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4-Ac	+	n.d.	n.d.	+	+	+	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	+	+	+	n.d.	n.d.	+	+	+	+	n.d.

Anethol, Bayrepel®, Fenoprofen, Gemfibrozil und Ketoprofen: in allen Fällen: n.d.

n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze (Qg) / +: qualitativ detektiert

B-s: Bayrepel-Säure / Bez: Bezafibrat / Car: Carbamazepin / Clo: Clofibrinsäure / Cof: Coffein / DEE: DEET

Dic: Diclofenac / HHC: HHCB-Lacton / Ibu: Ibuprofen / IOH: Ibuprofen-OH / ICX: Ibuprofen-COOH

Indo: Indometacin / Nap: Naproxen / Pro: Propyphenazon / Sali: Salicylsäure / Tri: Triclosan / 4-Ac: 4-Acetamidoantipyrin

Tab. 40: Detektion ausgewählter PPCP-Analyten in den 21 Oberflächen- und Leitungswasserproben der Probenserie II

Für eine übersichtlichere Veranschaulichung ist in den nachfolgend abgebildeten Diagrammen 100 und 101 jeweils die Anzahl der Positivbefunde dargestellt. Zu berücksichtigen ist allerdings, daß diese Werte nicht nur vom tatsächlichen Vorkommen der Analyten abhängen, sondern ebenso von der Analyseempfindlichkeit. Die relativ seltene Detektion von Indometacin, Bezafibrat und Triclosan ist sicherlich auch durch deren relativ hohe Nachweisgrenzen bedingt. Zu den innerhalb der untersuchten Proben am häufigsten, d.h. in über 50 % aller Fälle, detektierten PPCPs zählen Carbamazepin, Coffein, DEET, Diclofenac, Ibuprofen und Propyphenazon sowie die PPCP-Metaboliten HHCB-Lacton und Hydroxyibuprofen. Weniger häufig wurde Naproxen gefunden und in keiner Probe nachgewiesen wurden Anethol, Bayrepe®l, Fenoprofen, Gemfibrozil und Ketoprofen.

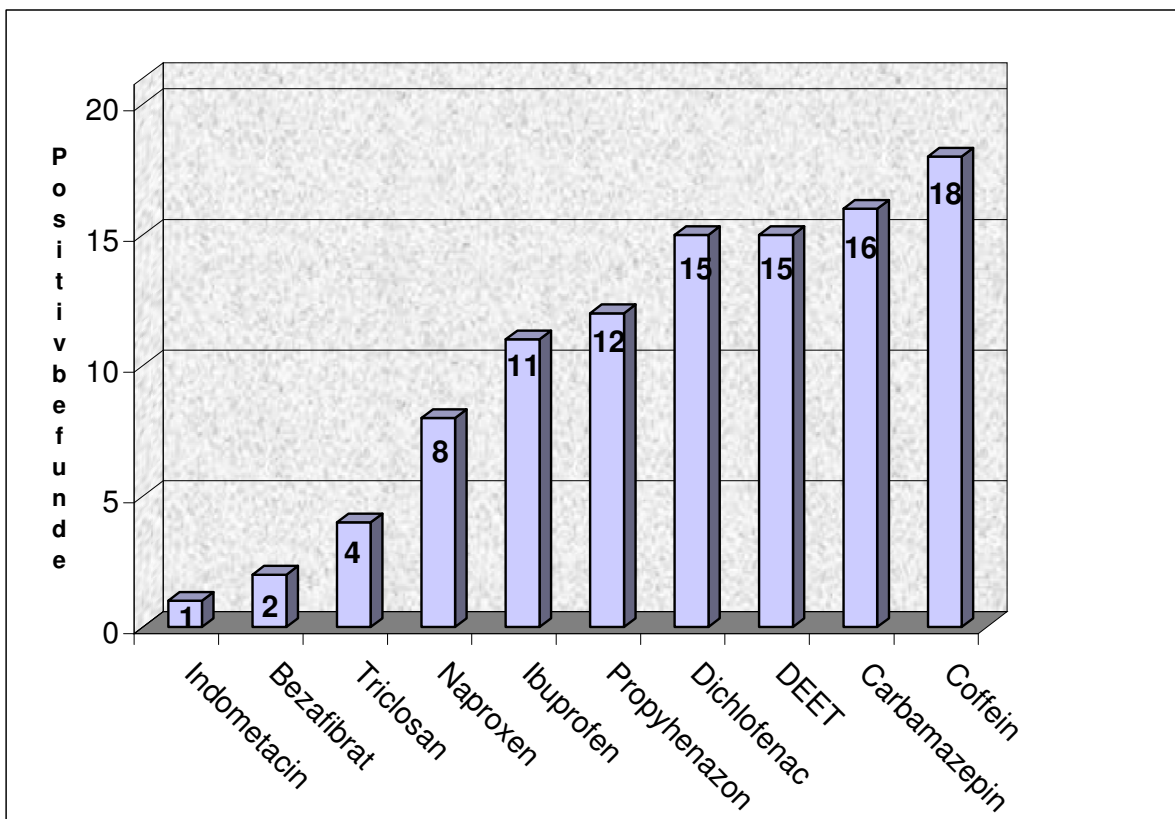


Abb. 100: Zahl der PPCP-Positivbefunde in den 21 untersuchten Oberflächen- und Leitungswasserproben der Probenserie II

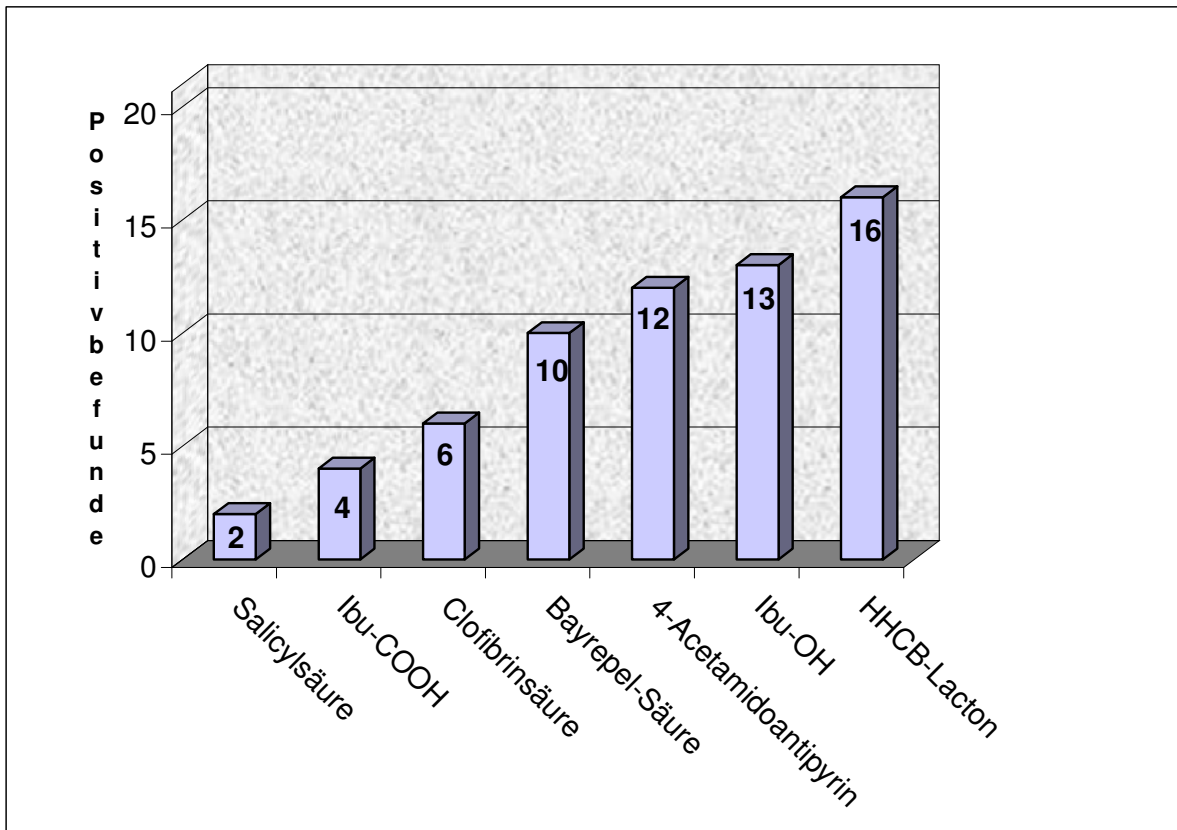


Abb. 101: Zahl der Positivbefunde von PPCP-Metaboliten in den 21 untersuchten Oberflächen- und Leitungswasserproben der Probenserie II

Die durchschnittlichen Konzentrationen, mit denen die Analyten bestimmt wurden, sind relativ heterogen. Während beispielsweise Clofibrinsäure und Ibuprofen im Durchschnitt mit etwa 6 ng/L detektiert wurden, waren Hydroxyibuprofen und Coffein durchschnittlich mit 30 ng/L in etwa fünffacher Menge vertreten. Carbamazepin schließlich wurde mit einem mittleren Wert von etwa 165 ng/L gemessen. In Einzelfällen lagen sogar Konzentrationen über der maximalen Bestimmungsgrenze von 1,8 µg/L vor (Station BB3 und BB4). Eine Übersicht der durchschnittlich gemessenen Konzentrationen ist in den Abbildungen 102 und 103 gezeigt.

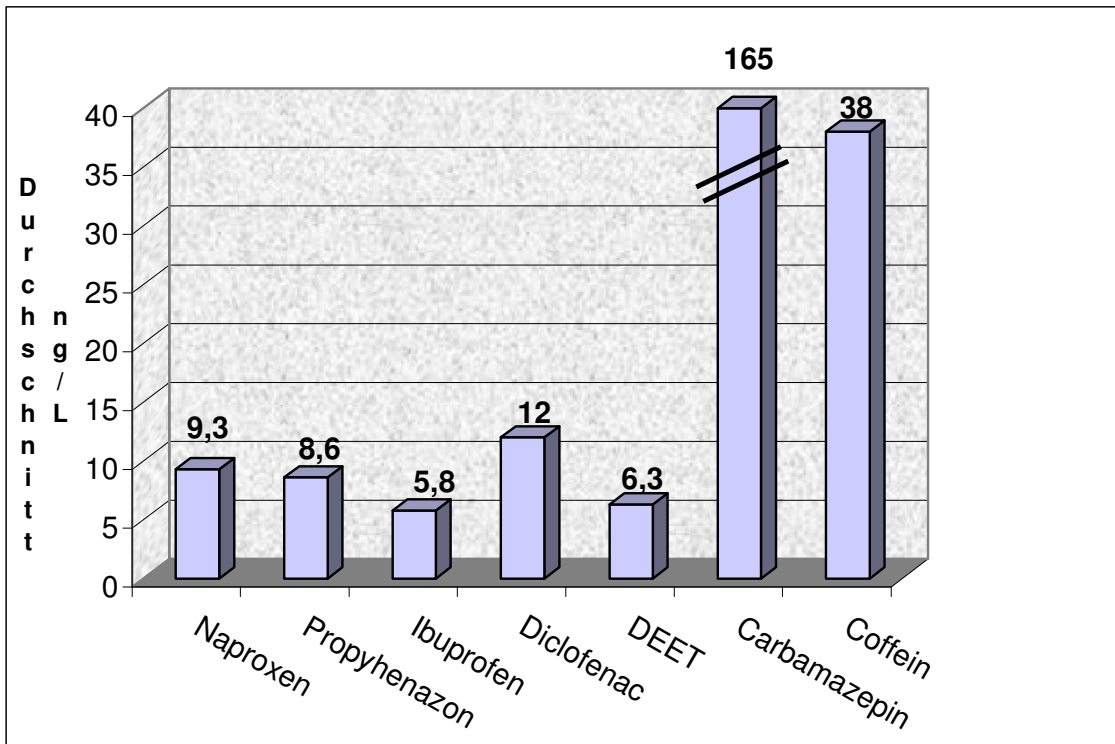


Abb. 102: Durchschnittlich ermittelte Konzentrationen ausgewählter PPCPs in den 21 untersuchten Oberflächen- und Leitungswasserproben der Probenserie II

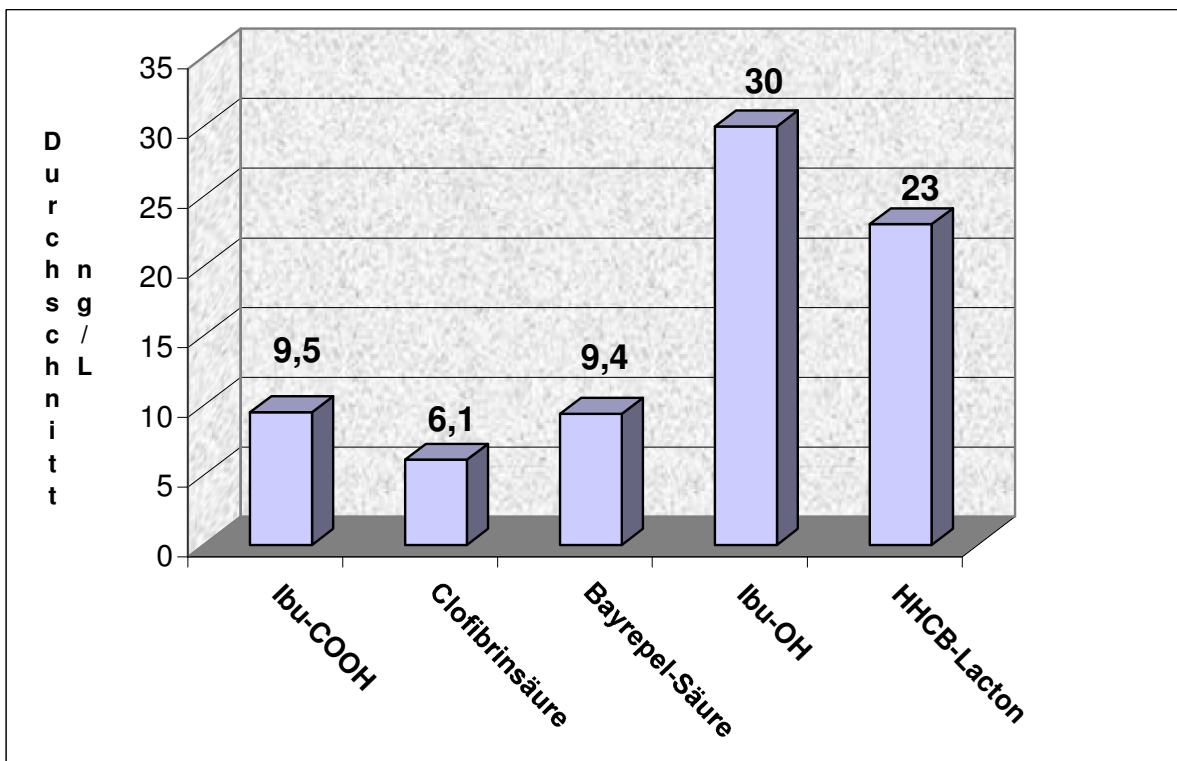


Abb. 103: Durchschnittliche ermittelte Konzentrationen ausgewählter PPCP-Metaboliten in den 21 untersuchten Oberflächen- und Leitungswasserproben der Probenserie II

Bei einer differenzierteren Betrachtung der Meßergebnisse zeigen sich erwartungsgemäß erhebliche Unterschiede in dem Auftreten der einzelnen Analyten. Vergleicht man die Proben aus dem direkten Einflußbereich der drei Ballungszentren Berlin, Prag und Hamburg hinsichtlich der Zahl und Konzentration der detektierten PPCPs und ihrer Metaboliten, so war in etwa das gleiche Schadstoffinventar vertreten. Allerdings zeigte die Havel im Berlin-Potsdamer Raum im Durchschnitt höhere Konzentrationen für die meisten Analyten, was vermutlich auf die im Vergleich zu Hamburg und Prag höhere Bevölkerungsdichte und den relativ kleinen Wasserkörper zurückzuführen ist. Auffällig sind die außergewöhnlich hohen Werte für Carbamazepin in den Wasserproben aus der Havel und den angeschlossenen Gewässern, die bei zwei von drei Proben oberhalb des im Rahmen dieser Arbeit verifizierten Bestimmungsbereiches von 1,8 µg/L lagen und damit die in der Elbe und Moldau bestimmten Werte um mehr als das 10- bzw. 20-fache übertrafen. Auch Clofibrinsäure lag in den Berlin-Brandenburger Proben um ein Vielfaches höher konzentriert vor als in den Proben aus dem Hamburger Raum. In den tschechischen Wässern konnte dieser Analyt gar nicht detektiert werden. Tatsächlich war Clofibrinsäure mit etwa 5 ng/L sogar im Potsdamer Trinkwasser nachzuweisen. Daß Berliner Leitungswasser aufgrund seiner Gewinnung mittels Uferfiltration mit Clofibrinsäure belastet sein kann, ist bereits 1996 von *Heberer & Stan* beschrieben worden. Für den Zeitraum von 1992 bis 1995 wurden von den Autoren in Berlin Trinkwasserkonzentrationen von bis zu 170 ng/L festgestellt^[60]. Obwohl es sich bei unserem Ergebnis aus Potsdam um einen Einzelwert handelt, zeigt es doch, daß sich das Vorkommen pharmazeutischer Wirkstoffe in Trinkwasser nicht nur auf Berlin beschränkt und auch über 10 Jahre nach Beginn der öffentlichen Diskussion noch aktuell und relevant ist.

Vergleicht man anhand der Abbildungen 102 und 103 die durchschnittlichen Konzentrationen von PPCPs mit denen ihrer Metaboliten, zeigt sich, daß diese in der aquatischen Umwelt durchaus in höheren Konzentrationen auftreten können als die entsprechenden Mutterverbindungen. Beispielsweise wurden Ibuprofen und seine Metaboliten mit einem durchschnittlichen Verhältnis von Ibuprofen/Ibu-COOH/Ibu-OH = 1:2:7 detektiert. Diese Werte decken sich weitgehend mit denen, die *Weigel* für die Elbe 2002 ermittelte^[42]. Bei dem bereits in Kapitel 6.2 erwähnten Bayrepel hingegen war diese Mutterverbindung in keiner der hier untersuchten Proben nachzuweisen, während der Metabolit Bayrepel-Säure immerhin in 11 Proben mit Konzentrationen bis zu 36 ng/L vertreten war. Dies ist von besonderem Interesse, weil dieser Analyt bislang nur hinsichtlich seines Verhaltens während der Klärwerkspassage untersucht wurde, aber praktisch keine Daten über seine weitere Verbreitung im aquatischen System vorliegen. Die Untersuchung der vorliegenden Proben zeigte das Auftreten dieses Metaboliten in fast allen während der Sommer- und Herbstmonate beprobten deutschen Oberflächenwässern. Diese Ergebnisse weisen Bayrepel-Säure als wichtige Umweltkontaminante aus, die bei einer fortschreitenden Verwendung von Bayrepel® und analogen Verbindungen in Zukunft ebenso weit verbreitet auftreten könnte wie ihr Vorgänger DEET.

Die drei Proben aus Vietnam stellen sicherlich einen Sonderfall dar, denn einerseits fanden die Entnahme der Proben und ihr Transport unter erschwerten Bedingungen statt, andererseits hatten wir keine Kenntnisse über die Trinkwassergewinnung und Abwasserbehandlung und die Verwendung und Verbreitung von PPCPs in Hanoi. Umso interessanter war dann die Feststellung, daß zwar das untersuchte Trinkwasser frei von den PPCP-Analyten unseres Spektrums war, die beiden Oberflächenwasserproben aber neben dem allgegenwärtigen Coffein auch erhebliche Mengen der Schmerzmittel Diclofenac und Ibuprofen sowie der Ibuprofenmetaboliten enthielten. Darüber hinaus konnte auch das Bakterizid Triclosan qualitativ nachgewiesen werden. Ein Vergleich der durchschnittlich bestimmten Konzentrationen mit den analogen Durchschnittswerten der europäischen Proben ist in der untenstehenden Abbildung 104 dargestellt.

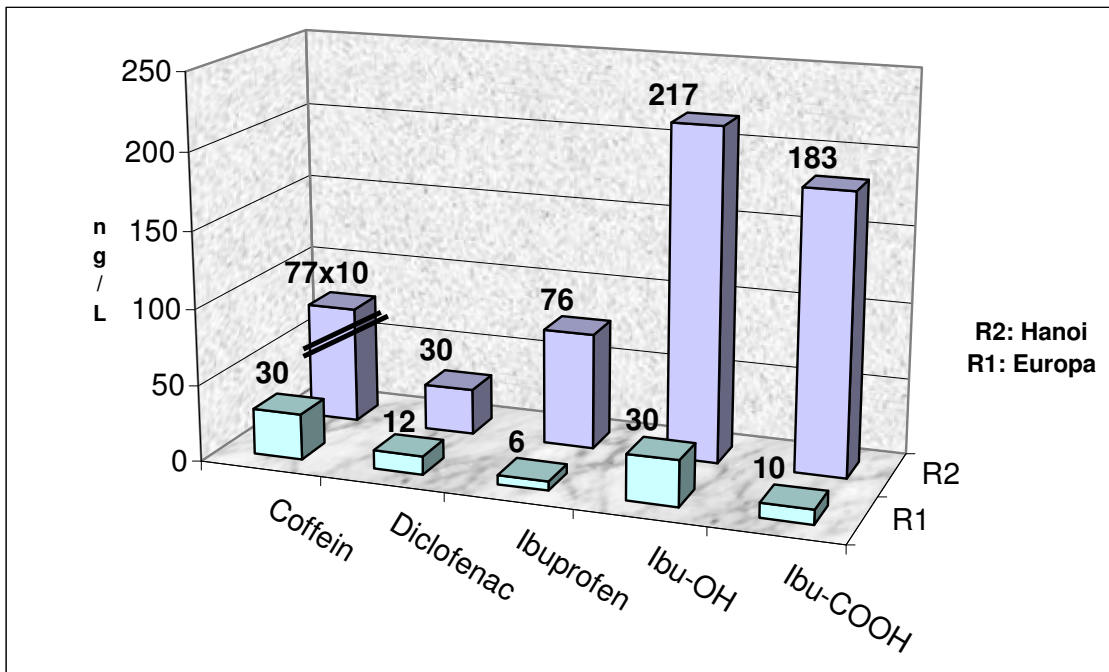


Abb. 104: Vergleich der durchschnittliche Konzentration ausgewählter PPCP-Analyten in Proben der Probenserie II aus Europa und Vietnam

Die im Vergleich zu den europäischen Durchschnittswerten um Größenordnungen höheren Analytkonzentrationen der beiden Oberflächenwasserproben aus Hanoi legen die Vermutung nahe, daß ein erheblicher Abwassereintrag vorgelegen haben muß.

In der nachfolgenden Tabelle 41 sind die Einzelergebnisse der Untersuchungen von Klärwerksproben bzw. Proben mit Abwasseranteilen aufgeführt.

	SH4 Klärwerks- ablauf	SH5 Klärwerks- zulauf Stichprobe	SH6 Klärwerks- zulauf Mischprobe	V2 Oberflächenwasser mit privaten Abwasseranteilen	V3 Oberflächenwasser mit kommunalen Abwasseranteilen
	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L
B-s	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Bez	n.d.	+	+	n.d.	n.d.
Car	4 x 1830	638	906	n.d.	n.d.
Clo	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Cof	n.d.	7 x 1830*	5 x 1830*	601	928
Dic	112	250	297	45	15
Feno	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Gem	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ibu	31	287	404	97	54
IOH	133	1278	1,4 x 1830*	270	163
ICX	n.d.	528	636	356	n.d.
Indo	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Keto	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Nap	30	<i>n.a.</i>	110	n.d.	n.d.
Pro	9	n.d.	13	n.d.	n.d.
Sali	n.d.	663	614	2264	1591
Tri	+	+	+	+	+
4-Ac	+	+	+	n.d.	n.d.
Anethol, Bayrepel®, DEET, HHCB-Lacton: nicht untersucht					
n.d.: nicht detektiert / <i>n.a.</i> : nicht auswertbar / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze +: qualitativ detektiert					
Ane: Anethol / B-s: Bayrepel-Säure / Bez: Bezafibrat / Car: Carbamazepin Clo: Clofibrinsäure Cof: Coffein / DEE: DEET / Dic: Diclofenac HHC: HHCB-Lacton / Feno: Fenopfen / Gem: Gemfibrozil Ibu: Ibuprofen / IOH: Ibuprofen-OH / ICX: Ibuprofen-COOH Indo: Indometacin / Keto: Ketoprofen / Nap: Naproxen / Pro: Propyphenazon Sali: Salicylsäure /Tri: Triclosan / 4-Ac: 4-Acetamidoantipyrin					

Tab. 41: Detektion ausgewählter PPCP-Analyten in 5 untersuchten Klärwerksproben bzw. Proben mit Abwasseranteilen aus der Probenserie II

Mit den Klärwerksproben aus Norddeutschland sollte am Einzelbeispiel nachvollzogen werden, daß Klärwerke einen Haupteintragspfad für viele Xenobiotika in das aquatische System darstellen können. Hierzu gibt es umfangreiche Veröffentlichungen, so daß an dieser Stelle hinsichtlich der PPCPs keine wesentlicher Wissenszuwachs zu erwarten war. Zudem sind die quantitativen Resultate bei diesen Proben nur als grobe Richtwerte zu verstehen, weil die Validierung ja mit Leitungswasser durchgeführt wurde. Insbesondere die Klärwerkszuläufe aber sind hochgradig

mit organischen Verbindungen wie Tensiden und Fetten belastet, die sich in unbekannter Weise auf die Wiederfindung der Analyten auswirken können. Festzuhalten bleibt, daß in dem untersuchten Klärwerksablauf genau die PPCP-Analyten vertreten waren, die im Rahmen dieser Arbeit in der aquatischen Umwelt als Umweltkontaminanten weit verbreitet detektiert wurden. Da davon auszugehen ist, daß in Klärwerken die Transformation organischer Verbindungen eine zentrale Rolle spielt, erscheint an dieser Stelle die Untersuchung des Verhältnisse in dem Ibuprofen und seine Metaboliten auftreten interessant. *Weigel* hat anschaulich beschrieben, in welchem Maße die relativen Anteile von Ibuprofen, Ibu-OH und Ibu-COOH variieren können. Demnach zeigen Oberflächenwässer, ungeklärte Abwässer und menschliche Exkretionen einen relativen Anteil an Ibu-COOH von etwa 20 % bis 80 %. Bei der Klärwerkspassage von Anlagen mit Klärschlammbelebung hingegen wird Carboxy-Ibuprofen praktisch vollständig eliminiert^[42]. In der Abbildung 105 sind die relativen Verhältnisse von Ibuprofen und seinen Metaboliten für die beiden Klärwerksproben, den Durchschnitt aller Oberflächenwasserproben und die beiden belasteten Proben aus Vietnam dargestellt. Zusätzlich sind die relativen Anteile der drei Analyten in Humanexkretionen, wie von *Bruchhausen* et al. beschrieben^[272], dargestellt, sowie die Ergebnisse, die *Weigel* für das Hamburger Klärwerk feststellte^[42].

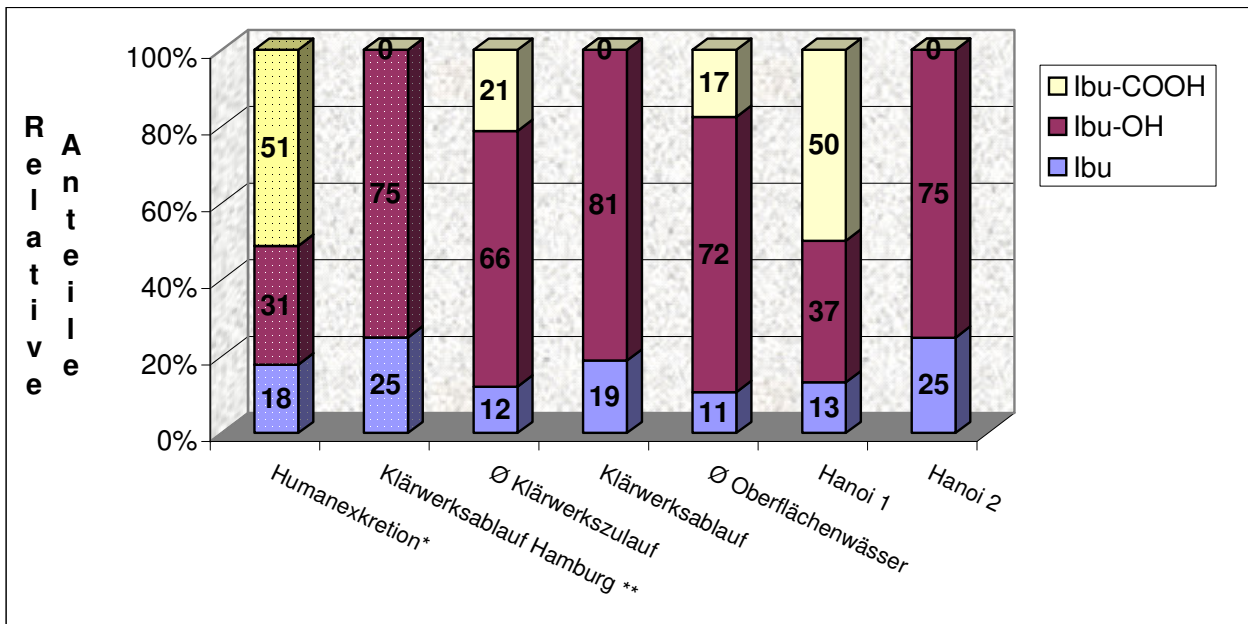


Abb. 105: Vergleich der relativen Anteile von Ibuprofen und seinen Hauptmetaboliten in unterschiedlichen Proben

* : nach *Bruchhausen* et al.^[272] , **: nach *Weigel*^[42]

Aus Abbildung 105 geht hervor, daß hinsichtlich der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Proben die relativen Anteile von Ibuprofen und seinen Metaboliten vor der beprobten Klärwerkspassage die Verhältnisse widerspiegeln, die in nichtmarinen Oberflächenwässern gefunden werden. Die weitgehende Eliminierung von Carboxy-Ibuprofen während der Klärwerkspassage verlief identisch zu dem Prozeß der für die

Hamburger Kläranlage beschrieben ist. Daß in den untersuchten Oberflächenwässern ein höherer Anteil von Ibu-COOH detektiert wurde, kann sowohl durch die Bildung von Carboxy-Ibuprofen aus Ibuprofen und Ibu-OH in der aquatischen Umwelt, als auch durch die Einleitung ungeklärter Abwässer erklärt werden. Bei der Bewertung der Proben aus Vietnam zeigt sich ein überraschendes Ergebnis. Während die erste Probe mit einem hohen Ibu-COOH Anteil die Zusammensetzung einer Humanexkretion zeigt, war in der zweiten Probe dieser Metabolit nicht mehr nachweisbar. Tatsächlich entspricht hier das Verhältnis von Ibuprofen zu Ibu-OH exakt dem der in Abläufen von Klärwerken mit Schlammbelebung auftritt.

7.2.1.2 Zusammenfassung PPCPs & Metaboliten

Die in diesem Abschnitt vorgestellten durchschnittlichen Konzentrationen der gefundenen PPCPs und PPCP-Metaboliten diente im wesentlichen der Einschätzung der allgemeinen Größenordnungen, in denen die Analyten gefunden wurden. Durch den stichprobenartigen Charakter und die zeitliche und räumliche Divergenz der Probenahmen kann an dieser Stelle keine umfassende quantitative Bewertung des Schadstoffinventars der beprobten Regionen erfolgen, was ja auch nicht Zielsetzung dieser Arbeit war. Das eigentliche Anliegen aber, neben den methodischen Aspekten auch grundlegende Tendenzen in dem Auftreten des xenobiotischen Schadstoffinventars der aquatischen Umwelt aufzuzeigen, ließ sich aus den gewonnenen Daten gut realisieren. Es zeigte sich, daß offensichtlich eine Vielzahl von PPCPs und ihrer Metaboliten nicht nur im direkten Einflußbereich großer Städte zum Fremdstoffinventar der aquatischen Systeme gehören, sondern auch in dünner besiedelten Gebieten weit verbreitet auftreten. Obgleich es sich bei den Proben aus Hanoi um nichtrepräsentative Stichproben handelt, zeigen die Ergebnisse durchaus, daß PPCPs weltweit verbreitet sind und entsprechend massiv in aquatische Systeme eingetragen werden. Ebenso wird an den gewonnenen Daten deutlich, daß die PPCP-Metaboliten hinsichtlich ihrer Anzahl, Konzentration und Verbreitung einen erheblichen Anteil am aktuellen Schadstoffinventar unserer Gewässer haben. Da häufig, wie am Beispiel der Bayreperl-Säure gezeigt, so gut wie keine Daten über die Verbreitung, die lokalen Konzentrationen und die Wirkung dieser neuen Metaboliten in der aquatischen Umwelt vorliegen, ist hier ein erheblicher Forschungsbedarf angeraten.

7.2.2.1 Pestizide & Pestizidmetaboliten

Die Untersuchung von Umweltproben auf Pestizidrückstände ist seit langem etabliert, viel länger beispielsweise, als es bei den PPCPs der Fall ist. Deshalb liegt zum Vorkommen von Pestiziden in der aquatischen Umwelt bereits ein umfangreiches Datenmaterial vor. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde diese Analytgruppe vor allem berücksichtigt, um die breite Anwendbarkeit und hohe Nachweisempfindlichkeit der entwickelten Gesamtmethode für eine breite Palette von Verbindungen, insbesondere solcher mit relativ hoher Polarität, zu bestätigen. Nur bei zwei der untersuchten Proben konnten keine der ausgewählten Pestizide über der

Nachweisgrenze festgestellt werden. In Tabelle 42 sind die entsprechenden Meßergebnisse aufgeführt.

	DeAt	Atra	Dcb	Dcp	Irga	MCP	Mec	Terb	DeTe	DPO
	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L
HH1	n.d.	14	n.d.	13	n.d.	n.d.	3	4	n.d.	n.d.
HH2	n.d.	9	n.d.	29	n.d.	30	6	2	n.d.	3
Nie1	+	1,7	n.d.	1,3	< 4 *	1,5	1,5	1,1	n.d.	< 0,9*
Nie2	n.d.	< 0,9*	n.d.	< 0,5*	< 4 *	1,6	1,3	n.d.	n.d.	n.d.
Nie3	n.d.	n.d.	n.d.	< 0,5*	< 4 *	< 0,9*	1,1	0,8	n.d.	n.d.
Nie4	+	0,9	n.d.	0,7	< 4 *	1,6	1,4	0,8	n.d.	n.d.
Nie5	n.d.	n.d.	n.d.	0,5	n.d.	1,4	< 0,9*	0,6	n.d.	n.d.
SH1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4,1	1,6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SH2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	< 4 *	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SH3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,5	n.d.	n.d.
BB1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,4	n.d.	n.d.	n.d.
BB2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	11	n.d.	n.d.	3,7	+	n.d.
BB3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	20	110	+	n.d.
BB4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4,5	< 0,9*	4,6	12	+	n.d.
D1	n.d.	1,1	n.d.	n.d.	< 4 *	1,4	n.d.	5,2	n.d.	n.d.
D2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
T1	+	11	1,8	< 0,5*	n.d.	2,5	< 0,9*	n.d.	n.d.	n.d.
T2	+	12	n.d.	n.d.	n.d.	1,2	< 0,9*	n.d.	n.d.	n.d.
T3	+	9,7	n.d.	n.d.	n.d.	1,0	< 0,9*	n.d.	n.d.	n.d.
T4	+	16	n.d.	n.d.	n.d.	1,3	< 0,9*	n.d.	n.d.	n.d.
V1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SH4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	10	n.d.	n.d.
SH5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SH6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
V2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
V3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
o,p-DDT, HCB, 2,4,5-TCP: in keinem Fall detektiert										
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze / +: qualitativ detektiert										
DeAt: Desethylatrazin / Atra: Atrazin / Dcb: Diclobenil / Dcp: Dichloprop										
Irga: Irgarol / MCP: MCPA/ Mec: Mecoprop / Terb: Terbutylazin										
DeTe: Desethylterbutylazin / DPO: 2,4-Dichlorphenol										

Tab. 42: Detektion ausgewählter Pestizide und Pestizidmetaboliten in den 26 untersuchten Oberflächen-, Leitungs- und Abwasserproben der Probenserie II

Die Zahl der Positivbefunde und die durchschnittlich ermittelten Konzentrationen bei den 21 Leitungs- und Oberflächenwasserproben der Serie II bei denen das gesamte Spektrum der ausgewählten Pestizide und Pestizidmetaboliten untersucht wurde, ist in den nachfolgenden Abbildungen 106 und 107 dargestellt. Von den

ausgewählten Pestiziden wurden *o,p*-DDT, Hexachlorbenzol und 2,4,5-T in keiner Probe nachgewiesen. Demgegenüber zeigten sich insbesondere die Phenoxyalkancarbonsäuren und Triazine sowie die Triazinmetaboliten als häufig detektierte Analyten.

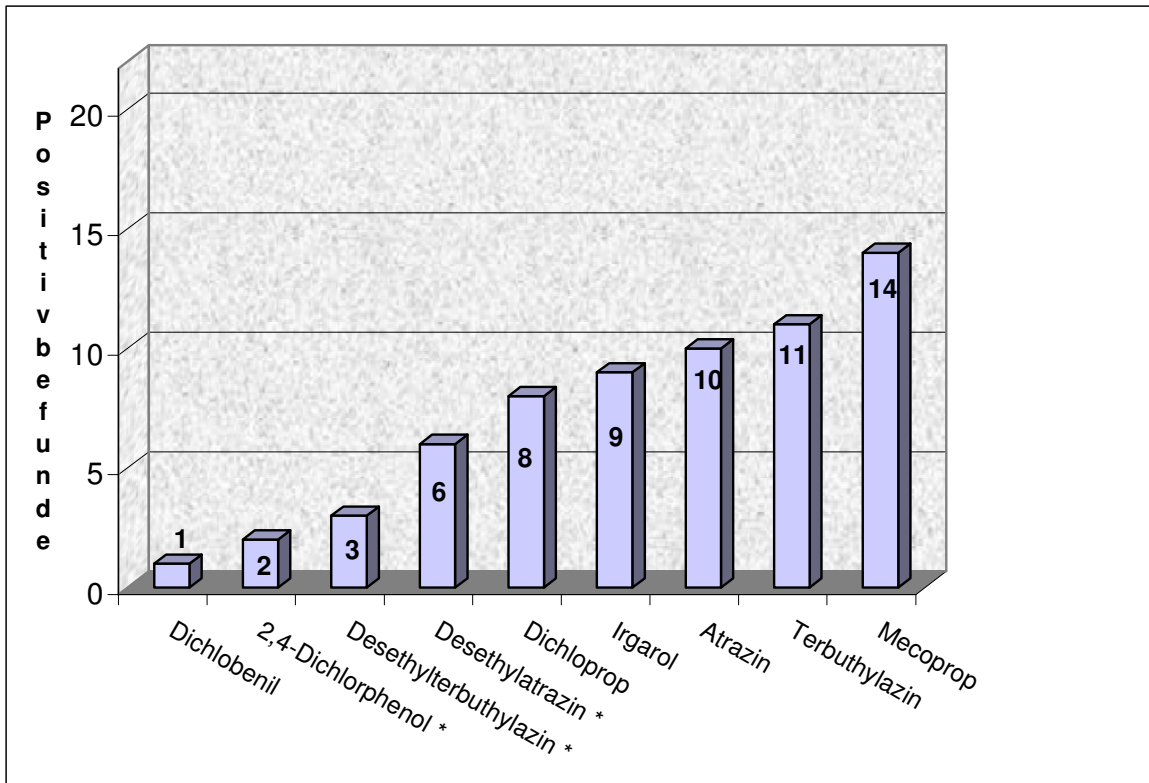


Abb. 106: Zahl der Positivbefunde von Pestiziden und Pestizidmetaboliten in den 21 untersuchten Oberflächen- und Leitungswasserproben der Probenserie II

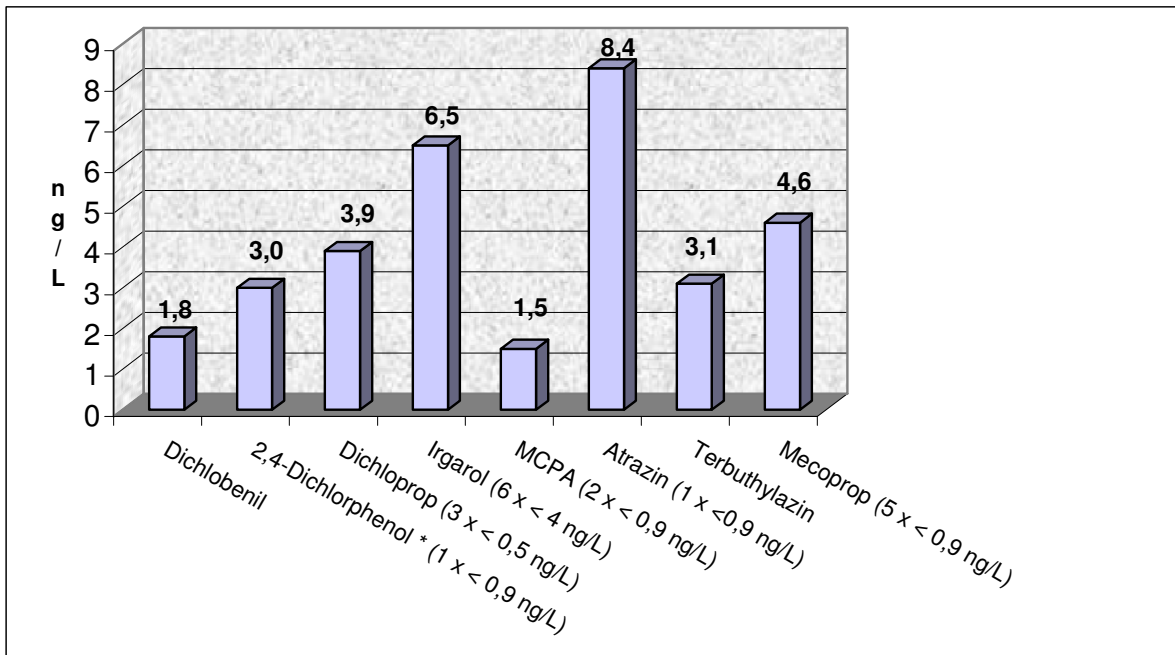


Abb. 107: Durchschnittlich ermittelte Konzentrationen der Pestizide und Pestizidmetaboliten in den 21 untersuchten Oberflächen- und Leitungswasserproben der Probenserie II

Bei den in der obigen Abbildung 107 dargestellten Durchschnittskonzentrationen wurde bei drei Analyten der jeweilige Maximalwert (Dichloprop: 29 ng/L, Mecoprop: 30 ng/L, Terbutylazin: 110 ng/L) nicht berücksichtigt, weil es sich mit hoher Wahrscheinlichkeit um Ausreißer handelte, die eine momentane Spitzenbelastung widerspiegeln. Im Vergleich zu den PPCPs konnte eine vergleichbare Häufigkeit der Positivbefunde von Pestiziden und ihren Metaboliten festgestellt werden. Allerdings lagen die Pestizide durchschnittlich in deutlich geringeren Konzentrationen vor als bei den PPCPs.

Bei einer genaueren Betrachtung der Ergebnisse lassen sich einige Trends im Auftreten der Pestizide bei den untersuchten Proben feststellen. So wurde das in Unterwasserschiffsanstrichen enthaltene Antifoulingmittel Irgarol in praktisch allen beprobten Häfen nachgewiesen, während Proben aus anderen Bereichen der untersuchten Gewässer zumeist ohne Befund waren. Offensichtlich ist Irgarol ein Analyt der lokal in höheren Konzentrationen auftreten und auf die aquatische Umwelt einwirken kann. Interessant ist auch die Verteilung der anderen Triazine und ihrer Metaboliten. So spiegeln sich bei der Verteilung der Herbizide Atrazin und Terbutylazin deutliche regionale Unterschiede wider, die vermutlich auf national verschiedenen Anwendungsverbote beruhen. So ist in der Bundesrepublik die Anwendung von Atrazin seit 1991 verboten, was zu einem verstärkten Einsatz des Ersatzstoffes Terbutylazin führte. In Tschechien hingegen bestehen keine Einschränkungen für die Ausbringung von Atrazin. Vergleicht man nun, wie in Abbildung 108 dargestellt, die absoluten Konzentrationsverhältnisse, in denen beide Wirkstoffe im Durchschnitt in unterschiedlichen Gewässern nachgewiesen wurde, zeigt sich, daß in der Havel im Raum Berlin/Brandenburg tatsächlich nur Terbutyl-

azin, nicht aber Atrazin gefunden wurde. Genau umgekehrt war in der tschechischen Moldau ausschließlich Atrazin nachzuweisen, während Terbutylazin nicht vertreten war. Die Elbe im Hamburger Raum enthielt beide Analyten, wobei Atrazin durchschnittlich um den Faktor 4 höher konzentriert vorlag als Terbutylazin. Hier ist anzunehmen, daß durch Atrazineinträge in die Zuflüsse der Elbe auf tschechischem Gebiet erhebliche Frachten dieses Wirkstoffes mindestens bis zur Elbmündung transportiert werden. Diese Ergebnisse belegen deutlich, daß nationale Regelungen unwirksam werden können, wenn sie Systeme betreffen, die nicht regional beschränkt sind und entsprechend langlebige Stoffe betrifft, die über weite Strecken transportiert werden können.

Vergleicht man das Auftreten der Pestizide mit dem der PPCPs, so spiegeln sich in den Positivbefunden die wesentlichen Eintragspfade wider. Die untersuchten PPCPs wurden aufgrund ihrer Hauptverbreitung über kommunale Abwässer besonders häufig und in relativ hohen Konzentrationen im Einflußbereich der großen Städte detektiert. Zu diesem recht einheitlichen Bild gehörte auch, daß bestimmte Analyten wie Coffein, Diclofenac, Carbamazepin, DEET und HHCB-Lacton praktisch immer vergesellschaftet auftraten. Im Gegensatz dazu wurden die untersuchten Pestizide hinsichtlich ihrer Verteilung und Konzentration eher unregelmäßig nachgewiesen. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, daß hier der Haupteintrag in aquatische Systeme beispielsweise durch Auswaschung saisonal behandelter Agrarflächen stattfindet.

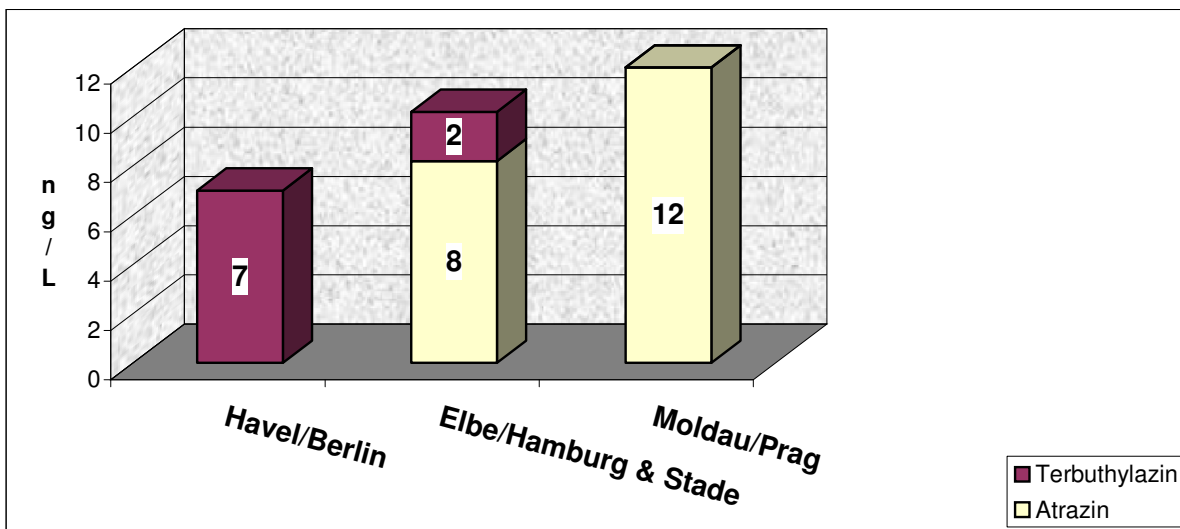


Abb. 108: Detektion von Atrazin und Terbutylazin in Havel, Elbe und Moldau

Die Auswertung der Meßergebnisse für die Metaboliten Desethylatrazin und Desethylterbutylazin zeigte erwartungsgemäß eine Abhängigkeit vom Auftreten der jeweiligen Mutterverbindungen. So wurde in der Havel ausschließlich Desethylterbutylazin gefunden und in der Moldau nur Desethylatrazin. In der Elbe konnte nur Desethylatrazin nachgewiesen werden, wobei zu vermuten ist, daß hier die analytische Empfindlichkeit für die Bestimmung von Desethylterbutylazin nicht mehr ausreichte, um auch diesen Analyten zu detektieren.

Die chlorierten Phenoxyalkancarbonsäuren, Herbizide wie die Triazine, waren weit verbreitet nachzuweisen, wobei die ermittelten Durchschnittskonzentrationen sicherlich kein repräsentatives Bild der Belastungssituation bieten können, denn die Anwendung dieser Stoffe ist wesentlich stärkeren jahreszeitlichen Schwankungen unterworfen, als es beispielsweise bei den PPCPs der Fall ist. Ein Beispiel hierfür ist die Konzentrationsänderung von MCPA und Dichloprop in der Elbe im Spätsommer 2004. Beide Analyten waren im August bei einer Bestimmungsgrenze von 0,9 ng/L noch nicht nachweisbar, während im Oktober zunächst in der Summe ein Wert von 13 ng/L festgestellt wurde, der innerhalb von 14 Tagen auf 59 ng/L anstieg. Diese letztgenannten Proben waren auch die einzigen, in denen 2,4-Dichlorphenol detektiert wurde. Diese Verbindung ist sowohl als Industriechemikalie bekannt, entsteht aber auch in der aquatischen Umwelt als Abbauprodukt von Dichloprop, was in dem vorliegenden Fall auch als mutmaßliche Quelle angesehen wird.

Für den Eintrag von Pestiziden in das aquatische System sind weniger Einträge durch Klärwerke anzunehmen als die Auswaschung entsprechend belasteter landwirtschaftlicher Flächen. Aus diesem Grunde war bei den untersuchten Klärwerksproben kein nennenswertes Auftreten von Pestiziden erwartet worden – und dann in der Praxis auch nicht festzustellen. Ebenso konnten in den Proben aus Vietnam keine Pestizidanalyten unseres Spektrums nachgewiesen werden, wobei allerdings unklar ist, ob diese überhaupt in der beprobten Region angewendet werden.

7.2.2.2 Zusammenfassung Pestizide & Pestizidmetaboliten

In dem voranstehenden Abschnitt über die Bestimmung von Pestiziden und Pestizidmetaboliten in den untersuchten Proben wird gezeigt, daß diese Analyten etwa genauso häufig und verbreitet auftreten wie die in Abschnitt 7.2 behandelten PPCPs und PPCP-Metaboliten. Die im Rahmen dieser Arbeit bestimmten durchschnittlichen Konzentrationen lagen für die Pestizide etwa um den Faktor 10 niedriger als bei den PPCPs. Die Ergebnisse zeigen weiterhin, daß es hinsichtlich des Schadstoffinventars große Unterschiede in den beprobten Regionen gab, die sich eindeutig aus nationalen Umgangsrichtlinien erklären lassen. Der Nachweis einer erheblichen Anzahl von Pestiziden und ihrer Metaboliten in den untersuchten Proben belegt weiterhin die Eignung der entwickelten analytischen Methode zur empfindlichen Detektion eines breiten Analytenspektrums.

7.2.3 Halogenamine, -anisoole, -indole und -phenole

Die Gruppe dieser Analyten war in das Untersuchungsspektrum aufgenommen worden, weil es sich um Verbindungen handelt, bei denen im Falle der Detektion in Umweltproben zumeist ungeklärt ist, ob ein anthropogener oder biogener Ursprung vorliegt. Tatsächlich wurden diese Analyten in den vorliegenden Umweltproben nur selten und in geringen Mengen detektiert, wie es in Tabelle 43 und der nachfolgenden Abbildung 109 dargestellt ist:

	Halogenamine	Halogenanisoole	Halogenindole	Halogenphenole
	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L
HH1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
HH2	n.d.	n.d.	n.d.	3 (2,4-DCP)
Nie1	< 4* (2,4-DCN)	n.d.	n.d.	< 0,9* (2,4-DCP) < 4* (2,4,6-TBP)
Nie2	n.d.	n.d.	n.d.	
Nie3	n.d.	< 0,5* (2,4-DBA)	n.d.	n.d.
Nie4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Nie5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SH1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SH2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SH3	n.d.	< 0,5* (2,4,6-TBA)	n.d.	n.d.
BB1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BB2	n.d.	0,7 (2,4,6-TBA)	n.d.	n.d.
BB3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BB4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
D1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
D2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
T1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
T2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
T3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
T4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
V1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SH4	n.d.	n.d.	n.d.	4 (3Cl-4MP)
SH5	n.d.	n.d.	n.d.	16 (3Cl-4MP)
SH6	n.d.	n.d.	n.d.	51 (3Cl-4MP)
V2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
V3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze				
2,4-DCN: 2,4-Dichloranilin / 2,4-DCP: 2,4-Dichlorphenol				
2,4,6-TBP: 2,4,6-Tribromphenol / 2,4-DBA: 2,4-Dibromanisol				
2,4,6-TBA: 2,4,6-Tribromanisol / 3Cl-4MP: 3-Chlor-4-methylphenol				

Tab. 43: Detektion ausgewählter Halogen-amine, -anisoole, -indole und -phenole in den 26 untersuchten Oberflächen-, Leitungs- und Abwasserproben der Probenserie II

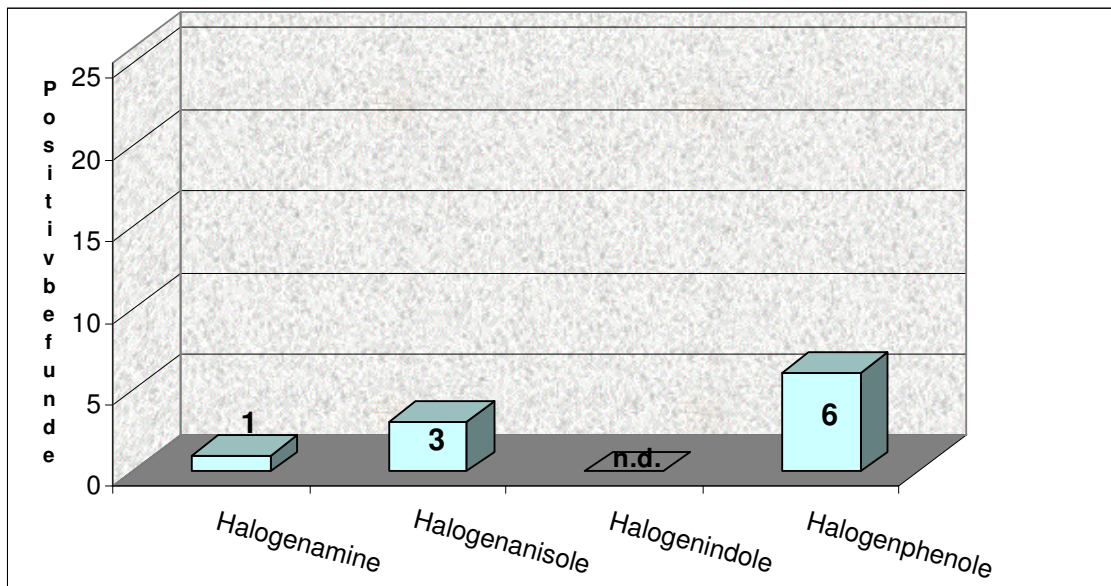


Abb. 109: Zahl der Positivbefunde von Halogenaminen, -anisolen, -indolen und -phenolen in den 26 untersuchten Oberflächen-, Leitungs- und Abwasserproben der Probenserie II

Nur in 8 von 26 auf diese Analyten untersuchten Proben waren Vertreter dieser Verbindungsgruppen nachzuweisen, wobei drei dieser positiv getesteten Proben Klärwerkszu- bzw. -abläufe waren. Nur in einem Fall trat ein Halogenamin auf, und in keiner Probe waren Halogenindole nachzuweisen. Triclosan, das ebenfalls als phenolischer Analyt gelten kann, ist wegen seiner Zugehörigkeit zu den PPCPs bereits in dem vorangegangenen Abschnitt 7.2 behandelt worden und wird hier nicht berücksichtigt. Bei den detektierten Halogenphenolen handelte es sich in zwei Fällen um 2,4-Dichlorphenol, das, wie im vorangegangenen Abschnitt 7.2.2.1 erläutert, vermutlich durch die Hydrolyse des Herbizides Dichloprop entstanden war. Sowohl in den beiden untersuchten Klärwerkszuflüssen, und in geringem Umfang im Klärwerksabfluß, wurde das als Bakterizid verwendete 4-Chlor-3-methylphenol nachgewiesen. 2,4,6-Tribromphenol war in einer Probe aus dem Elbunterlauf unterhalb der Quantifizierungsgrenze von 4 ng/L qualitativ nachzuweisen. Weiterhin wurden 2,4-Dibromanisole und 2,4,6-Tribromanisole jeweils einmal in Havel, Schlei und Weser detektiert, wobei nur in einem Fall die Bestimmungsgrenze von 0,5 ng/L geringfügig überschritten wurde, so daß auch für die Halogenanisole keine nennenswerte Belastung der beprobten Gewässer festzustellen war. Der singuläre Nachweis von 2,4-Dichloranilin unterhalb der Bestimmungsgrenze von 4 ng/L in der Elbe ist so wenig repräsentativ, daß dieser Befund nicht in die weitere Auswertung eingeht.

Die hier vorgestellten Ergebnisse zeigen, daß keine nennenswerte Belastung der beprobten Oberflächenwässer mit halogenierten Aminen, Anisolen, Indolen und Phenolen vorlag. Dies läßt also darauf schließen, daß über die großen Ströme auch keine wesentlichen Einträge in die marine Umwelt stattfinden. Da aber halogenierte Verbindungen, insbesondere Bromindole, -amine und -phenole, nachweislich in erheblichen Konzentrationen in marinen Wasser- und Sedimentproben auftreten können^[45-47,73,74,107-110,113-116], ist in diesen Fällen ein biogener Ursprung anzunehmen.

7.2.4.1 Benzoe- und Phenylethansäurederivate

Die im Rahmen dieser Arbeit ausgewählten Benzoe- und Phenylethansäurederivate gehören bis auf das Pestizid 2,4,5-T bislang nicht zu den Verbindungen, die üblicherweise bei umweltanalytischen Untersuchungen berücksichtigt werden. Unser Interesse an dieser Substanzgruppe entstand durch einen Zufallsbefund. So fielen in dem Chromatogram des derivatisierten methanolischen Eluats einer Probe aus dem Husumer Hafen zwei intensive Signale auf, deren zugehörige Massenspektren auf mehrfach chlorierte Verbindungen schließen ließen, wie es in den folgenden Abbildungen 110 und 111 dargestellt ist.

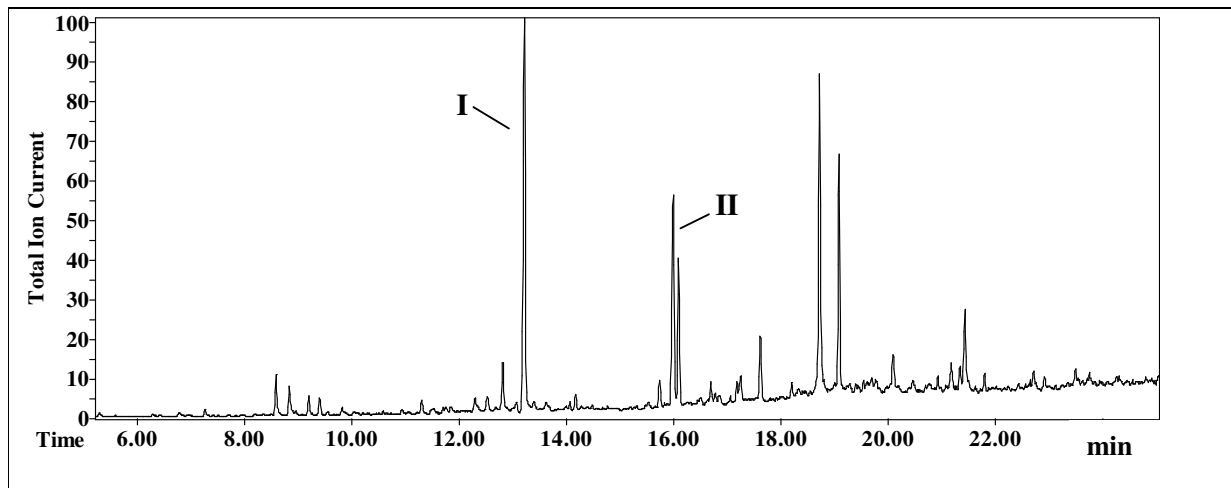


Abb. 110: GC/MS-Chromatogramm (Full-Scan: 80 bis 800 amu) des methanolischen Eluates einer 2,8 L-Umweltprobe (Husumer Hafen, April 2003) nach Festphasenextraktion und Derivatisierung gemäß SOP 6
(Säule: 15 m VB-1701, 2 min 333 K, → 553 K: 7 K/min, 4 min 553 K)

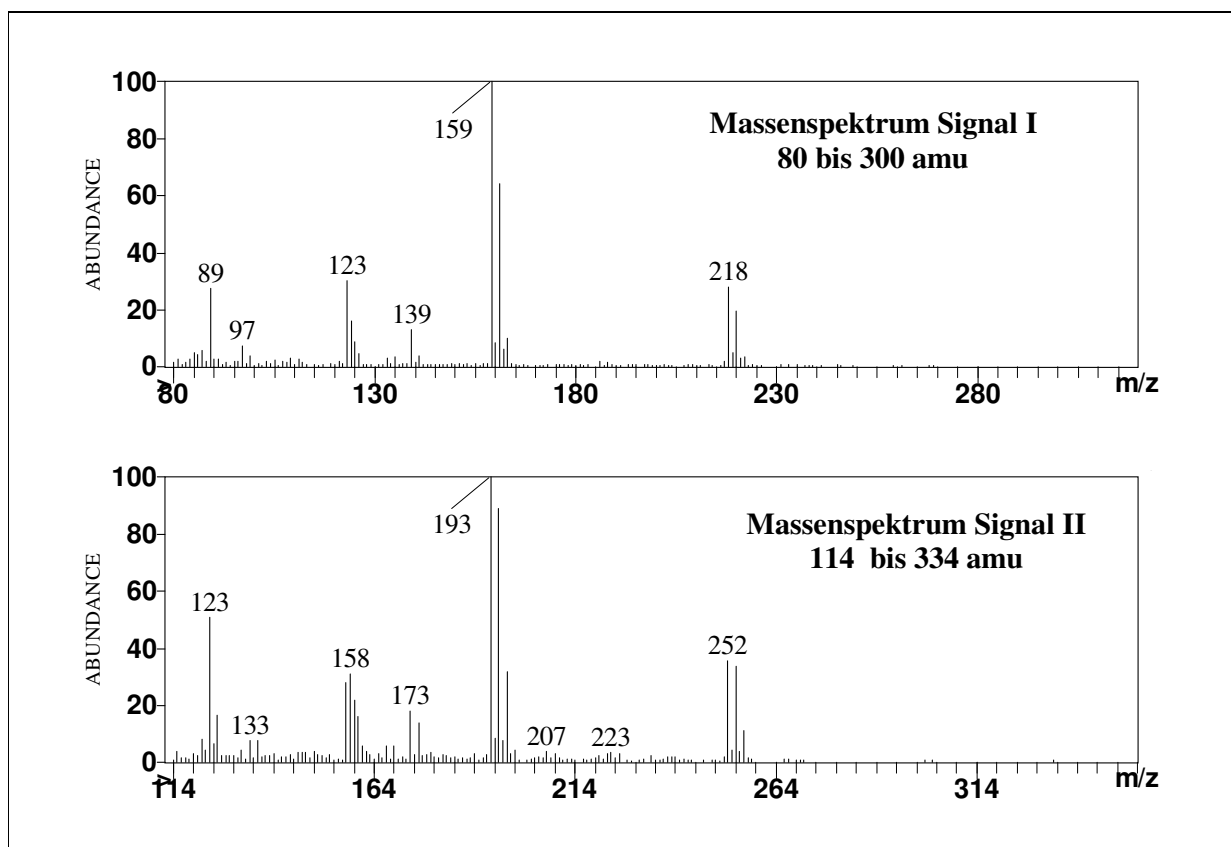


Abb. 111: Massenspektren der Verbindungen I und II aus Abbildung 110

Die Isotopenmuster in den obenstehend abgebildeten Massenspektren zeigen Ionen mit zwei Chloratomen bei Verbindung I und Ionen mit drei Chloratomen bei der Verbindung II. Beide Spektren zeigen ein analoges, aber um 34 Masseinheiten

verschobenes, Fragmentierungsmuster. In der Abbildung 111 sind die Spektren um 34 Masseinheiten versetzt skaliert, um die praktisch identischen Fragmentierungen beider Verbindungen hervorzuheben. Diese Effekte sprachen dafür, daß es sich bei den unbekanntem Verbindungen um homologe Moleküle handelte, die die gleiche Grundstruktur hatten und sich nur im Chlorierungsgrad unterschieden. Eine Bibliothekssuche blieb insofern erfolglos, als daß keinem der beiden Spektren ein ausreichend übereinstimmendes Bibliotheksmuster zugeordnet werden konnte. Bei der Interpretation der vorliegenden Massenspektren wurde den intensivsten Ionenclustern 159/161/163 amu und 193/195/197/199 amu ein Di- bzw. Trichlorbenzylfragment zugeordnet. In beiden Fällen liegt dann, von diesen Signalgruppen ausgehend, eine u.a. für Methylester typische Massendifferenz von 59 amu ($C_2H_3O_2$) zu den mutmaßlichen Molekülionen von 218 amu und 252 amu vor. Da die nicht identifizierten Substanzen in dem methanolischen Eluat der Probe aufgetreten waren, mußte es sich tatsächlich um relativ polare organische Verbindungen, wie es beispielsweise Carbonsäuren sind, handeln, denn andernfalls wäre ein Abtrennung während der fraktionierenden Festphasenelution bereits mit *n*-Hexan oder Chloroform erfolgt. All diese Informationen zusammengefaßt legten die Vermutung nahe, daß es sich bei den gesuchten Verbindungen um Dichlor- und Trichlorphenylethansäuren handelte, die durch die Derivatisierung des Probeneluates in die Methylester überführt worden waren. Dagegen allerdings sprach, daß die verfügbaren Referenzmassenspektren von 2,4-Dichlorphenylethansäure und 2,3,6-Trichlorphenylethansäure nicht mit den zu identifizierenden Spektren übereinstimmten.

Um diese Vermutungen zu belegen, wurden zunächst die kommerziell verfügbaren Verbindungen 2,4-/3,4-/2,6-Dichlorphenylethansäure und 2,3,6-Trichlorphenylethansäure nach Methylierung mittels MCF gemessen. Dabei zeigte sich der 3,4-Dichlorphenylethansäuremethylester hinsichtlich seiner Retentionszeit und seines Massenspektrums identisch mit Verbindung I. Dieses Ergebnis überraschte, weil diese Chemikalie unter den verfügbaren Referenzsubstanzen diejenige mit der geringsten technischen Verbreitung war, was ein Auftreten als anthropogene Umweltkontaminante eher unwahrscheinlich machte. In Abbildung 112 sind die entsprechenden Massenspektren vergleichend dargestellt.

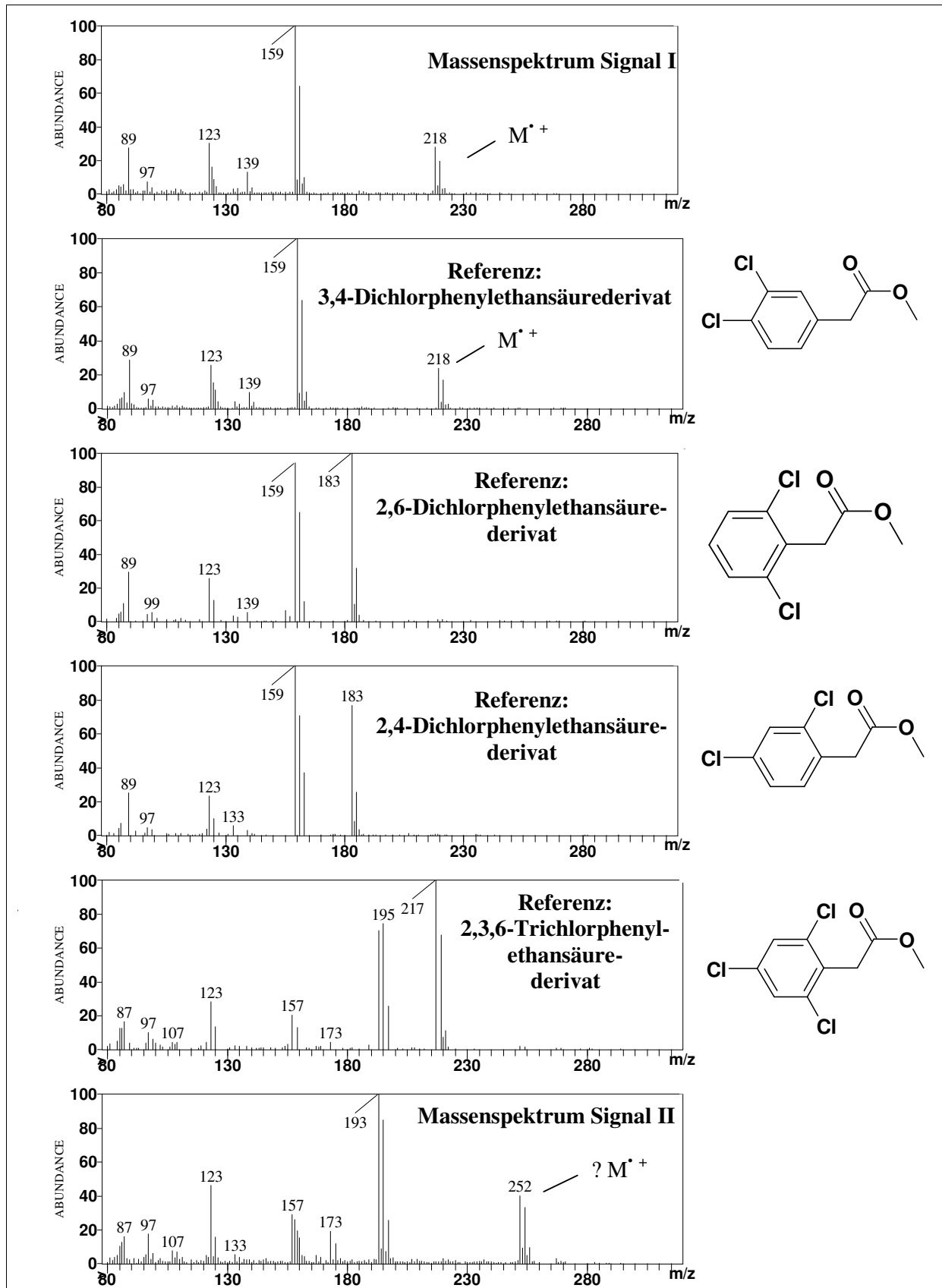


Abb. 112: Vergleichende Übersicht der Massenspektren zweier mutmaßlicher Chlorphenylethansäurederivate und verfügbarer Referenzsubstanzen

Bei genauerer Betrachtung der obenstehenden Massenspektren fällt auf, daß im Gegensatz zu der 3,4-dichlorierten Verbindung bei Isomeren mit *ortho*-Chlorierung der Verlust eines Chloratoms von der Mutterverbindung eine wesentliche Fragmentierung darstellt, während gleichzeitig praktisch kein Molekülion auftritt. Auch bei dem Massenspektrum des mutmaßlichen Trichlorphenylethansäurederivates (Verbindung II) ist wie bei Verbindung I keine Dechlorierung der Mutterverbindung sowie ein deutlich auftretendes Molekülion festzustellen, so daß unter der Vermutung, daß die eben geschilderten Effekte auf die trichlorierten Phenylethansäurederivate übertragbar sind, auch bei dieser Verbindung kein Chlorsubstituent in *o*-Position zu erwarten war. Bei den ringhalogenierten Trichlorphenylethansäuren trifft dies ausschließlich auf das 3,4,5-Trichlorderivat zu. Da diese Substanz kommerziell nicht verfügbar war, wurde zur Überprüfung der eben vorgestellten Annahmen die entsprechende Verbindung synthetisiert, und diese zeigte sich dann nach Methylierung tatsächlich identisch mit der gesuchten Verbindung II.

Nach der Identifizierung beider Analyten war eine umfassende Literaturrecherche via SciFinder möglich, aus der dann tatsächlich zwei Autorengruppen hervorgingen, die das Auftreten chlorierter Benzoe- und Phenylethansäuren in der Umwelt beschrieben. So hatten Nagaoka et al.^[55] 1996 erstmals 3,4-Di- und 3,4,5-Trichlorphenylethansäure neben einer Reihe chlorierter Verbindungen in Klärwerkschlamm in Japan identifiziert. Die Gruppe um Niedan et al. konnte 2003 die mutmaßlich biogene Entstehung chlorierter Benzoe- und Phenylethansäurederivate in einem norddeutschen Klärwerk belegen, wobei im Klärschlamm neben anderen chlorierten Verbindungen wie beispielsweise 3,4,5-Trichlorbenzoesäure die 3,4-Dichlorphenylethansäure als Hauptanalyt detektiert wurde. Die Autoren vermuteten, daß die in erheblichen Mengen in Klärwerkszulauf gefundene Phenylethansäure während der Klärwerkspassage biogen chloriert wurde. Unklar ist, ob 3,4,5-Trichlorphenylethansäure zum Untersuchungsspektrum gehörte.^[56] Darüber hinaus konnte keine Veröffentlichung gefunden werden, die entweder eine nennenswerte technische Verwendung von 3,4-Di- und 3,4,5-Trichlorphenylethansäure oder ihr Auftreten in der aquatischen Umwelt beschrieb. Aus diesem Grunde wurden Phenylethansäure sowie sämtliche am aromatischen Ring mono-, di- und trichlorierten Benzoe- und Phenylethansäuren gekauft oder synthetisiert und zu einem wesentlichen Thema dieser Arbeit gemacht, wie es bereits in den vorangehenden Kapiteln ausführlich erläutert ist.

Die Auswertung der untersuchten Umweltproben zeigte dann, daß tatsächlich eine ganze Reihe chlorierter Benzoe- und Phenylethansäuren regelmäßig nachgewiesen werden konnten. In der nachfolgenden Tabelle 44 sind die innerhalb der Probenserie II ermittelten Analytkonzentrationen aufgeführt.

	2CB	24/34	35DB	345TB	PAA	4CP	34DP	35DP	345TP
	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L
HH1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	< 0,5*	n.d.	1,0
HH2	n.d.	< 0,5*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	< 0,5*	n.d.	3,0
Nie1	n.d.	1,3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,9
Nie2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	< 0,5*	< 0,9*	n.d.
Nie3	n.d.	< 0,9*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	< 0,9*	n.d.
Nie4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,0	n.d.	1,8	< 0,9*	2,6
Nie5	n.d.	3,1	< 0,9*	n.d.	n.d.	n.d.	0,9	n.d.	1,9
SH1	n.d.	< 0,9*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SH2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	< 0,5*	4,5	n.d.
SH3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	>183*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BB1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BB2	n.d.	n.d.	n.d.	< 4*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,1
BB3	10	7,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	40	n.d.	42
BB4	n.d.	1,4	n.d.	4,6	n.d.	n.d.	8,8	< 0,9*	20
D1	n.d.	n.d.	n.d.	< 4*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
D2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
T1	n.d.	< 0,9*	< 0,9*	< 4*	n.d.	n.d.	4,1	1,3	4,8
T2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,8	n.d.	2,5
T3	n.d.	< 0,9*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,6	n.d.	2,8
T4	< 4*	< 0,9*	< 0,9*	< 4*	< 37*	n.d.	2,9	1,1	3,5
V1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	54	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SH4	n.d.	4	116	13	>183*	575	741	20	1162
SH5	n.d.	2,7	n.d.	n.d.	>183*	1144	>1830*	5	833
SH6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	>183*	>1830*	>1830*	1	1283
V2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	>183*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
V3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	>183*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4-Chlorbenzoesäure, 2-Chlor, 2,6-Dichlor und 2,3,6-Trichlorphenylethansäure wurden in keiner Probe detektiert									
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze									
2CB: 2-Chlorbenzoesäure / 35DB: 3,5-Dichlorbenzoesäure									
24/34: 2,4- & 3,4-Dichlorbenzoesäure									
PAA: Phenylethansäure / 4CP: 4-Chlorphenylethansäure									
34DP: 3,4-Dichlorphenylethansäure / 35DP: 3,5-Dichlorphenylethansäure									
345TB: 3,4,5-Trichlorphenylbenzoesäure									
345TP: 3,4,5-Trichlorphenylethansäure									

Tab. 44: Detektion von Phenylethansäure und ausgewählten chlorierten Benzoe- und Phenylethansäurederivaten in den 26 untersuchten Oberflächen-, Leitungs- und Abwasserproben der Probenserie II

Eine entsprechende Übersicht über die Zahl der Positivbefunde in den 21 untersuchten Oberflächen- und Leitungswässern ist in der Abbildung 113 aufgeführt.

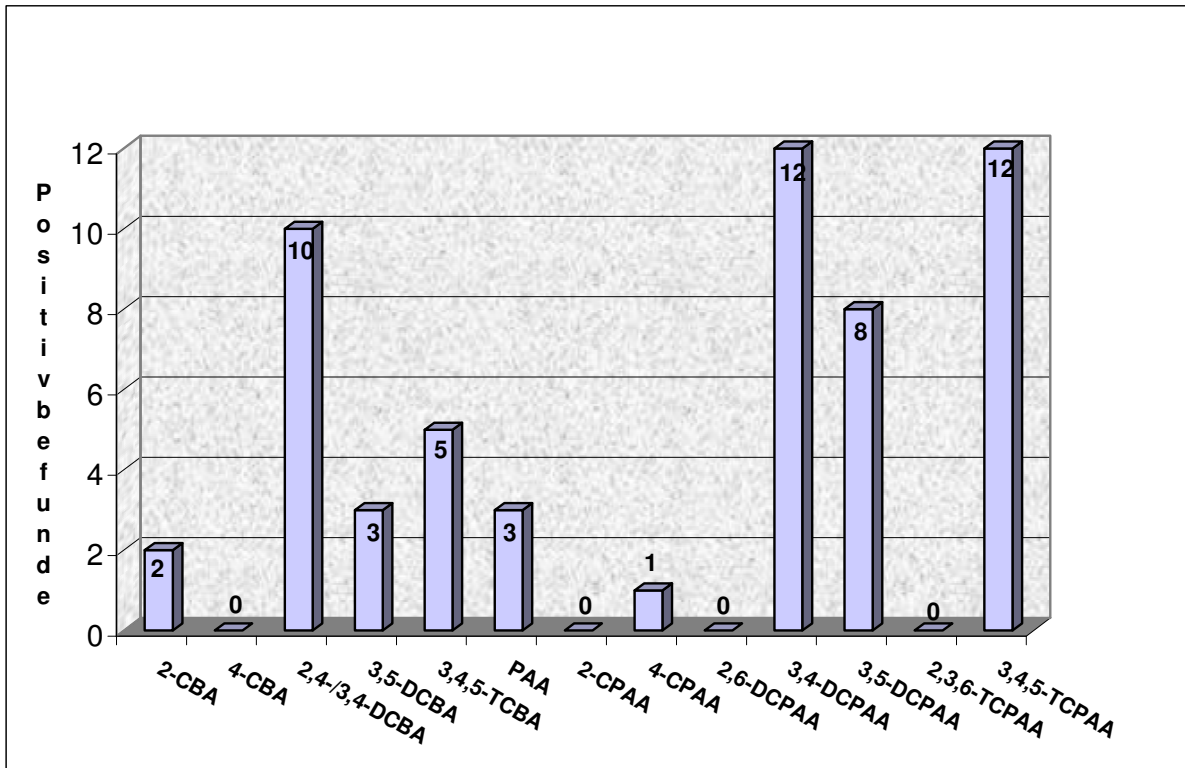


Abb.113: Zahl der Positivbefunde von Phenylethansäure und ausgewählten chlorierten Benzoe- (CBA) und Phenylethansäurederivaten (CPAA) in den 21 untersuchten Oberflächen- und Leitungswasserproben der Probenserie II

Das Diagramm zeigt eine sehr unterschiedliche Detektionshäufigkeit unter den ausgewählten Analyten. Während sämtliche monochlorierten Verbindungen nur selten gefunden wurden, waren im Gegensatz dazu die höher substituierten Homologen öfter in den untersuchten Proben nachzuweisen. Auffällig ist, daß insbesondere Analyten mit einer Chlorierung an den Positionen 3,4 bzw. 3,5 sowie 3,4,5 am häufigsten auftraten. Bei einer genaueren Analyse der Einzelergebnisse zeigte sich, daß 3,4-Dichlorphenylethansäure und das an den Positionen 3,4,5 trichlorierte Homologe fast ausnahmslos vergesellschaftet auftraten, während die anderen Analyten unabhängig voneinander detektiert wurden.

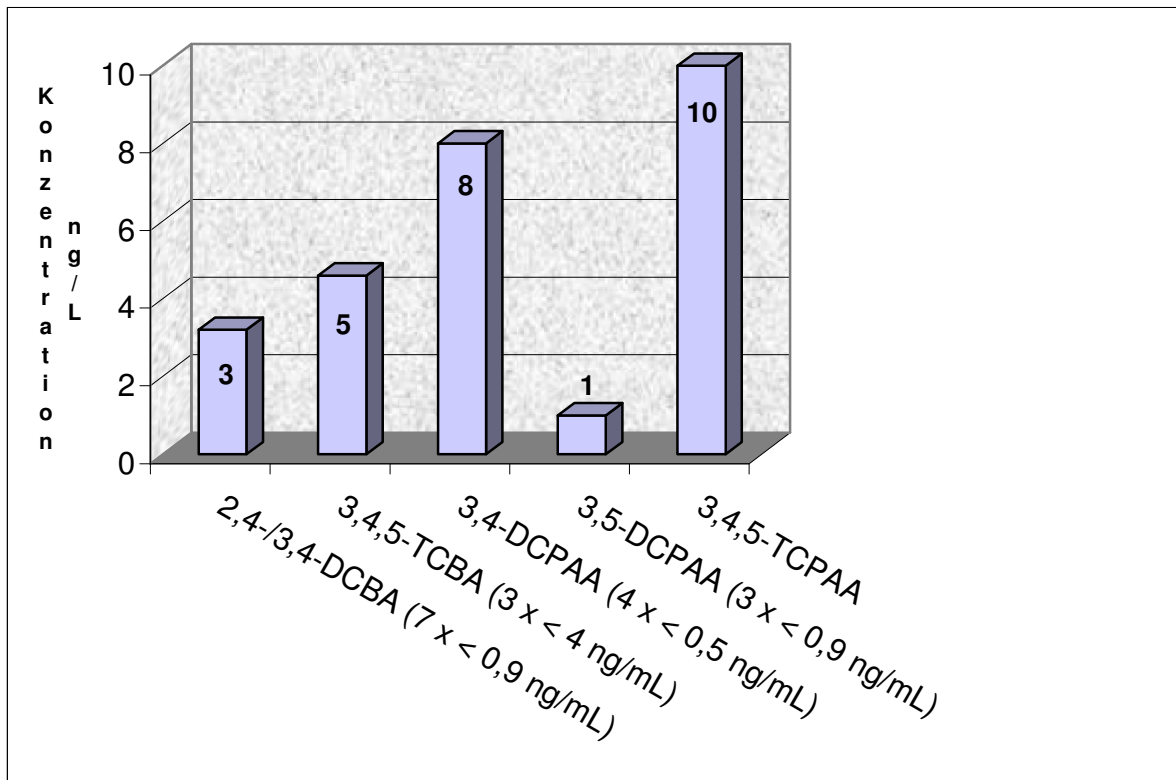


Abb. 114: Durchschnittlich ermittelte Konzentrationen der am häufigsten detektierten chlorierten Benzoe- (CBA) und Phenylethansäurederivate (CPAA) in den 21 untersuchten Oberflächen- und Leitungswasserproben der Probenserie II

In Abbildung 114 ist dargestellt, daß die in den untersuchten Proben durchschnittlich ermittelten Konzentrationen der chlorierten Benzoesäure- und Phenylethansäurederivate im unteren ng/L-Bereich lagen. Damit waren diese Analyten hinsichtlich ihrer durchschnittlichen Häufigkeit und Konzentration in der aquatischen Umwelt ähnlich intensiv vertreten wie die untersuchten Pestizide. Diese überraschenden Ergebnisse legen nahe, daß die Befunde, die für den Husumer Hafen festgestellt worden waren, keinen Einzelfall darstellten, sondern daß chlorierte Benzoe- und Phenylethansäuren verbreitete Umweltanalyten sind. Aus den im experimentellen Teil aufgeführten Einzelergebnissen kann die Vermutung abgeleitet werden, daß die chlorierten Benzoe- bzw. Phenylethansäuren über kommunale Abwässer in die aquatische Umwelt gelangen, weil sie in etwa parallel mit den verbreitetsten PPCPs detektiert wurden, also häufiger und höher konzentriert im Einflußbereich der großen Städte Berlin, Prag und Hamburg. Diese Beobachtung deckt sich mit den Ergebnissen von *Nagaoka* und *Niedan*, die das Auftreten der hier behandelten Organochlorverbindungen in direktem Zusammenhang mit Klärwerkprozessen beschrieben^[55,56]. Aus diesem Grund waren die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Klärwerkproben besonders aufschlußreich. So wurden hierin teilweise chlorierte Benzoesäurederivate gefunden, vor allem aber in erheblichem Maße Phenylethansäure, 4-Chlor-, 3,4-Dichlor- und 3,4,5-Trichlorphenylethansäure sowie geringe Mengen an 3,5-Dichlorphenylethansäure, wenn auch die quantitativen

Ergebnisse aufgrund der besonders schwierigen Matrix dieser Proben vermutlich eine hohe Fehlerbreite aufweisen. In der nachfolgenden Abbildung 115 sind die Konzentrationen der 5 Phenylethansäuren vergleichend dargestellt.

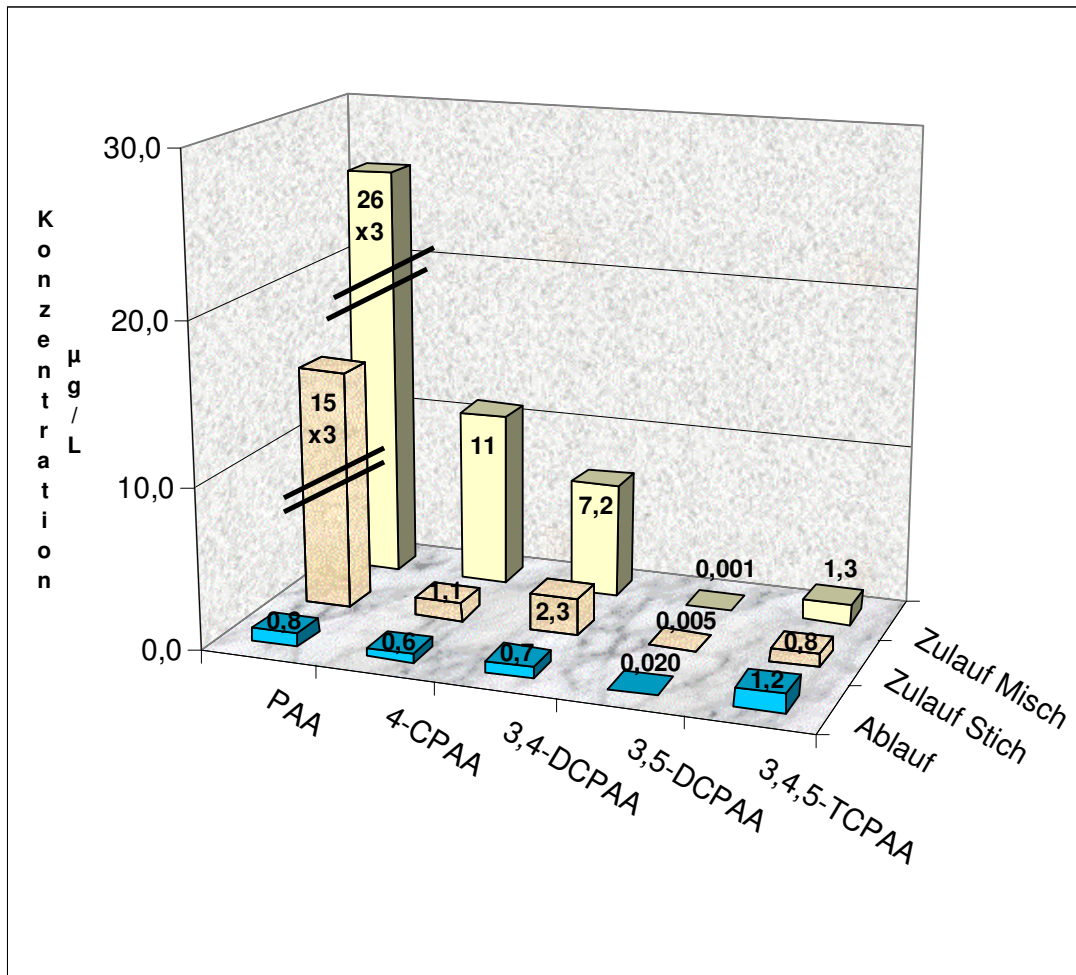


Abb. 115: Konzentration der in den Klärwerksproben vorwiegend gefundenen Phenylethansäure (PAA) und chlorierten Phenylethansäurederivate

Wenn schon das Auftreten dieser Analyten in den Zulaufproben, also bereits vor dem eigentlichen Klärprozeß, unerwartet war, überraschte noch mehr, daß die in den Zuläufen gefundenen Konzentrationen von 4-Chlorphenylethansäure und 3,4-Dichlorphenylethansäure bis um etwa den Faktor 20 höher lagen als im Klärwerksablauf. Diese Verbindungen waren also entgegen den von *Niedan* beschriebenen Beobachtungen während des Klärprozesses eher abgebaut als gebildet worden. Demgegenüber war in allen drei Proben die Konzentration an 3,4,5-Trichlorphenylethansäure etwa gleich, während 3,5-DCPAA als einziger Analyt dieser Gruppe im Klärwerksablauf signifikant höher konzentriert auftrat als im Zulauf. Vermutlich ist also 3,5-Dichlorphenylethansäure ein Metabolit, der während des Klärprozesses durch Umlagerung von 3,4-DCPAA oder wahrscheinlicher durch Dechlorierung von 3,4,5-TCPAA entstehen kann. Besonders auffällig waren die Unterschiede von 4-CPAA und 3,4-DCPAA in den beiden Zulaufproben, wobei die genannten Analyten

in der 24-Stunden-Mischprobe bis 10fach stärker vertreten waren als in der Stichprobe. Es fällt schwer, eine solche Diskrepanz einfach durch übliche Schwankungen in der Zusammensetzung des Zulaufes zu erklären. Diese Erklärung wäre eher bei der Phenylethansäure anwendbar, die in der Mischprobe etwa um den Faktor 1,8 höher konzentriert gemessen wurde. Zudem zeigen die Werte der meisten anderen detektierten Analyten wie etwa Salicylsäure, Coffein, Carbamazepin und Dichlofenac in beiden Proben nur geringe Unterschiede. Tatsächlich drängt sich eher die Vermutung auf, daß sich während der entsprechend langen Probenahmezeit der Zulaufmischprobe erhebliche Anteile von 4-Chlor- und 3,4-Dichlorphenylethansäure gebildet haben.

Betrachtet man das Auftreten der chlorierten Benzoessäurederivate in den Klärwerksproben, so kehren sich im Vergleich zu den Phenylethansäuren die Verhältnisse um. Abgesehen davon, daß die gefundenen Konzentrationen etwa um den Faktor 1000 kleiner sind, wurden die Benzoessäureanalyten praktisch nur im Klärwerksablauf detektiert und bis auf eine Ausnahme nicht in den Zuläufen. Offensichtlich sind die drei detektierten Analyten ähnlich wie die 3,5-Dichlorphenylethansäure Transformationsprodukte, die überwiegend während der Klärwerkspassage gebildet werden. In Abbildung 116 sind die entsprechenden Werte graphisch dargestellt.

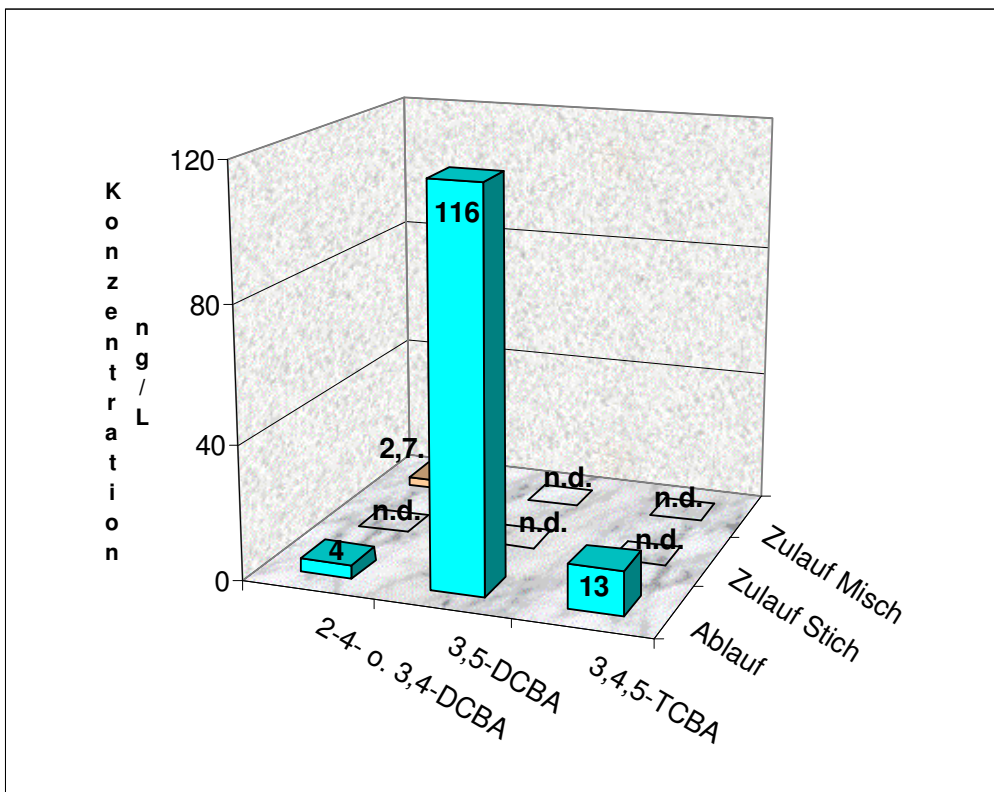


Abb. 116: Konzentration der in den Klärwerksproben vorwiegend gefundenen chlorierten Benzoessäurederivate

So interessant die Auswertung der Klärwerksproben auch war, so bleiben am Ende doch mehr Fragen offen als beantwortet. Zwar kann mit einiger Sicherheit

festgestellt werden, daß chlorierte Benzoesäure- und Phenylethansäurederivate über Klärwerke in die aquatische Umwelt gelangen, doch die Art und Weise ihrer Entstehung bleibt ungeklärt. Allenfalls kann vermutet werden, daß biologische Prozesse in Abwässern eine stufenweise Mono-, Di- und Trichlorierung von Phenylethansäure bewirken können, bei denen selektiv 4-CPAA, 3,4-DCPAA und 3,4,5-TCPAA entstehen. Zwar sind analoge Prozesse auch für die Entstehung der gleich substituierten Chlorbenzoesäuren denkbar, konnten in dem untersuchten Klärwerk allerdings nicht in dem gleichen Maße beobachtet werden. Es bleibt also vollkommen offen, ob die gefundenen Benzoesäurederivate durch Chlorierung von Benzoesäure entstanden waren, ob es sich um Transformationsprodukte der halogenierten Phenylethansäuren handelte oder ob ganz andere unbekannte Quellen vorgelegen haben. Ganz offensichtlich besteht hier noch erheblicher Klärungs- und Forschungsbedarf. Ebenso offen ist die Frage nach den möglichen Effekten, die diese halogenierten Verbindungen in der Umwelt haben können. Immerhin sind chlorierte Phenylethansäuren als starke Inhibitoren pflanzlicher Keimungsprozesse bekannt. Dieser Effekt hatte ursprünglich zu der Untersuchung der belasteten Klärschlämme in Japan geführt^[55,56].

7.2.4.2 Zusammenfassung Benzoe- und Phenylethansäurederivate

In dem vorangehenden Abschnitt wurde beschrieben, wie die Massenspektren zweier zunächst unbekannter chlorierter Verbindungen aus einer Umweltprobe aufgeklärt und ungewöhnlich substituierten Phenylethansäurederivaten zugeordnet werden konnte. Die anschließend durchgeführte Literurrecherche ließ darauf schließen, daß die identifizierten Verbindungen keinerlei großtechnische Verwendung finden und ein Vorkommen in der aquatischen Umwelt bis dahin noch nicht beschrieben war. Tatsächlich konnte dann eine erhebliche Anzahl mono- di- und trichlorierter Benzoe- und Phenylethansäurederivate in den im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Oberflächenwasserproben nachgewiesen werden, so daß sich das Bild einer neuen Gruppe von Umweltanalyten ergibt, die weit verbreitet in der aquatischen Umwelt auftreten können. Da ihr Auftreten mit dem der ebenfalls detektierten PPCPs korrelierte, ist einerseits eine anthropogen beeinflusste Emission in die untersuchten Oberflächenwässer wie etwa durch geklärte Abwässer die wahrscheinliche Quelle dieser Verbindungen. Diese Annahme wurde durch die Untersuchung von drei Proben eines Klärwerkes bestätigt, in denen eine Reihe der hier besprochenen Analyten, insbesondere 4-Chlor-, 3,4-Dichlor- und 3,4,5-Trichlorphenylethansäure in hohen Konzentrationen nachgewiesen werden konnten. Allerdings war es nicht möglich, ein schlüssiges und mit anderen Veröffentlichungen übereinstimmendes Modell für die Entstehung dieser Substanzen zu entwickeln. Allein das Vorhandensein großer Mengen freier Phenylethansäure und die Verteilung der detektierten Verbindungen in den unterschiedlichen Klärwerksproben legt eine biogene Chlorierung der Phenylethansäure nahe. Damit könnte die Herkunft dieser neuen Analytengruppe nicht mehr eindeutig als anthropogen oder biogen beschrieben werden, sondern wären im Grenzgebiet zwischen bio- und anthropogen angesiedelt.

8 Zusammenfassung

Der erste Teil dieser Arbeit beschreibt die Entwicklung der technisch-methodischen Grundlagen zur Anreicherung einer breiten Palette organischer Spurenanalyten aus Oberflächenwasserproben von bis zu 3 L Volumen und mit hohem Matrixgehalt. Zu diesem Zwecke wurden mehrere technische Komponenten zur spurenanalytischen Probenahme und Analytanreicherung konstruiert und erprobt. Dazu zählen ein universell einsetzbarer Wasserschöpfer für Probengefäße von 0,25 bis 3 L Volumen, eine Filtrationseinheit und eine Extraktionsgeometrie für die Festphasenextraktion. Zum Zweck der Auftrennung von Analyten unterschiedlicher Polarität wurde eine fraktionierende Elution mit *n*-Hexan, Chloroform und Methanol etabliert, durch die jeweils unterschiedliche Substanzgruppen angereichert wurden. Durch die Anwendung von sauren und basischen flüssig-flüssig Extraktionen auf die polarerer Eluate konnte eine weitere Aufteilung der Analyten bei einer gleichzeitigen Matrixabreichung erzielt werden.

Da das Analytenspektrum auf PPCPs, Pestizide und Metaboliten ausgerichtet war, und somit Substanzen enthielt, die aufgrund ihrer Polarität nicht oder nur eingeschränkt gaschromatographisch-massenspektrometrisch bestimmbar waren, bestand ein weiterer Schwerpunkt der methodischen Entwicklungen in der Etablierung von Derivatisierungsmethoden, die den Analyten eine höhere Flüchtigkeit und Thermostabilität vermitteln sollten. In diesem Zusammenhang wurde für die Umsetzung von östrogenen Steroiden eine Silylierungsreaktion optimiert, bei der die Reagenzmischung bei sehr hohem Silylierungspotential länger haltbar ist und weniger Nebenprodukte erzeugt als bei den üblichen Methoden. Dabei gelang es unter anderem, durch entsprechende Reaktionsführungen, Estron wahlweise nur an der phenolischen Funktion zu derivatisieren oder auch zusätzlich die Ketofunktion quantitativ in den Trimethylsilylenolether zu überführen. Zur parallelen Derivatisierung von Phenolen und Carbonsäuren wurde die Umsetzung mit Alkylchlormethanoaten intensiv untersucht und auf die speziellen Anforderungen der schnellen und quantitativen Umsetzung von Spurenanalyten in problematischen natürlichen Matrices abgestimmt. Durch die Kombination verschiedener Reagenzien mit ausgesuchten Coreaktanden ließen sich erfolgreich Derivatisierungen etablieren, mittels derer in einem Schritt einfache Phenole und Carbonsäuren ebenso wie gemischt- und multifunktionelle acide Analyten umgesetzt werden. Die Reaktionen können so gesteuert werden, daß die Phenole zu den mit dem jeweilig eingesetzten Alkylchlormethanoat korrespondierenden Kohlensäureestern reagieren, während Carboxyfunktionen in einem mehrstufigen Reaktionsmechanismus einfach alkyliert werden. Der Alkylrest der jeweiligen Estergruppe wird dabei durch variabel einsetzbare Alkohole eingeführt, die als Hilfsreagenzien fungieren. In diesem Zusammenhang wurden die Begriffe *homogene* bzw. *heterogene Derivatisierung* eingeführt, wenn im ersten Fall die Alkoholkomponente den gleichen Alkylrest wie das Alkylchlormethanoat hatte oder im zweiten Fall einen anderen Grundkörper aufwies. Beide Reaktionsführungen und die entsprechenden Aufarbeitungen wurden soweit optimiert, daß auch unter Realbedingungen eine Vielzahl unterschiedlicher

Derivate – quasi maßgeschneidert – schnell und einfach generiert werden konnten. Dabei zeigten sich insbesondere fluorierte Derivate hinsichtlich ihrer chromatographischen Eigenschaften als so hervorragend für die spurenanalytische Detektion mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie geeignet, daß eine entsprechende heterogene Derivatisierung im zweiten Teil dieser Arbeit für die Methodenvalidierung und Untersuchung der Realproben eingesetzt wurde. Bei den methodischen Untersuchungen zur Derivatisierung acider Analyten mit Alkylchlormethanoaten wurde ein bislang nicht beschriebener Effekt beobachtet, der darin bestand, daß *o,o'*-disubstituierte Benzoessäurederivate nicht zu den gewünschten Produkten umgesetzt werden. Hierzu konnte gezeigt werden, daß diese Analyten zwar zunächst mit den Alkylchlormethanoaten zu gemischten Anhydriden reagieren, dann aber eine nachfolgende Alkohololyse vermutlich aufgrund sterischer Hinderung unterbleibt. Für die Erklärung dieser Vorgänge wird ein Reaktionsmechanismus vorgeschlagen.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde eine Reihe von Proben aus der aquatischen Umwelt auf das Vorkommen von etwa 70 ausgewählten Analyten, vornehmlich PPCPs und Pestizide sowie ihre Metaboliten, untersucht. Bei den Proben handelte sich dabei vorwiegend um marine und nichtmarine Oberflächenwässer aus Niedersachsen, Schleswig-Holstein, Hamburg sowie Berlin und Brandenburg. Darüber hinaus stammten einige Proben aus Dänemark, Tschechien und Vietnam. Neben Oberflächenwässern wurden stichpunktartig auch Leitungswässer sowie geklärte und ungeklärte Abwässer untersucht. Bewußt waren dabei sowohl Gewässer im Einflußbereich größerer Ballungszentren als auch aus dünn besiedelten Regionen beprobt worden. Von den ausgewählten PPCPs wurden Anethol, Bayrepel®, Fenoprofen, Gemfibrozil und Ketoprofen in keiner Probe nachgewiesen. Nach Häufigkeit geordnet wurde folgende PPCPs detektiert: Coffein > Carbamazepin > DEET > Dichlofenac > Ibuprofen = Propyphenazon > Naproxen > Triclosan > Bezafibrat > Indometacin. Dabei umspannten die durchschnittlich bestimmten Konzentrationen einen Bereich von etwa 6 ng/L bei Ibuprofen bis zu 165 ng/L bei Carbamazepin. Die untersuchten PPCP-Metaboliten wurden ähnlich oft wie die PPCPs nachgewiesen, wobei sich folgende Häufigkeit der Detektion ergab: HHCB-Lacton > Ibuprofen-OH > Bayrepel-Säure > 4-Acetamidoantipyrin > Clofibrinsäure > Ibuprofen-COOH > Salicylsäure. Bei diesen Analyten lagen die durchschnittlich ermittelten Konzentrationen zwischen 6 ng/L bei Clofibrinsäure und 30 ng/L bei Ibuprofen-OH. Die Detektion von Bayrepel-Säure, dem Hauptmetaboliten des Insekten-Repellants Bayrepel® in Oberflächenwässern außerhalb des direkten Einflußbereiches von Klärwerken wurde bislang noch nicht beschrieben und zeigt, daß mit der Einführung neuer Produkte beständig neue Analyten in der aquatischen Umwelt auftreten, bei denen keinerlei Wissen über ihre Wirkung auf die aquatische Flora und Fauna vorliegt. Hinsichtlich der Verteilung und Konzentration der gefundenen PPCPs und ihrer Metaboliten zeigte sich einerseits, daß auch Proben aus dünn besiedelten Gebieten mit einer Reihe von Analyten belastet waren. Andererseits war eine direkte Abhängigkeit der gemessenen Konzentrationen von der Besiedlungsdichte des Einzugsgebietes der beprobten Gewässer zu erkennen, was auf einen wesentlichen

Eintrag durch kommunale Abwässer schließen läßt. Tatsächlich wurden die in der aquatischen Umwelt am häufigsten detektierten Analyten auch in dem untersuchten Klärwerksablauf in erheblichen Mengen gefunden. Daß sich das Vorkommen von pharmakologisch aktiven Substanzen in der aquatischen Umwelt nicht auf Deutschland beschränkt, zeigten die Proben aus Tschechien und Vietnam, bei denen, wenn auch mit anderem Verteilungsmuster, eine Reihe von Analyten in überdurchschnittlich hohen Konzentrationen gefunden wurden. Als Beispiele seien hier die mittleren Werte für Ibuprofen-OH (217 ng/L) und Coffein (770 ng/L) in den Proben aus Vietnam angeführt.

Von den untersuchten Pestiziden und ihren Metaboliten zeigten die Phenoxyalkan-carbonsäuren, Triazine sowie die Triazinmetaboliten die weiteste Verbreitung. Nach Häufigkeit angeordnet, wurden folgende Analyten gefunden: Mecoprop > Terbutylazin > Atrazin > MCPA > Irgarol > Dichloprop > Desethylatrazin > Desethylterbutylazin > 2,4-Dichlorphenol > Dichlobenil. Die durchschnittlich bestimmten Konzentrationen lagen zwischen 1 ng/L (Terbutylazin) und 6 ng/L (Irgarol) und waren damit im Mittel signifikant kleiner als die der untersuchten PPCPs und PPCP-Metaboliten. Auch die Verteilung der Pestizide unterschied sich dahingehend von der der PPCPs, daß kein direkter Zusammenhang zwischen den bestimmten Detektionshäufigkeiten sowie Konzentrationen und der Besiedlungsdichte der beprobten Regionen erkennbar war und daß die in den einzelnen Proben gemessenen Konzentrationen stark divergierten. Diese Beobachtungen bestätigen die Vermutung, daß der Eintrag von Pestiziden in die aquatische Umwelt vorwiegend dezentral über die Auswaschung von entsprechend bewirtschafteten Flächen erfolgt. Tatsächlich konnten in den untersuchten Klärwerksproben keine nennenswerten Konzentrationen an Pestiziden detektiert werden. Ein Vergleich der Proben aus Deutschland und Tschechien hinsichtlich des Auftretens der Triazine zeigte in eindrucksvoller Weise wie nationale Bestimmungen sich auf das Auftreten von Umweltanalyten auswirken können. So ist in Deutschland im Gegensatz zu Tschechien die Anwendung von Atrazin verboten, so daß hierzulande das Substitut Terbutylazin eingesetzt wurde. Tatsächlich wurde in 4 Proben aus dem Großraum Prag ausschließlich Atrazin mit durchschnittlich 12 ng/L detektiert, während beispielsweise in 4 Proben aus dem Raum Berlin-Brandenburg nur Terbutylazin mit durchschnittlich 8 ng/L gefunden wurde. Diese Ergebnisse belegen die regional unterschiedliche Anwendung dieser herbiziden Wirkstoffe. In der Elbe bei Hamburg fanden sich im Mittel 8 ng/L Atrazin und 2 ng/L Terbutylazin, so daß hier beispielsweise ein Transport des Atrazins aus dem tschechischen Oberlauf der Elbe vorstellbar ist.

Die Identifizierung und Detektion von ungewöhnlich chlorierten Phenylethansäure- und Benzoessäurederivaten stellt sicherlich einen bedeutenden Abschnitt dieser Arbeit dar, wird hiermit doch eine ganz neue Gruppe von Analyten der aquatischen Umwelt beschrieben. In 2004 wurden bei der Untersuchung einer Reihe von Umweltproben auf saure Analyten unter anderem 3,4-Dichlorphenylethansäure und 3,4,5-Trichlorphenylethansäure als dominante Verbindungen in einer Oberflächenwasserprobe aus dem Husumer Hafen identifiziert. Diese Analyten haben keine

nennenswerte technische Bedeutung und sind im Falle der trichlorierten Verbindung auch nicht kommerziell erhältlich. Sie wurden allerdings neben einer Reihe analog substituierter Benzoessäuren und weiteren halogenierten Verbindungen von zwei Autorengruppen im Zusammenhang mit der Analyse von Klärschlämmen beschrieben^[55,56]. Nachdem durch Beschaffung und Synthese alle mono-, di- und trichlorierten Benzoessäuren und Phenylethansäuren als Referenzverbindungen zur Verfügung standen, wurden ausgewählte Isomere mit in die Methodvalidierung aufgenommen und auf das Vorkommen in den vorliegenden Umweltproben untersucht. Tatsächlich wurde eine Reihe von chlorierten Benzoe- und Phenylethansäuren, insbesondere solche mit einer Chlorsubstitution an den Positionen 3,4 bzw. 3,5 sowie 3,4,5, weit verbreitet nachgewiesen. Die beiden am häufigsten detektierten Analyten waren 3,4-Dichlorphenylethansäure und 3,4,5-Trichlorphenylethansäure, gefolgt von 2,4- oder 3,4-Dichlorbenzoessäure (beide Isomere waren chromatographisch und massenspektrometrisch nicht unterscheidbar). Ebenso wurden mit absteigender Häufigkeit 3,5-Dichlorphenylethansäure = Phenylethansäure > 3,4,5-Trichlorbenzoessäure > 3,5-Dichlorbenzoessäure > 2-Chlorbenzoessäure > 4-Chlorphenylethansäure gefunden. Die durchschnittlichen Konzentrationen, mit denen diese Analyten in den untersuchten Oberflächenwässern bestimmt wurden, lagen in einem Bereich von 3 ng/L bis 8 ng/L, in Einzelfällen wurden Konzentrationen bis etwa 40 ng/L gemessen. Die Herkunft beziehungsweise Entstehung dieser Analyten konnte im Rahmen der durchgeführten Untersuchungen nicht endgültig aufgeklärt werden. Da das Auftreten dieser Analyten mit der der PPCPs korrelierte, war ein Eintrag über kommunale Abwässer naheliegend. Tatsächlich konnten die meisten der in Umweltproben detektierten chlorierten Benzoessäure- und Phenylethansäurederivate in den untersuchten Klärwerksproben in Mengen detektiert werden, die teilweise die methodischen Bestimmungsgrenzen überschritten. Die Betrachtung der Verhältnisse, in denen diese Analyten in den untersuchten Klärwerksproben gefunden wurden, läßt immerhin die Vermutung zu, daß diese Analyten durch biologische Prozesse in Abwässern entstehen könnten. Damit läge der ungewöhnliche Fall einer bioanthropogenen Bildung hochchlorierter Substanzen vor.

9 Summary

The first part of this work describes the development of the technical-methodological approach for the extraction and enrichment of a broad variety of organic trace analytes from surface water samples up to three litres of volume exhibiting a high load of matrix. After having tested several prototypes an universally applicable water sampler was constructed allowing volumes from 0,25 to 3 L, a filtration unit and a SPE-device. In order to separate analytes of different polarity a sequential elution with *n*-hexane, chloroform and methanol has been established, leading to the enrichment of different groups of substances. Application of acidic and basic liquid-liquid extractions to the more polar eluates resulted in a further analyte separation combined with a matrix reduction as well.

As the focus was directed on PPCPs, pesticides and metabolites, i.e., analytes of higher polarity, another aim of this work was the development and establishment of derivatisation methods leading to analytes of higher volatility and thus to an improved GC/MS performance, and thermic stability. In this context a reaction for the silylation of estrogenic steroids was optimised in a way that the reaction mixture with very high silylation potential exhibited a higher stability and generated less reaction byproducts than conventional mixtures. It was possible to derivatise exclusively just the phenolic function of estrone or to convert additionally the ketofunction into the trimethylenoether by variation of the reaction conditions. For derivatisation of phenoles and carboxylic acids in parallel their reactions with alkyl chloromethanoates were investigated in detail and were optimised for the fast and quantitative conversion of trace analytes in difficult natural matrices. By combination of different reagents with selected coreactants it was possible to establish derivatisation reactions for the transformation of simple phenoles and carboxylic acids as well as acidic analytes with mixed or multiple chemical functions in one step. The reactions can be directed in a way that phenoles react with the selected alkyl chloromethanoate to give the corresponding ester of carboxylic acid, while carboxylic functions are alkylated in a mechanism that includes more reaction steps. The alkyl group of the carboxylic ester is derived from various alcohols that can be chosen as coreactants. In this context the expressions *homogenous* and *heterogenous derivatisation* are introduced, where in the former case the alcohol exhibits the same alkyl group as the alkyl chloromethanoate, while in the latter case the alcohol possesses a different alkyl group. Both reaction ways and the corresponding clean-up steps were optimised in a way that under real conditions a large number of derivatives can be generated fast and easily. Especially fluorinated derivatives showed good chromatographic properties leading to the best performance in the trace analytical detection via gas chromatography - mass spectrometry. Thus a corresponding heterogenous derivatisation was chosen for method validation and investigation of environmental samples in the second part of this work. Within the methodological investigations of the derivatisation of acidic analytes with alkyl chloromethanoates the unexpected effect was observed that *o,o'*-disubstituted benzoic acid derivatives could not be converted to the target products. It was shown that these

analytes react in a first step with the alkyl chloromethanoates to mixed anhydrides, but the following alcoholysis does not take place, probably because of steric hindrance. A reaction mechanism was suggested that explains this pathway.

In the second part of this work a number of samples of the aquatic environment were investigated for about 70 selected analytes, mainly PPCPs, pesticides and their metabolites. The samples were in most cases taken from marine and non-marine surface waters from Lower Saxony, Schleswig-Holstein, Hamburg as well as Berlin and Brandenburg. Additional samples origin from Denmark, Czech Republic and Vietnam. Furthermore a few tap water as well as and sewage influent and effluent samples were included. Sampling sites comprised areas close to bigger cities as well as less populated regions. Among the selected PPCPs anethol, Bayrepel®, fenoprofen, gemfibrozil and ketoprofen were not detected in any of the investigated environmental samples. Indexed by the frequency of occurrence the following PPCPs were detected: caffeine > carbamazepine > DEET > dichlofenac > ibuprofen = propyphenazone > naproxene > triclosan > bezafibrate > indometacin. The average concentration rose from 6 ng/L for ibuprofen to 165 ng/L for carbamazepine. The PPCP metabolites investigated herein were detected similarly often as the parent compounds according to the following index of detection frequency: HHCB-lactone > ibuprofen-OH > Bayrepel acid > 4-acetamidoantipyrine > clofibric acid > ibuprofen-COOH > salicylic acid. For these analytes the average concentration ranged from 6 ng/L for clofibric acid to 30 ng/L for ibuprofen-OH. The presence of Bayrepel acid, the main metabolite of the insect repellent Bayrepel®, in surface water samples without direct influence of sewage treatment plants has not been published yet. This indicates that the introduction of new consumer products can give rise to the occurrence of thus far unknown analytes in the aquatic environment, without any knowledge about their impact on the aquatic biota. It can be inferred from the distribution and concentration of the determined PPCPs and their metabolites that on one hand even samples from areas with low density of population were polluted with a number of analytes. On the other hand a correlation between population density and analyte concentrations was obvious, indicating the importance of sewage effluents. This conclusion was supported by the fact that the PPCPs playing an dominant role in the aquatic environment were present in the investigated sewage effluent in high amounts. The samples from Vietnam and the Czek Reublic contained a number of analytes with different distribution pattern, but in high concentrations, indicating the occurrence of pharmacological active compounds to be a global problem. For example, the medium concentration values in the samples from Vietnam were 217 ng/L for ibuprofen-OH and 770 ng/L for caffeine.

Among the investigated pesticides and pesticide metabolites the phenoxy-alkanecarboxylic acids, triazines and triazine metabolites were dominant according to the following frequency of occurrence: mecoprop > terbuthylazine > atrazine > MCPA > irgarol > dichloprop > desethylatrazine > desethylterbuthylazine > 2,4-dichlorophenol > dichlobenil. The average concentration ranged between 1 ng/L (terbuthylazin) and 6 ng/L (irgarol) significantly lower than those of the investigated PPCPs and PPCP metabolites. The distribution of the pestiticides also differed from

those of the PPCPs in a way that there was no direct correlation between population density in the areas of the sampling sites and analyte distribution and concentrations. Additionally, there was a strong variation of the concentration values of the analytes from sample to sample. These findings confirmed the assumption that pesticides enter the aquatic environment mainly locally by drainage from farming areas. Accordingly no significant pesticide concentrations were detected in the present sewage samples. A comparison of the triazines determined in the samples from Germany and the Czech Republic reflected how national law can effect the occurrence of environmental analytes. In contrast to the Czech Republic the application of atrazine was not allowed in Germany since 1991, leading to the preferential use of terbuthylazin instead. Consequently atrazine only with an average concentration of 12 ng/L was detected in all 4 samples that originate from the metropolitan area of Prag, while terbuthylazin only with an average concentration of 8 ng/L was detected for example in the 4 samples coming from Berlin-Brandenburg. These results indicate clearly a regional different use of these herbicidal compounds. In the Elbe at Hamburg an average concentration of 8 ng/L was determined for atrazine and 2 ng/L for terbuthylazin, suggesting a transport of atrazine from the Czech headwater of the Elbe.

The identification and detection of uncommonly chlorinated phenylethanoic and benzoic acid derivatives turned out to be a central part of this work, representing a new group of analytes in the aquatic environment. In 2004 in connection with the analysis of a number of environmental samples for acidic analytes, 2,4-dichlorophenylethanoic acid (3,4-dichlorophenylacetic acid) and 3,4,5-trichlorophenylethanoic acid (3,4,5-trichlorophenylacetic acid) were detected as main components of a surface water sample from Husum harbour. These compounds do not have any important technical use and the triple chlorinated derivative is even not commercially available at all. Two authors however mentioned both compounds beside a number of analogue substituted benzoic acids and other halogenated substances in conjunction with the analysis of activated sludge^[55,56]. In order to allow an unequivocal assignment of all peaks, all mono-, di- and trichlorinated benzoic acids and phenylacetic acids were either purchased or synthesised, some of which were included in the method validation. As a consequence, the occurrence of several chlorinated benzoic- and phenylacetic acids, especially those with a chlorination at position 3,4 and 3,5 as well as 3,4,5 in the present environmental samples showed to be widespread. Most commonly detected were 3,4-dichlorophenylacetic acid and 3,4,5-trichlorophenylacetic acid, followed by 2,4- or 3,4-dichlorobenzoic acid (both isomers were not separable under the selected chromatographic and mass spectrometric conditions). Additionally detected were in decreasing ranking: 3,5-dichlorophenylacetic acid = phenylacetic acid > 3,4,5-trichlorobenzoic acid > 3,5-dichlorobenzoic acid > 2-chlorobenzoic acid > 4-chlorophenylacetic acid. These analytes were detected in surface water samples in average concentrations from 3 ng/L to 8 ng/L, with maximum values up to 40 ng/L. The origin or generation of these analytes could not be explained completely within this work. But the correlation in the occurrence of these analytes with the PPCPs indicated an input via public sewage effluents. Indeed most of the chlorinated benzoic and phenylacetic acids found

in the environmental samples were detected in the sewage treatment plant samples in amounts sometimes higher than the methodological upper limit of quantification. Taking into account the analyte ratios in the investigated sewage treatment plant samples, it can be assumed that these analytes are generated through biological processes in sewage waters what could be classified as a “bio-anthropogenic” generation of highly chlorinated substances.

10 Experimenteller Teil

10.1 Ermittlung quantitativer Parameter bei der Bestimmung acidischer Analyten

Von besonderem Interesse war der Vergleich der heterogenen mit der homogenen Derivatisierung acidischer Analyten mit Alkylchloromethanoaten. Aus diesem Anlaß werden nachfolgend die Ergebnisse der Bestimmung quantitativer Parameter der Umsetzung mit MCF/Pyridin/MeOH und ECF/Pyridin/F₃EtOH zusammen präsentiert. Als Modellanalyten wurden 36 acide Verbindungen in einer Standardmischung vereinigt, in der Vertreter aller in Kapitel 2 beschriebenen Gruppen, d.h. halogenierte Benzoe- und Phenylethansäuren, Phenoxyalkylcarbonsäuren, weitere Carbonsäuren sowie Phenole in einer Konzentration von 500 ng/mL bis 5 µg/mL vertreten waren. Alle in den nachfolgenden Abschnitten aufgeführten Versuche wurden jeweils mit 100 µL dieser Mischung durchgeführt, so daß die Analyten in absoluten Mengen von 50 bis 500 ng vorlagen. In der nachfolgenden Tabelle 45 sind die Einzelkomponenten und ihre Konzentrationen in der Standardmischung S I aufgelistet. Bei der Bewertung der nachfolgend vorgestellten Ergebnisse ist zu berücksichtigen, daß mit der Standardmischung S I bewußt eine Zusammenstellung strukturell sehr unterschiedlicher Analyten erfolgte, anhand der auch die Grenzen der einzelnen methodischen Schritte aufgezeigt werden sollte.

N°	Analyt	Konzentration		Analyt	Konzentration
chlorierte Benzoessäuren			weitere Carbonsäuren		
1	2-CBA	2,5 µg/mL	18	PAA	5,0 µg/mL
2	4-CBA	2,5 µg/mL	19	PAA-D ₅	5,0 µg/mL
3	3,5-DCBA	2,5 µg/mL	20	Ibuprofen	2,5 µg/mL
4	2,4-DCBA	2,5 µg/mL	21	Salicylsäure	2,0 µg/mL
5	3,4-DCBA	2,5 µg/mL	22	3,4-DCPA-D ₂	1,0 µg/mL
6	3,4,5-TCBA	2,5 µg/mL	23	Ibu-OH	2,5 µg/mL
chlorierte Phenylethansäuren			24	Ibu-COOH	2,5 µg/mL
			25	Fenoprofen	2,5 µg/mL
7	2-CPAA	2,5 µg/mL	26	Naproxen	2,5 µg/mL
8	4-CPAA	2,5 µg/mL	27	Gentisinsäure	2,5 µg/mL
9	2,6-DCPAA	2,5 µg/mL	28	Ketoprofen	2,5 µg/mL
10	3,5-DCPAA	2,5 µg/mL	29	Diclofenac	2,5 µg/mL
11	3,4-DCPAA	2,5 µg/mL	30	Indometacin	2,5 µg/mL
12	2,3,6-TCPAA	2,5 µg/mL	Phenole		
13	3,4,5-TCPAA	2,5 µg/mL	31	4-CPOH	2,5 µg/mL
Phenoxyalkylcarbonsäuren			32	4-C-3-MePOH	2,5 µg/mL
14	MD3	500 ng/mL	33	2,4-DCPOH	2,5 µg/mL
15	Clofibrinsäure	2,5 µg/mL	34	2,4,5-TCPOH	2,5 µg/mL
16	Gemfibrozil	2,5 µg/mL	35	Pentachlorphenol	2,5 µg/mL
17	Bezafibrat	2,5 µg/mL	36	Paracetamol	2,5 µg/mL
			37	Triclosan	2,5 µg/mL

Tab. 45: Einzelkomponenten und ihre Konzentrationen in der Standardmischung S I

10.1.1 Bestimmung der Retentionszeiten, Quantifizierungen und relativen Signalfächen der Derivate aus S I nach Umsetzung mit ECF/Pyridin/F₃EtOH und MCF/Pyridin/MeOH/H₂O

Für die im Kapitel 7 beschriebenen quantitativen Untersuchungen war die Bestimmung der wichtigsten chromatographischen und massenspektrometrischen Eigenschaften der Produkte aus der homogenen und der heterogenen Derivatisierung unerlässlich. Die Retentionsreihenfolge auf der im Rahmen dieses Abschnittes verwendeten GC-Kapillarsäule VB1701 war innerhalb der in Tabelle 38 angegebenen Substanzgruppen bei beiden Methoden gleich, so daß die Aufzählungsreihenfolge innerhalb der Gruppen auch der jeweiligen Retentionsfolge entsprach, also beispielsweise Elution von 1 (2-CBA) vor 2 (4-CBA) in der ersten Gruppe. Die absoluten Retentionszeiten allerdings waren in der Weise unterschiedlich, daß alle erzeugten Trifluorethylester auf der verwendeten Trennsäule weniger zurückgehalten wurden als die homologen Methylester, während die ethoxycarbonylierten Derivate

später eluierten als die homologen methoxycarbonylierten Analyten. In Abbildung 117 sind die entsprechenden Retentionsverschiebungen bei der für diesen Abschnitt verwendeten gaschromatographischen Standardmethode angegeben:

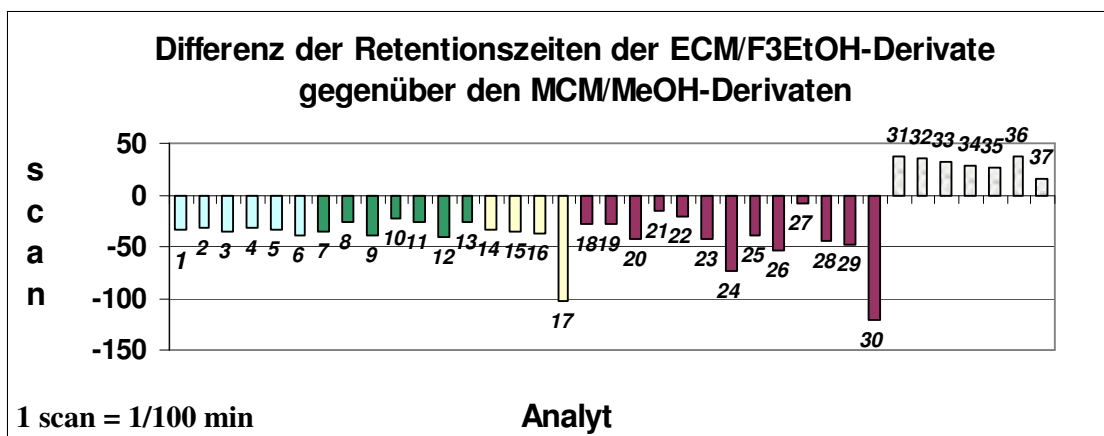


Abb. 117: Differenzen der Retentionszeiten der heterogen derivatisierten Analyten gegenüber den homogen derivatisierten Analyten aus Standardmischung SI bei Verwendung einer 15 m GC-Kapillarsäule des Typs VB1701 und folgendem Temperaturprogramm:
2 min 333 K, → 553 K: 25 K/min, 4 min 553 K

Unter den angegebenen Bedingungen eluierten nur Bezafibrat (17) und Indometacin (30) nicht innerhalb des GC-Temperaturgradienten, sondern im isothermen Zeitbereich, wodurch sich die unverhältnismäßig großen Differenzen der Retentionszeiten ihrer homologen Derivate erklären. Bei allen weiteren Carbonsäuren zeigten die Mono-(trifluorethyl)ester eine durchschnittliche Verminderung ihrer Retention um etwa 30 bis 50 Scanzahlen. Dementsprechend trat bei dem zweifach ethylierten Derivat des Carboxyibuprofens (24) ein mit 73 Scanzahlen etwa doppelt so großer Wert auf. Entgegengesetzt, also etwa 30 bis 50 Scanzahlen später als ihre homologen Methylcarbonate, eluierten die ethoxycarbonylierten Phenole. Erwartungsgemäß kompensierten sich beide Effekte in etwa bei den gemischtfunktionellen Verbindungen Salicylsäure (21) und Gentisinsäure (27).

Ebenso wie sich die Strukturunterschiede der verschiedenen derivatisierten Targetverbindungen auf die entsprechenden Retentionszeiten auswirken, können sie auch unterschiedliche massenspektrometrische Fragmentierungen hervorrufen. Da die quantitativen Bestimmungen der Derivate aber auf ausgesuchten Ionenspuren erfolgen sollten, mußte zunächst für jedes Derivat ein möglichst intensiv und reproduzierbar zu detektierendes Quantifizierungsign gefunden werden. So weit wie möglich wurde dabei auf die Auswertung von Molekülionenspuren verzichtet, weil damit bei Verwendung von Ionenfallendetektoren üblicherweise nur eingeschränkt lineare Detektionsbereiche realisiert werden können. Tabelle 46 gibt eine Übersicht der entsprechend durchgeführten Auswahl:

N°	Analyt	Quant.-Ion			Analyt	Quant.-Ion	
		ECF*	MCF*			ECF*	MCF*
chlorierte Benzoessäuren				weitere Carbonsäuren			
1	2-CBA	139	139	18	PAA	91	91
2	4-CBA	139	139	19	PAA-D ₅	96	96
3	3,5-DCBA	173	173	20	Ibuprofen	161	161
4	2,4-DCBA	173	173	21	Salicylsäure	120	135
5	3,4-DCBA	173	173	22	3,4-DCPA-D ₂	161	174
6	3,4,5-TCBA	209	209	23	Ibu-OH	119	118
				24	Ibu-COOH	245	205
chlorierte Phenylethansäuren				25	Fenoprofen	324	256
7	2-CPAA	125	125	26	Naproxen	312	244
8	4-CPAA	125	125	27	Gentisinsäure	236	284
9	2,6-DCPAA	159	183	28	Ketoprofen	209	209
10	3,5-DCPAA	159	159	29	Diclofenac	214	214
11	3,4-DCPAA	159	159	30	Indometacin	139	139
12	2,3,6-TCPAA	285	217	Phenole			
13	3,4,5-TCPAA	195	193	31	4-CPOH	128	142
Phenoxyalkylcarbonsäuren				32	4-C-3-MePOH	142	200
14	MD3	172	172	33	2,4-DCPOH	162	161
15	Clofibrinsäure	128	128	34	2,4,5-TCPOH	198	167
16	Gemfibrozil	211	143	35	PCPOH	266	265
17	Bezafibrat	120	220	36	Paracetamol	109	167
				37	Triclosan	290	302

Tab. 46: Auflistung der Quantifizierungsionen (Quant.-Ion) für die Bestimmung von Derivatsignalfächern nach Umsetzungen von Standardanalyten mit ECF/Pyridin/F₃EtOH (ECF*) oder MCF/Pyridin/MeOH/H₂O (MCF*)

Die überwiegende Zahl an carboxylischen Analyten wurde bei beiden Methoden auf den gleichen Ionenspuren ausgewertet. Hingegen wiesen die Massenspektren aller homologen Verbindungen mit phenolischen Funktionen so unterschiedliche Fragmentierungsmuster auf, daß hier in keinem Fall gleiche Quantifizierungsionen ausgewählt wurden. Die mutmaßliche Ursache dieses Effektes wurde bereits in Kapitel 3.2 besprochen. Als besonderes Beispiel werden hier noch die Massenspektren beider Pentachlorphenolderivate angeführt:

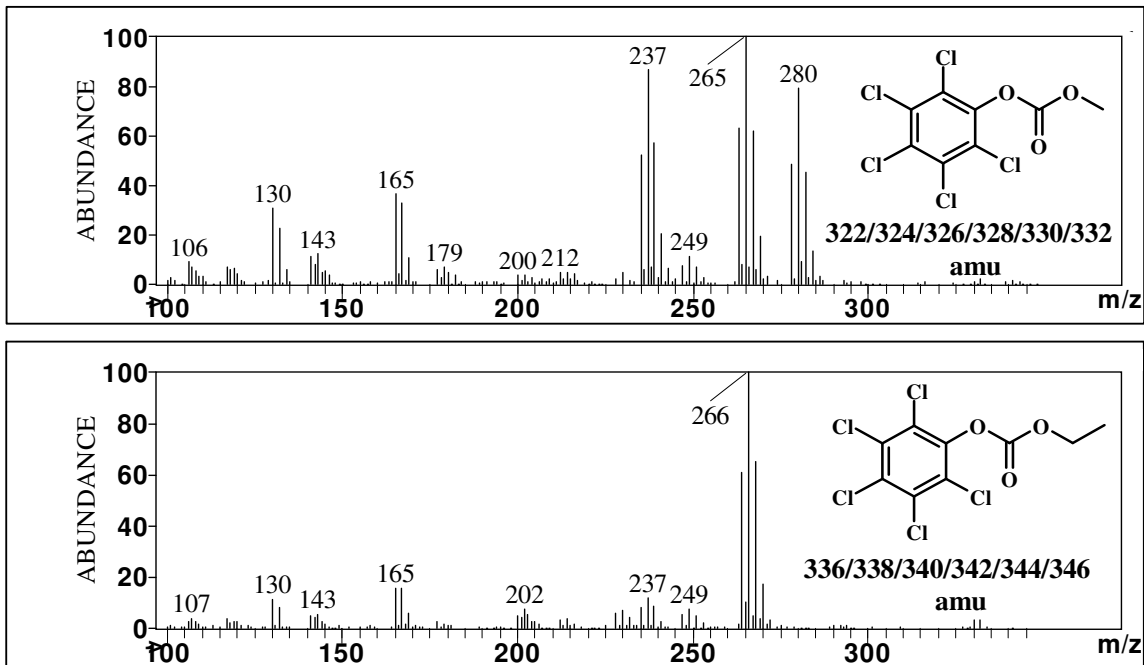


Abb. 118: Massenspektren von Pentachlorphenolmethyl- und ethyl-carbonat

Diese hochchlorierte Verbindung wurde ausgewählt, weil an den dargestellten Spektren einerseits deutlich wird, daß ein massenspektrometrischer Detektor aufgrund der natürlichen Isotopenverteilung des Chlors bei jedem Derivat 6 unterschiedliche Verbindungen im Verhältnis 32 : 50 : 32 : 11 : 2 : 0,1 anzeigt. Je höher also der Chlorgehalt eines Analyten ist, um so größer ist die Zahl der Isomere verschiedener Masse und um so unempfindlicher wird die Detektion der einzelnen massenhomologen Verbindungen. Aus diesem Effekt erklärt sich neben einem grundsätzlich unterschiedlichem Detektionsprinzip die geringe Empfindlichkeit massenspektrometrischer Systeme im EI-Modus gegenüber der Elektroneneinfangdetektion hochchlorierter oder -bromierter Analyten. An den in Abbildung 118 dargestellten Massenspektren zeigt sich neben dem Isotopeneffekt, daß sich die Gesamtzahl aller Fragmentationen bei dem Methoxycarbonylderivat über mehrere Massebereiche verteilt. Die für eine Quantifizierung in Frage kommenden Ionencluster um 237, 265 und 280 amu sind etwa mit gleichen Intensitäten vertreten. Bei dem Ethoxycarbonylderivat hingegen konzentrieren sich sämtliche detektierten Ionen auf den Massebereich um das intensivste Ion 266 herum. Werden im Massenspektrometer also von beiden Substanzen bei gleichen Substanzmengen die gleiche Zahl von Fragmentationen gebildet, ist zu erwarten, daß das Ethoxycarbonylderivat immer deutlich intensiver zu detektieren ist, als das entsprechende Methoxycarbonylderivat.

Um zu ermitteln, wie sehr sich die Signalflächen auf den jeweiligen Ionenspuren der homologen Derivatpaare unterscheiden, wurde die Differenz der Derivatsignalflächen aus je 3 Umsetzungen der Standardanalyten mit ECF/Pyridin/F₃EtOH und MCF/Pyridin/MeOH/H₂O bestimmt, wie es in Abbildung 119 gezeigt ist.

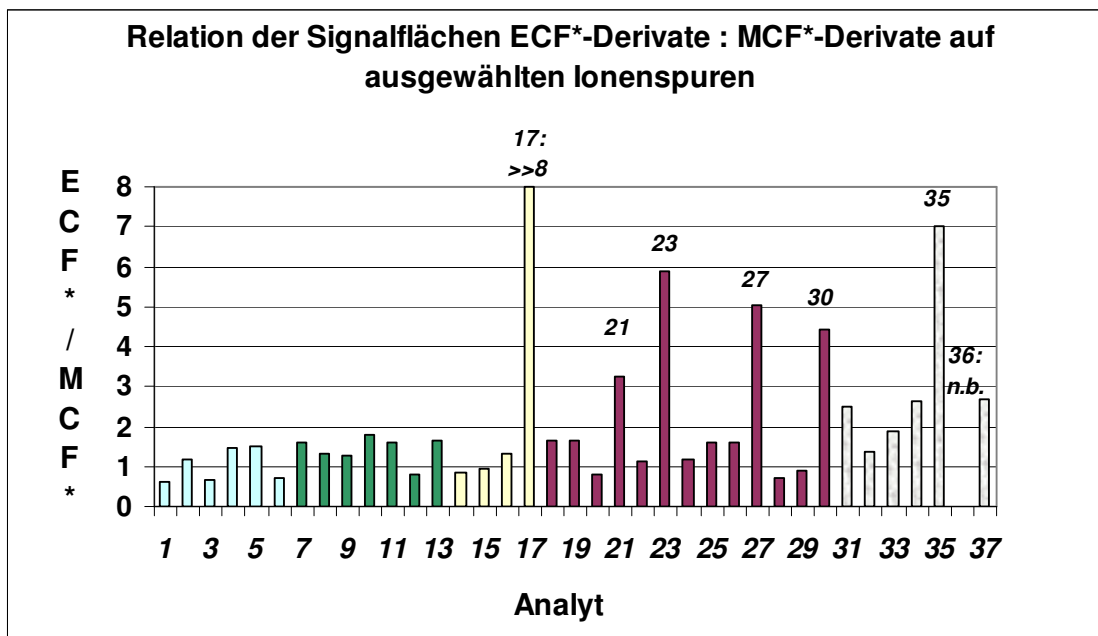


Abb. 119: Relation ionenspurspezifischer Signalflächen von heterogen und homogen erzeugten Derivaten

Aus diesem Vergleich wird deutlich, daß bis auf Paracetamol (36), dessen Derivate nicht oder nicht reproduzierbar detektiert werden konnten, die Signalfächenausbeuten bei den halogenierten Benzoe- und Phenylethansäuren sowie den Phenoxyalkylcarbonsäuren (zusammen 1 bis 17) bei beiden Methoden in etwa um den Wert 1 schwankten, also vergleichbar waren. Bei den weiteren Carbonsäuren und Phenolen (18 bis 37) wurden überdurchschnittlich häufig die Derivate aus der Umsetzung mit ECF intensiver detektiert. Dies war bei den Komponenten mit phenolischen Funktionen (21, 27, 31-37) aus den vorangehend genannten Gründen zu erwarten, konnte aber für die Analyten 23 und 30 nicht analog erklärt werden. Bei beiden Verbindungen, Ibuprofen-OH (23) und Indometacin (30) sind die Unterschiede in den Massenspektren ihrer homologen Derivatpaare nur gering, aber mit einer freien Hydroxygruppe (Ibu-OH) bzw. der amidischen Funktion (Indometacin) handelt es sich um relativ polare Substanzen, so daß der Verdacht nahelag, eine effektivere Extraktion der Trifluorethylester bei der Aufarbeitung der Reaktionsansätze könnte für deren bessere Detektion verantwortlich gewesen sein. Eine weitere Verstärkung der Detektion resultierte vor allem bei Indometacin aus einem verminderten Tailing des Trifluorethylesters. Diese Ergebnisse spiegeln also nicht nur unterschiedliche Fragmentierungsmuster wider, sondern stellen eine Summe mehrerer Faktoren dar, zu denen auch die gaschromatographische Performance der verschiedenen Derivate und die Anreicherung der Analyten während der extraktiven Aufarbeitung zählen.

10.1.2 Bestimmung der Reproduzierbarkeit bei der homogenen und heterogenen Umsetzungen mit Alkylchlormethanoaten

Die Standardmischung S I wurde bei der vergleichenden Bestimmung quantitativer Parameter unter vielfach variierten Rahmenbedingungen derivatisiert. Bis auf entsprechend gekennzeichnete Ausnahmen wurden alle Versuche mindestens dreifach wiederholt, so daß eine Vielzahl von Einzelmessungen resultierte. Dabei wurden von jedem Einzelversuch mindestens zwei GC/MS-Messungen durchgeführt und die Meßwerte (Signalflächen Derivat/Volumenstandard) gemittelt. Von den Mittelwerten einer Versuchsserie wurden dann die relativen Standardabweichungen bestimmt und als Maß für die Reproduzierbarkeit der Derivatisierungsmethode betrachtet. Durch diese ständige Kontrolle der Abweichungen innerhalb einer Meßserie konnten nach kurzer Zeit Analyten, die praktisch immer gut reproduzierbar bestimmt wurden, von solchen mit hohen Abweichungen unterschieden werden. Während die Carbonsäuren bis auf wenige Ausnahmen konstante Signalflächen bei der Umsetzung mit beiden Methoden lieferten, zeigten sich insbesondere bei den phenolischen Analyten häufig stark ausgeprägte Abweichungen der detektierten Signalflächen bei identisch oder ähnlich durchgeführten Versuchen.

Als Beispiel sind nachfolgend in der Abbildung 120 die relativen Standardabweichungen aller Analyten in einer Serie von 3 Umsetzungen der Mischung SI mit ECM/Pyridin/F₃EtOH angegeben, wobei innerhalb dieser Serie bei einer Versuchsdurchführung in Anlehnung an SOP 5 die Reaktionsansätze nach Zugabe von *n*-Hexan vor dem Ausschütteln der extraktiven Aufarbeitungen unterschiedlich lange ruhen durften oder sofort aufgearbeitet wurden.

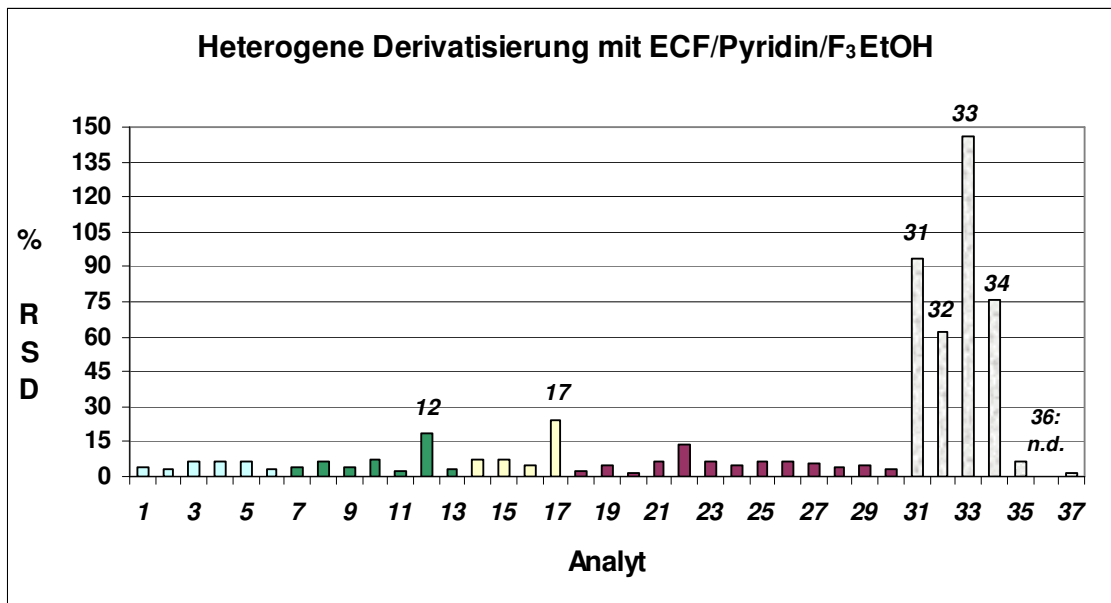


Abb. 120: Diagramm der relativen Standardabweichungen für n = 3 bei den Derivaten der Standardmischung S I nach Umsetzung mit ECF/Pyridin/F₃EtOH

Die graphische Darstellung zeigt, daß innerhalb dieser Meßserie auffällige Standardabweichungen (> 15 %) für die untersuchten Carbonsäuren nur bei den Derivaten von 2,3,6-Trichlorphenylethansäure (12) sowie Bezafibrat (17) auftraten. Paracetamol konnte nicht ausreichend detektiert werden. Bei den rein phenolischen Verbindungen hingegen waren die Abweichungen signifikant größer. Da aber die gemischtfunktionellen Analyten 29 und 30 (Salicylsäure und Gentisinsäure) ebenso wie die Phenole mit hohem Molekulargewicht, wie Pentachlorphenol (35) und Triclosan (37), keine Auffälligkeiten zeigten, wurde vermutet, daß die schlechte Reproduzierbarkeit bei den niederen Phenolen nicht durch variierende Umsetzungen bei der Derivatisierung verursacht worden war, sondern ihre Ursache in einem begleitenden Arbeitsschritt hatte. Die wahrscheinlichste Ursache für das auffällige Verhalten der einfachen Phenole wurde schließlich in dem Abblasen zur Trockene vor der Derivatisierung gesehen. Diese Vermutung begründete sich durch den Vergleich der Siedepunkte aller phenolischen Verbindungen (Tabelle 47):

	Analyt	Retentionsfolge	Siedepunkt	RSD
33	2,4-Dichlorphenol	3	483 K = 210 °C	146 %
31	4-Chlorphenol	1	493 K = 220 °C	93 %
32	4-Chlor-3-methylphenol	2	509 K = 235 °C	62 %
34	2,4,5-Trichlorphenol	4	520 K = 247 °C	75 %
35	Pentachlorphenol	6	583 K = 310 °C	6 %
29	2-Hydroxybenzoesäure	5	609 K = 336 °C	5 %
36	Triclosan	7	>600 K = 327 °C	2 %
37	2,5-Dihydroxybenzoesäure	8	>600 K = 327 °C	3 %

Tab. 47: Übersicht der Retentionsfolgen, Siedepunkte und in Abbildung 120 aufgeführten relativen Standardabweichungen der Analyten mit phenolischen Funktionen

Ganz offensichtlich bestand eine weitgehende Korrelation zwischen den ermittelten Standardabweichungen und den Siedepunkten der Edukte. Dieser Zusammenhang war zunächst nicht erkannt worden, weil die Retentionsfolge der Derivate gerade bei den niedermolekularen Analyten nicht proportional an die Siedepunkte der Mutterverbindungen gekoppelt war. Zudem weisen auch die niedermolekularen Carbonsäureanalyten Siedepunkte etwa zwischen 533 und 547 K auf, ohne daß es zu nennenswerten Schwankungen der Derivatausbeuten kam. Um die vorgestellte Vermutung zu überprüfen, daß die einfachen Phenole beim Einengen der Standardlösungen vor der Derivatisierung verloren gingen, wurden die Signalausbeuten der phenolischen Derivate aus Umsetzungen, vor denen die Standardlösung auf einer Wärmeplatte gerade eben im Stickstoffstrom zur Trockene abgeblasen wurde, mit solchen verglichen, bei denen kurz (10 Sekunden) bzw. länger (30 Sekunden) über den Trockenpunkt hinaus abgeblasen wurde (siehe Abb. 121).

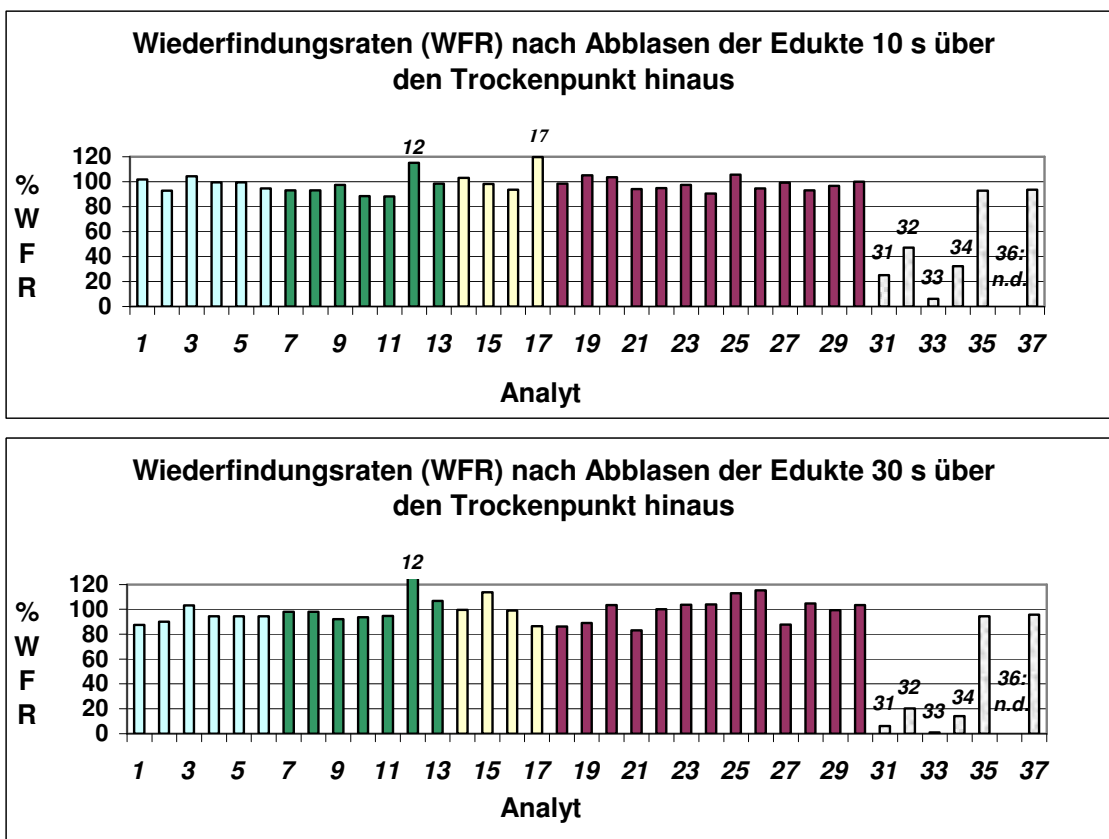


Abb. 121: Wiederfindungsraten der Analyten nach dem Abblasen der Edukte 10 s und 30 s über den Trockenpunkt hinaus

Die Ergebnisse aus diesen Versuchen zeigen, wie unerwartet stark die Dauer des Abblasens vor der Derivatisierung die Wiederfindungen der niedermolekularen Phenole beeinflusste, während die sauren Analyten praktisch konstante Ergebnisse lieferten. Nachdem dieser Zusammenhang ersichtlich war, wurden alle weiteren Versuche so gestaltet, daß die Analyt- und Probenlösungen vor einer Derivatisierung gerade eben bis zur Trockene eingengt wurden. Auf diese Weise konnten die relativen Standardabweichungen der Phenolderivatsignale sowohl in der homogenen als auch in der heterogenen Derivatisierung deutlich reduziert werden. Entsprechende Ergebnisse sind in den folgenden Abbildungen 122a und 122b präsentiert:

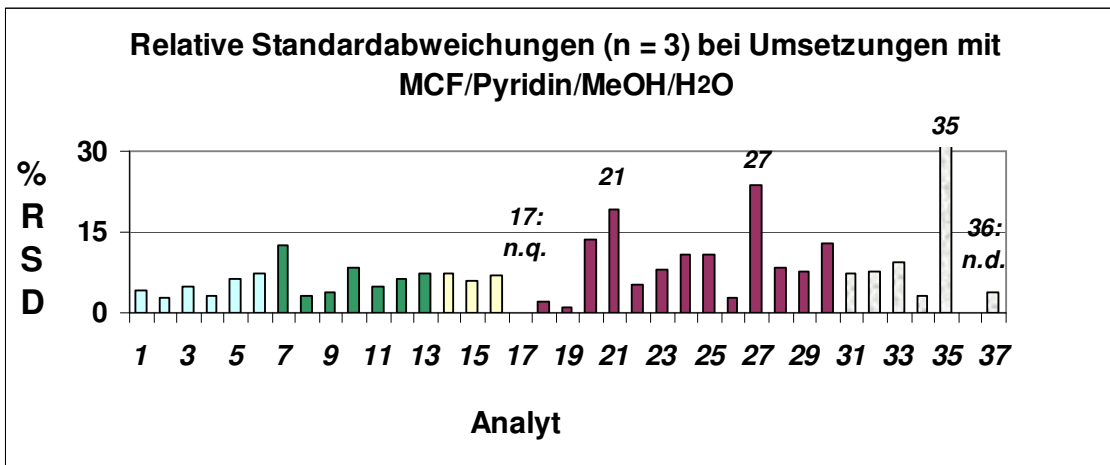


Abb. 122a: Relative Standardabweichungen (n = 3) der Derivatpeakflächen nach Umsetzung der Standardmischung S I mit MCF/Pyridin/MeOH/H₂O

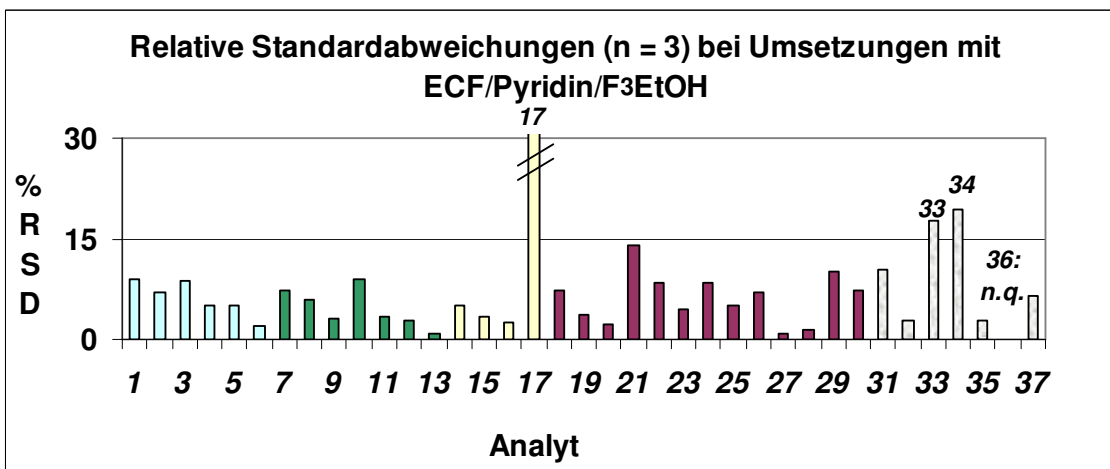


Abb. 122b: Relative Standardabweichungen (n = 3) der Derivatpeakflächen nach Umsetzung der Standardmischung S I mit ECF/Pyridin/F₃EtOH

Generell zeigten beide Derivatisierungen für den größten Teil der Analyten aus der Standardmischung I eine gute Reproduzierbarkeit. Ausnahmen sind solche Verbindungen, die wie Paracetamol (36) bei den eingesetzten Mengen gar nicht oder nur schwach detektiert werden konnten. Die Bezafibratderivate (17) beispielsweise hatten aufgrund ihrer hohen Retentionszeiten und schlechten Signalformen stark variierende Meßwerte, so daß die Verbindungen entweder nicht quantifiziert (n.q.) werden konnten oder eben hohe relative Standardabweichungen resultierten. Ein weitere Ausnahme in diesem Zusammenhang stellt Pentachlorphenol dar, das in der eingesetzten Konzentration nur schwach detektiert wurde. Das ethoxycarbonylierte Derivat hingegen wurde aufgrund einer intensiveren Detektion reproduzierbarer bestimmt. Auffällig an den Ergebnissen der Umsetzung mit MCF ist weiterhin, daß die entsprechenden Derivate der gemischtfunktionellen Benzoesäuren Salicylsäure (22) und Gentisinsäure (27) relativ hohe Standardabweichungen zeigten, während die homologen Verbindungen der Umsetzungen mit ECF mit besserer Reproduzier-

barkeit detektiert wurden. Diese Beobachtung deckte sich mit der Vermutung, daß die Methyl-derivate sehr polarer Analyten nicht vollständig mit *n*-Hexan extrahiert wurden.

10.1.3 Variation der extraktiven Reaktionsaufarbeitung

Um zu überprüfen, ob die Derivate polarerer Analyten besser detektiert werden können, wenn die Polarität des zur Extraktion verwendeten Lösungsmittels erhöht wird, wurden Ansätze, in denen die Analyten aus der Mischung S I sowohl homogen als auch heterogen umgesetzt worden waren, mit einer Mischung von Diethylether/*n*-Hexan 1 : 1 (v,v) extrahiert. Bei der Verwendung dieser Lösungsmittelmischung zeigte allerdings ein Pyridingeruch der organischen Phase nach der extraktiven Aufarbeitung, daß die überschüssige Base nicht vollständig abgetrennt werden konnte. Dieses Problem wurde behoben, indem die Ansätze vor dem Ausschütteln mit Wasser zunächst mit einer Kupfer(II)-sulfatlösung geschüttelt wurden. Das dadurch komplexierte Pyridin konnte bei der Aufarbeitung mit den wäßrigen Phasen abgetrennt werden. Für eine Bewertung der Versuche wurden die Signalausbeuten bei Extraktion mit Diethylether/*n*-Hexan 1:1 (v,v) denen der Extraktion mit reinem *n*-Hexan gegenübergestellt (siehe Abb. 123a und 123b).

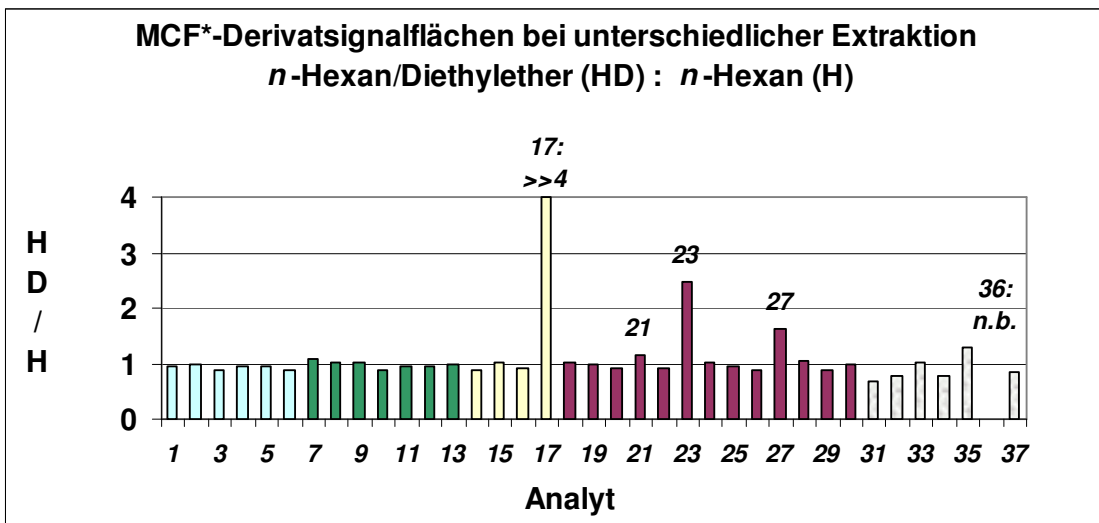


Abb. 123a: Relation der Derivatpeakflächen bei Aufarbeitung der MCF/Pyridin/MeOH/H₂O – Ansätze mit *n*-Hexan-Diethylether (1:1) oder *n*-Hexan

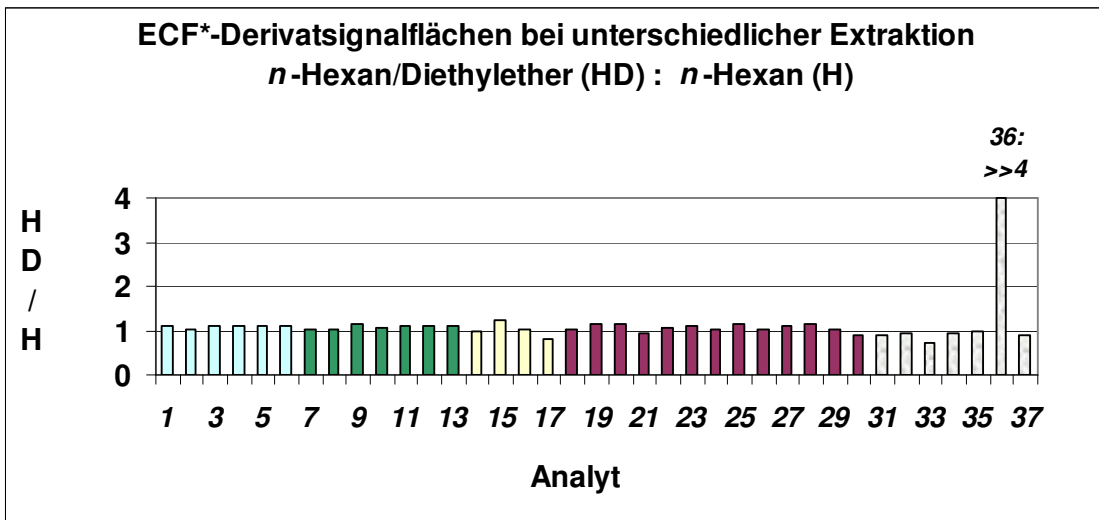


Abb. 123b: Relation der Derivatpeakflächen bei Aufarbeitung der ECF/Pyridin/F₃EtOH – Ansätze mit *n*-Hexan-Diethylether (1:1) oder *n*-Hexan

Die aus diesen Extraktionsversuchen ermittelten Daten ließen vermuten, daß die Methylester polarer Analyten wie Hydroxyibuprofen (23) oder Gentisinäure (27) tatsächlich besser durch eine polarere Extraktionsmischung angereichert wurden. Dies gilt ebenso für den Methylester von Bezafibrat (17), der ausschließlich bei der Verwendung von *n*-Hexan/Diethylether detektiert wurde und dessen Signalfächenverhältnis somit in Abbildung 123b nur semiquantitativ dargestellt werden konnte. Das methoxycarbonylierte Paracetamol (36) wurde in keinem der beiden Fälle gefunden. Bei den Trifluorethyl- bzw. Ethoxycarbonylderivaten hingegen zeigte sich ein sehr einheitliches Bild. Praktisch alle Derivate wurden bei beiden Formen der Aufarbeitung in gleichem Maße angereichert und nachgewiesen. Die einzige Ausnahme stellte das Paracetamolderivat dar, das sich nur bei Verwendung des polareren Lösungsmittelgemisches nachweisen ließ. Zusammengefaßt zeigen diese Ergebnisse, daß die Derivate polarerer Analyten aus Umsetzungen mit MCF bei Aufarbeitung mit *n*-Hexan nur unvollständig angereichert werden, so daß hier ein polareres Lösungsmittelgemisch zu besseren Resultaten führt. Bei den Umsetzungen mit ECF hingegen spielte die Polarität des Lösungsmittels bei der Anreicherung der entsprechenden Derivate bis auf eine Ausnahme keine Rolle. Als Ursache können dabei sowohl die verminderte Polarität der entsprechenden Derivate als auch ein lösungsvermittelnder Effekt des Trifluorethanol in Betracht gezogen werden.

10.2 Methodenvalidierung

Nachfolgend werden zunächst die Validierungsparameter für die Gesamtmethode sowie einer vorläufigen Versuchsmethode tabellarisch zusammengefaßt. Für die Validierung der in dem vorangegangenen Kapitel vorgestellten Gesamtmethode wurden für 8 unterschiedliche Konzentrationsstufen von Targetanalyten im Bereich von 180 pg/L bis 1,8 µg/L Dotierungsversuche durchgeführt, in denen jeweils in dreifacher Wiederholung 2,8-L-Leitungswasserproben mit 66 Targetanalyten und 4 Surrogatverbindungen dotiert und entsprechend dem in Abbildung 99 vorgestellten Schema aufgearbeitet wurden. Zur Bestimmung der sauren Analyten wurde die heterogene Derivatisierung mittels ECF/Pyridin/Trifluorethanol eingesetzt. Die Auswertung der resultierenden Messungen erfolgte analog zu dem in Abschnitt 5.1 begründeten Verfahren in einer Weise, daß ionenspezifische Derivatsignalfächen normiert, d.h. in Bezug zu der jeweiligen Signalfäche des Volumenstandards AD10 gesetzt, und diese Werte in Abhängigkeit von der Konzentration aufgetragen wurden. Grundsätzlich gilt, daß nur Signale mit einem s/n-Wert > 3 qualitativ gewertet wurden und für eine quantitative Auswertung ein s/n-Wert > 9 vorliegen mußte. Für jeden Analyten wurden lineare Regressionen über jeweils 4 dieser Meßpunkte oberhalb der Bestimmungsgrenze durchgeführt und daraus der für quantitative Auswertungen maßgebliche lineare Konzentrationsbereich ermittelt. Als ausreichend linear wurde dabei der Bereich angesehen, in dem alle Regressionskoeffizienten Werte $\geq 0,997$ hatten. Zusätzlich wurde die Abweichung der Meßpunkte von der Trendlinie visuell kontrolliert und im höchsten Konzentrationsbereich durch den Abgleich zweier Trendlinien bewertet. Dieses Vorgehen soll nachfolgend am Beispiel der Salicylsäure erläutert werden, wobei hier bewußt ein schwieriger Analyt ausgewählt wurde. In diesem Zusammenhang sind in der nachfolgenden Tabelle 48 die für Salicylsäure bei den verschiedenen Konzentrationen ermittelten Derivatsignalfächenquotienten bezüglich ausgewählter Ionen (120 amu für Salicylsäure, 188 amu für Anthracen-D₁₀) und die zugehörigen relativen Standardabweichungen angegeben. Weiterhin aufgeführt sind die Koeffizienten linearer Regressionen, wobei letztere über jeweils 4 Meßpunkte umfassende Konzentrationsbereiche berechnet wurden. Zusätzlich dargestellt ist für jede Konzentrationsstufe die Wiederfindungsrate gegenüber der reinen Referenzverbindung in der gleichen Konzentration und der zugehörige Mittelwert sowie die relative Standardabweichung innerhalb des linearen Bereiches:

Wesentliche Validierungsparameter der Gesamtmethode für Salicylsäure								
	Dotierungskonzentration (ng/L)							
	0,18	0,46	0,92	3,7	9,2	37	183	1830
S_D/S_A	< LOQ	0,022	0,041	0,065	0,076	0,18	0,59	6,90
$RSD_{SD/SA}$	-	24 %	5 %	12 %	22 %	11 %	2 %	10 %
R^2 I	-	0,846				-	-	-
R^2 II	-	-	0,991				-	-
R^2 III	-	-	-	1,000				-
R^2 IV*	-	-	-	-	1,000			
Δ IV, III	-	-	-	-	-17 %			
	nichtlinearer Bereich			linearer Bereich				
Wf	-	71 %	53 %	21 %	11 %	6 %	5 %	5 %
\emptyset Wf	-	-	-	10 %				
RSD_{Wf}	-	-	-	72 %				
S_D/S_A : Signalfäche Salicylsäurederivat auf Ionenspur 120 / Signalfäche AD10 auf Ionenspur 188 (S_D/S_{AD10}) $RSD_{SD/SA}$: relative Standardabweichung der S_D/S_A – Werte (n = 3) R^2 I-IV: lineare Korrelationskoeffizienten (auf 3 Nachkommastellen gerundet) Δ IV, III: Abweichung der Trendlinie IV von der Trendlinie III bei 1830 ng/L WfR: Wiederfindungsraten gegenüber dem derivatisierten Standard \emptyset WfR: Mittelwert der Wiederfindungsraten im linearen Bereich RSD_{Wf} : relative Standardabweichung der Wiederfindungsraten im linearen Bereich								

Tab. 48: Normierte Signalfächen, Koeffizienten linearer Regressionen, Wiederfindungsraten, und Standardabweichungen für Salicylsäure im Rahmen der Gesamtmethode

In Tabelle 48 sind zuoberst die ermittelten Signalfächenverhältnisse aufgeführt. Die zugehörigen relativen Standardabweichungen sind in 5 von 7 Fällen zufriedenstellend, liegen allerdings bei zwei Konzentrationspunkten mit > 20 % in einem Bereich, der eine besondere Kommentierung bei einer abschließenden Bewertung erforderlich macht. Die R^2 -Werte weisen entsprechend der vorstehend genannten Randbedingung ($R^2 \geq 0,997$) eine zufriedenstellende Linearität ab einer Konzentration von 3,7 ng/L aufwärts aus, wobei die entsprechenden graphischen Auswertungen in der nachfolgenden Abbildung 124 aufgeführt sind.

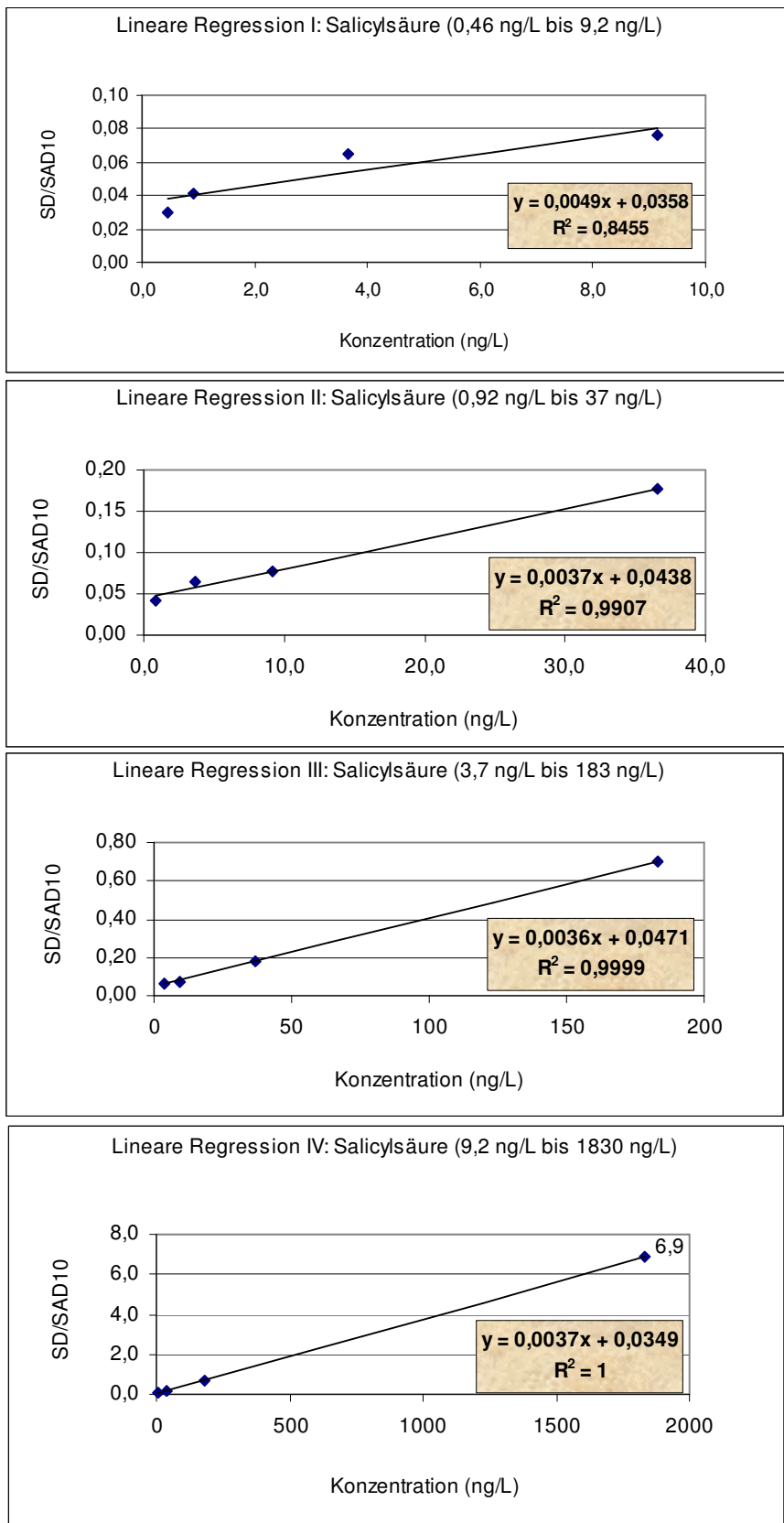


Abb. 124: Darstellung der für Salicylsäure im Rahmen der Gesamtmethode ermittelten Trendlinien, Geradengleichungen und Regressionskoeffizienten

In den obenstehenden Darstellungen sind die Signalflächenverhältnisse Salicylsäurederivat/Anthracen-D10 gegen die Dotierungskonzentration des Analyten aufgetragen. Demzufolge ist eine lineare Verknüpfung der Meßpunkte nur gegeben, wenn bei allen in die jeweilige Darstellung einbezogenen Probenaufarbeitungen der Analyt seiner Konzentration proportional angereichert und derivatisiert wurde. Schwankungen der Konzentration in den zur Messung gegebenen Lösungen oder in der gerätebedingten Meßempfindlichkeit haben aufgrund der Bildung der Quotienten aus Derivatignal und Signal des internen Standards keinen Einfluß. Der Verlauf der jeweiligen Trendlinien zeigt im Vergleich mit den ermittelten Regressionskoeffizienten naturgemäß eine grundsätzliche Übereinstimmung, erlauben aber aufgrund der graphischen Darstellung eine differenziertere Betrachtung. Während beispielsweise der reine Zahlenwert $R^2 = 0,991$ bei der Regression II eine unzureichende Linearität ausweist, zeigt die graphische Auswertung aber, daß unter Berücksichtigung einer höheren Fehlerbreite die quantitative Auswertung immer noch möglich wäre. Ein grundsätzliches Problem, das aus der Auswahl der Konzentrationen resultiert, wird durch die Regression IV besonders deutlich, bei der der Abstand der beiden höchsten Konzentrationen im Vergleich zu der nächstniedrigeren so groß ist, daß der Wert des Korrelationskoeffizienten fast ausschließlich durch die beiden größten Meßpunkte bestimmt wird und somit immer dem Maximalwert von 1 sehr nahekommt. Damit ist die Aussagekraft der Regressionskoeffizienten des Konzentrationsbereiches bis 1830 ng/L für alle Analyten eingeschränkt. Um dennoch eine verlässlichere Abschätzung hinsichtlich der Linearität der Methode bis zu dieser Dotierungskonzentration geben zu können, wurde die Trendlinie der Regressionen III rechnerisch bis zu dem Abszissenwert von 1830 ng/L verlängert und der an dieser Stelle errechnete Ordinatenwert mit dem aus der Regression IV verglichen, wie es in der nachfolgenden Abbildung 125 veranschaulicht ist. Obwohl bei dieser Methode bereits geringe Differenzen beider Regressionen zu sehr starken Abweichungen am Ende des Meßbereiches führen müssen, wichen die Ergebnisse im vorliegenden Fall nur um etwa 4 % voneinander ab, so daß für Salicylsäure die Linearität der Gesamtmethode auch in dem Bereich von 183 bis 1830 ng/L abgesichert wurde.

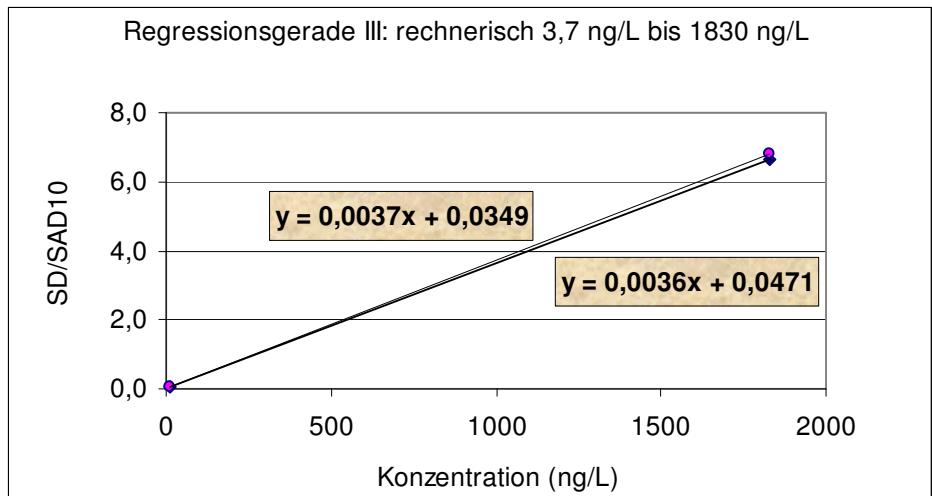


Abb. 125: Vergleich der linearen Regressionen III und IV für Salicylsäure

Zusätzlich zu den Linearitätsparametern wurden, wie in Tabelle 48 aufgeführt, auch die Wiederfindungsraten bei den entsprechenden Konzentrationen ermittelt. Wie zu Teilen bereits aus den Vorversuchen bekannt, konnte Salicylsäure teilweise nur in geringem Umfang und zudem, wie sich in den Dotierungsversuchen zeigte, in sehr unterschiedlichem Maße wiedergefunden werden. Daraus resultierte eine extrem hohe Standardabweichung der in Tabelle 48 aufgeführten Wiederfindungsraten, selbst wenn nur die Werte des linearen Bereiches berücksichtigt wurden. Tatsächlich lag aber keine zufällige Streuung der Meßwerte vor, sondern eine systematische Abweichung, die aus der unterschiedlichen Entwicklung der Regressionsgeraden bei den Messungen der Standardsubstanz (A) und der dotierten Wiederfindungsproben (B) resultierte, wie es in Abbildung 126 verdeutlicht ist.

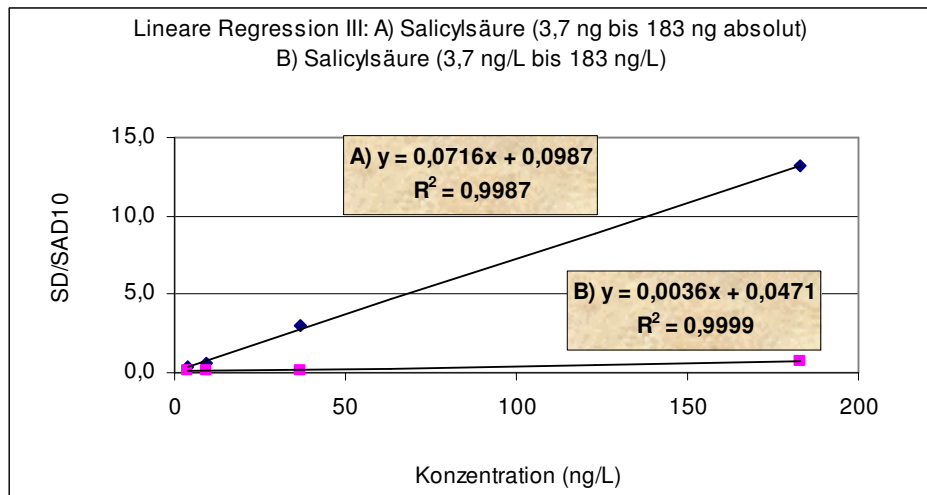


Abb. 126: Graphische Darstellung der Entwicklung normierter Signalfächen bei der Messung von Wiederfindungsproben und Standardsubstanzenmengen am Beispiel von Salicylsäure

Dieses Beispiel demonstriert sehr eindeutig, daß Wiederfindungsraten eine begrenzte Aussagekraft hinsichtlich einer Bewertung oder Validierung quantitativer Methoden haben können. Ohne Linearitätsbestimmung würden die im Fall der Salicylsäure ermittelten Wiederfindungsraten dazu geführt haben, daß die Methode für diesen Analyten als ungeeignet eingeschätzt worden wäre. Die ausreichende Linearität und Reproduzierbarkeit der Messungen im Bereich von 3,7 bis 1830 ng/L lassen aber entsprechende quantitative Bestimmungen zu, wenn eine relative Standardabweichung von bis zu 22 % akzeptiert wird.

Analoge Betrachtungen wurden für alle weiteren Analyten durchgeführt und die dabei ermittelten wichtigsten Validierungsparameter in den nachfolgenden Tabellen 49-56 zusammengefaßt:

Validierungsparameter der Gesamtmethode							
Teil I: carboxylische Analyten in Methanoleluaten nach Derivatisierung							
LOD: Nachweisgrenze (s/n ≥ 3)				graue Felder: Werte nicht bestimmt			
lin. Bereich: Bereich mit linearen Regressionskoeffizienten ≥ 0,997							
Ø RSD: durchschnittliche relative Standardabweichung im linearen Bereich							
RSD _{max} : maximale relative Standardabweichung im linearen Bereich							
Δ R _{IV, III} : Abweichung der Trendlinie IV von der Trendlinie III bei 1830 ng/L							
Ø WF: durchschnittliche Wiederfindungsraten im linearen Bereich							
Analyt (Ionenspur)	LOD (ng/L)	lin. Bereich (ng/L)		Ø RSD (%)	RSD _{max} (%)	Δ R _{III/IV} (%)	Ø WFR (%)
		von	bis				
2-CBA (139)	0,9	4	1830	10	15	-19	44
4-CBA (139)	183	kein linearer Bereich bestimmbar					
3,5-DCBA (173)	0,5	0,9	183	7	17		79
2,4-/3,4-DCBA (173)	0,5	0,9	183	13	20		39
3,4,5-TCBA (209)	0,9	4	1830	12	15	18	82
2-CPAA (125)	0,9	4	1830	9	12	-20	15
4-CPAA (125)	0,5	0,9	1830	10	15	-17	47
2,6-DCPAA (159)	0,5	0,9	1830	9	11	-8	42
3,5-DCPAA (159)	0,2	0,5	1830	9	11	5	83
3,4-DCPAA (159)	0,2	0,5	1830	8	13	4	81
2,3,6-TCPAA (285)	0,5	0,9	1830	9	13	6	76
Clofibrinsäure	0,5	0,9	1830	8	15	-9	103
Mecoprop	0,5	0,9	1830	13	17	11	89
MCPA	0,5	0,9	1830	10	17	7	88
Dichloprop	0,2	0,5	1830	10	15	-17	91
Gemfibrozil	4	kein linearer Bereich bestimmbar					
2,4,5-T	0,9	4	183	6	12		90
Bezafibrat	37	kein linearer Bereich bestimmbar					
PAA (91)	≤ 9	9	183	7	11		44
Ibuprofen (245)	0,2	0,5	1830	12	18	-1	80
Salicylsäure (120)	0,9	4	1830	12	22	-5	10
Ibu-OH (119)	0,5	0,9	1830	9	16	15	71
Bayrepel-acid (128)	0,5	0,9	1830	8	15	11	87
Ibu-COOH (245)	≤ 4	4	1830	12	16	-9	22
Fenoprofen (324)	0,5	0,5	1830	12	18	18	82
Naproxen (312)	0,9	4	1830	7	12	19	87
Gentisinsäure (236)	≥ 1830	kein linearer Bereich bestimmbar					
Ketoprofen (209)	≤ 4	4	1830	9	15	19	77
Diclofenac (214)	≤ 4	4	1830	10	17	4	89
Indometacin (139)	4	kein linearer Bereich bestimmbar					
iStd: PAA-D ₅ (96)				7	11		31
iStd: MD3 (172)				11	13		76
iStd: 3,4-DCPPA-D ₂ (174)				8	9		79

Tab. 49: Validierungsparameter carboxylischer Analyten aus Methanoleluaten nach I/I-Extraktion und heterogener Derivatisierung mittels ECF/F₃EtOH

Die in Tabelle 50 zusammengefaßten Ergebnisse weisen für die überwiegende Zahl der untersuchten Analyten eine zufriedenstellende Linearität über die Gesamtmethode aus. Nur Bezafibrat, Gemfibrozil und Indometacin, die bereits in den Vorversuchen als problematisch eingestuft worden waren, ließen sich nicht ausreichend linear bestimmen. Gentisinsäure war bei den eingesetzten Konzentrationen nicht nachweisbar. Trotz der aufwendigen Aufarbeitung wurden im Mittel ausreichend niedrige relative Standardabweichungen festgestellt, so daß sogar Analyten mit sehr geringer Wiederfindung wie etwa Carboxy-ibuprofen oder Salicylsäure verläßlich quantifiziert werden konnten. Alle bei den Validierungsexperimenten eingesetzten sauren Surrogatstandardverbindungen waren ausreichend reproduzierbar zu bestimmen, womit ihre Eignung grundsätzlich festgestellt war. Alle drei Verbindungen lassen sich also als verläßliche Kontrollsubstanzen einsetzen, die Unregelmäßigkeiten während der gesamten Probenaufarbeitung nachweisen können. Auf eine Normierung der Derivatsignalfächen bezüglich der Surrogate wurde verzichtet, weil die mit der Normierung auf den Volumenstandard AD10 erzielten Ergebnisse für eine Quantifizierung vollkommen ausreichen.

Validierungsparameter der Gesamtmethode							
Teil II: phenolische Analyten in Methanoleluaten nach Derivatisierung							
LOD: Nachweisgrenze ($s/n \geq 3$)							
lin. Bereich: Bereich mit linearen Regressionskoeffizienten $\geq 0,997$							
\emptyset RSD: durchschnittliche relative Standardabweichung im linearen Bereich							
RSD _{max} : maximale relative Standardabweichung im linearen Bereich							
$\Delta R_{IV, III}$: Abweichung der Trendlinie IV von der Trendlinie III bei 1830 ng/L							
\emptyset WFR: durchschnittliche Wiederfindungsraten im linearen Bereich							
graue Felder: Werte nicht bestimmt							
Analyt (Ionenspur)	LOD (ng/L)	linearer Bereich (ng/L)		\emptyset RSD (%)	RSD _{max} (%)	$\Delta R_{III/IV}$ (%)	\emptyset WFR (%)
		von	bis				
4-CPOH (128)	0,5	0,9	1830	9	18	-6	60
3-BPOH (174)	≤ 4	4	183	18	32		14
4-C-3-MePOH (142)	0,9	4	183	12	14		68
2,4-DCPOH (162)	0,9	4	183	14	30		67
2,4,5-TCPOH (198)	≤ 4	4	1830	9	15	-20	85
2,4-DBPOH (252)	0,5	0,9	183	10	23		77
2,4,6-TBPOH (322)	≤ 4	4	1833	10	24	-26	82
PCPOH (266)	0,9	4	1830	7	11	1	86
Paracetamol (109)	> 1830	kein linearer Bereich bestimmbar					
Triclosan (290)	37	kein linearer Bereich bestimmbar					

Tab. 50: Validierungsparameter phenolischer Analyten aus Methanoleluaten nach I/I-Extraktion und heterogener Derivatisierung mittels ECF/F₃EtOH

Im Vergleich zu den carboxylischen Analyten zeigten die untersuchten Phenole deutlich stärker divergierende Resultate, wie es sich in den Vorversuchen bereits abgezeichnet hatte. Dies war einerseits auf die höhere Flüchtigkeit insbesondere der niedermolekularen Vertreter zurückzuführen und andererseits auf die partielle Elution einiger Analyten mit Chloroform. Beide Effekte führten zu entsprechend hohen relativen Standardabweichungen und kleineren linearen Bestimmungsbereichen. Trotzdem war die überwiegende Zahl phenolischer Analyten aus den methanolischen Eluaten im umweltanalytisch relevanten Konzentrationsbereich quantifizierbar.

Validierungsparameter der Gesamtmethode							
Teil III: phenolische Analyten in Chloroformeluaten nach Derivatisierung							
LOD: Nachweisgrenze ($s/n \geq 3$)							
lin. Bereich: Bereich mit linearen Regressionskoeffizienten $\geq 0,997$							
\emptyset RSD: durchschnittliche relative Standardabweichung im linearen Bereich							
RSD _{max} : maximale relative Standardabweichung im linearen Bereich							
$\Delta R_{IV, III}$: Abweichung der Trendlinie IV von der Trendlinie III bei 1830 ng/L							
\emptyset WFR: durchschnittliche Wiederfindungsraten im linearen Bereich							
graue Felder: Werte nicht bestimmt							
Analyt (Ionenspur)	LOD (ng/L)	linearer Bereich (ng/L)		\emptyset RSD (%)	RSD _{max} (%)	$\Delta R_{III/IV}$ (%)	\emptyset WFR (%)
		von	bis				
4-CPOH (128)	0,5	0,9	1830	21	33	-6	14
3-BPOH (174)	0,2	4	1830	10	19	-10	34
4-C-3-MePOH (142)	0,5	0,9	1830	11	17	9	21
2,4-DCPOH (162)	0,5	kein linearer Bereich bestimmbar					
2,4,5-TCPOH (198)	4	kein linearer Bereich bestimmbar					
2,4-DBPOH (252)	0,9	4	183	28	37		10
2,4,6-TBPOH (322)	4	kein linearer Bereich bestimmbar					
PCPOH (266)	> 1830	kein linearer Bereich bestimmbar					
Paracetamol (109)	> 1830	kein linearer Bereich bestimmbar					
Triclosan (290)	4	kein linearer Bereich bestimmbar					

Tab. 51: Validierungsparameter phenolischer Analyten aus Chloroformeluaten nach I/I-Extraktion und heterogener Derivatisierung mittels ECF/F₃EtOH

Den Vorversuchen entsprechend waren die phenolischen Analyten durch eine basisch/saure I/I-Extraktion der Chloroformeluate kaum ausreichend reproduzierbar zu bestimmen. Demzufolge weisen die meisten der in Tabelle 51 aufgeführten Analyten unzureichende Kalibriergrößen auf. Die komplette Auswertung für alle eingesetzten phenolischen Verbindungen wurde dennoch unternommen, um die so gewonnenen normierten Signalflächen der Derivate aus den Chloroformeluaten mit denen aus den Methanoleluaten aufzusummieren.

Validierungsparameter der Gesamtmethode							
Teil IV: Summe der phenolischen Analyten in Chloroform- und Methanoleluaten nach Derivatisierung							
LOD: Nachweisgrenze ($s/n \geq 3$)							
lin. Bereich: Bereich mit linearen Regressionskoeffizienten $\geq 0,997$							
\emptyset RSD: durchschnittliche relative Standardabweichung im linearen Bereich							
RSD _{max} : maximale relative Standardabweichung im linearen Bereich							
$\Delta R_{IV, III}$: Abweichung der Trendlinie IV von der Trendlinie III bei 1830 ng/L							
\emptyset WFR: durchschnittliche Wiederfindungsraten im linearen Bereich							
graue Felder: Werte nicht bestimmt							
Analyt (Ionenspur)	LOD (ng/L)	linearer Bereich (ng/L)		\emptyset RSD (%)	RSD _{max} (%)	$\Delta R_{III/IV}$ (%)	\emptyset WFR (%)
		von	bis				
4-CPOH (128)	0,5	0,9	1830			< 1	74
3-BPOH (174)	0,9	4	1830			-17	62
4-C-3-MePOH (142)	0,5	4	183				85
2,4-DCPOH (162)	0,5	0,9	183				79
2,4,5-TCPOH (198)	0,5	0,9	1830			-4	78
2,4-DBPOH (252)	$\leq 0,5$	0,5	1830			-16	83
2,4,6-TBPOH (322)	≤ 4	4	1830			-4	84
PCPOH (266)	0,9	4	1830			21	88
Paracetamol (109)	> 1830	kein linearer Bereich bestimmbar					
Triclosan (290)	4	kein linearer Bereich bestimmbar					

Tab. 52: Validierungsparameter der Summe phenolischer Analyten aus den Chloroform- und Methanoleluaten, jeweils nach I/I-Extraktion und heterogener Derivatisierung mittels ECF/F₃EtOH

Die in Tabelle 52 aufgeführte Auswertung der summierten Phenolderivat-signalflächen führte tatsächlich bei einigen Analyten zu einer verbesserten Quantifizierbarkeit. Die Ursache hierfür war mit hoher Wahrscheinlichkeit die Nivellierung von Unregelmäßigkeiten in dem Elutionsverhalten der Analyten. Paracetamol, die unter den untersuchten phenolischen Verbindungen am stärksten polare Substanz, konnte aufgrund der Verluste bei der Festphasenextraktion und den nachfolgenden I/I-Extraktionsschritten nicht detektiert werden, während Triclosan am anderen Ende der Polaritätsskala zwar detektiert, aber nicht ausreichend linear bestimmt werden konnte. Bei dieser Verbindung war anzunehmen, daß sie eben aufgrund ihrer geringen Polarität anteilig durch Chloroform von der verwendeten Festphase gelöst und dann bei der nachfolgenden basisch/sauren I/I-Extraktion partiell mit den basischen Analyten abgetrennt wurde.

Validierungsparameter der Gesamtmethode							
Teil V: Neutrale und basische Analyten in Chloroformeluaten							
LOD: Nachweisgrenze ($s/n \geq 3$)							
lin. Bereich: Bereich mit linearen Regressionskoeffizienten $\geq 0,997$							
\emptyset RSD: durchschnittliche relative Standardabweichung im linearen Bereich							
RSD _{max} : maximale relative Standardabweichung im linearen Bereich							
$\Delta R_{IV, III}$: Abweichung der Trendlinie IV von der Trendlinie III bei 1830 ng/L							
\emptyset WFR: durchschnittliche Wiederfindungsraten im linearen Bereich							
graue Felder: Werte nicht bestimmt							
*: Carbamazepin ausgewertet bezüglich seines Thermolyseproduktes 5 H-Dibenz[b,f]azepin							
Analyt (Ionenspur)	LOD (ng/L)	lin. Bereich (ng/L)		\emptyset RSD (%)	RSD _{max} (%)	$\Delta R_{III/IV}$ (%)	\emptyset WFR (%)
		von	bis				
4-Chloranilin (127)	0,5	4	183	11	18		64
2-Bromanilin (171)	0,5	4	1830	9	15	18	59
2,4-Dichloranilin (161)	0,5	4	183	8	11		62
2,4,5-Trichloranilin (195)	0,5	0,9	183	12	21		47
2,4-Dibromanilin (251)	0,5	0,9	1830	9	16	13	87
2,4,6-Tribromanilin (329)	0,9	4	183	7	12		75
Dichlobenil (171)	0,5	0,9	183	13	21		47
DEET (119)	0,2	0,5	183	9	23		101
Bayrepel (128)	$\leq 0,9$	0,9	1830	9	17	-18	102
4-Bromindol (195)	0,5	0,9	183	8	11		82
Atrazin (200)	0,2	0,9	1830	8	18	-18	101
Terbuthylazin (214)	0,2	0,5	1830	11	23	-4	91
Coffein (194)	$\leq 0,9$	0,9	1830	13	17	-10	97
Propyphenazon (215)	0,5	0,9	1830	9	16	-10	102
Carbamazepin (193)*	≤ 4	4	1830	11	14	1	79
Irgarol (182)	0,9	4	183	9	17		82
2,4-Dibromanisol (266)	0,9	4	183	9	14		13
2,3,4-Trichloranisol (210)	0,9	4	183	7	11		16
HHCB-on (257)	≤ 4	4	183	14	21		80
iStd: Coffein ¹⁵ N ₂ (196)				8	10		92
*: Bestimmung über die Summe der Signalflächen von Mutterverbindung und Thermolyseprodukt							

Tab. 53: Validierungsparameter neutraler und basischer Analyten aus Chloroformeluaten nach I/I-Extraktion

Die in Tabelle 53 aufgeführten Daten zeigen, daß sämtliche in den Chloroformeluaten detektierten neutralen und basischen Analyten vor allem im spurenanalytisch relevanten Bereich kleiner Konzentrationen gut quantifizierbar lagen. Allerdings waren hier durch meßtechnisch bedingte Störungen im Vergleich zu den sauren Analyten bei mehr Verbindungen die Detektion der höchsten Konzentrationsstufe außerhalb des linearen Bereiches. Die unterschiedlichen Wiederfindungsraten von etwa 10 bis 100 % spiegelten einerseits Verluste bei der Festphasenextraktion wider, wovon in Analogie zu den Verhältnissen bei den sauren Analyten besonders die

polaren Verbindungen betroffen waren. Andererseits erklärten sich die niedrigen Wiederfindungen der Anisole durch die im Vorwege erfolgte Abtrennung während der Elution mittels *n*-Hexan. Bemerkenswert ist dabei, daß beide Anisole dennoch eine lineare Kalibrierfunktion und geringe relative Standardabweichungen lieferten.

Validierungsparameter der Gesamtmethode							
Teil VI: Neutrale und basische Analyten in den <i>n</i> -Hexaneluaten							
LOD: Nachweisgrenze ($s/n \geq 3$)							
lin. Bereich: Bereich mit linearen Regressionskoeffizienten $\geq 0,997$							
\emptyset RSD: durchschnittliche relative Standardabweichung im linearen Bereich							
RSD _{max} : maximale relative Standardabweichung im linearen Bereich							
$\Delta R_{IV, III}$: Abweichung der Trendlinie IV von der Trendlinie III bei 1830 ng/L							
\emptyset WFR: durchschnittliche Wiederfindungsraten im linearen Bereich							
graue Felder: Werte nicht bestimmt							
Analyt (Ionenspür)	LOD (ng/L)	lin. Bereich (ng/L)		\emptyset RSD (%)	RSD _{max} (%)	$\Delta R_{III/IV}$ (%)	\emptyset WFR (%)
		von	bis				
2,4,6-Tribromanilin (329)	0,9	kein linearer Bereich bestimmbar					
Dichlobenil (171)	0,5	kein linearer Bereich bestimmbar					
4-Chloranisol (142)	0,5	0,9	1830	7	13	< 1	71
4-Bromanisol (171)	0,2	0,5	1830	10	21	13	84
2,3-Dichloranisol (176)	0,2	0,5	1830	5	16	17	78
2,4,6-Trichloranilin (195)	0,2	kein linearer Bereich bestimmbar					
2,4-Dibromanisol (266)	0,2	0,5	1830	6	18	8	76
2,3,4-Trichloranisol (210)	0,5	0,9	1830	8	14	23	64
2,4,6-Tribromanisol (346)	0,2	0,5	1830	6	14	-11	98
Anethol (148)	0,5	0,9	1830	7	14	7	88
Hexachlorbenzol (284)	0,2	0,5	1830	5	8	-14	66
<i>o,p'</i> -DDT (235)	0,5	4	1830	13	24	19	45
iStd: <i>t</i> -HCE (253)				4	11		83

Tab. 54: Validierungsparameter neutraler und basischer Analyten aus den *n*-Hexaneluaten nach I/I-Extraktion

Wie bei den vorangehenden Auswertungen ließen sich auch die meisten Analyten aus den *n*-Hexaneluaten empfindlich detektieren und bei guten Wiederfindungsraten über einen großen Konzentrationsbereich linear bestimmen. Davon wichen nur Dichlobenil und die beiden basischen Halogenaniline ab, die nur in geringen Anteilen in den *n*-Hexaneluaten vertreten waren, aber, wie in der vorgestellten Tabelle 54 gezeigt, in den polarerer Chloroformeluaten zufriedenstellend kalibriert worden waren. Da sich mehrere neutrale und basische Verbindungen über zwei Eluate verteilt hatten, wurde für diese Analyten auch hier wieder die Summe aus beiden Eluaten ausgewertet (Tabelle 55):

Validierungsparameter der Gesamtmethode							
Teil VII: Neutrale und basische Analyten in <i>n</i> -Hexan- und Chloroformeluat							
LOD: Nachweisgrenze ($s/n \geq 3$)							
lin. Bereich: Bereich mit linearen Regressionskoeffizienten $\geq 0,997$							
\emptyset RSD: durchschnittliche relative Standardabweichung im linearen Bereich							
RSD _{max} : maximale relative Standardabweichung im linearen Bereich							
$\Delta R_{IV, III}$: Abweichung der Trendlinie IV von der Trendlinie III bei 1830 ng/L							
\emptyset WFR: durchschnittliche Wiederfindungsraten im linearen Bereich							
graue Felder: Werte nicht bestimmt							
Analyt (Ionenspur)	LOD (ng/L)	lin. Bereich (ng/L)		\emptyset RSD (%)	RSD _{max} (%)	$\Delta R_{III/IV}$ (%)	\emptyset WFR (%)
		von	bis				
2,4,6-Trichloranilin (195)	0,2	0,9	1830			< 1	63
2,4,6-Tribromanilin (329)	0,9	4	1830			-18	80
Dichlobenil (171)	0,5	0,9	1830			1	64
2,4-Dibromanisol (266)	0,2	0,5	1830			1	84
2,3,4-Trichloranisol (210)	0,5	0,9	1830			11	77

Tab. 55: Validierungsparameter der Summe neutraler und basischer Analyten aus *n*-Hexan- und Chloroformeluat nach I/I-Extraktion

Die Auswertung der Signalflächensummen solcher Verbindungen, die sowohl mit *n*-Hexan als auch mit Chloroform eluiert wurden, führte noch deutlicher als bei der analogen Auswertung der Phenole zu einer verbesserten Quantifizierbarkeit der Analyten. In allen Fällen konnte der lineare Bereich um den Faktor 10 zur höheren Konzentration hin erweitert werden, ebenso wie sich auch die durchschnittlichen Wiederfindungsraten verbesserten.

Zusammenfassend lieferten die Versuche, die zur Validierung der Gesamtmethode durchgeführt wurden, sehr zufriedenstellende Resultate. Trotz der Vielzahl an unterschiedlichen Arbeitsschritten bei der Probenaufarbeitung und eines sehr breiten Spektrums an Analyten konnten fast alle eingesetzten Verbindungen über einen ausreichend großen Konzentrationsbereich kalibriert werden. Es war zudem möglich, durch eine effektive Analytanreicherung und die Derivatisierung phenolischer und carboxylicher Komponenten spurenanalytische Meßempfindlichkeiten zu erzielen, so daß die meisten ermittelten Nachweisgrenzen im oberen pg/L Bereich lagen, während die Bestimmungsgrenzen im Durchschnitt Werte zwischen 0,5 ng/L und 4 ng/L aufwiesen. Die gegenüber den reinen Standardverbindungen ermittelten Wiederfindungsraten waren im Gesamtbild relativ uneinheitlich. Bei einer differenzierteren Betrachtung konnte jedoch erwartungsgemäß eine grobe Abhängigkeit von der Polarität und Größe des jeweiligen Analyten festgestellt werden. Die bereits in Kapitel 4 aufgezeigten Verluste bei der Festphasenextraktion hatten zur Folge, daß sich kleine Moleküle mit polaritätsvermittelnden Funktionen und einer daraus resultierenden höheren Wasserlöslichkeit, wie beispielsweise Paracetamol, Salicyl- und Gentisinsäure sowie 4-Chlorbenzoe- und 2-Chlorphenylethansäure, gar nicht oder nur in geringem Umfang wiederfinden ließen. Weniger polare oder

größere Moleküle hingegen zeigten regelmäßig gute Wiederfindungsraten von durchschnittlich 75 bis 95 %. Wesentlicher als die Effizienz der Anreicherung aber war die Reproduzierbarkeit und Proportionalität der entsprechenden Detektionen, so daß, wie bereits angeführt, selbst bei Wiederfindungsraten deutlich unter 50 % durchaus gute Kalibrierfunktionen ermittelt werden konnten.

Von besonderer Bedeutung hinsichtlich der Quantifizierung solcher Analyten, die in nennenswertem Umfang in zwei Eluatn aufgetreten waren, waren die jeweils verbesserten Kalibrierungen nach einer Summierung der jeweiligen Signalflächen. In Hinblick auf die Auswertung von Realproben, bei denen durch Sättigungs- und Matrixeffekte ein im Vergleich zu Leitungswasserproben verändertes Elutionsverhalten dieser Analyten zu erwarten war, erlaubte dieses Verfahren dennoch eine sichere Quantifizierung, so daß das Konzept der fraktionierenden Elution beibehalten werden konnte.

Für eine Validierung der Versuchsmethode wurden für 4 unterschiedliche Konzentrationsstufen von Targetanalyten im Bereich von 360 pg/L bis 360 ng/L bzw. 180 pg/L bis 180 ng/L Wiederfindungsversuche durchgeführt, in denen jeweils in dreifacher Wiederholung 2,8 L-Leitungswasserproben mit 7 aciden Targetanalyten und einer Surrogatverbindung dotiert und zur Festphasenextraktion über je 500 mg Oasis-HLB geleitet wurden. Nach Trocknung der Festphasen wurde diese fraktionierend mit je 50 mL *n*-Hexan, Dichlormethan und Methanol extrahiert und die methanolischen Extrakte entsprechend SOP 4A mit MCF/MeOH homogen derivatisiert. Die entsprechenden Validierungsparameter sind in Tabelle 56 dargestellt.

Validierungsparameter der Versuchsmethode für acide Analyten in Methanoleluaten nach Derivatisierung mittels MCF/MeOH							
LOD: Nachweisgrenze ($s/n \geq 3$)							
lin. Bereich: Bereich mit linearen Regressionskoeffizienten $\geq 0,997$							
\emptyset RSD: durchschnittliche relative Standardabweichung im linearen Bereich							
RSD _{max} : maximale relative Standardabweichung im linearen Bereich							
\emptyset WFR: durchschnittliche Wiederfindungsraten im linearen Bereich							
graue Felder: Werte nicht bestimmt							
Analyt (Ionenspur)	LOD (ng/L)	lin. Bereich (ng/L)		\emptyset RSD (%)	RSD _{max} (%)	\emptyset WF (%)	
		von	bis				
Clofibrinsäure (128)	0,4	0,4	360	7	10	86	
Diclofenac (214)	0,4	0,4	360	8	11	92	
Ibuprofen (160)	0,4	0,4	360	11	15	66	
Ibu-OH (178)	1,8	18	180	5	6	83	
Ibu-COOH (295)	1,8	180	360	11	26	14	
Ketoprofen (209)	0,4	0,4	360	8	13	81	
iStd: MD3 (172)				4	6	88	

Tab. 56: Validierungsparameter carboxylierischer Analyten aus Methanoleluaten nach I/I-Extraktion und homogener Derivatisierung mittels MCF/MeOH

10.3 verwendete Instrumente

GC/MS:

GC: Varian 3400 (Varian Associates, Sunnyvale, USA)
split-splitless injector 1075 (2 μL , 60 s splitless, 523 K (250 °C))

Carrier gas: Helium 5.0 (Linde, Hamburg, Deutschland) 75 kPa

Transfer-line: 523 K (250 °C)

MS: Magnum ITD ion trap mass spectrometer (Finnigan, MAT, Bremen, Deutschland), EI (70 eV / 10 μA)

Autosampler: A200 SE (CTC Analytics, Zwingen, Schweiz)

Trennsäulen: DB5-MS (J&W Scientific, Folsom, USA),
i.D.: 0,25 mm, Film: 0,25 μm , Länge: 15 m sowie 30 m
VB1701 (Valco Instruments Co. Inc., Houston, USA)
i.D.: 0,25 mm, Film: 0,25 μm , Länge: 15 m sowie 30 m

GC-Temperaturprogramme:

2 min 333 K (60 °C), \rightarrow 533 K (260 °C): 20 K/min, 23 min 533 K

2 min 333 K (60 °C), \rightarrow 543 K (270 °C): 7 K/min, 8 min 543 K

2 min 333 K (60 °C), \rightarrow 553 K (280 °C): 25 K/min, 4 min 553 K

pH-Meter: pH-Meter CG718, Elektrode N 7780
(Schott-Geräte GmbH, Hofheim a. Ts., Deutschland)

Wasserschöpfer/Filtrationseinheit/Festphasenextraktionseinheit: Ausführliche Beschreibungen & graphische Darstellungen finden sich in Kapitel 4. Die Anfertigung der Metall- und Teflonteile erfolgte in den Werkstätten der Universität Hamburg oder in Eigenarbeit.

Wasserdeionisationsanlage: Seral-Pur 90 C (Seral, Ransbach, Deutschland)

10.4 Methoden

Reinigung der Arbeitsgeräte: sämtliche wiederverwendbaren Glasgeräte sowie alle Bauteile des Wasserschöpfers, der Filtrationseinheiten und der Festphasenextraktionseinheiten wurden nach Gebrauch nacheinander mit fließend heißem Leitungswasser, deionisierten Wasser, Methanol, Aceton, *n*-Hexan gespült. Anschließend erfolgte bei wenig kontaminationsgefährdeten Gläsern sowie allen Teflon- und Metallteilen ein Ausheizen bei 470 K (200 °C) im Trockenschrank über Nacht. Alle weiteren Glasgeräte, insbesondere solche, die zu Syntheszwecken eingesetzt oder mit Umweltproben in Kontakt gekommen waren, wurden über Nacht im Muffelofen bei ca. 670 K (400 °C) ausgeheizt.

Probenahme: Bei allen in Deutschland, Dänemark und Tschechien genommenen Proben wurde der in Kapitel 4 beschriebene Wasserschöpfer eingesetzt. Für die Probenahme in Vietnam wurden beschwerte 1 L-Schraubdeckel-Braunglasflaschen verwendet, die mit einem Teflonstopfen verschlossen waren. Die Öffnung der Flaschen erfolgte unter der Wasseroberfläche mittels eines Zugseiles das an dem Teflonstopfen befestigt war.

Probenaufarbeitung: Die Durchführung der Filtration, Festphasenextraktion und fraktionierenden Elution ist in Kapitel 4 beschrieben. Wasserproben, die nicht sofort aufgearbeitet werden konnten, wurden bei 277 K (4 °C) gelagert.

10.5 Synthesen

Im Rahmen dieser Arbeit wurde in kleinem Maßstab eine Reihe von Carbonsäuren synthetisiert, die nachfolgend in Tabelle 57 aufgelistet sind. Die Umsetzungen wurden zumeist nach geläufigen Synthesevorschriften^[211] durchgeführt, die nachfolgend als allgemeine Arbeitsvorschriften zusammengefasst sind.

Synthetisierte Referenzsubstanz	Edukt	Synthesevorschrift
2,3,4-Trichlorbenzoesäure	2,3,4-Trichloracetophenon	A I
2,3,5-Trichlorbenzoesäure	2,3,5-Trichlorbenzylaldehyd	A I
2,4,5-Trichlorbenzoesäure	2,4,5-Trichloranilin	B, F
2,4,6-Trichlorbenzoesäure	2,4,6-Trichloranilin	B, F
3,4,5-Trichlorbenzoesäure	1,2,3-Trichlor-5-trifluor-methylbenzol	G
Phenylethansäure-D ₅	Toluol-D ₈	A, C, D, E, F
2,3-Dichlorphenylethansäure	2,3-Dichlorbenzoesäure	C, D, E, F
2,5-Dichlorphenylethansäure	2,5-Dichlorbenzylalkohol	D, E, F
3,4-Dichlorphenylethansäure-D ₂	3,4-Dichlorbenzoesäure	C*, D*, E*, F*
3,4-Dichlorphenylpropansäure-D ₂	3,4-Dichlorphenylethansäure-D ₂	C*, D*, E*, F*
3,5-Dichlorphenylethansäure	3,5-Dichlorbenzoesäure	C, D, E, F
2,3,4-Trichlorphenylethansäure	2,3,4-Trichloracetophenon	A, C, D, E, F
2,3,5-Trichlorphenylethansäure	2,3,5-Trichlorbenzylaldehyd	A, C, D, E, F
2,4,5-Trichlorphenylethansäure	2,4,5-Trichloranilin	B, F, C, D, E, F
2,4,6-Trichlorphenylethansäure	2,4,6-Trichloranilin	B, F, C, D, E, F
3,4,5-Trichlorphenylethansäure	1,2,3-Trichlor-5-trifluor-methylbenzol	G, C, D, E, F
Bayrepel-Säure	Bayrepel® **	A II
* unter Verwendung deuterierter Lösungsmittel und Reagenzien		
** Bayrepel® wurde mittels quantitativer Dünnschichtchromatographie aus Autan® isoliert (mobile Phase: n-Hexan/Aceton 2:1 (v,v), R _f = 0,35-0,45).		

Tab. 57: Synthetisierte und isolierte Referenzsubstanzen

Synthesevorschrift A I

Oxidation von Chloracetophenonen oder Chlorbenzaldehyden oder Toluol-D₈ zu Chlorbenzoesäuren oder Benzoesäure-D₅ mittels KMnO₄

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Durchführung der Reaktion:

In einem 100 mL WH-Rundkolben werden 20 mL Wasser vorgelegt und 1 g Chloracetophenon oder Chlorbenzaldehyd oder 1 mL Toluol-D₈, 1 g Natriumcarbonat, und 2,5 g Kaliumpermanganat zugegeben. Die Mischung wird unter starkem Rühren auf 90 °C bis 100 °C erwärmt, bis nach ca. 30 min eine DC- oder GC-Kontrolle vollständigen Umsatz anzeigt.

Aufarbeitung:

Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wird die Reaktionsmischung mit 20 mL Diethylether ausgeschüttelt, wobei die abgetrennte organische Phase später auf nichtumgesetztes Edukt geprüft u. ggf aufgearbeitet wird. Die wäßrige Phase wird mit 20 mL Diethylether überschichtet und unter Kühlung mit ca. 6 mL Schwefelsäure (25 %) angesäuert. Die Mischung wird dreifach mit je 15 mL Diethylether ausgeschüttelt, wobei die Phasen durch Abpipettieren voneinander getrennt werden. Eventuell muß dazu die Mischung einige Zeit stehen, damit der Braunstein ausreichend ausflockt. Die vereinigten organischen Phasen werden mehrfach mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat entwässert und zur Trockene eingengt.

DC-/GC-Kontrolle:

Ca. 50 µL der Reaktionsmischung werden in 100 µL Wasser gegeben, mit verdünnter H₂SO₄ angesäuert und mit 200 µL Diethylether ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wird abpipettiert und verworfen, während die organische Phase noch dreifach mit Wasser gewaschen und schließlich über Natriumsulfat getrocknet wird.

DC: Laufmittel: *n*-Hexan/Aceton 2:1 (v/v), Detektion: UV-Absorption

GC: Von der organischen Phase werden 5 µL abgenommen und z.B. mit MCM derivatisiert.

Synthesevorschrift A II
Oxidation von Bayrepel® zu Bayrepel-Säure mittels KMnO_4

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Durchführung der Reaktion:

In einem 10 mL Spitzkolben werden 1 mL Autan® mit 2,5 mL *n*-Hexan vorgelegt und dreifach mit je 2,5 mL entionisiertem Wasser gewaschen. Die organische Phase wird abgetrennt, und das Lösungsmittel im Stickstoffstrom abgeblasen. Der Rückstand wird mit 2,5 mL entionisiertem Wasser, 600 mg Kaliumpermanganat und 160 mg Natriumcarbonat vermengt. Die Umsetzung erfolgt durch eine Behandlung im Ultraschallbad (15 min bei 323 K (50 °C)).

Aufarbeitung:

Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wird die Reaktionsmischung mit verdünnter Schwefelsäure (25 %) angesäuert und dreifach mit je 20 mL Diethylether ausgeschüttelt (eventuell Verschleppungen von Braunstein können durch Zentrifugation abgetrennt werden). Die vereinigten organischen Phasen werden am Rotationsverdampfer oder im Stickstoffstrom zur Trockene eingeeengt und der Rückstand in 2,5 mL Natronlauge (2-molar) aufgenommen. Die wäßrige Phase wird dreifach mit je 5 mL Diethylether extrahiert, wobei die organischen Phasen jeweils verworfen werden. Nachfolgend wird die wäßrige Phase mit verdünnter Schwefelsäure (25 %) angesäuert und dreifach mit je 10 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 10 mL entionisiertem Wasser gewaschen, zweifach über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und schließlich zur Trockene eingeeengt. Das Produkt verbleibt GC-rein als klare farblose zähviskose Flüssigkeit.

DC-/GC-Kontrolle:

DC: Laufmittel: *n*-Hexan/Aceton 2:1 (v/v), Detektion: $\text{KMnO}_4(\text{aq})$

GC: Von dem organischen Extrakt des angesäuerten Ansatzes werden 5 µL abgenommen und z.B. mit MCM derivatisiert.

Synthesevorschrift B

Diazotierung von Trichloranilinen und nachfolgende Umsetzung mit Cu(I)CN zu den entsprechenden Trichlorbenzonitrilen in einer Sandmeyer-Reaktion

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Durchführung der Reaktion:

Reaktionslösung 1:

Zu einer Lösung von 3,2 g Kupfer(II)-sulfat Pentahydrat in 10 mL entionisiertem Wasser wird unter Rühren die Lösung von 0,8 g Natriumsulfit in 10 mL entionisiertem Wasser gegeben. Zu dem Gemenge werden nachfolgend 5 mL 4,5 molarer Natriumcyanidlösung unter Rühren zugegeben. Der ausfallende Niederschlag wird abfiltriert, zweifach mit etwas kaltem Wasser gewaschen und in 25 mL 4,5-molarer Natriumcyanidlösung gelöst.

Reaktionslösung 2:

2 g Trichloranilin werden unter Eiskühlung mit 8 mL Schwefelsäure (25 %) vermengt und hierzu unter starkem Rühren eine Lösung von 1 g Natriumnitrit in 2 mL Wasser getropft. Wenn keine sichtbare Reaktion eintritt und die organische Phase unverändert bleibt, wird die Mischung erwärmt und erneut eine Lösung von 1 g Natriumnitrit in 2 mL Wasser zugegeben. Nach Zugabe von 2 Spatelspitzen Harnstoff wird der Ansatz für weitere 15 min bei Raumtemperatur gerührt und nachfolgend mit der Reaktionslösung 1 zügig vermengt. Anschließend wird kurz bis zum Sieden erhitzt und nach Abkühlung auf Raumtemperatur aufgearbeitet.

Aufarbeitung:

Der Ansatz wird dreifach mit je 4 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte werden zweifach mit entionisiertem Wasser gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und zur Trockene eingeengt. Das Rohprodukt braucht nicht weiter aufgereinigt zu werden, wenn nachfolgend basisch verseift wird.

DC-/GC-Kontrolle:

DC: Laufmittel: *n*-Hexan/Aceton 2:1 (v/v)

Detektion: UV-Absorption

GC: 5 µL der trockenen Etherphase werden in 1 mL *n*-Hexan oder Diethylether gelöst

Synthesevorschrift C
Reduktion von Mono-, Di- oder Trichlorbenzoesäuren (oder Mono-, Di- oder Trichlorbenzaldehyden zu Mono-, Di- oder Trichlorbenzylalkoholen mittels LiAlH_4

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Durchführung der Reaktion:

In einem offenen 50 mL-Rundkolben wird zu einer Suspension von 500 mg LiAlH_4 in 20 mL abs. Diethylether unter Rühren die Suspension oder Lösung von 1 g des chlorierten Eduktes in ausreichend abs. Diethylether zugetropft. Es wird so lange bei Raumtemperatur gerührt, bis eine DC- oder GC-Kontrolle die Vollständigkeit der Reaktion anzeigt. Die Reaktionsdauer beträgt üblicherweise 30 min, nur wenn beide *ortho*-Positionen chloriert sind, kann die vollständige Umsetzung mehrere h dauern.

Aufarbeitung:

Zu der Mischung werden ca. 5 bis 10 mL Wasser zugetropft, bis keine heftige Gasentwicklung mehr auftritt. Nachfolgend wird einige Minuten intensiv gerührt, bis sich die Mischung vollständig geklärt hat. Die organische Phase wird von dem weißen Niederschlag abpipettiert, und wenn das Edukt noch nachweisbar ist, dreifach mit je ca. 5 mL 2 N Natronlauge ausgeschüttelt, immer aber bis zur pH-Neutralität mit Wasser gewaschen und zweifach über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet.

DC-/GC-Kontrolle:

Ca. 50 μL der Reaktionsmischung werden in 100 μL Wasser gegeben, mit verdünnter H_2SO_4 angesäuert und mit 200 μL Diethylether ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wird abpipettiert und verworfen, während die organische Phase noch zweifach mit Wasser gewaschen und schließlich über Natriumsulfat getrocknet wird.

DC: Laufmittel: *n*-Hexan/Aceton 2:1 (v/v),

Produktdetektion: UV-Absorption, $\text{KMnO}_4(\text{aq})$, Molybdätophosphorsäure (5 % in MeOH)

GC: Von der organischen Phase werden 5 μL abgenommen und z.B. mit MCM derivatisiert. Für die Messung werden von den 400 μL der Reaktionslösung 100 μL abgenommen und auf ca. 1 mL mit *n*-Hexan aufgefüllt.

Synthesevorschrift D
Nucleophile Substitution von Mono-, Di- oder Trichlorbenzylalkoholen zu
Mono-, Di- oder Trichlorbenzylbromiden mittels PBr₃

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Durchführung der Reaktion:

Die trockene Lösung des Alkohols aus C wird in einem 50 mL Spitzkolben auf ca. 5 bis 10 mL eingengt und unter Rühren zu einer Lösung von 600 µL PBr₃ in 20 mL des gleichen Lösungsmittels getropft. Das Zupipettieren der Eduktlösung sollte im Stickstoffstrom und so langsam erfolgen, daß der Ether nicht zu stark siedet. Anschließend wird bei Raumtemperatur im Stickstoffstrom auf ca. 20 mL eingengt. Nachfolgend wird die Vollständigkeit der Umsetzung mittels GC/MS bestätigt und ggf. im verschlossenen Gefäß bei RT weiter gerührt. Ist die Umsetzung nach 60 min noch nicht vollständig, so werden weitere 200 µL Reagenz zugegeben.

Aufarbeitung:

Die Reaktionsmischung wird unter Rühren tropfenweise zu ca. 10 mL Wasser gegeben. Nach dem Entsäuern mit Natriumhydrogencarbonatlösung wird die organische Phase abgetrennt und dreifach mit Wasser gewaschen. Für eine nachfolgende Umsetzung zum Nitril braucht die Lösung nicht getrocknet zu werden. (Achtung: viele Benzylbromide sind hydrolyseempfindlich, so daß hier eine Rückreaktion erfolgen kann.)

DC-/GC-Kontrolle:

Nur für die DC-Kontrolle des Ansatzes kann die Reaktionsmischung direkt getüpfelt werden. Für die GC-Kontrolle werden ca. 20 µL oder ein Tropfen der Reaktionsmischung in einem 2 mL – vial mit 200 µL Diethylether und der gleichen Menge Wasser geschüttelt. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und für GC/MS-Messungen auf ca. 1,5 mL aufgefüllt und davon 100 µL auf 1,5 mL aufgefüllt.

DC: Laufmittel: *n*-Hexan/Aceton 2:1 (v/v)

Produktdetektion: UV-Absorption

GC: max. 1 µL der trockenen Etherphase wird in 1 mL *n*-Hexan gelöst

Anmerkungen: Die Reaktion verläuft unvollständig, wenn nicht im Stickstoffstrom und mit größeren Lösungsmittelmengen gearbeitet wird. Das Edukt wird bei der DC-Kontrolle wesentlich schwächer detektiert als das Produkt, so daß vor einer Aufarbeitung unbedingt eine GC/MS-Kontrolle erfolgen sollte.

Synthesevorschrift E
Nucleophile Substitution von Mono-, Di- oder Trichlorbenzylbromiden zu Mono-, Di- oder Trichlorbenzylnitrilen (Kolbe-Nitrilsynthese) mittels NaCN

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Durchführung der Reaktion:

Die Monochlorbenzylbromidlösung aus D wird in einem 25 mL-Spitzkolben zur Trockene eingedunstet und mit ca. 15 mL MeOH versetzt. Dazu wird unter Rühren 1 g NaCN, das in ca. 2 mL Wasser heiß gelöst wurde, zügig zugetropft. Nachfolgend wird bei Raumtemperatur oder unter Erwärmung so lange weitergerührt, bis eine weitgehende Umsetzung mittels DC oder GC angezeigt wird. Achtung: Erwärmung oder zu lange Reaktionszeiten können gelegentlich zu der Bildung unerwünschter Nebenprodukte führen. Solange dies für eine gegebene Umsetzung nicht untersucht wurde, sollte man zunächst nur mit Teilansätzen arbeiten.

Aufarbeitung:

Wenn das Nitril isoliert werden soll, wird die Reaktionsmischung mit 20 mL Wasser oder gesättigter Kochsalzlösung verdünnt und dreifach mit je 4 mL Diethylether extrahiert. Andernfalls kann eine nachfolgende Verseifung zur Carbonsäure als Eintopfreaktion durchgeführt werden.

DC-/GC-Kontrolle:

Nur für die DC-Kontrolle kann die Reaktionsmischung direkt getüpfelt werden. Für die GC-Kontrolle werden ca. 20 µL oder ein Tropfen der Reaktionsmischung in einem 2 mL – vial mit 200 µL Diethylether versetzt und die Lösung dreifach mit je 200 µL Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über wasserfreiem Na₂SO₄ getrocknet.

DC: Laufmittel: *n*-Hexan/Aceton 2:1 (v/v)

Detektion: UV-Absorption

GC: 5 µL der trockenen Etherphase werden in 1 mL *n*-Hexan oder Diethylether gelöst

Synthesevorschrift F
Basenkatalysierte Verseifung von Mono-, Di- oder Trichlorbenzylnitriren* zu Mono-, Di- oder Trichlorphenylethansäuren

*: Die Reaktion kann analog mit Benzonitrilen zur Darstellung von Benzoessäurederivaten durchgeführt werden.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Durchführung der Reaktion:

Die Mono- Di- oder Trichlorbenzylnitriellösung aus E wird mit ca 5 mL 30 %iger Kali oder Natronlauge versetzt und so lange unter Rückfluß gesiedet, bis die DC- oder GC/MS-Kontrolle einen ausreichenden Umsatz anzeigt.

Aufarbeitung:

Nach Beendigung der Reaktion wird auf Raumtemperatur abgekühlt und unter dem Abzug vorsichtig mit verdünnter Salz- oder Schwefelsäure versetzt (Achtung HCN !). Allerdings soll der pH-Wert der Mischung eben noch basisch bleiben. Die Mischung wird dann mit 4 mL Diethylether extrahiert. Die organische Phase wird erst verworfen, wenn überprüft wurde, daß keine nennenswerten Produktmengen darin enthalten sind. Die wäßrige Phase wird mit Schwefel- oder Salzsäure angesäuert und dreifach mit je 10 mL Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte der sauren Lösung werden dreifach mit je 2 mL Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abtrennung des Trockenmittels wird die Lösung zur Trockene eingeeengt. Aufgrund des Methanolgehaltes der Reaktionsmischung kann die organische Phase noch so viel Wasser enthalten, daß es erforderlich ist, den Rückstand erneut in Diethylether aufzunehmen und über wasserfreiem Natriumsulfat zu trocknen. Wenn in dem Extrakt der basischen Lösung das erwünschte Produkt auch enthalten ist, wird diese Lösung so oft mit 2 N Natronlauge extrahiert, bis das Produkt in der organischen Phase nicht mehr nachweisbar ist. Die vereinigten wäßrigen Phasen werden nachfolgend angesäuert und analog aufgearbeitet.

DC-/GC-Kontrolle:

Ca. 20 µL der Reaktionsmischung werden in 100 µL Wasser gegeben, mit verdünnter H₂SO₄ angesäuert und mit 200 µL Diethylether ausgeschüttelt. Die wäßrige Phase wird abpipettiert und verworfen, während die organische Phase noch zweifach mit Wasser gewaschen und schließlich über Natriumsulfat getrocknet wird.

DC: Laufmittel: *n*-Hexan/Aceton 2:1 (v/v), Detektion: UV-Absorption

GC: Von der organischen Phase werden 5 µL abgenommen und z.B. mit MCM derivatisiert.

Synthesevorschrift G
Säurekatalysierte Verseifung von 1,2,3-Trichlor-5-trifluormethylbenzol zu
3,4,5-Trichlorbenzoesäure*

*: Speziell diese Reaktion ist bislang nicht publiziert worden, kann aber als eine Variation der bereits 1949 von *Le Fave* beschriebenen Umsetzung von monochlorierten α,α,α -Trifluortoluolderivaten mit Schwefelsäure und nachfolgender Hydrolyse gesehen werden^[275].

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Durchführung der Reaktion:

600 μL Trifluormethyl-3,4,5-trichlorbenzol werden in einem 2 mL-vial mit ca. 200 μL Schwefelsäure (100 %) und 200 μL SO_3 (65 % in H_2SO_4) versetzt und im leicht verschlossenen Gefäß unter intensivem Rühren für ca. 30 min auf ca. 353 K (80 °C) erwärmt. Wenn eine DC bzw. GC Kontrolle noch erhebliche Eduktmengen anzeigt, werden weitere 100 μL SO_3 (65% in H_2SO_4) zugegeben und der Ansatz erneut für 30 min auf ca. 80 °C erwärmt. Die Reaktion ist zumeist beendet, wenn vollständige Phasenhomogenität vorliegt und der obere Bereich des Reaktionsgefäßes durch den entwickelten Fluorwasserstoff angeätzt wurde.

Aufarbeitung

Die homogene Reaktionsmischung wird langsam in 20 mL Eiswasser pipettiert, wodurch erhebliche Mengen eines reinweißen Feststoffes ausfallen. Die wäßrige Phase wird dreifach mit je ca. 10 mL Diethylether extrahiert und die vereinigten organischen Phasen dreifach mit je ca. 5 mL entionisiertem Wasser gewaschen. Schließlich wird die organische Phase über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abgezogen. Das Produkt verbleibt DC- und GC-rein als weißes, feinkristallines Pulver.

DC-/GC-Kontrolle:

Ca. 20 μL der Reaktionsmischung werden in 100 μL Wasser gegeben und mit 200 μL Diethylether ausgeschüttelt. Die wäßrige Phase wird abpipettiert und verworfen, während die organische Phase noch zweifach mit Wasser gewaschen und schließlich über Natriumsulfat getrocknet wird.

DC: Laufmittel: *n*-Hexan/Aceton 2:1 (v/v), Detektion: UV-Absorption

GC: Von der organischen Phase werden 5 μL abgenommen und z.B. mit MCM derivatisiert.

10.6 Verwendete Chemikalien

Die verwendeten Lösungsmittel, Referenzsubstanzen und Reagenzien sind in der nachfolgenden Tabelle 58 aufgeführt:

Lösungsmittel				
Substanz	Lieferant	Qualität	CAS-Nummer	Gef.-symbole
Aceton	Merck	SupraSolv, p.a.	67-64-1	F, Xi
Chloroform	Merck	SupraSolv, p.a.	67-66-3	Xn
Dichlormethan	Merck	SupraSolv, p.a.	75-09-2	Xn
Diethylether	Merck	SupraSolv, p.a.	200-467-2	F ⁺ , Xn
Ethansäure	Merck	100 %	64-19-7	C
Ethylacetat	Merck	SupraSolv, p.a.	200-500-4	F, Xi
Methanol	Merck	SupraSolv, p.a.	200-659-6	F, T
<i>n</i> -Hexan	Merck	SupraSolv, p.a.	203-777-6	F, Xn, N
Toluol	Merck	SupraSolv, p.a.	203-625-9	F, Xn
Referenzsubstanzen				
Substanz	Lieferant	Qualität	CAS-Nummer	Gef.-symbole
2-Bromphenol	Sigma-Aldr.	98 %	95-56-7	Xn
2-Bromanilin	Merck	z.S.	615-36-1	T, N
2-Chloranilin	Merck	z.S.	95-51-2	T, N
2-Chlorbenzoesäure	Merck	z.S.	118-91-2	Xi
2-Chlorphenylethansäure	Merck	z.S.	2444-36-2	Xi
3-Chlorbenzoesäure	Merck	z.S.	535-80-8	
3-Chlorphenylethansäure	Merck	z.S.	1878-65-5	Xi
4-Bromanisol	Merck	z.S.	104-92-7	-
4-Bromindol	Sigma-Aldr.	z.S.	52488-36-5	Xi
4-Chlor-3-methylphenol	Merck	z.S.	59-50-7	Xn, N
4-Chloranisol	Merck	z.S.	623-12-1	-
4-Chlorbenzoesäure	Merck	z.S.	74-11-3	Xn
4-Chlorphenol	Merck	z.S.	106-48-9	Xn, N
4-Chlorphenylethansäure	Merck	z.S.	1878-66-6	Xi
2,3-Dichloranisol	Merck	z.S.	1984-59-4	-

2,3-Dichlorbenzoesäure	Sigma-Aldr.	z.S.	50-45-3	-
2,3-Dichlorphenylethansäure	Eigensynthese			
2,4-Dibromphenol	Sigma-Aldr.	95 %	615-58-7	T
2,4-Dichlorphenol	Merck	z.S.	120-83-2	T, N
2,4-Dibromanilin	Merck	z.S.	615-57-6	T, N
2,4-Dibromanisol	Sigma-Aldr.	98 %	21702-84-1	Xn
2,4-Dichloranilin	Merck	z.S.	209-057-8	T, N
2,4-Dichlorbenzoesäure	Merck	z.S.	50-84-0	Xi
2,4-Dichlorphenylethansäure	Sigma-Aldr.	rein	19719-28-9	-
2,5-Dichlorbenzoesäure	Merck	z.S.	50-79-3	Xi
2,5-Dichlorphenylethansäure	Eigensynthese			
2,6-Dichlorbenzoesäure	Merck	z.S.	50-30-6	Xi
2,6-Dichlorphenylethansäure	Merck	z.S.	6675-24-2	Xi
3,4-Dichlorbenzoesäure	Merck	z.S.	51-44-5	Xi
3,4-Dichlorphenylethansäure	Sigma-Aldr.	98 %	5807-30-7	Xi
3,5-Dichlorbenzoesäure	Sigma-Aldr.	z.S.	51-36-5	
3,5-Dichlorphenylethansäure	Eigensynthese			
2,3,4-Trichloranisol	Sigma-Aldr.	Pestanal	54135-80-7	-
2,3,4-Trichlorbenzoesäure	Eigensynthese			
2,3,4-Trichlorphenylethansäure	Eigensynthese			
2,3,5-Trichlorbenzoesäure	Sigma-Aldr.	z.S.	50-73-7	Xn, N
2,3,5-Trichlorphenylethansäure	Eigensynthese			
2,3,6-Trichlorbenzoesäure	Sigma-Aldr.	-	50-31-7	Xn, N
2,3,6-Trichlorphenylethansäure	Sigma-Aldr.	z.A.	85-34-7	Xn, N
2,4,5-T = 2,4,5-Trichlorphenoxylethansäure	Sigma-Aldr.	Pestanal	93-76-5	Xn, N
2,4,5-Trichlorphenol	Sigma-Aldr.	Pestanal	95-95-4	Xn, N
2,4,5-Trichlorbenzoesäure	Eigensynthese			
2,4,5-Trichlorphenylethansäure	Eigensynthese			
2,4,6-Tribromphenol	Sigma-Aldr.	98 %	118-79-6	Xi
2,4,6-Tribromanilin	Sigma-Aldr.	98 %	147-82-0	T
2,4,6-Tribromanisol	Sigma-Aldr.	Pestanal	607-99-8	-
2,4,6-Trichloranilin	Sigma-Aldr.	98 %	64-93-5	T, N
2,4,6-Trichlorbenzoesäure	Eigensynthese			
2,4,6-Trichlorphenylethansäure	Eigensynthese			
3,4,5-Trichlorbenzoesäure	Eigensynthese			
3,4,5-Trichlorphenylethansäure	Eigensynthese			
17- α -Ethinylöstradiol	Sigma-Aldr.	> 98 %	57-63-6	T
17- β -Östradiol	Sigma-Aldr.	> 98 %	50-28-2	T
<i>trans</i> -Anethol	Merck	Ph.Eur.	104-46-1	-
Antracen-D10	CIL	98 %	1719-06-8	-
Atrazin	Promochem	-	1912-24-9	Xn

Bayrepel [®]	Isolierung aus Autan [®]			
Bayrepel-Säure	Eigensynthese			
Bezafibrat	Sigma-Aldr.	-	41859-67-0	Xn
Carbamazepin	Synopharm	-	298-46-4	-
Clofibrinsäure	ICN	-	882-09-7	Xn
Coffein	Merck	rein	58-08-2	Xn
Coffein- ¹⁵ N ₂	Ehrenstorfer	certified	-	Xn
DEET	Merck	USP	134-62-3	Xn
Desethylatrazin	Promochem	-	1007-28-9	Xn
Dichlobenil	ABCR	-	1194-65-6	Xn
Dichlorprop	Ehrenstorfer	certified	120-36-5	Xn
Diclofenac-Natriumsalz	Synopharm	-	15307-86-5	-
Estron	Sigma-Aldr.	> 99 %	53-16-7	Xn
Fenoprofen, Calciumsalz	Sigma-Aldr.	> 97 %	53746-45-5	Xn
Gemfibrozil	Sigma-Aldr.	99 %	25812-30-0	Xn
Gentisinsäure = 2,5-Dihydroxybenzoesäure	Sigma-Aldr.	98 %	490-79-9	Xn
Hexachlorbenzol	Sigma-Aldr.	Pestanal	118-74-1	T, N
HHCB-Lacton	Synthese im chem. Inst. der Universität Hamburg			
Ibuprofen	Synopharm	-	110-54-3	Xn
Ibuprofen-COOH	Synthese im chem. Inst. der Universität Hamburg			
Ibuprofen-OH	Synthese im chem. Inst. der Universität Hamburg			
Indometacin	Aldich	> 99 %	53-86-1	T ⁺
Irgarol 1051	Hempel	-	28159-98-0	Xn
Ketoprofen	Aldrich	Vetranal	22071-15-4	T
MCPA = 4-Chlor-2-methyl- phenoxyethansäure	Aldich	> 97 %	94-74-6	Xn
Mecoprop	Sigma-Aldr.	Pestanal	7085-19-0	Xn, N
Mecoprop-D3	Ehrenstorfer	-	352431-15-3	Xn
Mestranol	Sigma-Aldr.	Vetranal	72-33-3	Xn
Naproxen	Sigma-Aldr.	98 %	22205-53-1	Xn
<i>o,p'</i> -DDT	Promochem	-	789-02-6	T, N
Paracetamol	Merck	Ph. Eur.	103-90-2	Xn
Pentachlorphenol	Sigma-Aldr.	98 %	87-86-45	T ⁺ , N
Phenylethansäure	Merck	z.S.	103-82-2	Xi
Propyphenazon	Synopharm	-	479-52-5	-
Salicylsäure	Merck	z.S.	69-72-7	Xn
TCPP	Akzo Nobel	-	13674-84-5	Xn
Terbuthylazin	Promochem	-	5915-41-3	Xn
Triclosan	Promochem	-	3380-34-5	-
Reagenzien				
Substanz	Lieferant	Qualität	CAS- Nummer	Gef.- symbole

1-Butanol	Merck	p.A.	71-36-3	Xn
1-Propanol	Merck	p.A.	71-23-8	F, Xi
2-Butanol	Merck	p.A.	78-92-3	Xi
2-Mercaptoethanol	Merck	p.A.	60-24-2	T, N
2-Methyl-1-propanol	Merck	p.A.	78-83-1	Xi
2-Methyl-2-propanol	Merck	p.A.	75-65-0	F, Xn
2-Propanol	Merck	p.A.	67-63-0	F, Xi
1,2-Ethandithiol	Merck	z.S.	540-63-6	T
2,5-Dichlorbenzylalkohol	Sigma-Aldr.	99 %	34145-05-6	-
2,6-Dimethoxybenzoesäure	Merck	z.S.	1466-76-8	-
1,2,3-Trichlor-5-trifluor-methylbenzol	ICC	-	50594-82-6	-
2,2,2-Trifluorethanol	Merck	z.S.	75-89-8	Xn
2',3',4'-Trichloracetophenon	Sigma-Aldr.	95 %	13608-87-2	-
2,3,5-Trichlorbenzaldehyd	Merck	z.S.	56961-75-2	C
2,4,5-Trichloranilin	Merck	z.S.	636-30-6	T, N
2,4,6-Trichloranilin	Sigma-Aldr.	> 98 %	634-93-5	T, N
2,2,3,3,3-Pentafluor-1-propanol	Sigma-Aldr.	97 %	422-05-9	Xn
1,1,1,3,3,3-Hexafluor-2-propanol	Sigma-Aldr.	> 99 %	920-66-1	C
2,2,3,3,4,4,4-Heptafluor-1-butanol	Merck	z.S.	336-59-4	Xi
BSTFA = 2,2,2-Trifluor-N,O-bis(trimethylsilyl)-trifluor-ethanamid	Merck	f.d.GC	25561-30-2	Xi
Deuteriumoxid	Merck	> 99,8 %	7789-20-0	-
Ethanol-D ₆	Merck	Uvasol	1516-08-1	F
Ethanthiol	Merck	z.S.	75-08-1	F, Xn, N
Ethylchlormethanoat	Merck	z.S.	541-41-3	F, T ⁺
Harnstoff	Merck	p.A.	57-13-6	-
Kaliumhydroxid	Merck	p.A.	1310-58-3	C
Kaliumpermanganat	Merck	p.A.	7722-64-7	O,Xn,N
Kupfer(II)-sulfat · 5 H ₂ O	Merck	p.A.	7758-99-8	Xn, N
Kupfer(II)-sulfat wasserfrei	Merck	p.A.	7758-98-7	Xn, N
Lithiumaluminiumdeuterid	Merck	> 98 %	14128-54-2	F
Lithiumaluminiumhydrid	Merck	z.S.	16853-85-3	F
Methanol-D ₄	Merck	Uvasol	811-98-3	F, T
Methylchlormethanoat	Merck	z.S.	79-22-1	F, T
Molybdätdiphosphorsäure-Hydrat	Merck	p.A.	51429-747	C

MSTFA = <i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -(tri-methylsilyl)-2,2,2-trifluor-ethanamid	Merck	f.d.GC	24589-78-4	Xi
Natriumcarbonat	Merck	p.A.	497-19-8	Xi
Natriumchlorid	Merck	p.A.	7647-14-5	-
Natriumcyanid	Merck	rein	143-33-9	T ⁺ , N
Natriumdeuteriumoxid 30 % in D ₂ O	Merck	reinst	-	C
Natriumhydrogencarbonat	Merck	p.A.	144-55-8	-
Natriumhydroxid	Merck	p.A.	1310-73-2	C
Natriumsulfat wasserfrei	Merck	p.A., f.d.O.S.	7757-82-6	-
Natriumsulfit	Merck	p.A.	7757-83-7	-
Pentafluorbenzoesäure	Merck	z.S.	602-94-8	Xi
Pentafluorbenzoylchlorid	Merck	z.S.	2251-50-5	C
Phosphortribromid	Merck	p.A.	7789-60-8	C
Pyridin	Merck	p.A.	110-86-1	F, Xn
Salzsäure 37 %	Merck	reinst	-	C
Schwefelsäure 95-97 %	Merck	p.A.	-	C
Schwefelsäure-D ₂ 96 % in D ₂ O	Merck	reinst	-	C
Schwefeltrioxid 65 % i. H ₂ SO ₄	Merck	reinst	-	C
TMIS = Trimethyliodsilan	Merck	z.S.	16029-98-4	F, C
Toluol-D ₈	Merck	99,5 %	218-009-5	F, Xn
Trimethylsulfoniumhydroxid 0,25 M in Methanol	Sigma-Aldr.	purum	17287-03-5	F, T
p.A.: zur Analyse, z.S.: zur Synthese, f.d.O.S.: für die Organische Spurenanalyse f.d.GC: für die Gaschromatographie				
<p style="text-align: center;">Merck = VWR International GmbH, Darmstadt Sigma-Aldr. = Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München ICC = Indofine Chemical Company, Hillsborough, USA Promochem = LGC Promochem GmbH, Wesel CIL: Cambridge Isotope Laboratories, Inc., Andover, USA ABCR: ABCR GmbH & Co. KG, Karlsruhe Akzo Nobel: Akzo Nobel, Arnhem, Niederlande Synopharm: Synopharm GmbH, Barsbüttel Hempel: Hempel (Germany) GmbH, Pinneberg Ehrenstorfer: Dr. Ehrenstorfer GmbH, Augsburg</p>				

Tab. 58: Verwendete Lösungsmittel, Referenzsubstanzen und Reagenzien

11 Literaturverzeichnis

- [1] H.-J. Schulz: Nitrofen-determination with GC/MSD-NCI, *GIT Labor-Fachzeitschrift* **2002**, 46(11), 1272-5
- [2] W. Pestemer, L. Buhr, W. Heidel, K.-C. Roeber, B. Broschewitz: Clearing-up of the contamination paths of the prohibited nitrofen, *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* **2003**, 55(3), 45-50.
- [3] L. Verzegnassi, D. Royer, P. Mottier, R.H. Stadler: Analysis of chloramphenicol in honeys of different geographical origin by liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry, *Food Additives & Contaminants* **2003**, 20(4), 335-342
- [4] S. Oepkemeier, H.-D. Winkeler: Determining chloramphenicol residues in honey using microbore LC, *GIT Labor-Fachzeitschrift* **2002**, 46(9), 982, 984-985
- [5] T. Fujimura-Ito, H. Nakagawa, M. Ishinaga: Determination of oxytetracycline in frozen shrimp by HPLC, *Kaseigaku Kenkyu* **2000**, 47(1), 1-5
- [6] N. Takeda: Inspection report on animal drug residues in meat and fish collected in Hyogo (1999) - Focusing on oxytetracycline in eel and shrimp, *Hyogo-kenritsu Eisei Kenkyusho Nenpo* **1999**, 34, 140-144
- [7] A. C. Nogueira-Lima, T. C. V. Gesteira, J. Mafezoli: Oxytetracycline residues in cultivated marine shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) (Custacea, Decapoda) submitted to antibiotic treatment, *Aquaculture* **2006**, 254(1-4) 748-757
- [8] T. Wenzl, B. de la Calle, R. Gatermann, K. Hoenicke, F. Ulberth, E. Anklam: Evaluation of the results from an inter-laboratory comparison study of the determination of acrylamide in crispbread and butter cookies, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2004**, 379(3), 449-457
- [9] R. Weisshaar: Acrylamide in heated potato products - analytics and formation routes. *European Journal of Lipid Science and Technology* **2004**, 106 (11), 786-792.
- [10] Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit- homepage: *Untersuchungsergebnisse: Acrylamid in Lebensmitteln – 2006*
<http://www.lgl.bayern.de/lebensmittelrecht/acrylamid/acrylamid-werte.html>
Zugang am 23.07.2007

- [11] CLAKS: Rechnergestütztes Chemie Lager & Kataster System an der Universität Hamburg
- [12] Kataloghandbuch Chemikalien Reagenzien, Merck KGaA, Darmstadt **2003**
- [13] A. Burkert: *Noch mehr Testosteron*, on-line Artikel der Süddeutschen Zeitung <http://www.sueddeutsche.de/sport/weitere/artikel/136/122966>
Zugang am 21.07.2007
- [14] *Zahl der Dopingfälle gestiegen – Nationale Anti-Doping-Agentur legt Jahresbilanz vor*, on-line Artikel der Ärzte Zeitung:
<http://www.aerztezeitung.de/docs/2005/03/23/043a0405.asp>
Zugang am 23.07.2007
- [15] Europäische Kommission: Die Wasserrahmenrichtlinie: Tauchen Sie ein! Amt für amtliche Veröffentlichungen der Europäischen Gemeinschaften, Luxemburg **2002**
- [16] *Neue analytische Methoden zur Beurteilung der Trinkwasserqualität*, Eawag-Wave21 Status Seminar, September 2006, Dübendorf
- [17] P. Cameron, A. Ernst, S. Smolka: Schadstoffe gefährden die Meeresumwelt, WWF Deutschland, Frankfurt am Main, 1. Auflage **2006**
- [18] M. Petrovic, E. Eljarrat, M.J. Lopez de Alda, D. Barcelo: Endocrine disrupting compounds and other emerging contaminants in the environment: A survey on new monitoring strategies and occurrence data, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2004**, 378(3), 549-562
- [19] B. Bethan: *Fremdstoff-Belastung mariner Organismen sowie Verteilung, Anreicherung und Transformation ausgewählter chlororganischer Kontaminanten in der Umwelt*, Dissertation, Universität Hamburg, **2001**
- [20] R. Kallenborn, R. Gatermann, S. Planting, G.G. Rimkus, M. Lund, M. Schlabach, I.C. Burkow: Gas chromatographic determination of synthetic musk compounds in Norwegian air samples, *Journal of Chromatography A* **1999**, 846 (1+2), 295-306
- [21a] J. Müller, W. Böhmer: Occurrence of polycyclic musks in sewage sludge and their behaviour in soils and plants. Part 1: Behavior of polycyclic musks in sewage sludge of different treatment plants in summer and winter. *Journal of Soils and Sediments* **2006**, 6(4), 231-235

- [21b] J. Müller, W. Böhmer: Occurrence of polycyclic musks in sewage sludge and their behaviour in soils and plants. Part 2: Behavior of polycyclic musks in soils and plants. *Journal of Soils and Sediments* **2007**, 7(1), 36-44
- [22] M. D. Hernando, M. Mezcua, A. R. Fernandez-Alba, D. Barceló: Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments, *Talanta* **2006**, 69(2), 334-342
- [23] K.D. Bratton, A.S. Lillquist, T.D. Williams, C.E. Lunte: The determination and quantification of human pharmaceuticals in aqueous environmental samples, *ACS Symposium Series* **2003**, 850, 188-206
- [24] S. Weigel, J. Kuhlmann, H. Hühnerfuss: Drugs and personal care products as ubiquitous pollutants: occurrence and distribution of clofibric acid, caffeine and DEET in the North Sea, *Science of the Total Environment* **2002**, 295(1-3), 131-141
- [25] C.G. Daughton: *Pharmaceuticals in the Environment: Overarching issues and concerns*, Book of Abstracts, 219th ACS National Meeting, San Francisco, CA, **2000**, March 26-30
- [26] U. Schwabe, D. Paffrath: Arzneiverordnungs-Report 2001, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, **2001**
- [27] J. de Boer : Brominated flame retardants in the environment - the price for our convenience ? *Environmental Chemistry* **2004**, 1(2), 81-85
- [28] M.D. Scrimshaw, K.H. Langford, J.N. Lester: Analytical methods for the determination of alkylphenolic surfactants and polybrominated diphenyl ethers in wastewaters and sewage sludges. I A review of methodologies. *Environmental Technology* **2004**, 25(8), 967-974
- [29] M.D. Scrimshaw, K.H. Langford, J.N. Lester: Analytical methods for the determination of alkylphenolic surfactants and polybrominated diphenyl ethers in wastewaters and sewage sludges. II Method development. *Environmental Technology* **2004**, 25(9), 975-985
- [30] J.A. Field, M. Schultz, D. Barofsky: Fluorinated alkyl surfactants in groundwater and wastewater, *Chimia* **2003**, 57(1/2), 22
- [31] T. Noethe, C.B. Hannich, H. Fahlenkamp, T. Ries: Die Kläranlage als Eintragungspfad prioritär gefährlicher Stoffe in die aquatische Umwelt. *Gewaesserschutz, Wasser, Abwasser* **2004**, 193 26/10-26/21.

- [32] C. Miege, S. Durand, J. Garric, C. Gourlay, D. Wang, J.-M. Mouchel, M.-H. Tusseau-Vuillemin : Semipermeable membrane device - availability of polycyclic aromatic hydrocarbons in river waters and wastewater treatment plant effluents. *Polycyclic Aromatic Compounds* **2004**, 24(4-5), 805-825
- [33] B. van Bavel, C. Naf, P.-A. Bergqvist, D. Broman, K. Lundgren, O. Papakosta, C. Rolff, B. Strandberg, Y. Zebuehr et al: Levels of PCBs in the aquatic environment of the Gulf of Bothnia: benthic species and sediments. *Marine Pollution Bulletin* **1996**, 32(2), 210-18
- [34] J.E.M. Beurskens, P.B.M. Stortelder: Microbial transformation of PCBs in sediments: What can we learn to solve practical problems ? *Water Science and Technology* **1995**, 31(8), Integrated Water Resources Management), 99-107.
- [35] B. Gevao, K.C. Jones: Pesticides and persistent organic pollutants. *Agriculture, Hydrology and Water Quality* **2002**, 83-106
- [36] N. Aharonson, S.Z. Cohen, N. Drescher, T.J. Gish, S. Gorbach, P.C. Kearney, S. Otto, T.R. Roberts, J.W. Vonk: potential contamination of ground water by pesticides. *Pure and Applied Chemistry* **1987**, 59(10), 1419-46
- [37] A. Chovanec: Pesticides in the aquatic environment - experiences from Austrian monitoring programs. *Toxicological and Environmental Chemistry* **1995**, 51(1+4), 205-220.
- [38] S. Shawky, H. Emons: Distribution pattern of organotin compounds at different trophic levels of aquatic ecosystems. *Chemosphere* **1997**, Volume Date 1998, 36(3), 523-535.
- [39] KATALYSE Institut für angewandte Umweltforschung e.V., Köln:
<http://www.umweltlexikon-online.de/fp/archiv/RUBlandwirtsrohstoffe/Pestizide.php>
 Zugang am 11.01.2005
- [40] N. Peters: *Enantioselektive HPLC-Trennung und VCD-Strukturbestimmung von atropisomeren MeSO₂-PCB sowie Studien über deren Toxizität und deren Verteilung in Biota-Proben*, Dissertation Universität Hamburg, **2002**
- [41] A.M. Cook, R. Scholtz, T. Leisinger: Mikrobieller Abbau von halogenierten aliphatischen Verbindungen, *GWF, Wasser/Abwasser* **1988**, 129(1), 61-9
- [42] S. Weigel: *Occurrence, distribution and fate of pharmaceuticals and further polar contaminants in the marine environment*, Dissertation, Universität Hamburg, **2003**

- [43] Q.R. Bartz: *Chloroamphenicol*, US Patent 2483871, **1949**
- [44] G.W. Moersch: *Oxazoline compounds*, UW Patent 2562114, **1951**
- [45] B. Bao, P. Zhang, Y. Lee, J. Hong, C.-O. Lee, J. H. Jung: Monoindole alkaloids from a marine sponge *spongosorites* sp., *Mar. Drugs* . **2007**, 5, 31-39
- [46] G.W. Gribble: The diversity of naturally occurring organobromine compounds, *Chem. Soc. Rev.* **1999**, 28, 335-346
- [47] S. Weigel, K. Bester, H. Hühnerfuss: Identification and quantification of pesticides, industrial chemicals, and organobromine compounds of medium to high polarity in the North Sea, *Marine Pollution Bulletin* **2005**, 50, 252-263
- [48] H.F. Schöler, V.W. Niedan: Natürliche Organohalogenverbindungen in der Umwelt, *ATV-DVWK-Schriftenreihe* **2000**, 18, 10-29
[ATV-DVWK-Schriftenreihe 18 \(2000\) 10-29](http://www.rzuser.uni-heidelberg.de/~h05/pdf-files/schoelerATV2000.pdf)
<http://www.rzuser.uni-heidelberg.de/~h05/pdf-files/schoelerATV2000.pdf>
- [49] G.W. Gribble: The diversity of naturally produced organohalogens, *Chemosphere* **2003**, 52, 289-297
- [50] J. Kuhlmann: *Untersuchungen zur Derivatisierung polarer Umweltkontaminanten und deren Bestimmung mittels Gaschromatographie/Massenspektrometrie*, Diplomarbeit, Universität Hamburg **2001**
- [51] J. Falbe, M. Regitz (Hrsg.): *Römpp Chemie Lexikon*, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 9. Auflage **1989**
auch:
Römpp Chemie-Lexikon online:
RÖMPP Online Version 2.5 vom 7. November 2004
<http://www.roempp.com/prod/index1.html>
- [52] C. Effertz: Combinations of herbicidal aromatic carboxylic acids and agents for safeness, *U.S. Pat. Appl. Publ.* **2003**
- [53] L.J. Audus (Hrsg.): *Herbicides*, Vol I, Academic Press, London, 2. Auflage **1976**
- [54] J.G. Becker, D.A. Stahl, B.E. Rittmann: Reductive dehalogenation and conversion of 2-chlorophenol to 3-chlorobenzoate in a methanogenic sediment community: implications for predicting the environmental fate of chlorinated pollutants, *Applied and Environmental Microbiology* **1999**, 5169-5172

- [55] T. Nagaoka, K. Umezu, K. Kouno, S. Yoshida, Y. Ishiguro, T. Ando: Selective inhibitors of germination of legume seeds in acitvated sludge compost, *Plant Growth Regulation* **1996**, 20(3), 295-302
- [56] V.W. Niedan, F. Keppler, B. Ahlsdorf, H. F. Schöler: De novo formation of organochlorines in a sewage treatment plant, *Biogeochemistry* **2003**, 62(3) 277-287
- [57] R.J. Cremllyn (Hrsg.): *Agrochemicals*, John Wiley & Sons, Chichester **1991**
- [58] K.A. Hassall: *The Biochemistry and Uses of Pesticides*, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 2. Auflage **1990**
- [59] A. Burger, H. Wachter, *Hunnius pharmazeutisches Wörterbuch*, de Gryter, Berlin, 8. Auflage **1998**
- [60] T. Heberer, H.-J. Stan: Determination of clofibric acid and *N*-(phenylsulfonyl)-sarcosine in sewage, river and drinking water, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **1997**, 67, 113-124
- [61] H.-R. Buser, M.D. Müller, N. Theobald: Occurrence of the pharmaceutical drug clofibric acid and the herbicide mecoprop in various Swiss lakes and in the North Sea, *Environ. Sci. Technol.* **1998**, 32, 188-192
- [62] T. Ternes, R.W. Hirsch, M. Stumpf, T. Eggert, B.F. Schuppert, K. Haberer, *Nachweis und Screening von Arzneimittelrückständen, Diagnostika und Antiseptika in der aquatischen Umwelt*, ESWE Insitut für Wasserforschung und Wassertechnologie GmbH, Wiesbaden, **1999**
- [63a] A. Lajeunesse, C. Gagnon: Determination of acidic pharmaceutical products and carbamazepine in roughly primary-treated wastewater by solid-phase extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **2007**, 87(8), 565-578
- [63b] S. S. Verenitch, C. J. Lowe, A. Mazumder: Determination of acidic drugs and caffeine in municipal wastewaters and receiving waters by gas chromatography-ion trap tandem mass spectromtry, *J. Chromatogr. A* **2006**, 1116(1-2), 193-203
- [64] S. Weigel, U. Berger, E. Jensen, R. Kallenborn, H. Thoresen, H. Hühnferfuss: Determination of selected pharmaceuticals and caffeine in sewage and seawater from Tromsø/Norway with emphasis on ibuprofen and its metabolites, *Chemosphere* **2004** (56) 583-592

- [65] T.P. Knepper, Thomas P. Analysis and mass spectrometric characterization of the insect repellent Bayrepel and its main metabolite Bayrepel-acid. *J. Chromatogr. A* **2004**, 1046(1-2), 159-166.
- [66] A. Standler, A. Schatzl, C.W. Klampfl, W. Buchberger: Determination of the Insect Repellent Bayrepel® in Pool and Lake Water by Gas Chromatography after Preconcentration with Solid-Phase Extraction and Stir-Bar-Sorptive Extraction, *Microchim. Acta* **2004**, 148, 151-156
- [67] M.N. Sarrion, F.J. Santos, E. Moyano, M.T. Galceran: Solid-phase microextraction liquid chromatography/tandem mass spectrometry for the analysis of chlorophenols in environmental samples. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2003**, 17(1), 39-48.
- [68] A. Tor, Y. Cengeloğlu, M.E. Aydin, H. Wichmann, M. Bahadir: An investigation into the analytical methods for the determination of selected chlorinated phenols in aqueous phase, *Fresenius Environmental Bulletin* **2004**, 13(11b,y), 1329-1333
- [69] A. Granmo, R. Ekelund, M. Berggren, E. Brorström-Lundén, P.-A. Bergqvist: Temporal Trend of Organochlorine Marine Pollution Indicated by Concentrations in Mussels, Semipermeable Devices, and Sediment, *Environ. Sci. Technol.* **2000**, 34(16), 3323-3329
- [70] D.G. Crosby, H. O. Tutlass: Photodecomposition of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid, *J. Agr. Food Chem.* **1966**, 14(6), 596-599
- [71] A.E. Smith, A.J. Aubin: Metabolites of [¹⁴C]-2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid in Saskatchewan Soils, *J. Agric. Food Chem.* **1991**, 39(11), 2019-2021
- [72] L.A. Reitzel, N. Tuxen, A. Ledin, P.L. Berg: Can Degradation Products Be Used as Documentation for Natural Attenuation of Phenoxy Acids in Groundwater ?, *Environ. Sci. Technol.* **2004**, 38, 457-467
- [73] N. Reineke: *Biotestgeleitete Analytik von ökotoxikologisch relevanten organischen Substanzen in Sedimentextrakten von Nord- und Ostsee*, Dissertation, Universität Hamburg, **2003**
- [74] J.L. Boyle, R. C. Lindsay, D.A. Stuibler: Occurrence and properties of flavor-related bromophenols found in the marine environment: a review., *Journal of Aquatic Food Product Technology* **1993**, 2(2), 75-112

- [75] D. Steffen, G. Lach: *Phthalate und Trichlosan in Sedimenten und Schwebstoffen niedersächsischer Gewässer*, Niedersächsisches Landesamt für Ökologie, 1. Auflage **2000**
- [76] K. Bester: Triclosan in a sewage treatment process – balances and monitoring data, *Water Research* **2003**, 37(16), 3891-3896
- [77] D.C. McAvoy, B. Schatowitz, M. Jacob, A. Hauk, W.S. Eckhoff: Measurement of triclosan in wastewater treatment systems, *Environ. Toxicol. Chem.* **2002**, 21, 1323-1329
- [78] K. Bester: Fate of triclosan and triclosan-methyl in sewage treatment plants and surface waters, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **2005**, 49(1), 9-17
- [79a] W. Shi, K. Kujawa-Roeleveld: *Estrogens in aquatic environment: A review*, Veröffentlichung im Rahmen des Projektes SWITCH (Sustainable Water Management Improves Tomorrow's Cities' Health) **2007**
- [79b] I. R. Falconer, H. F. Chapman, M. R. Moore, G. Ranmuthugala: Endocrine-disrupting compounds: A review of their challenge to sustainable and safe water supply and water reuse, *Environmental Toxicology*, **2006**, 21(2)
- [80] A. Gentili, D. Perret, S. Marchese, R. Mastropasqua, R. Curini, A. Di Corcia: Analysis of free estrogens and their conjugates in sewage and river waters by solid - phase extraction then liquid chromatography – electrospray - tandem mass spectrometry, *Chromatographia* **2002**, 56(1/2), 25-32
- [81] Y. Filali-Meknassi, M. Auriol, C. D. Adams, R. Y. Surampalli: Quantification of steroid sex hormones using solid-phase extraction followed by liquid chromatography-mass spectrometry, *Water Environment Research* **2007**, 79(6), 687-696
- [82] H.M. Kuch, K. Ballschmiter: Determination of endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCI)-MS in the picogram per liter range, *Environ. Sci. Technol.* **2001**, 35(15), 3201-6
- [83] C. Kelly: Analysis of steroids in environmental water samples using solid-phase extraction and ion-trap gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* **2000**, 872, 309-314

- [84] T.A. Ternes, H. Andersen, D. Gilberg, M. Bonerz: Determination of Estrogens in Sludge and Sediments by Liquid Extraction and GC/MS/MS, *Anal. Chem.* **2002**, 74, 3498-3504
- [85] Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie (Hrsg.): 3,4-Dichloranilin, 2,5-Dichloranilin, *Kurzfassung Toxikologische Bewertungen* **1993**, 10
- [86] T. Reemtsma, M. Jekel: *Organic pollutants in the water cycle*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2006**
- [87] S. R. Sørensen, G.D. Bending, C. S. Jacobsen, A. Walker, J. Aamend: Microbial degradation of isoproturon and related phenylurea herbicides in and below agricultural fields, *FEMS Microbiol. Ecol.* **2003**, 45(1), 1-11
- [88] S. Salvestrini, P. DiCerbo, S. Capasso: Kinetics of the chemical degradation of diuron, *Chemosphere* **2002**, 48, 69-73
- [89] S. Susarla, Y. Yonezaws, S. Masunaga : Reductive transformations of halogenated aromatics in anaerobic estuarine sediment : kinetics, products and pathways, *Wat. Res.* **1998**, 32(3), 639-648
- [90] E.P. Kuhn, J.M. Sufilta: Sequential Reductive Dehalogenation of Chloroanilines by Microorganisms from a Methanogenic Aquifer, *Environ. Sci. Technol.* **1989**, 23, 848-852
- [91] Landesumweltamt NRW (Hrsg.): Gewässergütebericht **1997**, Kapitel 7
- [92] S. Biselli: *Entwicklung einer analytischen Methode zum Nachweis von ökotoxikologisch relevanten organischen Problemstoffen in Sedimenten und Biota unter besonderer Berücksichtigung von Irgarol, synthetischen Moschusduftstoffen und deren Transformationsprodukten*, Dissertation, Universität Hamburg, **2001**
- [93] K. Bester, H. Hühnerfuss: Triazine herbicide concentrations in the German Wadden Sea, *Chemosphere* **1996**, 32(10), 1919-1928
- [94] A. Kotrikla, G. Gatidou, T. D. Lekkas: Monitoring of triazine and phenylurea herbicides in the surface waters of Greece, *Journal of Environmental Science and Health B* **2006**, 41(2), 135-144
- [95] S. Biselli, K. Bester, H. Hühnerfuss, K. Fent: Concentrations of the antifouling component Irgarol 1051 and of organotins in water and sediments of German North and Baltic sea marinas, *Marine Pollution Bulletin* **2000**, 40(3) 233-243

- [96] P.R. Gardinali, M.D. Plasencia, C. Maxey: Occurrence and transport of Irgarol 1051 and its major metabolite in coastal waters from South Florida, *Marine Pollution Bulletin* **2004**, 49(11-12), 1072-1083
- [97] U. Steck (Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft): Rückruf von Herbiziden, Allgemeinverfügung zur Rückgabe der Pflanzenschutzmittel mit dem Wirkstoff Dichlobenil, 7. Januar **2005**
<http://www.lfl.bayern.de/ips/pflanzenschutzrecht/10367/>
- [98] Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit: „Das Wichtigste in Kürze“, Widerrufene Zulassungen, 19. Januar **2005**
<http://www.bvl.bund.de/pflanzenschutz/Aktuelles/Widerrufe.pdf>
- [99] P. Thomas, S. Gabriel, A. Weber, K. Haberer: Sewage works as the main source of pesticides in surface water. Balance of the entry. *Vom Wasser* **1996**, 86, 247-262
- [100] M.S. Holtze, R.K. Juhler, J. Aamand, H.C.B. Hansen: Transformation of dichlobenil to 2,6-dichlorobenzamide (BAM) by soil bacteria harboring nitrile hydratases and amidases or nitrilases, *European Symposium on Environmental Biotechnology*, ESEB 2004 Proceedings, Oostende, Belgium, Apr. 25-28, **2004**, 779-783
- [101] L. Clausen, F. Larsen, H.-J. Albrechtsen: Sorption of the herbicide dichlobenil and the metabolite 2,6-dichlorobenzamide on soils and aquifer sediments, *Environ. Sci. Technol.* **2004**, 38, 4510-4518
- [102] M. Hafner: Investigation and evaluation on pollution of ground and drinking water with residues of dichlorobenzamide, *Gesunde Pflanzen* **2001**, 53(7+8), 201-217
- [103] Z. Moldovan, G. Schmutzer, F. Tusa, R. Calin, A. C. Alder: An overview of pharmaceuticals and personal care products contamination along the river Someș watershed, Romania, *J. Environ. Monit.* Artikel im Druck, erste on-line Veröffentlichung 29. Juni **2007**
- [104] T.P. Knepper: Analysis and fate of insect repellents, *Water Science and Technology* **2004**, 50(5), 301-308
- [105] I.J. Buerge, T. Poiger, M.D. Müller, H.-R. Buser: Caffeine, an anthropogenic marker for wastewater contamination of surface waters, *Environ. Sci. Technol.* **2003**, 37, 691-700

- [106] M. Clara, B. Strenn, N. Kreuzinger: Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behavior of Carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater filtration, *Water Research* **2004**, 38, 947-954
- [107] K.A. Maruya: Di- and tribromoindoles in the common oyster, *Chemosphere* **2003**, 52, 409-413
- [108] U. Führer, A. Deißler, K. Ballschmiter: Determination of biogenic halogenated methyl-phenyl ethers (halogenated anisoles) in the picogram m⁻³ range in air, *Fresenius J. Anal. Chem.* **1996**, 354, 333-343
- [109] U. Führer, K. Ballschmiter: Bromochlormethoxybenzenes in the marine troposphere of the Atlantic ocean: a group of organohalogenes with mixed biogenic and anthropogenic origin, *Environ. Sci. Technol.* **1998**, 32(15), 2208-2215
- [110] A.-S. Allard, M. Remberger, A.H. Neilson: Bacterial *O*-Methylation of Halogen-Substituted Phenols, *Applied and Environmental Microbiology* **1987**, 839-845
- [111] J.L. Hill, A.D. Hocking, F. B. Whitfield: The role of fungi in the production of chloroanisoles in general purpose freight containers, *Food Chemistry* **1995**, 54(2), 161-6
- [112] M.L. Álvarez-Rodríguez, L. López-Ocaña, J.M. López-Coronade, E. Rodríguez, M.J. Matínez, G. Larriba, J.-J. R. Coque: Cork taint of wines: role of the filamentous fungi isolated from cork in the formation of 2,4,6-trichloroanisole by *O*-methylation of 2,4,6-trichlorophenole, *Applied and Environmental Microbiology* **2002**, 5860-5869
- [113] A. Malmvärn: *Brominated natural products at different trophic levels in the Baltic Sea*, Dissertation, Universität Stockholm, **2007**
- [114] T. Miyazaki, S. Kaneko, S. Horii, T. Yamagishi: Identification of polyhalogenated anisoles and phenols in oysters collected from Tokyo Bay, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **1981**, 26, 577-584
- [115] C. Flodin, F.B. Whitfield: Brominated anisoles and cresols in the red alga polysiphonia sphaerocarpa, *Phytochemistry* **2000**, 53(1), 77-80
- [116] I. Watanabe, T. Kashimoto, R. Tatsukawa: Brominated phenols and anisoles in river and marine sediments in Japan, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **1985**, 35, 272-278

- [117] A. Peña-Neira, B. Fernández de Simón, M.C. García-Vallejo, T. Hernández, E. Cadahía, J. A. Suarez: Presence of cork-taint responsible compounds in wines and their cork stoppers, *Eur. Food Res. Technol* **2000**, 211: 257-261
- [118] A. Lindström, I.J. Buerge, T. Poiger, P.-A. Bergqvist, M.D. Müller, H.-R. Buser: Occurrence and environmental behavior of the bactericide triclosan and its methyl derivative in surface waters and in wastewater, *Environ. Sci. Technol.* **2002**, 36, 2322-2329
- [119] N. Chung, S.D. Aust: Degradation of pentachlorophenol in soil by *Phanerochaete chrysosporium*, *Journal of Hazardous Materials* **1995**, 41, 177-183
- [120] N. Xue, X. Xu: Composition, distribution, and characterization of suspected endocrine-disrupting pesticides in Beijing GuanTing reservoir (GTR), *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **2006**, 50(4), 463-473
- [121] M. Weide, D. Bockmuehl, T. Gerke, A. Bolte, R. Breves, S. Doering: Inhibition of the asexual reproduction of fungi, *PCT Int. Appl.* **2004**
- [122] M. Huber, R. Franz: Identification of migratable substances in recycled high density polyethylene collected from household waste, *J. High Resol. Chromatogr.* **1997**, 20(8), 427-429
- [123] H. Hühnerfuss, S. Biselli, R. Gatermann: Enantioselective analysis of polycyclic musks as a versatile tool for the understanding of environmental processes, *Handbook of Environmental Chemistry* **2004**, 3(X), 213-231
- [124] J.A. Andresen, D. Muir, D. Ueno, C. Darling, N. Theobald, K. Bester: emerging pollutants in the North Sea in comparison to Lake Ontario, Canada, Data, *Environmental Toxicology and Chemistry* **2007**, 26(6), 1081-1089
- [125] K. Bester: Polycyclic musks in the Ruhr catchment area- transport, discharges of waste water, and transformation of HHCB, AHTN and HHCB-lactone, *Journal of Environmental Monitoring* **2005**, 7(1), 43-51
- [126] H.G. Maier: *Lebensmittel und Umweltanalytik: Methoden und Anwendungen*, Steinkopff Verlag GmbH & Co KG, Darmstadt, **1990**
- [127] H.-J. Hübschmann, *Handbuch der GC/MS*, VCH, Weinheim, **1996**
- [128] M. Oehme: *Praktische Einführung in die GC/MS-Analytik mit Quadrupolen: Grundlagen und Anwendungen*, Hürthig GmbH, Heidelberg, **1996**

- [129] K. Möller: *Verteilung, Schicksal und toxische Wirkung chlorierter, organischer Problemstoffe in der Umwelt und deren ökotoxikologische Bewertung*, Dissertation, Universität Hamburg, **1998**
- [130] M.A. Quilliam, W.R. Hardstaff, J.F. Anacleto, D.M. LeBlanc, V. Stergiopoulos, K.L. Dick, M.T. Bowser, J.M. Curtis, D.J. Embree: Preparation and certification of perdeuterated polycyclic aromatic compounds intended for use as surrogate standards, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* **1994**, 350(3), 109-118
- [131] M. delOlmo, A. Gonzalez-Casado, N.A. Navas, J.L. Vichez: Determination of bisphenol A (BPA) in water by gas chromatography-mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta* **1997**, 346(1), 87-92
- [132] A. Fernandez-Gutierrez, J.L. Martinez-Vidal, F.J. Arrebola-Liebanas, A. Gonzalez-Casado, J.L. Vilchez: Determination of endosulfan and some pyrethroids in waters by micro liquid-liquid extraction and GC-MS, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* **1998**, 360(5), 568-572
- [133] S. Strassnig, T. Wenzl, E.P. Lankmayr: Microwave – assisted derivatization of volatile carbonyl compounds with *O*-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)hydroxylamine, *J. Chromatogr. A* **2000**, 891(2), 267-273
- [134] E.E. Stashenko, M.A. Puertas, W. Salgar, W. Delgado, J.R. Martinez: Solid – phase microextraction with on – fiber derivatization applied to the analysis of volatile carbonyl compounds, *J. Chromatogr. A* **2000**, 886(1+2), 175-181
- [135] E. E. Stashenko, J.W. Wong, J.R. Martinez, A. Mateus, T. Shibamoto: High resolution gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection of saturated volatile aldehydes derivatized with 2-hydrazinobenzothiazole, *J. Chromatogr. A* **1996**, 752(1+2), 209-216
- [136] H-L. Cao, C.N. Nicholas: Gas chromatographic determination of volatile alkenes with on – column bromination and electron – capture detection, *J. Chromatogr. A* **1995**, 690(2), 187-195
- [137] M. Fernandez-Whaley, F. Mühlberger, A. Whaley, T. Adam, R. Zimmermann, E. Rohwer, A. Walte: On – line derivatization for resonance – enhanced multiphoton ionization time – of – flight mass spectrometry: Detection of aliphatic aldehydes and amines via reactive coupling of aromatic photo ionization labels, *Anal. Chem.* **2005**, 77, 1-10

- [138] K.L. Koller, H.C. Dorn: Acid – catalyzed reactions of 2,2,2-trifluorodiazoethane for analysis of functional groups by ^{19}F nuclear magnetic resonance, *Anal. Chem.* **1982**, 54, 529-533
- [139] D.J. Gale, N.A. Evans: Silicon – ^{29}Si NMR spectroscopy in carbohydrate chemistry: galactose derivatives, *Organic Magnetic Resonance* **1983**, 21(9), 567-569
- [140] W.J. Goux: The determination of complex carbohydrate structure by using carbon resonances of peracetylated derivatives, *Carbohydrate Research* **1988**, 184, 47-65
- [141] E. Stahl (Hrsg.): *Dünnschichtchromatographie*, Springer – Verlag Berlin, 2. Auflage **1967**
- [142] L. Zhang, J. You, G. Ping, L. Zhang, J. Duan, W. Zhang, Z. Liang, Y. Zhang : Analysis of aromatic amines by high – performance liquid chromatography with pre-column derivatization by 2-(9-carbazole)-ethyl-chlorformate, *Analytica Chimica Acta* **2003**, 494(1-2), 141-147
- [143] I. Bobeldijk, K. Broess, P. Speksnijder, T. van Leerdam: Determination of the herbicide amitrole in water with pre – column derivatization, liquid chromatography and tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* **2001**, 938(1-2), 15-22
- [144] D. Nicoll-Griffith, M. Scartozzi, N. Chiem: Automated derivatization and high-performance liquid chromatography analysis of ibuprofen-enantiomers, *J. Chromatogr. A* **1993**, 653(2), 253-259
- [145] J. You, W. Zhang, Q. Zhang, L. Zhang, C. Chau, Y. Zhang: Development of a precolumn derivatization method for the determination of free amines in wastewater by high performance liquid chromatography via fluorescent detection with 9-(2-hydroxyethyl)acridone, *Anal. Chem.* **2002**, 74(1), 261-269
- [146] J.T. Stewart, W.J. Bachman: An update on post-column derivatization methodology in high – performance liquid chromatography, *TrAC, Trends in Analytical Chemistry* **1988**, 7(3), 106-111
- [147] B.D. McGarvey: Liquid chromatograph determination of *N*-methylcarbamate pesticides using a single – stage post – column derivatization reaction and fluorescence detection, *J. Chromatogr. A* **1989**, 481, 445-451

- [148] A. Townshend, D.T. Burns, R. Lobinski, E.J. Newman, G.G. Guilbault, Z. Marczenko, H. Onishi (Hrsg.): *Dictionary of analytical reagents*, Chapman & Hall, London, UK, 1st Edition **1993**
- [149] J. Drozd: Chemical derivatization in gas chromatography, *J. Chromatogr.* **1975**, 113, 303-356
- [150] R.J. Wells: Recent advantages in non-silylation techniques for gas chromatography, *J. Chromatogr. A* **1999**, 843(1+2), 1-18
- [151] G. van Look: *Silylation agents*, Fluka Chemie AG, Buchs, Switzerland **1988**
- [152] R.I. Holtey-Weber, H.A. Färber, H.F. Schöler: On-line-silylation for the determination of endocrine disruptors in water using GC – MS/MS, *Vom Wasser* **1999**, 92, 1-9
- [153] I. Rodriguez, J. Carpinteiro, J.B. Quintana, A.M. Carro, R.A. Lorenzo, R. Cela: Solid – phase microextraction with on – fiber derivatization for the analysis of anti – inflammatory drugs in water, *J. Chromatogr. A* **2004**, 1024(1-2), 1-8
- [154] K.S. Docherty, P.J. Ziemann: On – line, inlet – based trimethylsilyl derivatization for gas chromatography of mono- and dicarboxylic acids, *J. Chromatogr. A* **2001**, 921(2), 265-275
- [155] C. Basheer, H.K. Lee: Analysis of endocrine disrupting alkylphenols, chlorophenols and bisphenol – A using hollow fiber – protected liquid – phase microextraction coupled with injection port – derivatization gas chromatography – mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* **2004**, 1057(1-2), 163-169
- [156] M.J. Lo´pez de Alda, D. Barcelo: Review of analytical methods for the determination of estrogens and progesterons in waste waters, *Fresenius J. Anal. Chem.* **2001**, 372(4), 437-447
- [157] L. Dehennin: Mixed silyl ether – perfluoroacyl ester derivatives for gas chromatography / mass spectrometry of oestrogens. Application to the quantitative determination of oestriole in human plasme, *Biomedical and Environmental Mass Spectrometry* **1989**, 18, 314-320
- [158] M. Iwai, H. Kanno, M. Hashino, J. Suzuki, T. Yanaihara, T. Nakayama: Determination of serum unconjugated estrone, estradiole-17 β and estriol during pregnancy by selected ion monitoring, *J. Chromatogr.* **1981**, 225, 275-282

- [159] H.M. Kuch, K. Ballschmiter: Determination of endogenous and exogenous estrogens in effluents from sewage treatment plants at the ng/L-level, *Fresenius J. Anal. Chem.* **2000**, 366(4), 392-5
- [160] R. Holtey-Weber: *Multimethode zur Bestimmung von endokrin wirksamen Substanzen in Wasser*, Dissertation, Universität Heidelberg, **2001**
- [161] M.S. Díaz-Cruz, M.J. López, R. López, D. Barceló: Determination of estrogens and progestogens by mass spectrometric techniques (GC/MS, LC/MS and LC/MS/MS), *J. Mass Spectrom.* **2003**, 38, 917-923
- [162] R. Jeannot, H. Sabik, E. Sauvard, T. Dagnac, K. Dohrendorf : Determination of endocrine – disrupting compounds in environmental samples using gas and liquid chromatography with mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* **2002**, 974, 143-159
- [163] J. Song, L. Wadhwa, B.A. Bejjani, W.E. O'Brien: Determination of 3-keto-4-ene steroids and their hydroxylated metabolites catalyzed by recombinant human cytochrome P 450 1B1 enzyme using gas chromatography – mass spectrometry with trimethylsilyl derivatization, *J. Chromatogr. B* **2003**, 791, 127-135
- [164] A. Shareef, C.J. Parnis, M.J. Angove, J.D. Wells, B.B. Johnson: Suitability of *N,O*-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide and *N*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-*N*-methyltrifluoroacetamide as derivatization reagents for the determination of the estrogens estrone and 17 α -ethinylestradiol by gas chromatography – mass spectrometry, *J. Chromatogr.A* **2004**, 1026, 295-300
- [165] M. Donike, J. Zimmermann: Zur Darstellung von Trimethylsilyl-, Triethylsilyl- und *tert*-Butylmethylsilyl-enoläthern von Ketosteroiden für gas – chromatographische und massenspektrometrische Untersuchungen, *J. Chromatogr.* **1980**, 202, 483-486
- [166] M. Donike, J. Zimmermann, K.R. Baerwald, W. Schaenzer, V. Christ, K. Klostermann, G. Opfermann: Routine determination of anabolic steroids in urine, *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* **1984**, 35(1), 14-16
- [167] G.P. Cartoni: Capillary gas chromatography and mass spectrometry detection of anabolic steroids II, *Journal of High Resolution Chromatography & Chromatography Communications* **1985**, 8, 539-543
- [168] S. Ahua: Derivatization in Gas Chromatography, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **1976**, 65(29), 163-182

- [169] M. Syhre, G. Hanschmann, R. Heber: Derivatisierungstechniken in der Rückstandsanalytik, *GIT Fachz. Lab.* **1996**, 11, 1121-1126
- [170] J.M. Rosenfeld: Solid – phase analytical derivatization: enhancement of sensitivity and selectivity of analysis, *J. Chromatogr. A* **1999**, 843, 19-27
- [171] T.W. Moy, W.C. Brumley: Multiresidue determination of acidic pesticides in water by HPLC – DAD with confirmation by GC – MS using conversion to the methyl ester with trimethylsilyldiazomethane, *Journal of Chromatographic Science* **2003**, 41(7), 343-349
- [172] DIN 38407-25: Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Gemeinsam erfaßbare Stoffgruppen (Gruppe F); Bestimmung von Dalapon, Trichloressigsäure und ausgewählten weiteren Halogenessigsäuren mittels Gaschromatographie (GC-ECD und/oder GC-MS) nach Flüssig-Flüssig-Extraktion und Derivatisierung (F25); Entwurf, *Vom Wasser*, **2000**, 95 D23-D49.
- [173] T. Ternes, M. Stumpf, B. Schuppert, K. Haberer: Simultaneous determination of antiseptics and acidic drugs in sewage and river water, *Vom Wasser* **1998**, 90, 295-309
- [174] M.-R. Lee, R.-J. Lee, Y.-W. Lin, C.-M. Chen, B.-H. Hwang: Gas-phase postderivatization following solid-phase microextraction for determining acidic herbicides in water, *Anal. Chem.* **1998**, 70, 1963-1968
- [175] M. Bataineh, J. Nolte, B. Kuhlmann, N. Zullei-Seibert, M. Borges, M. Grote: Degradation behavior of selected pharmaceuticals and their main metabolites in model systems for slow sand filtration: *Current Pharmaceutical Analysis* **2006**, 2(3), 313-322
- [176] F. Werres, J. Stien, P. Balsaa, A. Schneider; P. Winterhalter, H. Overath: Automatisierte Bestimmung polarer Arzneimittelrückstände in Wässern mittels Festphasenmikroextraktion (SPME) und Derivatisierung, *Vom Wasser* **2000**, 94, 134-147
- [177] H. Färber; S. Peldszus, H.F. Schöler: Gas chromatographic determination of acidic pesticides in water after methylation with trimethylsulfonium hydroxide, *Vom Wasser* **1991**, 76, 13-20

- [178] C.L. Gabelish, P. Crisp, R.P. Schneider: Simultaneous determination of chlorophenols, chlorobenzenes and chlorobenzoates in microbial solutions using pentafluorobenzylbromide derivatization and analysis by gas chromatography with electron – capture detection, *J.Chromatogr A*. **1996**, 749, 165-171
- [179] W. Hhunag, A.B. McKague, D.W. Reeve, J.H. Carey: Identification of chlorinated fatty acids in fish by gas chromatography/mass spectrometry with negative ion chemical ionization of pentafluorobenzyl esters, *Journal of Mass Spectrometry* **2004**, 39(1), 51-60
- [180] A. Scheyer, O. Briand, S. Morville, P. Mirabel, M. Millet: Analysis of trace levels of pesticides in rainwater by SPME and GC-tandem mass spectrometry after derivatisation with PFBBBr, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2007**, 387, 359-386
- [181] K. Reddersen, T. Heberer: Multi - component methods for the detection of pharmaceutical residues in various waters applying solid phase extraction (SPE) and gas chromatography with mass spectrometric (GC - MS) detection, *Journal of Separation Science* **2003**, 26(14-16), 1443-1450
- [182] Y. Hanada, I. Imaizumi, K. Kido, T. Tanizaki, K. Minoru, H. Shiraishi, M. Soma: Application of a pentafluorobenzylbromide derivatization method in gas chromatography / mass spectrometry of trace levels of halogenated phenols in air, water and sediment samples, *Analytical Sciences* **2002**, 18(6), 655-659
- [183] A. Hulshoff, A.D. Förch: Alkylation with alkyl halides as a derivatization method for the gas chromatographic determination of acidic pharmaceuticals, *J.Chromatogr.* **1981**, 220, 275-311
- [184] S. Cardenas, M. Gallego, M. Valcarcel: A partially automated pretreatment module for routine analysis for seventeen non – steroid antiinflammatory drugs in race horses using gas chromatography / mass spectrometry, *Anal. Chem.* **1996**, 68, 118-123
- [185] E. Eriksson, A. Ledin: Analysis of long – chain fatty acids in grey wastewater with in – vial derivatization, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* **2003**, 83(12), 987-995
- [186] X. Peng, Z. Wang, C. Yang, F. Chen, B. Mai: Simultaneous determination of endocrine-disrupting phenols and steroid estrogens in sediment by gas chromatography-mass spectrometry, *J.Chromatogr. A* **2006**, 1116(1-2), 51-56

- [187] M.S. Narvekar, A.K. Srivastan: Separation of banned amine isomers in relation to german ban on azo dyes by derivatization on GC – MS, *Chromatographia* **2002**, 55(11/12) 729-735
- [188] I. Abe, D. Nagamatsu, T. Nakahara, G. Fabian: Separation of warfarin enantiomers by capillary gas chromatography with chiral stationary phase, *Chemistry Letters*, **2004**, 33, 260-261
- [189] B. Paschold, R. Bandur: Extraktive Pentafluorbenzoylierung durch Phasentransferkatalyse, Derivatisierungsverfahren für Aminophenole in Wasserproben, *GIT Fachz. Lab.* **1992**, 36(10), 973-974, 977-979
- [190] R.A. Booth, J.N. Lester: A method for the analysis of phenol and monochlorinated and brominated phenols from complex aqueous samples, *Journal of Chromatographical Science* **1994**, 32(7), 259-264
- [191] F. Bianchi, M. Careri, C. Mucchino, M. Musci: Improved determination of chlorophenols in water by solid – phase – microextraction followed by benzylation and gas chromatography with electron capture detection, *Chromatographia* **2002**, 55 (9/10), 595-600
- [192] S. Boitsov, S. Meier, J. Klungsoyr, A. Svardal: Gas chromatography – mass spectrometry analysis of alkylphenols in produced water from offshore oil installations as pentafluorobenzoate derivatives, *J. Chromatogr. A* **2004**, 1059, 131-141
- [193] S. Meier, J. Klungsoyr, S. Boitsov, T. Eide, A. Svardal: Gas chromatography – mass spectrometry analysis of alkylphenols in cod (*Gadus morhua*) tissues as pentafluorobenzoate derivatives, *J. Chromatogr. A* **2005**, 1062, 255-268
- [194] M. Preu, D. Guyot, M. Petz : Development of a gas chromatography – mass spectrometry method for the analysis of aminoglycoside antibiotics using experimental design for the optimisation of the derivatisation reactions, *J. Chromatogr. A* **1998**, 818, 95-108
- [195] D. Pardasani, M. Palit, A.K. Gupta, P.K. Kanaujia, D.K. Dubey: Gas chromatography – mass spectrometry analysis of trifluoroacetyl derivatives of precursors of nitrogen and sulfur mustards for verification of chemical weapons convention, *J. Chromatogr. A* **2004**, 1059, 157-164

- [196] K. Schoene, H.-J. Bruckert, J. Steinhanses, A. König: Two stage derivatization with *N*-(*tert*.-butyldimethylsilyl)-*N*-methyl-trifluoroacetamide (MTBSTFA) and *N*-methyl-bis-(trifluoroacetamide) (MBTFA) for the gas – chromatographic analysis of OH-, SH-, and NH- compounds, *Fresenius J. Anal. Chem.* **1994**, 348, 364-370
- [197] R. Frassanito, G. DeSocio, D. Laura, D. Rotilio: Determination of s-Triazine metabolites: A mass spectrometric investigation, *J. Agric. Food Chem.* **1996**, 44, 2282-2286
- [198] S. Paterson, N. McLachlan-Troup, R. Cordero, M. Dohnal, S. Carman: Qualitative Screening for drugs of abuse in hair using GC – MS, *Journal of Analytical Toxicology* **2001**, 24, 203-208
- [199] C. Sanchez-Brunete, A.I. Garcia-Valcarcel, J.L. Tadeo: Determination of residues of phenoxy acid herbicides in soil and cereals by gas chromatography – ion trap detection, *J. Chromatogr. A* **1994**, 675(1-2) 213-218
- [200] A.D. Nikolaou, S.K. Golfinopoulos, M.N. Kostopoulou, T.D. Lekkas: Determination of haloacetic acids in water by acidic methanol esterification – GC – ECD method, *Water Research* **2002**, 36(4), 1089-1094
- [201] N. Posecion Jr, E. Ostrea Jr, D. Bielawski, M. Corrion, J. Seagraves, Y. Jin: Detection of exposure to environmental pesticides during pregnancy by the analysis of maternal hair using GC-MS, *Chromatographia* **2006**, 64, 681-687
- [202] I. Molnar-Perl, M. Morvaki: Esterification of aliphatic hydroxy acids to *n*-propyl esters in aqueous solutions for their gas chromatographic determination, *Cromatographia* **1987**, 23(10), 760-763
- [203] S. S. Verenitch, C. J. Lowe, A. Mazumder: Determination of acidic drugs and caffeine in municipal wastewaters and receiving waters by gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* **2006**, 1116, 193-203
- [204] P. Husek: Chloroformates in gas chromatography as general purpose derivatizing agents, *J. Chromatogr. A* **1998**, 717, 57-91
- [205] M.J.M. Wells, L.Z. Yu: Solid-phase extraction of acidic herbicides, *J. Chromatogr. A* **2000**, 885, 237-250

- [206] A. Lajeunesse, C. Gagnon: Determination of acidic pharmaceutical products and carbamazepine in roughly primary-treated wastewater by solid-phase extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of Environmental Analytical Chemistry* **2007**, 87, 565-578
- [207] T.G. Sobolevsky, A.I. Revelsky, B. Miller, V. Oriedo, E.S. Chernetsova, I.A. Revelsky: Comparison of silylation and esterification/acylation procedures in GC – MS analysis of amino acids, *J. Sep. Sci.* **2003**, 26, 1474-1478
- [208] C. Boucharat, V. Desauziers, P. LeClirec: Experimental design for the study of two procedures for simultaneous GC analysis of acidic herbicides and water chlorination by – products, *Talanta* **1998**, 47, 311-323
- [209] M.M. Domino, B.V. Pepich, D.J. Munch, P.S. Fair: Optimizing the determination of haloacetic acids in drinking waters, *J. Chromatogr. A* **2004**, 1035, 9-16
- [210] V.J. Feil, G. D. Paulson, A.L. Lund: Diazomethane derivatization of Sulfamethazine: Formation of isomeric products, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **1989**, 72, 515-516
- [211] *Organikum*, 16. Auflage, Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, **1990**, [211a] 552, 553 [211b] 402-404
- [212] P. Husek, J.A. Rijks, P.A. Leciercq, C.A. Cramers: Fast derivatization of fatty acids with alkyl chloroformates, *Journal of High Resolution Chromatography* **1990**, 13, 633-638
- [213] P. Husek: Rapid derivatization and gas chromatographic determination of amino acids, *J. Chromatogr.* **1991**, 552, 289-299
- [214] P. Husek: Amino acid derivatization and analysis in five minutes, *FEBS Letters* **1991**, 280 (2), 354-6
- [215] P. Husek: Derivatization and gas chromatographic determination of hydroxycarboxylic acids treated with chloroformates, *J. Chromatogr.* **1991**, 547, 307-314
- [216] P. Husek, P. Simek, P. Matucha: Smooth esterification of di- and tricarboxylic acids with methyl and ethyl chloroformates in gas chromatographic profiling of urinary acidic metabolites, *Chromatographia* **2003**, 58, 623-630

- [217] H. Kataoka: Derivatization reaction for the determination of amines by gas chromatography and their applications in environmental analysis, *J. Chromatogr. A* **1996**, 733(1+2), 19-34
- [218] M. Dalene, G. Skarping, H. Tinnerberg: Thermospray mass spectrometry of aliphatic diamines derivatized with trifluoroethyl chloroformate, with special reference to the biological monitoring of hexamethylenediisocyanate (HDI) and isophoronediiisocyanate (IPDI), *Chromatographia* **1994**, 38 (11-12), 776-7780
- [219] I. Abe, N. Fujimoto, T. Nakahara: 2,2,2-Trifluoroethyl chloroformate as a rapid derivatizing reagent of amino acids for fast enantiomer separation by gas chromatography, *Chemistry Letters* **1995**, 2, 113-114
- [220] H. Zahradnickova, P. Husek, P. Simek, P. Hartvich, B. Marsalek, I. Holoubek : Determination of D- and L-amino acids produced by cyanobacteria using gas chromatography on Chirasil-Val after derivatization with pentafluoropropyl chloroformate, *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, 388, 1815-1822
- [221] V. Maurino, C. Minero, E. Pelizzetti, S. Angelino, M. Vincenti: Ultratrace determination of highly hydrophilic compounds by 2,2,3,3,4,4,5,5-octafluoropentyl chloroformate – mediated derivatization directly in water, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1999**, 10(12), 1328-1336
- [222] M. Vincenti, N. Ghiglione, M.C. Valsania, P. Davit, S. D. Richardson: Synthesis of highly fluorinated chloroformates and their use as derivatizing agents for hydrophilic compounds and drinking – water – disinfection by-products, *Helvetica Chimica Acta* **2004**, 87, 370-375
- [223] M. Hudlicky: New synthesis and reactions of perfluoro-*tert*-butyl chloroformate, *Journal of Fluorine Chemistry* **1982**, 20(5), 649-658
- [224] J.T. Simpson, D.S. Torok, S.P. Markey: Pentafluorobenzyl chloroformate derivatization for enhancement of detection of amino acids or alcohols by electron capture negative ion chemical ionization mass spectrometry, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1995**, 6, 525-528
- [225] J. Pietsch, S. Hampel, W. Schmidt, H.-J. Brauch: Determination of aliphatic and alicyclic amines in water by gas and liquid chromatography after derivatization by chloroformates, *Fresenius J. Anal. Chem.* **1996**, 355, 164-173

- [226] V.L. Lanchote, P.S. Bonato, P.M. Cerqueira, V.A. Pereira, E.J. Cesario: Enantioselective analysis of metoprolol in plasma using high – performance liquid chromatographic direct and indirect separation: applications in pharmacokinetics, *J. Chromatogr. B* **2000**, 738 (1), 27-37
- [227] K.H. Kim, P.W. Choi, S.-P. Hong, H.J. Kim: Chiral separation of β -blockers after derivatization with (-)-methyl chloroformate by reversed – phase high performance liquid chromatography, *Archives of Pharmacal Research* **1999**, 22 (6), 608-613
- [228] R. Büschges, H. Linde, E. Mutschler, H. Spahn-Langguth: Chloroformates and isothiocyanates derived from 2-arylpropionic acids as chiral reagents: synthetic routes and chromatographic behaviour of the derivatives, *J. Chromatogr. A* **1996**, 725, 323-334
- [229a] S. Angelino, V. Maurino, C. Minero, E. Peltizzetti, M. Vincenti: Improved procedure for *n*-hexyl chloroformate – mediated derivatization of highly hydrophilic substances directly in water: hydroxyaminic compounds, *J. Chromatogr. A* **1998**, 793, 307-316
- [229b] SV. Rodriguez, M. Yonamine, E. Pinto: Determination of anatoxin-*a* in environmental water samples by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry, *J. Sep. Sci.* **2006**, 29, 2085-2090
- [230] P. Stelzel in E. Müller (Hrsg.): *Houben-Weyls Methoden der Organischen Chemie*, Band XV/2, Georg Thieme Verlag, Stuttgart **1974**, 172-175
- [231] J. Wang, Z.-H. Huang, D.A. Gage, J.T. Watson: Analysis of amino acids by gas chromatography – flame ionization detection and gas chromatography-mass spectrometry: Simultaneous derivatization of functional groups by an aqueous – phase chloroformate – mediated reaction, *J. Chromatogr.* **1994**, 663, 71-78
- [232] T. Henriksen, B. Svensmark, B. Lindhardt, R.K. Juhler: Analysis of acidic pesticides using in situ derivatization with alkyl chloroformate and solid – phase microextraction (SPME), *Chemosphere* **2001**, 44, 1531-1539
- [233] T. Henriksen, B. Svensmark, B. Lindhardt, R.K. Juhler: Corrigendum to “Analysis of acidic pesticides using in situ derivatization with alkyl chloroformate and solid – phase microextraction (SPME)”, *Chemosphere* **2004**, 57, 1037
- [234] S. Björkman: Determination of the enantiomers of indoprofen in blood plasma by high – performance liquid chromatography after rapid derivatization by means of ethyl chloroformate, *J. Chromatogr. B* **1985**, 339, 339-346

- [235] R.T. Foster, F. Jamali: High – performance liquid chromatographic assay of ketoprofen enantiomers in human plasma and urine, *J. Chromatogr. B* **1987**, 416, 388-393
- [236] H. Spahn: Formation of diastereomeric derivatives of 2-arylpropionic acids using L-leucinamide, *J. Chromatogr. B* **1987**, 423, 334-339
- [237] D.A. Nicole-Griffith, T. Inaba, B.K. Tang, W. Kalow: Method to determine the enantiomers of ibuprofen from human urine by high – performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. B* **1988**, 428, 103-112
- [238] A. Carlson, O. Gyllenhaal: Separation of carboxylic acid enantiomers by gas chromatography after rapid derivatization with (*R*)- or (*S*)-1-phenylethylamine after activation by ethyl chloroformate, *J. Chromatogr.* **1990**, 508, 333-339
- [239] P. Cao, M. Moini: Quantitative analysis of fluorinated ethylchloroformate derivatives of protein amino acids and hydrolysis products of small peptides using chemical ionization gas chromatography – mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* **1997**, 759, 111-117
- [240] R. S. Borisov, V. G. Zaikin, B. V. Vas'kovskii, L. Y. Sklyarov: Modification of dipeptides by alkyl chloroformate-alkanol mixtures for analysis by gas chromatography/mass spectrometry with electron and chemical ionization and collisional activation: differentiation of isomers, *Russian Chemical Bulletin* **2007**, 55 (12), 2285-2290
- [241] M. G. Zampolli, G. Basaglia, F. Dondi, R. Sternberg, C. Szopa, M. C. Pietrogrande: Gas chromatography-mass spectrometry analysis of amino acid enantiomers as methyl chloroformate derivatives: Application to space analysis *J. Chromatogr. A* **2007**, 1150, 162-172
- [242] M. Rompa, E. Kremer, B. Zygmunt: Derivatization in gas chromatographic determination of acidic herbicides in aqueous environmental samples, *Anal. Bioanal. Chem.* **2003**, 377, 590-599
- [243] S. Butz, H.-J. Stan: Determination of chlorophenoxy and other acidic herbicide residues in ground water by capillary gas chromatography of their alkyl esters formed by rapid derivatization using various chloroformates, *J. Chromatogr.* **1993**, 643(1-2), 227-38
- [244] W.-C. Shieh, S. Dell, O. Repic: Large scale microwave-accelerated esterification of carboxylic acids with dimethyl carbonate, *Tetrahedron Letters* **2002**, 43, 5607-5609

- [245] W.-C. Shieh, S. Dell, O. Repic: Nucleophilic catalysis with 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) for the esterification of carboxylic acids with dimethyl carbonate, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 2188-2191
- [246] H. Färber, S. Peldzus, H.F. Schöler: Gaschromatographische Bestimmung von aciden Pestiziden in Wasser nach Methylierung mit Trimethylsulfoniumhydroxid, *Vom Wasser*, **1991** 76, 13-20
- [247] P. Husek: Fast derivatization and GC analysis of phenolic acids, *Chromatographia* **1992**, 34, 621-626
- [248] S. Weigel: *Entwicklung einer Methode zur Extraktion organischer Spurenstoffe aus großvolumigen Wasserproben mittels Festphasenextraktion*, Diplomarbeit, Universität Hamburg **1998**
- [249] S. Weigel, K. Bester, H. Hühnerfuss: New method for rapid solid-phase extraction of large-volume water samples and its application to non-target screening of North Sea water for organic contaminants by gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography A* **2001**, 912(1), 151-161
- [250] H. Gaul, U. Ziebarth: Methods for the analysis of lipophilic compounds in water and results about the distribution of different organochlorine compounds in the North Sea, *Dt. hydrogr. Zt.* **1983**, 36, 191
- [251] Kataloghandbuch 2002/3, Schleicher & Schüll GmbH, Dassel
- [252] Whatman plc, Brentford, UK, on-line Produktinformationen: <http://www.whatman.com/products/?pageID=7.25.6>, Zugang am 25.08.2007
- [253a] K. Beyermann: *Organische Spurenanalyse*, Thieme Verlag, Stuttgart, New York **1982**
- [253b] A. Zwir-Ferenc; M. Biziuk: Solid phase extraction technique – trends, opportunities and applications, *Polish Journal of Environmental Studies* **2006**, 15, 677-690
- [253c] W. Buchberger, P. Zaborsky: Solid phase extraction techniques for trace analysis of organic pollutants in the aquatic environment, *Slovenian Chemical Society* **2007**, 54, 1-13

- [254] S. Weigel, R. Kallenborn, H. Hühnerfuss: Simultaneous solid-phase extraction of acidic, neutral and basic pharmaceuticals from aqueous samples at ambient (neutral) pH and their determination by gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* **2004**, 1023, 183-195
- [255] S. Rathje: *Untersuchungen zur Festphasenextraktion polarer Wirkstoffe aus Wasser*, Schwerpunktarbeit, Universität Hamburg **2001**
- [256] M. Less, T.C. Schmidt, E.vLow, G. Stork: Gas chromatographic determination of aromatic amines in water samples after solid-phase extraction and derivatization with iodine. II Enrichment, *J. Chromatogr. A* **1998**, 810, 173-182
- [257] H. vanDoorn, C.B. Grabanski, D.J. Miller, S.B. Hawthorne: Solid-phase microextraction with pH adjustment for the determination of aromatic acids and bases in water, *J. Chromatogr. A* **1998**, 892, 223-233
- [258] J. M. Marin, J. V. Sancho, O. J. Pozo, F. J. Lopez, F. Hernandez: Quantification and conformation of anionic, cationic and neutral pesticides and transformation products in water by on-line solid phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A* **2006**, 1133, 204-214
- [259] Z. L. Zhang, J. L. Zhou: Simultaneous determination of various pharmaceutical compounds in water by solid-phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A* **2007**, 1154, 205-213
- [260] K. Reddersen, T. Heberer: Formation of an artifact of diclofenac during acidic extraction of environmental water samples, *J. Chromatogr. A* **2003**, 1011, 221-226
- [261] A.C. Johnson, A. Belfroid, A. Di Corcia: Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observation on their removal from the effluent, *Sci Total Environ* **2000**, 256, 163-173
- [262] E.R. Brouwer, D.J. Van Iperen, I. Liska, H. Lingeman, U.A. Brinkmann : Liquid chromatography determination of polar pollutants in surface water using membrane extraction disks for on-line trace enrichment, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **1992**, 47(4), 257-266
- [263] H.F. Schroeder: Solid-phase extraction in combination with selective elution and mass spectrometric detection. A powerful tool in the determination of polar organic compounds in wastewater, *Vom Wasser* **1993**, 80, 323-339

- [264] C. Montserrat, M.C. Alonso, J. Riu, D. Barcelo : Identification of polar, ionic and highly water soluble organic pollutants in untreated industrial wastewaters, *Environ. Sci. Technol.* **1999**, 33, 1300-1306
- [265] R. Loos, G. Hanke, S.J. Eisenreich: Multi-component analysis of polar water pollutants using sequential solid-phase extraction followed by LC-ESI-MS, *J. Envir. Monit.* **2003**, 5 (3), 384-394
- [266] M.J. Lopez de Alda, D. Barcelo: Use of solid – phase extraction in various of its modalities for sample preparation in the determination of estrogens and progesterones in sediment and water, *J. Chromatogr. A* **2001**, 938, 145-153
- [267] L. Renberg: Gas chromatographic determination of phenolic compounds in water as their pentafluorobenzoyl derivatives, *Chemosphere* **1981**, 10, 767-773
- [268] C. Wahlberg, L. Renberg, U. Wideqvist: Determination of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates as their pentafluorobenzoates in water, sludge and biota, *Chemosphere* **1990**, 20(1-2), 179-195
- [269] X-Y Xiao, D.V. McCally, J. McEvoy: Analysis of estrogens in river water and effluents using solid – phase – extraction and gas chromatography – negative chemical ionisation mass spectrometry of the pentafluorobenzoyl derivatives, *J. Chromatogr. A* **2001**, 923, 195-204
- [270] D.D. Fine, G.P. Breidenbach, T.L. Price, S.R. Hutchins: Quantitation of estrogens in ground water and swine lagoon samples using solid – phase extraction, pentafluorobenzyl/trimethylsilyl derivatizations and gas chromatography – negative ion chemical ionization tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* **2003**, 1017, 167-185
- [271] S. Zühlke: *Verhalten von Phenazonderivaten, Carbamazepin und estrogenen Steroiden während verschiedener Verfahren der Wasseraufbereitung*, Dissertation, Technische Universität Berlin **2004**
- [272] F. von Bruchhausen et al.: *Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis*, Band 8, Springer Verlag, Berlin, **1994**
- [273] C.F. Poole: Matrix-induced response enhancement in pesticide residue analysis by gas chromatography, *J. Chromatogr. A* **2007**, 1158, 241-250
- [274] F.J. Schenk, S.J. Lehotay: Does further clean-up reduce the matrix enhancement effect in gas chromatographic analysis of pesticide residues in food ?, *J. Chromatogr. A* **2000**, 868, 51-61
- [275] G.M. Le Fave: Some reactions of the trifluoromethyl group in the benzotrifluoride series. I. Hydrolysis, *JOACS*, **1949**, 71, 4148-9

Eidesstattliche Versicherung

Hiermit erkläre ich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfaßt, andere als die angegebenen Hilfsmittel und Quellen nicht benutzt und die verwendeten wörtlichen oder inhaltlichen Quellen als solche kenntlich gemacht habe.

Jan Kuhlmann

Ort & Datum

Danksagung

Meinem lieben Doktorvater (und Doktoropa) Prof. Dr. Heinrich Hühnerfuß danke ich für die große Freiheit in der ich arbeiten konnte, die freundschaftliche Betreuung und Unterstützung und natürlich die Überlassung eines hochspannenden Forschungsthemas. Außerdem muß ich ihm meine hohe Wertschätzung für seine Geduld bei der Fertigstellung dieser Arbeit bekunden. Besonders verpflichtet fühle ich mich weiterhin Dr. Stefan Weigel der mir gleichzeitig Freund und erfahrener Kollege war, sowie Heike Dannhauer, der guten Seele des Arbeitskreises, ohne die die arbeitstäglichen und mannigfaltigen bürokratischen Hürden nicht zu überspringen oder untertunneln gewesen wären. Für die direkte Mitarbeit in Form von Studien- oder Schwerpunktarbeiten danke ich Jan Ruess, Steffen Fischer und Stephanie Rathje. Weiterhin grüße ich meinen Freund Dr. Hai Pham-Tuan, Marcus Scheurell, Sonja Doring, Stephanie Selke, Jenny Haftmann, Dr. Melanie Junge, Dr. Ninja Reineke, Dr. Frank Hoffmann, Dr. Bianca Bethan, Prof. Dr. Roland Kallenborn, PD Dr. Kai Bester, Dr. Lubomír Karásek, Stefan Thiel, Bent Schubert und Frau Marie Zeise, die als Mitarbeiter des Arbeitskreises und weiterer Forschungsgruppen sowie des technischen Personals auf vielfältige Weise ihren Anteil an der Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben. Mindestens ebenso wichtig wie die Unterstützung am Institut war natürlich die Mitwirkung meiner Familie. Der größte Dank aber gilt meiner Frau Sandra und den Söhnen Ruben und Peer, die zugunsten dieser Arbeit auf viele gemeinsame Wochenenden verzichtet haben.

Anhang: Ergebnisse der Messung von Realproben

Nachfolgend sind die Ergebnisse der in Kapitel 7 zusammengefaßten Auswertungen der Realprobenmessungen in tabellarischer Form aufgelistet (Tab 59-86).

Land/Bundesland: Deutschland/Hamburg (HH1)					
Stadt/Ort: Hamburg					
Probenahmestelle: Fähranleger Neumühlen / Museumshafen Övelgönne					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser				Datum: 10. 10. 2004	
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethan-säure- derivate / Halogen-phenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	14	PAA	n.d.
Bayrepe®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	n.d.
Bayrepe-Säure	4	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	13	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	114	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	< 0,9*	Irgarol	n.d.	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	15	MCPA	n.d.	2,4-/3,4-DCBA	n.d.
DEET	18	Mecoprop	3	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	11	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	< 0,5*
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	4	3,5-DCPAA	n.d.
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
HHCB-Lacton	29	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	1,0			3,4,5-TCPAA	1
Ibu-OH	11				
Ibu-COOH	n.d.	<i>Halogenanisole</i>	n.d.	<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.				
Ketoprofen	n.d.				
Naproxen	< 4 *	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	3				
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	+				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido-antipyrin	n.d.	Desethylatrazin	n.d.	Desethyl-Desethylterbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze / +: qualitativ detektiert ** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					

Tab. 59: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Elbe bei Hamburg, Museumshafen Övelgönne

Land/Bundesland: Deutschland/Hamburg (HH2)					
Stadt/Ort: Hamburg					
Probenahmestelle: Kühlhauskai Neumühlen					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 24. 10. 2004					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethan- säurederivate / Halogen- phenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	9	PAA	n.d.
Bayrepe®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	n.d.
Bayrepe-Säure	5	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	29	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	137	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	n.d.	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	29	MCPA	30	2,4-/3,4-DCBA	< 0,5*
DEET	4	Mecoprop	6	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	14	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	n.d.
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	2	3,5-DCPAA	n.d.
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
HHCB-Lacton	9	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	2			3,4,5-TCPAA	3
Ibu-OH	8				
Ibu-COOH	n.d.	<i>Halogenanisole</i>	n.d.	<i>Halogenphenole</i>	
Indometacin	n.d.			2,4-Dichlorphenol:	
Ketoprofen	n.d.			3 ng/L	
Naproxen	< 4 *	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	n.d.				
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	n.d.				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido-antipyridin	n.d.	Desethylatrazin	n.d.	Desethyl-terbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze ** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					

Tab. 60: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Elbe bei Hamburg, Kühlhauskai Neumühlen

Land/Bundesland: Deutschland/Schleswig-Holstein (Nie1)					
Stadt/Ort: Stade					
Probenahmestelle: Fähranleger Krautsand					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 23.05.2003					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethan-säurederivate / Halogenphenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	1,7	PAA	n.d.
Bayrepel®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	n.d.
Bayrepel-Säure	1,5	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	1,3	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	94	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	1,1	Irgarol	< 4 *	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	29	MCPA	1,5	2,4-/3,4-DCBA	1,3
DEET	1,6	Mecoprop	1,5	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	< 4 *	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	n.d.
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	1,1	3,5-DCPAA	n.d.
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
HHCB-Lacton	129	<i>Halogenamine</i>		2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	n.d.	2,4-Dichloranilin:		3,4,5-TCPAA	n.d.
Ibu-OH	7,4	< 4 ng/L *			
Ibu-COOH	n.d.	<i>Halogenanisole</i>	n.d.	<i>Halogenphenole</i>	
Indometacin	n.d.			2,4-Dichlorphenol:	
Ketoprofen	n.d.			< 0,9 ng/L *	
Naproxen	n.d.	<i>Halogenindole</i>	n.d.	2,4,6-Tribromphenol:	
Propyphenazon	2,2			< 4 ng/L*	
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	+				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido-antipyryn	n.d.	Desethylatrazin	+	Desethyl-terbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze					
** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					
+: qualitativ nachgewiesen					

Tab. 61: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Elbe bei Stade

Land/Bundesland: Deutschland/Niedersachsen (Nie2)					
Stadt/Ort: Berne					
Probenahmestelle: Weser, Fähranleger Juliusplate					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 14. 09. 2003					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethansäurederivate / Halogenphenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	< 0,9 *	PAA	n.d.
Bayrepel®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	n.d.
Bayrepel-Säure	1,4	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	< 0,5 *	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	318	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	< 4 *	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	54	MCPA	1,6	2,4-/3,4-DCBA	n.d.
DEET	5,4	Mecoprop	1,3	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	6,9	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	< 0,5 *
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	n.d.	3,5-DCPAA	< 0,9 *
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
HHCB-Lacton	29	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	< 0,5 *			3,4,5-TCPAA	1,9
Ibu-OH	6,1				
Ibu-COOH	n.d.	<i>Halogenanisole</i>	n.d.	<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.				
Ketoprofen	n.d.				
Naproxen	n.d.	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	2,8				
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	n.d.				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamidoantipyrin	+	Desethylatrazin	n.d.	Desethylterbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze ** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					

Tab. 62: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Weser bei Berne

Land/Bundesland: Deutschland/Niedersachsen (Nie3)					
Stadt/Ort: Brake					
Probenahmestelle: Weser, Golzwarder Siel					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 14. 09. 2003					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethan- säurederivate / Halogen- phenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	n.d.	PAA	n.d.
Bayrepel®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	n.d.
Bayrepel-Säure	2,7	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	< 0,5 *	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	133	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	< 0,9 *	Irgarol	n.d.	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	28	MCPA	< 0,9 *	2,4-/3,4-DCBA	< 0,9 *
DEET	5,0	Mecoprop	1,1	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	4	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	n.d.
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	0,8	3,5-DCPAA	< 0,9 *
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
HHCB-Lacton	21	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	n.d.			3,4,5-TCPAA	n.d.
Ibu-OH	1,2				
Ibu-COOH	n.d.	<i>Halogenanisole</i>		<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.	2,4-Dibromanisol:			
Ketoprofen	n.d.	< 0,5*			
Naproxen	n.d.	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	< 0,9 *				
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	n.d.				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido-antipyridin	+	Desethylatrazin	n.d.	Desethyl-terbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze					
** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					

Tab. 63: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Weser bei Brake

Land/Bundesland: Deutschland/Niedersachsen (Nie4)					
Stadt/Ort: Oldenburg					
Probenahmestelle: Hunte/Osthafen					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 13. 09. 2003					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethansäurederivate / Halogenphenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	0,9	PAA	n.d.
Bayrepel®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	n.d.
Bayrepel-Säure	1,9	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	0,7	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	333	HCB	n.d.	4-CPAA	2,0
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	< 4 *	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	31	MCPA	1,6	2,4-/3,4-DCBA	n.d.
DEET	3,4	Mecoprop	1,4	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	10	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	1,8
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	0,8	3,5-DCPAA	< 0,9 *
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
HHCb-Lacton	23	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	n.d.			3,4,5-TCPAA	2,6
Ibu-OH	n.d.				
Ibu-COOH	n.d.	<i>Halogenanisole</i>	n.d.	<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.				
Ketoprofen	n.d.				
Naproxen	n.d.	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	3,0				
Salicylsäure	< 4 *				
Triclosan	n.d.				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamidoantipyrin	+	Desethylatrazin	+	Desethylterbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze ** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					

Tab. 64: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe aus dem Hunte-Osthafen bei Oldenburg

Land/Bundesland: Deutschland/Niedersachsen (Nie5)					
Stadt/Ort: Oldenburg					
Probenahmestelle: Hunte/Böschung Amalienstraße					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 13. 09. 2003					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethan- säurederivate / Halogen- phenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	n.d.	PAA	n.d.
Bayrepel®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	n.d.
Bayrepel-Säure	4,0	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	0,5	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	119	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	n.d.	3,5-DCBA	< 0,9 *
Coffein	26	MCPA	1,4	2,4-/3,4-DCBA	3,1
DEET	1,6	Mecoprop	< 0,9 *	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	4,2	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	0,9
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	0,6	3,5-DCPAA	n.d.
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
HHCB-Lacton	15	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	n.d.			3,4,5-TCPAA	1,9
Ibu-OH	n.d.				
Ibu-COOH	n.d.	<i>Halogenanisole</i>	n.d.	<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.				
Ketoprofen	n.d.				
Naproxen	< 4 *	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	n.d.				
Salicylsäure	< 4 *				
Triclosan	n.d.				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido-antipyrin	n.d.	Desethylatrazin	n.d.	Desethyl-terbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze ** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					

Tab. 65: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Hunte in Oldenburg, Ufer Amalienstraße

Land/Bundesland: Deutschland/ Schleswig-Holstein (SH1)					
Stadt/Ort: Borgstedt					
Probenahmestelle: Borgstedt-Yachthafen/Nord-Ostseekanal					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 17. 08. 2004					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethan- säurederivate / Halogen- phenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	n.d.	PAA	n.d.
Bayrepel®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	n.d.
Bayrepel-Säure	n.d.	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	n.d.	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	n.d.	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	4,1	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	74	MCPA	1,6	2,4-/3,4-DCBA	< 0,9 *
DEET	n.d.	Mecoprop	n.d.	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	n.d.	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	n.d.
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	n.d.	3,5-DCPAA	n.d.
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
HHCB-Lacton	n.d.	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	n.d.			3,4,5-TCPAA	n.d.
Ibu-OH	n.d.				
Ibu-COOH	n.d.	<i>Halogenanisole</i>	n.d.	<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.				
Ketoprofen	n.d.				
Naproxen	n.d.	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	1,5				
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	n.d.				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido-antipyryn	n.d.	Desethylatrazin	n.d.	Desethyl-terbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze ** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					

Tab. 66: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe des Nord-Ostseekanals bei Borgstedt

Land/Bundesland: Deutschland/ Schleswig-Holstein (SH2)					
Stadt/Ort: Husum					
Probenahmestelle: Mühlenau					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 2. 01. 2004					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethan- säurederivate / Halogen- phenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	n.d.	PAA	n.d.
Bayrepel®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	n.d.
Bayrepel-Säure	1,6	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	n.d.	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	55	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	n.d.	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	100	MCPA	n.d.	2,4-/3,4-DCBA	n.d.
DEET	1,3	Mecoprop	n.d.	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	6,9	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	< 0,5 *
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	0,5	3,5-DCPAA	4,5
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
HHCB-Lacton	7,1	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	1,5			3,4,5-TCPAA	n.d.
Ibu-OH	32				
Ibu-COOH	11	<i>Halogenanisole</i>	n.d.	<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.				
Ketoprofen	n.d.				
Naproxen	n.d.	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	n.d.				
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	n.d.				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido- antipyrin	+	Desethylatrazin	n.d.	Desethyl- terbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / n*: Wert ist Quantifizierungsgrenze					
** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					

Tab. 67: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Mühlenau in Husum

Land/Bundesland: Deutschland/ Schleswig-Holstein (SH3)					
Stadt/Ort: Maasholm					
Probenahmestelle: Maasholm Yachthafen/Schleimündung					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 9. 07. 2004					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethan- säurederivate / Halogen- phenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	n.d.	PAA	1,6 x 183*
Bayrepel®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	n.d.
Bayrepel-Säure	n.d.	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	n.d.	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	13	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	< 4 *	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	12	MCPA	n.d.	2,4-/3,4-DCBA	n.d.
DEET	n.d.	Mecoprop	n.d.	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	n.d.	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	n.d.
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	n.d.	3,5-DCPAA	n.d.
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
HHCB-Lacton	n.d.	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	n.d.			3,4,5-TCPAA	n.d.
Ibu-OH	n.d.				
Ibu-COOH	n.d.	<i>Halogenanisole</i>		<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.	2,4,6-Tribromanisol			
Ketoprofen	n.d.	< 0,5 ng/L*			
Naproxen	n.d.	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	n.d.				
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	n.d.				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido- antipyrin	n.d.	Desethylatrazin	n.d.	Desethyl- terbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze					
** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					

Tab. 68: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Ostsee bei Maasholm

Land/Bundesland: Deutschland/Schleswig-Holstein (SH4)					
Region: Nordfriesland					
Probenahmestelle: Klärwerksablauf 2,8L					
Datum: 24.03.2004					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethan- säurederivate / Halogen- phenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
<i>Anethol</i>	<i>n.u.</i>	Atrazin	n.d.	PAA	5 x 183
<i>Bayrepe®</i>	<i>n.u.</i>	<i>o,p-DDT</i>	<i>n.u.</i>	2-CBA	n.d.
Bayrepe-Säure	n.d.	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	n.d.	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	4 x 1830	<i>HCB</i>	<i>n.u.</i>	4-CPAA	575
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	n.d.	3,5-DCBA	116
Coffein	n.d.	MCPA	n.d.	2,4-/3,4-DCBA	4
<i>DEET</i>	<i>n.u.</i>	Mecoprop	n.d.	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	112	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	741
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	10	3,5-DCPAA	20
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	13
<i>HHCB-Lacton</i>	<i>n.u.</i>	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	31			3,4,5-TCPAA	1162
Ibu-OH	133				
Ibu-COOH	n.d.	<i>Halogenanisole</i>	<i>n.u.</i>	Halogenphenole	
Indometacin	+			4-Chlor-3-Methylphenol:	
Ketoprofen	n.d.			< 4 ng/L *	
Naproxen	30	<i>Halogenindole</i>	<i>n.u.</i>		
Propyphenazon	9				
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	+				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido- antipyrin	+	Desethylatrazin	n.d.	Desethyl- terbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / <i>n.u.</i> : nicht untersucht / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze ** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum +: qualitativ nachgewiesen					

Tab. 69: Detektion ausgewählter Analyten in einer Klärwerksablaufprobe aus Schleswig-Holstein, Nordfriesland

Land/Bundesland: Deutschland/Schleswig-Holstein (SH5)					
Region: Nordfriesland					
Probenahmestelle: Klärwerkszulauf (Stichprobe) 2,8 L					
Datum: 24.03.2004					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethan-säurederivate / Halogenphenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
<i>Anethol</i>	<i>n.u.</i>	Atrazin	n.d.	PAA	240x183*
<i>Bayrepe®</i>	<i>n.u.</i>	<i>o,p-DDT</i>	<i>n.u.</i>	2-CBA	n.d.
Bayrepe-Säure	n.d.	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	+	Dichloprop	n.d.	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	638	<i>HCB</i>	<i>n.u.</i>	4-CPAA	1144
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	n.d.	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	7 x 1830*	MCPA	n.d.	2,4-/3,4-DCBA	2,7
<i>DEET</i>	<i>n.u.</i>	Mecoprop	n.d.	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	250	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	1,3 x 1830*
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	n.d.	3,5-DCPAA	5
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
<i>HHCB-Lacton</i>	<i>n.u.</i>	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	287			3,4,5-TCPAA	833
Ibu-OH	1278				
Ibu-COOH	528	<i>Halogenanisole</i>	<i>n.u.</i>	Halogenphenole	
Indometacin	n.d.			4-Chlor-3-Methylphenol:	
Ketoprofen	n.d.			16 ng/L	
<i>Naproxen</i>	<i>n.a.</i>	<i>Halogenindole</i>	<i>n.u.</i>		
Propyphenazon	n.d.				
Salicylsäure	663				
Triclosan	+				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido-antipyrin	+	Desethylatrazin	n.d.	Desethyl-terbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / <i>n.u.</i> : nicht untersucht / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze ** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum +: qualitativ nachgewiesen / <i>n.a.</i> : nicht auswertbar					

Tab. 70: Detektion ausgewählter Analyten in einer Klärwerkszulaufstichprobe aus Schleswig-Holstein, Nordfriesland

Land/Bundesland: Deutschland/Schleswig-Holstein (SH6)					
Region: Nordfriesland					
Probenahmestelle: Klärwerkszulauf (24 h Mischprobe) 2,8 L					
Datum: 24.03.2004					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethan-säurederivate / Halogenphenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
<i>Anethol</i>	<i>n.u.</i>	Atrazin	n.d.	PAA	420x183*
<i>BayrepeI®</i>	<i>n.u.</i>	<i>o,p-DDT</i>	<i>n.u.</i>	2-CBA	n.d.
BayrepeI-Säure	n.d.	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	+	Dichloprop	n.d.	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	906	<i>HCB</i>	<i>n.u.</i>	4-CPAA	6 x 1830*
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	n.d.	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	5 x 1830*	MCPA	n.d.	2,4-/3,4-DCBA	n.d.
<i>DEET</i>	<i>n.u.</i>	Mecoprop	n.d.	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	297	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	4 x 1830*
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	n.d.	3,5-DCPAA	1
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
<i>HHCB-Lacton</i>	<i>n.u.</i>	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	404			3,4,5-TCPAA	1283
Ibu-OH	1,4 x 1830*				
Ibu-COOH	636	<i>Halogenanisole</i>	<i>n.u.</i>	<i>Halogenphenole</i>	
Indometacin	n.d.			4-Chlor-3-Methylphenol:	
Ketoprofen	n.d.			51 ng/L	
Naproxen	110	<i>Halogenindole</i>	<i>n.u.</i>		
Propyphenazon	13				
Salicylsäure	614				
Triclosan	+				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido-antipyridin	+	Desethylatrazin	n.d.	Desethyl-terbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / <i>n.u.</i> : nicht untersucht / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze ** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum +: qualitativ nachgewiesen					

Tab. 71: Detektion ausgewählter Analyten in einer Klärwerkszulaufmischprobe aus Schleswig-Holstein, Nordfriesland

Land/Bundesland: Deutschland/Brandenburg (BB1)					
Stadt/Ort: Potsdam					
Probenahmestelle: Clara-Zetkin-Straße					
Probe: 4 x 2,8 L Leitungswasser					
Datum: 3. 08. 2003					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethan- säurederivate / Halogen- phenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	n.d.	PAA	n.d.
Bayrepel®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	n.d.
Bayrepel-Säure	n.d.	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	n.d.	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	n.d.	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	5,4	Irgarol	n.d.	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	n.d.	MCPA	n.d.	2,4-/3,4-DCBA	n.d.
DEET	n.d.	Mecoprop	2,4	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	n.d.	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	n.d.
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	n.d.	3,5-DCPAA	n.d.
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
HHCB-Lacton	n.d.	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	n.d.			3,4,5-TCPAA	n.d.
Ibu-OH	n.d.				
Ibu-COOH	n.d.	<i>Halogenanisole</i>	n.d.	<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.				
Ketoprofen	n.d.				
Naproxen	n.d.	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	n.d.				
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	n.d.				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido-antipyrin	n.d.	Desethylatrazin	n.d.	Desethyl-terbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert *: Wert ist Quantifizierungsgrenze ** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					

Tab. 72: Detektion ausgewählter Analyten in einer Leitungswasserprobe aus Potsdam/Clara-Zetkin-Straße

Land/Bundesland: Deutschland/Brandenburg (BB2)

Stadt/Ort: Potsdam

Probenahmestelle: Havel/Fähranleger Pfaueninsel

Probe: 2,8 L Oberflächenwasser

Datum: 2. 08. 2003

<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethan- säurederivate / Halogen- phenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	n.d.	PAA	n.d.
Bayrepel®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	n.d.
Bayrepel-Säure	n.d.	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	n.d.	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	777	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	11	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	42	MCPA	n.d.	2,4-/3,4-DCBA	n.d.
DEET	7,1	Mecoprop	n.d.	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	3,8	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	n.d.
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	3,7	3,5-DCPAA	n.d.
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	< 4 *
HHCb-Lacton	7,0	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	6,1			3,4,5-TCPAA	1,1
Ibu-OH	22				
Ibu-COOH	n.d.	<i>Halogenanisole</i>		<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.	2,4,6-Tribromanisol:			
Ketoprofen	n.d.	0,7 ng/mL			
Naproxen	< 4 *	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	16				
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	n.d.				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido-antipyrin	+	Desethylatrazin	n.d.	Desethyl-terbuthylazin	+
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze ** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					

Tab. 73: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Havel bei Potsdam, Fähranleger Pfaueninsel

Land/Bundesland: Deutschland/Berlin-Brandenburg (BB3)					
Stadt/Ort: Randgebiet Potsdam					
Probenahmestelle: Havel/ Griebnitzsee-Glienicker Lake					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 2. 08. 2003					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethansäurederivate / Halogenphenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	n.d.	PAA	n.d.
Bayrepel®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	10
Bayrepel-Säure	36	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	+	Dichloprop	n.d.	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	>1830*	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	10	Irgarol	n.d.	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	47	MCPA	n.d.	2,4-/3,4-DCBA	7,0
DEET	23	Mecoprop	20	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	50	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	40
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	110	3,5-DCPAA	n.d.
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
HHCB-Lacton	140	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	2,7			3,4,5-TCPAA	42
Ibu-OH	6,6				
Ibu-COOH	n.d.	<i>Halogenanisole</i>	n.d.	<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.				
Ketoprofen	n.d.				
Naproxen	14	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	22				
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	+				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamidoantipyridin	+	Desethylatrazin	n.d.	Desethylterbuthylazin	+
n.d.: nicht detektiert / +: qualitativ nachgewiesen					
*: Wert ist Quantifizierungsgrenze					
** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					

Tab. 74: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Havel an der Bundesgrenze Berlin-Brandenburg, Griebnitzsee

Land/Bundesland: Deutschland/Brandenburg (BB4)					
Stadt/Ort: Potsdam					
Probenahmestelle: Eisenbahnbrücke Templiner See					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 2. 08. 2003					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethan-säurederivate / Halogenphenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	n.d.	PAA	n.d.
Bayrepel®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	n.d.
Bayrepel-Säure	36	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	+	Dichloprop	n.d.	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	>1830*	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	8,0	Irgarol	4,5	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	37	MCPA	< 0,9 *	2,4-/3,4-DCBA	1,4
DEET	13	Mecoprop	4,6	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	4,5	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	8,8
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	12	3,5-DCPAA	< 0,9 *
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	4,6
HHCB-Lacton	4,5	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	2,1			3,4,5-TCPAA	20
Ibu-OH	4,0				
Ibu-COOH	n.d.	<i>Halogenanisole</i>	n.d.	<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.				
Ketoprofen	n.d.				
Naproxen	5,1	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	25				
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	n.d.				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido-antipyryn	+	Desethylatrazin	n.d.	Desethyl-terbuthylazin	+
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze					
** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					
+: qualitativ nachgewiesen					

Tab. 75: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe aus dem Templiner See in Potsdam

Land: Dänemark (D1)					
Stadt/Ort: Saksköbing					
Probenahmestelle: Hafen Saksköbing					
Probe: 2,8 L marines Oberflächenwasser					
Datum: 8. 05. 2003					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethan- säurederivate / Halogen- phenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	1,1	PAA	n.d.
Bayrepel®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	n.d.
Bayrepel-Säure	n.d.	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	n.d.	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	n.d.	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	< 4*	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	n.d.	MCPA	1,4	2,4-/3,4-DCBA	n.d.
DEET	n.d.	Mecoprop	n.d.	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	n.d.	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	n.d.
Fenopropfen	n.d.	Terbuthylazin	5,2	3,5-DCPAA	n.d.
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	< 4*
HHCB-Lacton	5,6	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	n.d.			3,4,5-TCPAA	n.d.
Ibu-OH	n.d.				
Ibu-COOH	n.d.	<i>Halogenanisole</i>	n.d.	<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.				
Ketoprofen	n.d.				
Naproxen	n.d.	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	n.d.				
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	n.d.				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido-antipyryn	n.d.	Desethylatrazin	n.d.	Desethyl-terbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze ** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					

Tab. 76: Detektion ausgewählter Analyten in einer Ostseeprobe aus Saksköbing

Land: Dänemark (D2)					
Stadt/Ort: Maribo					
Probenahmestelle: Maribo-See/Bootssteg Kajakverein					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 8. 05. 2003					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethan- säurederivate / Halogen- phenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	n.d.	PAA	n.d.
Bayrepel®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	n.d.
Bayrepel-Säure	n.d.	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	n.d.	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	n.d.	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	n.d.	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	8,7	MCPA	n.d.	2,4-/3,4-DCBA	n.d.
DEET	n.d.	Mecoprop	n.d.	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	n.d.	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	n.d.
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	n.d.	3,5-DCPAA	n.d.
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
HHCB-Lacton	n.d.	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	n.d.			3,4,5-TCPAA	n.d.
Ibu-OH	n.d.				
Ibu-COOH	n.d.	<i>Halogenanisole</i>	n.d.	<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.				
Ketoprofen	n.d.				
Naproxen	n.d.	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	n.d.				
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	n.d.				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido- antipyryn	n.d.	Desethylatrazin	n.d.	Desethyl- terbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze ** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					

Tab. 77: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe aus Dänemark, Maribo-See

Land: Tschechien (T1)					
Stadt/Ort: Großraum Prag					
Probenahmestelle: Moldau/Roztoky u Prahy					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 23. 12. 2003					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethan- säurederivate / Halogen- phenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	11	PAA	n.d.
Bayrepel®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	n.d.
Bayrepel-Säure	n.d.	Dichlobenil	1,8	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	< 0,5 *	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	44	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	n.d.	3,5-DCBA	< 0,9 *
Coffein	51	MCPA	2,5	2,4-/3,4-DCBA	< 0,9 *
DEET	2,3	Mecoprop	< 0,9 *	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	16	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	4,1
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	n.d.	3,5-DCPAA	1,3
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	< 4 *
HHCB-Lacton	15	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	10			3,4,5-TCPAA	4,8
Ibu-OH	90				
Ibu-COOH	8	<i>Halogenanisole</i>	n.d.	<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.				
Ketoprofen	n.d.				
Naproxen	< 4 *	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	< 0,9				
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	+				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido-antipyrin	+	Desethylatrazin	+	Desethyl-terbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze					
** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					
+: qualitativ nachgewiesen					

Tab. 78: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Moldau bei Prag, Roztoky u Prahy

Land: Tschechien (T2)					
Stadt/Ort: Großraum Prag					
Probenahmestelle: Moldau/Prag-Bubeneč					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 23. 12. 2003					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethansäurederivate / Halogenphenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	12	PAA	n.d.
Bayrepel®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	n.d.
Bayrepel-Säure	n.d.	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	n.d.	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	55	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	n.d.	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	29	MCPA	1,2	2,4-/3,4-DCBA	n.d.
DEET	1,4	Mecoprop	< 0,9 *	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	8,4	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	2,8
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	n.d.	3,5-DCPAA	n.d.
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
HHCB-Lacton	17	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	10			3,4,5-TCPAA	2,5
Ibu-OH	72				
Ibu-COOH	9,0	<i>Halogenanisole</i>	n.d.	<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.				
Ketoprofen	n.d.				
Naproxen	n.d.	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	n.d.				
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	n.d.				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido-antipyryn	+	Desethylatrazin	+	Desethyl-terbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze					
** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					

Tab. 79: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Moldau bei Prag-Bubeneč

Land: Tschechien (T3)					
Stadt/Ort: Großraum Prag					
Probenahmestelle: Moldau/Prag-Podbaba					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 23. 12. 2003					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethansäurederivate / Halogenphenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	9,7	PAA	n.d.
Bayrepel®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	n.d.
Bayrepel-Säure	n.d.	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	n.d.	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	43	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	n.d.	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	20	MCPA	1,0	2,4-/3,4-DCBA	< 0,9 *
DEET	3,2	Mecoprop	< 0,9 *	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	11	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	2,6
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	n.d.	3,5-DCPAA	n.d.
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
HHCB-Lacton	18	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	8,3			3,4,5-TCPAA	2,8
Ibu-OH	47				
Ibu-COOH	n.d.	<i>Halogenanisole</i>	n.d.	<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	+				
Ketoprofen	n.d.				
Naproxen	n.d.	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	< 0,9 *				
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	n.d.				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido-antipyrin	+	Desethylatrazin	+	Desethyl-terbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze					
** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					
+: qualitativ nachgewiesen					

Tab. 80: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Moldau bei Prag-Podbaba

Land: Tschechien (T4)					
Stadt/Ort: Großraum Prag					
Probenahmestelle: Moldau/Prag- Sedlec					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 23. 12. 2003					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethansäurederivate / Halogenphenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	16	PAA	< 37 *
Bayrepel®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	< 4 *
Bayrepel-Säure	n.d.	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	n.d.	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	68	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	n.d.	3,5-DCBA	< 0,9 *
Coffein	59	MCPA	1,3	2,4-/3,4-DCBA	< 0,9 *
DEET	4,9	Mecoprop	< 0,9 *	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	12	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	2,9
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	n.d.	3,5-DCPAA	1,1
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	< 4 *
HHCB-Lacton	18	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	14			3,4,5-TCPAA	3,5
Ibu-OH	81				
Ibu-COOH	10	<i>Halogenanisole</i>	n.d.	<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.				
Ketoprofen	n.d.				
Naproxen	< 4 *	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	1,5				
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	n.d.				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido-antipyryn	n.d.	Desethylatrazin	+	Desethyl-terbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze					
** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					

Tab. 81: Detektion ausgewählter Analyten in einer Oberflächenwasserprobe der Moldau bei Prag-Sedlec

Land: Vietnam (V1)					
Stadt/Ort: Hanoi					
Probe: 1 L Leitungswasser					
Datum: 24. 04. 2003					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethansäurederivate / Halogenphenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Anethol	n.d.	Atrazin	n.d.	PAA	54
Bayrepe®	n.d.	<i>o,p</i> -DDT	n.d.	2-CBA	n.d.
Bayrepe-Säure	n.d.	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	n.d.	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	n.d.	HCB	n.d.	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	n.d.	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	n.d.	MCPA	n.d.	2,4-/3,4-DCBA	n.d.
DEET	n.d.	Mecoprop	n.d.	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	n.d.	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	n.d.
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	n.d.	3,5-DCPAA	n.d.
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
HHCB-Lacton	n.d.	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	n.d.			3,4,5-TCPAA	n.d.
Ibu-OH	n.d.				
Ibu-COOH	n.d.	<i>Halogenanisole</i>	n.d.	<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.				
Ketoprofen	n.d.				
Naproxen	n.d.	<i>Halogenindole</i>	n.d.		
Propyphenazon	n.d.				
Salicylsäure	n.d.				
Triclosan	n.d.				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamidoantipyrin	n.d.	Desethylatrazin	n.d.	Desethylterbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze ** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum					

Tab. 82: Detektion ausgewählter Analyten in einer Leitungswasserprobe aus Hanoi-City

Land: Vietnam (V2)					
Stadt/Ort: Hanoi 1					
Probe: 1 L Oberflächenwasser mit Einträgen ungeklärter Abwasser vorwiegend aus privaten Haushalten					
Datum: 24. 04. 2003					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethansäurederivate / Halogenphenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
<i>Anethol</i>	<i>n.u.</i>	Atrazin	n.d.	PAA	80 x 183*
<i>Bayrepel®</i>	<i>n.u.</i>	<i>o,p-DDT</i>	<i>n.u.</i>	2-CBA	n.d.
Bayrepel-Säure	n.d.	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	n.d.	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	n.d.	<i>HCB</i>	<i>n.u.</i>	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	n.d.	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	601	MCPA	n.d.	2,4-/3,4-DCBA	n.d.
<i>DEET</i>	<i>n.u.</i>	Mecoprop	n.d.	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	45	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	n.d.
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	n.d.	3,5-DCPAA	n.d.
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
<i>HHCB-Lacton</i>	<i>n.u.</i>	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	97			3,4,5-TCPAA	n.d.
Ibu-OH	270				
Ibu-COOH	356	<i>Halogenanisole</i>	<i>n.u.</i>	<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.				
Ketoprofen	n.d.				
Naproxen	n.d.	<i>Halogenindole</i>	<i>n.u.</i>		
Propyphenazon	n.d.				
Salicylsäure	2264				
Triclosan	+				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido-antipyridin	n.d.	Desethylatrazin	n.d.	Desethyl-terbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / n.u.: nicht untersucht / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze ** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum +: qualitativ nachgewiesen					

Tab. 83: Detektion ausgewählter Analyten in einer kommunal belasteten Oberflächenwasserprobe aus Vietnam, Hanoi-Stadt

Land: Vietnam (V3)					
Stadt/Ort: Hanoi 2					
Probe: 1 L Oberflächenwasser mit Einträgen ungeklärter Abwasser aus privaten Haushalten und technischen Betrieben					
Datum: 24. 04. 2003					
<i>PPCPs & Metaboliten</i>		<i>Pestizide & Metaboliten halogenierte Amine, Anisole, Indole**</i>		<i>Benzoe- & Phenylethansäurederivate / Halogenphenole**</i>	
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
<i>Anethol</i>	<i>n.u.</i>	Atrazin	n.d.	PAA	220x183*
<i>Bayrepelel®</i>	<i>n.u.</i>	<i>o,p-DDT</i>	<i>n.u.</i>	2-CBA	n.d.
Bayrepelel-Säure	n.d.	Dichlobenil	n.d.	4-CBA	n.d.
Bezafibrat	n.d.	Dichloprop	n.d.	2-CPAA	n.d.
Carbamazepin	n.d.	<i>HCB</i>	<i>n.u.</i>	4-CPAA	n.d.
Clofibrinsäure	n.d.	Irgarol	n.d.	3,5-DCBA	n.d.
Coffein	928	MCPA	n.d.	2,4-/3,4-DCBA	n.d.
<i>DEET</i>	<i>n.u.</i>	Mecoprop	n.d.	2,6-DCPAA	n.d.
Diclofenac	15	2,4,5-TCP	n.d.	3,4-DCPPA	n.d.
Fenoprofen	n.d.	Terbuthylazin	n.d.	3,5-DCPAA	n.d.
Gemfibrozil	n.d.			3,4,5-TCBA	n.d.
<i>HHCB-Lacton</i>	<i>n.u.</i>	<i>Halogenamine</i>	n.d.	2,3,6-TCPAA	n.d.
Ibuprofen	54			3,4,5-TCPAA	n.d.
Ibu-OH	163				
Ibu-COOH	n.d.	<i>Halogenanisole</i>	n.u.	<i>Halogenphenole</i>	n.d.
Indometacin	n.d.				
Ketoprofen	n.d.				
Naproxen	n.d.	<i>Halogenindole</i>	n.u.		
Propyphenazon	n.d.				
Salicylsäure	1591				
Triclosan	+				
Nichtvalidierte Analyten					
4-Acetamido-antipyryn	n.d.	Desethylatrazin	n.d.	Desethyl-terbuthylazin	n.d.
n.d.: nicht detektiert / <i>n.u.</i> : nicht untersucht / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze ** : halogenierte Amine, Anisole, Indole und Phenole entsprechend dem Untersuchungsspektrum +: qualitativ nachgewiesen					

Tab. 84: Detektion ausgewählter Analyten in einer kommunal und industriell belasteten Oberflächenwasserprobe aus Vietnam, Hanoi-Stadt

Land/Bundesland: Deutschland/Hamburg (HH3)					
Stadt/Ort: Hamburg Probenahmestelle: Elbe/Fähranleger Neumühlen					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 31.03.2003					
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Clofibrinsäure	3,8	Ibuprofen	1,4	Ibu-COOH	< 180*
Diclofenac	13	Ibu-OH	< 18*	Ketoprofen	n.d.
Land/Bundesland: Deutschland/Hamburg (HH4)					
Stadt/Ort: Hamburg Probenahmestelle: Elbe/Fähranleger Neumühlen					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 21.04.2003					
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Clofibrinsäure	4,8	Ibuprofen	2,4	Ibu-COOH	< 180*
Diclofenac	25	Ibu-OH	< 18*	Ketoprofen	n.d.
Land/Bundesland: Deutschland/Hamburg (HH5)					
Stadt/Ort: Hamburg Probenahmestelle: Isebekkanal					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 20.04.2003					
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Clofibrinsäure	0,4	Ibuprofen	1,0	Ibu-COOH	< 180*
Diclofenac	1,6	Ibu-OH	< 18*	Ketoprofen	n.d.
Land/Bundesland: Deutschland/Hamburg (HH56)					
Stadt/Ort: Hamburg Probenahmestelle: Alster					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser					
Datum: 3.04.2003					
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Clofibrinsäure	3,5	Ibuprofen	1,7	Ibu-COOH	< 180*
Diclofenac	21	Ibu-OH	< 18*	Ketoprofen	n.d.
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze					

Tab. 85: Detektion ausgewählter Analyten in Oberflächenwasserproben aus Hamburg

Land/Bundesland: Deutschland/Schleswig-Holstein (SH7)					
Stadt/Ort: Tönning Probenahmestelle: Eider, Tönninger Hafen					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser			Datum: 7.04.2003		
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Clofibrinsäure	1,2	Ibuprofen	1,2	Ibu-COOH	< 180*
Diclofenac	4,1	Ibu-OH	< 18*	Ketoprofen	n.d.
Land/Bundesland: Deutschland/Schleswig-Holstein (SH8)					
Region/Ort: Nordfriesland, Umgebung Wasserkooog					
Probenahmestelle: Tetenbüllspiker Hafen					
Probe: 2,8 L marines Oberflächenwasser			Datum: 8.04.2003		
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Clofibrinsäure	n.d.	Ibuprofen	n.d.	Ibu-COOH	n.d.
Diclofenac	n.d.	Ibu-OH	n.d.	Ketoprofen	n.d.
Land/Bundesland: Deutschland/Schleswig-Holstein (SH9)					
Stadt/Ort: Oldenswort Probenahmestelle: Sielzug Ortskern					
Probe: 2,8 L Oberflächenwasser			Datum: 9.04.2003		
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Clofibrinsäure	n.d.	Ibuprofen	n.d.	Ibu-COOH	n.d.
Diclofenac	n.d.	Ibu-OH	n.d.	Ketoprofen	n.d.
Land/Bundesland: Deutschland/Schleswig-Holstein (SH10)					
Region/Ort: Nordstrand Probenahmestelle: Fähranleger Nordstrand					
Probe: 2,8 L marines Oberflächenwasser			Datum: 7.04.2003		
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Clofibrinsäure	7,2	Ibuprofen	0,9	Ibu-COOH	< 180*
Diclofenac	34	Ibu-OH	< 18*	Ketoprofen	n.d.
Land/Bundesland: Deutschland/Schleswig-Holstein (SH11)					
Stadt/Ort: Husum Probenahmestelle: Industriehafen Husum					
Probe: 2,8 L marines Oberflächenwasser			Datum: 8.04.2003		
Analyt	ng/L	Analyt	ng/L	Analyt	ng/L
Clofibrinsäure	1,5	Ibuprofen	5,2	Ibu-COOH	< 180*
Diclofenac	13	Ibu-OH	< 18*	Ketoprofen	n.d.
n.d.: nicht detektiert / *: Wert ist Quantifizierungsgrenze					

Tab. 86: Detektion ausgewählter Analyten in Oberflächenwasserproben aus Schleswig-Holstein