UNIVERSITÄT ULM

Abteilung Analytische Chemie und Umweltchemie

Leiter: Prof. Dr. K. Ballschmiter

Bestimmung halogenierter Xenobiotika in Fischen des Nord-Pazifik

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades Dr. rer. nat.
der Fakultät für Naturwissenschaften
der Universität Ulm

vorgelegt von
Markus Arend
aus Lindau

Ulm, im Oktober 2002

Amtierender Dekan:	Prof. Dr. Wolfgang Witschel
1. Gutachter:	Prof. Dr. Karlheinz Ballschmiter
2. Gutachter:	Prof. Dr. Wolfgang Sawodny
Tag der Promotion:	18. Dezember 2002

Die Zukunft hat viele Namen.
Für die Schwachen ist sie
das Unerreichbare.
Für die Ängstlichen ist sie
das Unbekannte.
Für die Tapferen ist sie die Chance.

Victor Hugo

INHALTSVERZEICHNIS

1 Einleitung 1

2 Aufgabenstellung 3

3 Allgemeiner Teil 5

3.1 POPs in der Umwelt – Umweltchemie 5

3.1.1 Allgemeine Betrachtungen 5

3.1.2 Modellansätze in der Umweltchemie 6

3.1.3 Multiphasen-Konzept 6

3.1.4 Bioakkumulation und Biotransformation 8

3.2 Untersuchte POPs und deren Quellen 11

3.2.1 Polychlorierte Biphenyle (PCB) 11

3.2.2 DDX-Gruppe 12

3.2.3 Hexachlorcyclohexane (HCH) 13

3.2.4 Polychlorierte Diphenylether (PCDE) 14

3.2.5 Polybromierte Diphenylether (PBDE) 15

3.2.6 Cyclodien Insektizide 17

3.2.7 Weitere Organohalogene 19

3.2.8 Polychlorierte Camphene (Toxaphene) 21

3.2.9 Natürliche POPs 22

3.2.10 Physiko-chemische Eigenschaften der Xenobiotika 23

3.3 POPs in der Arktis 25

3.3.1 Globale Transportwege von POPs in die Arktis 25

3.3.2 Gehalte und Effekte von POPs in der arktischen Umwelt 26

3.4 Lebensraum Nordpazifik 29

3.4.1 Geographische Grundlagen und Meeresströmungen 29

3.4.2 Der Nord Pazifik als Ökosystem 31

3.4.3 Die Inselgruppe der Aleuten 34

3.5 Untersuchte Fische aus dem Nord Pazifik 36

3.5.1 Aleutian Field Trip 1999 36

3.5.2 Probenliste 38

3.5.3 Untersuchte Fischarten: 40

4 Experimenteller Teil 43

4.1 Chemikalien und Geräte 43

4.1.1 Chemikalien 43

4.1.2 Flüssigchromatographie 44

4.1.3 Gaschromatographie 45

4.2 Qualitative und Quantitative Analyse 51

4.2.1 Polychlorierte Biphenyle 51

4.2.2 Organohalogen – Pestizide 55

4.2.3 Polybromierte Diphenylether 57

4.2.4 Toxaphene 58

4.2.5 Quantitative Bestimmung mit internem Standard 59

4.2.6 Kalibrierlösungen 60

4.3 Probenaufarbeitung (PA) 64

4.3.1 Allgemeines zur PA und Blindwertkontrolle 64

4.3.2 Homogenisierung und Extraktion (Lipidbestimmung) 65

4.3.3 Matrixabtrennung durch Festphasenextraktion (SPE) 67

4.3.3.1 Grundlagen der SPE 67

4.3.3.2 Anwendung der SPE bei der Probenaufarbeitung 68

4.3.4 Normal Phasen HPLC-Gruppentrennung von Organochlorverbindungen 72

4.3.4.1 Bedeutung der Gruppentrennung 72

4.3.4.2 Eindimensionale HPLC-Backflush-Technik 72

4.3.4.3 Zweidimensionale HPLC: NPLC/NPLC Kopplung 80

4.3.4.4 Nachreinigung mit Mini-Pasteurpipetten-Säule 86

4.3.5 Bestimmung der Wiederfindungsraten des Analyseverfahrens 87

4.3.5.1 Wiederfindungsstandards und Blindwerkontrolle 87

4.3.5.2 SRM 1588 (NIST; zertifizierter Dorsch Lebertran) 88

4.3.5.3 CRM 349 (CBR, zertifizierter Dorsch Lebertran) 95

4.3.5.4 CRM 350 (CBR, zertifiziertes “Mackerel Oil”) 100

4.3.6 Nachweis und Bestimmungsgrenzen 105

4.3.7 Nachweis von POPs in einer schwach belasteten Schafshirn-Probe 106

4.3.8 Übersicht der gesamten Probenaufarbeitungen 111

4.4 GC-MS: Massenspektrometrische Untersuchung von Xenobiotika 113

4.4.1 Elektronenstoß-Ionisation 113

4.4.2 Chemische Ionisation (CI) 114
4.4.3 Responsevergleich halogenierter Verbindungen im ECD und im MSD 116
4.4.4 MSD (NCI) von bromierten Verbindungen 121
4.4.5 Durchführung der GC-MS 123
4.4.6 Qualitative Bestimmung von POPs mit Hilfe der NCI-Massenspektrometrie ...123
4.4.6.1 Bedeutung der NCI-MS für die Spurenanalyse 123
4.4.6.2 Zuordnung mit Hilfe von NCI-Massenspektren und NCI-SIM 124

5 Fischproben aus dem Nord Pazifik 131

5.1 Analysierte Xenobiotika 131
5.2 Gehalte der Xenobiotika in den Fischproben 131
5.2.1 Polychlorierte Biphenyle 131
5.2.2 Weitere Organohalogenverbindungen 149
5.3 Belastungsmuster der untersuchten Proben 181
5.3.1 Vergleich der Summenwerte der Gehalte aller Verbindungsklassen 181
5.3.2 Belastungsmuster der PCBs 183
5.3.2.1 Beurteilung über die Massenverhältnisse 183
5.3.2.2 Beurteilung über die Stoffmengenanteile 187
5.3.2.3 Beurteilung der Musterunterschiede durch GC/MS-SIM-Spuren 191
5.3.2.4 Musterklassifizierung mit Hilfe der Hauptkomponentenanalyse (PCA) 203
5.3.3 Vorkommen von DDT-Verbindungen in Fischen 204
5.3.3.1 Beurteilung über die Massenverhältnisse 204
5.3.3.2 DDX Musterklassifizierung mittels PCA 205
5.3.4 Vorkommen von Chlordanen in den Fischproben 206
5.3.4.1 Beurteilung über die Massenverhältnisse 206
5.3.4.2 Chlordan Musterklassifizierung mittels PCA 207
5.3.5 Vorkommen der polybromierten Diphenylether (PBDE) in den Fischproben ...208
5.3.5.1 Beurteilung über die Massenverhältnisse 208
5.4 Bestimmung sehr schwerflüchtiger halogenierter Verbindungen mittels Kurzsäulen-Kapillar-Gaschromatographie 210
5.5 Bromkal 73-5 PE: 2,3-Dibrompropyl-(2,4,6-Tribromphenyl)-Ether ..217
5.6 Bromierte und weitere unbekannte Substanzen in den Fischproben 219

6 Zusammenfassung 233

7 Summary.....237

8 Literaturverzeichnis 239

9 Anhang.....257

9.1 NCI-(CH_4) Massenspektren von Organohalogenverbindungen.....257

9.2 Tabellen 264

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung	Abkürzung	Bedeutung
2,4'-DDD	1,1-Dichlor-2-(*o*-chlorphenyl)-2-(*p*-chlorphenyl)ethan	M_r	relative Molekülmasse
		MS	Massenspektrometer, Massenspektrometrie
2,4'-DDE	1,1-Dichlor-2-(*o*-chlorphenyl)-2-(*p*-chlorphenyl)ethen	MSD	massenselektiver Detektor
2,4'-DDT	1,1,1-Trichlor-2-(*o*-chlorphenyl)-2-(*p*-chlorphenyl)ethan	N1, N2	1. bzw. 2. Fraktion der Backflush Gruppentrennung
4,4'-DDD	1,1-Dichlor-2,2-bis(*p*-chlorphenyl)ethan	NCI	Negative Chemische Ionisation
4,4'-DDT	1,1,1-Trichlor-2,2-bis(*p*-chlorphenyl)ethan	n.n.	nicht nachgewiesen
		Nona	Nonachlor
		n.q.	nicht quantifiziert
4,4'-DDE	1,1-Dichlor-2,2-bis(*p*-chlorphenyl)ethen	OCS	Octachlorstyrol
		o,m-	*ortho,meta*-
		oxy-CD	oxy-Chlordan
A19	Pentachloranisol	p^0_L	Dampfdruck der unterkühlten Schmelze
A33	2,4,6-Tribromanisol	PA	Probenaufarbeitung
B1	Backflush Fraktion der Backflush-Gruppentrennung	PBDE	Polybromierter Diphenylether
CD	Chlordan, Komponente des technischen Chlordans	PC 1, 2, 3	1., 2., 3. Hauptkomponente (principal component)
cis-HCE	*cis*-Heptachlorepoxid	PCA	Hauptkomponenten-Analyse, Pentachloranisol
		PCB	Polychlorierte Biphenyle
d_c	Innendurchmesser der Kapillare/Säule	POP	persistent organic pollutant
d_f	Filmdicke der stationären Phase	R	Massenauflösung des massenselektiven Detektors
ECD	Elektroneneinfangdetektor	SIM	Single (Selected) Ion Monitoring
ECNI	electron capture negative (chemical) ionisation	SRM	Standardreferenzmaterial
EI	Elektronenstoßionisation	$S_{w,L}$	Wasserlöslichkeit der unterkühlten Schmelze
F	Fluß (Trägergas, Eluent)		
GC	Gaschromatographie	Σ(7 PCB)	Summe der Massenanteile der sieben PCB-Indikatorkongenere
GPC	Gelpermeationschromatographie	Σ(n PCB)	Summe der Massenanteile von n PCB-Kongeneren
EDC	endocrine disrupting chemical	t	Zeit
HCB	Hexachlorbenzol		
HCH	Hexachlorcyclohexan	T	Temperatur
HRGC	High resolution gas chromatography	TCDMB	Tetrachlor-1,4-dimethoxybenzol
H	Henry-Konstante	TCN	1,2,3,4-Tetrachlornaphthalin
IS	Interner Standard	TCPM	Tris(chlorphenyl)methan
$K_{gw(T)}$	temperaturabhängiger Gas/Wasser-Verteilungskoeffizient		
K_{ow}	n-Octanol/Wasser-Verteilungs-koeffizient	TCPM-OH	Tris(chlorphenyl)methanol
L	Länge der Kapillare, Säule		

LC1, LC2	erste, zweite Fraktion der klassischen Kieselgel-Gruppentrennung
M	Molekül
m,p-	*meta,para-*
m/z	Verhältnis Masse/Ladung
MeO-TeBDE	Methoxy-Tetrabromdiphenylether
TrBrA	2,4,6-Tribromanisol
u	Trägergasgeschwindigkeit
U, *U*	unbekannte Verbindung
WF	Wiederfindungsrate
ω(Y)	Massenanteil der Substanz Y

1 Einleitung

„Dieses Land ist so weit, und es gibt so wenige Menschen darin, dass die neugierigen Tiere innerhalb einer Lebensspanne fast nichts von ihnen bemerken.“

So jedenfalls beschrieb Mitte des 19. Jahrhunderts der britische Arktisforscher Sir John Franklin den nördlichsten Teil des Amerikanischen Kontinents während seiner Suche nach der Nordwestpassage vom Atlantischen Ozean über das Arktische Meer in den Nord Pazifik.

Sicherlich gehören der Norden Kanadas und der USA, die Beaufort See und die Bering See immer noch zu einer der am wenigsten vom Menschen besiedelten Regionen der Erde, doch trifft dieses Zitat in unserer Zeit nicht mehr zu. Was hat sich also doch verändert?

Der Mensch muss weder vor Ort sein, um die Natur zu beeinflussen, noch müssen die Tiere jemals mit Menschen in Kontakt treten, allein der sorglose Umgang des Menschen mit der Natur, insbesondere mit den Weltmeeren hat unabsehbare Auswirkungen für die Zukunft. Das Meer ist für uns ein Symbol von Freiheit und endloser Weite, doch stehen wir noch am Anfang der Erforschung dieses komplexen Ökosystems.

Mit einem Anteil von 70 Prozent an der Erdoberfläche bestimmen die Ozeane mit ihren warmen und kalten Meeresströmungen wesentlich das Erdklima und können dies auch kurzfristig verändern, wie bei El Niño an der Pazifikküste Südamerikas zu sehen ist. Ausserdem haben die Meere eine grosse Bedeutung als Zwischenspeicher für das Treibhausgas Kohlendioxid. In der Tiefsee liegt ein unvorstellbarer Reichtum an Artenvielfalt und natürlichen Ressourcen vor, der sich kaum abschätzen lässt. Viele neue chemische Naturstoffe mit pharmazeutischer Wirkung liessen sich daraus gewinnen und könnten von grossem Nutzen für die Menschheit sein.

Doch mittlerweile ist bekannt, dass selbst in die abyssalen und hadalen Bereiche (Tiefsee: 3.000 – 11.000 m) [Ballschmiter 1997b, Froescheis 2000, Looser 2000, Takahashi 1998] und auch in die Arktis und Antarktis [Aono 1997, Barrie 1992, Muir 1999] Umweltchemikalien wie Organohalogenverbindungen vorgedrungen sind und diese empfindlichen Ökosysteme bedrohen. Bisher existiert noch kein umfassendes internationales Schutzabkommen für die Ozeane, welches den Eintrag von Abfällen und Schadstoffen regelt. Die globale Verschmutzung der Weltmeere entseht durch den globalen Transport der umweltrelevanten Stoffe in der Atmosphäre und Hydrosphäre.

Wie aber sieht diese Bedrohung genau aus? Sieht man zum Beispiel Schwertwale in freier Wildbahn, wird einem schnell klar, warum sie als die Herrscher der Meere bezeichnet werden. In ihrem Lebensraum stehen sie ganz oben in der Nahrungskette und mit einem Gewicht von ca. zehn Tonnen müssen sie keine natürlichen Feinde fürchten. Doch ihre Populationen sind dramatisch zurückgegangen und immer öfter treffen uns auch Meldungen über gestrandete Wale. Es gibt viele zusammenhängende Faktoren, die das biologische

Gleichgewicht stören. Zurückgehende Lachs- und Robbenbestände, welche die Hauptnahrungsquelle der Orcas darstellen, sowie eine starke Belastung des Immunsystems der Wale mit Schadstoffen, die in enorm hohen Konzentrationen im Fettgewebe der Meeressäuger akkumulieren [Hayteas 2000] und mit der Muttermilch an den Nachwuchs weitergegeben werden, schwächen die Tiere derart, dass sie mit einfachen Erkrankungen nicht mehr zurecht kommen. Es handelt sich also um einen biologischen Dominoeffekt, der eigentlich schon am unteren Ende der Nahrungskette seinen Anfang nimmt. Nicht nur die Überfischung der Weltmeere ist verantwortlich für die zurückgehenden Fischbestände, bei denen man ebenfalls schon bedenkliche Gehalte an Umweltgiften wie polychlorierte Biphenyle und Pflanzenschutzmittel findet, sondern es verändert sich das gesamte Ökosystem. Temperaturanstieg der Meere, verbaute Flusswege zu den Laichgründen der Lachse und auch die toxischen Auswirkungen von Schadstoffen auf Fische sind nur ein paar Gründe dafür.

Viele dieser Stoffe sind als endokrin wirksame Substanzen (engl. *Endocrine Disruptors*) bekannt [Kuch 2001] und weisen eine hormonelle Wirksamkeit auf, die letztendlich auch den Menschen bedroht [Colborn 1996].

Für die anfangs gestellte Frage nach dem: „*Was hat sich also doch verändert*“ wurden nun einige Ansätze geliefert, um sie zu beantworten. Schadstoffe in entlegenen Regionen der Erde lassen den Menschen mit Tieren in Kontakt treten, ohne dass er ihnen jemals begegnet ist.

Eines dieser entlegenen Gebiete ist der Nord Pazifische Ozean. Diese Arbeit behandelt die Verteilung und Belastung von Fischproben durch Umweltchemikalien im Bereich der Aleuten Inselkette und der Westküste der USA.

2 Aufgabenstellung

Die globale Verteilung von Organohalogenverbindungen stellt ein ernstzunehmendes Problem dar. Zahlreiche Forschungsgruppen weltweit befassen sich mit dieser Problematik. Aufgrund der Lipophilie vieler Schadstoffe werden diese bevorzugt im Fettgewebe von Lebewesen aufgenommen und gespeichert. Der mit dem Namen „Bioakkumulation“ bezeichnete Prozess führt zu sehr bedrohlichen Gehalten von Industriechemikalien, Pflanzenschutzmitteln und stark toxischen Abfallprodukten in vielen Tierarten und auch im Menschen.

Marine Lebewesen, insbesondere Fische, stellen ein optimales Instrument zur Anreicherung und Detektion von Schadstoffbelastungen im aquatischen System dar. Die Analytik von Organohalogenverbindungen (PCB, DDT, Lindan, Chlordan, Toxaphen, bromierte Flammschutzmittel etc.) in Fischen erfordert eine sehr komplexe und aufwendige Probenaufbereitung.

Mit Hilfe neuer Analysen- und Clean-Up-Techniken wurde eine optimierte Aufarbeitung mit geringem Blindwerteintrag entwickelt, um eine Analytik auch von teilweise sehr schwach belasteten Proben zu ermöglichen. Durch eine Flüssig-Kalt-Extraktion der Analytmoleküle und anschließender Matrixabtrennung mit Festphasenextraktion (SPE), der sich eine Gruppentrennung mit einer neu entwickelten zweidimensionalen Normalphasen-Flüssigkeitschromatographie mit Backflushtechnik (NP-HPLC) anschließt, sind die Organohalogenverbindungen mittels Hochauflösender Kapillargaschromatographie (HRGC) über Elektroneneinfang (ECD) bzw. massenselektiv (MSD) detektiert und bestimmt worden. Eine Überprüfung und Validierung der Probenaufarbeitung erfolgte mit Standardreferenz-materialien und auch durch die Analyse einer Schafshirnprobe.

Der Nord Pazifik besitzt aufgrund seiner Dimensionen eine relativ niedrige Grundbelastung an Schadstoffen. Im Nördlichen Teil dieses Ozeans befindet sich die Inselkette der Aleuten, welche ihn von der Bering See trennt. Dieses doch sehr entlegene Gebiet gehört zu den weltweit wichtigsten Fischfangregionen. Jedoch spielten die Aleuten und der Nordpazifik auch eine entscheidende strategische Rolle in den vergangenen hundert Jahren. Viele Inseln haben eine lange militärische Historie und eine damit verbundene andauernde Umweltbelastung durch Schadstoffe. Aber auch die geographische Lage und die Nähe zu großen Industrienationen wie Russland, Japan und China auf der asiatischen Seite und den USA und Kanada im Osten haben einen entscheidenen Einfluss auf den Eintrag von Umweltgiften in das Ökosystem Nord Pazifik.

Bei einer Expedition im Sommer 1999 auf die Aleuten wurden Heilbutt-, Dorsch-, Muschel- und Sandflunder-Proben im Bereich einiger Inseln der West-Aleuten, dem Golf von Alaska und der Kalifornischen Pazifikküste gefangen und die Gehalte von Organohalogenverbindungen bestimmt. Die Belastungsmuster in den Proben wurden unter anderem durch statistische Verfahren (Hauptkomponenten-Analyse PCA) miteinander verglichen und damit die Grundbelastung und punktuelle Quellen für den Schadstoffeintrag im Nord Pazifik aufgezeigt.

Von besonderem Interesse waren dabei bromierte Verbindungen wie die Polybromierten Diphenylether (PBDE), welche weltweit als Flammschutzmittel eingesetzt werden. Aber auch noch viele unbekannte halogenierte persistente Stoffe mit teilweise biogenem Ursprung sind in der Natur existent. Durch die massenselektive Detektion mit negativ chemischer Ionisierung (NCI) in der Gaschromatographie konnten diese Verbindungen besonders selektiv und nachweisstark detektiert und teilweise auch identifiziert werden.

3 Allgemeiner Teil

3.1 POPs in der Umwelt – Umweltchemie

3.1.1 Allgemeine Betrachtungen

In der Umweltchemie befasst man sich mit Zusammenhängen des globalen Transports und Verbleibs umweltrelevanter Chemikalien [Ballschmiter 1992]. Die Entwicklung der Gesellschaft führte einerseits zu einem höheren Lebensstandard und zu mehr Komfort, andererseits zu einer höheren Belastung der Umwelt. Bei Herstellung von chemischen Verbindungen entstehen nicht nur erwünschte Produkte, sondern auch unerwünschte Nebenprodukte. In der Umweltchemie werden Eintrag, Transport, Verbleib und Umwandlungsprozesse dieser Umweltchemikalien betrachtet und diskutiert.

Mit „Persistant Organic Pollutants“ (POPs) werden Stoffe bezeichnet, die absichtlich oder unabsichtlich (engl. byproducts: Nebenprodukte) durch menschliche Tätigkeit (anthropogen) in die Umwelt gelangen oder in deutlicher erhöhter Konzentration auftreten, als dies natürlicherweise der Fall ist. Sie weisen eine hohe Persistenz gegenüber natürlichen Abbauprozessen auf und sind deshalb sehr stabil, langlebig und toxisch für biologische Systeme. Deshalb haben sie auch den Namen Xenobiotika (griech. Xenos: Gast, Fremder; Bios: Leben) und werden als Umweltchemikalien, Umweltgifte und Umweltschadstoffe bezeichnet. Von der UNEP (United Nations Environment Program) sind eine Vielzahl von Verbindungen aufgelistet und nach ihrem Gefahrenpotential eingestuft worden [UNEP Governing Council 1995].

Eigenschaften wie Persistenz, Toxizität und Bioakkumulativ lassen solche Substanzen zu höchst problematischen Chemikalien werden, die in die Umwelt eingebracht werden. Manche von ihnen ähneln in ihrem chemischen Aufbau den menschlichen und tierischen Hormonen und können deshalb die Wirkungsweise dieser Hormonsysteme beeinflussen [Cameron 2000]. Solche Substanzen werden als „Endocrine Disruptors“ bezeichnet.

Einen großen Anteil der POPs machen Organohalogenverbindungen aus, wie polychlorierte Biphenyle (PCB), polychlorierte Dibenzo-p-Dioxine (PCDD) und Dibenzofurane (PCDF), Organochlor-Pestizide (DDT, Chlordane, Toxaphene und Lindan) und seit den letzen 15 Jahren auch vermehrt bromierte Flammschutzmittel, wie die Gruppe der polybromierten Diphenylether (PBDE).

Die globale Umweltbelastung durch die 15 Mitgliedstaaten der Europäischen Union (EU) nimmt durch den stetig erhöhten Verbrauch von natürlichen Ressourcen zu, wie erst kürzlich von der Europäischen Umweltagentur (EUA) in einem Bericht festgestellt wurde [Bringezu 2001]. Zusätzlich wurde von der Europäischen Kommission ein Weissbuch über die Strategie für eine zukünftige Chemikalienpolitik verabschiedet [EU-Kommission 2001], welches gemäss dem EU-Vertrag sowohl für gegenwärtige als auch für zukünftige Generationen ein hohes Schutzniveau für menschliche Gesundheit und Umwelt gewährleistet und zugleich die Interessen des Marktes und der chemischen Industrie wahren soll.

3.1.2 Modellansätze in der Umweltchemie

In der Umweltchemie wird die Chemie der Stoffe in der Umwelt beschrieben. Um die globalen Verhältnisse im Zusammenhang der Belastung der Umwelt mit Schadstoffen zu beschreiben, müssen Informationen über Eintrag, Transport, Verteilung, Umwandlung und Verbleib anthropogener organischer Substanzen berücksichtigt werden. Für die Beantwortung dieser Fragestellung gibt es verschiedene wissenschaftliche Modelle und Ansätze.

Bei dem theoretischen *Unit-World*-Ansatz von Mackay gliedert man die Welt in vier Umweltkompartimente (Untereinheiten), die Atmosphäre, Geosphäre, Hydrosphäre und Biosphäre mit global gemittelten Anteilen [Mackay 1979, Mackay 1985, Mackay 1986]. Eine in diese Einheitswelt eingebrachte Substanz wird sich im einfachsten Fall entsprechend ihren physiko-chemischen Eigenschaften verteilen. Um die Modellrechnungen der Realität so nahe wie möglich zu bringen, müssen aber zusätzlich noch die kinetischen Aspekte (Zeitbedarf zur Gleichgewichtseinstellung), die globale Ungleichverteilung der Emissionen, die Verlustprozesse durch Photoabbau, die Biotransformation und tages- und jahreszeitliche Schwankungen der Umweltbedingungen berücksichtigt werden. In weiteren ergänzenden Modellen wurden diese Aspekte von Mackay und Wania mit einbezogen [Mackay 1989, Mackay 1991b, Mackay 1991a, Mackay 1992, Wania 1995].

Das *Ulmer 4-W-Modell* befasst sich mit der Fragestellung: „**WAS** kommt **WO**, **WARUM** in **WELCHER** Konzentration vor?“ Dieser Ansatz liefert im Gegensatz zum Unit-World-Modell eine Beschreibung von Verteilungsvorgängen der Schadstoffe im realen globalen Geschehen, die anhand von analytisch-chemischen Methoden experimentell ermittelt wurden [Ballschmiter 1985, Ballschmiter 1992, Ballschmiter 1997a]. Dabei wird der real gemessene stoffliche Zustand (Konzentration, Substanzmuster, räumliche und zeitliche Veränderung der Konzentration) der POPs in die globalen Massenflüsse eingebracht und diskutiert.

Mackays Unit-World-Ansatz und das Ulmer 4-W-Modell ergänzen sich gegenseitig. Während der theoretische Ansatz bei der Suche von repräsentativen Umweltproben sehr hilfreich ist und die Aufenthaltswahrscheinlichkeit einer Substanz in einem bestimmten Umweltkompartiment angibt, lässt sich die Richtigkeit dieses Modells mit den experimentellen Daten überprüfen. Aus der Kombination beider Modelle lassen sich Vorhersagen über das Umweltverhalten neuer anthropogener Stoffe treffen, bevor sie in die Umwelt gelangt sind und das „globale Experiment“ begonnen hat.

3.1.3 Multiphasen-Konzept

Die vier globalen Hauptphasen Atmosphäre, Hydrosphäre (Ozeane), Biosphäre (Lebewesen) und Geosphäre (Erdoberfläche) können in viele weitere Unterphasen eingeteilt werden. Das ozeanische System besteht aus einer Ansammlung von Wasserteilchen, Partikeln, Kolloiden und innerhalb dieser Phase noch zahlreichen biotischen Unterphasen (Pflanzen, Plankton, Fische und Meeressäuger), welche wiederum unterteilt sind nach lipophilen und hydrophilen Eigenschaften.

Jede Verbindung wird sich entsprechend dem chemischen Potential nach ihren physikochemischen Eigenschaften in diesem Multiphasen-System verteilen [Ballschmiter 1992].

Umweltverteilungsrelevante Kenngrössen:

- Dampfdruck der unterkühlten Schmelze: p^0_L
- Wasserlöslichkeit der unterkühlten Schmelze: $S_{w,L}$
- Henry-Konstante: H
- Verteilungskoeffizient n-Oktanol/Wasser: K_{ow}
- Verteilungskoeffizient Gas/Wasser: K_{gw}
- Verteilungskoeffizient Gas/n-Oktanol: K_{go}
- Adsorptionskoeffizient für Sedimente: K_{oc}

Die Werte für Dampfdruck und Wasserlöslichkeit gelten jeweils für die unterkühlten Schmelzen oder Flüssigkeiten. Beim Lösen oder Verdampfen von Feststoffen wird zusätzliche Energie zum Aufbrechen des Kristallverbandes benötigt [Schwarzenbach 1993b], deshalb liegen dort die Werte für die Wasserlöslichkeit und den Dampfdruck niedriger.

Der Zusammenhang von Dampfdruck einer Substanz und Wasserlöslichkeit wird durch das *Henrysche Gesetz* beschrieben:

$$H = \frac{p^0{}_L}{S_{w,L}}$$

Der n-Oktanol/Wasser-Verteilungskoeffizient ist ein Maß für die Lipophilie einer Substanz X und berechnet sich nach:

$$K_{ow} = \frac{c_{n\text{-}Oktanol}(X)}{c_{H_2O}(X)}.$$

Die bei den Organohalogenverbindungen gefundenen K_{ow}-Werte liegen oftmals mehrere Zehnerpotenzen auseinander und werden deshalb in der logarithmierten Form ($\log K_{ow}$) angegeben.

Mit der Henry-Konstante lässt sich der temperaturabhängige, dimensionslose Gas/Wasser-Verteilungskoeffizient K_{gw} berechnen:

$$K_{gw} = \frac{H}{R \cdot T}$$

(R: allgemeine Gaskonstante T: absolute Temperatur)

Bei Kenntnis der Henry-Konstante H und des Gas/Wasser-Verteilungskoeffizienten K_{gw} kann die Lage des Gleichgewichtes bei der Verteilung einer Substanz zwischen Gasphase und wässriger Phase beschrieben werden [Ballschmiter 1991b].

Der Gas/n-Oktanol-Verteilungskoeffizient K_{go} ermöglicht es, Aussagen über die direkte Verteilung eines Schadstoffes zwischen der Atmosphäre und einer lipophilen Pflanzenoberfläche zu treffen.

Die Tendenz einer Substanz X, sich an organischem Kohlenstoff (*engl. organic ca*rbon) in Sedimenten oder Böden anzureichern (Geoakkumulation), wird durch die Adsorptionskonstante K_{oc} ausgedrückt:

$$K_{oc} = \frac{c_{organ.\,Kohlenstoff}(X)}{c_{H_2O}(X)}$$

Die Konzentration im Boden/Sediment wird hier bezogen auf den Anteil an organischem Kohlenstoff, der im Boden/Sediment vorhanden ist, angegeben. Dies ermöglicht die Vergleichbarkeit der Adsorption an Böden mit verschiedenen Gehalten an organischem Kohlenstoff.

Will man die Akkumulation und Verteilung von Schadstoffen in Bioproben erklären, müssen der K_{ow} und der K_{go} bekannt sein. Der K_{ow} beschreibt die Verteilung von Chemikalien zwischen der Wasserphase und der unpolaren n-Oktanol Phase, welche modellhaft für die Phospholipide der Zellmembranen von Organismen und das gesamte Fettgewebe von Tieren steht [Bacci 1991, Buckley 1982, Simonich 1995].

3.1.4 Bioakkumulation und Biotransformation

Der Ausdruck *Bioakkumulation* beschreibt die Anreicherung von Stoffen in Organismen. Für Organohalogenverbindungen bedeutet dies in aquatischen Systemen einen Übergang in die lipophile Phase der biologischen Systeme. Dabei unterscheidet man zwischen der direkten Aufnahme über die Grenzflächen der Organismen (Zellmembranen oder Haut und Kiemen der Lebewesen) und der indirekten Aufnahme über die Nahrung (Verdauungstrakt). Diese Arten der Verteilung werden entweder als *Biokonzentration* oder *Biomagnifikation* bezeichnet [Connell 1988, Streit 1989]. Im ersten Fall liegt die Konzentration einer Substanz im Organismus deutlich über der in der umgebenden wässrigen Phase und bei der Anreicherung über die Nahrung erhält man zunehmende Konzentrationen entlang der Stufen der Nahrungskette.

Für die quantitative Beschreibung der Biokonzentration einer Substanz X zwischen der wässrigen Phase und der Biophase (Organismus) wird der dimensionslose *Biokonzentrationsfaktor BCF* eingesetzt:

$$\mathrm{BCF} = \frac{c_{\mathrm{Organismus}}(X)}{c_{\mathrm{H_2O}}(X)}$$

Gleiches gilt für die Biomagnifikation (*Biomagnifikationsfaktor BMF*):

$$\text{BMF} = \frac{c_{\text{Organismus höherer trophischer Stufe}}(X)}{c_{\text{Organismus niedrigerer trophischer Stufe}}(X)}$$

Die Konzentrationen können auf die extrahierte Lipidmenge, das Nassgewicht oder das Trockengewicht bezogen werden [Muir 1988b].

Von entscheidender Rolle für die Anreicherung einer Umweltchemikalie in einem Organismus sind ausser deren physiko-chemischen Eigenschaften die Art und Weise der Transportvorgänge durch die Grenzschichten, Dauer und Art des Verbleibs und der weitere chemische Verlauf im Organismus [Looser 1999]:

- Aktive Transportvorgänge durch Membranen, z.B. durch Carrier-Proteine
- Metabolischer Abbau der Substanzen im Organismus und Akkumulationsverhalten der Metaboliten
- Akkumulation in spezifischen Organen und Geweben (auch durch Adsorption auf biologischen Oberflächen wie Kiemen, Haut, Schleimhäuten des Verdauungstraktes)
- mögliche Dissoziation der Substanzen in Ionen
- Kinetik der Aufnahme und Ausscheidung von Substanzen

Die Umwandlung von bioakkumulierten lipophilen Verbindungen in hydrophilere (besser wasserlösliche) Komponenten ist durch zahlreiche spezielle enzymatische Systeme katalysiert. Auf diese Weise kann sich der Organismus dieser Metaboliten durch Ausscheidung entledigen und wird entgiftet.

Bei dieser *Biotransformation* gibt es zwei grundsätzliche Abbaumechanismen [Dekant 1995, Marquardt 1997]:

Enzymatisch katalysierte Funktionalisierungsreaktionen (***Phase-I-Reaktionen***)

→ Umwandlung in polarere Stoffe durch:

a) Oxidation (z.b. Epoxidierung, Hydroxilierung, Dehydrogenierung)
b) Reduktion (Azo-Reduktion, Nitro-Reduktion, Carbonyl-Reduktion)
c) Hydrolyse von Estern, Amiden und Epoxiden

Eine grosse Bedeutung bei der Metabolisierung kommt dabei dem Cytochrom P-450 Enzymsystem (Monooxygenase) zu, welches sich vorwiegend in den Leberzellen der Organismen befindet, weshalb die Belastung an Schadstoffen und Metaboliten dort meistens die höchsten Werte aufweist.

Enzymatisch kat. Konjugationsreaktionen der Phase-I-Reaktionsprodukte ***(Phase-II-Rkt.)***

→ Erhöhung der Wasserlöslichkeit durch Konjugation an endogene Moleküle

a) Methylierung
b) Methoxylierung
c) Acetylierung
d) Sulfatierung (Veresterung mit Sulfat zum Schwefelsäure-Ester)
e) Glucuronidierung (Konjugation mit Glucuronsäure)

Jedoch weisen manche der Metaboliten noch eine hohe Tendenz zur Bioakkumulation auf, wie besonders gut beim DDE (Dehydrohalogenierung von DDT), beim DDD (reduktive Dechlorierung von DDT), bei den halogenierten Anisolen [Führer 1996] und in neuerer Zeit bei den Methoxyverbindungen der polybromierten Diphenylether zu sehen ist [Haglund 1997b].

In **Abb. 3-1** sind schematisch die Verteilungsmöglichkeiten der Bioakkumulation und Biotransformation im aquatischen System dargestellt.

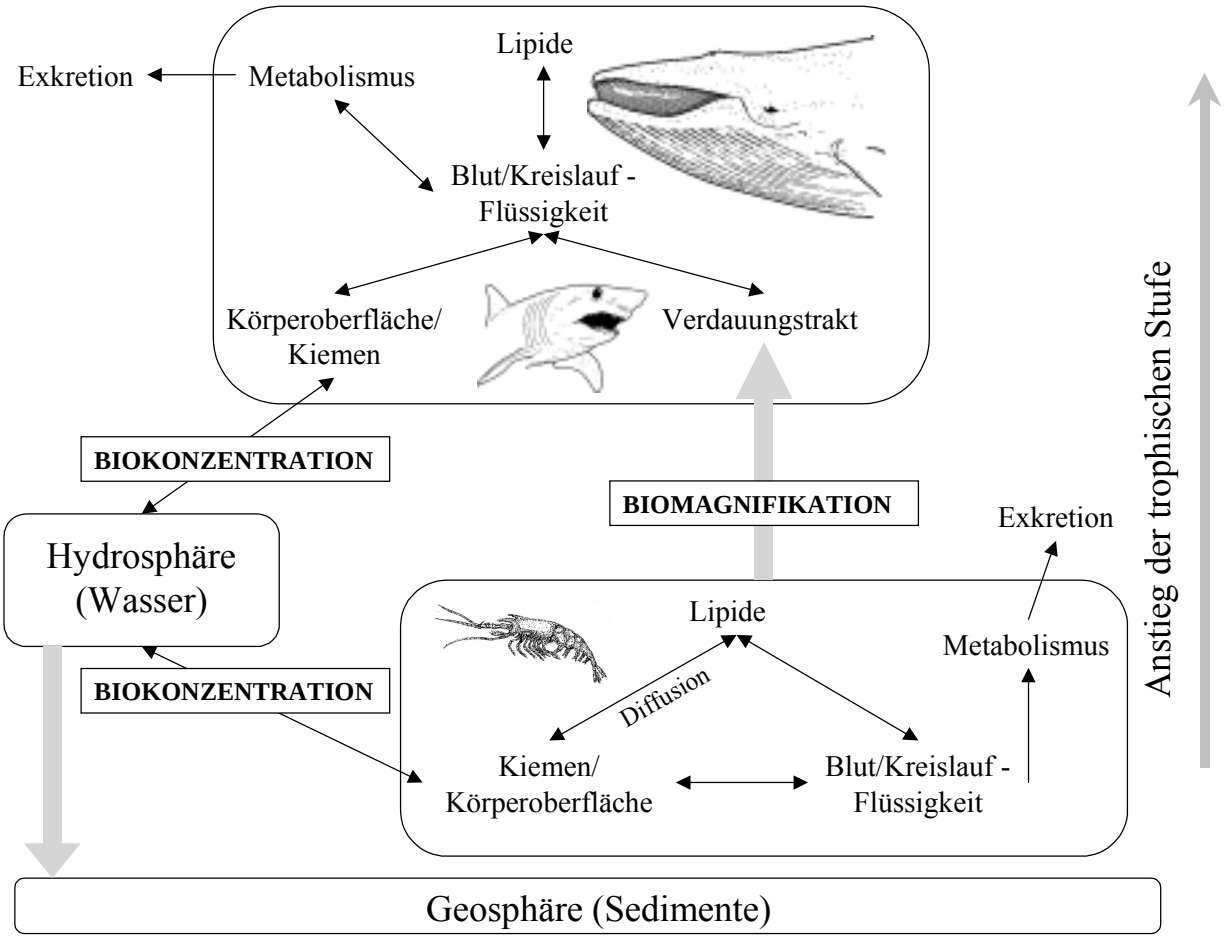
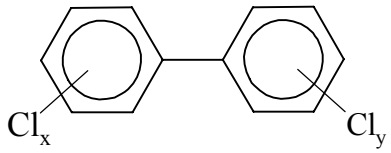


Abb. 3-1 Verteilungsvorgänge bei der Bioakkumulation von lipophilen Xenobiotika in der marinen Umwelt

3.2 Untersuchte POPs und deren Quellen

3.2.1 Polychlorierte Biphenyle (PCB)

Die polychlorierten Biphenyle sind eine Substanzklasse, die aus 209 Kongeneren unterschiedlichen Chlorierungsgrades besteht (Struktur und Nomenklatur siehe **Tab. 9-2**). In den technischen Gemischen, welche durch direkte Chlorierung des Biphenyls synthetisiert wurden, sind jedoch nur 120-150 davon enthalten [Frame 1997a, Frame 1997c, Schulz 1989]. Unter den Handelsnamen wie Aroclor, Clophen, Kanechlor oder Phenochlor wurden PCB-Gemische mit mittleren Chlorgehalten zwischen 20–60 Gew.% produziert. Die Zusammensetzung und das Muster (*engl. pattern*) der technischen Gemische mit gleichem Chlorgehalt ist bei allen Herstellern sehr ähnlich. Geringe Unterschiede lassen sich hierbei dennoch erkennen, wie z.B. zwischen US- und Europa-Produkten, was eine teilweise Zuordnung der Herkunft einer PCB-Grundbelastung in der Nordhemisphäre zulässt [Schreitmüller 1994c]. Seit Anfang der 30er Jahre (1929) sind weltweit grosstechnisch mehr als 1.5 Millionen Tonnen PCBs hergestellt worden [DFG 1988].



PCB

$C_{12}H_{10-x}Cl_x$

Aufgrund ihrer vielen für die Technik und Industrie nützlichen Eigenschaften fanden die PCBs eine breite Anwendung. Sie sind chemisch sehr stabil, haben eine flammenhemmende Wirkung, sind nicht brennbar, thermisch stabil und besitzen hervorragende elektrische Isolationseigenschaften. Die meist schwerflüchtigen, hochviskosen, ölartigen PCB-Gemische wurden deshalb vorwiegend als Isolierflüssigkeiten in Transformatoren, als Hydraulikflüssigkeiten, Kühlmittel, Flammschutzmittel, Imprägniermittel für Holz und Baustoffe und als Weichmacher in Kunststoffen verwendet [Ballschmiter 1988].

In die Umwelt sind die PCBs vorwiegend durch Emission aus Mülldeponien, bei Müllverbrennung, aus Altölen und durch das Austreten aus Transformatoren und Kondensatoren gelangt und konnten sich über die Atmosphäre und den Ozeanischen Wasserkreislauf global verteilen (siehe :Globale Transportwege von POPs in die Arktis 3.3.1) [Ballschmiter 1980b, Ballschmiter 1981, Zell 1980b]. Knapp 40 Jahre nach der ersten grosstechnischen Produktion konnten in den 60er Jahren PCBs erstmals in Umweltproben nachgewiesen werden [Jensen 1966]. Die PCBs wurden von Ballschmiter und Zell struktursystematisch nummeriert [Ballschmiter 1980b]; diese Nummerierung hat sich international durchgesetzt [Frame 1996].

Die akute Toxizität der PCBs liegt deutlich unter der von polychlorierten Dioxinen und Furanen, bis auf ein paar Ausnahmen, den sogenannten „koplaneren“ PCBs, welche keine

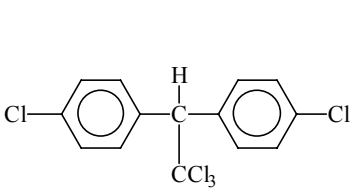
Chlorsubstitution in Ortho-Position aufweisen und ähnliche Toxizitätsäquivalenzfaktoren (TEF) besitzen („dioxinartig“) (PCB 77, 81, 126 und 169 vgl. Anhang **Tab. 9-2**) [Ahlborg 1994, Safe 1993, Safe 1990]. Doch durch eine ständige Aufnahme geringer Mengen und einer damit verbundenen Akkumulation im Fettgewebe besteht eine schädliche Auswirkung auf den Organismus, was durch die kanzerogene und embryotoxische Wirkung in Tierversuchen bestätigt wird. Zusätzlich findet auch noch eine nicht zu unterschätzende Beeinflussung des endokrinen Hormonsystems in Lebewesen statt [Colborn 1996, McFarland 1989, Safe 1994].

Seit 1973 ist die Verwendung von PCBs auf geschlossene Systeme beschränkt, die Produktion wurde in den USA 1977 eingestellt und in der Bundesrepublik Deutschland 1983. 1989 wurde in der Bundesrepublik ein generelles PCB-Verbot erlassen [ChemVerbotsV 1996]. Das Vorkommen der PCBs lässt sich unter verschiedenen Vorgaben einordnen. Die Grenzwert-Festsetzung der Schadstoffhöchstmengenverordnung und der Altölverordnung berücksichtigt die Kongenere PCB 28, 52, 101, 138, 153 und 180 [AltölV 1987, SHmV 1988]. Sie werden zusammen mit PCB 118 auch als die sieben *Indikatorkongenere* bezeichnet.

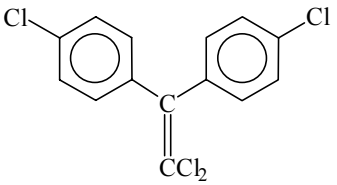
3.2.2 DDX-Gruppe

In der DDX-Gruppe werden die Verbindungen DDT, DDD und DDE zusammengefasst, mit dem Grundgerüst Bis(chlorphenyl)ethan und einer Chlorsubstitution in 2,4'- oder 4,4'-Stellung an den Phenylringen.

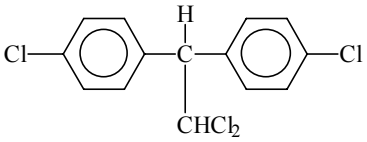
Hauptkomponente dieses für die Land- und Forstwirtschaft sehr wichtigen Organochlor-Pestizids stellt das 4,4’-DDT (1,1,1-Trichlor-2,2-bis(*p*-chlorphenyl)-ethan) dar.



4,4'-DDT



4,4'-DDE



4,4'-DDD

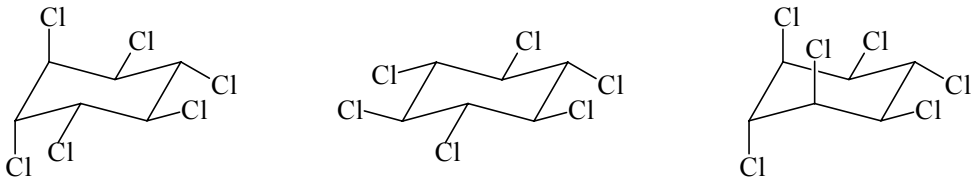
Die insektizide Wirkung wurde 1939 von dem Schweizer Chemiker Paul H. Müller entdeckt. Es ist ein wirksames Kontaktinsektizid, welches hauptsächlich zur Bekämpfung der Malariamücke Anopheles eingesetzt wurde. Weltweit betrug die Produktion seit 1945 mindestens 1,5 Millionen Tonnen DDT. Grosstechnisch wird DDT durch Reaktion von Chloral (Trichlorethanal) mit Chlorbenzol in Gegenwart von konzentrierter Schwefelsäure hergestellt.

Das technische Gemisch enthält neben dem insektizid wirksamen 4,4'-DDT auch noch das isomere 2,4'-DDT mit einem Anteil von ungefähr 15 %, 4,4'-DDD und 4,4'-DDE zu je maximal 4 % und einige Nebenprodukte, darunter in geringen Mengen Tris(chlorphenyl)-

methan-Kongenere (TCPM) [Boer 1996, Buser 1995, Falandysz 1999, Jarman 1992, Looser 1999, Muir 1996a, Muir 1996b, Walker 1989, Wu 2002] (siehe dazu auch S. 21). 2,4'-DDT besitzt eine östrogene Wirkung auf Vögel und Säugetiere und wird unter anderem für die Verringerung der Eierschalen-Stärke bei Raubvögeln verantwortlich gemacht [Zell 1980a].

Ein großes Problem bei der Verwendung von DDT ist die sich nach einigen Anwendungen ausbildende Resistenz der Insekten. Die wichtigsten Metaboliten sind das durch Dehydrohalogenierung entstehende DDE und das durch reduktive Dechlorierung entstehende DDD. Auch die große Persistenz des DDT und dessen Metaboliten bereitet große Probleme [Custer 1999, Hargrave 1992, Jarman 1993, Jarman 1996a]. Wie viele andere POPs hat sich DDT global verteilt und konnte in allen Umweltkompartimenten nachgewiesen werden [Focardi 1992, Gustavson 1999, Hebert 1996, Kleivane 2000, Norstrom 1988, Norstrom 1998a, Stephenson 1995, Wittlinger 1990]. Die Anwendung von DDT ist in den USA seit 1972 verboten, in der Bundesrepublik Deutschland seit 1974. In vielen Entwicklungsländern findet DDT jedoch heute noch Anwendung [Bliefert 1994].

3.2.3 Hexachlorcyclohexane (HCH)



α-HCH β-HCH γ-HCH

Technisches Hexachlorcyclohexan (HCH) ist eines der eher flüchtigeren Organochlor-Insektizide. Es es ist ein Gemisch aus mehreren Isomeren: 55 – 70 % α-HCH (aaeeee), 5 – 14 % β-HCH (eeeeee), 10 – 18 % γ-HCH (aaaeee), 6 – 10 % δ-HCH (aeeeee) und 3 – 4 % ε-HCH (aeeaee) und anderen Spurenbestandteilen.

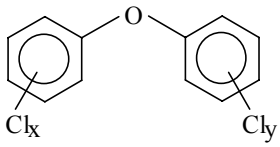
Eine insektizide Wirkung besitzt nur γ-HCH, welches in *Lindan* (benannt nach dem Holländer van der Linden) zu 99% enthalten ist, jedoch weisen alle HCH-Isomere eine akute und chronische Toxizität auf [Oliveira-Filho 1997]. β-HCH steht zusätzlich im Verdacht, östrogene Effekte auf Säugetier-Zellen zu haben [Willett 1998]. Hauptsächlich wurde HCH als Breitband-Insektizid in der Landwirtschaft eingesetzt und war Inhaltsstoff in vielen Holzschutzmitteln.

Seit 1970 wurde technisches HCH in den USA und in vielen westlichen Ländern verboten, wohingegen Lindan in Ländern der russischen Föderation und in vielen anderen asiatischen Staaten (hauptsächlich China und Indien) noch vermehrt eingesetzt wird [Barrie 1992, Voldner 1995]. Noch in den 90er Jahren wurden weltweit über 20 000 t α-HCH und 8 400 t γ-HCH ausgebracht, die Gesamtmenge seit 1950 beläuft sich auf bis zu 6 000 000 t [Li 1998].

Während in der Nordhemisphäre hauptsächlich das technische HCH verwendet wurde, kam in der Südhemisphäre vorwiegend das gereinigte Lindan zum Einsatz. Diese unterschiedlichen Emissionsquellen verursachen global verschiedene α/γ-Verhältnisse, wodurch man Informationen über die globale Verteilung von POPs gewinnen kann [Ballschmiter 1991a, Barrie 1992, Fischer 1991, Halsall 1998a, Muir 2000, Schreitmüller 1995, Wittlinger 1987, Wittlinger 1990].

Liegt ein hoher α-HCH-Anteil vor, ist dies Hinweis auf einen relativ aktuellen Eintrag von technischem HCH. Über die Atmosphäre findet aber auch zusätzlich ein Transport von α-HCH in entlegene Gebiete statt (z.B. polare Regionen) [Kleivane 2000, Moessner 1992, Wania 1996]. Anderseits deuten hohe β-HCH-Gehalte auf eine weiter zurückliegende Verschmutzung hin, da der Abbau (anti-periplanare Dehydrohalogenierung) aufgrund der Stellung der Chloratome im Molekül (alle äquatorial: eeeeee) deutlich langsamer abläuft als bei den α- und γ-Isomeren [Willett 1998].

3.2.4 Polychlorierte Diphenylether (PCDE)



PCDE

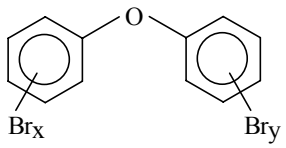
$C_{12}H_{10-x}OCl_x$

Eine weitere Gruppe von halogenierten, aromatischen Substanzen bilden die polychlorierten Diphenylether (PCDEs), welche strukturelle Ähnlichkeiten mit den polychlorierten Biphenylen (PCBs) und den polychlorierten Dibenzofurane (PCDFs) haben. Dies führte zu intensiven Untersuchungen der Toxizität und der Toxikokinetik der PCDEs [Becker 1991, Carlson 1980, Chui 1985, Darnerud 2001, Metcalfe 1997].

Bei der Herstellung von Chlorphenolen und chlorierten Phenoxycarbonsäuren entstehen PCDEs als Nebenprodukte [Kurz 1995a, Kurz 1995b, Nilsson 1974]. Der intensive Einsatz der Chlorphenole, besonders des Pentachlorphenols, als Herbizide und Holzschutzmittel führte zum ubiquitären Auftreten der PCDEs in der Umwelt. Ebenfalls treten die PCDEs bei unvollständigen Verbrennungsprozessen auf, z. B. in Müllverbrennungsanlagen [Kurz 1995b, Paasivirta 1986].

In einer großen Zahl von Umweltproben konnten PCDEs nachgewiesen werden. Sie wurden in Sedimenten und Fischen aus den Großen Seen [Niimi 1994], in Vogeleiern und Vögeln [Koistinen 1993a, Paasivirta 1986, Stafford 1983], in Lachs [Koistinen 1993b], in Dorschlebertran [Kurz 1994a, Kurz 1995b] und in Humanproben [Koistinen 1995, Stanley 1990, Williams 1991] gefunden.

3.2.5 Polybromierte Diphenylether (PBDE)



PBDE

$C_{12}H_{10-x}OBr_x$

Die polybromierten Diphenylether (PBDEs) gehören zur Gruppe der additiven Flammschutzmittel und werden seit Beginn der 70er Jahre eingesetzt. Hauptsächlich finden sie Verwendung in Elektro- und Elektronikgeräten wie Computerbauteilen, Fernsehern und Stromkabelisolierungen sowie auch in Baustoffen (Dämmplatten), Möbeln, Textilien, Kunststoffen und auch in Schaumstoffen (Polyurethan-Schaum) [Hale 2002, Sellström 1998, WHO 1994].

Grosstechnisch werden sie durch katalytische Bromierung des Diphenylethers hergestellt [Striebich 1991]. Obwohl die PBDEs strukturell und pysiko-chemisch den PCBs ähnlich sind, gibt es noch keine gesetzlichen internationalen Beschränkungen und Regulierungen für den Gebrauch dieser Organobromverbindungen, obwohl sie die gleiche Tendenz zur Bioakkumulation besitzen [de Boer 1998, Hallgren 2001]. Der vielseitige Einsatz dieser Flammschutzmittel hat die jährlichen weltweiten Produktionsmengen im Jahre 1999 schon auf über 70.000 t ansteigen lassen und dadurch eine globale Verteilung über „*Long-Range-Transport*“ verursacht, weshalb diese Stoffklasse ebenfalls zu den *POPs* zu zählen ist [de Wit 2000, Renner 2000]. Die systematische Nummerierung der PBDE lehnt sich an die der PCDE an [Kurz 1994b], die wiederum nach den PCB nummeriert werden.

Erste Berichte von PBDEs in Umweltproben stammen aus den frühen 80er Jahren, wo erste Spuren von tetra- bis hexabromierten Diphenylethern in Hechten, Aalen und Forellen aus schwedischen Flüssen gefunden wurden [Andersson 1981]. Mittlerweile fand eine Anreicherung der PBDEs in der Nahrungskette statt; sie lassen sich in allen Umwelt-Kompartimenten nachweisen und die Gehalte steigen an [Jansson 1993, Lindström 1999, Schroeter-Kermani 2000, She 2002, Strandberg 2002, Watanabe 1995]. In den letzten 20 Jahren sind die Gehalte von PBDEs in Bioproben exponentiell angestiegen, was im Gegensatz zu den zurückgehenden Werten der DDT- und der PCB-Belastung steht. Besorgniserregend sind die relativ hohen Gehalte der PBDEs in Humanproben, besonders in Muttermilch. Bei einigen Kongeneren traten in Tierversuchen neurotoxische Effekte und Veränderungen des weiblichen Hormons Östradiol auf [Eriksson 1998, Segura-Aguilar 1997]. Eine endokrine Wirkung auf das Hormonsystem des Menschen, vergleichbar zu den PCBs, ist naheliegend, obwohl es erst wenige Langzeitstudien gibt [Alaee 2002, Darnerud 2001, Eriksson 1998, McDonald 2002].

Die Stoffe adsorbieren bevorzugt in der Luft an Partikeln und können so über weite Strecken transportiert werden, bevor sie mit dem Regen oder durch Absinken in Gewässer und auf Böden gelangen [Jansson 1987]. Die bromierten Diphenylether gelangen

hauptsächlich während der Herstellungsprozesse durch Waschen von Textilien und vor allem durch Ausdampfen aus Produkten, die sich beim Gebrauch erwärmen (z. B. Elektrogeräte und Innenausstattungen von Autos), in die Natur.

Industriell werden hauptsächlich drei verschiedene technische PBDE-Gemische (Handelsnamen: Bromkal, Chemische Fabrik Kalk, Köln Kalk, Deutschland) hergestellt, welche als Penta-Mix, Octa-Mix oder als Decabromdiphenylether (Deca-BDE) auf den Markt kommen:

- Bromkal 70-5 DE — 45 % ***Penta***-Br ***D***iphenyl ***E***ther
  24-38 % Tetra-, 4-8 % Hexa-BrDE
  [de Wit 2000, Sundström 1976]
  Zusammensetzung:
  2,2´,4,4´-TetraBDEr (BDE-47)
  2,2´,3,4,4´-PentaBDE (BDE-85)
  2,2´,4,4´,5-PentaBDE (BDE-99)
  2,2´,4,4´,6-PentaBDE (BDE-100)
  2,2´,3,4,4´,5'-HexaBDE (BDE-138)
  2,2´,4,4´,5,5'-HexaBDE (BDE-153)
  2,2´,4,4´,5,6'-HexaBDE (BDE-154)

- Bromkal 79-8 DE — 30 % ***Octa***-Br ***D***iphenyl ***E***ther
  10-12 % Hexa-, 44 % Hepta-, 10 % Nona-, <1 % Deca-BrDE
  [de Wit 2000, Huber 2001b]

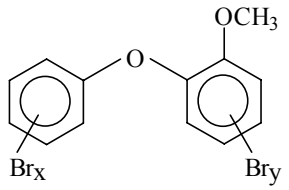
- Bromkal 82-0 DE — 98 % ***Deca***-Br ***D***iphenyl ***E***ther (PBDE 209)
  [de Wit 2000, Huber 2001a]

In den Umweltproben findet man oftmals 2,2',4,4'-Br4DE (PBDE 47) als das am meisten dominante PBDE-Kongener, obwohl in dem technischen Gemisch Bromkal 70-5 DE mit 45 % PBDE 99 die höchste Konzentration besitzt. Während der Decabromdiphenylether das weltweit grösste Produktionsvolumen aufweist, wird er bisher nur selten in Umweltproben nachgewiesen.

Bei sehr großen Molekülen mit vielen Bromatomen ist der Durchtritt durch die Zellmembranen von Organismen erschwert und deshalb die Anreicheung geringer. Aufgrund ihrer schlechten Wasserlöslichkeit sind die PBDEs nur schwer abbaubar und daher wurden die höchsten Werte für PBDE 209 bisher in Sedimentproben nachgewiesen [Allchin 1999].

Der PBDE 47 stellt durch eine hohe Blindwertbelastung in Gebäuden und Labors ein großes Problem für die Analytik dar [Thomsen 2001].

Ähnlich wie bei den PCBs kommt es auch bei den stabilen PBDEs in der Natur zu einem metabolischen Abbau. Die PBDEs können in Methoxy-PBDEs umgewandelt werden. MeO-PBDEs sind in vielen Bioproben global nachgewiesen worden [Arend 2001, Haglund 1997a, Looser 1999].



MeO-PBDE

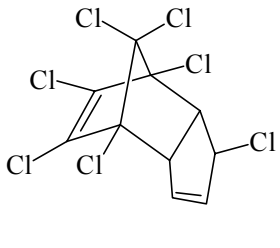
Ebenfalls wurden Hydroxy- und Methoxy-PBDEs in Schwämmen aus dem Indischen und Pazifischen Ozean gefunden [Fu 1995, Handayani 1997]. Es ist allerdings nicht klar, ob diese Verbindungen von den Schwämmen selbst produziert werden oder ob es sich auch teilweise um Metaboliten einer PBDE-Kontamination handelt. Das Erhitzen der PBDE kann zu bromierten Dioxinen und Furanen führen. Die Nomenklatur der einzelnen PBDE-Kongenere ist analog zu den PCBs (vgl. **Tab. 9-2**).

3.2.6 Cyclodien Insektizide

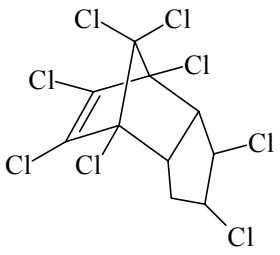
Als *Cyclodien-Insektizide* bezeichnet man cyclische Organochlorinsektizide, welche durch eine Diels-Alder-Reaktion synthetisiert werden. Hauptvertreter dieser Verbindungsklasse sind die Chlordane (z. B. Heptachlor, *cis*-(α-) und *trans*-(γ-)Chlordan, *cis*- und *trans*-Nonachlor), Mirex, Aldrin und Dieldrin.

Chlordan

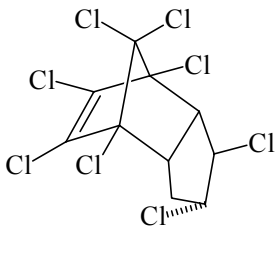
Das technische Chlordan ist ein weiteres Pestizidgemisch, welches seit den 40er Jahren in der Landwirtschaft vielfach eingesetzt wurde, vor allem im Baumwollanbau und zur Heuschreckenbekämpfung sowie zur unterirdischen Bekämpfung von Termiten. In der Bundesrepublik Deutschland ist die Verwendung von Chlordan schon seit 1971 verboten [Perkow 1974]. 1979 wurde die Verwendung von Chlordan in den USA eingeschränkt und bis in die späten 80er Jahre setzte man Chlordan in den USA und Japan gegen Termiten ein [Barrie 1992, Dearth 1991, Hirai 1993, Kilburn 1995].



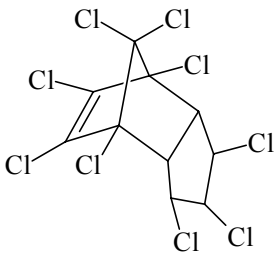
Heptachlor
$C_{10}H_5Cl_7$



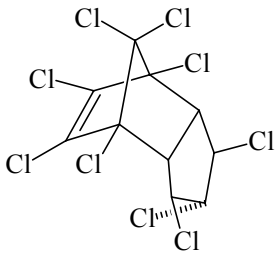
cis-Chlordan
$C_{10}H_6Cl_8$



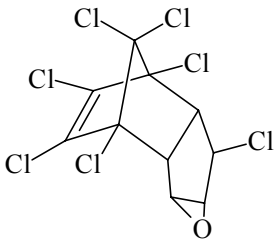
trans-Chlordan
$C_{10}H_6Cl_8$



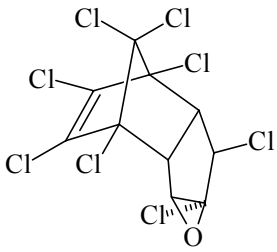
cis-Nonachlor
$C_{10}H_5Cl_9$



trans-Nonachlor
$C_{10}H_5Cl_9$



cis-Heptachlorepoxid
$C_{10}H_5Cl_7O$



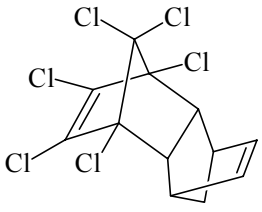
oxy-Chlordan
$C_{10}H_4Cl_8O$

Die in den USA bis 1988 eingesetzte Menge an Chlordan wird auf mehr als 200.000 t geschätzt.

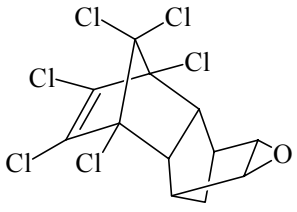
Chlordan wird durch Chlorierung von Chlorden, einem Diels-Alder-Addukt aus Hexachlorcyclopentadien und Cyclopentadien hergestellt. Der mittlere Chlorgehalt des daraus entstehenden technischen Gemisches, welches über 150 Einzelverbindungen enthält, beträgt 70 %. Hauptbestandteile sind das *cis*- und *trans*-Chlordan mit je 19 % und 24 %, *cis*- und *trans*-Nonachlor machen zusammen nur etwa 7 % aus, die restlichen 50 % setzen sich aus Chlordenen, Heptachlor und anderen Molekülen zusammen [Buchert 1989, Dearth 1991, Sovocool 1977]. In der Umwelt unterliegen die Chlordan-Komponenten verschiedenen Abbaureaktionen, wobei die ebenfalls stark bioakkumulativen sowie neurotoxisch und carcinogenen Metaboliten *cis*-Heptachlorepoxid und oxy-Chlordan in teilweise hohen Konzentrationen auftreten [Jarman 1993, Kilburn 1995, Mössner 1995, Muir 1988a, Norstrom 1994].

Wegen der enormen Menge an weltweit eingesetztem Chlordan haben sich diese Verbindungen ebenfalls global verteilt und sind in der Atmosphäre [Wittlinger 1990] sowie in Wasser- [Kawano 1988, Tanabe 1994] und Bioproben zu finden [Alaee 2001, Ballschmiter 1992, Ballschmiter 1996, Hargrave 1992, Hirai 1993, Jansson 1979, Jarman 1993, Kilburn 1995, Krämer 1984, Muir 1988a, Muir 1999, Stansley 1999].[Andersson 1992, Mössner 1995, Norstrom 1988]

Aldrin und Dieldrin



Aldrin
$C_{12}H_8Cl_6$



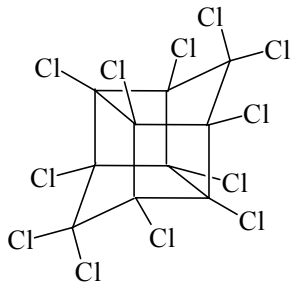
Dieldrin
$C_{12}H_8Cl_6O$

Aldrin ist ein Schädlingsbekämpfungsmittel gegen Drahtwürmer, Engerlinge und Schnaken [Perkow 1974]. Dieldrin ist ein Breitbandinsektizid, das als Saatgut-Beizmittel und, in Kombination mit Lindan, im Kartoffelanbau und gegen Forstschädlinge angewendet

wurde. In landwirtschaftlichen Kulturen ist Dieldrin in Deutschland seit 1971 nicht mehr zugelassen [Perkow 1974]. Es hat eine östrogene Wirkung [Soto 1994] und steht im Verdacht, eine kanzerogene und tumorpromovierende Wirkung zu haben. Beim metabolischen Abbau von Aldrin entsteht zusätzlich Dieldrin. Endrin, ein Stellungsisomer des Dieldrins, wird in Lebewesen rasch metabolisiert und besitzt fast kein Bioakkumulationspotential.

Mirex

Mirex ist ein Insektizid, das seit den späten 50er Jahren gegen Feuerameisen eingesetzt wurde; es besitzt ausserdem eine flammhemmende Wirkung. Das Molekül weist eine würfelartige Käfigstruktur auf und ist vollständig chloriert.



Mirex
$C_{10}Cl_{12}$

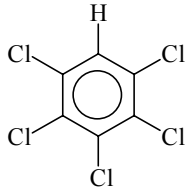
Intensiv studiert wurde das Vorkommen von Mirex in der Natur nur in den Großen Seen und dem St. Lorenz-Strom (Kanada). Die dort ansässige Industrie leitete Mirex in die Gewässer ein und sorgte so für die regionale Verbreitung dieser Chemikalie [Mudambi 1992, Sergeant 1993, Velleux 1995].

3.2.7 Weitere Organohalogene

Chlorbenzole

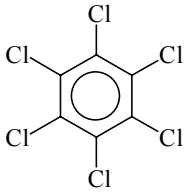
Hexachlorbenzol (HCB) wurde in der Landwirtschaft als Fungizid und Saatgutbeizmittel und als Holzschutzmittel eingesetzt. Die Herstellung erfolgt durch direkte Chlorierung von Benzol und es fällt auch als Nebenprodukt bei der Produktion von Lindan, Pentachlorbenzol, Tri- und Tetrachlorethen, Pentachlornitrobenzol und Mirex an [BUA 1994]. In der Papierindustrie (Bleichen von Zellstoff mit Chlor [Suntio 1988a]), bei der Chlorierung von Kohlenwasserstoffen und bei der Chloralkali-Elektrolyse an Graphit-Elektoden entsteht HCB in großen Mengen. Bei Verbrennungsprozessen in Müllverbrennungsanlagen bilden sich HCB und Pentachlorbenzol (PCBz) [Ballschmiter 1987].

Aufgrund ihrer Persistenz und ihres hohen Bioakkumulationspotentials lassen sich HCB und PCBz global in Luftproben [Ballschmiter 1991a, Mittermaier 2001, Mössner 1994, Wittlinger 1990, Zell 1980a] und in Bioproben [Jarman 1996a] nachweisen.



Pentachlorbenzol (PCBz)

C_6HCl_5

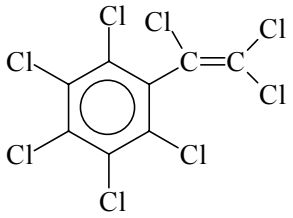


Hexachlorbenzol (HCB)

C_6Cl_6

Octachlorstyrol (OCS)

Octachlorstyrol (OCS) zählt auch zu den POPs und lässt sich in Meer- und Süsswasserfischen nachweisen [Bester 1998, Carey 1986, Ernst 1984, Kaminsky 1983, Kruse 1989, Kuehl 1983, Lohse 1988, Oxynos 1995, Steinwandter 1983, Vogelsang 1986]. Eintragsquellen von OCS in die Umwelt sind die Metallindustrie (Magnesium und Aluminium-Herstellung) und die Müllverbrennungsanalgen [Lohse 1988, Lunde 1976].



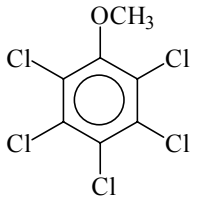
Octachlorstyrol (OCS)

C_8Cl_8

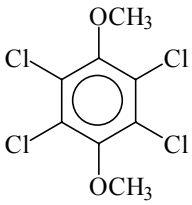
Halogenierte Anisole (Phenyl-methyl-ether)

In der Umwelt weit verbreitete Halogen-Anisole (Methoxybenzole, Methyl-phenyl-ether) sind das Pentachloranisol (PCA, A19), das 2,4,6-Tribromanisol (TrBrA, A33) und das 2,3,5,6-Tetrachlor-1,4-dimethoxybenzol (TCDMB). Gebildet werden sie in natürlichen Umwandlungsprozessen aus Halogenbenzolen oder Halogenphenolen (z. B. PCA ist ein Metabolit des Holzschutzmittels Pentachlorphenol). Im Gegensatz zu den chlorierten Anisolen weist bei den bromierten Verbindungen (z. B. A 33) vieles auf eine vorwiegend biogene Entstehung oder biogene Umwandlung aus anthropogenen Substanzen hin [Higa 1983].

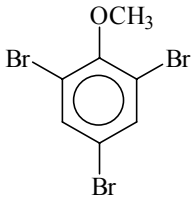
Polyhalogenierte Anisole finden sich global in Wasser, Atmospähre, Bioproben und Sedimenten verteilt [Atlas 1986, Führer 1996, Führer 1997, Führer 1998a, Führer 1998b, Jong 1994, Opperhuizen 1987, Pfeifer 2002, Schreitmüller 1994a, Schreitmüller 1995, Watanabe 1983, Wittlinger 1990].



Pentachloranisol (A19)

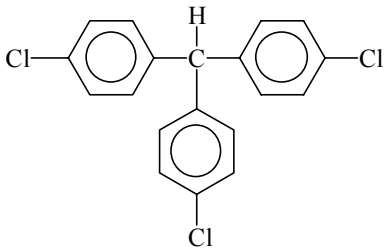


Tetrachlor-1,4-dimethoxybenzol (TCDMB)



Tribromanisol (A33)

<u>**T**ris(**c**hlor**p**henyl)**m**ethan (TCPM)</u>



Tris(4- **c**hlor **p**henyl) **m**ethan
4,4',4"-TCPM (TCPM 10)

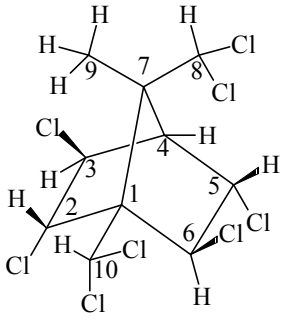
Die **T**ris(**c**hlor**p**henyl)**m**ethane (TCPM) sind Nebenprodukte bei der DDT Herstellung und wurden in vielen Bioproben (Vögel, Fische und Meeressäuger) nachgewiesen [Boer 1996, Buser 1995, Falandysz 1999, Jarman 1992, Looser 1999, Muir 1996a, Muir 1996b, Walker 1989]. Hauptkomponente ist das TCPM10 mit jeweils para Chlor Substitution an den Phenylringen.

3.2.8 Polychlorierte Camphene (Toxaphene)

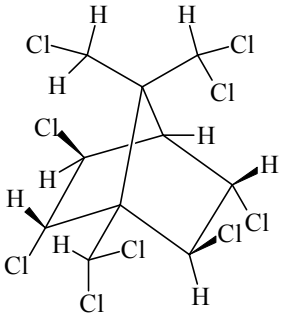
Toxaphen ist der wissenschaftliche Trivialname für die polychlorierten Camphene (Camphechlor) und bezieht sich auf den Produktnamen *Toxaphen* der Firma Hercules.Inc. Es wurde als Breitbandinsektizid verwendet und ist ein sehr komplexes Gemisch chlorierter Bornane mit der allgemeinen Summenformel $\mathbf{C_{10}H_{18-x}Cl_x}$, womit sich theoretisch 16.640 mögliche Kongenere ergeben (zusätzlich gibt es fast noch einmal so viele Enantiomere) [Vetter 1995]. Davon kommen in den technischen Gemischen nur ca. 670 Kongenere vor, wobei die Hexachlor- – Decachlorbornane mit über 80 % den Grossteil ausmachen. Die mittlere Summenformel des technischen Toxaphens lautet: $C_{10}H_{10}Cl_8$ [Saleh 1991]. Als Ausgangsprodukt dient α-Pinen, welches zum Camphen umgelagert wird und anschliessend unter UV-Einstrahlung radikalisch mit Chlor zum Toxaphen reagiert [Saleh 1991].

Toxaphen war das weltweit am häufigsten eingesetzte Pestizid und wurde seit 1945 hauptsächlich (80 – 90 %) im Baumwollanbau eingesetzt und diente als Ersatzstoff für das

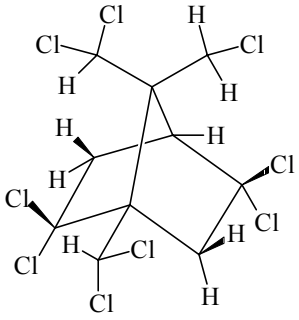
DDT. Die Gesamtproduktion an Toxaphen von 1950 bis 1993 betrug 1.300.000 t, ähnlich der weltweit produzierten Menge an DDT (1.500.000 t) [Voldner 1993].



Parlar 26 (T26)



Parlar 50 (T50)



Parlar 62 (T62)

Aufgrund der nachgewiesenen krebserzeugenden [de Boer 2002, Roos 1989] und östrogenen Wirkung der Toxaphene [Estes 1997, Soto 1994, Soto 1995, Toppari 1996] wurde die Verwendung in Deutschland, den USA und auch in Ländern wie China, Indien und Brasilien zu Beginn der 80er Jahre verboten. Jedoch hat man in Ostdeutschland Toxaphen noch bis 1990 eingesetzt [Krock 1996, Voldner 1993, Voldner 1995].

Die globale Verteilung der polychlorierten Camphene hat eine starke Bioakkumulation dieser Verbindungen zur Folge, jedoch findet man in Bioproben nur eine relativ kleine Anzahl von Kongeneren im Vergleich zum technischen Produkt, was auf eine unterschiedliche Persistenz zurückzuführen ist [Bidleman 1989, Foreid 2000, Muir 2002, Stapleton 2002, Zell 1980a]. Die Toxizität der Toxaphene wird auch für den Rückgang der Robbenpopulationen in der Arktis verantwortlich gemacht [Paasivirta 1991].

Die vereinfachte Nomenklatur der systematischen Namen basiert auf einem von Parlar eingeführten Nummerierungssystem, welches von der IUPAC aufgenommen und verbessert wurde [Andrews 1995, Parlar 1995].

Bei der Analyse von Fischproben ergab sich, dass bis zu 85 % der gesamten Toxaphen-Belastung durch sechs Einzelkongenere verursacht wird [Kimmel 1998]. Es sind dies die Kongenere mit den Parlar-Nummern T26, T40, T41, T44, T50 und T62, wobei T26, T50 und T62 (Struktur siehe unten) in den meisten Proben dominierend sind und für diese Arbeit als Standardsubstanzen vorlagen (zur systematischen Nomenklatur der Toxaphen-Kongenere: siehe Anhang **Tab. 9-1**). In dieser Arbeit wurde diese Kurzbezeichnung der Toxaphene beibehalten.

3.2.9 Natürliche POPs

In vielen Umweltkompartimenten, besonders aber im marinen Bereich lassen sich eine große Anzahl von Organohalogenverbindungen nachweisen, die weder großtechnisch hergestellt werden noch durch menschliches Wirken enstehen. Diese Verbindungen, welche

eine globale Verteilung aufzeigen können, reichern sich in der Umwelt aufgrund ihrer physiko-chemischen Eigenschaften an und haben wie die meisten anthropogenen Organohalogene ebenfalls die Tendenz zur Bioakkumulation.

Mittlerweile ist bekannt, dass einige Mikroorganismen, wie Bakterien, Algen, Pilze und Schwämme zur Bildung halogenierter Stoffe in der Lage sind. Sogar einige Pflanzen können diese natürlichen POPs bilden und in die Atmosphäre emittieren. Diese Verbindungen übernehmen als Repellents oder Toxine in den Lebewesen oftmals sehr wichtige physiologische Funktionen [Gribble 1994, Hartung 1999].

Zu wichtigen Vertretern dieser Gruppe zählen die leichtflüchtigen Halogenmethane (z. B. Methylbromid und Chlormethan), aber auch einige schwerer flüchtige Verbindungen kann man hier nennen: z.B. polyhalogenierte Terpene [Faulkner 1973, Fuller 1992, Renner 1998], Phenole [Gribble 1994], Anisole [Führer 1996, Führer 1998a, Higa 1983, Jong 1994, Pfeifer 2002], Diphenylether [Fu 1995], Pyrrole und Indole [Gribble 1992].

Ebenfalls treten gemischthalogenierte Verbindungen auf wie das von Tittlemier in Seevögeln gefundene $C_{10}H_6N_2Br_4Cl_2$ mit vier Bromsubstituenten, zwei Chlorsubstituenten und zwei heterocyclischen Stickstoffatomen oder das von Vetter in Meeressäugern identifizierte $C_{10}H_{13}Br_2Cl_3$ (MHC-1 vgl Kapitel 5.6) [Tittlemier 1999b, Tittlemier 2002, Vetter 2001, Vetter 2002]. Ebenso das Heptachloro-1´-methyl-1,2´-bipyrrole $C_9H_3N_2Cl_7$ (“U3“ bzw. „Q1“) (vgl dazu auch Kapitel 5.6).

Die Brom- und Chlor-Substitutionen an den Stickstoff-heterocyclischen Grundgerüsten deuten auf einen marinen biogenen Ursprung solcher Stoffe hin.

3.2.10 Physiko-chemische Eigenschaften der Xenobiotika

Für einige in dieser Arbeit untersuchten Organohalogenverbindungen sind die der Literatur entnommenen Werte für den Schmelzpunkt (T_m), die Wasserlöslichkeit ($S_{w,L}$), den Dampfdruck (p^0_L) und den n-Oktanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten (K_{ow}) in **Tab. 3-1** aufgeführt.

Für PBDE 47 wurde von Hackenberg aus gaschromatographischen Retentionszeiten (CP Sil5-Kapillarsäule) ein $\log K_{OW}$ von 7,1 bestimmt [Hackenberg 2002]. Für den Dampfdruck für PBDE 47 (gaschromatographish nach Herington-Gleichung) wurde mit der gleichen Phase ein $\mathbf{-\log p^0_L}$ [Pa] von 3,1 berechnet. Diese Werte stimmen gut mit denen von Watanabe überein (vgl. **Tab. 3-1**) [Watanabe 1990].

Tab. 3-1 Physiko-chemische Daten einiger Organohalogenverbindungen.

Substanz	M_r	T_m °C	-log $S_{w,L}$ (25 °C, mol/L)	-log p^0_L (25 °C, Pa)	log K_{ow}
PCB 28	257,5	57	6,0	1,5	5,51
PCB 52	292,0	87	6,5	1,6	6,20
PCB 101	326,4	77	7,9	2,4	6,40
PCB 118	326,4	106	7,3	3,0	6,57
PCB 138	360,9	79	8,3	3,3	6,67
PCB 153	360,9	103	8,6	3,1	7,15
PCB 180	395,3	109	7,2	3,9	7,20
PCB 209	498,7	306	10,6	4,8	8,23
α-HCH	290,8	160	3,5	1,5	3,80
β-HCH	290,8	309	3,5	4,4	3,90
γ-HCH	290,8	113	3,7	1,2	3,78
2,4'-DDT	354,5	74	7,3	2,8	5,75
2,4'-DDE	318,0		5,8	2,4	5,80
2,4'-DDD	320,0	76	5,6	2,8	6,10
4,4'-DDT	354,5	109	7,0	4,0	6,63
4,4'-DDE	318,0	90	7,6	2,3	6,51
4,4'-DDD	320,0	112	7,8	3,1	6,02
TCPM 10	346,7				6,50
***cis*-Chlordan**	409,8			2,3	6,10
***trans*-Nonachlor**	444,2		6,9	2,4	6,35
Toxaphen[a]	413,8	70 – 90	5,1 – 6,0	3,9 – 4,4	6,44
PCBz	250,3	86	5,7	-0,9	5,03
HCB	284,8	230	7,7	0,5	5,50
A19	264,4	108 – 110	5,8	0,4	5,45
A33	328,8		4,7	0,1	4,48
TCDMB	244,0	165		0,3	
TetraBDEs	485,8	82		3,5	5,9 – 6,2
PentaBDEs	564,7	92		4,1 – 4,5	6,5 – 7,0
HexaBDEs	643,6	160			6,9 – 7,9
DecaBDE	959,21	303			10,0

Werte entnommen aus: [Brodsky 1988, Comba 1993, Führer 1996, Halfon 1995, Hutzinger 1974, Isnard 1989, Koch 1991, Lee 1997, Makino 1998, Opperhuizen 1987, Örn 1996, Pijnenburg 1995, Ruelle 1997, Saleh 1991, Schreitmüller 1995, Schwarzenbach 1993a, Sijm 1995, Simpson 1995, Suntio 1988b, Tomy 1998, Watanabe 1990]

[a] Die angegebenen Werte gelten für die Gemische

3.3 POPs in der Arktis

3.3.1 Globale Transportwege von POPs in die Arktis

Als Arktis bezeichnet man das Nordpolargebiet mit dem Arktischen Ozean, umgeben von den Nordküsten Russlands, Skandinaviens, von Island und Grönland, dem Norden Kanadas und Alaskas mit den Aleuten Inseln. Der Arktische Ozean ist mit einer Fläche von über 12 Mio. km^2, einem Wasservolumen von ca. 14 Mio. km^3 (vgl. Atlantik: 72 km^2 und 310 km^3) und einer mittleren Wassertiefe von 1110 m nach Pazifik, Atlantik und Indik das viertgrösste ozeanische System der Welt [Marcinek 1996]. Die Arktis ist ein Gebiet der Extreme, mit Temperaturen von 0 °C bis -50 °C, ständiger Sonneneinstrahlung (jedoch 40 % weniger intensiv als in den Tropen) im Sommer, welche durch die Schnee-und Eisdecke zu fast 85 % in die Atmosphäre zurück reflektiert wird und fast kompletter Dunkelheit während der Wintermonate.

In diesen nördlichen Breiten leben nur sehr wenige Menschen und die industrielle Nutzung ist sehr gering. Einzig die reichhaltigen Vorkommen an Bodenschätzen wie Erdöl, Ergas, Kohle, Erz und Edelmetalle haben Industriegebiete in einzelnen Regionen der Arktis entstehen lassen. Bisher galt sie als eines der letzten unberührten Gebiete der Erde.

In den letzten Jahrzehnten war ein erheblicher Anstieg der Umweltbelastung in der Arktis festzustellen [Iwata 1993]. PCBs, Chlordane, Toxaphene, HCHs, DDT, Dioxine und Organozinnverbindungen, aber auch PAHs und eine Anzahl von Schwermetallen konnten in Proben aus allen Kompartimenten dieses riesigen Ökosystems nachgewiesen werden [Fairey 1998, Harner 1997, Muir 1999].

Besonders die lipophilen Organohalogenverbindungen haben sich im Fettgewebe von Tieren angereichert und bedenklich hohe Werte ergeben, was wiederum besorgniserregend für die einheimische Bevölkerung ist, die sich vorwiegend aus dem Meer (Fische, Robben, Wale) ernährt [Muir 1988b, Norstrom 1994, O'Hara 1999, Tanabe 1994]. Die Gehalte erhöhen sich deutlich entlang der Nahrungskette von einer trophischen Stufe zur nächsten und erreichen an deren Ende bei Meeressäugern, Eisbären und teilweise auch beim Menschen sehr hohe Werte [Bjerregaard 2001].

Die wenigen vorhandenen lokalen Quellen von POPs in der arktischen Umwelt und eine sehr gleichmässige Belastung verdeutlichen, dass es sich hier um einen vorwiegend globalen Eintrag der Schadstoffe handelt, welche dann global verteilt werden und in das Nordpolargebiet gelangen [Ballschmiter 1992].

Von entscheidender Bedeutung für die Belastung der Arktis sind demnach die globalen Transportwege und Verteilungsmechanismen von Umweltgiften (siehe Kapitel 3.1.3).

Dazu gehört der atmosphärische Transport von POPs in der Troposphäre (0 – 10 km), welcher durch die globale Luftzirkulation bestimmt wird, die ihrerseits durch ein System von Hoch- und Tiefdruckgebieten verursacht wird. Dabei gelangen, abhängig von der Jahreszeit, Luftmassen mit den gasförmigen oder an Partikel gebundenen Schadstoffen vom Eurasischen- und Nordamerikanischen Kontinent in die Polregionen *(„Long Range Transport*“) [Halsall 1998b]. Jedoch ist der Luftaustausch der arktischen Atmosphäre mit Luft aus den mittleren Breiten relativ gering. Der Austrag von POPs in den kälteren Regionen der Arktis erfolgt aus

der Luft durch Aerosolabsorption auf der Wasseroberfläche, an Schnee und an Pflanzen, durch Partikeldeposition und durch Niederschläge. Wegen der permanenten Eis- und Schneedecke auf weiten Teilen des Arktischen Ozeans ist ein Luft-Wasser-Austausch nur sehr bedingt möglich und es kommt deshalb zu einer Deposition auf der Eisfläche, von wo die Schadstoffe entweder nach längerer Zeit in das marine Ökosystem gelangen, direkt von Lebewesen aufgenommen oder wieder in die Atmosphäre freigesetzt werden [Muir 1999, Pfirman 1995].

Zweiter wichtiger globaler Transportweg von Umweltchemikalien in die Arktis sind die in Nord-Richtung fließenden Ströme Asiens, Europas und Nordamerikas und die globalen Meeresströmungen. Der Arktische Ozean wird zu knapp 80 % durch Atlantisches Oberflächenwasser (und zu einem geringen Teil auch Tiefenströme) und zu 20 % über die Bering See mit Wasser versorgt, während es am Pol absinkt und als Tiefenstrom wieder in den Atlantik zurückfliesst. Der grösste Teil des Eintrags von Umweltgiften in die Natur findet in den stark industrialisierten Ländern in gemässigten Klimazonen (USA, Europa, Russland, China) statt. Von dort gelangen die Schadstoffe entweder direkt als Abwasser oder über Flusssysteme in die Ozeane, gleiches gilt für die enormen Mengen an persistenten Pflanzenschutzmitteln (z. B. DDT, HCH und Chlordane), die nur noch in Ländern Afrikas und in Indien Anwendung finden. Auch der Austrag aus der Atmosphäre über die Gas-Wasser-Verteilung ist ein Eintrag in das ozeanische System und von dort in die Arktis.

Hochhalogenierte Verbindungen wie die PCBs (Cl_4 – Cl_{10}), DDTs und PBDEs sind aufgrund ihrer physikochemischen Eigenschaften (siehe **Tab. 3-1**) im aquatischen System meist partikelgebunden, während die mehr wasserlöslichen Substanzen wie die HCHs und Toxaphene vorwiegend gelöst vorliegen. Von hier gelangen diese Stoffe dann über Bioakkumulation in die marine Nahrungskette, sedimentieren oder treten durch den Gas-Wasser-Austausch wieder in die Atmosphäre aus [Barrie 1992].

3.3.2 Gehalte und Effekte von POPs in der arktischen Umwelt

Die Arktis ist Heimat für zahlreiche Tierarten, sowohl im Meer als auch auf dem Land. Vom arktischen Fuchs über Wölfe und Karribous bis hin zum Eisbären, welcher sowohl zu den Land- wie auch marinen Säugetieren zählt. Von dem im Wasser lebenden Plankton und Fischen über zahlreiche Robbenarten bis hin zu den unterschiedlichsten Walspezies sind sie alle von grosser Bedeutung für das gesamte Ökosystem, nicht zu vergessen die vielen Vogelarten, welche in der Arktis ihre Brutgebiete haben.

Erste Nachweise von POPs in Robben und in Luftproben aus den 70er Jahren bewirkten in der Folgezeit zahlreiche wissenschaftliche Überwachungsprogramme, um die Umweltbelastung der Arktis zu untersuchen. Wie bereits in Kapitel 3.3.1 beschrieben, findet der Transport von Schadstoffen in der Atmosphäre und über Wasserkreisläufe in Abhängigkeit der pysikochemischen Eigenschaften der Substanzen statt.

Daraus ergibt sich, dass leichtflüchtigere Verbindungen größtenteils in gasförmigem Zustand transportiert werden, während mittel- bis schwerflüchtige Verbindungen hauptsächlich partikelgebunden und über Wasserkreisläufe global verteilt werden.

Betrachtet man die Gehalte von PCBs und Chlordanen im arktischen Wasser und der Atmosphäre und vergleicht man diese mit Werten aus südlicheren Regionen, lässt sich feststellen, dass der Massenfluss (Luft-Wasser Verteilung) von POPs aus der Luft in die Ozeane mit zunehmender geographischer Breite und sinkenden Wassertemperaturen zunimmt [Iwata 1993].

Ausgehend von diesen Modellbetrachtungen erwartet man für leichtflüchtigere Stoffe (hoher Dampfdruck und auch gute Wasserlöslichkeit) wie den HCHs (Hexachlorcyclohexan; Lindan) und HCB (Hexachlorbenzol) in den kälteren Polarregionen höhere Gehalte als in wärmeren Breiten, sowohl im Wasser wie auch in der Luft [Halsall 1998b]. Die Gehalte von α-HCH sind im Oberflächenwasser des Arktischen Ozeans (4-5 ng/L) deutlich höher als in der Bering See (2 ng/L) und im Mittel-Pazifik (<2ng/L) [Iwata 1993], jedoch muss berücksichtigt werden, dass es in weiten Teilen Asiens noch einen enormen Eintrag von HCHs in die Umwelt gibt, der zusätzlich für die hohen Gehalte in der Arktis verantwortlich sein kann [Wania 1996]. Aufgrund der hohen Gehalte von HCHs im arktischen Wasser wird angenommen, dass dies sich eher zu einer Quelle für HCHs, statt zu einer Senke entwickelt [Jantunen 1995].

Bei mittelflüchtigen Verbindugen wie den PCBs und DDT findet man im Vergleich zu den sehr hohen Werten für das HCH nur geringe Gehalte im Wasser. Grund dafür sind die hohe Lipophilie und die niedrigen Dampfdrücke (vgl. **Tab. 3-1**) dieser Substanzklassen und ihre hohe Tendenz zur Bioakkumulation. Deswegen stellt man in den Lebewesen höherer trophischer Stufe sehr hohe Konzentrationen dieser Organohalogene fest. Im Fettgewebe von Eisbären (*Ursus maritimus*) lassen sich PCBs, 4,4'-DDE (der Haupt-Metabolit des 4,4'-DDT) und Chlordane im mg/kg- Bereich nachweisen [Norstrom 1998b]. Die Gehalte von POPs in marinen Tieren hängen von deren Position innerhalb der Nahrungskette und ihrer Fähigkeit ab, diese Substanzen metabolisch abzubauen (siehe **Abb. 3-2**) [Allsopp 1999]. Dabei entstehen oftmals Metaboliten, die ebenfalls sehr persistent und toxisch sind. Bei Walen findet man eine unterschiedlich starke Belastung in Abhängigkeit ihrer Nahrungsgewohnheiten, je nachdem, ob sie sich von Plankton ernähren (z. B. Buckelwal und Grönlandwal) oder von anderen Meerestieren wie Fischen und Robben (z. B. Orcas, Belugas und Narwal) [Hayteas 2000, Ross 2000, Seagars 2001].

Frühere Studien ergaben aber auch, dass die Gehalte an Schadstoffen in den Fettgeweben von Walen und Robben aus der Arktis eine bis um das 15fach geringere Belastung aufweisen als in Regionen des westlichen Nord Atlantiks (Faroe Inseln, Nordsee, Baltisches Meer) und auch des St. Lawrence Stroms, wo ein direkter Eintrag von Schadstoffen durch die Industrie stattfindet [Moessner 1997, Norstrom 1994].

Bei der Bevölkerung in den arktischen Gebieten lassen sich mittlerweile deutlich erhöhte Werte von POPs feststellen, was damit zu tun hat, dass diese Menschen sich hauptsächlich von Robben, Walrossen und Walen ernähren und auf diese Weise Xenobiotika in ihrem

eigenen Fettgewebe anreichern. So fand man Konzentrationen von PCBs in der Muttermilch von Inuit, die um das zehnfache über den Durchschnittswerten lagen [Bjerregaard 2001].

Hohe Gehalte von Schadstoffen im Organismus beeinflussen das Immunsystem, die Fortpflanzungsfähigkeit und den allgemeinen Gesundheitszustand von Lebewesen. Dies wird auch in Verbindung gebracht mit dem feststellbaren Rückgang einiger Populationen von marinen Säugern, wie Seelöwen, Seeottern und einigen Walarten. Giftige Susbtanzen werden von weiblichen Tieren an ihre Jungen weitergegeben, dies gilt für Säugetiere wie auch für eierlegende Tiere wie Vögel und Fische. Auf diese Weise treten die Jungtiere schon von Geburt an mit Schadstoffen in Kontakt, was zu vielen irreversiblen Folgen für die Gesundheit führen kann [Colborn 1996].

Insgesamt betrachtet lässt sich jedoch feststellen, dass es Nord-Süd-Unterschiede bei der Belastung durch einige POPs in Lebewesen gibt (PCBs,HCHs und DDT), diese aber grösstenteils abhängig von der globalen Verteilung und regionalen Eintragsquellen von Industrie und Landwirtschaft sind.

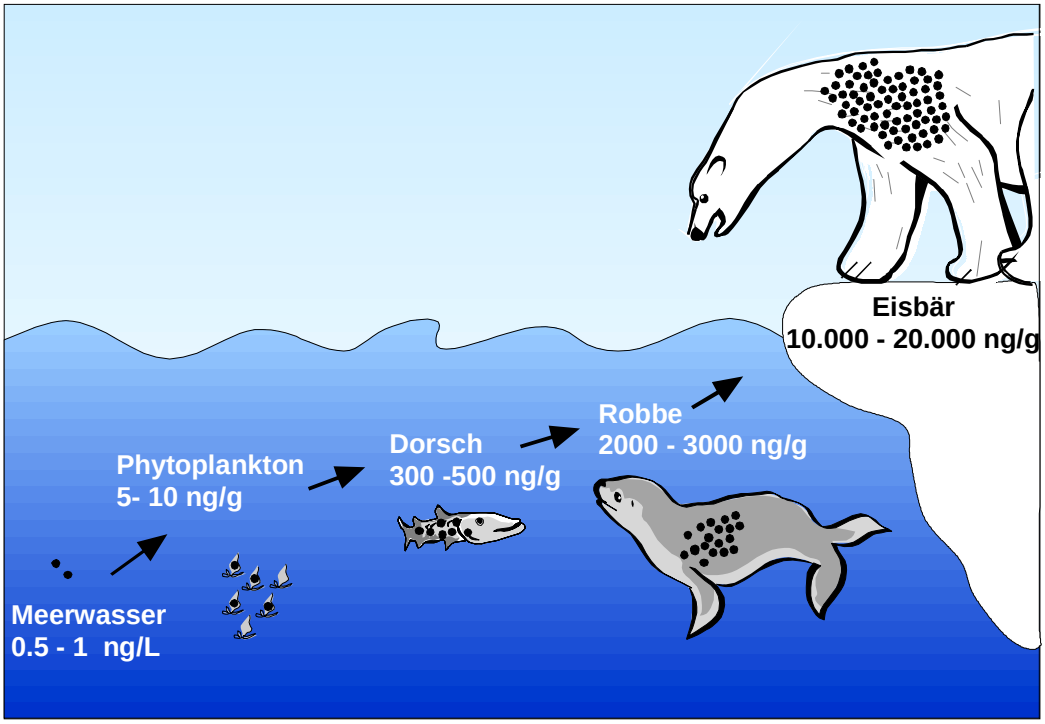


Abb. 3-2 Biomagnifikation von polychlorierten Biphenylen (PCBs) innerhalb der arktischen Nahrungskette.

3.4 Lebensraum Nordpazifik

3.4.1 Geographische Grundlagen und Meeresströmungen

Der Pazifische Ozean ist das größte der sieben Weltmeere, macht mit 165 Mio km^2 ein Drittel der Erdoberfläche aus und enthält über die Hälfte der weltweit frei vorkommenden Wassermenge. Nördlich des Äquators wird er Nord Pazifik bezeichnet, südlich davon heisst er Süd Pazifik. Eingegrenzt wird der Pazifik an seiner östlichen Seite vom Nord- und Südamerikanischen Kontinent, im Norden von der Bering See und der Aleuten Inselkette, im Westen von Asien, dem Malayischen Archipel und Australien und im Süden von der Antarktis (Antarktischer Ozean und Antarktischer Kontinent). Die Durchschnittstiefe des Pazifiks beträgt 4282 m und seine tiefste Stelle ist mit 11 033 m der Marianengraben bei Guam.

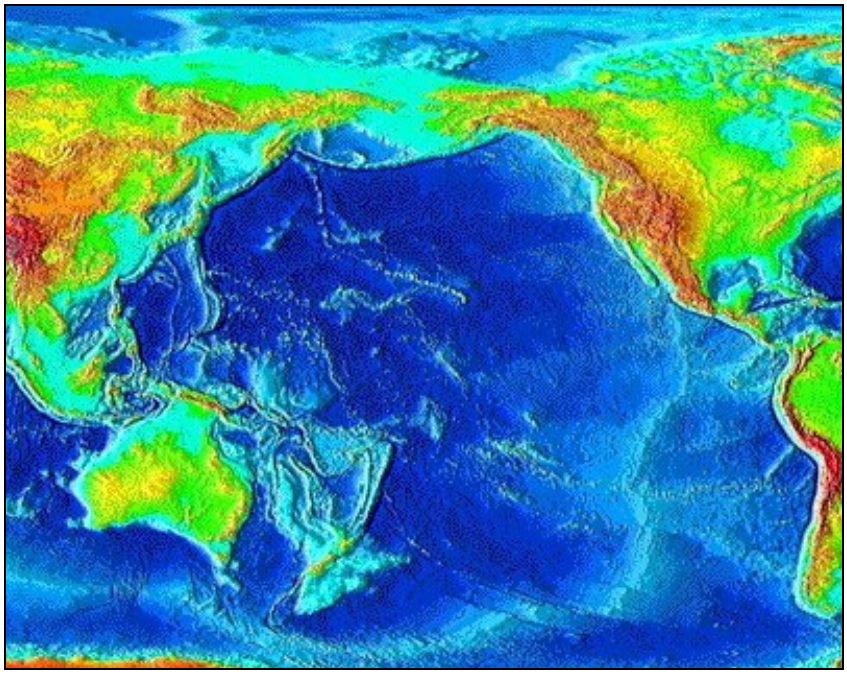


Abb. 3-3 Topographisches Bild des gesamten Pazifischen Ozeans mit den angrenzenden Kontinenten

An der Küstenlinie des Nord Pazifiks befinden sich die Plattengrenzen zwischen der Pazifischen Platte und der Amerikanischen Platte und im Westen mit der Eurasischen Platte. Im Südpazifik trifft die Pazifische Platte auf die Indisch-Australische Platte und die Ostpazifische Platte kollidiert an der Westküste Südamerikas wieder mit der Amerikanischen Platte (siehe **Abb. 3-3**). Die Plattengrenzen sind jeweils Zonen intensiver tektonischer Aktivität. Dabei können die Platten entweder gegeneinander prallen, aneinander vorbeireiben oder sich voneinander entfernen. Entlang der gesamten Küstenlinie des Pazifiks gibt es zahlreiche Vulkane und tektonische Gräben (Tiefsee-Gräben, z. B. den Aleuten-Graben, und tektonische Spalten an Land, z. B. die San Andreas Spalte in Kalifornien), welche als „*ring of fire*“ bezeichnet werden.

Von wesentlicher Bedeutung für den Transport von Schadstoffen ist neben der globalen Luftzirkulation die Verteilung in der Hydrosphäre. Die wichtigsten und stärksten Wasserbewegungen sind die Meeresströmungen. Sie erfassen meist nur die obersten Wasserschichten von etwa 200-300 m und werden deshalb als Oberflächenströmungen bezeichnet. Ihnen steht die Tiefenzirkulation gegenüber, die die Wassermassen der Kaltwassersphäre bis zum Meeresboden erfasst und viel langsamer als die Oberflächenströmungen vor sich geht. Die Oberflächenströmungen erfahren ihren Antrieb in erster Linie durch die Schubkraft von Winden, die über längere Zeit aus denselben Richtungen wehen. Das sind in erster Linie Passate und Westwinde sowie die Monsune über dem Indischen Ozean. Dabei erhält die oberste Wasserschicht einen Bewegungsimpuls und strömt mit etwa einem Fünftel der Geschwindigkeit des darüberstreichenden Windes in einer Richtung, die durch die Wirkung der Corioliskraft in westlicher Richtung abgelenkt ist. Die darunterliegende Wasserschicht wird durch turbulente Reibung mit in Bewegung gesetzt, wobei sich die Geschwindigkeit gegenüber der darüberliegenden Schicht verringert und so eine weitere Ablenkung stattfindet.

Die Oberflächenströme bilden ein System aus Kreisströmen, damit die Massen- und Energiebilanz ausgeglichen ist. Die dominierenden Windsysteme über dem Pazifik sind die Passatwinde (*engl. trade winds*) zum Äquator hin (0 °-30 ° N und S) und in den gemäßigten Breiten (30 °-60 ° N und S) die Westwinde (*engl. westerlies* bzw.*westwinddrift*). Daraus resultieren der im Nord Pazifik im Uhrzeigersinn verlaufende Nord-Pazifik-Kreis-Strom und im Süden der in Gegen-Uhrzeiger-Richtung fließende Süd-Pazifik-Kreis-Strom.

Eine Verbindung zwischen den Ozeanen stellt die in östlicher Richtung fließende bis in große Tiefen durchreichende Antarktische Strömung (Antarktische Westwinddrift) dar, die einen Teil ihres kalten Wassers jeweils an den Südspitzen der Kontinente (Südamerika, Afrika und Australien) in die drei großen Ozeane ableitet. Im Pazifik ist dies der Peru Strom, der entlang der Küste Südamerikas nach Norden fließt und dann südlich des Äquators nach Westen in den Südäquatorial-Strom übergeht, um vor Australien als Australien Strom wieder nach Süden zu strömen. Entlang des Äquators verläuft der warme Äquatoriale Gegenstrom in Ost-Richtung, der manchmal bei nachlassenden Passatwinden stärker wird und als El Niño bis an die Küsten Südamerikas gelangt und dort Unwetterkatastrophen auslöst (und auch nährstoffarmes wärmeres Wasser mitführt).

Im Nord Pazifik entsteht durch die Westwinddrift der in östlicher Richtung fließende Nord-Pazifik-Strom, der von Japan bis zur Küste Nord Amerikas geht und sich dort teilt. Größtenteils verläuft er als Kalifornien-Strom zuerst in südlicher Richtung, geht dann in den Nordäquatorial-Strom über und fließt wieder westwärts. Vor der Küste Japans wird daraus der Kuroshio Strom, der in den Nord-Pazifik-Strom mündet (siehe **Abb. 3-4**). Ein Teil dieses Nord-Pazifischen-Stromes, der sich an der Westküste Amerikas teilt, fließt in nördlicher Richtung als Alaska-Strom über den Golf von Alaska entlang der Aleuten Inselkette in westlicher Richtung und bringt warmes Wasser als Aleuten-Strom in die Bering See. Ein Teil dieser Wassermassen speist über die Beringstrasse den Arktischen Ozean, der andere Teil fließt entlang der Halbinsel Kamchatkas erst als Kamchatka-Strom, dann etwas südlicher als Oyashio-Strom wieder zurück in den Nord Pazifik. Zusammen mit der in nördlicher Richtung

verlaufenden Tiefenströmung des Pazifiks, welche vor der Aleuten-Inselkette aufsteigt und kaltes, nährstoffreiches Wasser mitführt, sind die Wasserkreisläufe des Nord Pazifiks ausgeglichen [Ballschmiter 1992, Dietrich 1975].

http://www.meer.org/M14.htm
http://library.thinkquest.org/15931/navigate.html

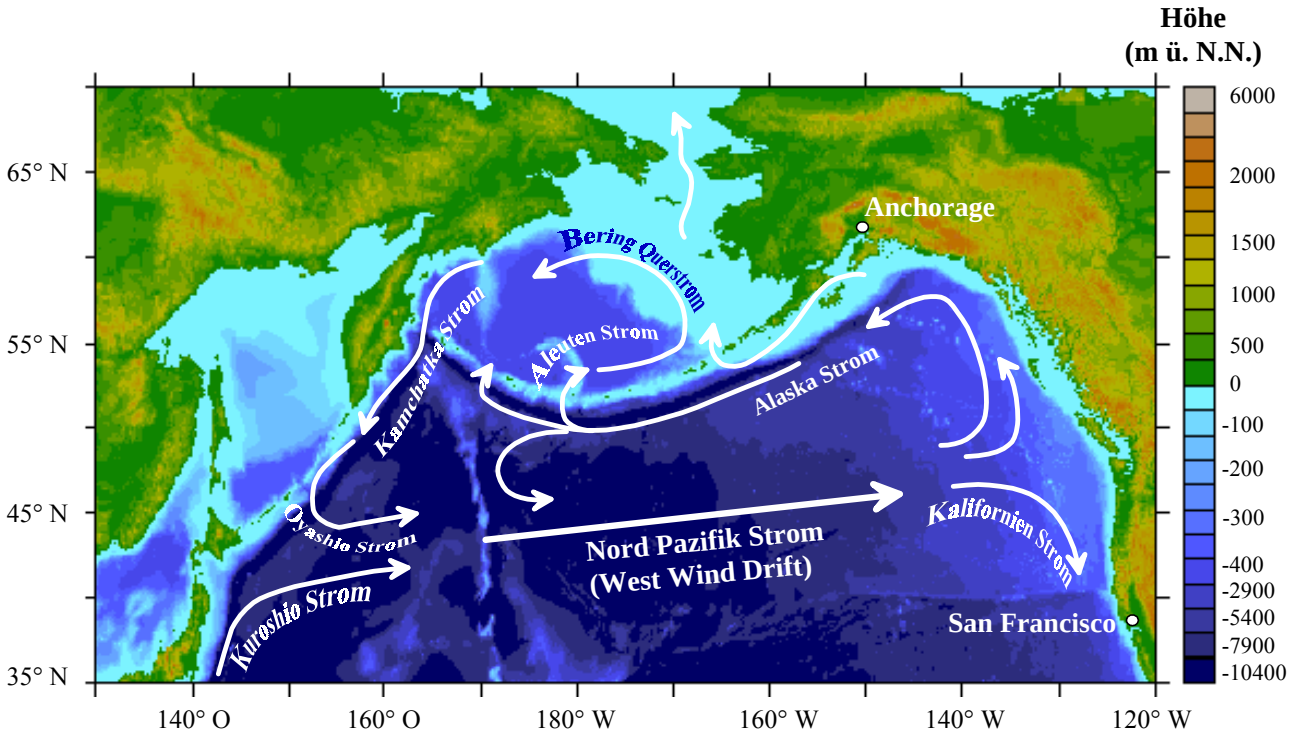


Abb. 3-4 Oberflächen Meeresströmungen im Nord Pazifik

3.4.2 Der Nord Pazifik als Ökosystem

Ein Großteil der industriellen Produktionsstätten befindet sich in der Nähe der Küsten, um einmal Abfälle ableiten zu können, den Kühlwasserbedarf zu decken und um über den Seeweg Massengüter zu transportieren. Daraus resultiert eine erhebliche Umweltbelastung der Küstenregionen und der Wasserläufe durch Schadstoffe. Aber auch der Eintrag von Pflanzenschutzmitteln, die direkt oder über Flussläufe die Meere erreichen, trägt zu deren Verschmutzung bei.

Die Gebiete mit der stärksten industriellen Nutzung und dem grössten Eintrag von Umweltchemikalien im Nord Pazifik befinden sich an der Westküste der USA und an den Küsten Russlands und Japans [Fairey 1998, Jarman 1996b, Jarman 1997, Lieberg-Clark 1995, Watanabe 1985, Watanabe 1995].

Der Nord Pazifik hat für den kommerziellen Fischfang eine große Bedeutung. Die gegenwärtige Nutzung der Fischbestände beschränkt sich weitestgehend auf die Schelfbereiche in Küstennähe (überflutete Bereiche der Kontinentalplatten), die über 90 % des gesamten Fischfangs liefern. Hauptsächlich werden Meerbarsche (z. B. Dorsch und Pollock), Plattfische (z. B. Heilbutt) und Lachse gefischt. Eines der wichtigsten Reviere für

die Fangflotten der USA und Kanadas liegt in der Nähe der Aleuten Inselkette und des Golfs von Alaska. Deshalb ist der Zustand der Verschmutzung dieser Gebiete auch für die Fischfangindustrie von bedeutendem Interesse. Ein mittlerweile großes Problem liegt in der Überfischung der Meere. Durch den starken Rückgang der Fischbestände wurden deshalb weite Teile der Bering See für den kommerziellen Fischfang 1992 komplett gesperrt, um eine Rückzugs- und Erholungszone für die Fischschwärme zu schaffen und um das empfindliche Ökosystem der Bering See zu schützen. Wichtigster Umschlagplatz für den Fischfang im Nordpazifik ist Dutch Harbor auf Unalaska mit einer jährlichen Fischumschlagsmenge von 315 000 t pro Jahr (1999), was mehr als 8 % der Gesamtmenge der USA ausmacht (vgl. Weltjahres Fischfang: **Abb. 3-5**)

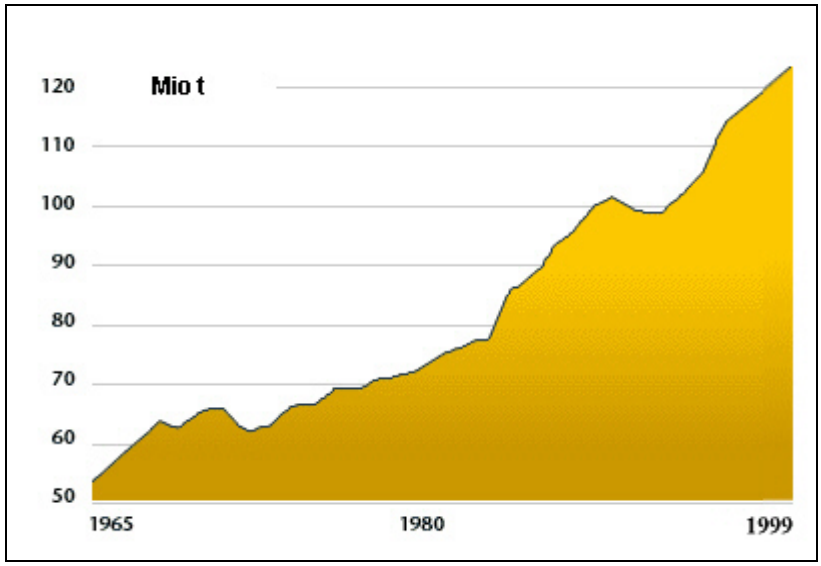


Abb. 3-5 Entwicklung der weltweiten jährlichen Fischfangmenge in Millionen Tonnen

Wie man dem Verlauf der Oberflächenströmungen im Nord Pazifik entnehmen kann, liegen diese Fanggebiete weit abseits der küstennahen Eintragsquellen (Westküste USA und Küsten Japans) von Schadstoffen in das Meer. Jedoch lassen sich immer häufiger Chemikalien wie Organohalogene in Fischen, Meeressäugern und Seevögeln in den eigentlich als unberührt geltenden Regionen nachweisen und stellen ein immer grösser werdendes Problem für das Ökosystem da [Aono 1997, Bacon 1999, de Brito 2002, Guruge 2001, Muir 2002]:

http://www.flmnh.ufl.edu/fish/InNews/topport.HTM
http://www.psmfc.org/
http://www.nfi.org/

So wurden Schadstoffe in jungen Lachsen und anderen Fischen aus dem Golf von Alaska mit bedenklich hohen Gehalten gefunden [Stein 1995]. Die Anreicherung in den Robben, Seelöwen und Killerwalen ist ein ernsthaftes Problem für diese Tiere, da sie enormen Einfluss auf das Immunsystem haben und die Bestände drastisch zurückgegangen sind [Franke 1994, Tanabe 1994].

Seit einigen Jahren lässt sich eine deutliche Erwärmung der Bering See und im Nord Pazifik feststellen (im Winter um durchschnittlich 2° C), was ebenfalls die Ernährunsbedingungen von marinen Säugern und Seevögeln beeinträchtigt. Solche Temperaturanstiege bedrohen direkt den Nachwuchs einiger Fisch- und Krabbenarten, sodass ihre Bestände ebenfalls deutlich abgenommen haben. Dagegen haben einige andere Fischpopulationen deutlich zugelegt, so z. B. der Alaska - Pollack (Dorschart: *Theragra chalcogramma*). Allerdings haben sich die Fressgewohnheiten der Tiere nicht so schnell auf eine neue Nahrung umgestellt, die zudem noch weniger Energie liefert, als bisher gewöhnt, sodass die Bestände der fischfressenden Tiere abnahmen.

http://www.geo.de/themen/geoskope/00/08/meer_temperaturanstieg.html

Ein weiterer Effekt, der durch den Temperaturanstieg im Nord Pazifik hervorgerufen wurde, ist die Zunahme des Phytoplanktons. Das Algenwachstum hat sich im Jahre 1997 erstmals richtig bemerkbar gemacht und die Gewässer vor den Küsten Alaskas grünlich-weiss schimmern lassen (siehe Abb. 3-6). In diesem Fall trafen mehrere aussergewöhnliche Ereignisse zusammen. Einmal gelangten durch einen der stärksten El Niños in den letzten 50 Jahren warme Wassermassen weit in den Nord Pazifik und in diesem Zuge auch eine in den subarktischen Regionen gar nicht vorkommende Phytoplanktonart, die Coccolithophoren (*lat. Emiliana huxleyi*), welche unter der deutlich erhöhten Sonneneinstrahlung in diesen Breiten rasch florierten. Die feste Beschaffenheit dieser Coccolithophoren macht sie für das heimische Zooplankton relativ unverdaulich und es wird auch vermutet, dass die Algen zusätzlich Toxine zur Abwehr absondern. Feststellbar sind jedenfalls ein enormer Rückgang des Zooplanktons, welches Nahrung für viel Fische ist, und ein Sterben von Seevögeln, die sich wiederrum von den Fischen ernähren [Weier 1999]. Riesige Algenvorkommen sind auch für die biogene Entstehung einiger Organohalogenverbindungen von großer Bedeutung. Von zahlreichen Organismen ist bekannt, dass sie sowohl chlorierte wie auch bromierte Substanzen synthetisieren oder zumindest metabolisch verändern können [Handayani 1997, Tittlemier 1999a]. In den letzten Jahren konnten in zahlreichen Proben vermehrt neue Verbindungen nachgewiesen werden, deren Struktur und Herkunft und die Auswirkung auf das Ökosystem noch unklar sind [Gribble 1992, Gribble 1994, Tittlemier 1999a, Wu 2002].

http://earthobservatory.nasa.gov/Study/Coccoliths/
http://www.publicaffairs.noaa.gov/pr98/dec98/noaa98-r177.html
http://www.pmel.noaa.gov/bering/

Auch die militärische Nutzung einiger Gebiete im Nord Pazifik (vgl. Kapitel 3.4.3) hat Folgen auf die Umweltbelastung mit Schadstoffen, die von den Fischen und Meeressäugern bioakkumuliert werden. Ein Beispiel sind die Schwertwale, welche sich vorzugsweise von Robben ernähren. Da aber die Populationen der Stellerschen Seelöwen im Gebiet der Aleuten und auch vor der Küste Kanadas und der USA extrem stark zurückgegangen sind, jagen die Orcas vermehrt Seeotter, mit der Folge, dass die Otter-Populationen ebenfalls deutlich zurück gingen. Da sich Seeotter hauptsächlich von Seeigeln ernähren, nahm deren Zahl beträchtlich zu. Als Folge davon verschwand ein großer Teil des Kelps, der Nahrungsquelle der Seeigel ist. Da die Algen-Wälder aber für Fische wie für Seevögel und Seeotter eine große Bedeutung haben, leiden auch diese darunter [Estes 1997].

Dieses Beispiel zeigt, wie eng alle Organismen eines Lebensraumes in ihrer Existenz miteinander verbunden sind.

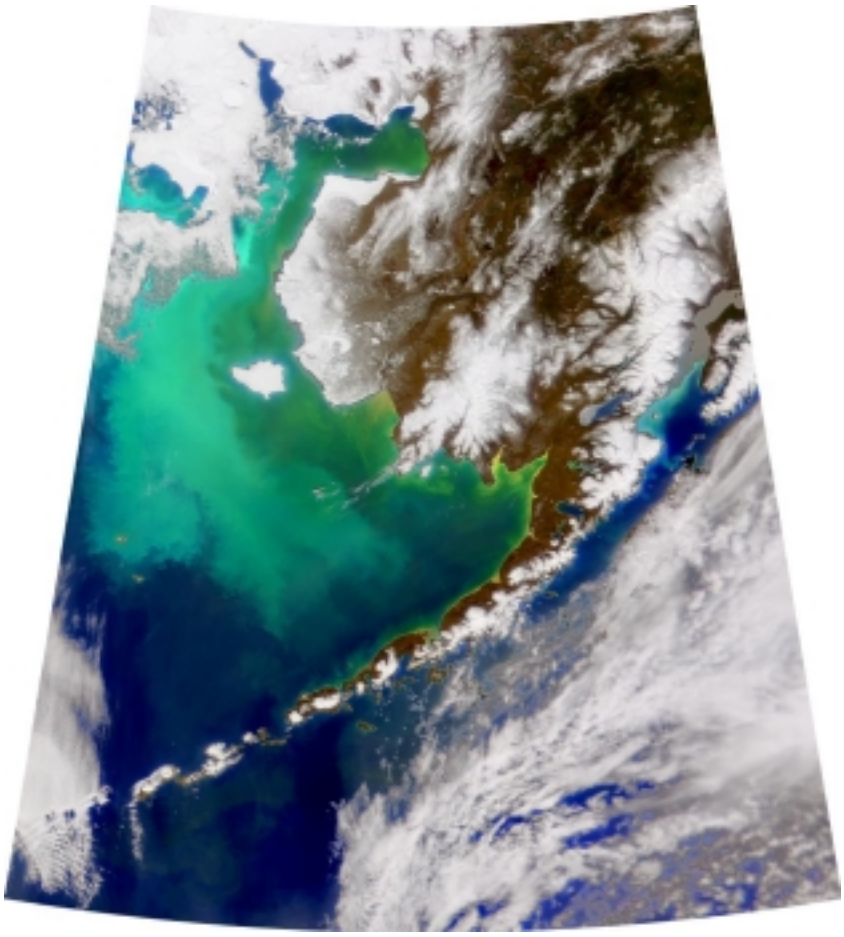


Abb. 3-6 Satellitenaufnahme der Bering See und West-Alaskas. Deutlich sichtbar das erhöhte Phytoplankton Vorkommen (grün-hellblaue Färbung) in der Bering See im Jahre 1997 (http://www.pmel.noaa.gov/bering/)

3.4.3 Die Inselgruppe der Aleuten

Die Aleuten sind eine zu Alaska gehörende Inselkette im Nordwesten des Amerikanischen Kontinents, welche sich bogenförmig über 2000 km nach Süd-Westen bis zum Asiatischen Kontinent nach Kamchatka erstreckt und die Bering See vom Pazifischen Ozean trennt.

Die Inseln sind alle vulkanischen Ursprungs, einige sind noch aktive Vulkane und die gesamte Region gehört als Teil des „*Ring Of Fire*“ zu den tektonisch aktivsten Gebieten der Welt, zugleich aber auch zu den fischreichsten. Vor den Küsten der Aleuten fällt der Aleutengraben bis zu 7600 Meter unter den Meeresspiegel ab und an dieser Stelle tritt kaltes, sehr nährstoffreiches Wasser an die Oberfläche. Die Inseln sind zu Gruppen zusammengefasst und werden als Andreanof-, Delarof-, Fox-, Four Mountain-, Near-, Rat-, Shumagin- und Sanak-Inseln bezeichnet.

Das vorherrschende subarktische Klima ist sehr kühl und durch das Aufeinandertreffen verschieden warmer Wasserströme (Alaskastrom, Beringstrom und Nord Pazifik Tiefenströmung) gibt es dort sehr viel Niederschläge, was große Bedeutung beim Auswaschvorgang von Schadstoffen aus dem Erdreich (Mülldeponien) hat. Der gesamte Archipel der Aleuten liegt innerhalb der 10° C Juli-Isotherme.

Auf diesen fast baumlosen Inseln leben die letzten der gleichnamigen Ureinwohner, welche früher von Asien aus dieses Gebiet besiedelten. Viele der unzähligen Inseln sind unbewohnt und es existieren nur wenige Siedlungen, die meisten sind wichtige Fischereihäfen (z. B. Dutch Harbor auf Unalaska) und einige Militärstützpunkte (z. B. Adak Naval Base), die größtenteils in den letzten Jahren geschlossen wurden, aber immer noch für den Eintrag von Umweltchemikalien verantwortlich sind (siehe **Abb. 3-7**). Im Mittelpunkt des Interesses standen die Aleuten während des Zweiten Weltkrieges, als die Japaner am 3. Juni 1942 die Inseln angriffen und Dutch Harbor, Kiska und Attu einnahmen. Die US-Marine schlug zurück und errichtete zahlreiche Stützpunkte auf den Inseln, um die heftig gekämpft wurde. In der Nähe Amchitkas gab es in den 60er Jahren sogar ein paar Unterwasseratomtests. (siehe auch: http://www.alaskais.com/AKAI.htm)

Die Geschichte der Aleuten ist von großer Bedeutung, will man die Belastung der Gewässer um die Inselkette und des Nord Pazifiks durch POPs untersuchen und analysieren.



Abb. 3-7 Karte der Aleuten Inselkette mit Bering See und Golf von Alaska. Eingekreist sind die Fanggebiete der Proben in dieser Arbeit.

3.5 Untersuchte Fische aus dem Nord Pazifik

3.5.1 Aleutian Field Trip 1999

In Zusammenarbeit der Abteilung Analytische Chemie und Umweltchemie der Universität Ulm, dem Department of Civil and Environmental Engineering des Energy and Geoscience Institute (EGI) der University of Utah, dem U.S. Geological Survey und dem U.S. Fish and Wildlife Service fand ein Forschungsaufenthalt auf Adak Island (Aleuten, Alaska, USA; siehe Abb. 3-7) in der Zeit vom 2. August 1999 bis zum 16. August 1999 statt. Dort befindet sich eine seit Ende 1997 geschlossene U.S. Naval Base und die U.S. Navy bemüht sich, das Gelände weitestgehend zu sanieren, um es der Urbevölkerung (Aleuten) wieder zurückzugeben. In der langjährigen Geschichte (seit dem 2. Weltkrieg) von Adak als U.S.-Militärstützpunkt im Nord Pazifik fand offensichtlich ein großer Eintrag von Umweltchemikalien in die Umwelt statt. Müll und alte Transformatoren wurden in der Hafenbucht (*Sweeper Cove*) versenkt und durch Auswaschung von Mülldeponien (Landfills) und vergrabenen großelektronischen Geräten (Radaranlagen) gelangten zahlreiche toxische Substanzen in das Wasser (siehe Karten von Adak Island: Abb. 3-8 und Abb. 3-9). Erste Untersuchungen der University of California, Santa Cruz, ergaben deutliche Belastungen an polychlorierten Biphenylen (PCBs) in Fischen, Vögeln und Muscheln aus dem Hafenbereich von Adak und generell hohe Gehalte an Umweltchemikalien im gesamten Bereich der Aleuten Inselkette [Bacon 1999, Estes 1997, Reese 1998].

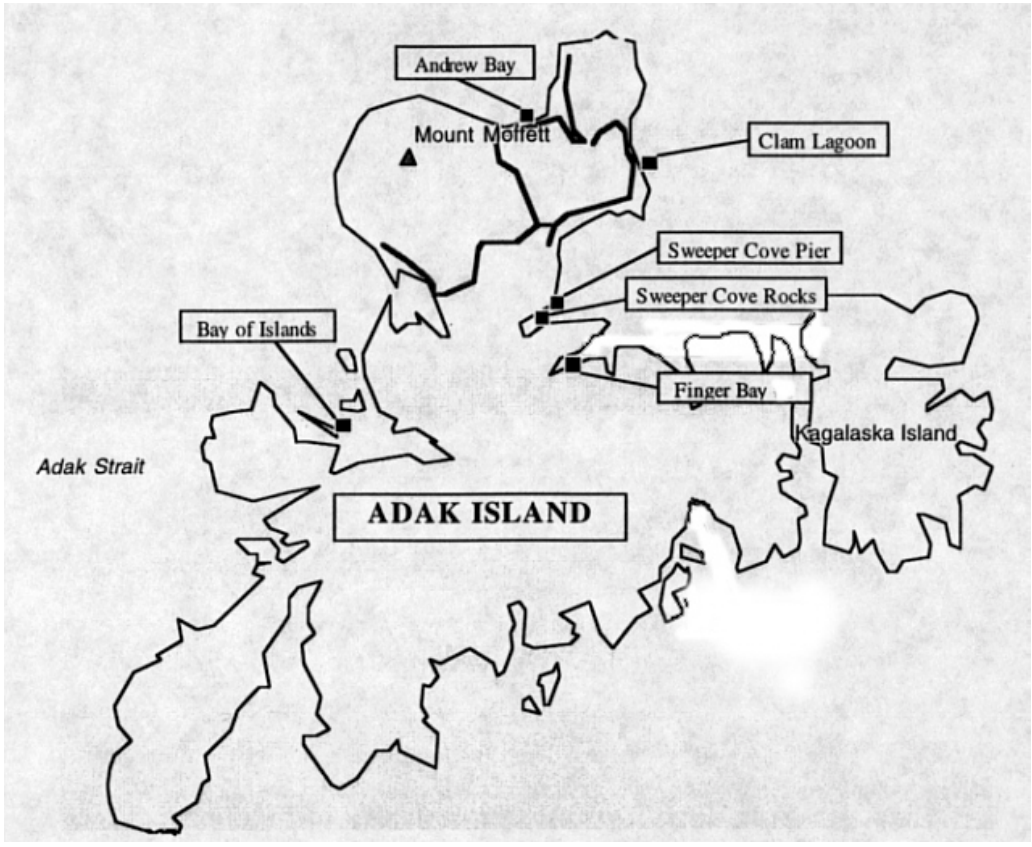


Abb. 3-8 Karte von Adak Island

Es ist nun von großem Interesse, ob eine großflächige Kontamination stattgefunden hat und ob durch den Transport der Umweltchemikalien eine Gefahr für den kommerziellen Fischfang in der Gegend besteht.

Zweck der Reise war das Sammeln von Bioproben (Fische und Muscheln) auf Adak Island und Amchitka, um Filet- und Leberproben zu entnehmen und diese auf den Gehalt von Organohalogenverbindungen (PCBs, Pestizide und Flammschutzmittel) hin zu untersuchen.

Die Fische (Heilbutt und Dorsch) wurden mit der *„Long-Line“* Angeltechnik in einer Tiefe von ca. 30 - 40 m gefangen. Dazu werden Fischhaken mit Fischködern über eine Angelschnur an einem Seil befestigt, welches dann zu Grund gelassen wird und nach 3 – 4 Stunden wieder eingeholt wird. Die bodennah fressenden Fische wie Heilbutt, aber teilweise auch Dorsch, wurden so an den jeweiligen Probenahmeorten geangelt.

Die untersuchten Muscheln wurden bei Ebbe direkt von den Felsen an der Wassergrenze mit einem Schraubenzieher gelöst und in Aluminiumbeuteln gesammelt.

Hauptsächlich wurden Pazifischer Heilbutt und Pazifischer Dorsch gefangen. Die Fangorte im Bereich der Hafenbucht von Adak wurden so ausgesucht, dass sie das gesamte Gebiet (Sweeper Cove, Kuluk Bay) abdecken, um die Reichweite der Kontamination in Küstennähe aufzeigen zu können.

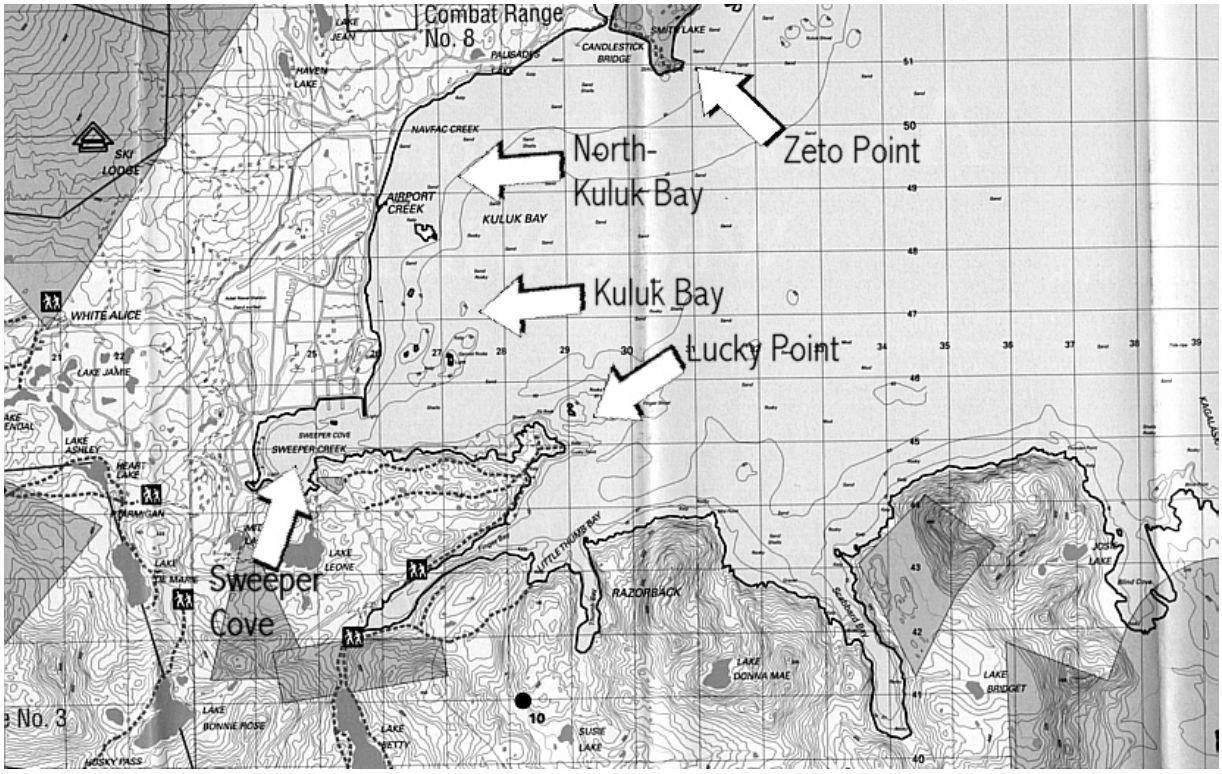


Abb. 3-9 Karte der Hafenbucht von Adak-Island. Mit den Pfeilen wurden die einzelnen Fischfang Plätze gekennzeichnet

Neben den selbst gefangenen Proben von Adak und Amchitka wurden ein Heilbutt aus der Gegend von Attu (Seafood Factory, Adak Island) und ein Filet aus dem Golf von

Alaska/Dutch Harbor (Carrs-Foodmarket, Anchorage) käuflich erworben (genaue Probenahmeorte siehe Karte: **Abb. 3-10**).

3.5.2 Probenliste

In Abb. 3-10 sind die Probenahmeorte mit den jeweiligen Probennummern für die in dieser Arbeit untersuchten Fischproben abgebildet. Es sind dies die Pazifische Sandflunder (#1) aus der Nähe San Franciscos, Pazifischer Heilbutt aus dem Golf von Alaska (#2,3), Adak-Island (#4,5,8), Amchitka-Island (#6), Attu-Island (#7), Pazifischer Dorsch (#9,10,11) und Miesmuscheln (#12) von Adak-Island.

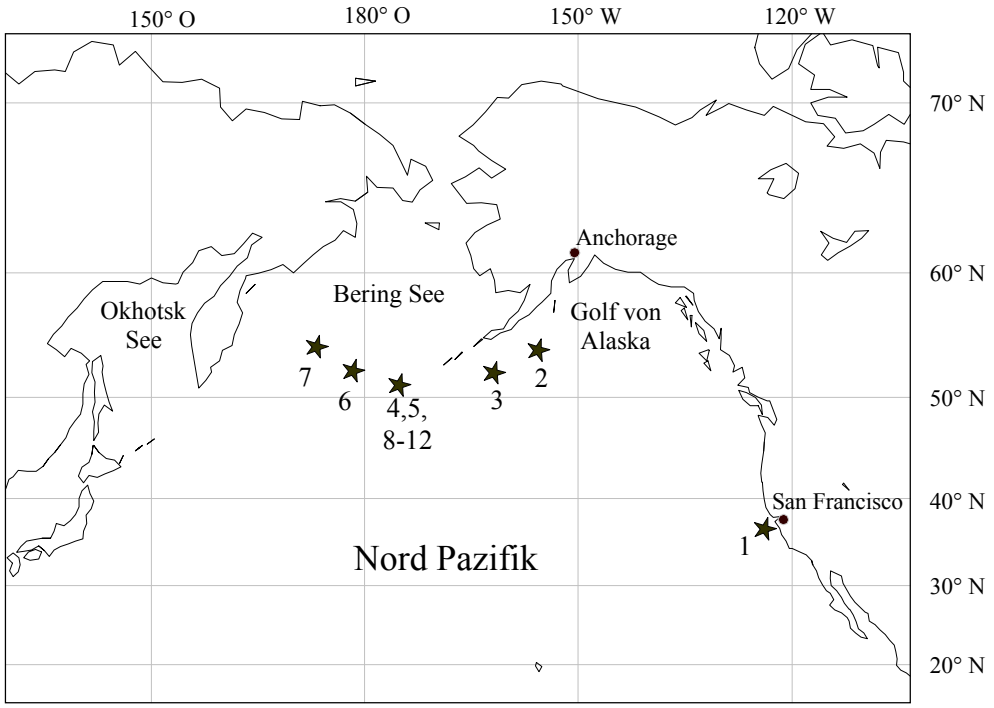


Abb. 3-10 Karte des Nord Pazifiks mit den Fangorten der untersuchten Proben (Nr.:1–12) und den jeweiligen Probennummern (siehe **Tab. 3-2**)

Für einen annähernden Vergleich der Gehalte der Fischproben sind das Alter und auch das Geschlecht von Bedeutung. Weibliche Tiere geben beim Ablaichen einen Großteil ihres Fettanteils an den Rogen ab und können sich auf diese Weise von lipophilen Schadstoffen befreien. Während junge Heilbutte zwischen den Aleuten und der Westküste der Vereinigten Staaten (Oregon, Kalifornien) umherziehen, bewegen sich ältere Tiere nur innerhalb sehr kleiner Gebiete von einigen hundert Quadratmetern. Aus diesen Gründen wurde versucht keine extremen Jungtiere (Körperlänge nicht unter 70 cm für Heilbutt und nicht unter 60cm für Dorsch) zu fangen. Eine genaue Alters- und Geschlechtsbestimmung war leider nicht immer möglich.

Tab. 3-2 Übersicht der analysierten Proben mit Fangort und Art der Probe

Probe	Proben Nr.	Fangort	Datum	Organ	Bemerkungen
Sandflunder Leber *San Francisco*	**# 1**	San Francisco, Bay	14.4.01	Leber	Ganze Fische, selbst säziert, käuflich erworben auf Fischmarkt in San Francisco 28 cm
Heilbutt Filet *Anchorage*	**# 2**	Golf von Alaska	ca. 18.8.99	Filet	Käuflich erworben bei CARRS Supermarkt in Anchorage
Heilbutt Filet *Alaska-SFO*	**# 3**	Golf von Alaska	ca.12.4.01	Filet	Käuflich erworben auf Fischmarkt in San Francisco
Heilbutt A Filet *Lucky Point*	**# 4**	Lucky Point, Adak Islan	13.8.99	Filet	104 cm / 16 kg evtl. weiblich
Heilbutt Filet *Kuluk Bay*	**# 5**	Kuluk Bay north Adak Island	14.8.99	Filet	78,4 cm / 6,75 kg
Heilbutt Filet *Amchitka*	**# 6**	Amchitka Island	ca. 9.8.99	Filet	Probe war als Speisefisch gedacht, in Plastik eingeschweisst.
Heilbutt Filet *Attu*	**# 7**	Attu Island	ca. 23.7.99	Filet	Tiefgefrorener ganzer Fisch, käufl. erworben bei Seafood Factory Inc. ,Adak
Heilbutt B Leber *Lucky Point*	**# 8**	Lucky Point, Adak Island	14.8.99	Leber	120 cm / 22,5 kg / evtl. männlich
Dorsch Leber *Kuluk Bay*	**# 9**	Kuluk Bay north, Adak Island	13.8.99	Leber	In der Nähe des Flugfeldes gefangen
Dorsch Leber *Zeto Point*	**# 10**	Zeto Point, Adak Island	11.8.99	Leber	52 cm / 1,4 kg
Dorsch Leber *Sweeper Cove*	**# 11**	Sweeper Cove, Adak Island	15.8.99	Leber	88 cm / 9 kg
Miesmuscheln *Sweeper Cove*	**# 12**	Sweeper Cove, Adak Island	7.8.99	Muschel-fleisch	Gesamtes Muschelfleisch aufgearbeitet.

Von den Proben aus Adak (Heilbutt, Dorsch), Attu (Heilbutt), Amchitka (Heilbutt, Dorsch) und aus Anchorage (Heilbutt, vermutlich aus dem Golf von Alaska und Dutch Harbor, Unalaska) lassen sich interessante Ergebnisse bezüglich einer Gesamtbelastung der Aleutenkette erwarten.

3.5.3 Untersuchte Fischarten:

Bei den in dieser Arbeit untersuchten Fischspezies handelt es sich um Speisefische und Miesmuscheln aus dem Nord Pazifik. Verschiedene Proben (Leber und Filetfleisch) von drei Spezies wurden auf eine Organohalogen-Kontamination hin untersucht. Fangort, Spezies und Probenart sind in **Tab. 3-2** aufgeführt.

Pazifischer Heilbutt (lat.:*Hippoglossus stenolepis):*

Der Pazifische Heilbutt (Hippoglossus stenolepis, engl. Pacific halibut) kommt im Nordpazifik vor, vom Japanischen Meer über die Bering See und Alaska bis nach Südkalifornien. Bevorzugte Habitate sind Sand-, Kies- und Geröllgrund in Tiefen von 50 m bis 2000 m. Als gefräßiger Raubfisch ernährt er sich von Fischen aller Art, Tintenfischen und Krebstieren. Der Heilbutt ist der größte Plattfisch. Er kann bis zu 4 m lang und 300 kg schwer werden. Er ist seinem Verwandten, dem Atlantischen Heilbutt, sehr ähnlich. Das weisse Fleisch ist sehr schmackhaft und macht ihn zu einem beliebten Speise- und Angelfisch.



Abb. 3-11 *Pazifischer Heilbutt in seiner natürlichen Umgebung auf dem Meeresboden.*

Pazifischer Dorsch (lat.: *Gadus Macrocephalus):*

Der Dorsch (*engl. cod*) ist ein Schwarmfisch und hält sich in Wasserschichten von 5 m - 300 m Tiefe und hauptsächlich in der Nähe des Meeresbodens auf, wo er auch auf Nahrungssuche geht. Der Pazifische Dorsch (*Gadus Macrocephalus)* bevorzugt die kalten Regionen des Nord-Pazifiks mit einer Wassertemperatur von 2° bis 10° C.



Abb. 3-12 *Pazifischer Dorsch*

Er ist in der Regel zwischen 40 und 110 cm lang und 3 bis 10 kg schwer und ist ein Allesfresser: Plankton, Weichtiere, Würmer, Sandaale, Krebse, Heringe - er macht selbst vor seinesgleichen nicht halt.

Seit Beginn der Hochseefischerei wird der Dorsch intensiv befischt. Er gehört zu den wichtigsten Nutzfischen der weltweiten Fischerei und wird häufig bereits auf See in Fabrikschiffen weiterverarbeitet und tiefgefroren oder gelangt als frisches Filet in den Handel.

Pazifische Sandflunder (*Citharichthys sordidus*):

Die Pazifische Sandflunder (engl. Sand Dab) gehört zur Gattung der Plattfische und ist an der gesamten Nord-Pazifik-Küste von der Bering See bis Südkalifornien heimisch. Bevorzugt halten sie sich in Küstennähe, Buchten und Flussmündungsbereichen auf sandigen Böden in Tiefen von 10 – 250 m auf. Dabei erreichen sie bei einem Gewicht von 1,5 kg bis zu 40 cm Körperlänge.

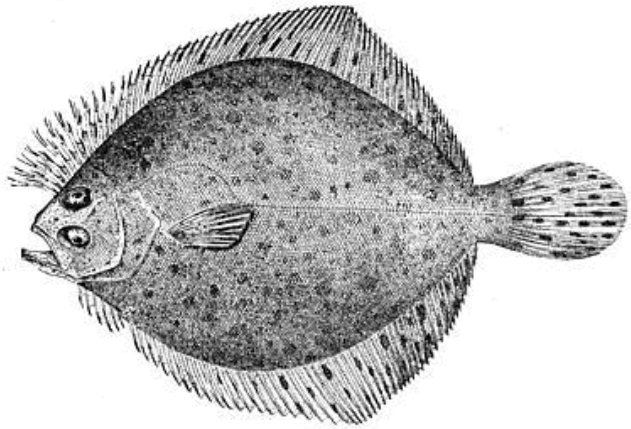


Abb. 3-13 *Pazifische Sandflunder*

Die ausgewachsenen Fische zeigen fast keine Wanderungsbewegungen und halten sich meistens sehr lokal in nahrungsreichen Gebieten auf. Sie ernähren sich von kleinen Fischen, Schalentieren und Würmern, die sie im Boden aufwühlen. Mit ihrer grün-braun-gefleckten Oberseite sind sie im sandigen Untergrund bestens getarnt.

Der Grossteil des Sandflunder-Fangs der USA kommt über San Francisco und Monterey in den USA an Land.

Miesmuscheln (*Mytilus Edulis):*

Miesmuscheln sind an ihrer symmetrischen, zweiteiligen Kalkschale mit dunkelblauer, fast schwarzer Färbung zu erkennen. Im Alter von 2 bis 4 Jahren erreichen sie eine Größe von etwa 5 bis 6 cm. Sie ernähren sich von Kleinstlebewesen und Algen, die sie mit Hilfe ihrer Kiemen aus dem Wasser filtern. Muscheln halten sich knapp unter der Wasseroberfläche und in einer Tiefe von bis zu 10 m auf.



Abb. 3-14 Geöffnete Miesmuschel (*engl. Blue Mussels*)

Die Muscheln werden in Pfahl- oder Hängehaltung kultiviert und in großen Mengen auch an der deutschen Nordseeküste geerntet. Miesmuscheln kommen frisch oder als Konserven zum Verbraucher.

4 Experimenteller Teil

4.1 Chemikalien und Geräte

4.1.1 Chemikalien

Lösemittel

- Aceton, zur Rückstandsanalyse (Fa. Merck)
- Acetonitril (Fa. Merck)
- Ameisensäure konz. (Fa. Merck)
- Cyclohexan, zur Rückstandsanalyse (Fa. Promochem)
- Dichlormethan, zur Rückstandsanalyse (Fa. Merck)
- Methanol, zur Rückstandsanalyse (Fa. Promochem)
- n-Hexan, zur Rückstandsanalyse (Fa. Merck)
- 2,2,4-Trimethylpentan (Isooctan), zur Rückstandsanalyse (Fa. Promochem)
- Wasser, demineralisiert, aus Umkehrosmose-Anlage (Fa. Merck-Eurolab)

Chemikalien für die Probenaufarbeitung

- Kieselgel 60, reinst, für die Säulenchromatographie (0,063 – 0,2 mm, 70 – 230 mesh) (Fa. Merck)
- LiChrolut EN Polymer Adsorbens 40-120 µm für die Festphasenextraktion (Fa. Merck)
- Natriumsulfat, wasserfrei, zur Analyse (Fa. Merck)
- Quarzsand, feinkörnig, gewaschen und geglüht, zur Analyse (Fa. Merck)
- Schwefelsäure, 95 – 98 %, reinst (Fa. Merck)

Standardsubstanzen und Referenzmaterialien

- 1,2,3,4-Tetrachlornaphthalin (TCN) 10 ng/µL in Isooctan (Labor Dr. Ehrenstorfer)
- 2,4,6-Tribromanisol (synthetisiert von Dr. U. Führer [Führer 1996])
- 4,4'-DDT (> 99 %) (Fa. Riedel de Haën)
- Octachlorstyrol (Fa. Promochem)
- PCB 103 (Fa. Promochem)
- PCB-Einzelkongener-Lösungen, 10 ng/µL in Isooctan (Labor Dr. Ehrenstorfer)
- Pentachloranisol (Fa. Promochem)
- Pentachlorbenzol (Fa. Promochem)

- PFTBA (Perfluortributylamin) als Kalibriersubstanz für die Massenspektrometrie (Fa. Fluka)
- SRM 1588 Organics in Cod Liver Oil (NIST)
- CRM 349 Cod Liver Oil
- CRM 350 Mackerel Oil
- SRM 2261 Concentrated Pesticides in Hexane (15 Pestizide) (NIST)
- SRM 2262 Concentrated PCB Congeners in Isooctane (28 PCB Kongenere) (NIST)
- SRM 2274 Supplementary PCB Calibration Solution in Isooctane (11 PCB Kongenere) (NIST)
- SRM 2275 Supplementary Pesticide Calibration Solution (9 Pestizide) (NIST)
- TCPM 10 (Tris(4-chlorphenyl)methan) (von Dr. W. Jarman zur Verfügung gestellt)
- TCPM-OH 10 (Tris(4-chlorphenyl)methanol) (Fa. Lancaster)
- Technische PCB-Gemische Aroclor 1242, 1254, 1260, Clophen A30, A50, A60 (Fa. Accu-Standard, Labor Dr. Ehrenstorfer)
- Technisches Gemisch der PBDEs: Bromkal 70-5DE, Bromkal 79-8DE, Bromkal 73-5PE (Fa. Chemische Fabrik Kalk)
- Tetrachlor-1,4-dimethoxybenzol (synthetisiert von Dr. J. Schreitmüller [Schreitmueller 1993])
- Toxaphenstandard (3 Kongenere: T26, T50, T62) (Labor Dr. Ehrenstorfer)
- ε-HCH (Fa. Promochem)

4.1.2 Flüssigchromatographie

NP-HPLC-Gruppentrennung

- HPLC-Pumpe: (Fa. Shimadzu) Kompaktanlage Hochleistungsflüssigkeits-Chromatograph LC-4A,
- UV-Detektor SPD-AS, Heliumentgasung, Säulenofen CTO-2AS;
- 20-µl und 1-ml Probenschleifen und Sechs-Wege-Ventil 7000 (Fa. Rheodyne)
- Sechs-Wege-Injektionsventil (Fa. Rheodyne) mit 1000-µL-Injektionsschleife
- Sechs-Wege-Umschaltventil (Fa. Rheodyne)
- Trennsäule: Nucleosil-100 NH_2 (Aminopropyl, Fa. Macherey-Nagel), d_p = 5 µm; L = 120 mm; d_c = 4 mm;
- Eluenten: n-Hexan, F = 0,5 mL/min

4.1.3 Gaschromatographie

Gase

- Wasserstoff 5.0 (Fa. MTI)
- Argon/Methan (9:1, v/v) (Fa. MTI)
- Helium 4.6 (Fa. MTI)
- Methan (Fa. MTI)

GC-ECD Gaschromatograph HP 5890 Series II mit split/splitlos-Injektor und druckprogrammierbarem on-column-Injektor (Fa. Hewlett-Packard)

- Automatischer Probengeber (Autosampler) HP 7673 (Fa. Hewlett-Packard)
- Detektoren: ^{63}Ni-ECD und FID (Fa. Hewlett-Packard)
- Steuerungs- und Auswertesoftware: HP Chemstation A.04.01 auf Personal Computer Vectra 4/66 (Fa. Hewlett-Packard), Auswertung auf PC Pentium III 400 MHz.

GC-MSD (EI und NCI)

- Gaschromatograph HP 6890 mit on-column-Injektor (Fa. Agilent)
- Quadrupol-Massenspekrometer HP 5973 (Fa. Agilent)
- Steuerungs- und Auswertesoftware HP Chemstation (Version) auf Personal Computer Kayak (Fa. Hewlett-Packard)

Verwendete stationäre Phasen

- CP SIL 8 CB (5 % Phenyl-, 95 % Methylpolysiloxan) (Fa. Varian)
- DB-5ms (5 % Phenyl-, 95 % Methylpolysiloxan) (Fa. J&W Scientific)
- CP SIL 19 CB (7 % Cyanopropyl-, 7 % Phenyl-, 86 % Methylpolysiloxan) (Fa. Varian)
- Vor jeder Trennkapillare wurde ein Retention-Gap (L = 2 m; d_c = 0,32 mm) aus desaktiviertem fused-silica-Material (Fa. CS Chromatographie-Service) mit Universal-verbinder angebracht.
- RET15 (zusammengesetzt aus 10 m Retention Gap und 5 m DB5 MS (5 % Phenyl-, 95 % Methylpolysiloxan) (Fa. Hewlett-Packard)

Trennbedingungen **ECD1**

- Kapillare: **CP SIL 8 Low Bleed**; L = 60 m; d_c = 0,25 mm; d_f = 0,25 µm
- Temperaturprogramm: 80 °C (3 min) → (20 °C/min) → 170 °C (2° C/min) → 280° C (7 min)
- Trägergas: Wasserstoff; p_0 = 60 kPa (u = 42,1 cm/s, berechnet für T = 200 °C)
- Gesamt-Fluß: F = 55 mL/min
- Injektion: on-column (80 °C) mit Autosampler
- ECD make-up-Gas: Argon/Methan (9:1); F = 60 mL/min
- Detektor-Temperatur: 300 °C

Trennbedingungen **ECD2**

- Kapillare: **CP SIL 19 CB**; L = 60 m; d_c = 0,25 mm; d_f = 0,25 µm
- Temperaturprogramm: 80 °C (3 min) → (20 °C/min) → 190 °C (0 min) → (2 °C/min) → 265 °C → (3 °C/min) → 280° C → (8 min)
- Trägergas: Wasserstoff; Druckprogramm: 30 kPa (0,1 min) → (100 kPa/min) → 180 kPa (u = 42,3 cm/s, berechnet für T = 190 °C)
- Injektion: on-column (80 °C) mit Autosampler
- ECD make-up-Gas: Argon/Methan (9:1); F = 60 mL/min
- Detektor-Temperatur: 300 °C

Trennbedingungen **MSD1**

- Kapillare: **CP SIL 8 Low Bleed**; L = 60 m; d_c = 0,32 mm; d_f = 0,25 µm
- Temperaturprogramm: 80 °C (3 min) → (20 °C/min) → 170 °C (0 min) → (2 °C/min) → 280 °C (7 min)
- Trägergas: Helium; konst. Fluss: 1,8 mL/min p_0 = 214 kPa (für T = 80 °C)
- Injektion: on-column (80 °C) mit Autosampler
- Transfer-Line: 290 °C
- Detektion: NCI

Trennbedingungen **MSD2**

- Kapillare: **CP SIL 8 Low Bleed**; L = 60 m; d_c = 0,32 mm; d_f = 0,25 µm
- Temperaturprogramm: 80 °C (3 min) → (20 °C/min) → 170 °C (0 min) → (2 °C/min) → 280 °C (7 min)
- Trägergas: Helium; konst. Fluss: 1,8 mL/min p_0 = 214 kPa (für T = 80 °C)
- Injektion: on-column (80 °C) mit Autosampler
- Transfer-Line: 290 °C
- Detektion: EI

Trennbedingungen **MSD3**

- Kapillare: **CP SIL 8 Low Bleed**; L = 60 m; d_c = 0,32 mm; d_f = 0,25 µ
- Temperaturprogramm: 80 °C (3 min) → (20 °C/min) → 210 °C → (4 °C/min) → 290 °C (5 min)
- Trägergas: Helium; konst. Fluss: 1,8 mL/min p_0 = 214 kPa (für T = 80 °C)
- Injektion: on-column (80 °C), mit Autosampler
- Transfer-Line: 300 °C
- Detektion: EI

Trennbedingungen **MSD4**

- Kapillare: **CP SIL 19 C**B; L = 60 m; d_c = 0,25 mm; d_f = 0,25 µm
- Temperaturprogramm: 80 °C (3 min) → (20 °C/min) → 190 °C (0 min) → (2 °C/min) → 265 °C → (3 °C/min) → 280° C → (8 min)
- Trägergas: Helium; konst. Fluss: 1,2 mL/min p_0 = 155 kPa (für T = 80 °C)
- Injektion: on-column (80 °C) mit Autosampler
- Transfer-Line: 290 °C
- Detektion: NCI

Trennbedingungen **RET15** (MSD)

- Kapillare: RET-15; L = 15 m; d_c = 0,32 mm; d_f = 0,25 µm (setzt sich zusammen aus 10 m Retention Gap und 5 m DB5 MS)
- Temperaturprogramm: 80 °C (2 min) → (15 °C/min) → 230 °C (10° C/min) → 280 °C (7 min) → (4 °C/min) → 310 °C (2 min)
- Trägergas: Helium; konst. Fluss: 2,1 mL/min p_0 = 240 kPa (für T = 80 °C)
- Injektion: on-column (80 °C), Autosampler
- Transfer-Line: 310 °C;
- Detektion: NCI

Weiteres GC-Zubehör

- Autosampler-Spritze 5 µL (Nr. 5182-0836) mit Kanüle für 320-µm-Kapillare (Nr. 5182-0831) (Fa. Hewlett-Packard)
- Autosampler-Vials 200 µL mit Crimp-Deckel (Fa. Hewlett-Packard)
- Ferrules (Vespel, Graphit) (Fa. Hewlett-Packard)
- Mikroliterspritze 85RNE, 5 µL mit Edelstahlkanülen (120 mm) für on-column-Injektion (Fa. Hamilton)
- Universalverbinder für fused-silica-Kapillaren (Fa. CS-Chromatographie Service)

Sonstige Geräte und Hilfsmittel

- Achat-Mörser mit Pistill
- Aluminiumfolie (Fa. Merck Eurolab)
- Analysenwaage AE200 (Fa. Mettler)
- Exsikkator mit Blaugel
- Glasgeräte aus Duranglas (Fa. Schott, Fa. Brand, Glasbläserei Universität Ulm)
- Glaswolle
- Heizpilze (Fa. Heraeus-Wittmann)
- Laborspülmaschine (Fa. Miele)
- Löffel, Pinzetten, Skalpelle, Spatel aus Edelstahl
- Membran-Vakuumpumpe Laborport SC810 mit Kondensator und Vakuumcontroller (Fa. KNF Neuberger)
- Mikropipetten und Pipettierhilfen (Fa. Brand)
- Muffelöfen (Fa. Heraeus, Fa. Ruhstrat)

- Pasteurpipetten (Fa. Brand)
- Reinbank aus Edelstahl und Glas Typ M624S (Fa. CEAG Verfahrenstechnik)
- Rotationsverdampfer Rotavapor-M mit Wasserbad HB-140 (Fa. Büchi)
- Trockenschrank (Fa. Memmert)
- Ultraschallbad (Fa. Bransonic)

4.2 Qualitative und Quantitative Analyse

4.2.1 Polychlorierte Biphenyle

In den technischen Gemischen der polychlorierten Biphenyle kommen nur etwa insgesamt 150 von den 209 möglichen Kongeneren vor. Die Bestimmung der einzelnen Substanzen erfolgt mit Hilfe der Hochauflösenden Gaschromatographie (HRGC) auf Fused Silica Kapillarsäulen und Elektroneneinfangdetektor (ECD) bzw. Massenselektivem Detektor (MSD). Die Zuordnung der PCBs auf den hauptsächlich verwendeten stationären Phasen SIL 19 und SIL 8 (DB 5MS) erfolgte durch Injektion einiger Einzelkongener-Standards und der neun „*Frame Lösungen*“, in denen alle 209 PCB-Kongenere enthalten sind [Frame 1997a, Frame 1997c]. Überprüft wurde die Elutionsabfolge noch durch Messungen mit dem MSD im EI-(SIM)-Modus. Bei den PCBs wurden immer zwei Massen des Molekülionclusters (Target- und Qualifyer-Masse) pro Chlorierungsgrad detektiert (PCB-EI-SIM-Massen siehe **Tab. 4-1**).

Das technische PCB-Gemisch wurde zusätzlich noch durch Mustervergleich mit den Literaturangaben verglichen [Schulz 1989].

In **Abb. 4-1** sind die PCB-Kongenere in dem Gemisch aus Clophen A30, A50 und A60 im Verhältnis 1:1:1 auf der SIL 19 Kapillare zugeordnet. Für die quantitativen Bestimmung der PCBs wurden die NIST Standardreferenzmaterialien SRM 2262 und SRM 2274 verwendet (HRGC (SIL 19)/ECD-Chromatogramm siehe **Abb. 4-2**).

Auf der SIL 19 Kapillare ist eine Detektion (ECD) der sieben *PCB-Indikatorkongenere* ohne Koelution für die Kongenere *PCB 28, 101, 118, 153* und *180* möglich. *PCB 52* zeigt Koelution mit PCB 75 und *PCB 138* koeluiert mit den PCBs 158, 163 und 164. Mit einem Peakanteil von 10 - 30 % kann PCB 163 bei der Bestimmung von *PCB 138* stören [Frame 1997a, Frame 1997c]. Bei HRGC/MSD auf der CP SIL 8 Lowbleed können diese beiden Peaks auch nicht vollständig an den Basislinien getrennt werden.

In einigen Realproben trat auf der SIL 19 eine Koelution des PCB 101 mit einem Nona-Chlordan (CD)-Isomer auf, und das PCB 146 ist von einem Toxaphen-Kongener überlagert. Beim PCB 149 gibt es eine Koelution mit dem Toxaphen T26 und bei PCB 174/201 mit T50. Aufgrund von Matrixeffekten kam es in den meisten Realproben auch zu einer Koelution von PCB 170 mit PCB 199.

Für eine genaue Zuordnung und Quantifizierung der PCBs in den Realproben, wurden immer zusätzlich SIM-Messungen mit dem MSD durchgeführt (vorwiegend auf CP SIL 8). Durch Messungen im NCI-Fullscan und SIM-Modus wurden die qualitativen Ergebnisse verifiziert.

Auf der CP SIL 8 sind die PCB-Indikator-Kongenere PCB 28, 101, 118, 138 und 180 ohne Koelution detektierbar. PCB 52 koeluiert mit PCB 43, PCB 153 eluiert gleichzeitig wie PCB 132. Allerdings überwiegt der Anteil der Indikatorkongenere in beiden Fällen deutlich, sodass eine Quantifizierung möglich ist. PCB 149 zeigt auf dieser Säule eine Koelution mit dem Kongenere PCB 139, ausserdem überlagert PCB 153 den Peak von PCB 132. Die beiden PCB 170 und 190 liegen ebenfalls zusammen, wie auch PCB 196 und PCB 203.

In **Tab. 4-1** sind die SIM-Massen zur Detektion der polychlorierten Biphenyle mit dem MSD (EI) angegeben.

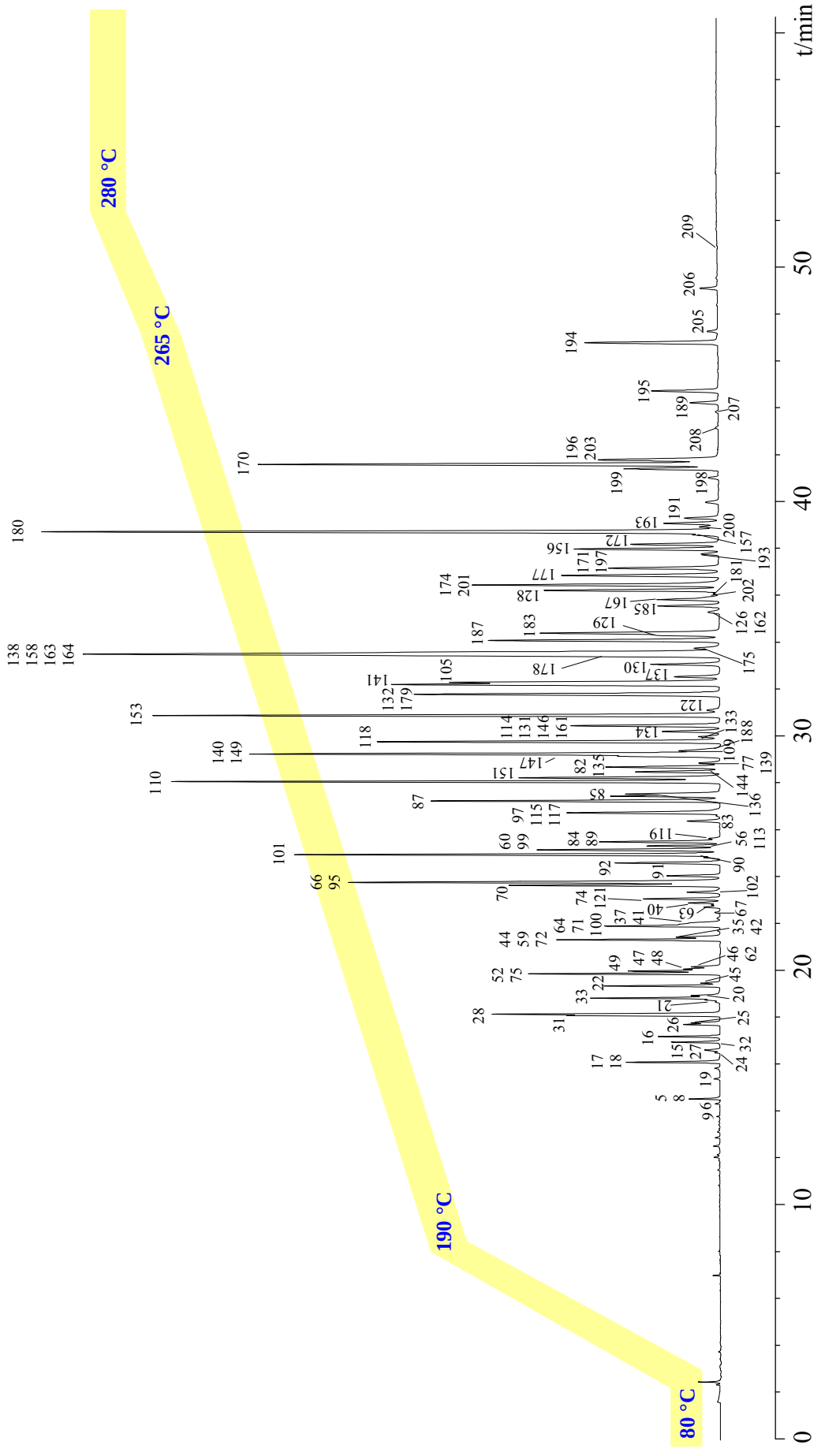


Abb. 4-1. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: Lösung des technischen PCB-Gemisches Clophen A30/50/60 (1:1:1)
Trennbedingungen **ECD 2**

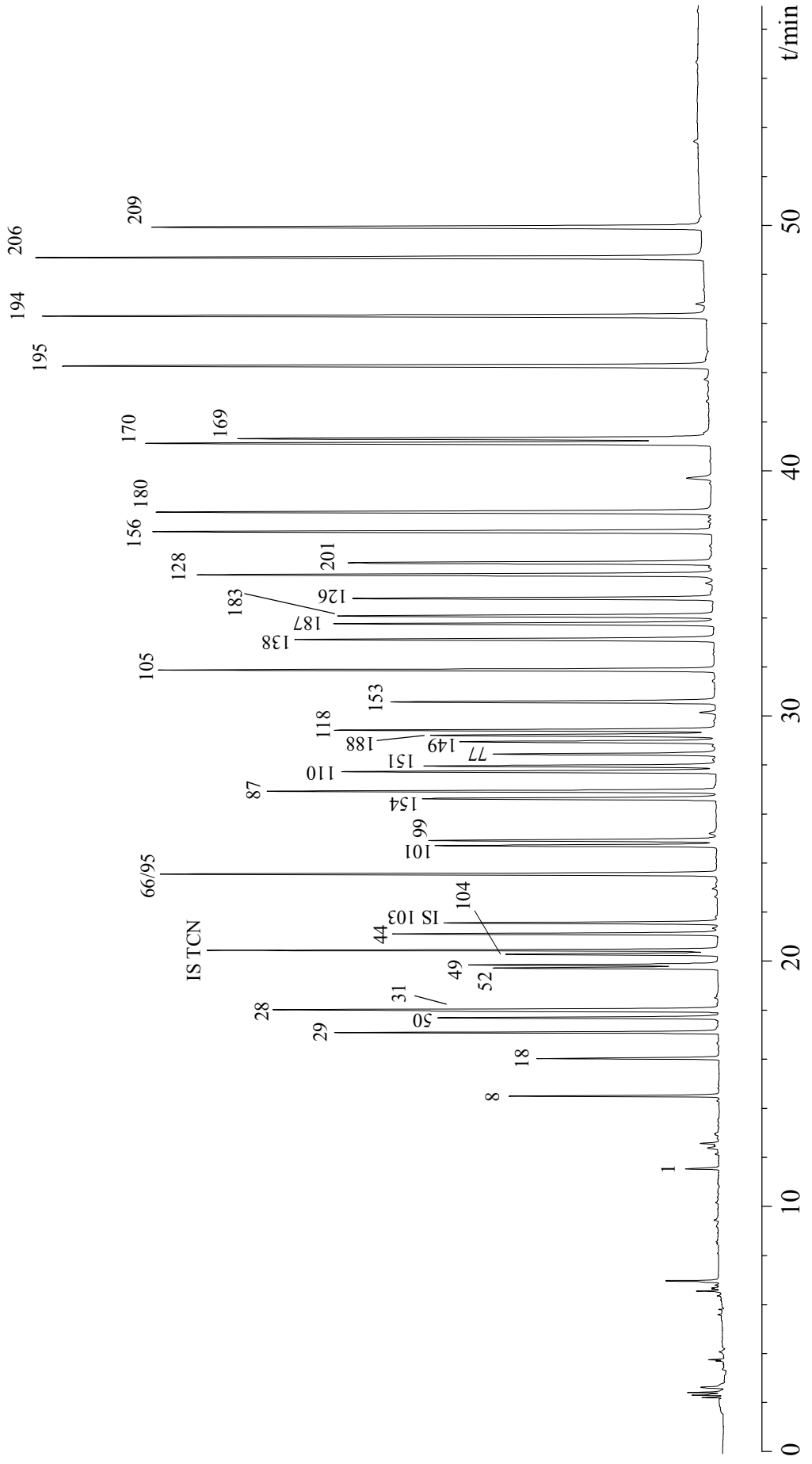


Abb. 4-2. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: PCB Standardgemisch: NIST SRM 2262 + 2274 und IS TCN und IS PCB 103

Trennbedingungen **ECD 2** (Masse On-Column: 200 pg)

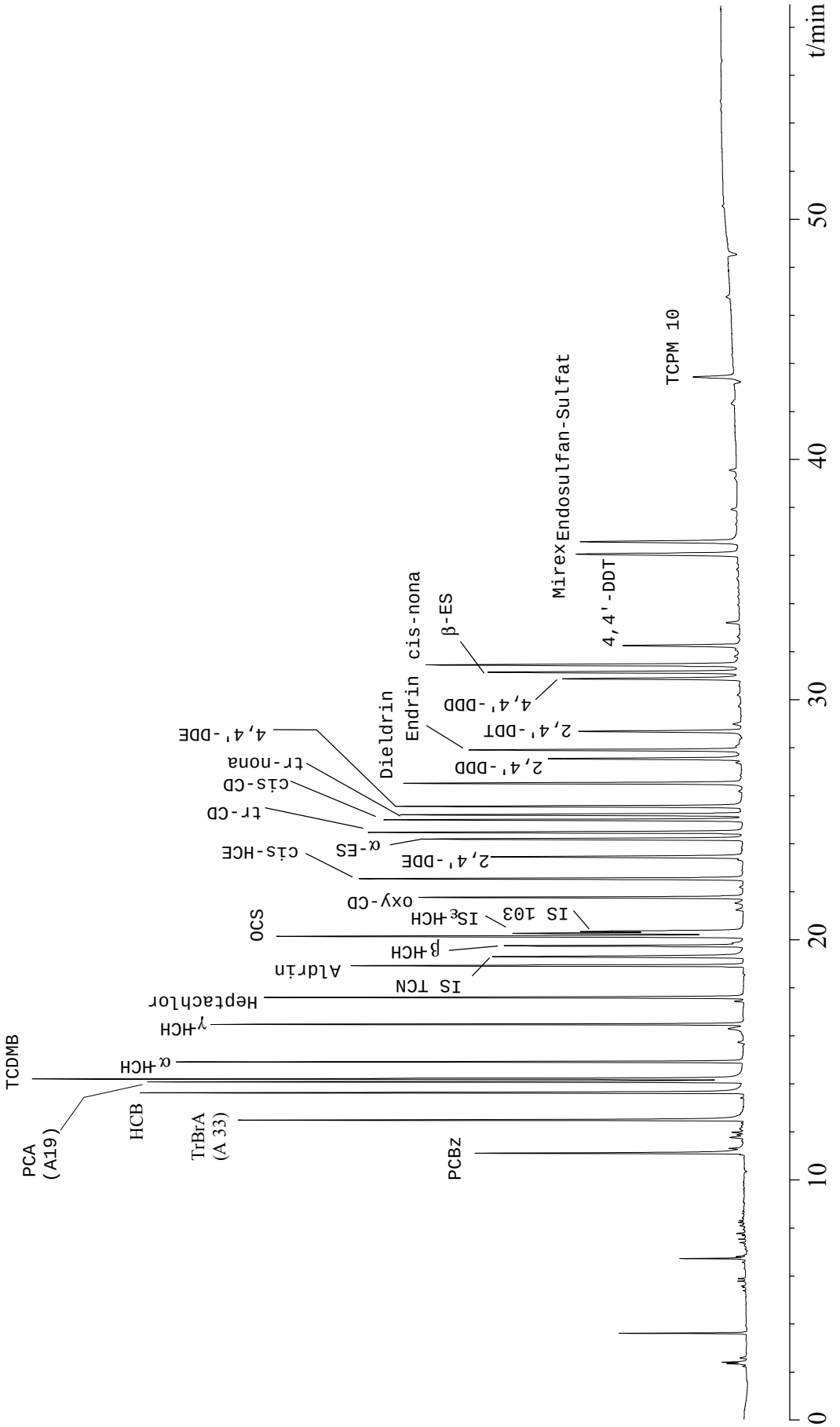


Abb. 4-3. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: Pestizid Standardgemisch: NIST SRM 2261 + 2275 und IS TCN, IS PCB 103, IS ε-HCH und die Standards PCBz, TrBrA (A33), TCDMB, PCA (A19), OCS und TCPM10. Trennbedingungen **ECD 2** (Masse On-Column 200 pg)

Tab. 4-1 Molekülspezifische Daten zur Aufnahme der SIM-Spuren der untersuchten polychlorierten Biphenyle PCB im EI-Modus

Verbindungen	**Summen-formel**	**registriertes Ion**	**Target-Ion *m/z*, u**	**relative Häufigkeit, %**	**Qualifier-Ion *m/z*, u**	**relative Häufigkeit, %**	M_r
Monochlorbiphenyle	$C_{12}H_9Cl$	M^+	188,039	100	190,036	33	188,66
Dichlorbiphenyle	$C_{12}H_8Cl_2$	M^+	222,000	100	223,997	65	223,12
Trichlorbiphenyle	$C_{12}H_7Cl_3$	M^+	255,961	100	257,958	97	257,57
Tetrachlorbiphenyle	$C_{12}H_6Cl_4$	M^+	291,919	100	289,922	78	292,02
Pentachlorbiphenyle	$C_{12}H_5Cl_5$	M^+	325,880	100	327,877	64	326,48
Hexachlorbiphenyle	$C_{12}H_4Cl_6$	M^+	359,841	100	361,839	80	360,93
Heptachlorbiphenyle	$C_{12}H_3Cl_7$	M^+	393,802	100	395,800	96	395,38
Octachlorbiphenyle	$C_{12}H_2Cl_8$	M^+	427,761	89[a]	425,766	35	429,84
Nonachlorbiphenyle	$C_{12}HCl_9$	M^+	463,722	100	461,725	78	464,29
Decachlorbiphenyl	$C_{12}Cl_{10}$	M^+	497,683	100	499,680	86	498,74

[a] Ion mit 100 % relativer Häufigkeit (*m/z* = 429,791) ist von einem Fragment einer Siliconverbindung des Säulenblutens überlagert (vgl. [Oehme 1996], S. 179)

4.2.2 Organohalogen – Pestizide

Die Zordnung der Organohalogen Pestizide in dem Quantifizierungsstandard auf den Kapillarsäulen erfolgte durch Injektion von Einzelstandard. Zur Verifizierung wurden von den Lösungen zusätzlich noch Chromatogramme im EI und NCI-Full-Scan-Modus aufgenommen. Auf der CP SIL 19 konnten ε-HCH und PCB 103 nicht komplett basisliniengetrennt werden, weshalb zur Quantifizierung der Proben das 1,2,3,4-Tetrachlornaphthalin (TCN) als Interner Standard verwendet wurde. In den Proben treten PCB 103 und ε-HCH nicht in den selben Fraktionen auf. Für eine eindeutige Bestimmung der Verbindungen ist es notwendig, mit dem MSD im EI-SIM Modus mit zwei Massenspuren zu messen (EI-SIM Massen siehe **Tab. 4-2**). Durch Messungen im NCI-Full-Scan konnte die Zuordnung der Organohalogene in den Realproben abgesichert werden. In **Abb. 4-3** ist ein HRGC (SIL 19)/ECD-Chromatogramm des Pestizid-Standardgemisches zu sehen.

Tab. 4-2 Molekülspezifische Daten zur Aufnahme der SIM-Spuren der untersuchten Organohalogenverbindungen im EI-Modus

Verbindung	Summen-formel	registriertes Ion	Target-Ion (100 %) *m/z*, u	Qualifier-Ion *m/z*, u	relative Häufigkeit, %	M_r
Aldrin	$C_{12}H_8Cl_6$	$[M - C_5H_6 - Cl]^+$	262,857	264,854	64	364,91
cis-/*trans*-Chlordan	$C_{10}H_6Cl_8$	$[M - Cl]^+$	372,824	374,823	96	409,78
cis-/*trans*-Nonachlor	$C_{10}H_5Cl_9$	$[M - Cl]^+$	408,784	406,787	89	444,22
2,4'-/4,4'-DDD	$C_{14}H_{10}Cl_4$	$[M - CHCl_2]^+$	235,008	237,005	65	320,04
2,4'-/4,4'-DDE	$C_{14}H_8Cl_4$	$[M - 2Cl]^+$	246,001	247,998	64	318,03
2,4'-/4,4'-DDT	$C_{14}H_9Cl_5$	$[M - CCl_3]^+$	235,008	237,005	65	354,49
Dieldrin/Endrin	$C_{12}H_8OCl_6$	$[M - C_5H_5 - HOCl]^+$	262,857	264,854	64	380,91
HCB	C_6Cl_6	M^+	283,810	285,807	80	284,78
cis-Heptachlorepoxid	$C_{10}H_5OCl_7$	$[M - Cl]^+$	352,844	354,841	80	389,32
HCH	$C_6H_6Cl_6$	$[M - Cl - 2HCl]^+$	180,938	182,935	96	290,83
Heptachlor	$C_{10}H_5Cl_7$	$[M - C_5H_5Cl]^+$	271,810	273,807	80	373,32
Mirex	$C_{10}Cl_{12}$	$[M - C_5Cl_6]^+$	271,810	273,807	80	545,54
OCS	C_8Cl_8	M^+	379,745	377,748	89	379,71
oxy-Chlordan	$C_{10}H_4OCl_8$	$[M - Cl]^+$	386,805	388,802	96	423,76
PCA (A19)	$C_7H_3OCl_5$	M^+	279,860	281,857	64	280,36
PCBz	C_6HCl_5	M^+	249,849	251,846	64	250,34
TCDMB	$C_8H_6OCl_4$	M^+	275,909	273,912	78	275,95
TCN	$C_{10}H_4Cl_4$	M^+	265,904	263,907	78	265,95
TCPM[a]	$C_{19}H_{13}Cl_3$	$[M - Cl]^+$	311,039	313,036	64	347,67
TrBrA (A33)	$C_7H_5OBr_3$	M^+	347,787	345,785	96	344,83
TetraBDE[b]	$C_{12}H_6OBr_4$	M^+	485,713	483,711	68	485,80
PentaBDE[c]	$C_{12}H_5OBr_5$	M^+	563,622	565,620	98	564,69
HexaBDE[d]	$C_{12}H_4OBr_6$	M^+	643,530	641,532	77	643,59
MeO-TetraBDE[e]	$C_{13}H_8O_2Br_4$	M^+	515,722	513,724	68	515,82

[a] zusätzlich noch $[M]^+$: 346,008 (100 %) und 348,005 (96 %)
[b] Tetrabromdiphenylether
[c] Pentabromdiphenylether
[d] Hexabromdiphenylether
[e] Methoxy-Tetrabromdiphenylether

4.2.3 Polybromierte Diphenylether

Die meisten in den Realproben vorkommenden PBDEs sind in dem technischen Gemisch Bromkal 70-5 DE enthalten. Durch Vergleich der Elutionsabfolge in den Chromatogrammen und den EI-SIM-Spuren wurden die einzelnen PBDEs zugeordnet [Sjödin 1997, Sjödin 1998] (EI-SIM-Massen der PBDEs siehe **Tab. 4-2**). Zur Detektion von bromierten Verbindungen wird im NCI-SIM-Modus mit den Massen m/z 79 und m/z 81 das abgespaltene Bromid-Ion detektiert, was eine sehr eindeutige Zuordnung der PBDEs zulässt (siehe Kapitel 4.4). Einige hochbromierte PBDEs (Br_7 – Br_{10}) sind in dem technischen Gemisch Bromkal 79-8 DE enthalten. Die Zuordnung erfolgte auf der RET 15 Kapillare durch Messungen mit dem MSD im EI- und NCI-Fullscan-Modus. Zur Bestimmung dieser Substanzen in den Proben wurden hauptsächlich im NCI-SIM-Modus die Bromspuren detektiert. Die in Realproben vorkommenden Methoxy-Derivate der PBDEs konnten im EI-SIM-Modus und durch Vergleich mit den in [Haglund 1997b] angegebenen Chromatogrammen zugeordent werden.

Abb. 4-4 zeigt ein HRGC (SIL 19)/ECD-Chromatogramm des technischen Gemisches Bromkal 70-5 DE (siehe auch **Abb. 5-61**).

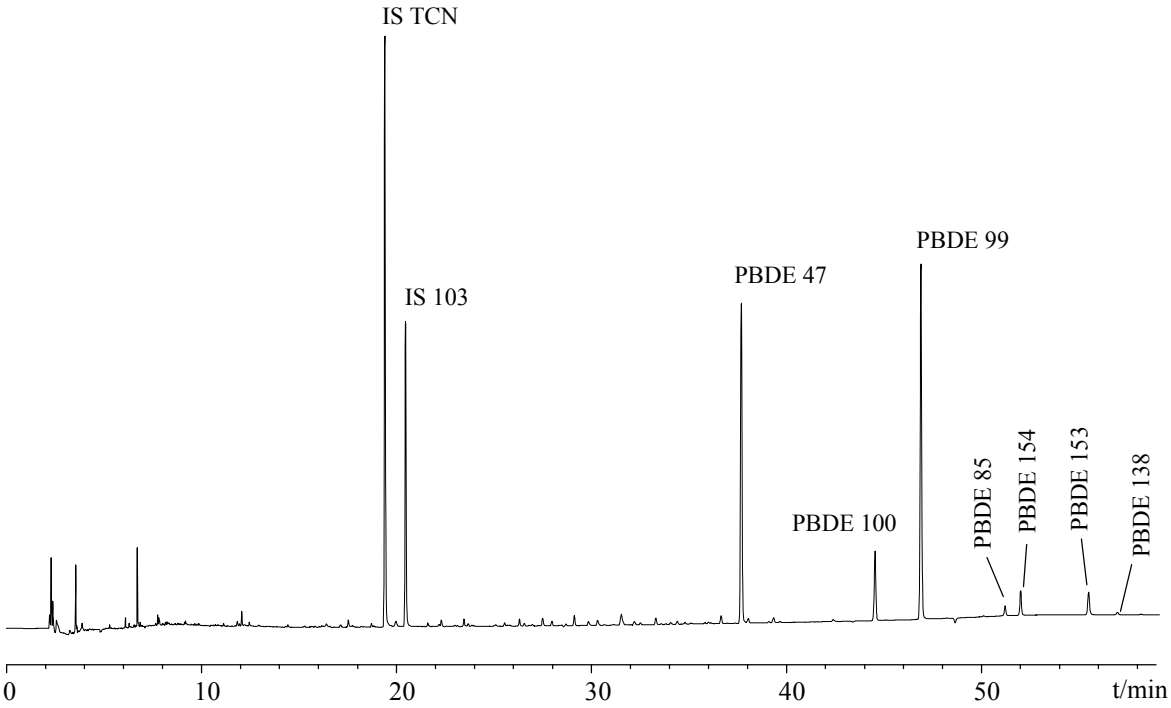


Abb. 4-4 HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: Standardgemisch Bromkal 70-5 DE der polybromierten Diphenylether (PBDE 47, 85, 99, 100, 138, 153 und 154) und die Standards TCN, PCB 103; Trennbedingungen **ECD 2** (Masse On-Column: 200 pg)

4.2.4 Toxaphene

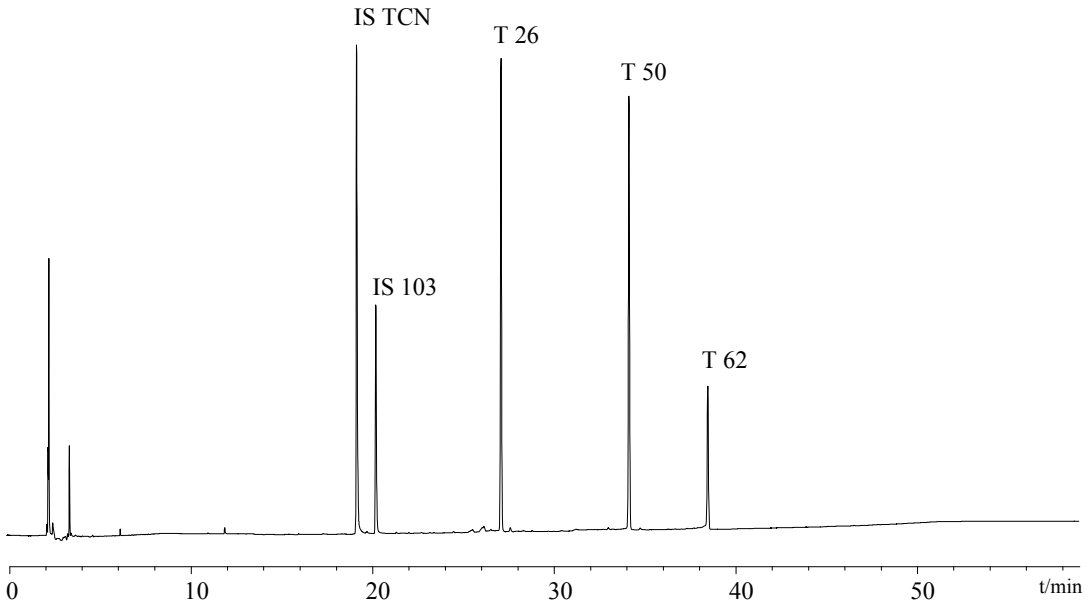


Abb. 4-5 HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: Toxaphen Standardgemisch T 26, T50, T 62 und die Standards TCN, PCB 103; Trennbedingungen **ECD 2**
(Masse On-Column: 200 pg)

Die Zuordnung der Toxaphene erfolgte durch Injektion von Einzelstandards der Kongenere T26, T50 und T62. Für diese Arbeit standen nur diese drei Kongenere zur Verfügung, weitere Standards sind jedoch käuflich erhältlich. Gemessen wurde mit ECD und MSD im NCI-Full-Scan Modus. Zur Identifizierung der Toxaphene in den Realproben wurde zusätzlich mit MSD im NCI-SIM-Modus die Chlorspur (m/z: 35 und 37) detektiert, da durch die bessere Cl-Abspaltung der Toxaphene im Vergleich zu den PCBs, die Toxaphen Peaks auf der Chlorspur deutlich hervorgehoben werden (siehe dazu Kapitel 4.4.6). Eine Zuordnung der Toxaphene in einem HRGC(SIL 19)/MSD-SIM-(NCI)-Chromatogramm (m/z: 35) ist in **Abb. 4-40** zu sehen. Die restlichen Toxaphenkongenere konnten nicht eindeutig zugewiesen werden und wurden in den Chromatogrammen nur mit ***T*** bezeichnet. Quantifiziert wurden die drei Toxaphen-Kongenere über ihre Relativen Responsefaktoren (RRF) im ECD bezüglich des IS TCN.

In **Abb. 4-5** ist das HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm des Gemisches der Toxaphenlösung zur Quantifizierung dargestellt.

4.2.5 Quantitative Bestimmung mit internem Standard

Die Bestimmung der Susbstanzen erfolgt über interne Kalibrierung mit Internem Standard (IS) und über Relative Response Faktoren (RRF). Dies hat den Vorteil, dass Schwankungen des Injektionsvolumens nicht berücksichtigt werden müssen.

Als Interne Standards sind Substanzen geeignet, die folgende Eigenschaften aufweisen:

- kein Vorkommen in der Probe
- ähnliches chemisches und physikalisches Verhalten wie die Analyten
- keine Koelution mit anderen Substanzen im Chromatogramm
- Konzentration der Lösung muss genau bekannt sein

Zur Ermittlung der Wiederfindungsraten eines Analysenschritts wird die Probe zuvor mit einer Standardsubstanz (Wiederfindungsstandard) versetzt, und nach Ablauf des Verfahrens setzt man der zu untersuchenden Fraktion eine bestimmte Menge des IS 1,2,3,4-Tetrachlornaphthalin TCN zu. Als Wiederfindungsstandard für die LC1/N1 Fraktion nach der Gruppentrennung wird PCB 103 verwendet, für die mittelpolare Fraktion LC2/N2 benötigt man keinen und für die LC3/B1 wird der Probe ε-HCH zugesetzt.

Die Auswertung erfolgt über Relative Responsefaktoren (RRF), welche mit Hilfe von Standards bestimmt werden. Den absoluten Responsefaktor (RF) einer Subsatnz Y erhält man nach:

$$RF\ (Y) = \frac{Peakfläche\,(Y)}{Gehalt\,(Y)\ in\ \text{Stdlsg.}}$$

Da das Verhältnis der Gehalte von Analyten und IS unabhängig vom Verdünnungsgrad ist, berechnet man die relativen Responsefaktoren (RRF), die „relativ„ zum IS (Peakfläche) sind und erhält damit Ergebnisse, die unabhängig von dem GC-Injektionsvolumen sind.

$$RRF_{(IS)}(Y) = \frac{RF\,(Y)}{RF\,(IS)}$$

Mit diesen dimensionslosen RRF, welche die Peakflächen in Bezug zu Mengenangaben relativ zu einem IS setzen, lassen sich Gehalte und Wiederfindungsraten von Substanzen mit bekanntem Gehalt des IS bestimmen.

Die Gehaltsbestimmung eines Analyten X in einer Probe erfolgt durch Bestimmung der Peakflächen und bekannter Menge des IS und der Probenmenge:

$$\text{Gehalt}\ (X) = \frac{Peakfläche\,(X)}{Peakfläche(IS)} \cdot \frac{Absolutmenge\ IS}{RRF_{(IS)}(X)} \cdot \frac{1}{Einwaagebzw.extrahierteLipidmenge}$$

Um geräteabhängige Schwankungen der RRF zu vermeiden, werden Kalibrierlösungen mit unterschiedlichen Konzentrationen nach 5 – 7 Probeninjektionen jedes Mal erneut gemessen. Quantifiziert wurde mit ECD und MSD(EI) und die erhaltenen Konzentrationen wurden miteinander verglichen. Da es hierbei nur sehr geringe Unterschiede zwischen den ECD- und MSD-Gehalten gab, wurden die ECD-Konzentrationen verwendet, ausser in den Fällen, wo im ECD-Chromatogramm Koelutionen vorlagen. Dabei ist zu beachten, dass die Konzentrationen der Analyten im Standard und in der Probe ungefähr die gleiche Größenordnung haben und im linearen Bereich des Detektors liegen.

Zur Ermittlung der Wiederfindungsraten WF wird eine genaue Menge (Absolutmenge X) eines Standards (X) der Probe zugegeben und nach den Verfahrensschritten wird bestimmt, wieviel dieser Substanz noch vorhanden ist. Die WF berechnet sich gemäß:

$$WF\,(X) = \frac{Peakfläche\,(X)}{Peakfläche(IS)} \cdot \frac{Absolutmenge\ IS}{RRF_{(IS)}(X)} \cdot \frac{100\%}{Absolutmenge\ X}$$

Für die Aufarbeitung der Fischproben sind WF zwischen 70 % und 120 % durchaus akzeptabel. Die Analyt-Gehalte wurden nicht mit den Wiederfindungsraten korrigiert.

4.2.6 Kalibrierlösungen

Zur Herstellung der PCB- und Pestizid-Standardlösungen werden die NIST SRMs 2261, 2262, 2274, 2275 mit Isooktan verdünnt. Zusätzliche Verbindungen sind als Reinsubstanz-Stammlösung zugefügt worden.

Es werden die Kalibrierlösungen für PCBs und Pestizide in je drei Massenkonzentrationen (ca. 10 pg/µL, 100 pg/µL, 200 pg/µL) hergestellt. Die in den Standardlösungen enthaltenen Substanzen sind in den **Abb. 4-2** und **Abb. 4-3** zu sehen. Für die PBDEs standen keine Einzelkongenerenstandards zur Verfügung. Die Quantifizierung dieser Substanzen erfolgte daher mit aus dem technischen Gemisch Bromkal 70-5DE hergestellten verdünnten Lösungen, unter Verwendung der in [Sjödin 1998] angegebenen Massenanteilen (PBDE 47: 37 %, PBDE 85: 1,6 %, PBDE 99: 35 %, PBDE 100: 6,8 %, PBDE 153: 3,9 %, PBDE 154: 2,5 %). Zur Quantifizierung der Toxaphene wurde durch Verdünnung der drei Einzelkongeneren-Standardlösungen von T26, T50 und T62 (Labor Dr. Ehrenstorfer) eine Gesamtkalibrierlösung mit Isooktan hergestellt.

Alle Verdünnungen basieren auf Wägungen und nicht auf Volumenmessungen. Die Kontrolle über die gleichbleibende Konzentration der Standardlösungen erfolgt durch Wägeprotokolle für jeden Messkolben und Aufbewahrung der Messkolben in dunklen Weithalsflaschen, in denen zur Verminderung von Verdampfungsverlusten eine gesättigte Isooktan-Atmosphäre erzeugt wird.

In **Tab. 4-3** bis **Tab. 4-6** sind die Relativen Responsefaktoren (RRF) für die verwendeten Standardsubstanzen bei Detektion im ECD und MSD (EI und NCI) angegeben. Vergleiche

des Responseverhaltens von Organohalogenverbindungen bei unterschiedlicher Detektion sind in Kapitel **4.4.3** und **4.4.4** beschrieben.

Tab. 4-3 Vergleich der Relativen Responsefaktoren einzelner Organochlorpestizide im ECD und MSD (EI- und NCI-SIM-Massen) mit TCN als Internen Standard

						MSD-NCI	
		ECD	MSD EI			SIM [a]	Scan [b]
Organohalogen	**Gehalt**	**RRF**	**m/z**	**RRF**	**m/z**	**RRF**	**RRF**
	[pg]	(IS TCN)		(IS TCN)		TCN-266 [c]	TCN-35 [d]
PCBz	353.0	0.836	250	0.700	35	0.73	0.697
A 33	307.6	1.583	348	0.300	79	30.74	15.356
HCB	377.2	1.686	284	0.846	35	0.70	0.796
PCA	291.9	1.977	280	0.375	35	8.15	5.959
TCDMB	331.0	2.110	276	0.330	35	4.24	3.277
α-HCH	385.4	1.064	181	0.344	35	5.41	3.750
β-HCH	389.4	0.691	181	0.263	35	3.00	2.687
IS ε-HCH	359.3	0.703	181	0.365	35	3.23	2.452
γ-HCH	378.1	1.146	181	0.308	35	6.72	4.966
Heptachlor	379.1	1.146	272	0.291	35	14.65	8.985
Aldrin	380.2	0.995	263	0.202	35	14.37	9.163
OCS	340.0	1.799	380	0.255	35	12.55	8.049
oxy-Chlordan	386.7	1.036	387	0.085	35	10.03	6.404
cis-HCE	379.1	1.151	353	0.312	35	15.05	9.762
trans-Chlordan	390.4	1.221	373	0.434	35	9.02	5.775
cis-Chlordan	378.1	1.254	373	0.386	35	11.48	7.604
trans-Nona	380.9	1.248	409	0.437	35	8.87	5.931
cis-Nona	387.3	1.328	409	0.350	35	4.32	1.239
α-Endosulfan	383.4	1.034	339	0.057	35	8.12	5.083
β-Endosulfan	389.4	0.890	339	0.028	35	3.23	0.764
2,4´-DDE	379.0	0.939	246	0.990	35	8.73	6.713
4,4´-DDE	379.0	1.157	246	0.706	35	12.33	8.188
2,4´-DDD	378.2	0.743	235	1.075	35	6.42	4.475
4,4´-DDD	382.0	0.641	235	0.958	35	4.25	1.126
2,4´-DDT	375.7	0.405	246	0.767	35	6.27	1.566
4,4´-DDT	377.1	0.183	246	0.791	35	3.50	0.730
Endrin	390.2	0.912	263	0.107	35	11.73	1.878
Dieldrin	378.1	1.081	263	0.118	35	13.98	9.057
ES-Sulfat	384.2	0.758	272	0.128	35	0.32	-
Mirex	381.7	0.830	272	0.595	35	5.43	1.620
TCPM10	442.6	0.240	311	0.672	35	0.34	-

a) Massenspur im SIM aufgenommen

b) Massenspur aus Fullscan extrahiert

c) Relative Responsefaktoren bezogen auf den Response des Molekülions (m/z 266) des TCN

d) Relative Responsefaktoren bezogen auf den Response des Chlorfragments (m/z 35) des TCN

Tab. 4-4 Vergleich der Relativen Responsefaktoren einzelner PCB-Kongenere im ECD und MSD (EI- und NCI-SIM-Massen) mit TCN als Internen Standard

PCB Nr.:	Konz. [pg]	ECD RRF (IS TCN)	m/z	MSD-EI RRF TCN-266 [a)]	MSD-NCI RRF TCN-35 [b)]
1	222	0.035	188	1.393	
8	230	0.225	222	1.098	
18	221	0.233	256	0.576	
28	222	0.901	256	1.805	
29	220	0.493	256	0.869	0.001
31	188	0.000	256	2.127	0.001
44	220	0.484	292	0.543	
49	189	0.443	292	0.741	
50	222	0.380	292	0.579	
52	221	0.305	292	0.602	0.001
66	220	0.960	292	0.892	
77	225	0.400	292	0.886	
87	222	0.499	326	0.536	
95	188	0.000	326	0.624	
99	189	0.563	326	0.735	
101	218	0.467	326	0.609	0.046
IS 103	177	0.523	326	0.774	
104	222	0.316	326	0.721	
105	219	0.910	326	0.801	
110	189	0.709	326	0.909	
118	221	0.697	326	0.816	0.390
126	222	0.768	326	0.000	
128	221	0.918	360	0.457	
138	217	0.773	360	0.511	0.288
149	188	0.527	360	0.590	0.051
151	189	0.619	360	0.558	
153	219	0.638	360	0.577	0.458
154	218	0.735	360	0.528	
156	187	1.212	360	0.784	
169	187	1.080	360	0.817	
170	219	1.069	394	0.405	0.602
180	221	1.097	394	0.445	0.757
183	188	0.922	394	0.506	
187	219	0.823	394	0.439	
188	222	0.534	394	0.529	
194	211	1.236	430	0.424	0.705
195	220	1.228	430	0.347	0.725
201	222	0.808	430	0.463	
206	214	1.171	464	0.324	0.668
209	221	0.930	498	0.365	0.512

Tab. 4-5 Vergleich der Relativen Responsefaktoren einzelner Toxaphen-Kongenere im ECD und MSD- NCI-SIM mit TCN als Internen Standard. Für die Toxaphene wurde als SIM-Masse die Chlorspur gewählt.

Toxaphene:	Gehalt [pg]	ECD RRF (IS TCN)	m/z	NCI RRF TCN-266 [a)]	NCI RRF TCN-35 [b)]
T26	211.4	**1.011**	35	**0.075**	**6.084**
T50	218.0	**0.975**	35	**0.085**	**6.873**
T 62	228.0	**0.322**	35	**0.094**	**7.591**

e) Relative Responsefaktoren bezogen auf den Response des Molekülions (m/z 266) des TCN

f) Relative Responsefaktoren bezogen auf den Response des Chlorfragments (m/z 35) des TCN

Tab. 4-6 Vergleich der Relativen Responsefaktoren einzelner PBDE-Kongenere im ECD und MSD- NCI-SIM mit TCN als Internen Standard. Für die PBDE wurde als SIM-Masse die Bromspur (m/z 79) gewählt.

PBDE Nr.:	Gehalt [pg]	ECD RRF (IS TCN)	m/z	MSD NCI RRF TCN-266 [a)]	MSD NCI RRF TCN-35 [b)]
47	74.0	**0.866**	79	**0.156**	**12.49**
85	3.2	**0.671**	79	**0.164**	**18.15**
99	70.0	**1.093**	79	**0.211**	**16.84**
100	13.6	**1.129**	79	**0.227**	**13.08**
153	7.8	**0.777**	79	**0.164**	**17.71**
154	5.0	**1.069**	79	**0.222**	**13.09**

a) Relative Responsefaktoren bezogen auf den Response des Molekülions (m/z 266) des TCN

b) Relative Responsefaktoren bezogen auf den Response des Chlorfragments (m/z 35) des TCN

4.3 Probenaufarbeitung (PA)

4.3.1 Allgemeines zur PA und Blindwertkontrolle

Die Probenaufarbeitung in der organischen Spurenanalyse ist von zentraler Bedeutung, da sich geringe Fehler auf die gesamte Analyse auswirken können. Es ist deshalb notwendig, den Blindwerteintrag durch die verwendeten Geräte und Chemikalien zu minimieren und für eine optimale Wiederfindung der Analyten zu sorgen. Eine der Hauptquellen für eine Kontamination der Proben bei der Aufarbeitung stellen die verwendeten Lösemittel da, welche während der Aufarbeitung mehrmals einrotiert werden und es so zu einer Aufkonzentration von Störsubstanzen kommen kann. Es werden nur Lösemittel mit der Gütebezeichnung „zur organischen Rückstandsanalyse“ verwendet, deren Reinheit laufend anhand von einrotierten Stichproben gaschromatographisch überprüft wird.

Seit dem Brand im Chemietrakt der Universität Ulm im Winter 1999, ist die Belastung der Laborluft mit PCBs und anderen Organohalogenen sehr stark angestiegen. Deshalb muss unbedingt darauf geachtet werden, dass die Probe während der Aufarbeitung so wenig wie möglich in Kontakt mit der ungereinigten Umgebungsluft tritt, weswegen hauptsächlich unter der Reinbank gearbeit wird. Eine häufige Kontrolle der Blindwerte der einzelnen Aufarbeitungsgschritte ist deshalb immer notwendig.

Um eine Kontamination der Lösemittel durch lange Lagerzeiten im Labor zu vermeiden, werden nur kleine Vorratsgefäße (1-2,5 L) verwendet. Das für die Festphasenextraktion (SPE) benötigte Wasser ist bidestiliert und zusätzlich in einer Hexan-Extraktions-Apparatur (flüssig-flüssig-Extraktion) aufgereinigt.

Alle bei der Aufarbeitung verwendeten Glasgefäße und Metallgeräte werden in der Laborspülmaschine vorgereinigt, für mindestens 12 h im Muffelofen bei 350 °C geglüht und danach mit Alufolie abgedeckt aufbewahrt. Unmittelbar vor der Verwendung werden die Geräte mit Aceton und Hexan aus- bzw. abgespült. Das Natriumsulfat und der Quarzsand werden über 24 h bei 600 °C im Muffelofen geglüht. Das Kieselgel und die Glaswolle werden für einige Stunden bei 350 °C geglüht und dann in Schraubdeckelflaschen unter der Reinbank aufbewahrt. Die gesamte Probenaufarbeitung mit Ausnahme der HPLC-Gruppentrennung und des Rotationsverdampfers wird unter der Reinbank aus Glas und Metall durchgeführt. Die Laborluft wird dort über Partikelfilter und Aktivkohlefilter gereinigt und strömt von oben nach unten über die Arbeitsfläche.

Der Rotationsverdampfer wird während der Aufarbeitung mindestens dreimal benutzt und kann eine Probe leicht kontaminieren. Es empfiehlt sich zuerst mit Aceton und anschließend mit dem darauffolgenden Lösemittel der Probe vor jeder Verwendung und nach längerem Stehen zu spülen. Um Verunreinigungen der Probe durch die Wellendichtung (enthält Phthalate) des Rotationsverdampfers zu vermeiden, wird diese Gummidichtung regelmäßig ausgebaut und mit Aceton und Hexan abgespült. Zur Kontrolle wurden in regelmäßigen Abständen Blindwertaufarbeitungen, d. h. Aufarbeitungen ohne Fischprobe, durchgeführt.

Der Blindwert der PCB-Indikatorkongenere liegt im Bereich von 0,05 – 0,5 ng (vgl Looser: 0,1 – 0,8 ng [Looser 1999]) Absolutmenge, die im Verlauf einer Probenaufarbeitung eingetragen wird.

4.3.2 Homogenisierung und Extraktion (Lipidbestimmung)

Ein Großteil der untersuchten Fischproben wurde während des Fieldtrips auf Adak Island, Aleuten, USA, mit der Long-Line gefangen. Mit gereinigtem Skalpell, Filetiermesser und Sezierbesteck sind den Fischen (Pazifischer Dorsch und Pazifischer Heilbutt) Filetstücke in Höhe der Rückenflosse und nach vorsichtigem Öffnen der Bauchhöle die Leber bzw. eine Leberprobe entnommen worden. Zur weiteren Aufbewahrung wurden die Proben in Alufolie eingewickelt und dann in verschließbaren Plastiksäckchen bei –18° C aufbewahrt und nach Deutschland gebracht. Die geschlossenen Miesmuscheln wurden direkt nach der Probenahme in einem Beutel aus Alufolie eingefroren und transportiert. Die Sandflunder aus der San Fransico Bay wurde frisch als ganzes in gekühltem Zustand in Plastikfolie eingepackt, nach Ulm gebracht und dort eingefroren, zur Analyse wieder aufgetaut, seziert und die Leber entnommen.

Bei der Analyse der Fischfilets wurden diese unter der Reinbank aufgetaut, von Haut und Schuppen befreit und 20 – 40 g Probe (Nassgewicht) entnommen. Von den Fischlebern sind ca. 2 – 5 g (Nassgewicht) zur Analyse verwendet worden. Die Miesmuscheln wurden aufgetaut, mit einem Schraubenzieher und Messer geöffnet und das gesamte Muschelfleisch (ca. 40 g) mit einem Spatel herausgekratzt.

Im Achat-Mörser werden die Gewebeproben mit Quarzsand und wasserfreiem Natriumsulfat verrieben, bis ein *trockenes* und homogenes Pulver entsteht. Die Menge an zugegebenem Quarzsand und Natriumsulfat richtet sich nach der Menge und dem Wassergehalt der Probe. Bei Filetproben waren meist 30 – 40 g Sand und 40 – 60 g Natriumsulfat nötig, für die Leberproben musste weniger eingesetzt werden. Eine vollständige Zerreibung der Probe ist nicht notwendig, da das zur Extraktion verwendete Acetonitril (ACN) Proteine denaturiert und die Zellmembranen zerstört. Die wenig bis leicht polaren Analyten werden nach dem Prinzip der Flüssig-Flüssig-Verteilung aus der sehr unpolaren Lipidphase der Probe in die leicht polare *wasserfreie* Acetonitril-Phase extrahiert [Chang 1993]. Dabei werden nur ca. 50 – 80 % der Gesamtlipidmenge der Probe mitextrahiert. Damit die Verteilung der Analyten quantitativ abläuft ist es zwingend notwendig, das Homogenat komplett trocken zu bekommen, da ein Gemisch aus Wasser und Acetonitril zu polar wäre und das Verteilungsgleichgewicht sich zu Ungunsten der ACN-Phase verschieben würde.

Zur Extraktion wird das Homogenat in eine Extraktionssäule aus Glas gefüllt und 100 mL (bei Proben mit viel Natriumsulfat: bis zu 150 mL) Acetonitril (ACN) werden aufgegeben. Die Extraktionssäule wird mit einem Glasstopfen nach oben verschlossen und das Packungsbett wird einige Minuten lang aufgeschüttelt. Nach Sedimentation und ca. 2 h Wartezeit wird das Lösemittel mit einer Tropfgeschwindigkeit von 1 Tropfen/s in einen 250-mL-Rundkolben eluiert und schließlich erfolgt noch eine Nachelution mit 30 mL Lösemittel. In den Kolben werden noch bekannte Mengen der Wiederfindungsstandards (WF) PCB 103 und ε-HCH zugesetzt.

Für die Bestimmung der Gesamtlipidmenge wird das Homogenat noch einmal mit 150 mL Aceton nachextrahiert. Auf diese Weise wird die Restlipidmenge vollständig eluiert. Beide Extrakte werden mit dem Rotationsverdampfer (40° C Wasserbad) zur Trockene und

Gewichtskonstanz eingeengt, die jeweiligen Lipidmengen gravimetrisch bestimmt und zusammenaddiert. Alle Einwaagen der untersuchten Proben und die Lipidanteile sind in **Tab. 4-7** zusammengefasst.

Tab. 4-7 Übersicht der extrahierten Lipidmengen und Anteile in den untersuchten Proben und Standardproben (Lachs Filet, käuflich erworben bei Feinkost Böhm, Ulm)

Probe (Nr.)	**Extr. Methode**	**Nassgewicht [g]**	**ACN - Lipid [g]**	**ACN - Lipid [%]**	**Aceton - Lipid [g]**	**Aceton - Lipid [%]**	**Σ Lipid [g]**	**Σ Lipid [%]**
Lachs Filet 1 (LF) [a]	A - A[b]	12,26	0,405	**25**	1,241	**75**	1,645	**13**
LF 2	A - A	12,11	0,332	**27**	0,892	**73**	1,223	**10**
LF 3	A[c]	12,10	-	**0**	1,592	**100**	1,592	**13**
LF 4	A	10,90	-	**0**	1,785	**100**	1,785	**16**
Schafshirn	A - A	22,51	0,419	**84**	0,081	**16**	0,500	**2**
PH [d] Filet (#2) *Golf v. Alaska*	A - A	30,18	0,267	**52**	0,247	**48**	0,515	**2**
PH Filet (#3) *Golf v. Alaska*	A - A	26,00	0,529	**91**	0,055	**9**	0,584	**2**
PH Filet (#4) *Lucky Point A*	A - A	39,57	0,450	**69**	0,200	**31**	0,650	**2**
PH Filet (#5) *Kuluk Bay*	A - A	24,81	0,586	**89**	0,071	**11**	0,657	**3**
PH Filet (#6) *Amchitka*	A - A	33,07	0,400	**74**	0,143	**26**	0,543	**2**
PH Filet (#7) *Attu*	A - A	42,81	0,335	**66**	0,172	**34**	0,507	**1**
Sandflunder Leber *San Francisco (#1)*	A - A	5,07	1,067	**65**	0,583	**35**	1,649	**33**
PH Leber (#8) *Lucky Point B*	A - A	3,41	0,647	**52**	0,600	**48**	1,247	**37**
PD [e] Leber (#9) *Kuluk Bay*	A - A	2,42	0,200	**51**	0,193	**49**	0,392	**16**
PD Leber (#10) *Zeto Point*	A - A	3,48	0,334	**78**	0,093	**22**	0,427	**12**
PD Leber (#11) *Sweeper Cove*	A - A	3,06	0,134	**38**	0,220	**62**	0,353	**12**
BM [f] (#12) *Sweeper Cove*	A - A	40,00	0,432	**78**	0,119	**22**	0,551	**1**

[a] LF : Lachs Filet ; [b] A – A : Acetonitril und Aceton Extraktion ; [c] A : Aceton Extraktion

[d] PH : Pazifischer Heilbutt ; [e] PD : Pazifischer Dorsch ; [f] BM : Miesmuscheln (Blue Mussel)

Zur Überprüfung der Vollständigkeit der Extraktion der Probe mit ACN wurden die Aceton-Extrakte von zwei Dorschleberproben zusätzlich analysiert. Die enthaltenen Restgehalte von Analyten lagen nur wenig über dem Blindwert der Gesamtaufarbeitung, was durchaus akzeptabel ist.

Die Gesamtlipidmenge einer Probe ist wichtig, weil die Angabe der genauen Gehalte der Analyten in einer Probe sich auf die extrahierte Lipidmenge bezieht. Anhand der Lipidbestimmung von vier homogenen Lachsfilet-Proben, von denen zwei zuerst mit Acetonitril/Aceton extrahiert und die anderen zwei nur mit Aceton behandelt wurden, ist zu sehen, dass beide Extraktionstechniken zu ungefähr dem gleichen Gesamtlipidanteil der Lachsprobe kommen (siehe **Tab. 4-7**).

4.3.3 Matrixabtrennung durch Festphasenextraktion (SPE)

4.3.3.1 Grundlagen der SPE

Unter Festphasenextraktion (***S**olid **P**hase **E**xtraktion*) versteht man allgemein eine selektive Extraktion (bzw. Verteilung) von Stoffen aus einem flüssigen Substanz- bzw. Matrixgemisch (flüssige Phase) in eine feste Phase und anschließender Elution der Analyten, was gleichbedeutend mit einer Anreicherung und Matrixabtrennung ist. In **Abb. 4-6** ist der schematische Ablauf einer Festphasenextraktion dargestellt. Die Festphasenextraktion ist mittlerweile eine bedeutende Methode der Anreicherung von Spurenstoffen aus wässrigen Matrices (Nutz- und Abwässer, Urin, Blutserum etc.)

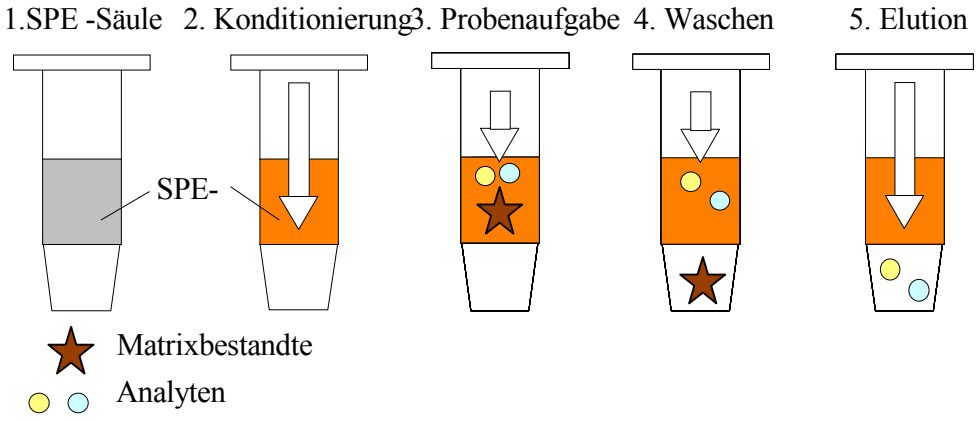


Abb. 4-6 Schmatischer Ablauf der Festphasenextraktion

Oftmals ist ohne einen selektiven Anreicherungsschritt gar keine Spurenanalyse möglich, da die Störkomponenten die Signale in der für gewöhnlich sich anschließenden Chromatographie (GC bzw. LC) überlagern oder die Analytsignale unterhalb der Nachweisgrenze liegen. Hier liefert die Festphasenextraktion sehr gute Ergebnisse

Im Gegensatz zur HPLC, die mit fest gepackten Säulen arbeitet, werden in der SPE kleine, locker und mit wenig Material (200 – 500 mg) gefüllte Kartuschen verwendet, wo die Probenlösung mit leichtem Vakuum oder Überdruck durchläuft. Die Sorbentien sind auch als loses Material erhältlich und können selber in Glaskartuschen mit Fritte gepackt werden.

Es gibt eine ganze Anzahl verschiedener SPE-Materialien mit unterschiedlichen Eigenschaften und Selektivitäten bezüglich der Analyten. Die meisten Festphasen basieren

auf mit verschiedenen Umkehrphasen wie n-C8- , n-C18-, Cyanopropyl- oder Phenylgruppen modifiziertem Kieselgel.

In letzter Zeit fanden speziell entwickelte Sorbentien auf Polymerbasis, wie das Polystyrol-Divinylbenzol-Copolymer LiChrolut EN (Fa. Merck, Darmstadt), vermehrt Anwendung. Diese speziellen Sorbentien zeichnen sich durch eine hohe Affinität und Kapazität für bestimmte Substanzklassen wie Organochlorpestizide, PAHs, PCBs oder auch Kohlenwasserstoffe aus.

4.3.3.2 Anwendung der SPE bei der Probenaufarbeitung

Für die Festphasenextraktion werden speziell dafür hergestellte SPE-Extraktionskolben verwendet [Arend 1997] (siehe **Abb. 4-7**). Dabei handelt es sich um eine Hülse aus Glas (1,0 cm Innendurchmesser), welche mit einer Glasfritte von 10 µm Porengröße als Packungsboden versehen ist. Als Vorratsgefäß dient ein 250 mL Rundhalskolben mit NS 29/32 Schliff. Über einen NS 14,5/23-Schliff wird der SPE-Kolben an einen Vakuumvorstoß gekoppelt. Als Vorratsgefäß zum Auffangen der Probenlösung und Eluate dient ein 250 mL bzw. 50 mL Rundhalskolben mit NS 14,5/23-Schliff. Zum Durchsaugen der Lösungen wird die Apparatur an ein Wasserstrahlpumpensystem mit Druckregelung angeschlossen.

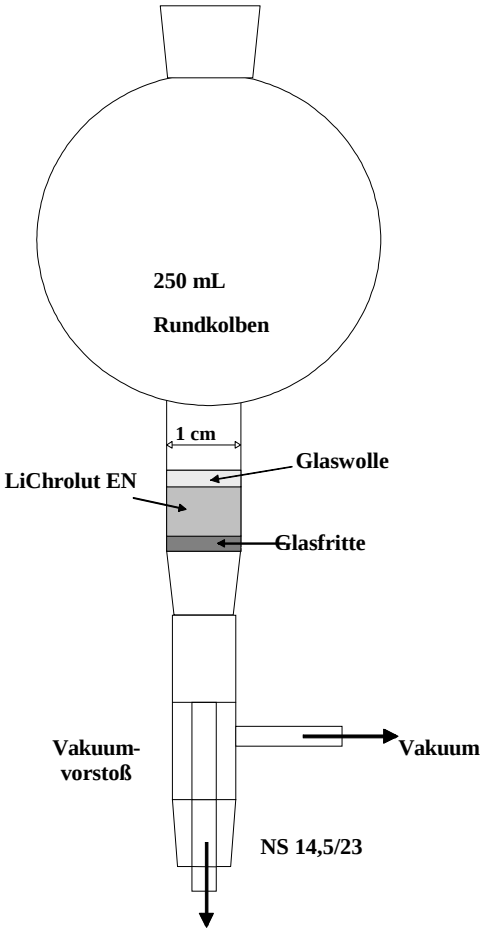


Abb. 4-7 Festphasenextraktionskolben (SPE-Kolben)

Mit Hilfe eines langen Glastrichters werden ca. 350 mg LiChrolut EN in den SPE-Kolben auf die Fritte eingefüllt und mit etwas geglühter Glaswolle wird das SPE-Material abschließend durch Andrücken mit einem Glasstab fixiert.

Vor dem Extraktionsschritt muss die SPE-Phase gereinigt und konditioniert werden. Dazu wird zuerst mit jeweils 10 mL Aceton und n-Hexan gespült und anschließend werden nochmal je 10 mL Methanol und hexangereinigtes Wasser langsam durchgesogen (600 mbar). Durch diesen Solvatisierungsschritt mit dem dreifachen Säulenvolumen (ca. 10ml) werden die an das Trägermaterial gebundenen Molekülgruppen aufgerichtet und somit die Oberfläche des Phasenmaterials vergrößert.

Bei dem letzen Schritt zwischen Methanol und Wasser, der Konditionierung, muss darauf geachtet werden, dass die Phase nicht trocken läuft, da sonst deren Oberfläche nicht mehr vollständig solvatisiert ist und die Extraktion weniger effizient abläuft. Der letzte Konditionierungsschritt mit dem Wasser dient als Umstellung der Festphase auf die wässrige Probenmatrix.

Die aus dem Acetonitril-Extrakt stammende Lipidprobe wird in 3 – 5 mL ACN aufgeschlämmt und mit 50 mL konzentrierter Ameisensäure versetzt, welche einen Großteil der Lipide und anderer Matrixreste hydrolisiert und damit besser wasserlöslich machen soll. Bei einigen Dorschleber-Proben kam es dabei zu einer intensiven Blaufärbung der Lösung, was vermutlich auf eine pH-Wert-Abhängigkeit einiger mitextrahierter Naturstoffe zurückzuführen ist.

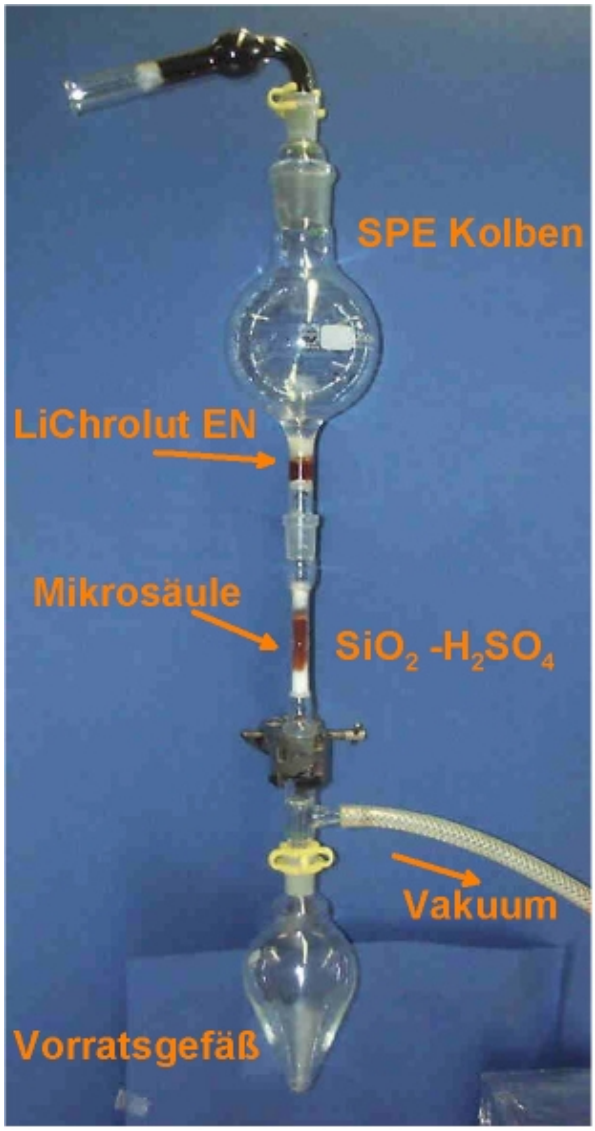
Die eingesetzte Menge an Lipid, welche damit gut bearbeitbar ist, sollte 200 – 300 mg nicht überschreiten. Größere Lipidmengen werden nicht vollständig hydrolisiert und gelangen in das Eluat am Schluss. Der Anteil an ACN in der Probenlösung darf nicht zu groß (<10 mL) sein, da sonst keine quantitative Abtrennung der Analyten stattfindet [Arend 1997]. Nach einigem Schütteln und einer Einwirk- bzw. Reaktionsdauer von ca. 1 h werden der Lösung 50 mL hexangereinigtes Wasser zugegeben. Ein Teil der nicht umgesetzten Lipide fällt dabei wieder aus und es bildet sich in den meisten Fällen eine gelblich-weiße Emulsion. Die auf diese Weise vorbereitete Probe wird langsam auf die konditionierte SPE-Phase in dem SPE-Kolben aufgegeben und unter einem leichten Vakuum (ca. 500 mbar), bei einer Tropfgeschwindigkeit von 1 - 2 Tropfen/s (5 - 10 mL/min), extrahiert. Dabei sollen die meisten Matrixbestandteile zusammen mit der wässrigen Phase durch die SPE-Phase durchlaufen, während die Analyten extrahiert werden. Der Probenkolben wird noch einmal mit 3 mL ACN und 5 mL Ameisensäure nachgespült. Am Schluss wird noch mit ca. 30 mL Wasser gewaschen, um an der Phase adsorbierte Matrixbestandteile abzutrennen. Dem Extraktions- und Waschschritt schließt sich der Trockenschritt an. Durch Anlegen eines starken Wasserstrahlvakuums (ca. 250 mbar) wird Luft durch die Apparatur gesogen und die Phase getrocknet, bis sie wieder ihre ursprüngliche Orange-Färbung hat und keine Wassertropfen mehr in der Apparatur zu sehen sind (ca. 1 h). Sind noch Reste an Säure adsorbiert, ist dies durch eine Braunfärbung erkennbar.

Um bei dem Trocknungsprozess und während der gesamten Extraktion eine Kontamination mit partikelgebundenen- und gasförmigen Substanzen zu vermeiden, ist die gesamte Apparatur unter der Reinbank aufgebaut und der SPE-Kolben durch ein mit

Aktivkohle gefülltes Trockenrohr verschlossen. Anhand von Blindwertversuchen konnte eine Kontamination ausgeschlossen werden.

Nach Trocknung der SPE-Säule im Vakuum (Schutzgasstrom (N_2) auch möglich, aber nicht notwendig) werden die Analyten mit einem passenden Lösemittel von der Phase eluiert.

Um einen weiteren Clean-up zu erreichen, wird am unteren Ende des SPE-Kolbens zur Elution eine Kieselgel-Schwefelsäure-Mikrosäule angekoppelt. Dies ist ebenfalls eine 10 cm lange Glaskartusche mit NS 14,5/23-Schliff und einer Glasfritte (50µm Porengröße). Befüllt wird sie mit 1 g geglühtem Kieselgel (SiO_2), überschichtet mit 1,2 g Schwefelsäure-Kieselgel, (imprägniert mit konzentrierter Schwefelsäure (SiO_2-H_2SO_4-40% Säureanteil) [Buchert 1982]) und etwas Na_2SO_4 als Abschluss. Vor der Elution wird die Mikrosäule noch mit 5 mL Dichlormethan gespült. Bei dem Elutionsschritt werden mit Hilfe einer Pasteurpipette 10 mL Dichlormethan aufgegeben und dabei die Gefäßwände des Kolbens und der Glaskartusche abgespült. Die Elution erfolgt im leichten Vakuum (850 mbar) bei einer Tropfgeschwindigkeit von 2 Tropfen/s.



In **Abb. 4-8** ist ein Bild der gesamten SPE-Glasapparatur während einer Elution mit Mikrosäule abgebildet. Deutlich sichtbar ist die durch miteluierte Matrixreste entstandene orange-braun-Färbung an dem H_2SO_4-Kieselgel der Mikrosäule. Hierbei werden störende Lipidreste oxidiert oder hydrolisiert und adsorbieren an dem reinen Kieselgel. Ein Nachteil besteht jedoch in der Zerstörung leicht oxidierbarer Xenobiotika, wie z. B. Dieldrin und Endrin.

Abb. 4-8 *Aufbau der SPE-Apparatur mit Mikrosäule*

Dem sehr sauberen und farblosen Eluat werden 200 µL Isooktan als Keeper zugegeben und es wird für die nachfolgende HPLC-Gruppentrennung auf ca. 200 µL eingeengt.

Bei Wiederfindungsversuchen mit 100 mL reinem Acetonitril und PCB 103 und ε-HCH als WF-Standards lagen die WF-Raten nach Einengung des ACNs auf ca. 5 mL und anschließender Festphasenextraktion zwischen 90 – 100 %. Allerdings traten hier keine Matrixeffekte auf, welche bei Realproben zu teilweise schlechteren Wiederfindungsraten

(65 - 95 %) führten (siehe dazu Kapitel 4.3.5). Durch eine zu hohe Lipidmenge in der Lösung kann es zu einer unvollständigen Extraktion der Analyten an der SPE-Phase kommen, da diese mit einer dünnen Lipidschicht überzogen wird und nicht mehr in direktem Kontakt mit den Analyten in der Probelösung steht. Zweitens können sich die Analytmoleküle vorwiegend in den Fetttröpfchen der Lösung aufhalten und es kommt zu keiner Verteilung aus dieser Lipid-Phase in die Feste-Phase. Bei dem Extraktionsschritt wird in diesem Fall ein Teil der Moleküle zusammen mit der Matrix durchgesogen. Es würde somit ein systematischer Fehler unbekannter Grösse entstehen. Um diese Verluste der Analyten zu vermeiden, muss in so einem Fall der Extrakt der Festphasenextraktion noch einmal extrahiert und anschließend mit den beiden vereinigten Eluaten der SPE weitergearbeitet werden.

4.3.4 Normal Phasen HPLC-Gruppentrennung von Organochlorverbindungen

4.3.4.1 Bedeutung der Gruppentrennung

Bei der Spurenanalyse von halogenierten organischen Verbindungen in Bioproben, ist eine zusätzliche Auftrennung der Xenobiotika in mehrere Fraktionen ein wesentlicher Arbeitsschritt der Probenaufarbeitung. Aufgrund der hohen Anzahl der zu bestimmenden Verbindungen in einer Realprobe wird durch eine Vortrennung und Selektion der einzelnen Verbindungsklassen die Trennung und der Nachweis mit HRGC deutlich verbessert. Für gewöhnlich schließt sich deshalb an dem Clean-up eine Gruppentrennung durch Adsorptionschromatographie an. Zusätzlich werden hier noch restliche Matrix- bzw. Lipidreste abgetrennt, sodass die GC-Kapillare nicht verschmutzt wird. In herkömmlichen Verfahren wird die Gruppentrennung nach Polarität der Substanzen auf mit desaktiviertem Kieselgel (4 – 5 g) gepackten Schwerkraftsäulen durchgeführt [Ballschmiter 1981, Jansson 1979]. Dabei dient n-Hexan als Elutionsmittel für die unpolareren Verbindungen wie den PCBs und ein n-Hexan-Dichlormethan-Gemisch (v/v , 3:1) als Solvens für die stärker polaren Stoffe (HCHs, Cyclodieninsektizide etc.). Bei der Fraktionierung von Substanzgemischen findet verstärkt die Normal-Phasen HPLC eine breite Anwendung, da sie sich durch eine wesentlich bessere Trennleistung und damit Fraktionierung auszeichnet [Schantz 1993a]. Ebenfalls sind Reproduzierbarkeit und Blindwerteintrag bei der HPLC-Gruppentrennung deutlich besser im Vergleich zu Schwerkraftsäulen. Diese wiederum zeigen deutlich bessere Ergebnisse bei der Matrixabtrennung auf und werden nach Gebrauch verworfen, sodass eine Verschmutzung der Säule nicht so lange Spülvorgänge benötigt wie im Falle von HPLC-Säulen.
Die Wahl der stationären Phase richtet sich nach der Art der Proben und den zu untersuchenden Analyten. Im Falle von PCBs und halogenierten Pestiziden (DDX-Gruppe, Lindan, Cyclodien-Insektizide) in tierischen Bioproben (z. B. Fischgewebe, Lebertran) sind modifizierte Kieselgele mögliche stationäre Phasenmaterialien. Als aktive Zentren werden z. B. Aminopropyl- oder Cyanopropylgruppen eingebracht, welche ein gutes und ähnliches Trennverhalten bezüglich dieser Substanzklassen aufzeigen und in der Probenaufarbeitung bereits Anwendung finden [Deisenhofer 2000, Froescheis 1997, Grimvall 1994, Looser 1999, Woessner 1999].

4.3.4.2 Eindimensionale HPLC-Backflush-Technik

Nachdem bei der SPE der größte Teil der Matrix abgetrennt wurde, erfolgt nun eine Gruppentrennung nach Polarität der Analyten mit Normal-Phasen-HPLC (NP-HPLC) unter standardgemäßer Verwendung einer Aminopropyl-Kieselgel Säule (Nucleosil 100-5 NH_2 ; Partikelgröße: 5 µm, 120 mm Länge * 3.0 mm ID) mit der Backflushtechnik [Arend 1997, Grimvall 1994].

Mit dieser Technik ist es möglich, die Säule in beiden Richtungen zu betreiben. In **Abb. 4-9** ist der schematische Aufbau der HPLC Anlage für die Gruppentrennung mit Backflush dargestellt. An dem Injektionsventil mit einer 1 mL-Probenschleife werden die 250 – 300 µL des Probenextraktes nach der Festphasenextraktion injiziert. Die Flussrichtung wird mit dem Ventil 1 geregelt, sodass bei einem Fluss von 1,0 mL/min n-Hexan (für 5 µm Packungsmaterial) die Probe auf die Trennsäule gelangt und die erste Fraktion als N-Mode (LC1) eluiert und in einem Vorratsgefäß aufgefangen werden kann. Für den Backflush-Mode wird mit dem Ventil 1 die Flussrichtung umgekehrt und das Laufmittel wird in entgegengesetzter Richtung durch die Säule gepumpt. Das Eluat wird als B-Mode (LC2,3) bezeichnet.

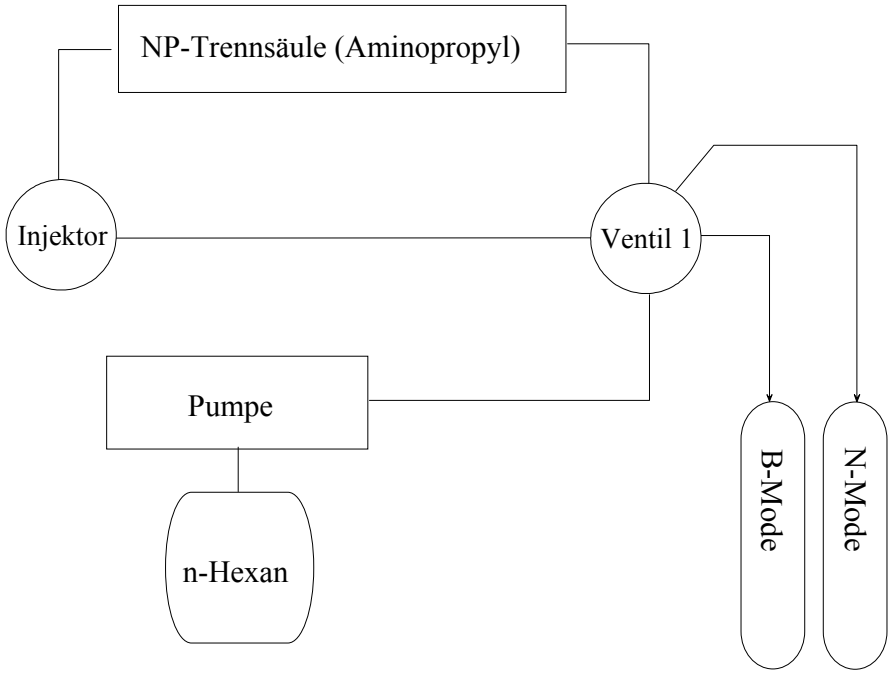


Abb. 4-9 Schematische Darstellung der HPLC-Anlage für die Gruppentrennung auf einer Aminopropyl-Trennsäule mit der **Backflush-Technik**

Wesentliche Vorteile der Backflush-Technik gegenüber einer normalen NP-HPLC-Gruppentrennung sind die geringeren Elutionsvolumina und das Benötigen nur eines Laufmittels, in diesem Fall n-Hexan.

Analyten, welche von der Trennsäule kaum retardiert werden, benötigen wenig Zeit für das Passieren der Säule und eluieren in der ersten Fraktion, dem ***N-Mode***. Bei Molekülen, die eine stärkere Wechselwirkung mit der stationären Phase der Trennsäule aufzeigen, dauert die Elution länger und in manchen Fällen muss deshalb die Laufmittelzusammensetzung verändert werden, um dessen Elutropie zu erhöhen, da sonst die Peakverbreiterung und die Elutionsvolumina zu groß wären (bzw. keine Fraktionierungen mehr möglich ist) oder die Substanzen gar nicht mehr von der Säule kommen würden.

Bei Veränderung der Flussrichtung in der HPLC-Säule bewegen sich diese meist stark polaren Stoffe jedoch wieder in umgekehrter Richtung und benötigen ungefähr die gleiche Zeit für die Wegstrecke in umgekehrter Richtung, die sie während des Normal-Modes in der

Säule zurückgelegt haben. Da die Laufzeit für alle Stoffe, die nicht in der N-Mode Fraktion enthalten sind, gleich ist, eluieren alle Substanzen der Backflush-Fraktion in einem Peak als ***B-Mode*** [Arend 1997].

Für die Detektion der Peaks kann kein UV-Detektor verwendet werden, da die Konzentrationen der untersuchten Organohalogenverbindungen in den Realproben deutlich unterhalb dessen Nachweisstärke liegen. Die Eluate wurden deshalb mit Isooktan als Keeper versetzt, auf 100 µL eingeengt und mit dem GC-ECD analysiert.

Die Fraktionierung erfolgte über Messung der Elutionsvolumina, nicht über die Zeit, da der eingestellte Fluss der HPLC-Anlage dafür zu große Schwankungen aufweisst. Zur Ermittlung der exakten Elutionsvolumina wurden zahlreiche Farktionierungstests mit den PCB- und Pestizid- NIST-Standard-Lösungen (GC-Kalibrierlösungen mit 100 pg/µL) durchgeführt. Dazu sind jeweils 300 µL Standardlösung (Gemisch aus PCB und Pestizid-Standard) in die HPLC injiziert worden. In 0,1 mL Abständen wurden die Fraktionen im Normal Mode aufgefangen (von 1,2 – 4 mL), die B-Mode-Fraktion betrug immer mindestens das doppelte Volumen der zugehörigen N-Mode-Fraktion. Die Fraktionen wurden in 10 mL Spitzbodenkolben mit Volumenangabe aufgefangen, welche zuvor mit Hexan gespült wurden. Restliches Lösemittel in dem Kolbenboden wird wieder mit einer Pasteurpipette abgesaugt, damit die Volumenmessung nicht verfälscht wird.

Zur Bestimmung der Gehalte der einzelnen Verbindungen in der jeweiligen Fraktion wurden die Wiederfindungsraten mittels Gaschromatographie bestimmt. Als Interner Standard diente „Thio-DDT“ (2,2-Bis(2-Thienyl)-1,1,1-Trichlorethan), ein Thiophenanalogon des DDT (siehe **Abb. 4-10**).

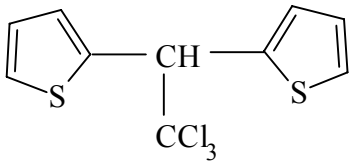


Abb. 4-10 Struktur von 2,2-Bis(2-Thienyl)-1,1,1-Trichlorethan („Thio-DDT) [Arend 1997]

Durch chemische Modifizierung von Kieselgel-Packungsmaterial für die HPLC (5µm) erhält man durch einfache Synthesen NP-Phasenmaterialien, welche auf Grund ihrer chemischen Zusammensetzung die Trennung von Organohalogenverbindungen ermöglichen.

Der Retentionsfaktor k ist ein Maß für die Zeit, die sich eine Verbindung an/in der stationären Phase aufhält, bezogen auf die Aufenthaltszeit in der mobilen Phase. Er gibt sozusagen das Massenverteilungsverhältnis einer Substanz zwischen den beiden Phasen an.

Anhand von den in früheren Arbeiten ermittelten Retentionsfaktoren k einiger Testsubstanzen auf den verschiedenen stationären Phasen [Deisenhofer 2000, Woessner 1999] wurden fünf NP-Phasen ausgewählt, welche für eine Gruppentrennung in Frage kommen könnten. Wichtig war jedoch auch, dass die NP-Phasen keine ECD-Störsignale durch abgespaltene funktionelle Gruppen im GC verursachen, wie dies z. B. bei allen Nitro-Phasen der Fall ist.

k:	*Retentionsfaktor*
t_M*:*	*Totzeit*
$t_{R:}$	*Bruttoretentionszeit*
t_R*':*	*Nettoretentionszeit*

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{t_R'}{t_M}$$

Als Auswahlkriterium gelten die k-Werte stark polarer (z.B. 4,4'-DDT; 2,4'-DDD) und weniger polarer Verbindungen (z.B. 4,4'-DDE und einige gemessene PCB-Kongenere). Große Unterschiede der Retentionsfaktoren zeigen eine hohe Selektivität der Phase gegenüber den einzelnen Verbindungen an, jedoch liegen in solchen Fällen die k-Werte von mittelpolaren Stoffen genau dazwischen und werden dann auf der Säule nicht ausreichend getrennt, wodurch eine Zuteilung in exakte Fraktionen schwierig wird.

Im Idealfall sollten nur sehr hohe oder sehr niedrige Retentionsfaktoren auftreten, somit wäre genügend Zeit bzw. Elutionsvolumen zwischen N- und B-Mode.

Als Standard für die NPLC-Gruppentrennung von Organohalogenverbindungen in Bioproben gilt die Aminopropyl-Silicagel-Phase (Struktur siehe **Abb. 4-11**), welche bisher verwendet wurde [Looser 1999, Schantz 1993a]. Jedoch wird zur Elution der polaren LC 2–Fraktion ein Lösemittelgemisch von Hexan/Dichlormethan (v/v, 50:50) benötigt. Im Falle der Backflush-Technik kann auf den Zusatz eines polaren Lösemittels verzichtet werden, da stark polare Verbindungen als ein Backflush-Peak eluieren, ebenso ergeben sich geringere Elutionsvolumina von 2 – 8 mL n-Hexan pro Fraktion, anstatt 10 – 30 mL bei der normalen HPLC-Gruppentrennung.

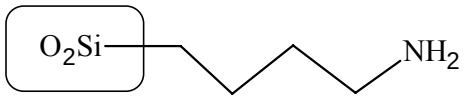


Abb. 4-11 Struktur der Aminopropyl-Silicagel-Phase

Ein der Aminopropyl-Säule ähnliches Retentionsverhalten lässt sich aus den Retentionsfaktoren diverser Organhalogenverbindungen auf folgenden stationären Phasen erwarten:

- β-Cyclodextrin-propylpolysiloxan
- γ-Cyclodextrin- propylpolysiloxan
- 3-(Fufuryl)-propylpolysiloxan
- 3-(4-Pyridyl-methoxy)-propylpolysiloxan
- 3-(18-Krone-6-(2-methoxy)-propylpolysiloxan

Die Strukturen der getesteten stationären Phasen für die einfache Backflushtechnik sind in **Abb. 4-12** bis **Abb. 4-16** dargestellt und wurden von Deisenhofer synthetisiert [Deisenhofer 2000]. In **Tab. 4-8** sind die optimalen Elutionsvolumina der beiden Fraktionen für die jeweiligen stationären Phasen angegeben.

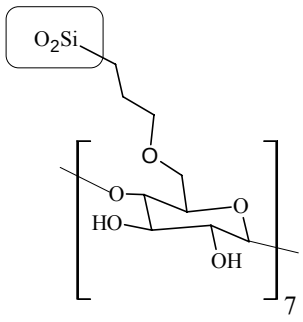


Abb. 4-12 β-Cyclodextrinpropylpolysiloxan

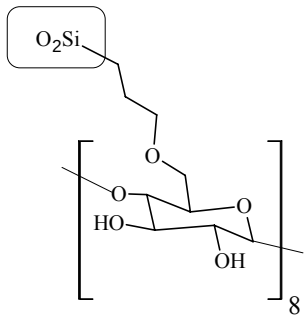


Abb. 4-13 γ-Cyclodextrin-propylpolysiloxan

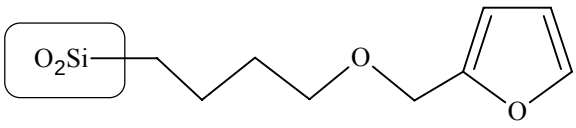


Abb. 4-14 3-(Fufuryl)-propylpolysiloxan

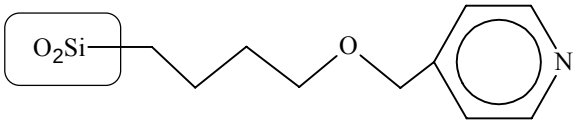


Abb. 4-15 3-(4-Pyridyl-methoxy)-propylpolysiloxan

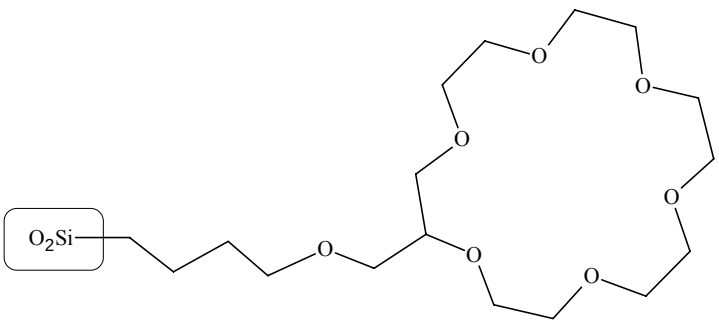


Abb. 4-16 3-(18-Krone-6-(2-methoxy)-propylpolysiloxan

Tab. 4-8 Ermittelte Elutionsvolumina zur Fraktionierung von Organohalogenverbindungen auf den verschiedenen HPLC-Phasen mit der einfachen Backflushtechnik, bei 1,0 mL Fluss und n-Hexan als Laufmittel.

Stationäre Phase	**Volumen N-Mode [mL]**	**Volumen B-Mode [mL]**	**Bemerkungen**
Aminopropyl-SiO_2	2,0	6,0	Sehr gute Fraktionierung (klare Grenze)
β-Cyclodextrin-SiO_2	3,0	6,0	Sehr gute Fraktionierung (klare Grenze)
γ-Cyclodextrin-SiO_2	3,0	6,0	Gute Fraktionierung (kleine Grenze)
Fufuryl-SiO_2	2,8	7,0	Keine exakte Fraktionierung möglich, Überschneidungen!
Piridyl-SiO_2	3,0	7,0	Teilweise Splitting bei Endrin
18-Krone-6-SiO_2	3,0	7,0	Gute Fraktionierung (klare Grenze)

Tab. 4-9 Einteilung der Substanzen bei Gruppentrennung auf den jeweiligen Phasen:

Verbindung	**R-NH_3**	**b-Cycdex.**	**g-Cycdex.**	**Fufuryl**	**Pyridyl**	**Me18-K 6**
PCBz	N	N	N	N	N	N
A 33	N	N	N	N	N	N
HCB	N	N	N	N	N	N
PCA	N	N	N	N	N	N
TCDMB	N	N	N	N	N	N
α-HCH	B	B	B	B	B	B
β-HCH	B	B	B	B	B	B
γ-HCH	B	B	B	B	B	B
Heptachlor	N	N	N	N	N	N
Aldrin	N	N	N	N	N	N
OCS	N	N	N	N	N	N
Oxychlordan	N	N	N	N	N	N
cis HCE	B	B	B	B	B	B
trans-Chlordan	B	B	B	B	B	B
cis-Chlordan	B	B	B	B	B	B
trans-Nonachlor	N	B	B	B	B	B
cis-Nonachlor	B	B	B	B	B	B
(α)Endosulfan I	B	B	N	N	N	B
(β)Endosulfan II	B	B	B	B	B	B
2,4´-DDE	N	N	N	N	N	N
4,4´-DDE	N	N	N	N	N	N
2,4´-DDD	B	B	B	B	B	B
4,4´-DDD	B	B	B	B	B	B
2,4´-DDT	N	N	B	B [a)]	B	B
4,4´-DDT	B	B	B	B	B	B
Dieldrin	B	B	B	B	B	B
Endrin	B	N	B	N	B [a)]	B
Endosulfan-Sulfat	B	B	B	B	B	B
Mirex	N	N	N	N	N	N
TCPM10	B	B	B	B	B	B
PCB 103	N	N	N	N	N	N
ε-HCH	B	B	B	B	B	B
TCN	N	N	N	N	N	N
PCB gesamt (28 PCB)	N	N	N	N	N	N

[a)] Zu fast 70 % in der Backflush-Fraktion

N: N-Mode B: B-Mode

Die für die einzelnen Testsubstanzen gefundene Fraktionierungseinteilung bei der einfachen HPLC-Backflsuh-Technik ist in **Tab. 4-9** für alle Phasenmaterialien angegeben. Dabei sieht man, ob sich eine Substanz in der ersten, unpolareren N-Mode-Fraktion, oder in der polareren B-Mode-Fraktion befindet. Die idealen Elutionsvolumina für die einzelnen Phasen stehen in **Tab. 4-8**.

Für eine Gruppentrennung mit n-Hexan als Laufmittel bei einem Fluss von 1 mL/min sind außer der Aminopropyl-Phase besonders die β- Cyclodextrin und die Kronenetherphase sehr gut geeignet. Die Elutionsvolumina für den N-Mode liegen bei der Aminopropyl –Phase bei 2,8 ml und 3,0 mL für die restlichen Phasen. Für den Backflush haben Elutionsvolumina von 6 – 7 mL ausgereicht, um alle Substanzen quantitativ zu eluiern. γ-Cyclodextrin zeigt auch eine annehmbare Trennleistung, während auf der Fufuryl- und Pyridyl-Phase die Elutionsreihenfolge der Testsubstanzen sehr eng zusammenliegt, sodass eine robuste klare Fraktionierung nicht eindeutig möglich ist und es zu Auftrennung von Substanzen zwischen den beiden Fraktionen (N- und B-Mode) kommt. Besonders 2,4'-DDT und Endrin lassen sich nicht reproduzierbar in die eine oder andere Fraktion einteilen.

Das allgemeine Elutionsverhalten ist jedoch für alle sechs getesteten Säulen ähnlich. Die PCBs eluieren auf allen Säulen in der N-Mode Fraktion, trans Nonachlor eluiert nur auf der Aminopropyl-Phase im N-Mode, auf allen anderen im Backflush. 2,4'-DDT fraktioniert auf der Aminopropyl- und der β- Cyclodextrin-Phase in der unpolaren ersten Fraktion (N-Mode), auf den restlichen HPLC-Phasen-Materialien im Backflush.

Eventuell würde die Verwendung von Säulen mit grösserem Packungsvolumen eine bessere Auftrennung ermöglichen und auch grössere Injektionsvolumina (> 300µL) zulassen. Basierend auf diesen Ergebnissen wurde nachfolgend für die Gruppentrennung mit mehrdimensionaler HPLC (NPLC-NPLC-Kopplung) die Aminopropyl-Phase als erste Trennsäule ausgewählt.

Bei Verwendung der HPLC-Phasen für Realproben muss die Säule ausreichend mit Dichlormethan oder Isopropanol gespült und anschließend wieder mit n-Hexan (30 mL) konditioniert werden. Nach Injektion von 300 µL Isooktan als Blindprobe und Einrotieren der Fraktionen werden diese mit GC/ECD überprüft. Um den Eintrag von Störsubstanzen aus der unmittelbaren Umgebung der Apparatur zu vermeiden, werden die Fraktionierungskölbchen mit Aluminium-Folie abgedeckt.

4.3.4.3 Zweidimensionale HPLC: NPLC/NPLC Kopplung

Eine Fraktionierung der PCB-Kongenere über eine zweidimensionale RP-HPLC Kopplung (C-18 und Phenylphase) wurde schon von Kurz berichtet [Kurz 1991]. Durch Kopplung zweier verschiedener NP-HPLC-Phasenmaterialien kann eine deutlich selektivere Fraktionierung der Organohalogenverbindungen erreicht werden. Dabei werden ähnlich wie bei der einfachen Backflush-Technik (vgl. Kapitel 4.3.4.2) auf einer ersten Trennsäule die unpolareren Analyten (Normal-Mode Fraktion) vorgetrennt. Die ursprüngliche N-Mode-Fraktion gelangt dann auf eine zweite Trennsäule (Selektionssäule) und es erfolgt eine erneute NP-Auftrennung nach spezifischen und strukturellen Eigenschaften (z. B. Planarität der Moleküle) in zwei Fraktionen (N1 und N2-Mode). In dieser Zeit wird die erste Trennsäule vom Laufmittelfluss ausgekoppelt und die verbliebenen Analyten werden auf der Säule „geparkt“. Nachdem beide N-Mode-Fraktionen eluiert sind, wird der Fluss wieder umgedreht und im Backflushmode eluieren wieder die polareren Analyten.

In **Abb. 4-17** ist der schematische Aufbau der HPLC-Anlage für die NPLC-NPLC-Kopplung mit Backflush dargestellt. Es werden 300 µL in dem Injektionsventil injiziert. Im N-Mode sind Ventil 1 und 2 so geschaltet, dass das Laufmittel mit 0,5 mL/min durch den Injektor auf die Trennsäule 1 gelangt und wieder über Ventil 1 auf die Trennsäule 2. Die unpolaren Analyten eluieren von der Trennsäule 1 und werden auf der Trennsäule 2 wieder retardiert. In diesem Moment wird die Flussrichtung an Ventil 2 geändert, sodass die Trennsäule 1 ausgeblendet wird und das Laufmittel nur noch über die Trennsäule 2 eluiert. Dabei wird der Retentionszustand der polareren Moleküle auf der Trennsäule 1 beibehalten, ohne dass eine Bandenverbreiterung eintritt. Nun erfolgt eine neue chromatographische Trennung der N-Mode-Fraktion auf der stationären Phase der Trennsäule 2 in zwei neue Fraktionen, der N 1- und der N 2-Fraktion.

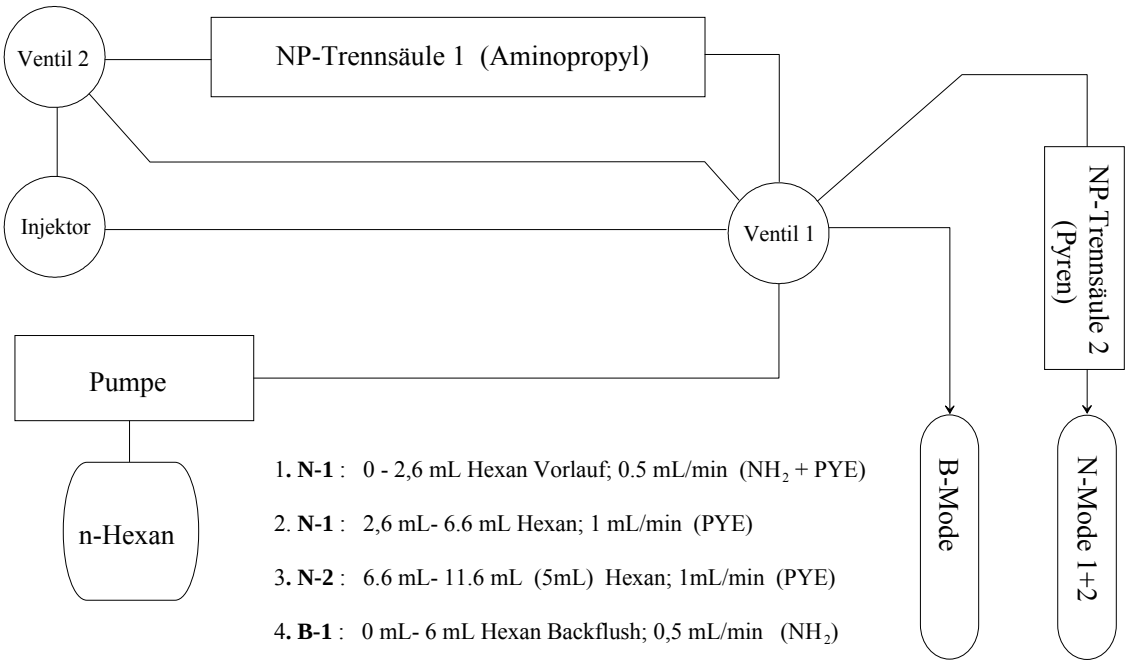


Abb. 4-17 Schematische Darstellung für die Kopplung zweier NP-Trennsäulen (Aminopropyl- und Pyren) mit Backflush-Technik und der Elutionsvolumina

Hierfür wird auch der Laufmittelfluss auf 1 mL/min erhöht, da nun nur noch eine Säule den Gegendruck liefert. Nachdem das Volumen der N 1-Fraktion erreicht ist, wird die Vorlage gewechselt und das Elutionsvolumen für die N 2-Fraktion aufgefangen.

Nachdem alle Analyten von der Trennsäule 2 eluiert sind, wird der Laufmittelfluss an Ventil 1 umgestellt, sodass die Trennsäule 1 im Backflush-Mode betrieben wird (Dazu muss auch Ventil 2 wieder auf die urspüngliche Position eingestellt werden) und die verbliebenen polaren Analyten im B-Mode eluieren und in der B-Fraktion aufgefangen werden können.

Für die Vortrennung wird hier eine Aminopropylsilica-Phase als Trennsäule 1 verwendet. Eine sinnvolle Kopplung benötigt deshalb eine Selektionssäule (Trennsäule 2) mit k-Werten für die Analyten, die sich von denen auf der Aminopropyl-Säule deutlich unterscheiden.

Aus bisherigen HPLC-Messung mit Organohalogen-Testsubstanzen (4,4'-DDT; 2,4'-DDD und ein paar PCB-Kongenere) von Deisenhofer und Wössner [Deisenhofer 2000, Woessner 1999] wurden drei Phasen herausgefunden, die solche Eigenschaften aufweisen und in Frage kommen und bzgl. ihres Elutionsverhaltens untersucht wurden:

- Pyren-Phase (von Waters®)
- Bis(4-aminopropylsilica-phenyl)-methan
- 1-Naphthylaminopropyl-silica

In den **Abb. 4-18** bis **Abb. 4-20** sind die Strukturen der drei Phasenmaterialien abgebildet.

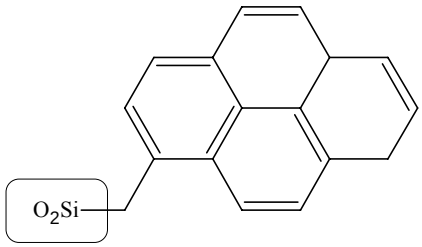


Abb. 4-18 Angenommene Struktur der *Pyren*-Phase von Waters®: (PYE) (Struktur nicht ganz bekannt) auf Silica-Substrat [Kurz 1994b]

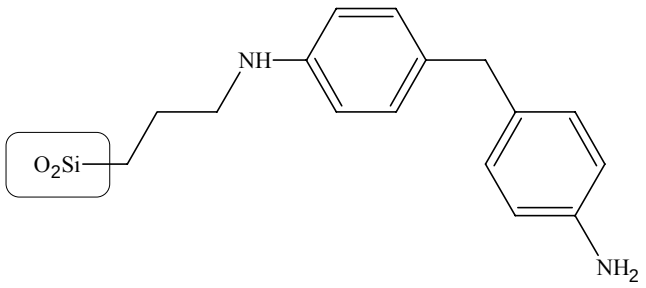


Abb. 4-19 Struktur von *Bis(4-aminopropylsilica-phenyl)-methan*: (Aminophenyl) [Deisenhofer 2000]

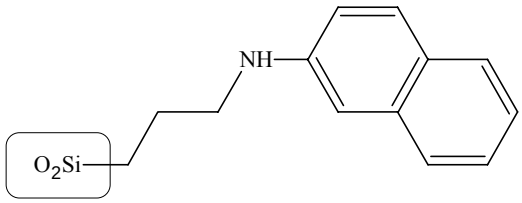


Abb. 4-20 Struktur von *1-Naphthylaminopropyl-silica* : (Naphthylamin)

(Säule selbst gepackt mit synthetisiertem Phasenmaterial nach Vorschrift von Deisenhofer [Deisenhofer 2000])

Genauso wie bei der einfachen HPLC-Backflush-Technik wurden die Elutionsvolumina der Fraktionen mit den PCB- und Pestizid-Standardlösungen in Fraktionierungstests für die LC/LC-Kopplung ermittelt und mit der HRGC-ECD überprüft.

Bei Kopplung der Aminopropyl- mit der Pyren-Phase ist durch eine deutlich stärkere Retention der koplanaren PCBs (77, 126, 169) auf der Pyren-Phase [Kurz 1994b] eine selektive Trennung dieser Analyten in der N2- Fraktion möglich (siehe **Tab. 4-10**). Einzige Standardsubstanz, welche zwischen Normal- und Backflush- Mode gesplittet wird, ist das trans-Nonachlor.

Die Pyren- Phase weisst allerdings ein schlechtes Blindwertverhalten nach Benutzung mit Standards und Realproben auf und die hier verwendete Säule kontaminiert die N-Mode-Fraktionen mit zwei im ECD-Chromatogramm deutlich sichtbaren Störpeaks, welche auch nach längerem Spülen der Phase nicht vollständig verschwinden und nach längerer Benutzung wieder an Intensität zunehmen und den Schluss erlauben, dass es sich eventuell um Phasenmaterial oder aus dem Pyren durch Umlagerung entstandenes Benzo-quinon handelt.

Wenn als zweite Trennsäule Bis(4-aminopropylsilica-phenyl)-methan als Phasenmaterial verwendet wird, lassen sich ähnliche Ergebnisse wie auf der Pyrenphase erzielen, ohne dass es zu einer störenden Kontamination durch das Phasenmaterial kommt (siehe **Tab. 4-11**; schematische Darstellung der HPLC siehe **Abb. 4-21**). Allerdings werden die koplanaren PCBs auf dieser Phase nicht so eindeutig abgetrennt wie auf der Pyrenphase. PCB 105 und PCB 128 zeigen aufgrund ihrer Struktur ein ähnliches Retentionsverhalten wie die koplaneren PCBs ohne ortho-Chlor-Substitution (PCB 77, 126 und 169).

α-HCH eluiert bei einer nicht exakten Trennung auf der Aminopropyl-Säule ebenfalls in der mittelpolaren N 2-Fraktion; da diese Fraktion jedoch nur eine geringe Anzahl an Analyten enthält, ist eine gute Quantifizierung möglich. Oxychlordan wird auf der zweiten Trennsäule (Bis(4-aminopropylsilica-phenyl)-methan) in manchen Fällen auf die N1- und N2-Fraktion verteilt. Trans-Nonachlor eluiert, wie zuvor schon bei der Aminopropyl-Säule, größtenteils in der N1-Fraktion, ein Teil kann aber auch auf der Aminoproylphase zurückbleiben und eluiert im Backflush. Von Bedeutung ist die Trennung des 2,4'-DDTs und des 4,4'-DDDs in die N2- bzw. B1 Fraktion. Auf der CP SIL8 GC-Kapillare liegen diese beiden Peaks dicht zusammen und können in Realproben nicht Grundlinien getrennt werden. Durch die Trennung auf der

Aminopropyl-Phase lassen sich diese Substanzen besser identifizieren, da sie auch im MSD die gleichen SIM-Massen haben.

Mit dem PBDE-Standard Bromkal 70-5 DE wurde das Elutionsverhalten der polybromierten Diphenylether untersucht. Die PBDEs und ihre Methoxy-Derivate eluieren hauptsächlich in der N2 Fraktion (Tetra– bis Hexa- bromiert) und sind im ECD Chromatogramm gut quantifizierbar, da keine Koelutionen mit PCBs auf den GC-Kapillarsäulen (SIL 19, SPB C8, SIL8) auftritt. Allerdings kann es bei hohen Analytgehalten und einem hohen Matrixanteil zu einer Verschiebung bei der NP-HPLC-Fraktionierung kommen, sodass die tetra- bis penta-bromierten Diphenylether zu einem geringen Teil auch in der N1-Fraktion eluieren. Auch ein Großteil der in den Realproben enthaltenen bromierten Verbindungen eluiert mit diesem Kopplungssystem in der N2-Fraktion, was die Identifizierung und den Nachweis deutlich verbessert (siehe dazu GC-MS(NCI) SIM-Chromatogramme in Kapitel 5.6). Die drei in dieser Arbeit quantifizierten Toxaphen-Kongenere (T26, T50 und T62) eluiern in der N1-Fraktion. Fraktionierungstests mit technischem Toxaphen ergaben, dass manche Isomere sich auch über die N2-Fraktion erstrecken.

Ein grosser Vorteil der Bis(4-aminopropylsilica-phenyl)-methan- Säule liegt in dem sehr geringen Blindwert, welcher keine sichtbaren Störpeaks aufweist.

Ausserdem stellt die NP-HPLC noch einmal einen Abtrennungsschritt für Matrixreste dar. Allerdings gilt dies nur für die N1- und N2-Fraktion, beim Backflush können die Lipidreste in der B-Mode-Fraktion miteluieren.

Bei der Gruppentrennung von Realproben wird den Eluaten jeweils der Interne Standard TCN zugegeben und auf ca. 100 µL Endvolumen eingeengt.

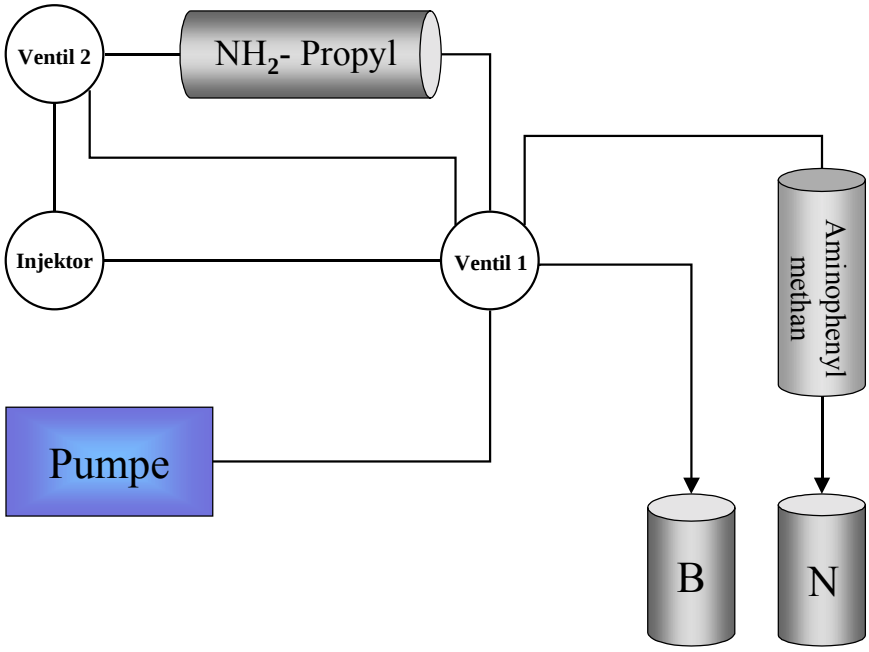


Abb. 4-21 Schematische Darstellung der HPLC-Anlage für die Kopplung von zwei NP-Trennsäulen (Aminopropyl- und Aminophenylmethan-Phase) mit Backflush-Technik

Tab. 4-10 Elutionsverhalten bei LC-LC Kopplung von Aminopropyl- und PyrenPhase

Verbindung	**N 1** **0 - 2,6 - 6,6 mL**	**N 2** **6,6 - 11,6 mL**	**B 1** **0 - 6 mL**
PCBz	N		
A 33	N		
HCB	N		
PCA	N		
TCDMB	N		
α-HCH			B
β-HCH			B
γ-HCH			B
Heptachlor	N		
Aldrin	N		
OCS	N		
Oxychlordan	N		
cis HCE			B
trans-Chlordan			B
cis-Chlordan			B
trans-Nonachlor	N		B
cis-Nonachlor			B
(α)Endosulfan I			B
(b)Endosulfan II			B
2,4´-DDE	N		
4,4´-DDE	N		
2,4´-DDD			B
4,4´-DDD			B
2,4´-DDT	N		
4,4´-DDT			B
Dieldrin			B
Endrin			B
Endosulfan-Sulfat			B
Mirex	N		
TCPM10			B
PCB 103	N		
ε-HCH			B
TCN	N		
PCB 77		N	
PCB 105	N		
PCB 126		N	
PCB 128	N		
PCB 169		N	
Restliche PCB-Kongenere	N		

N: N-Mode B: B-Mode

Tab. 4-11 Elutionsverhalten bei LC-LC Kopplung von Aminopropyl- und Aminophenyl-Phase

Verbindung	**N 1** **0 - 2,6 – 4,2 mL**	**N 2** **4,2 - 10,2 mL**	**B 1** **0 - 8 mL**
PCBz	N		
A 33	N		
HCB	N		
PCA	N		
TCDMB	N		
α-HCH		N	B
β-HCH			B
γ-HCH			B
Heptachlor	N		
Aldrin	N		
OCS	N		
Oxychlordan	N	N	
cis HCE			B
trans-Chlordan			B
cis-Chlordan			B
trans-Nonachlor	N		B
cis-Nonachlor			B
(α)Endosulfan I			B
(b)Endosulfan II			B
2,4´-DDE	N		
4,4´-DDE	N		
2,4´-DDD			B
4,4´-DDD		N	B
2,4´-DDT		N	
4,4´-DDT			B
Dieldrin			B
Endrin			B
Endosulfan-Sulfat			B
Mirex	N		
TCPM10			B
PCB 103	N		
ε-HCH			B
TCN	N		
PCB 77		N	
PCB 105	N	N	
PCB 126		N	
PCB 128	N	N	
PCB 169		N	
Restliche PCB-Kongenere	N		

Hauptmenge in dieser Fraktion (>90 %) N: N-Mode B: B-Mode

4.3.4.4 Nachreinigung mit Mini-Pasteurpipetten-Säule

Bei sehr stark fetthaltigen Proben kann es vorkommen, dass nach dem gesamten Clean-Up noch Matrixreste in den HPLC-Eluaten enthalten sind. Diese stören bei der gaschromatographischen Trennung erheblich und können das Retention-Gap und auch die GC-Kapillare verschmutzen. Deshalb muss in manchen Fällen ein zusätzlicher Aufreinigungsschritt des Probenextrakts folgen.

Auf relativ effiziente und einfache Weise erfolgt dies mit Mini-Pasteurpipetten-Säulen, welche mit Kieselgel und mit Schwefelsäure-imprägniertem Kieselgel locker gepackt sind (vgl. Mikro-Säule bei der SPE-Elution in Kapitel 4.3.3.2). Dazu stopft man etwas geglühte Glaswolle in die Pasteurpipette und befüllt dann erst mit Kieselgel (ca. 1,5 cm) und anschließend noch mit dem Schwefelsäure-imprägnierten Kieselgel (1,5 cm), als Abschluss dient etwas Natriumsulfat. Die Mini-Säulen werden mit 2 mL Dichlormethan vorgespült und dann erfolgt die Aufgabe der Probenlösung mit einer Pasteurpipette direkt auf die Säule. Eluiert wird dann mit ca. 3,5 mL Dichlormethan.

Bei leichten Verunreinigungen bildet sich ein leichter gelber Rand auf dem Kieselgel; ist der Restmatrixanteil größer, ensteht eine leichte Braunfärbung.

Auf diese Weise nachgereinigte Extrakte führen zu deutlich besseren chromatographischen Ergebnissen. Durch die stark oxidative Wirkung der Schwefelsäure werden Verbindungen wie Dieldrin, Endrin und Aldrin bei diesem Arbeitsschritt, wie auch schon bei Anwendung der Mikro-Säule bei der SPE zerstört.

4.3.5 Bestimmung der Wiederfindungsraten des Analyseverfahrens

4.3.5.1 Wiederfindungsstandards und Blindwerkontrolle

Zur Überprüfung des gesamten Verfahrens der Probenaufarbeitung mit Extraktion, Festphasenextraktion und HPLC-Gruppentrennung wurden der Blindwerteintrag und die Wiederfindungsraten der jeder Probe zugesetzten Wiederfindungsstandards PCB 103 und ε-HCH in Testaufarbeitungen ermittelt.

Für die Bestimmung der Blindwerte wurden Proben (PA 02 bis PA 04) mit je 100 mL Acetonitril mit den WF-Standards versetzt, dann das ganze Volumen mit dem Rotationsverdampfer im Vakuum (200 mbar/40° C) auf ca. 5 mL eingeengt und anschließend nach den zuvor beschriebenen Aufarbeitungsschritten verfahren. Bei Blindwertprobe PA 01 wurden anfänglich nur 5 mL ACN eingesetzt, um die Verluste beim Einrotieren des Acetonitrils zu untersuchen. Der Einfluss der Matrix auf die Wiederfindugsraten bei der Probenaufarbeitung wurde durch die Analyse von Lipid-Standardreferenzmaterialien (SRM 1588, CRM 349 und CRM 350) untersucht, für die die Gehalte der Organohalogene zertifiziert sind (siehe Kapitel 4.3.5.2 - 4.3.5.4).

Analysiert wurden die einzelnen Probenfraktionen im ECD, GC-MSD/EI und NCI (SIM und Full-Scan). Die Wiederfindungsraten in **Tab. 4-12** sind auf den internen Standard TCN bezogen.

Tab. 4-12 Wiederfindungsraten für PCB 103 und ε-HCH bei der Probenaufarbeitung von Blindproben (PA) und Standardreferenzmaterialien

Probe	**WF PCB 103** [%]	**WF ε-HCH** [%]
PA[a] 01[b]	83	78
PA 02	98	67
PA 03	105	103
PA 04	109	62
CRM 349	98	66
CRM350	80	68
SRM 1588	84	83
CRM 349[c]	73	85
Mittelwert	91	77

[a] PA: Blindprobe ohne Matrix (Probenaufarbeitung)

[b] 5 mL Acetonitril Ausgangsvolumen (kein Einengen des ACN)

[c] Aufarbeitung ohne LC/LC-Kopplung [Arend 2000]

Die ermittelten Wiederfindungsraten für PCB 103 liegen bei allen Durchgängen zwischen 73 % und 109 %. Es sind nur geringe Unterschiede der WF zwischen Blindprobe ohne Matrix und den Standardproben mit Lipidgehalt für das PCB 103 zu erkennen. Durch das Einengen des Acetonitril im Vakuum entstehen keine merkbaren Verluste der Wiederfindungs-standards, denn bei den Proben PA 02 – PA 04 unterscheidet sich die WF des PCB 103 nicht von den übrigen Proben. Der Einfluss der Matrix auf die Wiederfindung des PCB 103 ist, wie

man an den Werten in **Tab. 4-12** sieht, sehr gering. Für das stärker polare und leichter flüchtige ε-HCH ergeben sich WF-Raten von 62 % bis 103 %. Es ist ein leichter Verlust durch das Einrotieren erkennbar, für PA 01 liegt die WF bei 78 %, während für PA 02 und PA 04 die Werte zwischen 62 % und 68 % liegen. PA 03 fällt mit 103 % hier etwas heraus. Die dennoch niedrigeren Wiederfindungsraten bei den Standardlipidproben resultieren aus Verlusten von ε-HCH bei der SPE durch den Einfluss der Matrix. In **Abb. 4-22** sind die Wiederfindungsraten von von PCB 103 und ε-HCH bei den Blindproben und Standardproben graphisch dargestellt. Die Mittelwerte der Wiederfindungsraten dieser Probenaufarbeitungstests liegen für PCB 103 bei 91 % und für ε-HCH bei akzeptablen 77 %.

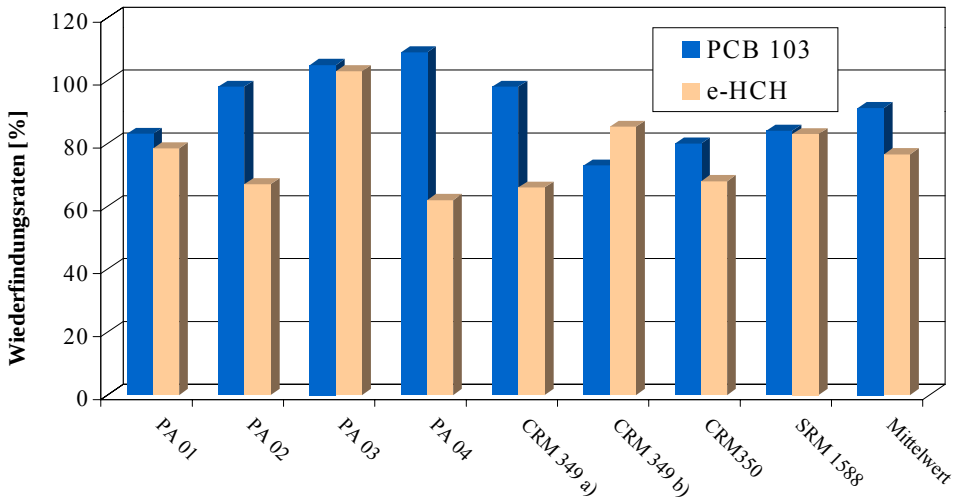


Abb. 4-22 Übersicht der Wiederfindungsraten von PCB 103 und ε-HCH bei Wiederfindungsexperimenten von Blindproben und Standardproben.

Die Wiederfindungsraten aller zu quantifizierenden PCBs und Organochlorpestizide in dem beschriebenen Analysenverfahren wurden durch Aufarbeitung von drei verschiedenen Standardreferenzmaterialien untersucht.

4.3.5.2 SRM 1588 (NIST; zertifizierter Dorsch Lebertran)

Bei der Analyse des NIST SRM 1588 (Organics in Cod Liver Oil) folgte der Matrixabtrennung mit SPE und der NP-HPLC-Fraktionierung die gaschromatographische Bestimmung auf zwei verschiedenen Kapillaren und zwei verschiedenen Detektoren: SIL19/ECD und SIL8/MSD. Die gemessenen Massenanteile wurden mit dem Zertifikat [NIST 1989] und weiteren Literaturwerten [Schantz 1993b] verglichen.

Die Aufarbeitungsschritte Homogenisierung und Extraktion mit Acetonitril konnten mit dem Lebertran nicht überprüft werden, da diese für Fischöle wegfallen. Tab. 4-13 und Tab. 4-14 enthalten die ermittelten Wiederfindungsraten (WF) für die PCBs und die Organochlorpestizide.

Tab. 4-13 Wiederfindungsraten einiger PCBs nach Aufarbeitung des NIST SRM 1588. Quantifizierung auf zwei verschiedenen Kapillaren mit ECD und MSD.

Kapillare/ Detektor	**SIL 19/ECD**		**SIL 8MS/MSD**		**Referenz** [NIST 1989, Schantz 1993a]
PCB	**gemessener Gehalt [µg/kg]**	**WF [%]**	**gemessener Gehalt [µg/kg]**	**WF [%]**	**Gehalt [µg/kg]**
18	n.d.	-	18	-	
28	17	**60**	n.q.	-	28 (1)
31	n.q.	-	n.q.	-	8 (1)
44	52	**153**	27	**79**	34 (2)
49	40	**136**	66	**228**	29 (1)
52	98	**121**	73	**90**	81 (4)
66	n.q.	-	44	**84**	53 (2)
87	79	**141**	50	**89**	56 (2)
95	n.q.	-	42	**114**	37 (2)
99	85	**40**	77	**36**	213 (5)
101	256	**199**	115	**89**	129 ± 5
105	101	**161**	53	**84**	63 (6)
110	80	**106**	55	**73**	76 (5)
118	197	**110**	154	**86**	179 (8)
128	47	**97**	32	**66**	48 (1)
138	298	**114**	199	**76**	261 ± 29
149	61	**58**	68	**65**	105 (3)
151	50	**95**	37	**70**	52 (3)
153	264	**96**	264	**96**	276 ± 40
156	17	**61**	17	**59**	28 (7)
170	63	**139**	40	**88**	45 ± 5
180	100	**94**	97	**91**	107 ± 4
183	27	**91**	23	**78**	30 (2)
187	58	**162**	43	**119**	36 (2)
194	15	**102**	14	**90**	15 (1)
195	4	-	7	-	-
206	1	-	3	-	-
209	4	-	n.d.	-	-
IS 103		**84**		**81**	
Σ (7 PCB) x 4	**4920**		**3671**		**4288**

n.q. nicht quantifiziert

n.d. nicht detektiert.

Wiederfindung der PCB und Koelution der Toxaphene:

Die Wiederfindungsraten der zur Kontrolle zugegebenen Wiederfindungsstandards PCB 103 und ε-HCH liegen zwischen 81 – 86 %. Für die meisten PCB-Kongenere erhält man Werte 70 – 100 % bei der Quantifizierung mit dem MSD, auffällig ist der hohe Wert für PCB 49, welcher sich nicht erklären lässt. Auf der SIL 19 Säule liegen die Wiederfindungsraten ebenfalls in einem akzeptablen Bereich, jedoch mit einigen Ausnahmen.

Bei PCB 44 kommt es zu einer Koelution auf dieser Säule mit den im technischen Arochlorgemisch enthaltenen Kongeneren PCB 59 und PCB 72. Bei PCB 49 tritt ebenfalls ein höherer Wert auf. Der im Vergleich zur SIL 8 Säule und MSD detektierte höhere Wert für PCB 87 auf der SIL 19 Säule entsteht durch eine nicht vollständige Grundlinientrennung mit 4,4'-DDE. Wie auch in vielen anderen Realproben kommt es beim PCB 101 auf der SIL 19 zu einer Koelution mit einem unbekannten nona-Chlor-Isomer. Anhand der Werte der MSD Messung ist dies immer gut erkennbar. Eine Koelution mit einer unbekannten Substanz ist auch auf der SIL 19 für den relativ hohen Wert von PCB 105 im ECD verantwortlich. Beim PCB 138 verursacht wohl der PCB 163 und 164 Gehalt die höheren Werte auf der SIL 19.

In dem SRM 1588 liegt eine relativ hohe Toxaphen-Grundbelastung vor, was auch der Grund für den niedrigen Wert von PCB 149, das mit dem Toxaphen-Kongener T26 koeluiert, im ECD ist. Der höhere Gehalt des gefundenen PCB 170 auf der SIL 19 kommt teilweise duch die Koelution mit PCB 199 zu Stande. Bei dem PCB 187 liegt vermutlich wieder eine Toxaphen-Koelution vor. Für die PCBs 99, 128, 149 und 156 haben schon Mössner und Looser schlechte Wiederfindungsraten ermittelt [Looser 1999, Moessner 1995].

Wiederfindung der Organochlorpestizide:

Die Wiederfindungsraten für die untersuchten Organochlorpestizide liegen sehr gut. Bei γ-HCH und HCE treten auf beiden Säulen etwas schlechtere Werte auf, was evtl. auf einen schwachen Response dieser Stoffe im ECD und MSD hinweist. Extrem schlechte Wiederfindungsraten tauchten bei diesem Standard bei den Nonachlors auf. Eine Erklärung wäre ein systematischer Fehler während der Aufarbeitung dieser Probe oder ein unerklärlicher Schwund während der Gruppentrennung. Bei der Aufarbeitung der anderen Standardproben wurden für diese Substanzklasse sehr gute Werte gefunden (vgl. Kapitel 4.3.5.3 und 4.3.5.4).

Wiederfindung der DDX-Gruppe und der Toxaphengruppe:

In der DDX-Gruppe koeuliert das 2,4'-DDE auf der SIL 19 leicht mit den PCBs 101 und 99 sowie mit der unbekannten nona-Chlor-Komponente, weshalb der Wert deutlich erhöht ist, während die niedrige WF (Wiederfindung) im MSD auf den schwachen Response zurückzuführen ist. Beim 2,4'-DDT gibt es auf der SIL 19 eine Koelution mit einem Toxaphen und PCB 146. Durch diese hohe Toxaphenbelastung der Probe erhält man auch stark unterschiedliche Werte für das 4,4'-DDD und 4,4'-DDT. Ersteres hat auf beiden Säulen eine schlechte WF, was evtl. auf die selben Probleme hinweist, die auch für die magere WF bei den Nona-Chlors verantwortlich sind. Das DDT zeigt nur im ECD einen doppelt so hohen Wert an, da es, wie aus dem Chromatogramm in **Abb. 4-24** ersichtlich ist, mit einer Anzahl von Toxaphene koeluiert. Zur Überprüfung der unterschiedlichen Detektionsmethoden wurden die Toxaphenkongenere T26, T50 und T62 im ECD und mit MSD/NCI-SIM (m/z 35) gemessen. Für T26 und T50 stimmen die Gehalte sehr gut überein. Bei T62 liegt der Grund, verglichen mit den beiden anderen Kongeneren, wahrscheinlich in dem etwas unterschiedlichen Fragmentierungsverhalten (siehe NCI-Masenpektrum T62 in **Abb. 4-43**).

T62 hat eine stärkere Cl-Abspaltung. Leichte Schwankungen bei der Dechlorierung während der Messung dürften hier mehr Einfluss auf das Responseverhalten von T62 haben. Dem ECD-Chromatogramm (siehe **Abb. 4-24**) nach ist vermutlich dieser ermittelte Gehalt realistischer.

Tab. 4-14 Wiederfindungsraten einiger Organohalogenverbindungen nach Aufarbeitung des NIST SRM 1588. Quantifizierung auf zwei verschiedenen Kapillaren mit ECD und MSD

Kapillare/ Detektor	**SIL 19/ECD**		**SIL 8MS/MSD**		**Referenz** [NIST 1989]
OC	**gemessener Gehalt [µg/kg]**	**WF [%]**	**gemessener Gehalt [µg/kg]**	**WF [%]**	**Gehalt [µg/kg]**
HCB	120	**81**	128	**87**	148 ± 21
α-HCH	76	**89**	81	**94**	86 ± 19
γ-HCH	17	**65**	16	**63**	26 (4)
HCE	19	**59**	18	**55**	32 (3)
cis-CD	170	**108**	166	**105**	158 ± 8
trans-Nona	6	**3**	36	**17**	209 ± 11
cis-Nona	33	**35**	40	**42**	95 (4)
Dieldrin	n.n.	**-**	n.n.	**-**	150 ± 12
2,4´-DDE	31	**155**	8	**40**	20 (2)
4,4´-DDE	578	**90**	544	**85**	641 ± 62
2,4´-DDD	27	**80**	23	**69**	34 (4)
4,4´-DDD	124	**45**	69	**25**	277 ± 15
2,4´-DDT	211	**135**	143	**92**	156 ± 5
4,4´-DDT	997	**188**	519	**98**	529 ± 45
IS ε-HCH	-	**83**	-	**86**	-
PBDE 47	3				
PBDE 85	n.n.				
PBDE 99	1				
PBDE 100	n.n.				
PBDE 153	n.n.				
PBDE 154	n.n.				
			NCI		
T 26	249		220		
T 50	271		276		
T 62	50		174		

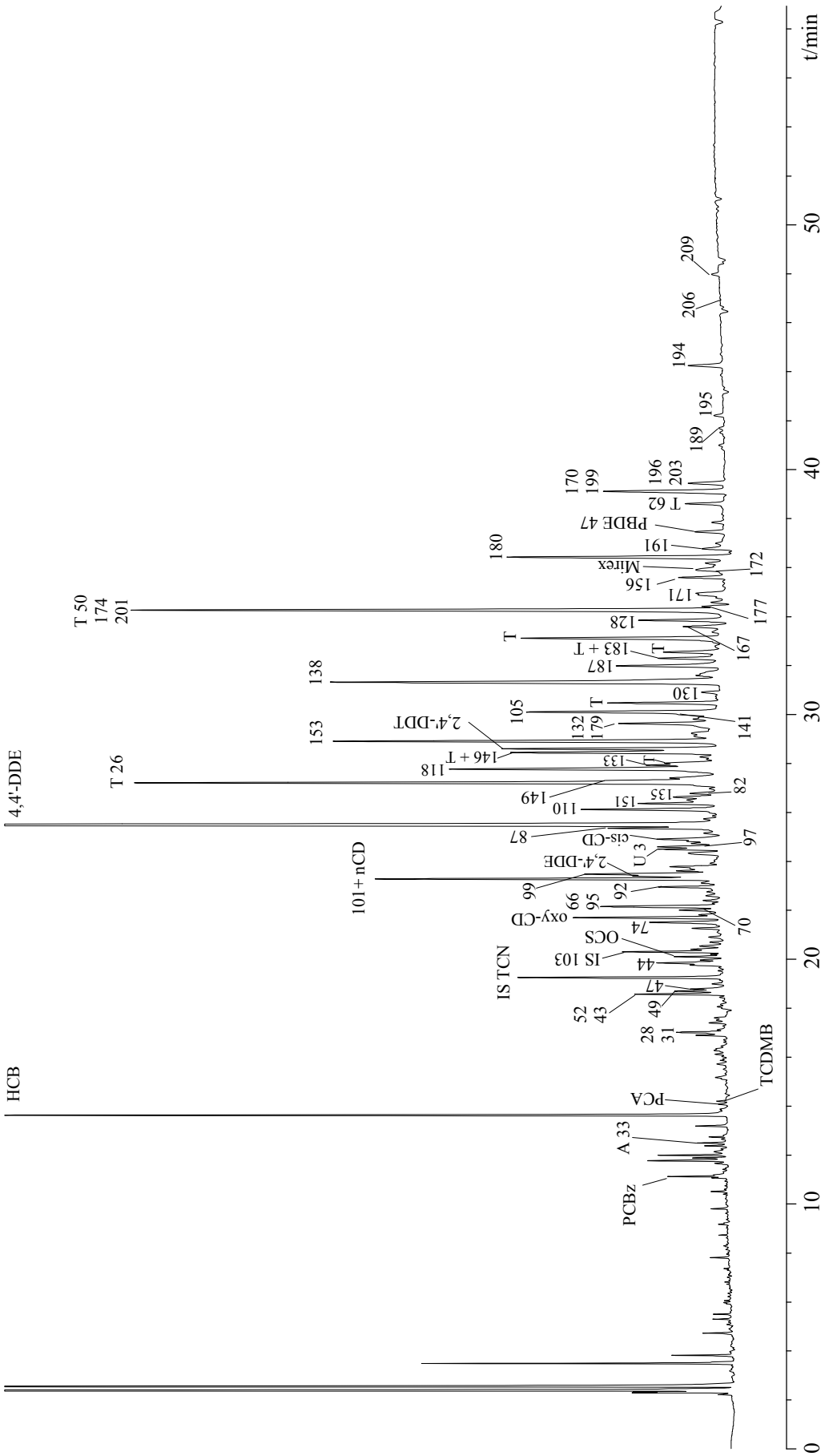


Abb. 4-23. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: NIST SRM 1588 N1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 133.3 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

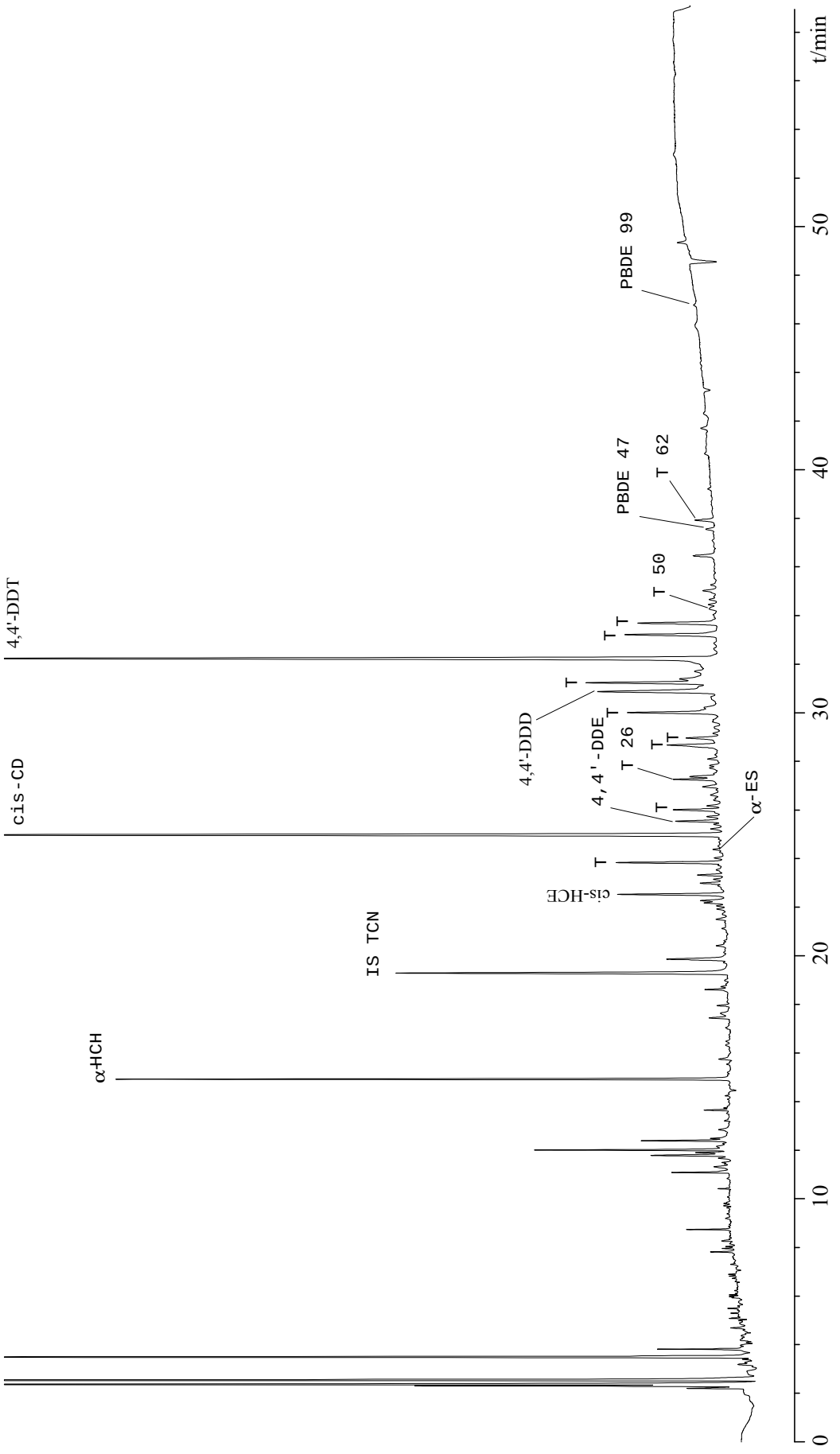


Abb. 4-24. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: NIST SRM 1588 N2-Fraktion; (Lipid Aliquot: 133.3 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

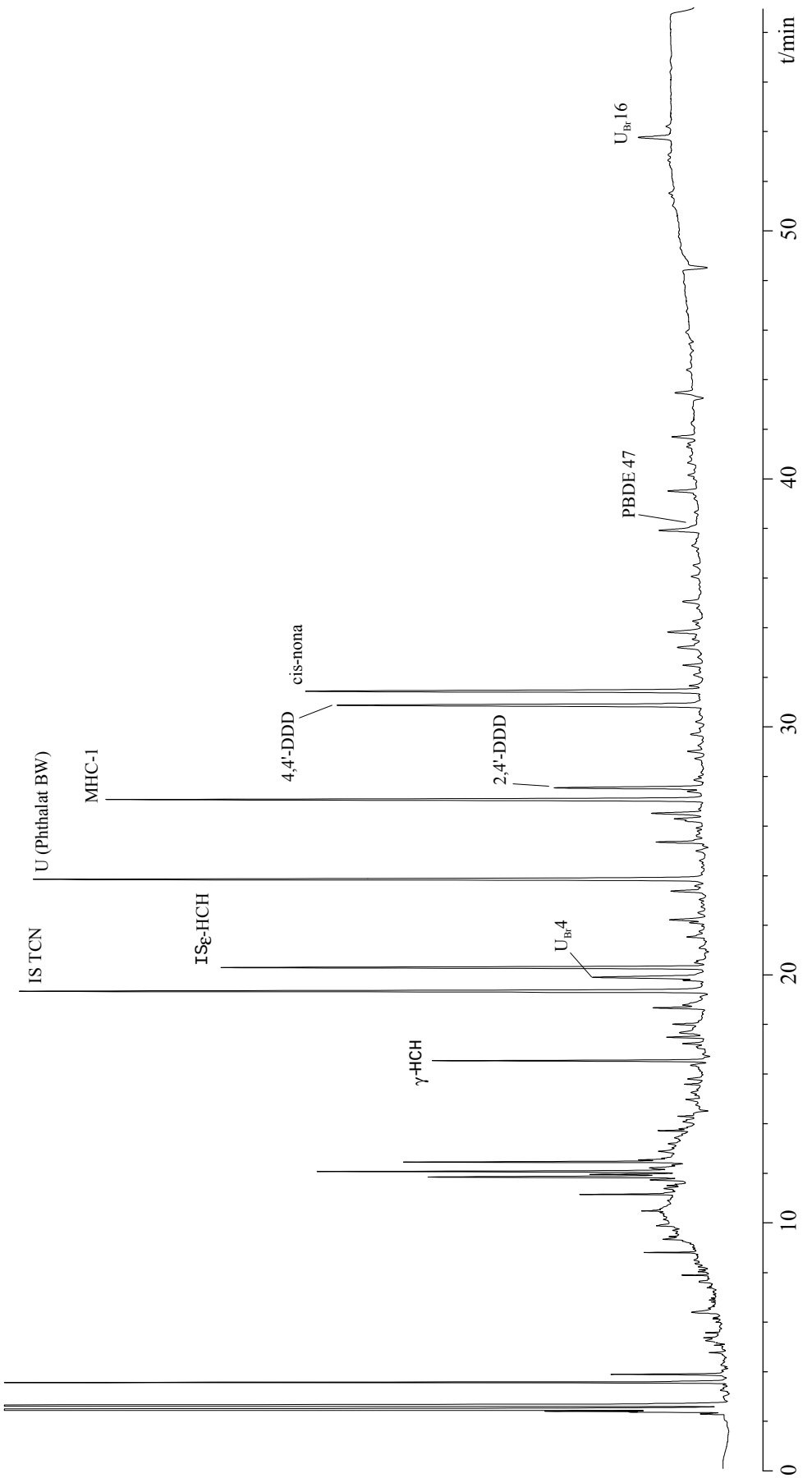


Abb. 4-25. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: NIST SRM 1588 B1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 133.3 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

4.3.5.3 CRM 349 (CBR, zertifizierter Dorsch Lebertran)

Ein weiteres Standardreferenzmaterial ist der CBR *CRM 349*-Dorsch Lebertran, welcher ebenfalls nach der beschriebenen Methode analysiert wurde. In **Tab. 4-15** und **Tab. 4-16** sind die Wiederfindungsraten und ein Vergleich mit den zertifizierten Gehalten abgebildet.

Tab. 4-15 Wiederfindungsraten einiger PCBs nach Aufarbeitung des BCR CRM 349 (Dorschlebertran). Quantifizierung auf zwei verschiedenen Kapillaren mit ECD und MSD.

Kapillare/ Detektor	**SIL 19 ECD**		**SIL 8LB MSD(EI)**		**Referenz [Griepink 1988] CBR**	[a)] Werte aus **[Schantz 1993a]** **C-18[a] ECD**	**DB1701[a] ECD**
PCB	**gemessener Gehalt [µg/kg]**	**WF [%]**	**gemessener Gehalt [µg/kg]**	**WF [%]**	**zertifizierte Gehalte [µg/kg]**	**Gehalt [µg/kg]**	**Gehalt [µg/kg]**
18	n.n.		n.n		-		
28	47	**69**	42	**62**	68	68	69
31	n.n		36		-	26	26
44	86	**114**	64	**85**	75	78	80
49	93		87		-	103	96
52	160	**107**	151	**101**	149	139	142
66	n.q.		157	**75**	210	103	190
87	101		68		-		69
95	n.n		72		-	88	190
99	255		243		-	160	151
101	297	**80**	341	**92**	370	359	360
105	157		112		-	51	53
110	181		187		-	175	179
118	341	**75**	404	**89**	454	448	457
128	118	**114**	98	**95**	104	46	48
138	738	**96**	590	**77**	765	738	746
149	194	**68**	188	**66**	284	271	264
151	113		105		-		126
153	680	**72**	896	**95**	938	954	947
156	43		48		-	40	39
170	167	**112**	151	**102**	149	107	131
180	228		281		-	/	275
183	57		22		-	81	82
187	209		213		-	/	242
194	43		31		-	/	
195	13		12		-	/	
206	13		8		-	/	
209	18		15		-	/	
IS 103		**98**		**87**			

Die Wiederfindungsraten für die PCBs betragen größtenteils 75 – 100 %. Der etwas niedrigere Wert für PCB 28 beruht auf einer teilweisen Koelution mit PCB 31. Bei PCB 138 ist wieder eine Koelution mit PCB 163 und 164 auf der SIL 19 Säule an dem höheren ECD-

Wert zu erkennen. PCB 103 als Wiederfindungsstandard liegt bei 87 – 98 %. Vergleicht man die Werte mit den Ergebnissen von Schantz [Schantz 1993a], ergeben sich auch für die nicht zertifizierten Gehalte recht gute Übereinstimmungen.

Tab. 4-16 Wiederfindungsraten einiger Organochlorpestizide nach Aufarbeitung des CBR CRM 349 (Dorschlebertran). Quantifizierung auf zwei verschiedenen Kapillaren mit ECD und MSD.

Kapillare/ Detektor	**SIL 19 ECD**		**SIL 8LB MSD(EI)**		**Referenz [Griepink 1988] CBR**	[a)] Werte aus **[Schantz 1993a]** **C-18[a] ECD**	**DB1701[a] ECD**
Org. Halogen	**gemessener Gehalt [µg/kg]**	**WF [%]**	**gemessener Gehalt [µg/kg]**	**WF [%]**	**zertifizierte Gehalt [µg/kg]**	**gemessener Gehalt [µg/kg]**	**gemessener Gehalt [µg/kg]**
HCB	49,8	**119**	55,1	**131**	42	51	57
α-HCH	36,5	**107**	45,1	**133**	34	24	22
γ-HCH	71,6	**98**	77,3	**106**	73	66	66
HCE	22,7		24,6		-		
cis-CD	52,9	**252**	20,1	**96**	21	18	20
trans-Nona	49,3	**99**	42,6	**85**	50	45	43
cis-Nona	4,6		2,9		-		
Dieldrin	-	**-**	-	**-**			150
2,4´-DDE	25,0	**100**	3,7	**15**	25	22	21
4,4´-DDE	302,1	**129**	273,5	**116**	235	260	269
2,4´-DDD	1,5	**8**	2,6	**15**	18	11	10
4,4´-DDD	12,1	**7**	12,7	**7**	175	165	172
2,4´-DDT	3,5	**18**	6,1	**30**	20	15	14
4,4´-DDT	10,8	**18**	33,2	**56**	59	59	53
IS ε-HCH	-	**66**	-	**70**	-		
PBDE 47	120,8						
PBDE 100	0,3						
PBDE 99	0,6						
PBDE 85	n.n.						
PBDE 154	n.n.						
PBDE 153	n.n.						

Bei den Organochlorverbindungen gibt es eine sehr gute Übereinstimmung der Gehalte. Der Wiederfindungsstandard ε–HCH liegt jedoch etwas niedrig bei 66 – 70 %. Auf der SIL 19 findet man bei cis-Chlordan einen viel zu hohen Wert, der nicht erklärt werden kann. Ebenfalls treten hier wieder die größeren Probleme in der DDX-Gruppe auf, mit deutlichen Unterschieden zwischen den beiden Säulen und Detektoren. 2,4'-DDE hat im MSD eine unerklärlich niedrige WF. Für die beiden DDDs sind die Werte auf beiden Säulen schlecht. Für die DDTs erhält man mit dem MSD etwas bessere Wiederfindungsraten. Ursache könnten hier Probleme mit der Trennsäule bei der gaschromatographischen Analyse sein. Stark reaktive basische Zentren der Phase können durch Abspaltung des aziden Wasserstoffs der DDD/DDTs dies zerstören und das Signal im GC merklich schwächen.

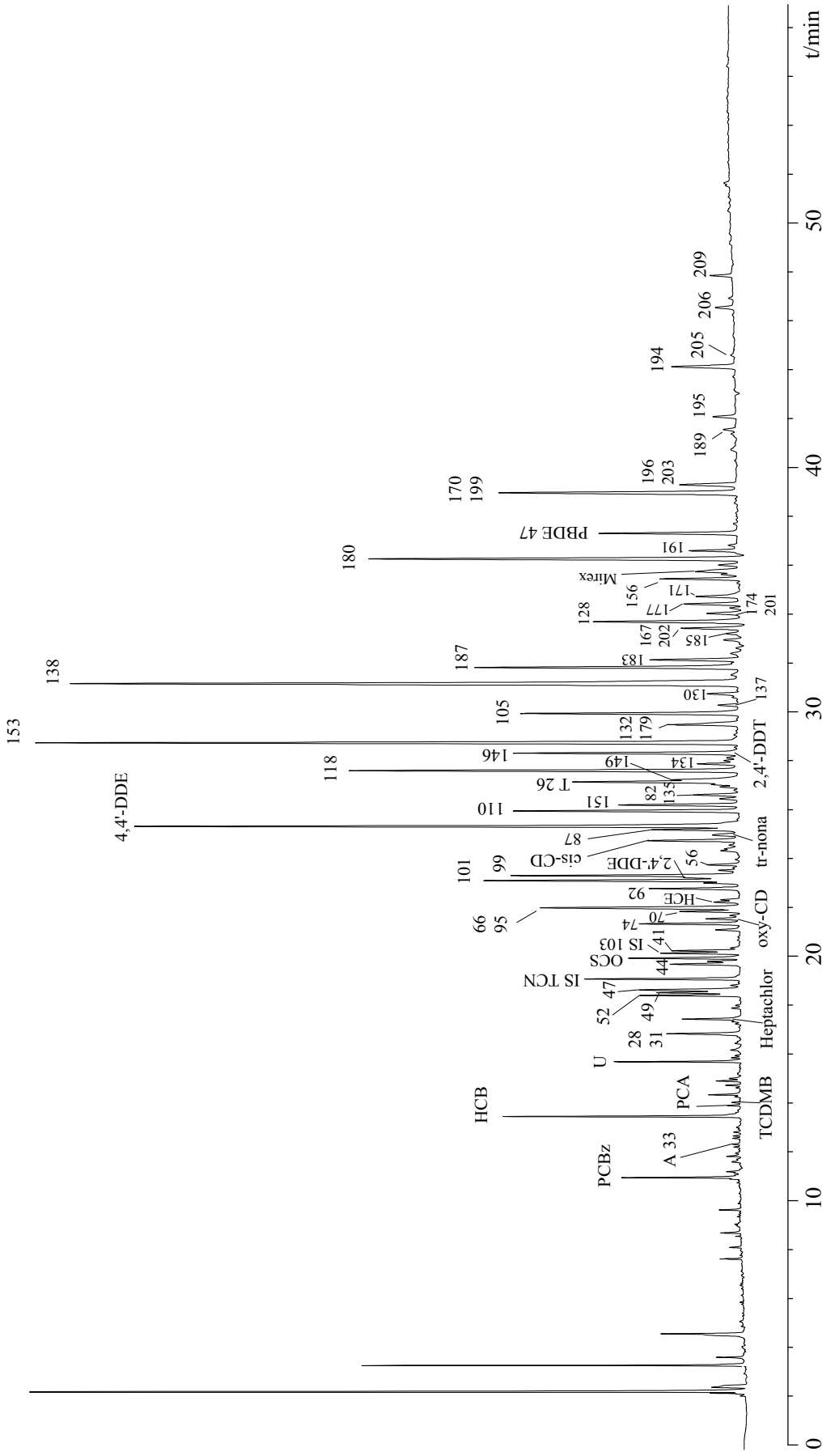


Abb. 4-26. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: CRM 349 N1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 110,9 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

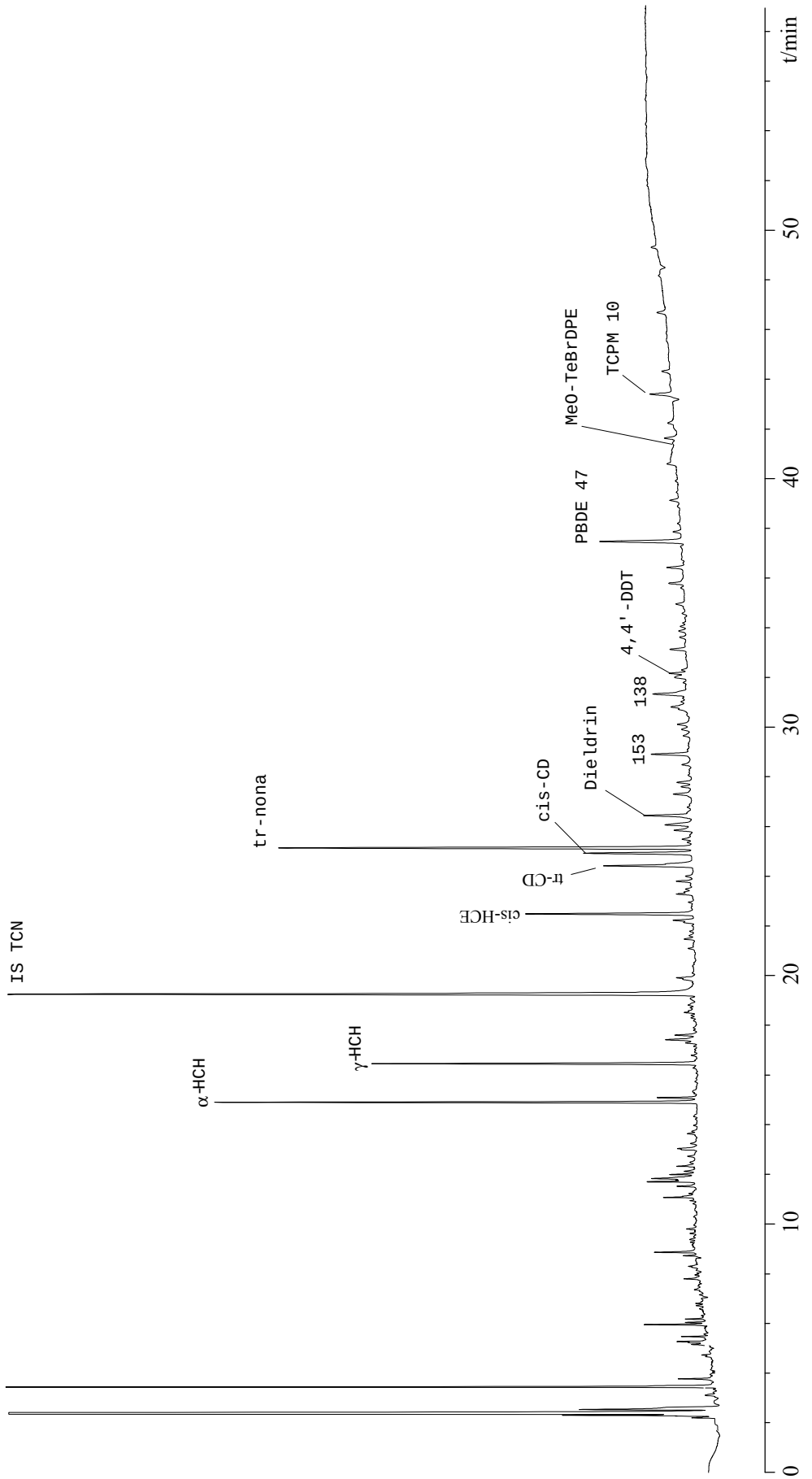


Abb. 4-27. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: CRM 349 N2-Fraktion; (Lipid Aliquot: 110,9 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

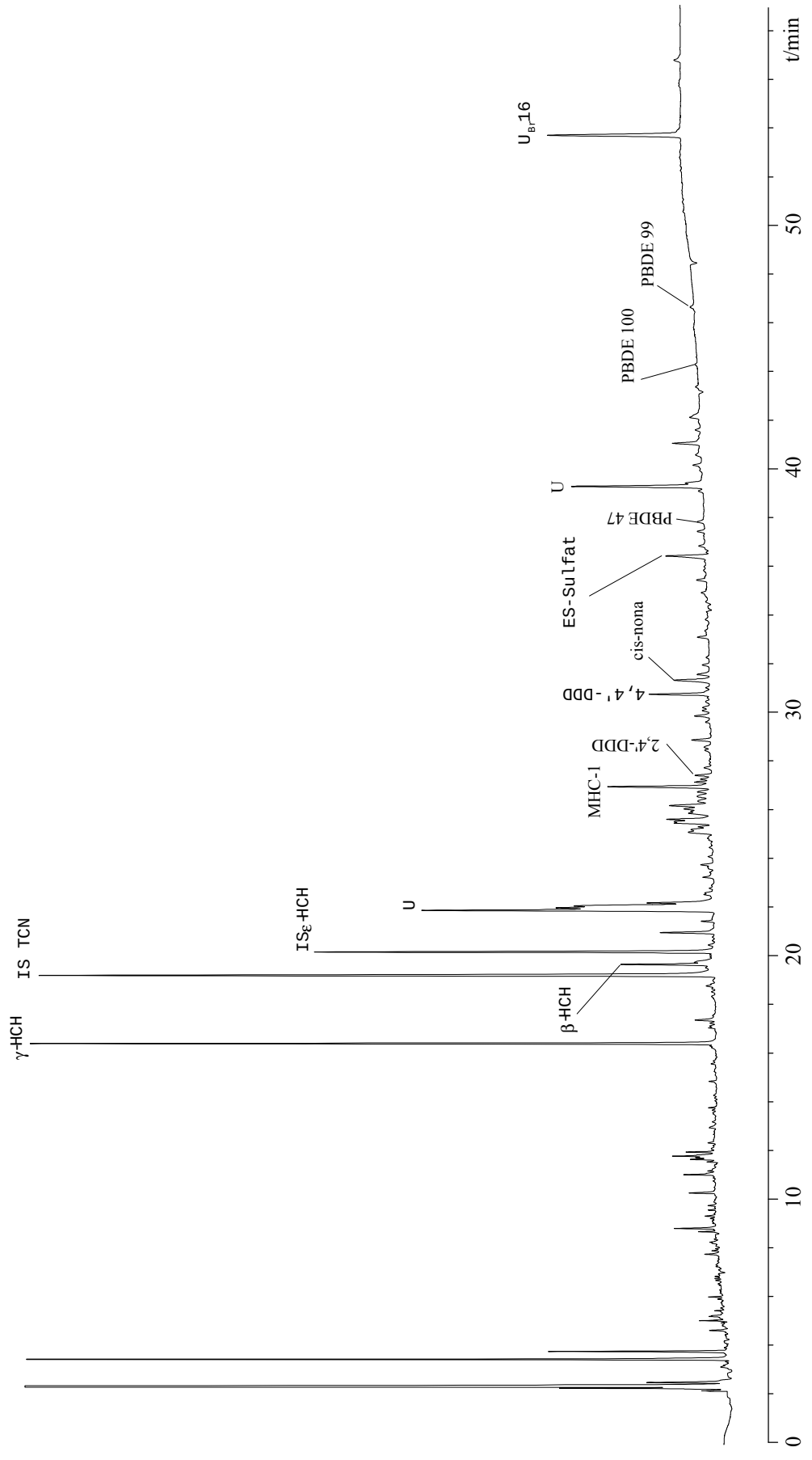


Abb. 4-28. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: CRM 349 B1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 110,9 mg) Trennbedingungen **ECD 2**

4.3.5.4 CRM 350 (CBR, zertifiziertes “Mackerel Oil”)

Tab. 4-17 Wiederfindungsraten einiger PCBs nach Aufarbeitung des CBR *CRM 350* (Mackerel Oil). Quantifizierung auf zwei verschiedenen Kapillaren mit ECD und MSD.

Kapillare/ Detektor	**SIL 19 ECD**		**SIL 8LB MSD(EI)**		**Referenz [Griepink 1988] CBR**	**[Schantz 1993a] DB 1701) ECD**
PCB	**gemessener Gehalt [µg/kg]**	**WF [%]**	**gemessener Gehalt [µg/kg]**	**WF [%]**	**zertifizierte Gehalte [µg/kg]**	**gemessener Gehalt [µg/kg]**
18	n.n.		4,6			
28	11,7	**51**	15,7	**68**	23	25
31	n.d.		13,3			9
44	34,5	**80**	28,1	**65**	43	38
49	33,3	**64**	26,5	**51**	52	51
52	64,6	**104**	59,0	**95**	62	64
66	n.q.		45,2	**37**	122	<100>
87	50,0	**76**	32,3	**49**	66	66
95	n.q.		61,7			
99	90,0		67,1			49
101	131,9	**80**	139,0	**85**	164	<165>
105	60,8		32,7			35
110	93,7		91,1			149
118	106,0	**75**	109,4	**77**	142	147
128	40,5	**101**	28,6	**72**	40	37
138	261,3	**95**	180,3	**66**	274	279
149	139,7	**60**	136,6	**58**	234	236
151	51,1	**72**	44,6	**63**	71	74
153	231,8	**73**	291,9	**92**	317	298
156	10,7		10,8			10
170	42,7	**122**	32,4	**92**	35	<35>
180	60,6	**83**	63,2	**87**	73	79
183	17,8		6,1			40
187	76,8	**77**	68,1	**68**	100	106
194	9,6		6,1			
195	4,2		2,8			
206	8,5		2,1			
209	2,5		1,8			
IS 103		**80**		**79**		

Für das CRM 350 liegen die Wiederfindungsraten der PCBs vorwiegend zwischen 70- und 100 %. Abweichungen erhält man für das PCB 28, welches auf der SIL 19 teilweise mit dem PCB 31 koeluiert. Bei PCB 49 treten ähnlich niedrige WFs auf, wie schon bei dem SRM 1588. Warum die WF für das PCB 87 auf der SIL 8 so niedrig ist, lässt sich nicht erklären. Bei PCB 138 sieht man wieder die Koelution auf der SIL 19 mit den PCBs 163 und 164. PCB 149 hat wie schon im SRM 1588 einen niedrigen Wert auf beiden Säulen. Für das PCB 170 sieht man wiederum sehr schön die matrixabhängige Koelution mit dem PCB 199. Die

Wiederfindungsraten für PCB 103 liegen mit 80 % in einem sehr guten Bereich. Auch der Vergleich mit den Gehalten, welche von Schantz in dem CRM 350 gefunden wurden, zeigen bis auf ein paar Ausnahmen eine gute Übereinstimmung der restlichen Gehalte [Schantz 1993a].

Für die Organochlorpestizide ergeben sich Wiederfindungsraten vergleichbar mit denen der anderen Referenzmaterialien. Lediglich für cis-Chlordan sind die SIL 19 Werte durch Koelution mit einer unbekannten Substanz zu hoch. Für die DDX-Gruppe tritt wieder das gleiche Problem wie schon zuvor auf. Bis auf das 4,4'-DDE und 4,4'-DDT haben alle anderen sehr schlechte Wiederfindungsraten, die für beide Säulen ungefähr gleich ausfallen. Auffällig ist der von Schantz gefundene Wert für das 2,4'-DDT, der sehr gut mit den hier nachgewiesenen Gehalten übereinstimmt. Die Anaylse erfolgte dort auch auf eine der SIL 19 vergleichbaren DB 1701.

Die Wiederfindungsraten von ε-HCH liegen mit 70 % dagegen durchaus in einem guten Bereich.

Tab. 4-18 Wiederfindungsraten einiger Organohalogenverbindungen nach Aufarbeitung des CBR *CRM 350* (Mackerel Oil). Quantifizierung auf zwei verschiedenen Kapillaren mit ECD und MSD.

Kapillare/ Detektor	**SIL 19 ECD**		**SIL 8LB MSD(EI)**		**Referenz [Griepink 1988] CBR**	**[Schantz 1993a] DB 1701) ECD**
Org. Halogen	**gemessener Gehalt [µg/kg]**	**WF [%]**	**gemessener Gehalt [µg/kg]**	**WF [%]**	**zertifizierte Gehalte [µg/kg]**	**gemessener Gehalt [µg/kg]**
HCB	22,4	**112**	21,0	**105**	20	22
α-HCH	31,1	**141**	33,5	**152**	22	23
γ-HCH	56,5	**135**	54,0	**129**	42	52
HCE	15,3		15,0			
cis-CD	29,2	**266**	11,0	**100**	11	12
trans-Nona	19,9	**133**	17,8	**118**	15	14
cis-Nona	3,0		0,0			
Dieldrin	0,0	**-**	0,0	**-**	80	87
2,4´-DDE	12,9	**34**	1,9	**5**	38	34
4,4´-DDE	118,7	**109**	100,0	**92**	109	119
2,4´-DDD	0,0	**0**	0,0	**0**	31	24
4,4´-DDD	8,2	**10**	5,5	**7**	81	79
2,4´-DDT	13,1	**23**	14,0	**25**	57	18
4,4´-DDT	141,1	**193**	62,1	**85**	73	79
IS ε-HCH	-	**68**	-	**70**	-	
PBDE 47	37,0					
PBDE 100	-					
PBDE 99	-					
PBDE 85	-					
PBDE 154	-					
PBDE 153	-					

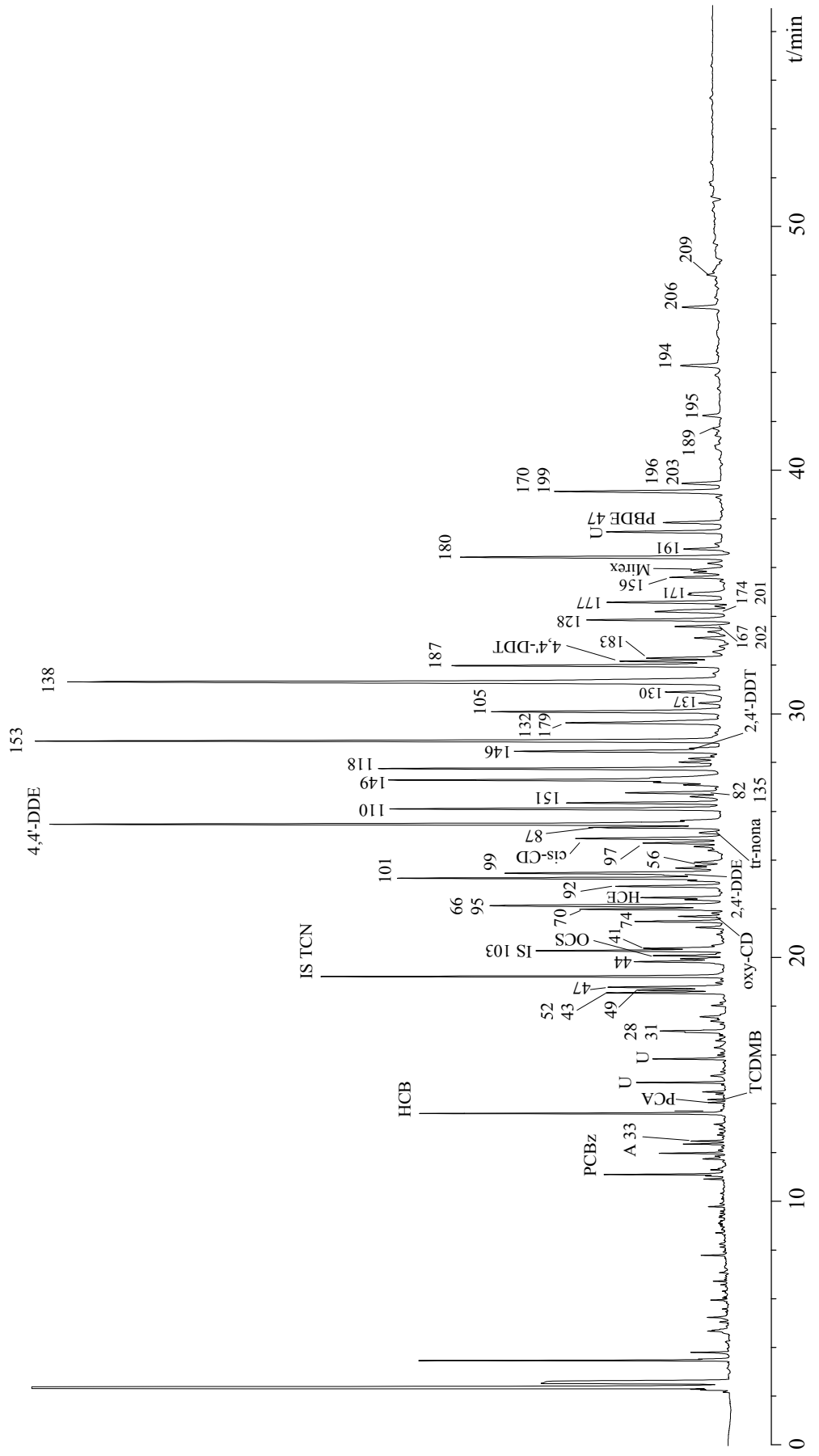


Abb. 4-29. HRGC(SIL 19)/ECD-ChromatogrammCRM 350 N1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 125,2 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

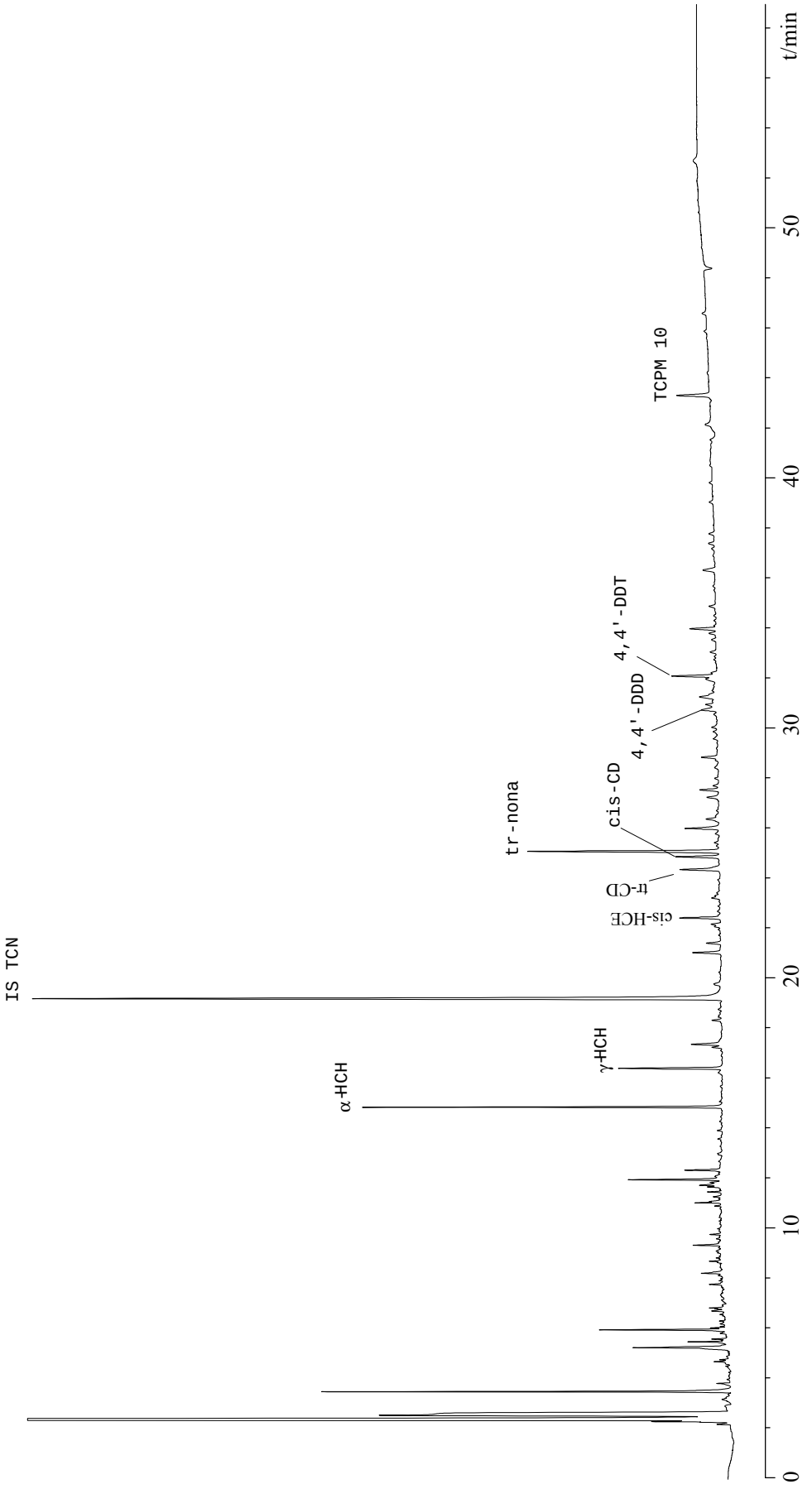


Abb. 4-30. HRGC(SIL 19)/ECD-ChromatogrammCRM 350 N2-Fraktion; (Lipid Aliquot: 125,2 mg)

Trennbedingungen **ECD 2**

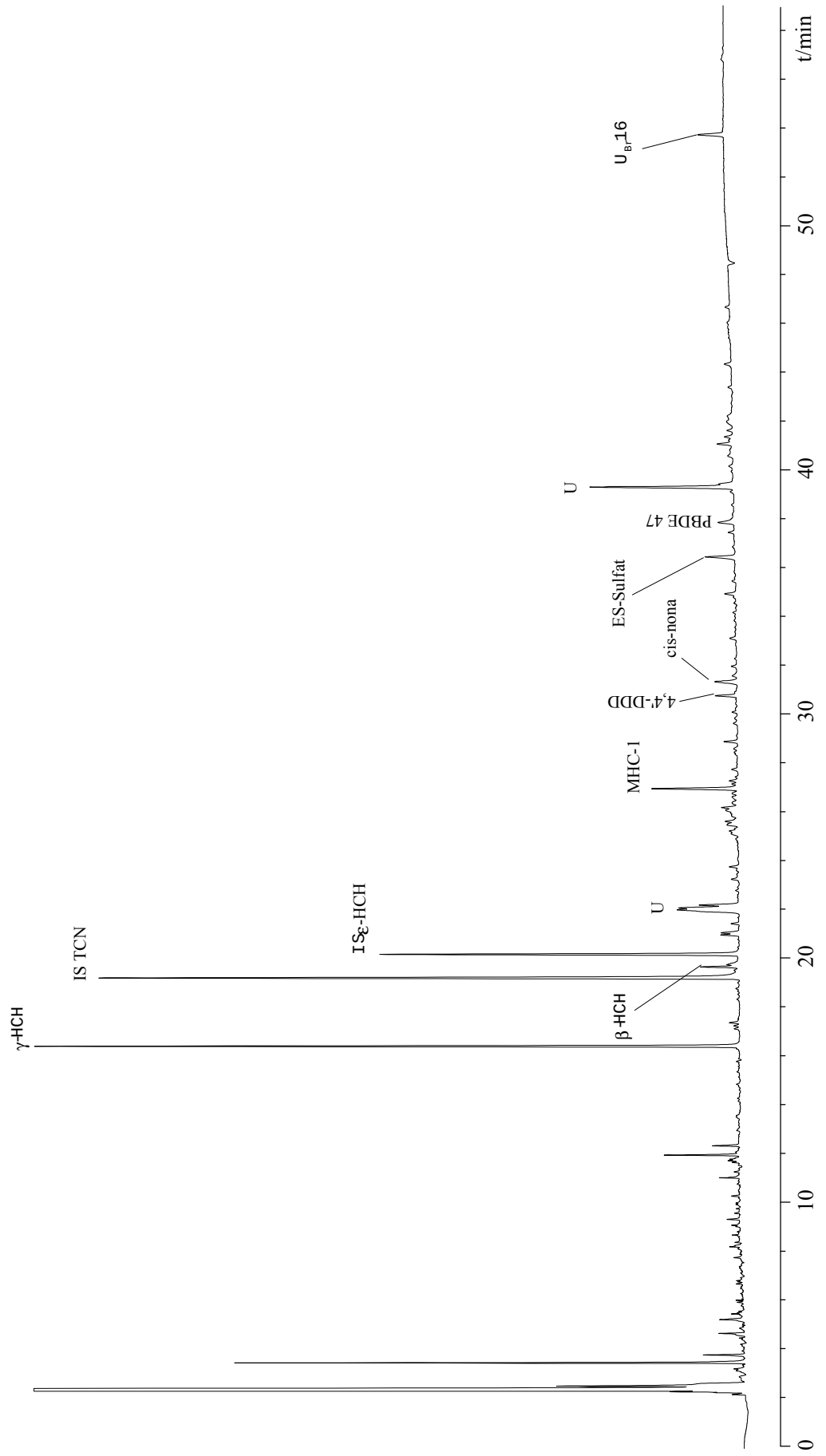


Abb. 4-31. HRGC(SIL 19)/ECD-ChromatogrammCRM 350 B1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 125,2 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

4.3.6 Nachweis und Bestimmungsgrenzen

Als Nachweisgrenze (NWG; *engl: **l**imit **o**f **d**etection,* LOD) eines Verfahrens bezeichnet man die Konzentration (oder Masse) einer nachzuweisenden Substanz, bei der im Detektor ein dreifach intensiveres Signal im Vergleich zum Rauschen nachweisbar ist (*Signal to Noise:* S/N). Für die Bestimmungsgrenze (BG) gilt als Voraussetzung ein Signal/Rausch-Verhältnis von mindestens 10 (*engl: **l**imit **o**f **q**uantitation,* LOQ).

Sowohl die NWG als auch die BG müssen für die entsprechenden Substanzen ermittelt werden.

Der nachweisstärkste Detektor für Organohalogenverbindungen in der Gaschromatographie ist der ECD. Für manche Verbindungen hat der Massenselektive Detektor (MSD) mit Negativ Chemischer Ionisierung (NCI) im SIM-Modus einen ähnlich empfindlichen Response (siehe dazu Kapitel 4.2.6 und 4.4.3).

Der lineare Bereich (konstante Empfindlichkeit) des ECD fängt für schwerflüchtige Organohalogenverbindung bei ungefähr 1 pg Absolutmenge an. Die untere Grenze des Linearitätsbereiches ist immer die Nachweisgrenze für die Substanz. Einige hochhalogenierte (fluoriert, chloriert und bromiert) Verbindungen haben einen deutlich besseren Response im ECD und sind damit auch im oberen Femtogrammbereich noch nachweisbar. Bei einem Injektionsvolumen von 2 µL Lösung in den Gaschromatographen ergibt sich somit im Normalfall eine Bestimmungsgrenze von 0,5 pg/µL als Mindestkonzentration in dem eingeengten Probenextrakt. Ausgehend von einer extrahierten Lipidmenge von 200 mg und einem Endvolumen von 100 µL ergibt sich eine Bestimmungsgrenze von 0,5 µg/kg extrahierter Lipidmenge, was einer 10 g (Nassgewicht) Gewebeprobe mit 2 % Fettanteil entsprechen würde. Bei Geweben mit höheren Lipidgehalten liegt die Bestimmungsgrenze entsprechend höher. Allerdings ist die BSG sehr von der Reinheit der injizierten Probenlösung abhängig. Bei der Bestimmung von Organohalogenverbindungen mittels GC-NCI-MS im SIM (Chlor- bzw. Brom-Spur) waren der Einfluss der Matrix und das Grundrauschen sehr gering, weshalb auch dort in Abhängigkeit des Responses vergleichbare niedrige BSGs und NWGs wie beim ECD vorkamen (siehe auch Kapitel 4.4.3).

4.3.7 Nachweis von POPs in einer schwach belasteten Schafshirn-Probe

Die Gewebeprobe eines Schafhirns (Kalifornien, USA), welche eine sehr geringe Belastung mit Organohalogenverbindungen aufweisen sollte, wurde mit der zuvor beschriebenen Probenaufarbeitung analysiert. Es soll damit die Blindwertbelastung des gesamten eingesetzten Clean-Up-Verfahrens aufgezeigt werden. Dem eingefrorenen Schafshirn wurden dazu ca. 40 g (Nassgewicht) Gewebe entnommen und analysiert.

Die gefundene PCB-Grundbelastung (Σ (28 PCB)) ist mit 11 µg/kg Lipid sehr gering und der DDT-Metabolit 4,4'-DDE hat nur einen Gehalt von 9,5 µg/kg Lipid. Der Summengehalt der HCHs beträgt 1,2 µg/kg Lipid, bei einer Verteilung von α:β:γ von 14:70:16 %. Zusätzlich waren die leichtflüchtigeren Verbindungen PCBz und HCB mit 3,3 bzw 2,6 µg/kg Lipid zu detektieren, ebenso in der N2-Fraktion die Tetrabrom- (PBDE 47) mit 1,2 µg/kg und Pentabromdiphenylether (PBDE 99 und PBDE 100) mit jeweils 0,2 µg/kg. Untersuchungen des Vorkommens von Organochlorpestiziden im Gehirn von Säugern sind durch die als Sperre wirkende Blut-Hirn-Schranke besonders interessant.

Auffällig ist die Verbindung, welche in dem HRGC-ECD-Chromatogramm (siehe **Abb. 4-33**) in der N1-Fraktion am Anfang eluiert. Durch Aufnahme eines Massenspektrums im NCI-Modus konnte sie als ein Di-Chlor-Brom-Benzol identifiziert werden (siehe NCI-Massenspektrum **Abb. 4-32**).

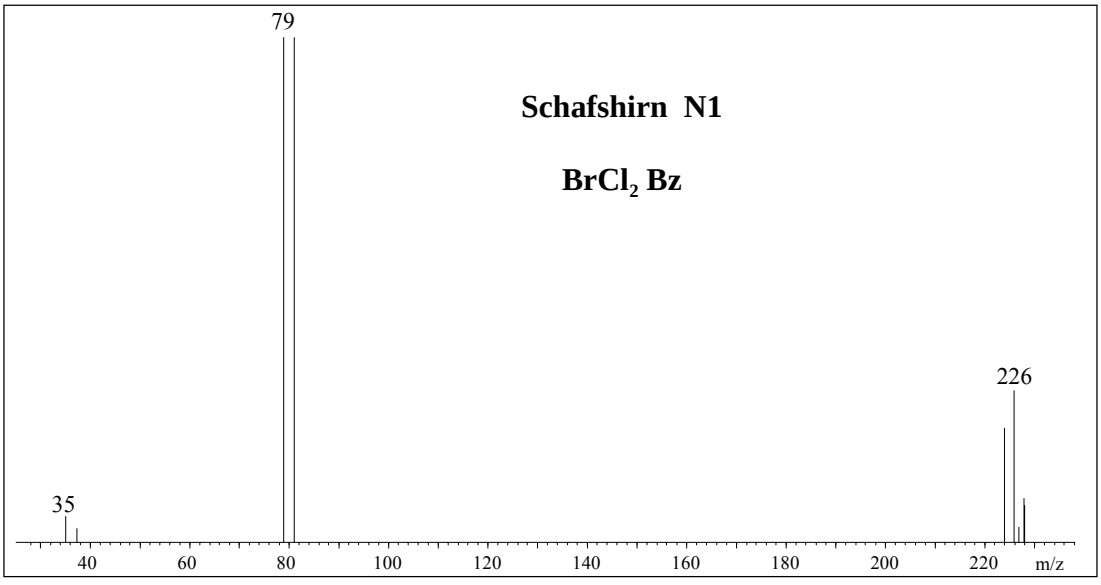


Abb. 4-32 NCI-Massenspektrum (Scan 30 – 240 amu) des Brom-Dichlorbenzols ($BrCl_2Bz$) in Der N1 Fraktion der Schafshirnprobe

Die Analyse dieser nur im unteren µg/kg Bereich und damit sehr schwach belasteten Probe zeigt auf, dass die entwickelte Probenaufarbeitung auch im unteren Konzentrationsbereich von Organohalogenen in Bioproben anwendbar ist. Die Gehalte liegen noch im Bereich der in Kapitel 4.3.6 ermittelten Bestimmungsgrenze für dieses Verfahren und die Detektion mit dem ECD.

Bei der Aufarbeitung wurde der Blindwert aller Analysenschritte genauestens überwacht. Die Aufarbeitung erfolgte ausschließlich unter der Reinbank. Durch eine ständige Kontrolle des Rotationsverdampfers und der HPLC wurde die Kontamination der Probe durch die Umgebung ausgeschlossen, sodass die gefundenen Gehalte in der Probe echt sind.

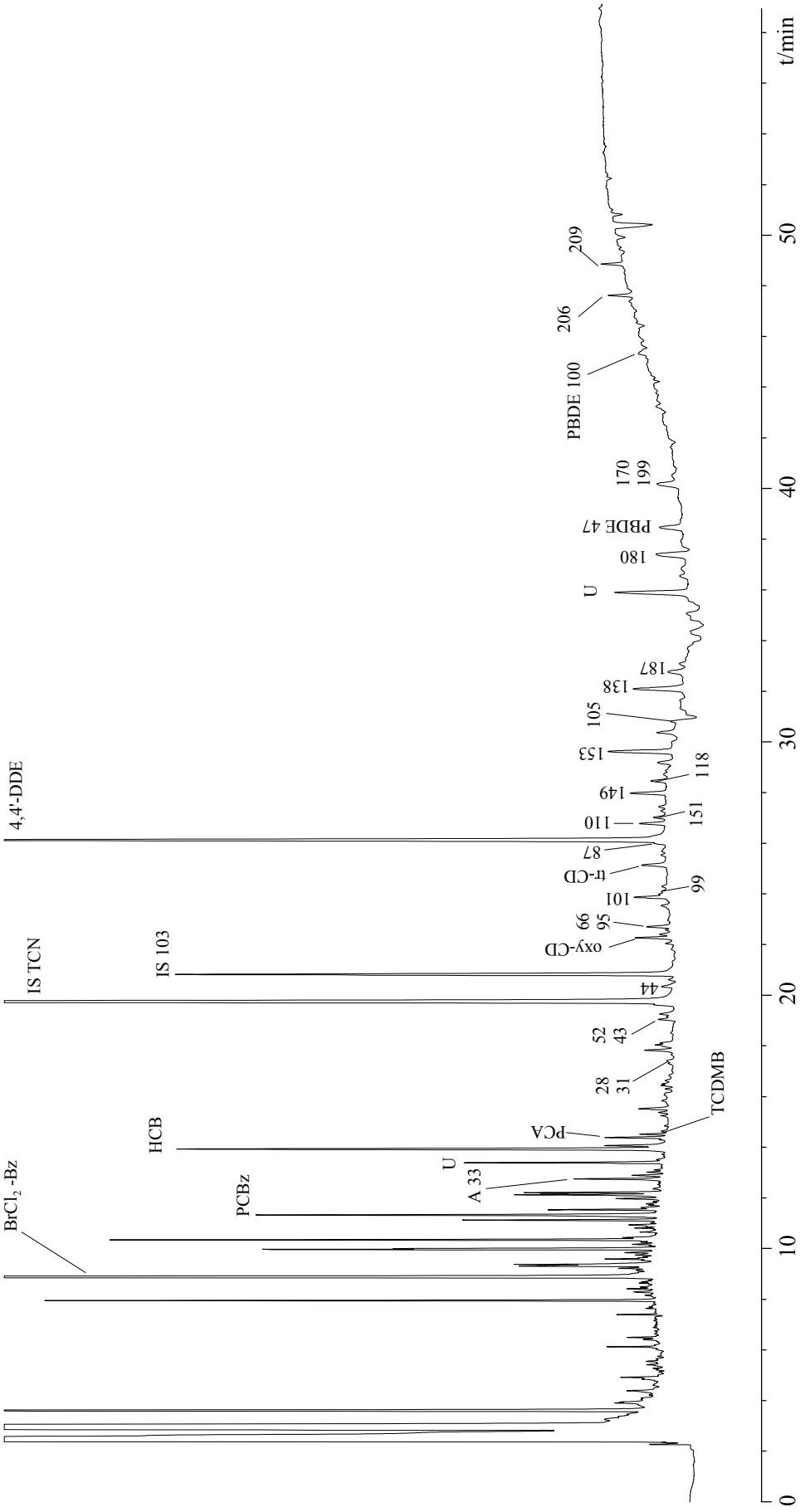


Abb. 4-33. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: Schafhirn, Kalifornien, USA, N 1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 500,0 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

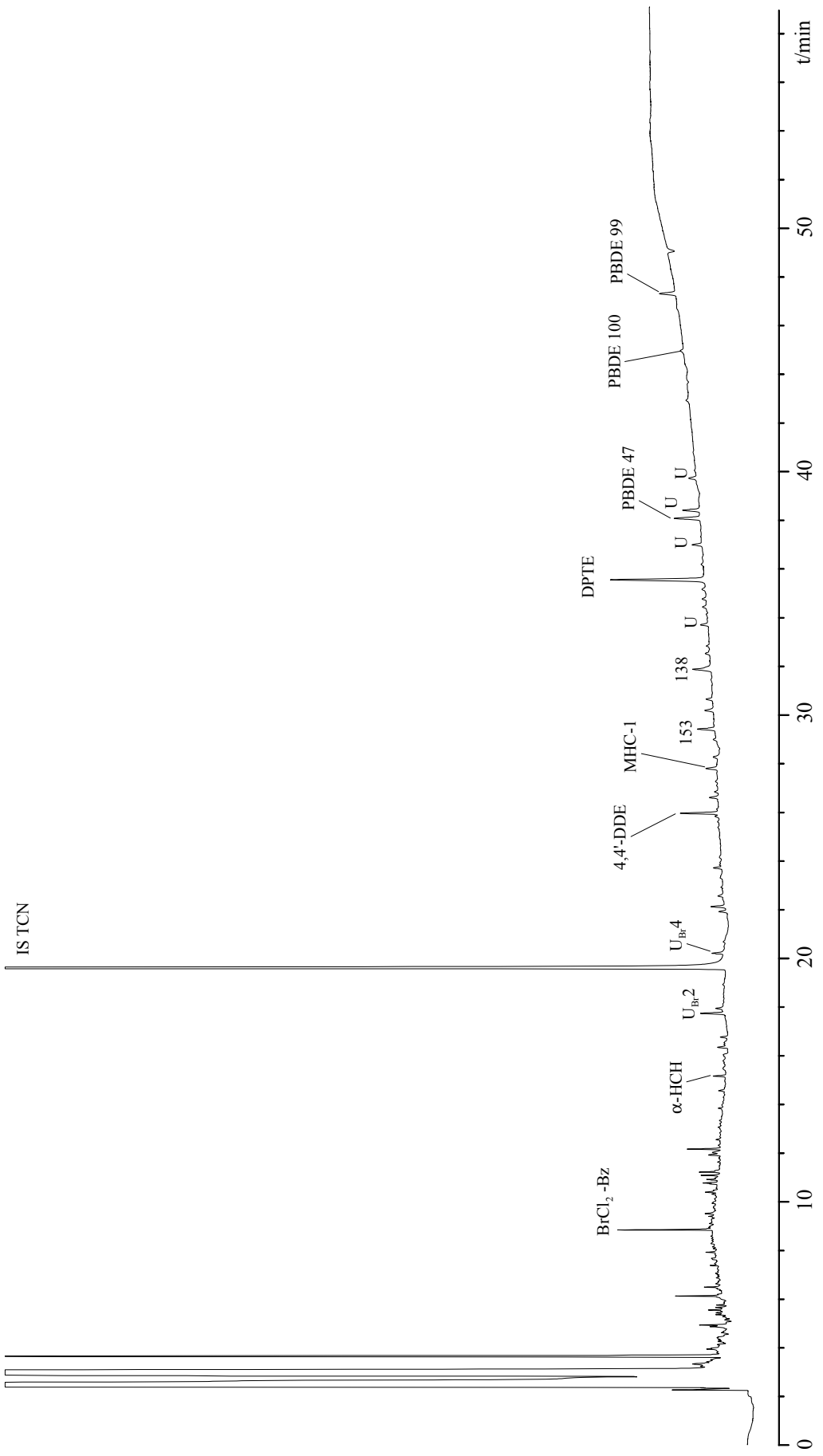


Abb. 4-34. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: Schafhim, Kalifornien, USA, N 2-Fraktion; (Lipid Aliquot: 500,0 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

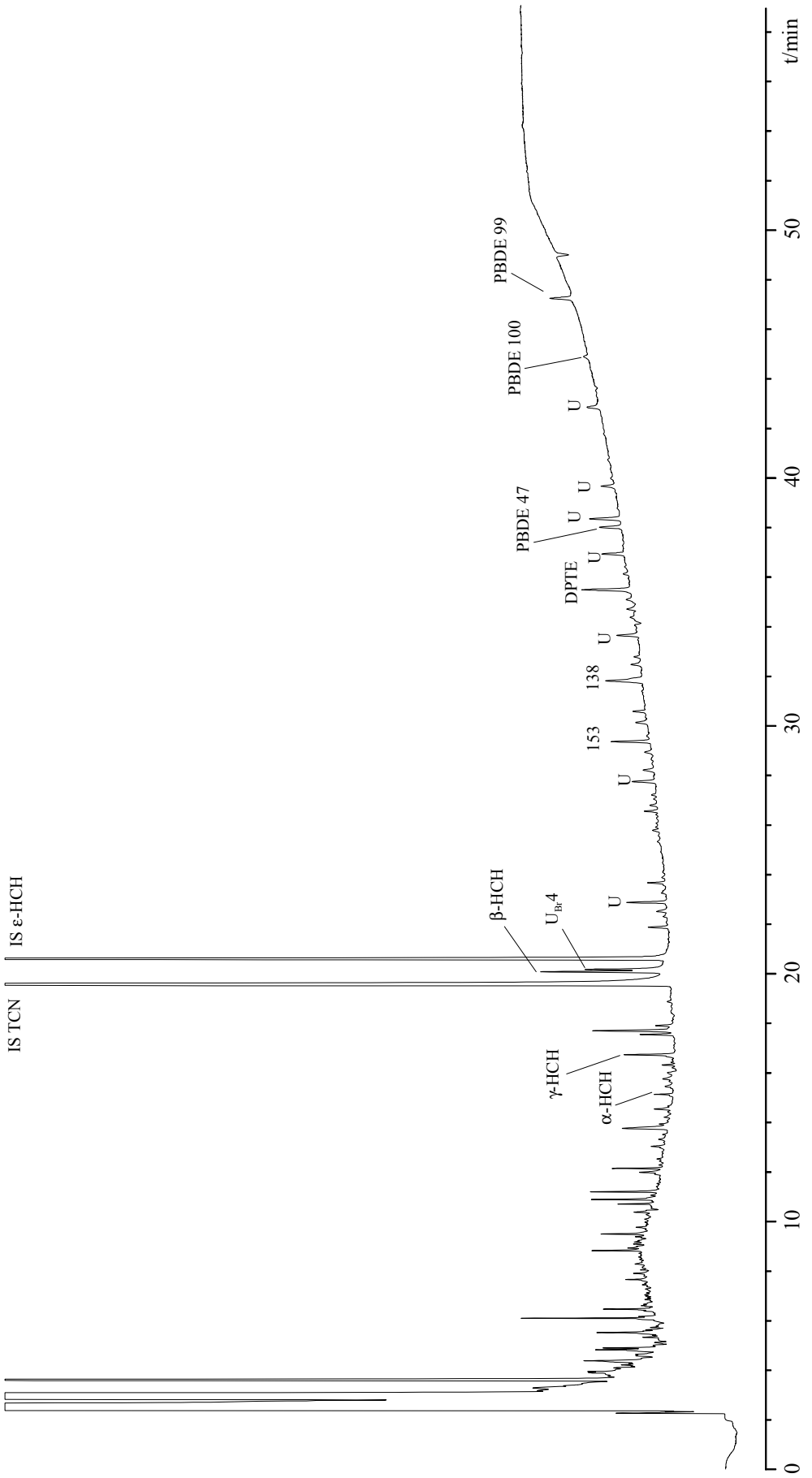


Abb. 4-35. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: Schafhirn, Kalifornien, USA, B 1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 500,0 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

4.3.8 Übersicht der gesamten Probenaufarbeitungen

Tab. 4-19 zeigt die für die in der Arbeit analysierten Proben eingesetzten Gewebearten, Lipidmengen und die daraus bestimmten Lipidanteile. In **Abb. 4-36** ist das Übersichtsschema mit den einzelnen Arbeitsschritten der gesamten Probenaufarbeitung schematisch dargestellt.

Tab. 4-19 Gesamtübersicht der eingesetzten Mengen und aufgearbeiteten Fischproben

Probe und (Nr.)	**Gewebe**	**Nassgewicht**	**Lipidanteil (extr.)**	
		[g]	**[g]**	**[%]**
SRM 1588	Fischöl[a)]	-	0,133	-
CRM 349	Fischöl[a)]	-	0,111	-
CRM 350	Fischöl[a)]	-	0,125	-
Schaf	Gehirn	22,51	0,500	**2**
Heilbutt (#2) *Golf v. Alaskae*	Filet	30,18	0,515	**2**
Heilbutt (#3) *Golf v. Alaska*	Filet	26,00	0,584	**2**
Heilbutt (#4) *Lucky Point A*	Filet	39,57	0,650	**2**
Heilbutt (#5) *Kuluk Bay*	Filet	24,81	0,657	**3**
Heilbutt (#6) *Amchitka*	Filet	33,07	0,543	**2**
Heilbutt (#7) *Attu*	Filet	42,81	0,507	**1**
Sandflunder *San Francisco (#1)*	Leber	5,07	1,649[b)]	**33**
Heilbutt (#8) *Lucky Point B*	Leber	3,41	1,247[b)]	**37**
Dorsch [e] (#9) *Kuluk Bay*	Leber	2,42	0,392	**16**
Dorsch (#10) *Zeto Point*	Leber	3,48	0,427	**12**
Dorsch (#11) *Sweeper Cove*	Leber	3,06	0,353	**12**
Miesmuscheln (#12) *Sweeper Cove*	Muschel[c)]	40,00	0,551	**1**

[a)] Die analysierte Probe ist ein Fisch-Lebertran mit 100 % Lipidantel

[b)] Gesamtlipidmenge auf zwei Aufarbeitungen verteilt

[c)] Bei der analysierten Muschelprobe wurde das komplette Muschelfleisch aus der Schale gelöst und zur Aufarbeitung verwendet.

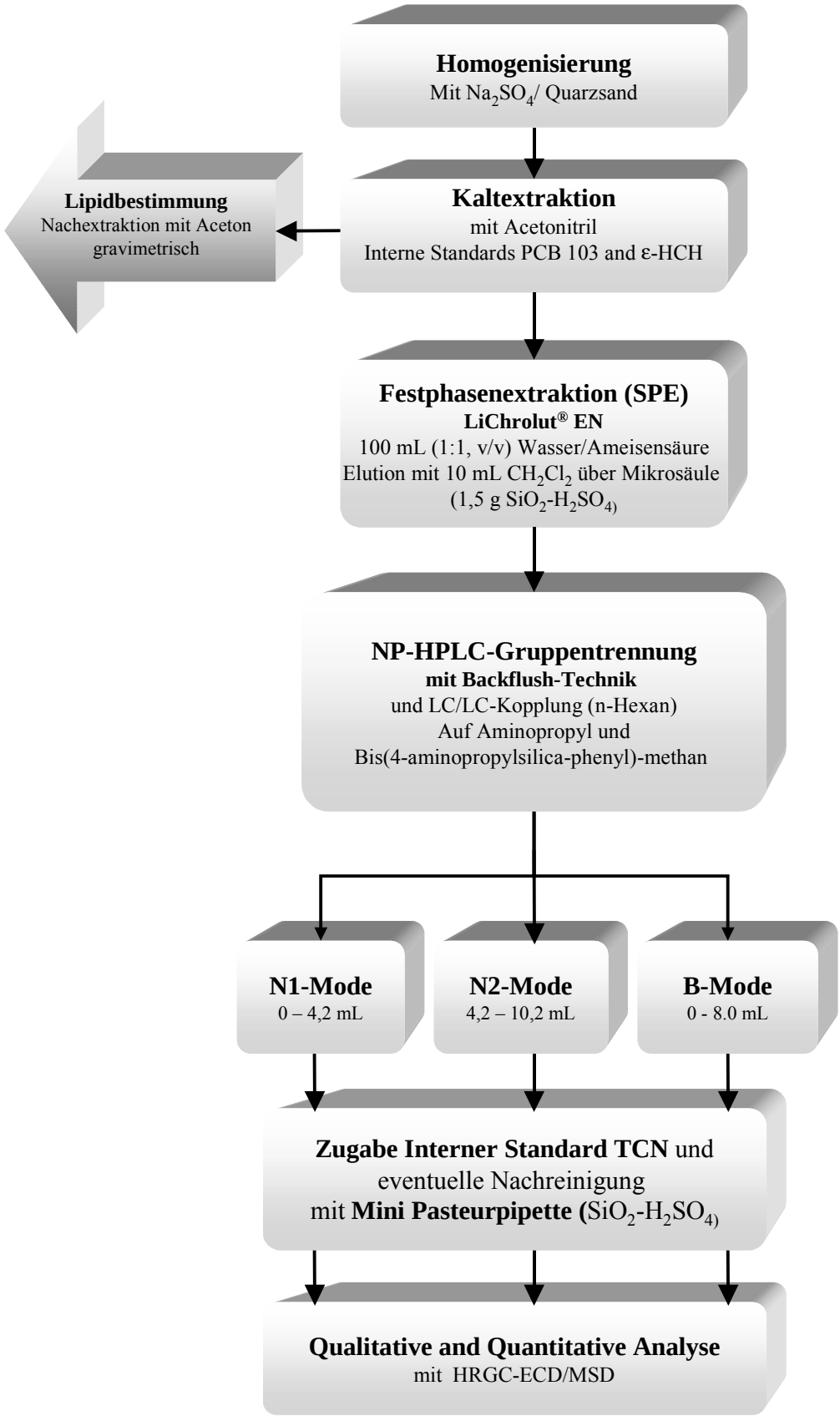


Abb. 4-36 Schema der Probenaufarbeitung von Fisch und Gewebeproben

4.4 GC-MS: Massenspektrometrische Untersuchung von Xenobiotika

4.4.1 Elektronenstoß-Ionisation

Bei der Elektronenstoßionisation (EI) (engl. *electron impact ionisation*) werden die Moleküle in der Ionenquelle in der Gasphase bei einem Vakuum von 10^{-5} bis 10^{-6} mbar mit hochenergetischen Elektronen beschossen. Die Elektronen werden von einer Glühkathode (Filament) emittiert und durch eine angelegte Potentialdifferenz (Beschleunigungsspannung-Elektronenenergie) zur Anode hin beschleunigt. Durch Kollision mit den Analytmolekülen M wird bei diesen mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit (Ionenausbeute) ein nichtbindendes Valenzelektronen aus dem Molekül herausgeschlagen (1). In seltenen Fällen kommt es zu zweifach positiv geladenen Ionen:

$$(1) \qquad M + e^-_{schnell} \rightarrow M^+_\bullet + 2e^-$$

Abhängig von der Stabilität des gebildeten Ions wird es als einfach geladenes Molekülkation $M^{\cdot+}$ detektiert oder fragmentiert unter Ion- und Radikalbildung in die Molekülfragmente A und B. (2,3), oder es kommt zum Neutralverlust durch Abspaltung des Neutralfragments D (4). Eine weitere Desaktivierung kann durch Umalgerungsreaktionen im Molekül geschehen (5):

$$(2) \qquad M^+_\bullet \rightarrow A^+ + B^\bullet$$

$$(3) \qquad M^+_\bullet \rightarrow A^\bullet + B^+$$

$$(4) \qquad M^+_\bullet \rightarrow C^+_\bullet + D$$

$$(5) \qquad M^+_\bullet \rightarrow {}^*M^+_\bullet$$

Das Auftreten eines bestimmten Ions erklärt man mit dem *Konzept der lokalisierten Ladung*: Die positive Ladung verschmiert nicht, sie ist entweder an einem einzelnen Atom lokalisiert oder an einer strukturellen Gruppierung und führt zur Gesamtstabilisierung des gebildeten Kations.

Um aus einem neutralen Molekül ein Elektron zu entfernen muss mindestens die Energie des 1. Ionisierungspotentials zugeführt werden. Für die meisten organischen Moleküle liegt sie im Bereich von 8 – 15 eV und 24 eV für Helium, welches üblicherweise als Trägergas bei der GC-MS eingesetzt wird. Bei Elektronenenergien unter 20 eV (Auftrittspotential der Fragmentionen) kommt es zu keiner messbaren Fragmentierung der Molekülionradikale. Das Optimum der Ionenausbeute liegt bei ca. 70 eV Elektronenenergie, darüber kommt es zu einer relativ hohen, nicht mehr reproduzierbaren Fragmentierung der Moleküle. Deshalb werden als Standard-Ionisierungs- bzw. Elektronenenergie international 70 eV zur Erstellung der EI-Spektren verwendet. Diese gute Reproduzierbarkeit ist Voraussetzung für die Erstellung von Spektrenbibliotheken und die Identifizierung unbekannter Substanzen anhand ihres Massenspektrums. Massenspektren-Bibliotheken sind heute auf allen modernen GC-MS-Systemen vorinstalliert.

4.4.2 Chemische Ionisation (CI)

Im Gegensatz zur EI-Ionisierung, die aufgrund der starken Fragmentierung der Moleküle als „harte“ Ionisationsmethode bezeichnet wird, fasst man unter Chemischer Ionisierung (CI, chemical ionisation) alle „weichen“ Ionisationsmethoden zusammen, welche unter Zuhilfenahme eines Reaktandgases oder dessen Reaktand-Ionen die Analyten in einer exothermen chemischen Gasphasenreaktion ionisieren.

Dazu wird das Reaktandgas mit dem Trägergas und den Analytmolekülen vermischt und in die Ionisierungskammer eingeleitet. Damit ein genügender Überschuss an Reaktandgas in der CI-Ionenquelle vorherrschen kann, ist diese im Vergleich zur EI-Quelle geschlossener konstruiert. Dadurch ist es möglich den erforderlichen Reaktandgasdruck in der Ionenquelle (ca. 1 Torr) und das Hochvakuum im Massenanalysator (ca. 10^{-4} Torr) aufrecht zu erhalten. Häufig verwendete leicht ionisierbare Reaktandgase sind Methan, Isobutan, Ammoniak und Argon, aber in manchen Fällen dienen auch Wasser, Methanol und Di-Stickstoffmonoxid N_2O (Lachgas) zur Ionisierung.

Durch Beschuss des Reaktandgases mit einem hochenergetischen Elektronenstrahl, analog zur EI, wird dieses in einer Primärreaktion ionisiert und es werden nach verschiedenen Mechanismen *(Sekundärreaktion*) simultan stabile positive und negative Ionen gebildet. Im Gegensatz zu den Ionen bei der EI-Ionisierung treten hier keine radikalischen Molekülionen auf. Allgemein erfordet aber die Bildung negativer Ionen einen höheren Reaktandgasdruck in der Quelle, wie dies für positive Ionen der Fall ist.

Je nachdem, ob Kationen oder Anionen aus der Ionenquelle heraus durch den Massenfilter zum Detektor hin beschleunigt werden, spricht man bei positiven Ionen von *Positiv Chemischer Ionisation (PCI)*, im anderen Fall von *Negativ Chemischer Ionisation (NCI).*

Positiv Chemische Ionisation (PCI)

Bei Methan als Reaktandgas bildet sich bei Elektronenbeschuss ein Plasma aus Methanionen:

$$CH_4 + e_{schnell} \leftrightarrow CH_4^+ + 2e$$

und durch Primärreaktionen weitere reaktive Spezies

$$CH_4^+ + CH_4 \rightarrow CH_5^+ + {}^{\bullet}CH_3$$
$$CH_3^+ + CH_4 \rightarrow C_2H_5^+ + {}^{\bullet}CH_3$$
$$CH_4 + e_{schnell} + CH_4 \rightarrow CH_5^+; C_2H_5^+$$
$$CH_4 + 2CH_2^+ \rightarrow C_2H_5^+ + {}^{\bullet}CH_3$$
$$C_2H_3^+ + 2CH_4 \rightarrow C_3H_5^+ + {}^{\bullet}CH_3$$

Die Zusammensetzung des Plasmas in der Ionenquelle ist sehr stark druck- und temperaturabhängig. Hauptsächlich besteht das Methanplasma aus CH_5^+ (m/z 17), $C_2H_5^+$ (m/z 29) und $C_3H_5^+$ (m/z 41).

Bei der Gasphasenreaktion mit dem Analyt M (in den folgenden Gleichungen meist als *XH* bezeichnet) bildet sich zunächst ein Stoss- oder Übergangskomplex M•H^+ (Quasimolekülion). Die eigentliche Ionenbildung erfolgt durch Protonenübertragung, Hydridabstraktion, Ladungsaustausch und unter Anlagerung (Sekundärreaktionen):

- Protonenübertragung:

$$XH + CH_5^+ \rightarrow XH_2^+ + CH_4$$ mit $[M+1]^+$ als Quasimolekülion

- Hydrid-Abstraktion:

$$XH + C_2H_5^+ \rightarrow X^+ + C_2H_6$$ mit $[M-1]^+$ als Quasimolekülion

- Kationenanlagerung:

$$XH + CH_5^+ \rightarrow (XH * CH_5)^+$$ mit $[M+17]^+$ als Quasimolekülion

- Ladungsaustausch:

$$XH + R_{reakt}^+ \rightarrow R_{reakt} + XH^+$$ mit $[M]^+$ als Molekülion

R_{reakt}: Reaktandgas (CH_4, Benzol, CO)

Anwendung findet die PCI hauptsächlich als sehr sanfte Ionisierung, ohne starke Fragmentierung. Damit lässt sich bei Bildung von Quasimolekülionen das Molekulargewicht einer unbekannten Verbindungen leichter ermitteln. PCI wurde im Rahmen der Arbeit nicht angewendet.

Negativ Chemische Ionisation (NCI)

Bei der Kollision von Reaktandgasmolekülen mit den Primärelektronen aus der Glühkathode werden diese abgebremst und es bilden sich energetisch schwächere Elektronen, die auch als thermische Elektronen bezeichnet werden. Zusammen mit den bei der Ionisierung des Methans entstehenden Sekundärelektronen lässt sich deren kinetische Energie über die Temperatur in der Ionenquelle steuern.

$$CH_4 + e^-_{schnell} \leftrightarrow CH_4^+ + 2e^-_{thermisch}$$

Negative Ionen werden durch die Aufnahme von thermischen Elektronen gebildet, wobei abängig von der Energie der Elektronen drei verschiedene Bildungsmechanismen existieren.

Unter EI-Bedingungen können ebenfalls negativ geladen Ionen entstehen, jedoch nur in zu geringer Konzentration. Die wichtigsten Elektroneneinfang-Mechanismen sind im folgenden beschrieben:

- (Resonanz)-Elektroneneinfang: $AB + e^- \rightarrow AB^-$
- Dissoziativer Elektroneneinfang: $AB + e^- \rightarrow A^- + {}^{\bullet}B$
- Ionenpaarbildung: $AB + e^- \rightarrow A^- + B^+ + e^-$

Außerdem entstehen negative Ionen durch Reaktion mit bereits gebildeten negativen Ionen:

- Protonenabstraktion: $XH + R^- \rightarrow (M - H)^- + RH$

  Stoffe mit azidem Wasserstoff (z.B. Alkohole) un H_2O als Reaktandgas:

  $XH + OH^- \rightarrow X^- + H_2O$

- Ladungsaustausch: $M + R^- \rightarrow M^- + R$

- Anionenanlagerung: $(C_nH_{2n+2}) + OH^- \rightarrow (C_nH_{2n+2}) * OH^-$

  langkettige Kohlenwasserstoffe lagern OH^- an

Verbindungen mit Halogenatomen, Schwefel oder anderen elektrophilen Substituenten wie Nitrogruppen- oder konjugierten Carbonylgruppen lassen sich mit der NCI besonders gut detektieren.

Hauptsächlich erfolgt die Ionisation der Organohalogenverbindungen bei der NCI durch den (Resonanz)-Elektroneneinfang und den dissoziativen Elektroneneinfang. Vergleichbare Vorgänge liegen auch dem Prinzip des Elektroneneinfangdetektors (ECD) zu Grunde. Daher wird die Negative Ionisation auch als *„**E**lectron **C**apture **N**egative **I**on Mass Spectrometry*“ (ECNI – MS) bezeichnet.

4.4.3 Responsevergleich halogenierter Verbindungen im ECD und im MSD

In der Gaschromatographie stellt der Elektroneneinfang die empfindlichste Detektionsmethode für halogenierte Verbindungen dar. Bei der Massenspektrometrischen Detektion (MSD) basiert die Negative Chemische Ionisation NCI auf dem gleichen Prinzip wie der Elektroneneinfangdetektor ECD (Electron Capture Detection).

Durch massenspektrometrische Detektion negativer Ionen erreicht man für Substanzen mit hoher Elektronenaffinität die niedrigsten Nachweisgrenzen in der Spurenanalyse organischer

Stoffe überhaupt, z. B. 100 ag (ato gramm: 10^{-16} g) absolut für Oktafluornaphthalin. Dies entspricht einer Menge von ca. 22 Mio. Molekülen!

Der Elektroneneinfang als Ionisierungsmethode ist durch die hohe Geschwindigkeit der Elektronen im CI-Plasma im Vergleich zu den sehr viel schwereren und langsameren positiven Reaktandionen um den Faktor 100 – 1000 empfindlicher als eine durch Diffusion begrenzte Ionen-Molekül-Reaktion, wie dies bei der PCI der Fall ist.

Eine hohe Elektronenaffinität und deshalb einen guten Elektroneneinfang haben Moleküle mit mehreren Halogensubstituenten oder auch mit Nitrogruppen.

Zum Vergleich des Responseverhaltens der PCBs bei EI- und NCI Ionisation wurden die Signal-Rauschverhältnisse der einzelnen Kongenere bei Aufnahme der SIM-Spuren der Molekülionen im EI- und NCI-Modus ermittelt und miteinander verglichen. Dazu wurden 2 µL einer PCB-Standardlösung mit 100 pg/µL Konzentration in den GC injiziert und einmal mit EI- und NCI-Ionisation im MSD im SIM-Modus detektiert. Die dominierenden Fragmente sind bei EI und NCI jeweils die Molekülionen M^+ bzw. M^-. Ermittelt wurden die S/N-Werte durch Messung der Signalhöhen und des Rauschens der SIM-Chromatogramme über die Auswertesoftware HP-Chemstation.

Tab. 4-20 Vergleich der S/N-Werte für PCBs bei EI und NCI-Ionisierung und Detektion im SIM-Modus auf einer SIL 8 Kapillare und Methan als CI-Gas.

PCB (200pg)	Chlor-Substitution	EI (SIL8) S/N	NCI (SIL 8) S/N	m/z	Absolutmenge [pg]
1	2	346	-	*188*	221.5
8	2,4’	155	-	*222*	229.9
28*	2,4,4’	530	18	*256*	221.7
52*	2,2’,5,5’	743	14	*292*	221.5
101*	2,2’,4,5,5’	142	697	*326*	218.1
118*	2,3’,4,4’,5	447	456	*326*	221.2
138*	2,2’,3,4,4’,5’	398	1255	*360*	217.2
153*	2,2’,4,4’,5,5’	930	657	*360*	218.6
170	2,2’,3,3’,4,4’,5	503	5783	*394*	219.1
180*	2,2’,3,4,4’,5,5’	360	2201	*394*	220.7
194	2,2’,3,3’,4,4’,5,5’	117	3615	*430*	211.5
206	2,2’,3,3’,4,4’,5,5’,6’	331	2097	*464*	214.4
209	2,2’,3,3’,4,4’,5,5’,6,6’	576	9750	*498*	220.9
IS 103	2,2’,4,5’,6	890	12	*326*	177.3

* PCB-Indikator-Kongener (Σ 7)

Dabei ist ersichtlich, dass ungefähr ab einer Penta – Hexachlorsubstitution (PCB 101, PCB 138 und PCB 170) mit zunehmender Zahl an Halogenatomen die Detektion mit NCI einen bis zu 30 fach höheren spezifischen Response liefert als bei EI (siehe **Tab. 4-20**).

Die gefundenen S/N-Werte zeigen, dass der Response von PCBs bei NCI innerhalb eines Chlorierungsgrades deutlich schwanken kann, während bei dem ECD diesbezüglich kaum Unterschiede zu erkennen sind (siehe **Tab. 4-20** und **Tab. 4-21**). Eine Ausnahme bildet in den Testmessungen PCB 28, welches jedoch eine teilweise Koelution mit PCB 31 hat.

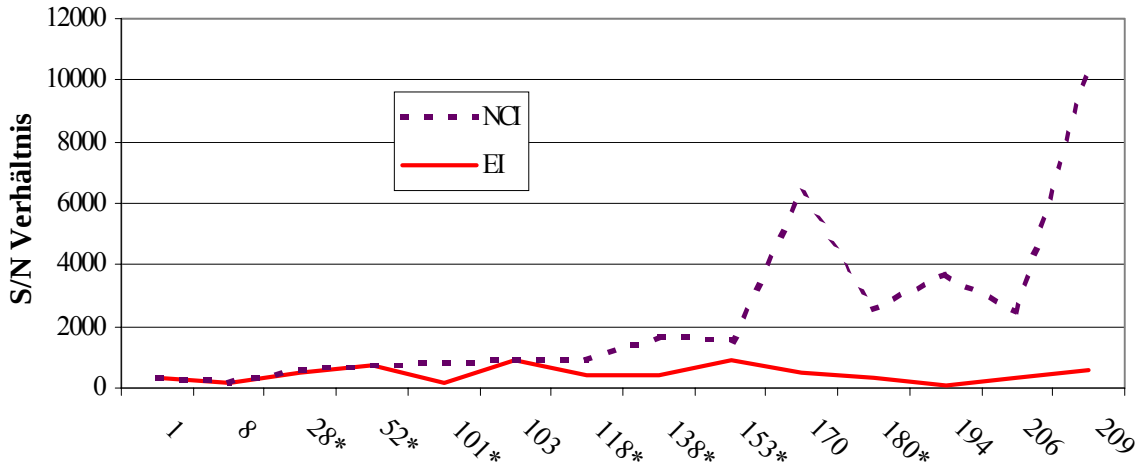


Abb. 4-37 S/N Abhängigkeit im EI- un NCI-Modus vom Chlorierungsgrad der PCBs

Für das unterschiedliche Responseverhalten bei NCI ist die Struktur und damit die Stellung der Chloratome im Molekül verantwortlich. Am deutlichsten wird der vom Substitutionsmuster abhängige Response bei dem fünfach chlorierten PCB 103. Im Unterschied zu den beiden anderen Pentachlorbiphenylen PCB 101 und PCB 118 hat dieser einen sehr viel schlechteren bis gar keinen Response bei der NCI (siehe **Tab. 4-21**). Ursache dürfte hier die Stabilität der gebildeten Ionen sein. PCB 103 hat drei Chloratome in Ortho-Stellung und ist deshalb weniger stabil als PCB 101 (2 ortho Chlor) und PCB 118 (1 ortho Chlor).

Tab. 4-21 Vergleich der Signal zu Rausch-Verhältnisse einzelner PCB-Kongenere im Chromatogramm bei der Detektion mit ECD und NCI/MS (SIM-Spuren der Hauptfragmente) bei 4 pg injizierter Absolutmenge (2 µL Injektion von 2 pg/µL-Standards);(vgl. **Abb. 4-38**)

PCB (4pg)	Chlor-Substitution	ECD (SIL 19) S/N	NCI (SIL 8) S/N	NCI (SIL 8) m/z	NCI/ECD
1	2		-	*188*	-
8	2,4’	10	-	*222*	-
18	2,2,5’	16	-	*256*	-
28*	2,4,4’	31	-	*256*	-
52*	2,2’,5,5’	24	-	*292*	-
101*	2,2’,4,5,5’	31	16	*326*	*0.5*
118*	2,3’,4,4’,5	29	72	*326*	*2.4*
138*	2,2’,3,4,4’,5’	40	73	*360*	*1.8*
153*	2,2’,4,4’,5,5’	38	130	*360*	*3.4*
170	2,2’,3,3’,4,4’,5	45	65	*394*	*1.4*
180*	2,2’,3,4,4’,5,5’	46	49	*394*	*1.1*
194	2,2’,3,3’,4,4’,5,5’	45	87	*430*	*1.9*
206	2,2’,3,3’,4,4’,5,5’,6’	43	97	*464*	*2.3*
209	2,2’,3,3’,4,4’,5,5’,6,6’	38	70	*498*	*1.8*
103	2,2’,4,5’,6	46	1[a)]	*326*	*0.02*[a)]
TCN	1,2,3,4	42	328	*266*	*7.8*

[a)] Für PCB 103 ist im NCI kaum ein Signal zu detektieren, woraus ein sehr geringer S/N-Wert resultiert

Während beim ECD das Signal durch das Messen einer durch Elektroneneinfang verursachten Verminderung des Grund-Stromflusses im Detektor zustande kommt, müssen bei der NCI die durch Elektroneneinfang gebildeten negativen Ionen ausreichend stabil sein, um im Massenanalysator nach Masse aufgetrennt zu werden und danach detektierbar zu sein. Im Falle von PCB 103 zerfällt oder entlädt sich das gebildete $[M]^-$ so schnell, dass eine ausreichende Intensität des Signals nicht zustande kommt.

Eine quantitative Bestimmung von Organohalogenverbindungen mit NCI ist deshalb nur mit spezifischen Responsefaktoren für jedes Kongener möglich.

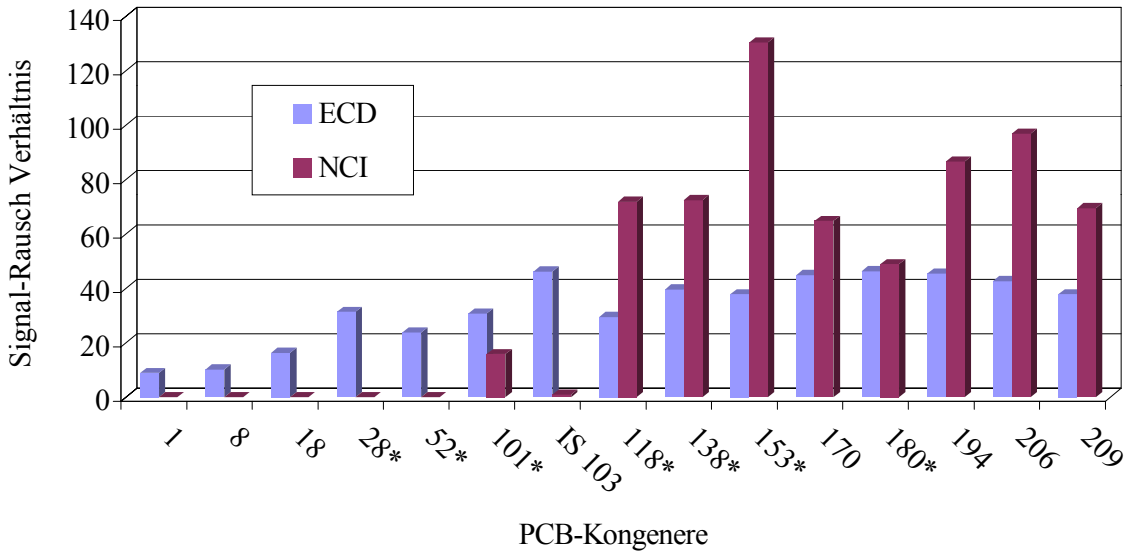


Abb. 4-38 Graphische Darstellung der Signal-Rausch- Verhältnisse einzelner PCB-Kongenere (*Indikatorkongenere) bei ECD- und NCI-Detektion von 4 pg injizierter Absolutmenge pro Substanz (vgl. **Tab. 4-21**)

Bei einem Vergleich der Signal-Rauschverhältnisse (S/N) der Organochlorpestizide im ECD und MSD mit NCI sieht man, dass bei allen Verbindungen die Detektion mit ECD deutlich nachweisstärker ist (siehe **Tab. 4-22**). Für die Ermittlung der S/N im MSD-NCI wurde nur die Chlorspur (bzw. beim A33 die Bromspur) betrachtet. Für eine Optimierung der Nachweisstärke im NCI ist es jedoch sinnvoller, die jeweiligen intensivsten Fragmentmassen der Pestizide zu verwenden (siehe NCI-Massenspektren im Anhang Kapitel **9** und **Abb. 4-45**).

Von Vorteil ist die Chlorabspaltung bei der Detektion der Verbindungen der DDX-Gruppe, welche relativ zu den anderen Organohalogenen einen höheren Response im NCI aufweisen, wie dies im ECD der Fall ist.

Bei dem 2,4,6-Tribromanisol (A33) erhält man einen erwartungsgemäß deutlich höheren Response bzw. S/N-Verhältnis im MSD-NCI im Vergleich zum ECD, da die Detektion des Bromid-Ions (m/z 79) im NCI besonders nachweisstark ist (vgl. Kapitel **4.4.4**).

Tab. 4-22 Vergleich der Signal zu Rausch-Verhältnisse einiger Organohalogene im Chromatogramm bei der Detektion mit ECD und NCI/MS (Chlor- bzw. Brom-Spur)

			ECD	MSD		
Organohalogen	**Gehalt**		**ECD (SIL 19)**	**NCI (SIL 8)**		**NCI/ECD**
	[pg]		S/N	m/z	S/N	
PCBz	353	(Cl_5)	703	*35*	30	0.04
A 33	308	(Br_3)	1051	*79*	2782	2.65
HCB	377	(Cl_6)	1518	*35*	23	0.02
PCA	292	(Cl_5)	1344	*35*	175	0.13
TCDMB	331	(Cl_4)	1442	*35*	76	0.05
α-HCH	385	(Cl_6)	1133	*35*	151	0.13
β-HCH	389	(Cl_6)	585	*35*	60	0.10
γ-HCH	378	(Cl_6)	1131	*35*	163	0.14
IS ε-HCH	359	(Cl_6)	541	*35*	63	0.12
Heptachlor	379	(Cl_7)	1150	*35*	437	0.38
Aldrin	380	(Cl_6)	974	*35*	319	0.33
OCS	340	(Cl_8)	1259	*35*	203	0.16
oxy-Chlordan	387	(Cl_8)	792	*35*	258	0.33
cis-HCE	379	(Cl_7)	886	*35*	387	0.44
trans-Chlordan	390	(Cl_8)	919	*35*	175	0.19
cis-Chlordan	378	(Cl_8)	904	*35*	303	0.34
trans-Nona	381	(Cl_9)	874	*35*	248	0.28
cis-Nona	387	(Cl_9)	793	*35*	73	0.09
α Endosulfan	383	(Cl_6)	745	*35*	191	0.26
β Endosulfan	389	(Cl_6)	591	*35*	50	0.08
2,4´-DDE	379	(Cl_4)	631	*35*	219	0.35
4,4´-DDE	379	(Cl_4)	854	*35*	191	0.22
2,4´-DDD	378	(Cl_4)	477	*35*	137	0.29
4,4´-DDD	382	(Cl_4)	434	*35*	76	0.18
2,4´-DDT	376	(Cl_5)	479	*35*	43	0.09
4,4´-DDT	377	(Cl_5)	399	*35*	67	0.17
Endrin	390	(Cl_6)	645	*35*	174	0.27
Dieldrin	378	(Cl_6)	797	*35*	265	0.33
Endosulfan-Sulfat	384	(Cl_6)	368	*35*	6	0.02
Mirex	382	(Cl_{12})	496	*35*	85	0.17
TCPM10	443	(Cl_3)	139	*35*	11	0.08

4.4.4 MSD (NCI) von bromierten Verbindungen

Mit der NCI sind bromierte Verbindungen im MSD besonders nachweisstark und auch selektiv zu detektieren. Brom hat eine hohe Elektronenaffinität und tritt leicht als Bromid-Ion aus dem Molekül heraus. In den NCI-Massenspektren bromierter Verbindungen ist das $[Br]^-$ meistens das dominante Fragment und bei Aufnahme von NCI-SIM-Chromatogrammen werden die beiden Isotope des Broms mit m/z 79 und m/z 81 detektiert. Dies stellt einen sehr spezifischen Detektor für bromierte Verbindungen dar („Elementdetektor"). Ähnliches gilt für die Bildung von Chlorid-Ionen unter NCI-Bedingungen, jedoch ist das Chlor als Substituent keine so gute Austrittsgruppe wie das Bromid.

Zum Nachweis bromierter Verbindungen, speziell der polybromierten Diphenylether PBDE in Gewebeproben, wird die Bromspur (m/z 79 und 81) detektiert. Der störende Einfluss der Matrix ist bei dieser Ionisierungsmethode in diesem Massenbereich sehr gering, was in bestimmten Fällen eine empfindlichere Detektion zulässt als mit dem ECD, wo die Eindeutigkeit der Bromid-Detektion nicht gegeben ist.

Zum Vergleich der Empfindlichkeit und Nachweisstärke von ECD und MSD-NCI bei bromierten Verbindungen wurden 2 µL einer schwach konzentrierten quantitativen Lösung des technischen Produkts Bromkal 70-5DE mit ECD und NCI-SIM (m/z 79 und 81) untersucht und das Signal-Rausch-Verhältniss der Hauptkongenere bestimmt. **Tab. 4-23** zeigt die Gehalte und Massenanteile der PBDEs im Bromkal 70-5DE [Sjödin 1998] und die ermittelten S/N-Werte der PBDEs für ECD und NCI.

Tab. 4-23 S/N-Verhältnisse, Massenanteile und Gehalte der PBDEs in dem technischen Gemisch Bromkal 70-5DE in Isooktan bei ECD und NCI Detektion auf SIL 19 bzw. SIL 8 GC-Kapillaren

PBDE Nr.:	**Massenanteile**	**70-5DE 10**		**ECD (SIL 19)**	**NCI (SIL 8)**	**NCI/ECD**
	[%]	[pg/ul]	Abs. [pg]	S/N	S/N	
Gesamt		12				
47 (Br_4)	37,0	4,4	8,8	**88**	**40**	0.45
85 (Br_5)	1,60	0,2	0,4	**5,0**	**2,3**	0.46
99 (Br_5)	35,0	4,2	8,4	**95**	**44**	0.46
100 (Br_5)	6,80	0,8	1,6	**25**	**7,1**	0.28
153 (Br_6)	3,90	0,5	1,0	**9,0**	**3,2**	0.36
154 (Br_6)	2,50	0,3	0,6	**16**	**3,6**	0.22

Anhand der S/N-Werte lässt sich feststellen, dass der ECD für die bromierten Verbindungen um den Faktor 2 empfindlicher ist als bei NCI-Detektion. Die Nachweisgrenze der PBDEs bei NCI liegt für die meisten Kongenere zwischen 0,5 und 1 pg Absolutgehalt. Der ECD kann aufgrund seines besseren Signal-Rausch-Verhältnisses bromierte Substanzen bis 0,2 pg Absolutgehalt nachweisen. Allerdings handelt es sich hierbei um Standardsubstanzen, ohne Matrixeinflüsse, welche wie bereits erwähnt im ECD einen hohen Untergrund im Chromatogramm verursachen können. Diese Störeffekte haben bei der NCI

keinen so großen Einfluss und können ausgeblendet werden, was die Empfindlichkeit des MSD(NCI) gegenüber dem ECD bei Realproben deutlich besser werden lässt und die „Brom-Detektion“ zu einem wesentlichen Bestandteil der Spurenanalyse von Organohalogenverbindungen macht (siehe auch Kapitel 4.4.6).

4.4.5 Durchführung der GC-MS

Die massenspektrometrischen Untersuchungen und Bestimmungen der Analyten wurden sowohl im EI-Modus wie auch mit NCI-Modus an einem HP 5973 Quadrupol-MS-System (Fa. Hewlett Packard) durchgeführt. Das Gerät kann wahlweise im EI-Modus oder nach Einbau einer CI-Ionenquelle im PCI- und NCI-Modus mit CH_4 als Reaktandgas betrieben werden. Die quantitativen Messungen mittels GC-MS erfolgten auf 60 m Kapillarsäulen: SIL 8 LB (Fa. Varian) 0.32 mm I.D. und 0,25 µm Filmdicke, SIL 19 CB (Fa. Varian) 0,25 mm I.D. und 0,25 µm Filmdicke, und einer RET15 Säule, welche aus 10 m Retention Gap 0,32 mm I.D. (Dimethylpolysolixan) und 5 m DB 5 MS (J&W Scientific) 0,32 mm I.D. und 0,25 µm Filmdicke zum Einsatz. Bei Messungen mit den 60 m Säulen wurden immer 2 m Retentiongap verwendet. Die Performance des MS-Systems wurde durch laufende Vergleichsmessungen mit quantitativen Standard-Lösungen (PCBs und Pestizide) überprüft.

Die Aufnahme der Chromatogramme erfolgte im SIM- wie auch Fullscan Modus. Bei NCI-Ionisation lag der Scanbreich zwischen 30 und 800 amu.

4.4.6 Qualitative Bestimmung von POPs mit Hilfe der NCI-Massenspektrometrie

4.4.6.1 Bedeutung der NCI-MS für die Spurenanalyse

Für die Spurenanalyse halogenierter organischer Verbindungen in biologischer Matrix ist die Massenspektrometrie mit negativer chemischer Ionisation ein wichtiges Instrument zur Identifizierung einzelner Verbindungen in den meist sehr komplexen Substanzgemischen geworden. Die hohe Empfindlichkeit gegenüber halogenierten Molekülen im NCI-Modus beruht auf der hohen Elektronenaffinität der Halogenatome und damit der Bildung negativer Ionen und des weiteren auf der Stabilität der abgespaltenen Halogenide (z. B. Cl^- und Br^-), deren Isotope im Massenspektrometer direkt nachweisbar sind. Daher wird das MSD mit NCI auch im Falle der Halogenverbindungen als „Elementdetektor“ bezeichnet.

Aufgrund der „weichen“ NCI-Ionisierung kommt es zu keiner starken Fragmentierung der untersuchten Verbindungen und es ist meistens eine Detektion des Molekülionenclusters möglich. Dies liefert wiederum wichtige Informationen über das Molekül und dessen Struktur und gibt Aufschluss über das Molekulargewicht einer unbekannten Verbindung. Anhand des Isotopenclusters sind zusätzlich noch Aussagen über den Halogenierungsgrad möglich.

Aber von großer Bedeutung ist die selektive und sehr empfindliche Detektion chlorierter und bromierter Substanzen durch Aufnahme der Chlor- und Brom- SIM-Massen im NCI-Modus. Auch bei einer notwendigen Derivatisierung der Analytmoleküle mit perfluorierten Reagentien z. B. Heptafluorbuttersäre erreicht man eine extreme Nachweisstärke, indem die stark elektroaffinen Gruppen, in diesem Fall mit Fluor-Substituenten, für einen hohen Response im MSD sorgen und mit den entsprechenden SIM-Massen der Fragmente und der Intensität des substituierten Fluors detektiert werden können.

Die Identifizierung von unbekannten Stoffen über ihr EI-Fullscan Massenspektrum erfolgt durch das substanzspezifische Fragmentierungsmuster und den Vergleich mit anderen EI-Spektren in den großen Spektrenbibliotheken (z.B. NIST). Doch im extremen Spurenbereich (pg/g ≡ ppt ; 10^{-12}g) kann aufgrund der zu geringen Empfindlichkeit kein auswertbares EI-Fullscan Massenspektrum aufgenommen werden. Die GC-MS-Analyse erfolgte bislang größtenteils über die Aufnahme von EI-SIM-Chromatogrammen, wo jedoch nur Stoffe detektiert werden, deren Massen vorher eingegeben wurden.

Die NCI Methode ist hingegen deutlich empfindlicher und liefert auch bei diesen geringen Konzentrationen vollständige Fullscan-Spektren und damit wertvolle Informationen über die detektierten Verbindungen. Gerade durch neue GC-MS-Systeme sind die Nachweisgrenzen und die Reproduzierbarkeit der Spektren für den NCI-Modus deutlich verbessert worden.

4.4.6.2 Zuordnung mit Hilfe von NCI-Massenspektren und NCI-SIM

Bei der Spurenanalyse von Realproben wird neben der Detektion mit dem ECD und der standardmäßigen EI-SIM-Detektion der PCBs, Pestizide und PBDEs auch noch die NCI verwendet. Dabei werden NCI-Fullscans und SIM-Spuren gemessen. Der Scanbereich bei NCI Bedingungen liegt zwischen 30 - 800 amu. Als SIM-Massen werden die Chlor-(m/z 35 und 37) und Bromspuren (m/z 79 und 81), die Massen des Internen Standards TCN (m/z 266) und zusätzlich die Molekülmassen der Penta-(m/z 326), Hexa-(m/z 360) und Heptachlor (m/z 394) Biphenyle detektiert.

Die NCI-Fullscans sind für die Identifizierung und Zuordnung der Verbindungen in den Fischproben von großer Bedeutung. Dabei kann anhand der NCI-Massenspektren aus dem Probenchromatogramm durch Vergleich mit den Spektren der Standardsubstanzen zusätzlich eine Überprüfung der ECD-Zuordnung erfolgen. Aufgrund der wenig fragmentierenden NCI-Massenspektren mit geringem Grundrauschen lassen sich z. B. Koelutionen auf den GC-Trennsäulen im Massenspektrum durch Auftreten ihrer Molekülionencluster einfach erkennen und unbekannte Verbindungen über ihr NCI-Massenspektrum charakterisieren.

In Abb. 4-39 ist ein Chromatogramm (SIL19; Trennbedingungen MSD1.) der unpolaren Fraktion N1 einer Heilbutt Filetprobe (Amchitka, #6) dargestellt, welches im NCI-Fullscanmodus (30-800 amu) aufgenommen wurde. Es handelt sich dabei um eine nur schwach belastete Probe. Gemäß dem Responseverhalten der einzelnen Verbindungen lassen sich die Peaks gut identifizieren. Die höherchlorierten PCBs sind, verglichen mit dem ECD-Chromatogramm (siehe Abb. 5-7), im NCI-Scan deutlich besser sichtbar.

Bei der Analyse von Toxaphenen mittels GC-MS ist die NCI die geeignetste Ionisierungsmethode, da die Moleküle nicht wie bei EI fast komplett fragmentiert und zerschlagen werden, sondern anhand ihres intensivsten $[M\text{-}Cl]^-$ Fragments (siehe Abb. 4-41, Abb. 4-42 und Abb. 4-43) detektierbar sind. Im Fullscan-Modus lassen sich auf diese Weise Toxaphenkongenere in dem Chromatogramm leicht nachweisen und zuordnen. Am Beispiel von PCB 146 und einem Toxaphen Kongener ist in Abb. 4-39 dargestellt, wie im NCI-Scan 1 beide koeluierenden Stoffe identifiziert und zugeordent werden können. Dies ist von

wesentlichem Vorteil bei der Zuordnung der Peaks im ECD-Chromatogramm und generell zum Nachweis der Toxaphene in den Fischproben.

Auch bei der Identifizierung von Koelutionen mehrerer PCB-Kongenere ist die Aufnahme eines NCI-Spektrums sehr hilfreich, um die unterschiedlichen Molekülionencluster nachzweisen. Im NCI-Scan 2 in Abb. 4-39 ist dies am Beispiel des Hexachlorierten PCB 138 und der beiden Heptachlor-PCBs 163 und 164 aufgezeigt.

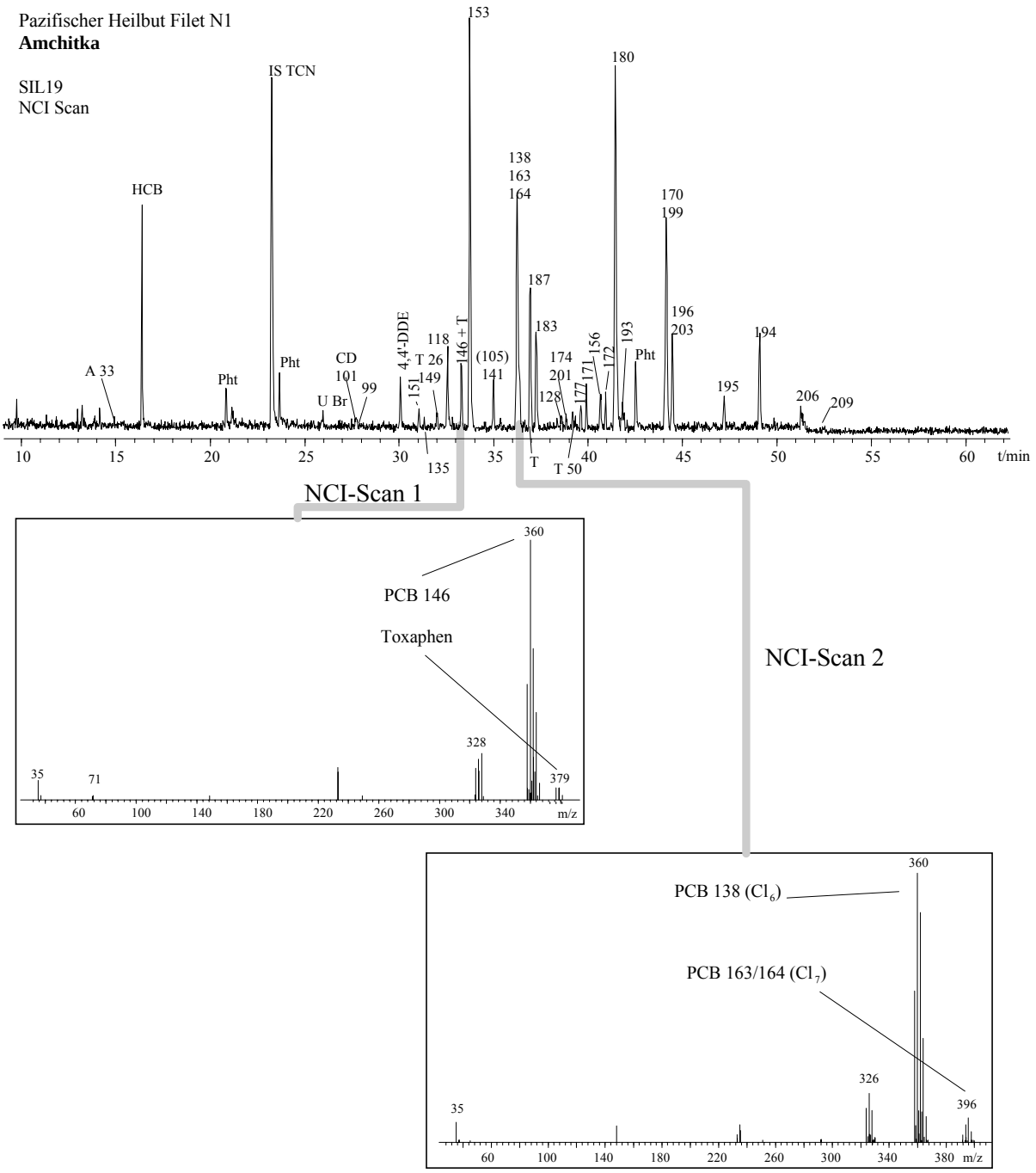


Abb. 4-39 HRGC (SIL 19)/MSD-Scan-(NCI)-Chromatogramm: Pazifischer Heilbutt Amchitka (#6), N1-Fraktion, mit NCI Massenspektren: Scan1 und 2: 30 – 400 amu. Trennbedingungen **MSD 1**.

Die NCI liefert auch einen wesentlichen Beitrag zur Identifizierung und Charakterisierung unbekannter Verbindungen in den Proben, wie am Beispiel der in Südatlantik-Fischproben stark akkumulierten heteroaromatischen Heptachlorverbindung Q1 bzw. U3 zu sehen ist [Hackenberg 2001, Wu 2002].

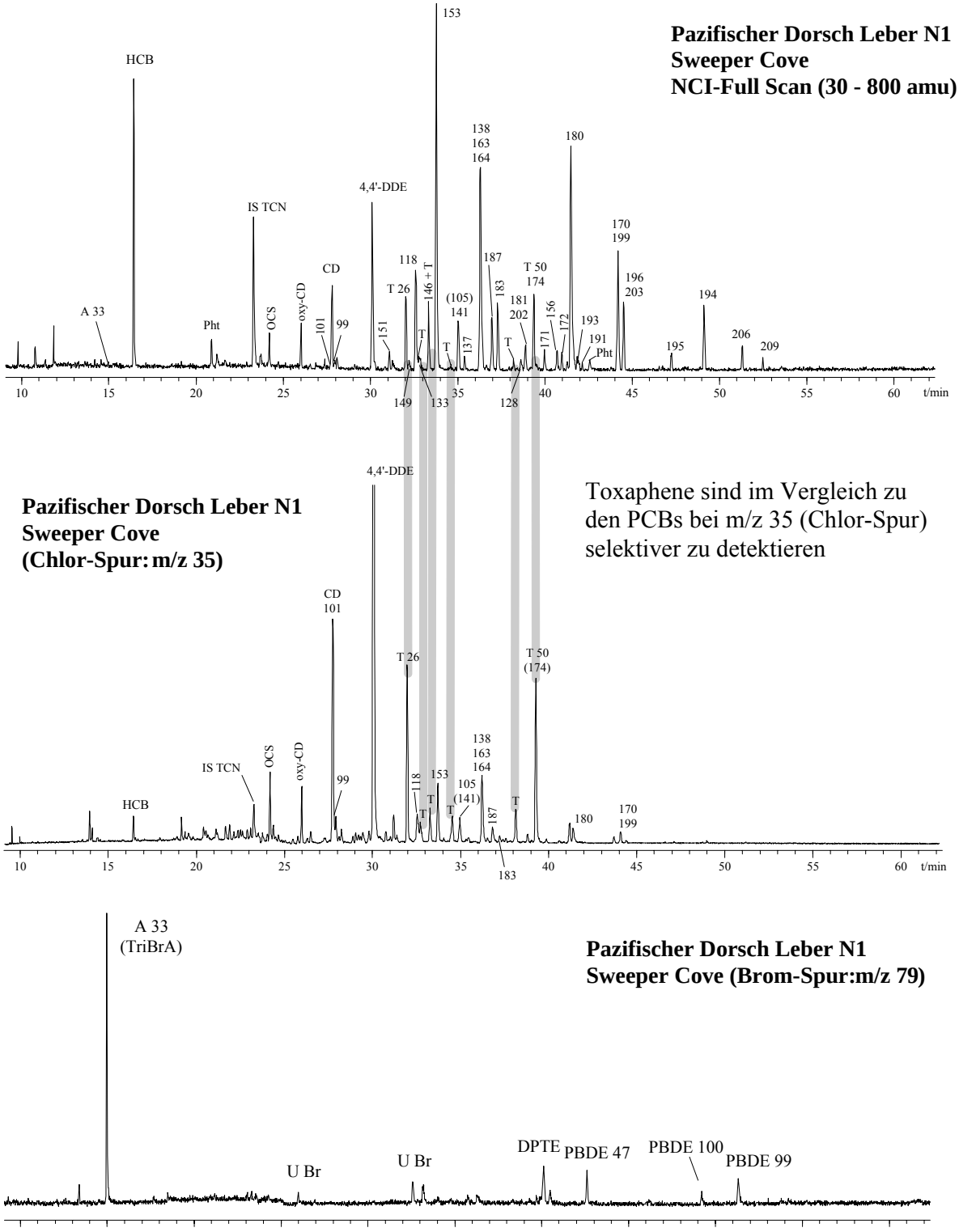


Abb. 4-40 HRGC (SIL 19)/MSD-Scan und SIM-(NCI)-Chromatogramme: Dorschleber (#11) N1 Fraktion. Darstellung der Toxaphene mit NCI-MS durch die Chlorspur (m/z 35). Trennbedingungen **MSD 1,** Zusätzlich wird die Bromspur (m/z 79) angezeigt.

Neben der Aufnahme eines NCI-Fullscan-Chromatogramms einer Probe erhält man bei der Detektion im SIM-Modus weitere wertvolle Information über die Verbindungen. Aufgrund der hohen Tendenz der meisten halogenierten Stoffe Chlor oder Brom in Form der Halogenide bei der NCI abzuspalten, können solche Verbindungen sehr spezifisch über SIM-Messungen der Isotope detektiert werden. Dazu wird die „Chlorspur“ mit m/z 35 und 37 detektiert und die „Bromspur“ mit m/z 79 und 81. Ein ähnliches Vorgehen dient der Detektion der Alkylnitrate über die SIM-Spur des NO_2-Ions mit der selektiven Masse m/z 46.

Betrachtet man das Fragmentierungsverhalten der Organohalogenverbindungen unter NCI Bedingungen, stellt man fest, dass ähnlich wie unter EI, bei aromatischen Verbindungen das Molekülion als intensivstes Signal im Massenspektrum auftritt, aber die Dechlorierung nur sehr schwach ist (siehe NCI Massenspektrum Pentachlorbiphenyl **Abb. 4-44**). Für die PCBs bedeutet dies, dass sie auf der Chlorspur kein starkes Signal liefern und im NCI-SIM-Chromatogramm etwas „ausgeblendet“ werden.

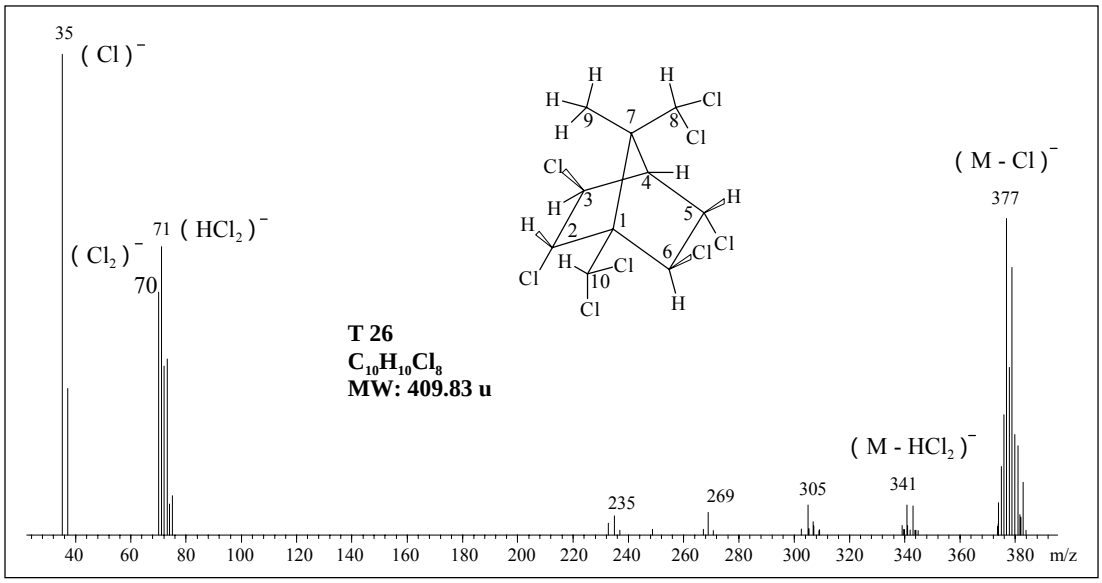


Abb. 4-41 NCI-Massenspektrum (Scan 30 – 400 amu) von Toxaphen-Kongener T 26

Wie in den NCI Massenspektren der Toxaphene in **Abb. 4-41** bis **Abb. 4-43** erkennbar ist, fragmentieren nichtaromatische Verbindungen wie die polychlorierten Camphene (Toxaphene) unter starker Dechlorierung und das Chlorid-Ion bildet das intensivste Signal. Ebenso verhalten sich die Verbindungen der DDX-Gruppe. In **Abb. 4-45** ist das NCI-Massenspektrum von 4,4’-DDE abgebildet.

Bei der Detektion der Chlorspur werden die Signale der Verbindungen mit starker Dechlorierung (Toxaphene, Chlordane, DDX, HCHs) deutlich „verstärkt“ und sind gegnüber den „abgeschwächten“ PCBs und anderen Chloraromaten (z. B. HCB) im Chromatogramm besser identifizierbar. In **Abb. 4-40** wird dies anhand eines NCI-Fullscan-Chromatogrammes und der jeweiligen Chlor- und Bromspur einer stark mit PCBs belasteten Dorschleber-Probe (#11) gezeigt. Zur besseren Darstellung des Unterschiedes der Peakintensitäten von

Toxaphenen im NCI-Fullscan und NCI-Chlor-SIM sind die einzelnen Toxaphenkongenere durch Linien miteinander verbunden.

Die Detektion der Bromspur ist ebenfalls sehr spezifisch und aufgrund der größeren Elektronenaffinität bromierter Verbindungen noch empfindlicher als bei der Chlor-Detektion. In **Abb. 4-40** ist ebenfalls die Bromspur dargestellt. Auch noch sehr geringe Mengen an bromierten Substanzen lassen sich auf diese Weise nachweisen. Noch mehr als bei chlorierten Verbindungen ist die Debromierung unter NCI-Bedingungen die Hauptfragmentierung und das Bromid-Ion oft das einzig detektierbare negative Teilchen. Selbst bei den bromierten PCB-ähnlichen PBDEs treten im NCI-Modus fast keine Molekülfragmente auf, am intensivsten sind die Bromid- und oft auch die Dibromid-Cluster (siehe **Abb. 4-46** NCI-Massenspektrum des tetrabromierten Diphenylethers PBDE 47).

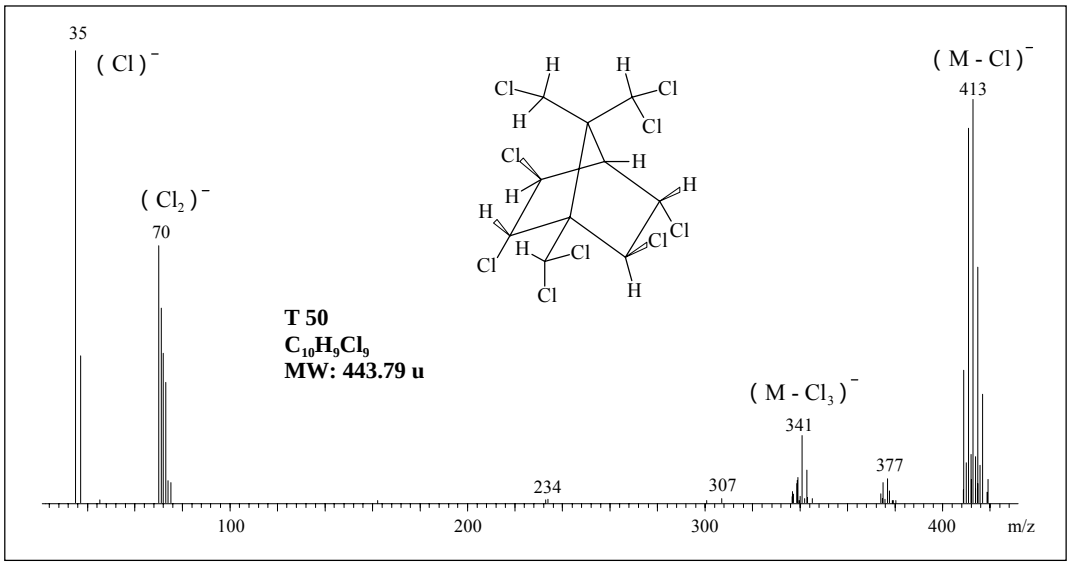


Abb. 4-42 NCI-Massenspektrum (Scan 30 – 400 amu) von Toxaphen-Kongener T 50

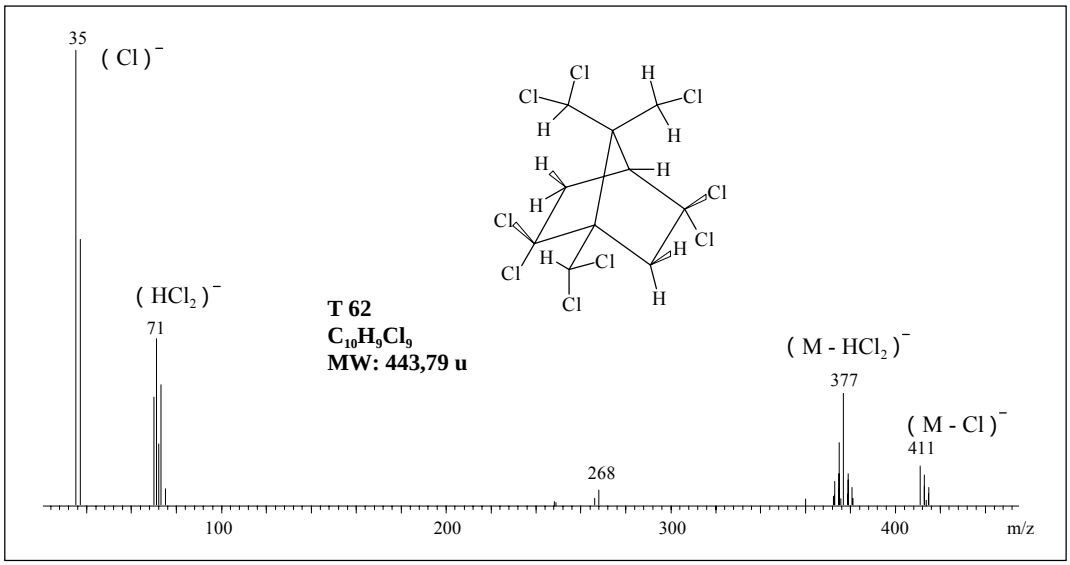


Abb. 4-43 NCI-Massenspektrum (Scan 30 – 450 amu) von Toxaphen-Kongener T 62

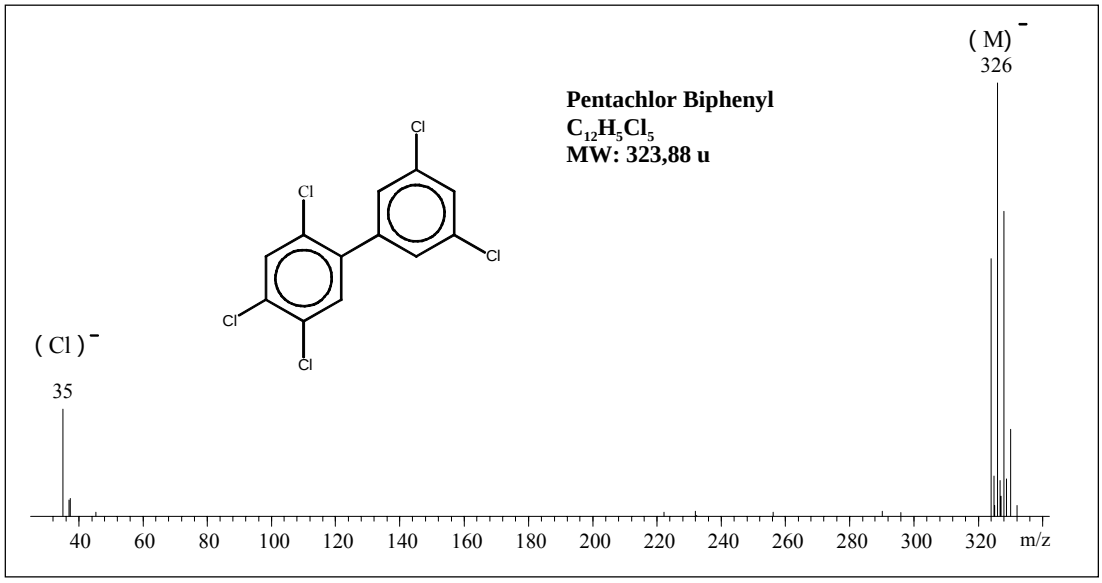


Abb. 4-44 NCI-Massenspektrum (Scan 30 – 400 amu) von PCB 101 (Cl_5)

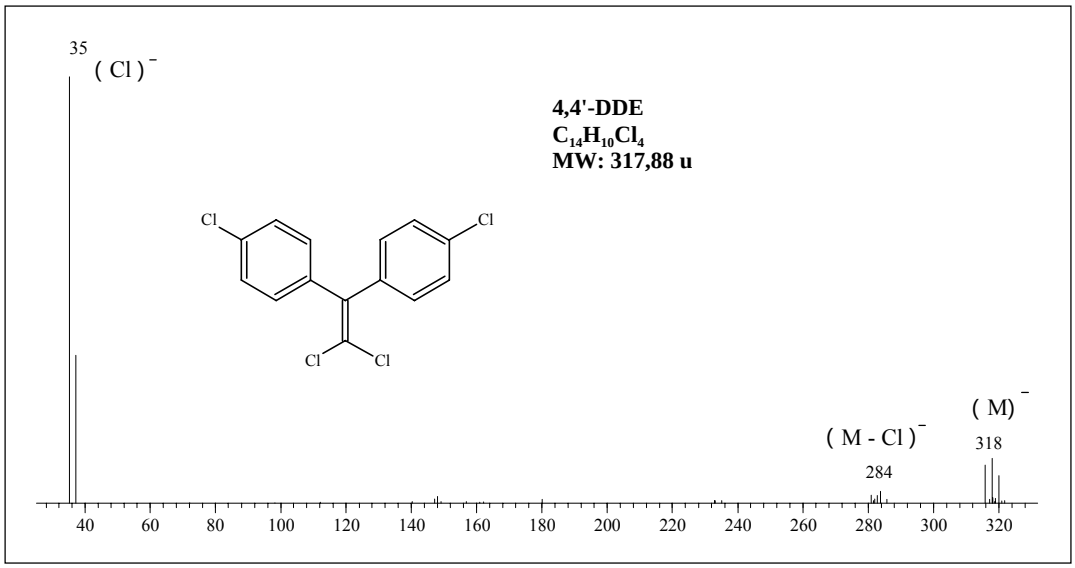


Abb. 4-45 NCI-Massenspektrum (Scan 30 – 330 amu) von 4,4’-DDE

Ebenfalls konnte mit der NCI-Massenspektrometrie die Koelution einer Chlordan-Komponente (nona-Chlor-Isomer) mit dem PCB 101 aufgeklärt werden. In **Abb. 3-1** ist das NCI-Massenspektrum zu sehen. Die einzelnen Fragmente der zwei Stoffe sind gekennzeichnet.

Für die Analyse der in dieser Arbeit untersuchten Bioproben war die massenselektive Detektion im NCI-Modus von entscheidender Bedeutung: Im besonderen bei der Zuordnung von Verbindungen in den Chromatogrammen und bei der sehr empfindlichen Detektion bromierter Verbindungen.

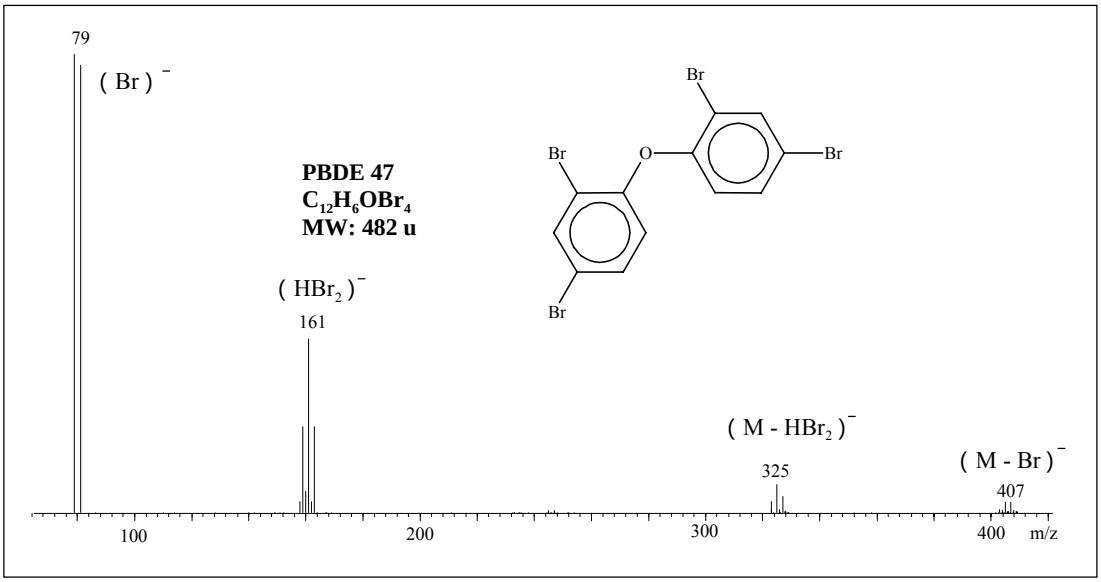


Abb. 4-46 NCI-Massenspektrum (Scan 70 – 420 amu) von PBDE 47

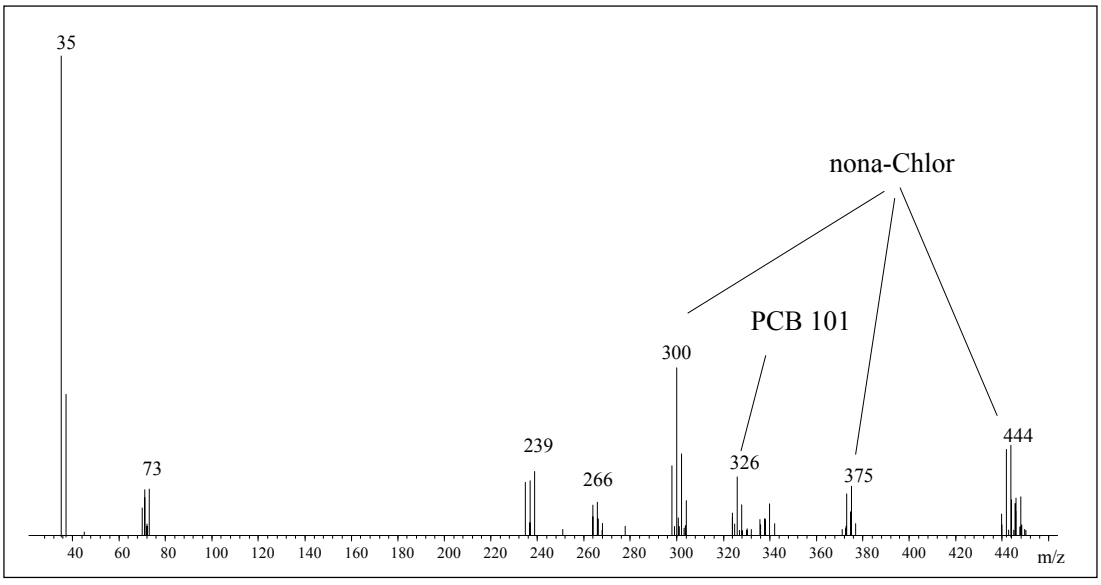


Abb. 4-47 NCI-Massenspektrum (Scan 70 – 450 amu) von PCB 101 mit dem koeluierenden nona-Chlor Isomer in der Dorschleber-Probe #11.

5 Fischproben aus dem Nord Pazifik

5.1 Analysierte Xenobiotika

Folgende Organohalogenverbindungen (Gruppen bzw. Einzelverbindungen), die in Kapitel 3.2 näher beschrieben sind, wurden in der vorliegenden Arbeit in den untersuchten Bioproben nachgewiesen. Dabei wurden die Gehalte und Belastungs-Muster der Xenobiotika genauer betrachtet und diskutiert:

- Polychlorierte Biphenyle (PCBs)
- DDX-Gruppe (2,4'-DDD, 4,4'-DDD, 2,4'-DDE, 4,4'-DDE, 2,4'-DDT, 4,4'-DDT)
- Hexachlorcyclohexane (α–HCH, β-HCH, γ-HCH)
- Polybromierte Diphenylether (PBDE 47, 85, 99, 100,153, 154), Br_7-Br_{10}DPE
- Chlordan-Komponenten (*cis*-/*trans*-Chlordan, *cis*-/*trans*-Nonachlor, oxy-Chlordan, *cis*-Heptachlorepoxid)
- Dieldrin
- Mirex
- Octachlorstyrol (OCS)
- Pentachlorbenzol (PCBz), Hexachlorbenzol (HCB)
- Pentachloranisol (PCA, A19), Tetrachlor-1,4-dimethoxybenzol (TCDMB)
- Tribromanisol (TrBrA, A33)
- Toxaphene (T26, T50, T62)
- Tris(chlorphenyl)methan (TCPM 10)
- DPTE (2,3-Dibrompropyl-(2,4,6-Tribromphenyl)-Ether) (Bromkal 73-5PE)

5.2 Gehalte der Xenobiotika in den Fischproben

5.2.1 Polychlorierte Biphenyle

Die HRGC/ECD-Chromatogramme der N1 (Normal Mode: unpolare Analyten; LC1)-Fraktionen, der Fischproben aus dem Nord Pazifik sind in **Abb. 5-3** bis **Abb. 5-13** abgebildet.

Die auf die extrahierte Lipidmenge bezogenen PCB-Massenanteile für die 28 PCB-Einzelkongenere in den Fischproben sind in **Tab. 5-2** und **Tab. 5-3** enthalten. Es sind jeweils auch noch drei Summenwerte angegeben: Σ(28 PCB) ist die Summe der Massenanteile aller 28 in dieser Arbeit quantifizierten PCB-Kongenere, Σ(7 PCB) ist die Summe der Massenanteile der sieben Indikatorkongenere PCB 28, 52, 101, 118, 138, 153 und 180. Für die Gesamtbelastung der Probe mit PCBs hat man aus empirischen Daten eine Näherung ermittelt. Dabei multipliziert man Σ(7 PCB) mit dem Faktor vier [Fischer 1989, Frame 1997b, Sauvain 1994, Schreitmüller 1994b]. Der Berechnung dieses Faktors liegt die Annahme eines

globalen PCB-Eintragsmusters zugrunde, welches dem Gemisch aus gleichen Teilen der technischen Aroclor-Produkte 1242, 1254 und 1260 entspricht.

Die gute Korrelation der auf sieben bzw. 28 Einzelkongeneren basierenden Summenwerte ist in

Abb. 5-1 zu sehen. Um Gesamtbelastungen einzelner Proben miteinander zu vergleichen, reicht die Bestimmung der sieben Indikatorkongenere aus. Genauere Betrachtungen hinsichtlich spezies- oder herkunftsabhängiger Unterschiede zwischen verschiedenen Proben machen dennoch eine kongenerenspezifische Analytik mit einer größeren Anzahl von Kongeneren nötig.

Eine vergleichende Übersicht über die PCB-Gehalte Σ (28 PCB) in den Fischproben ist in **Abb. 5-2** abgebildet.

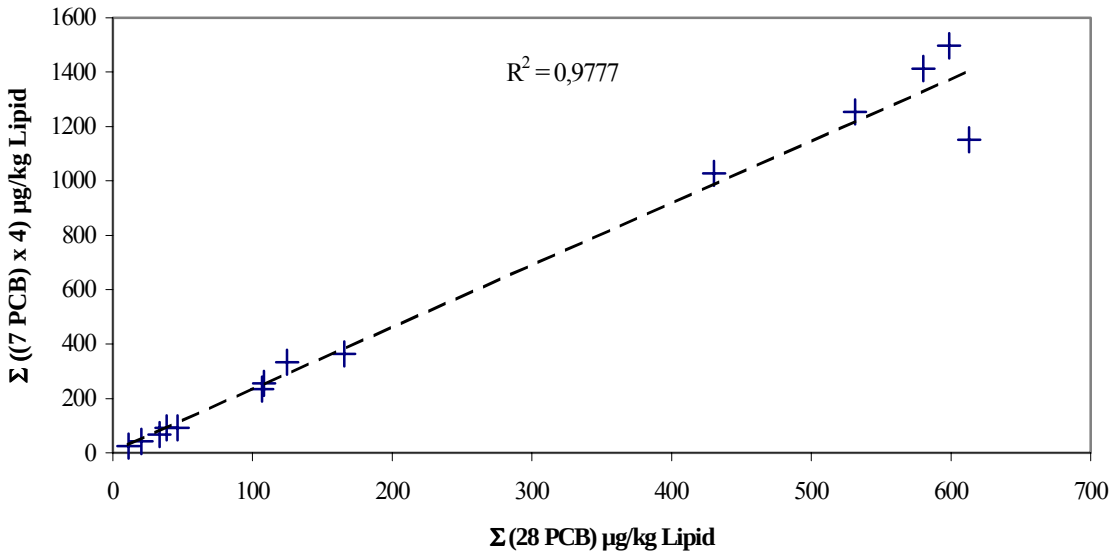


Abb. 5-1 Korrelation der Summe der Massenanteile von 28 PCB-Einzelkongeneren (Σ (28 PCB) mit der aus der vierfachen Summe der Indikatorkongenere (Σ (7 PCB) • 4) berechneten Gesamtbelastung aller in dieser Arbeit bearbeiteten Proben

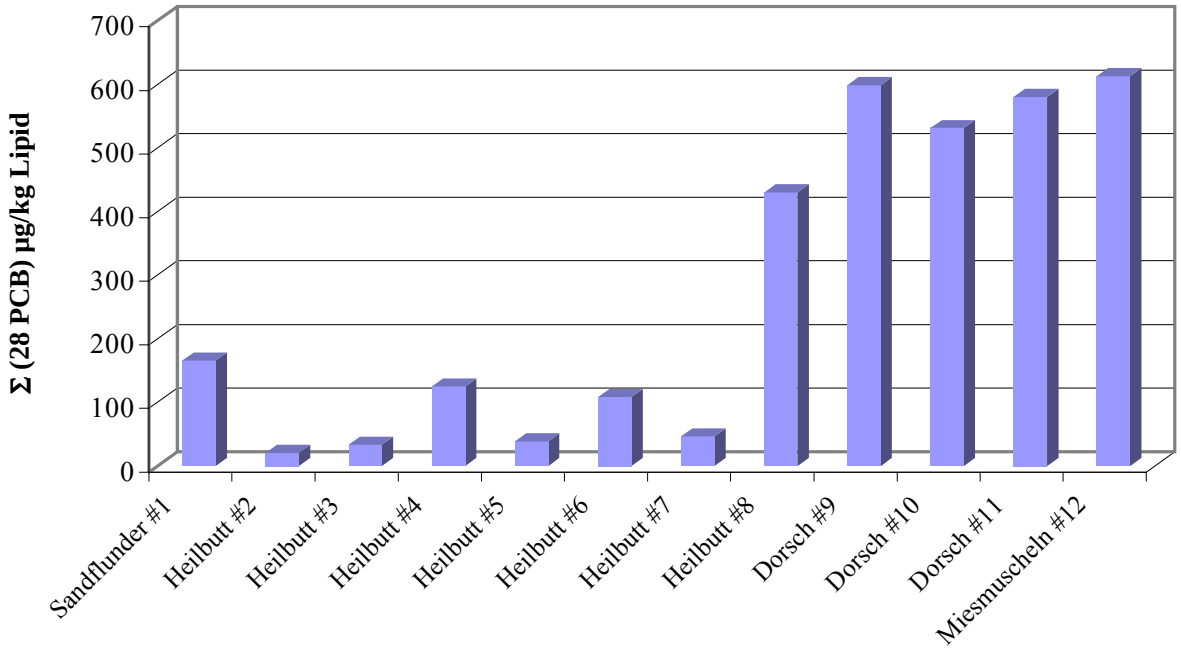


Abb. 5-2 Summenwerte (Σ(28 PCB)) der PCB-Massenanteile in den Fischproben in µg/kg Lipid

Tab. 5-1 Übersicht der analysierten Proben aus dem Bereich der Aleuten, dem Golf von Alaska und dem Bereich Küste bei San Francisco mit Zuordnung der Probennummern

Nr.	Spezies	Organ	Herkunft
#1	Sandflunder	Leber	Küste San Francisco
#2	Heilbutt	Filet	Golf von Alaska (Anchorage)[a)]
#3	Heilbutt	Filet	Golf von Alaska (San Francisco)[b)]
#4	Heilbutt	Filet	Lucky Point (A) (Adak Island)
#5	Heilbutt	Filet	Kuluk Bay (Adak Island)
#6	Heilbutt	Filet	Amchitka Island
#7	Heilbutt	Filet	Attu Island
#8	Heilbutt	Leber	Lucky Point (B) (Adak Island)
#9	Dorsch	Leber	Kuluk Bay (Adak Island)
#10	Dorsch	Leber	Zeto Point (Adak Island)
#11	Dorsch	Leber	Sweeper Cove (Adak Island)
#12	Miesmuscheln	Muschelfleisch	Sweeper Cove (Adak Island)

a) Diese Probe wurde in Anchorage, Alaska, USA käuflich erworben und stammt aus dem Golf von Alaska

b) Diese Probe wurde in San Francisco, USA käuflich erworben und stammt aus dem Golf von Alaska

Tab. 5-2 Gehalte (Massenanteile) einzelner PCB-Kongenere in den Filetproben von Pazifischem Heilbutt aus dem Nord Pazifik in µg/kg Lipid

	Gehalte					
	µg/kg extrahierte Lipidmenge (ppb)					
PCB	**Heilbutt #2**	**Heilbutt #3**	**Heilbutt #4**	**Heilbutt #5**	**Heilbutt #6**	**Heilbutt #7**
	Golf v. Alaska	Golf v. Alaska	Lucky Point	Kuluk Bay	Amchitka Isld.	Attu Isld.
18	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
28*	0,3	0,5	0,8	0,3	0,6	1,9
31	n.n.	0,3	0,7	n.n.	n.n.	0,8
44	1,2	1,2	0,6	1,2	1,5	1,1
49	0,4	0,8	0,5	0,5	1,0	1,9
52	1,4	2,1	1,7	1,3	2,1	5,6
66*	0,9	1,2	1,2	1,0	1,6	2,7
87	0,9	1,3	1,2	0,5	2,6	2,4
95	n.n.	1,0	1,2	0,9	n.n.	2,1
99*	0,6	1,9	2,9	1,2	4,3	2,6
101	3,0	3,0	4,6	3,9	7,7	4,4
105*	0,3	0,9	0,9	0,7	2,9	2,2
110	0,8	1,5	1,4	n.q.	2,8	2,7
118*	0,8	2,0	5,0	1,9	6,5	2,3
128*	1,5	0,8	0,0	n.n.	2,4	0,4
138*	2,2	3,7	19,5	6,4	16,2	3,6
149	1,8	2,4	2,7	3,1	4,6	1,6
151	0,6	0,9	1,9	1,3	2,2	0,8
153*	2,4	4,5	35,0	7,1	21,8	5,2
156*	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,8	n.n.
170*	0,6	0,7	9,2	2,0	6,6	0,7
180*	0,3	0,7	16,8	2,1	8,8	0,3
183*	n.q.	n.q.	5,0	0,6	3,4	0,3
187	0,4	0,9	6,5	1,6	5,3	0,8
194*	n.n.	0,3	2,4	0,4	1,7	n.q.
195*	n.n.	n.q.	1,6	n.q.	0,7	n.n.
206*	n.n.	n.q.	1,3	n.q.	n.q.	n.n.
209*	n.n.	n.q.	0,4	n.q.	n.q.	n.n.
Σ (28 PCB)	21	33	125	39	109	47
Σ (7 PCB*)	10	17	83	23	64	23
Σ (7 PCB*) • 4 [a)]	42	66	333	92	255	93

*) Indikator-Kongenere

n.n.: nicht nachweisbar (Massenanteil < 0,1 µg/kg)

n.q.: nicht quantifiziert (Massenanteil < 0,3 µg/kg)

a) Gesamtgehalt der PCBs (Summe der Gehalte der sieben Indikatorkongenere multipliziert mit 4)

Tab. 5-3 Gehalte (Massenanteile) einzelner PCB-Kongenere in den Leberproben von Fischen und in einer Muschelprobe aus dem Nord Pazifik in µg/kg Lipid

PCB	Gehalte **µg/kg** extrahierte Lipidmenge (ppb)					
	Sandflunder #1 San Francisco	**Heilbutt #8** Lucky Point (B)	**Dorsch #9** Kuluk Bay	**Dorsch #10** Zeto Point	**Dorsch #11** Sweeper Cove	**Blue Mussels #12** Sweeper Cove
18	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	3	n.n.
28*	1,3	3	2	2	5	1
31	0,7	2	0,2	1	5	n.n.
44	4,2	3	4	2	5	3
49	2,9	4	5	5	10	1
52	6,5	8	9	10	15	5
66*	5,1	5	7	6	12	9
87	4,0	7	9	8	14	7
95	4,2	3	3	5	2	14
99*	5,5	14	25	21	43	9
101	9,0	20	23	25	52	29
105*	4,9	12	19	15	22	8
110	9,7	8	14	13	14	15
118*	12,8	20	40	28	55	14
128*	2,7	8	13	23	14	13
138*	25,5	70	105	94	71	71
149	8,0	9	15	24	4	77
151	4,6	9	11	14	15	33
153*	28,6	88	138	113	119	117
156*	1,1	3	6	4	3	4
170*	4,3	21	25	13	22	22
180*	7,4	48	56	42	36	52
183*	2,2	18	22	17	14	31
187	8,1	23	26	34	12	70
194*	n.n.	12	11	8	6	5
195*	1,6	4	4	3	2	2
206*	n.d.	6	5	1	2	1
209*	0,7	4	2	1	1	1
Σ (28 PCB)	166	430	599	531	580	613
Σ (7 PCB*)	91	257	374	314	353	288
Σ (7 PCB*) • 4 [a)]	364	1028	1497	1254	1413	1150

*) Indikator-Kongenere

n.n.: nicht nachweisbar (Massenanteil < 0,1 µg/kg)

n.q.: nicht quantifiziert (Massenanteil < 0,3 µg/kg)

n.d.: nicht detektierbar (konnte nicht eindeutig zugeordent werden)

a) Gesamtgehalt der PCBs (Summe der Gehalte der sieben Indikatorkongenere multipliziert mit 4)

Für die hier gefundenen Gehalte von PCBs in den Proben ergeben sich deutliche Unterschiede der Belastung in den Fischen aus dem offenen Meer, abseits von industriellen Zentren, und den küstennahen bzw. aus der unmittelbaren Nähe von regionalen Quellen stammenden Fischen.

Bei der im Mündungsbereich der San Francisco Bay gefangenen Pazifischen Sandflunder (*Citharichthys sordidus)* handelt es sich um einen auf dem Meeresboden lebenden Plattfisch, der bevorzugt an der Küste in der Nähe großer Flussmündungen lebt und dort auf Nahrungssuche geht. Der PCB-Massenanteil liegt mit 166 µg/kg (Σ (28 PCB)) um den Faktor 2 bis 4 unter den von Froescheis gefunden Gehalten für die Petrale Zunge mit 323 µg/kg und die Dover Zunge mit 797 µg/kg (Σ (28 PCB)), zwei Plattfische aus der Monterey Bay [Froescheis 1997]. Die doch für einen küstennahen Plattfisch aus der San Francisco Bay relativ niedrige PCB-Belastung der Sandflunder dürfte in der Größe und dem niedrigen Alter des untersuchten Tieres liegen.

Die beiden Heilbuttproben (*Hippoglossus stenolepis)* (#2 und #3) aus den Jahren 1999 bzw. 2001, welche aus dem Golf von Alaska kommen, haben mit 20 - 33 µg/kg (Σ (28 PCB)) eine sehr geringe Belastung. Der von Looser analysierte Heilbutt von 1996 aus dem Golf von Alaska liegt mit 380 µg/kg um mehr als das zehnfache über den hier gefundenen Werten [Looser 1999]. Alle drei Heilbutte wurden als Fischfilet käuflich erworben. Der große Unterschied lässt sich nicht genau erklären, ein wesentlicher Grund liegt in der Abnahme der PCB Grundgehalte. Jedoch liegt die Vermutung nahe, dass der von Looser untersuchte Heilbutt aus Küstennähe stammte oder deutlich älter war und deshalb mehr akuumulieren konnte.

Eine teilweise ähnlich niedrige PCB-Belastung von 40 – 125 µg/kg (Σ (28 PCB)) findet man in den vier Heilbutt-Filet-Proben (#4 - #7) entlang der Aleuten-Inselkette. Dabei sind höhere Werte (109 – 125 µg/kg) für die Proben aus unmittelbarer Nähe der stärker belasteten Hafenbereiche von Adak (Lucky Point, #4) und von Amchitka (#6) zu finden, während die Gehalte in den von der Küste weiter entfernt gefangenen Proben Heilbutt #5 (Kuluk Bay,Adak) und Heilbutt #7 (Attu) bei 39 – 47 µg/kg liegen.

Die untersuchten Heilbutt- und Dorsch-Leber-Proben (#8 - #11) von Adak-Island weisen zum Teil eine sehr viel höhere Belastung mit PCBs auf. Die Gehalte liegen mit 1030 – 1500 µg/kg (Σ (7 PCB*) • 4) deutlich über denen, die de Brito und Kannan in Leberproben von Alaska Pollack (*Pollachius virens)*, einer Dorschart und dem Pazifischen Dorsch (*Gadus Macrocephalus)* sehr ähnlich, gefunden haben [de Brito 2002, Kannan 1995]. Kannan findet 1992 in Alaska Pollack aus der Bering See 210 µg/kg (Kanechlor-Äquivalente, welche vergleichbar mit der Näherung (Σ (7 PCB*) • 4 sind). De Brito belegt höhere Gehalte in der selben Fischart aus dem selben Jahr 1992 aus der Bering See und dem Golf von Alaska von 780 – 1000 µg/kg (Kanechlor-Äquivalente). Bei der Fisch-Probe #11 handelt es sich um einen Pazifischen Dorsch direkt aus dem Hafenbecken von Adak (Sweeper Cove). Die Probe hat demzufolge auch mit 1413 µg/kg eine der höchsten Gehalte, zusammen mit der Dorschprobe # 9, welche aus der Kuluk Bay, nicht weit entfernt von dem hochbelasteten Hafenbereich, stammt, und mit ca. 1500 µg/kg die höchste PCB-Belastung (Σ (7 PCB*) • 4) aufzeigt.

Die PCB-Gehalte in den untersuchten Miesmuscheln (*Mytilus Edulis*) aus dem Hafenbecken von Adak (Sweeper Cove) liegen mit 1150 µg/kg (Σ (7 PCB*) • 4) ebenfalls im Bereich der untersuchten Leberproben. Muscheln eignen sich besonders gut als Indikator für einen sehr lokalen Eintrag von Schadstoffen, da sie regional das Wasser filtern. Bei der Analyse von Miesmuscheln von 1995 aus dem Bereich der Aleuten hat Reese stark unterschiedliche Werte für die PCB-Belastung in Miesmuscheln von 83 – 2800 µg/kg gefunden [Reese 1998].

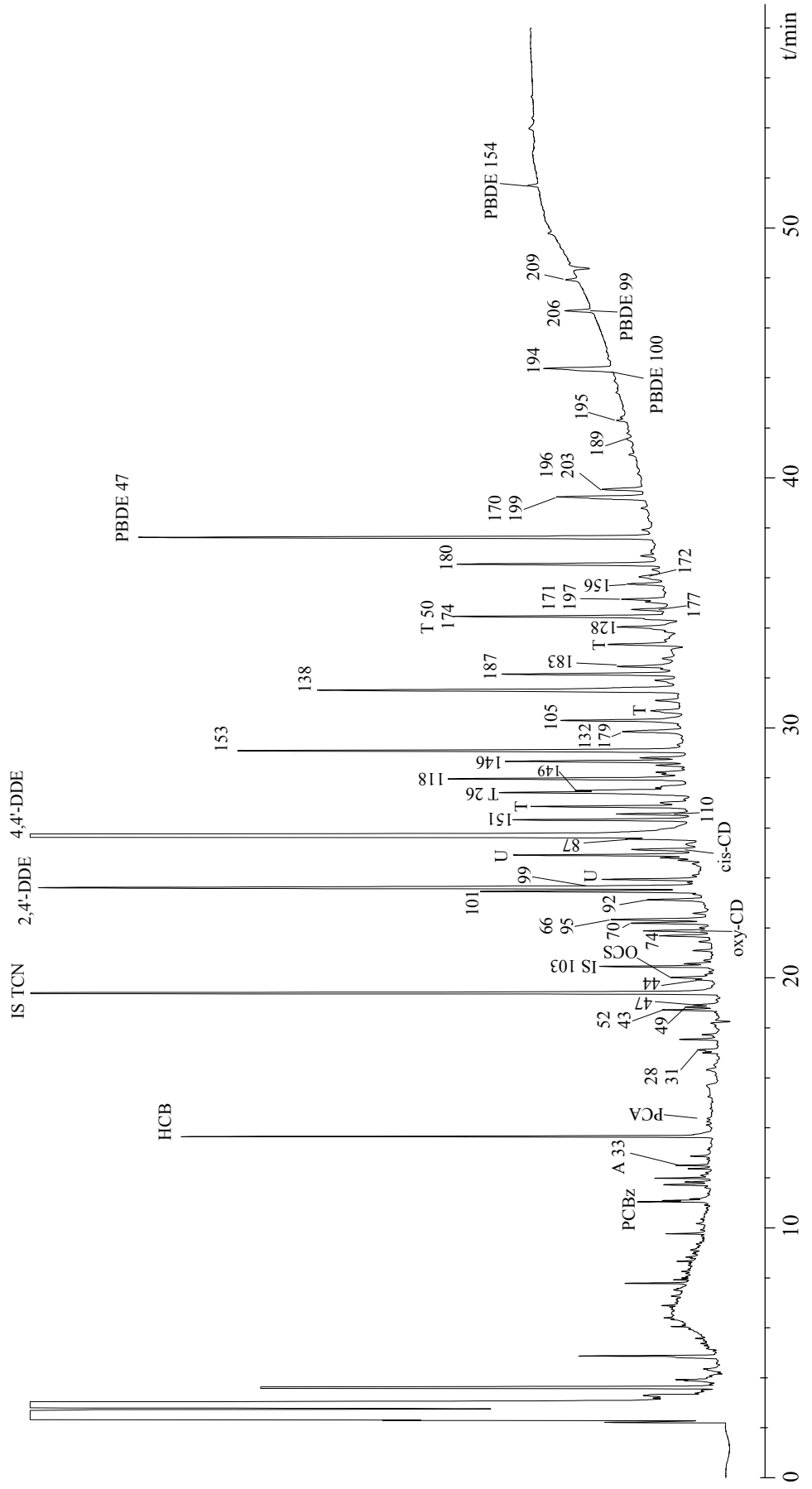


Abb. 5-3. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #1 Pazifische Sandflunder Leber, San Francisco Bay N1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 245,0 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

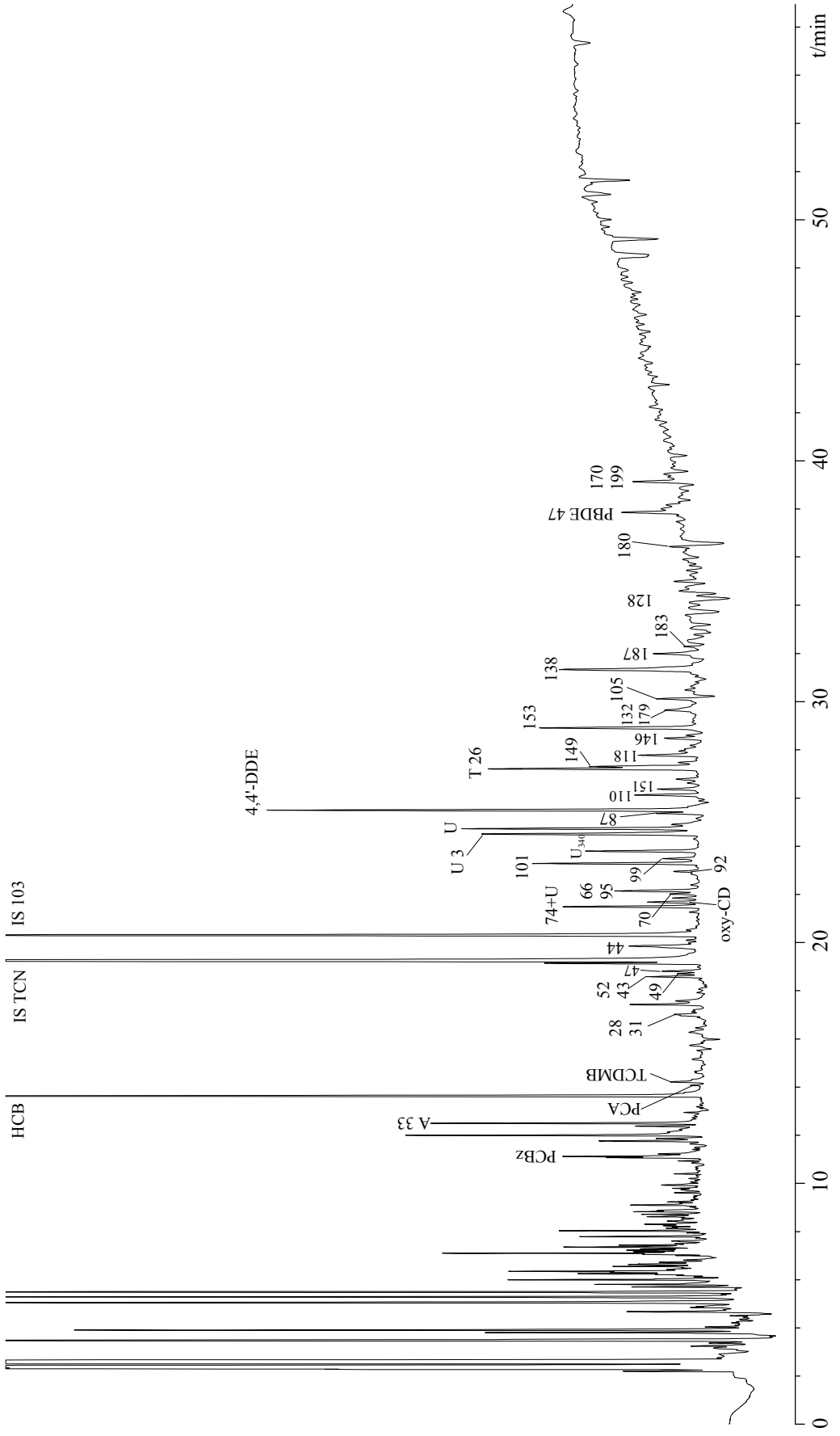


Abb. 5-4. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #2 Pazifischer Heilbutt Filet, Golf von Alaska N1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 515 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

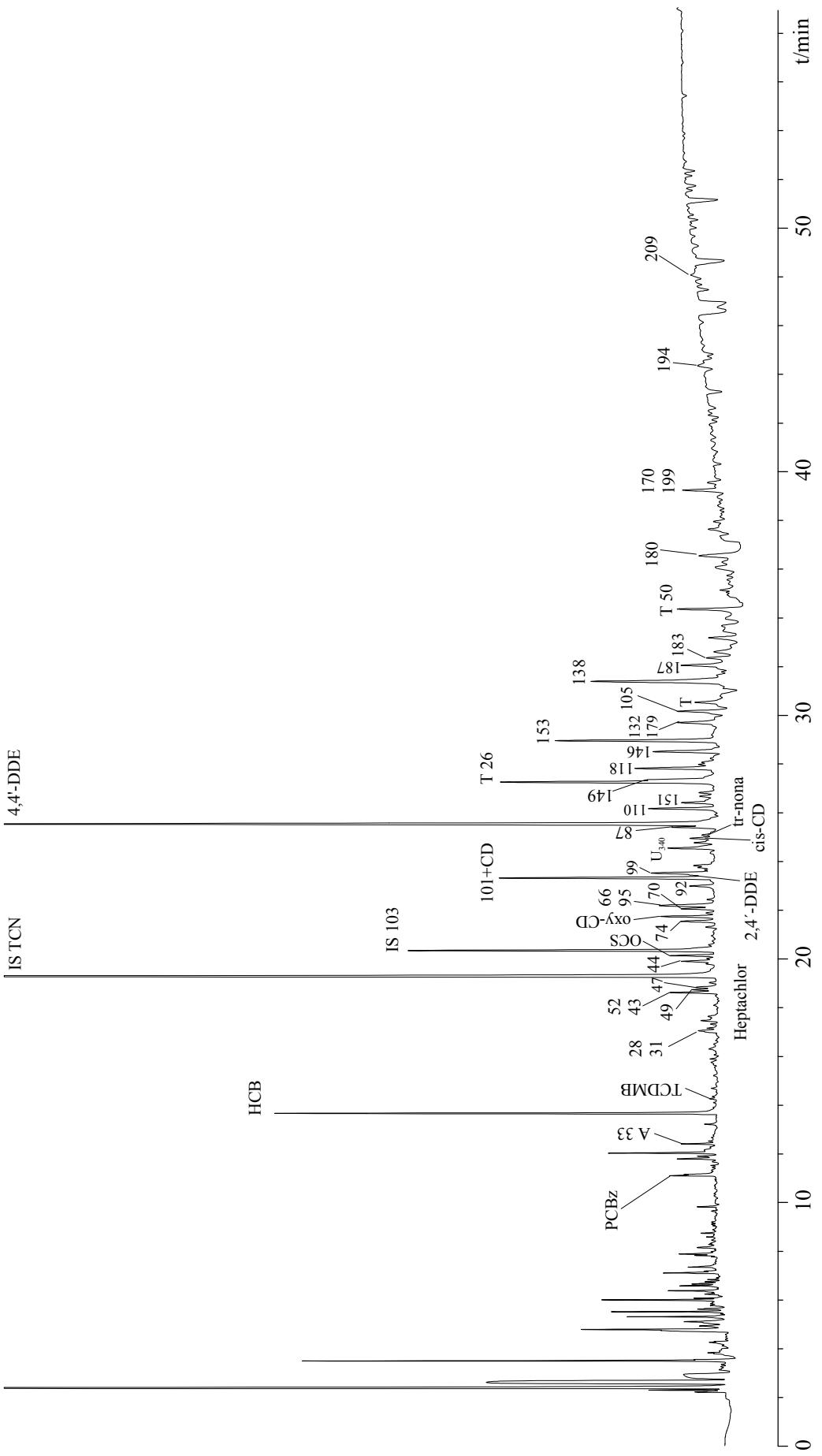


Abb. 5-5. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #3 Pazifischer Heilbutt Filet, Golf von Alaska N1-Fraktion ; (Lipid Aliquot: 584 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

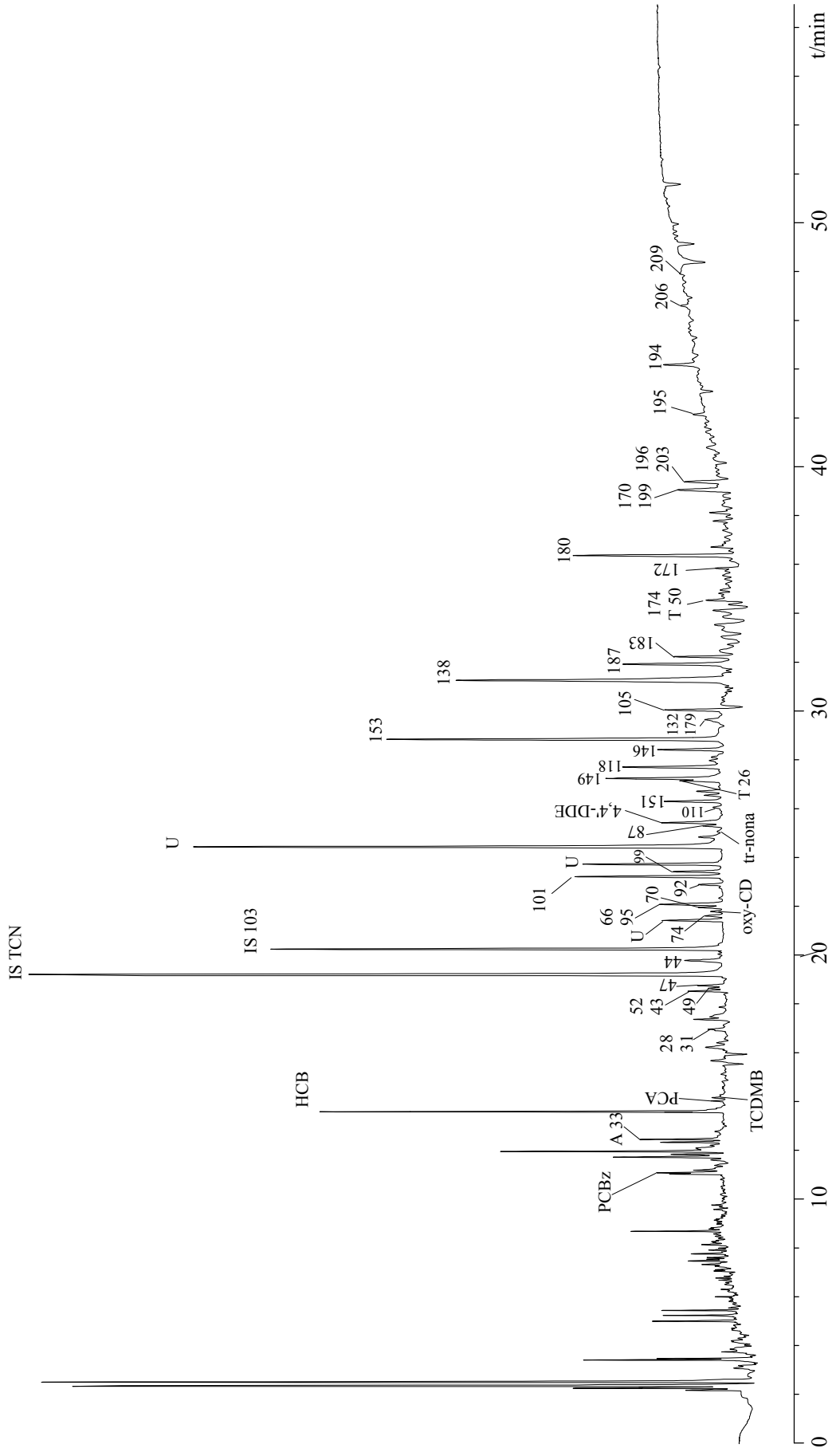


Abb. 5-6. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #5 Pazifischer Heilbutt Filet, Adak, Kuluk Bay N1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 657 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

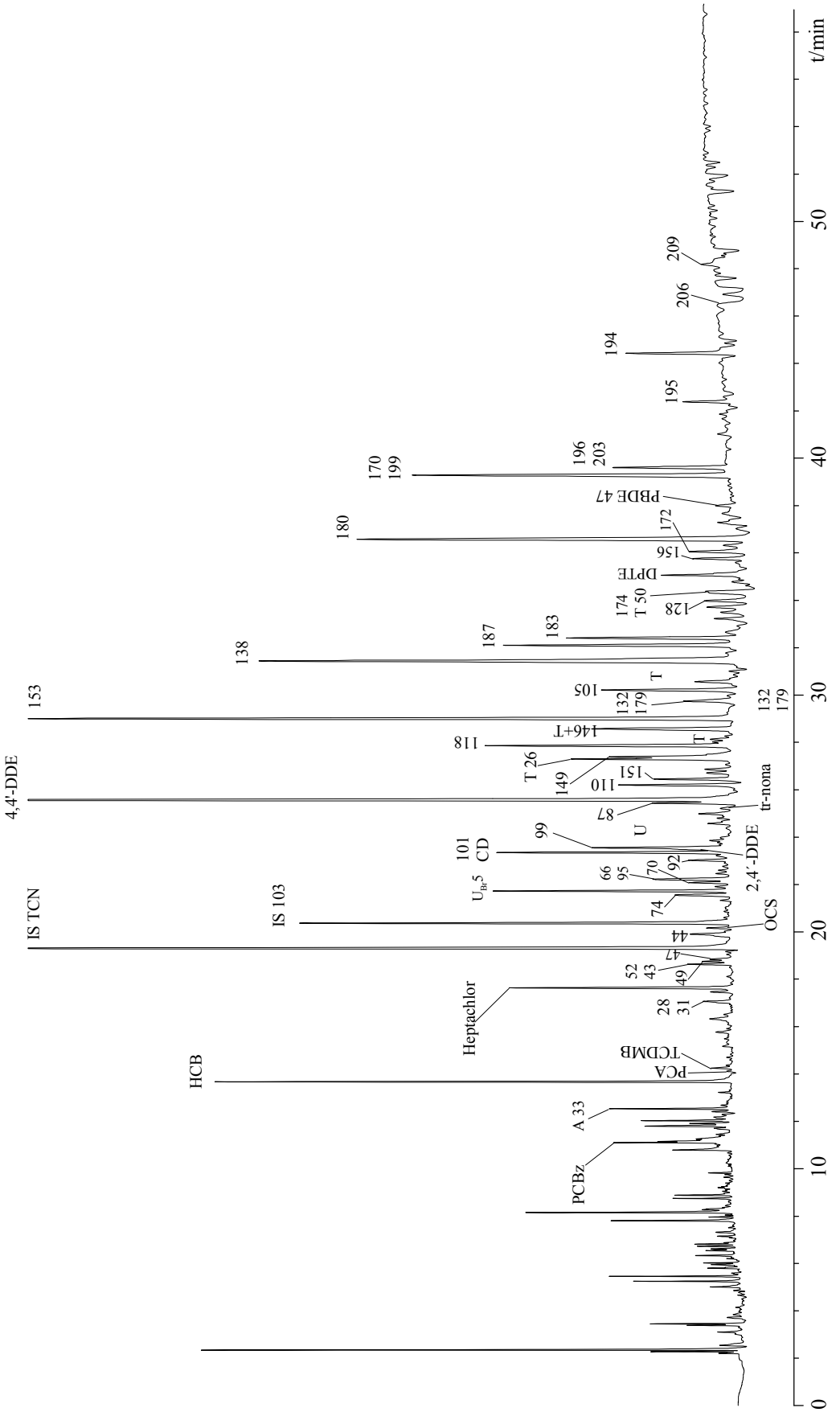


Abb. 5-7. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #6 Pazifischer Heilbutt Filet, Amchitka N1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 543 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

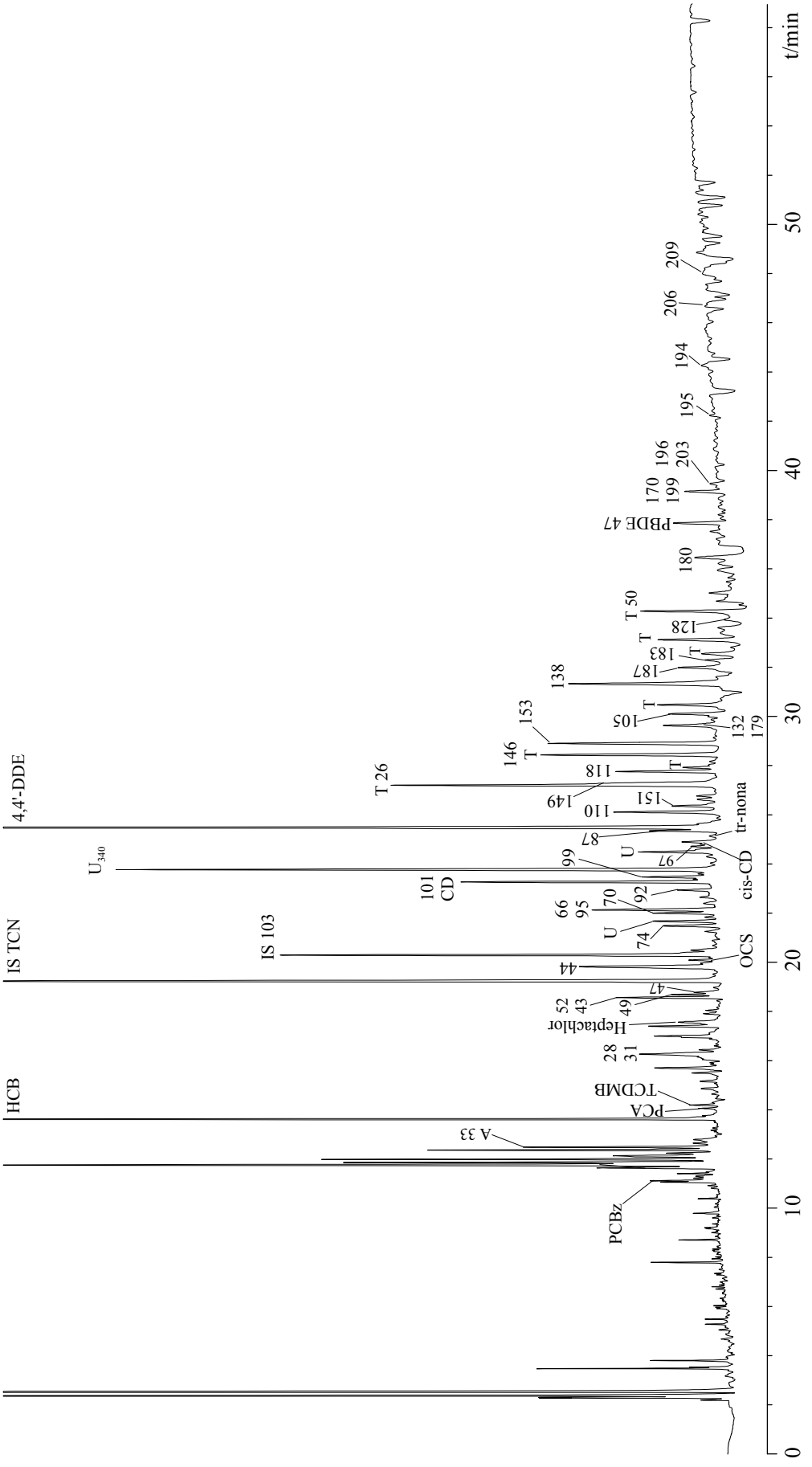


Abb. 5-8. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #7 Pazifischer Heilbutt Filet, Attu N1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 507 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

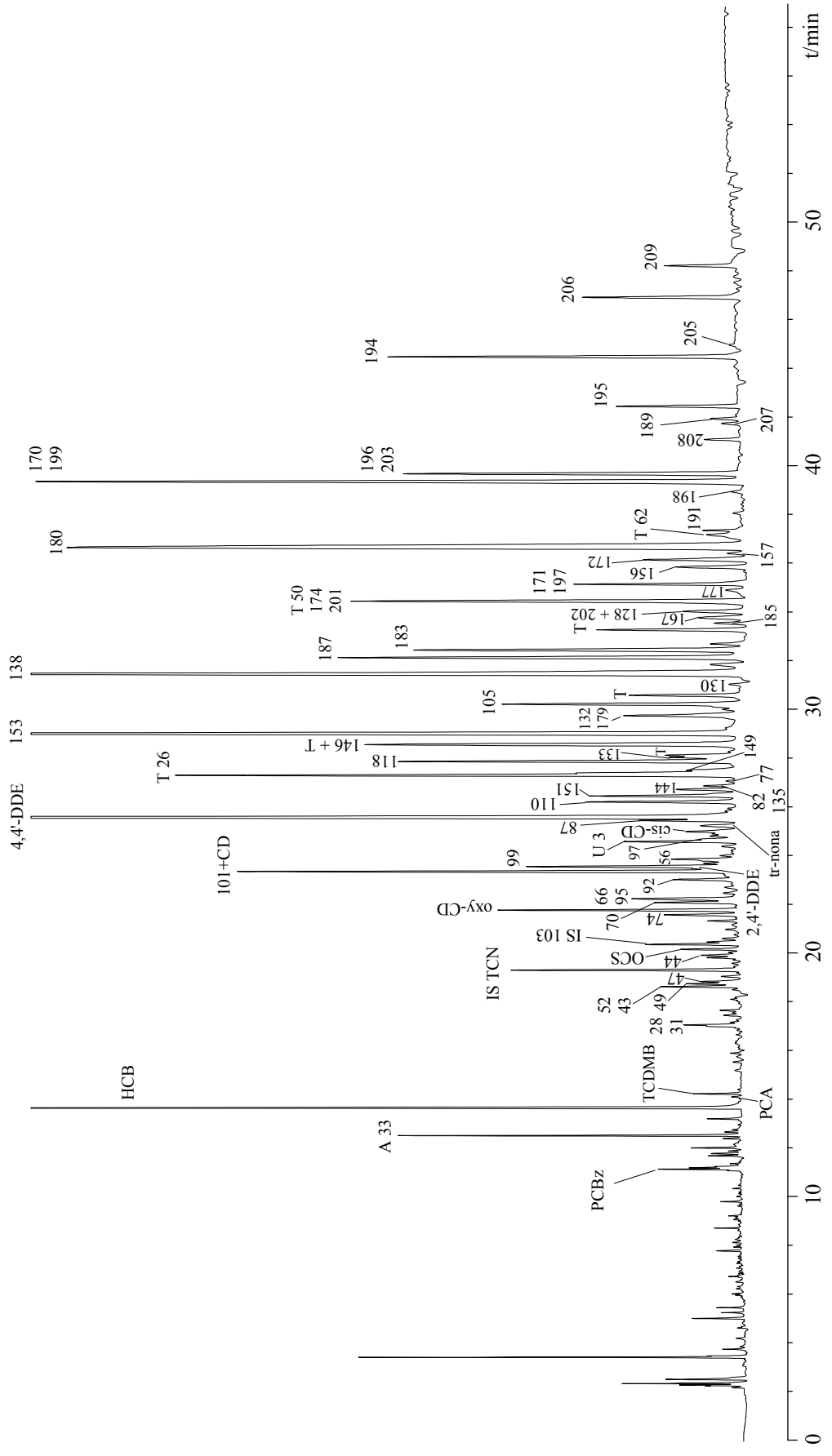


Abb. 5-9. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #8 Pazifischer Heilbutt Leber , Lucky Point Adak N1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 1247 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

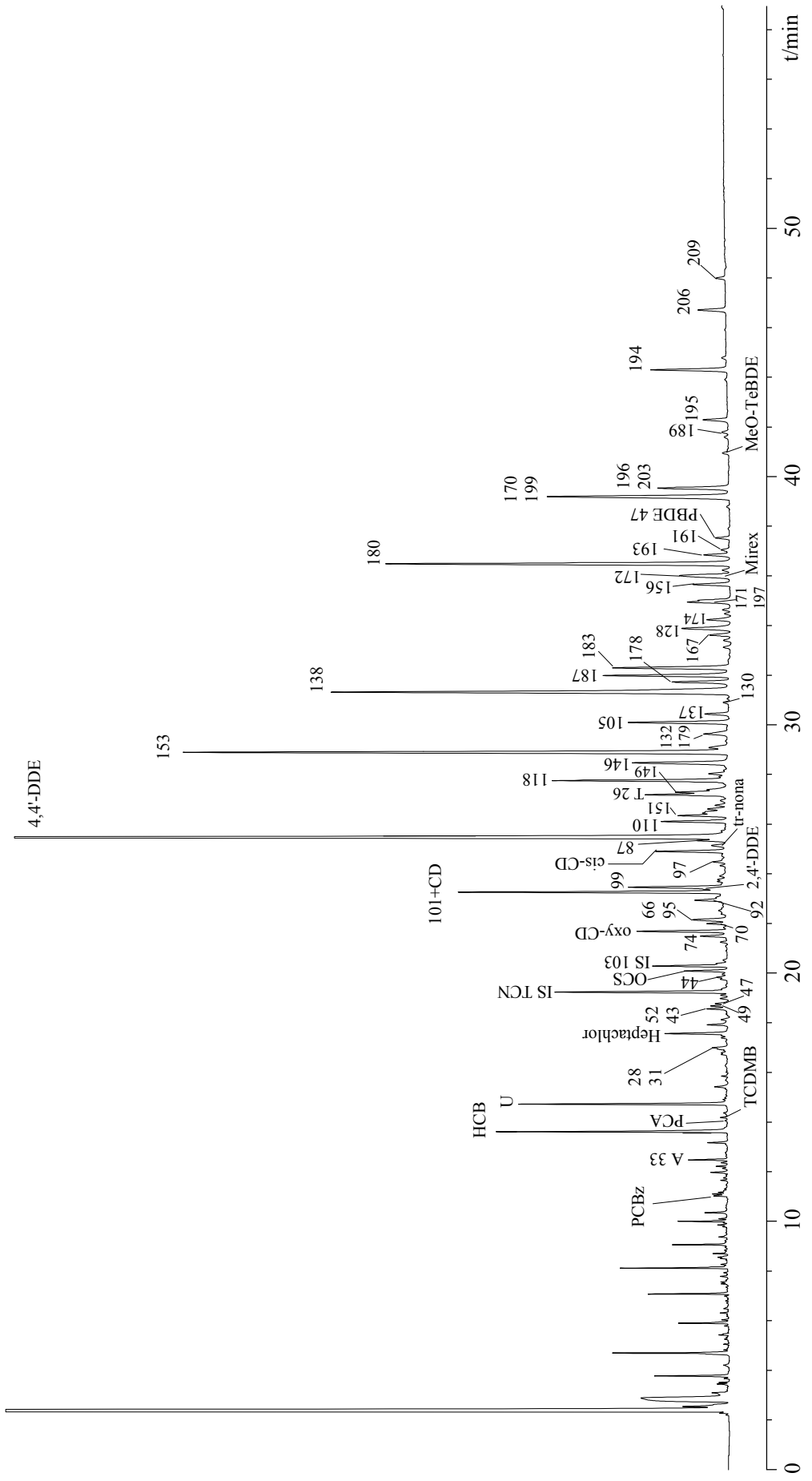


Abb. 5-10. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #9 Pazifischer Dorsch Leber , Kuluk Bay Adak N1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 392 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

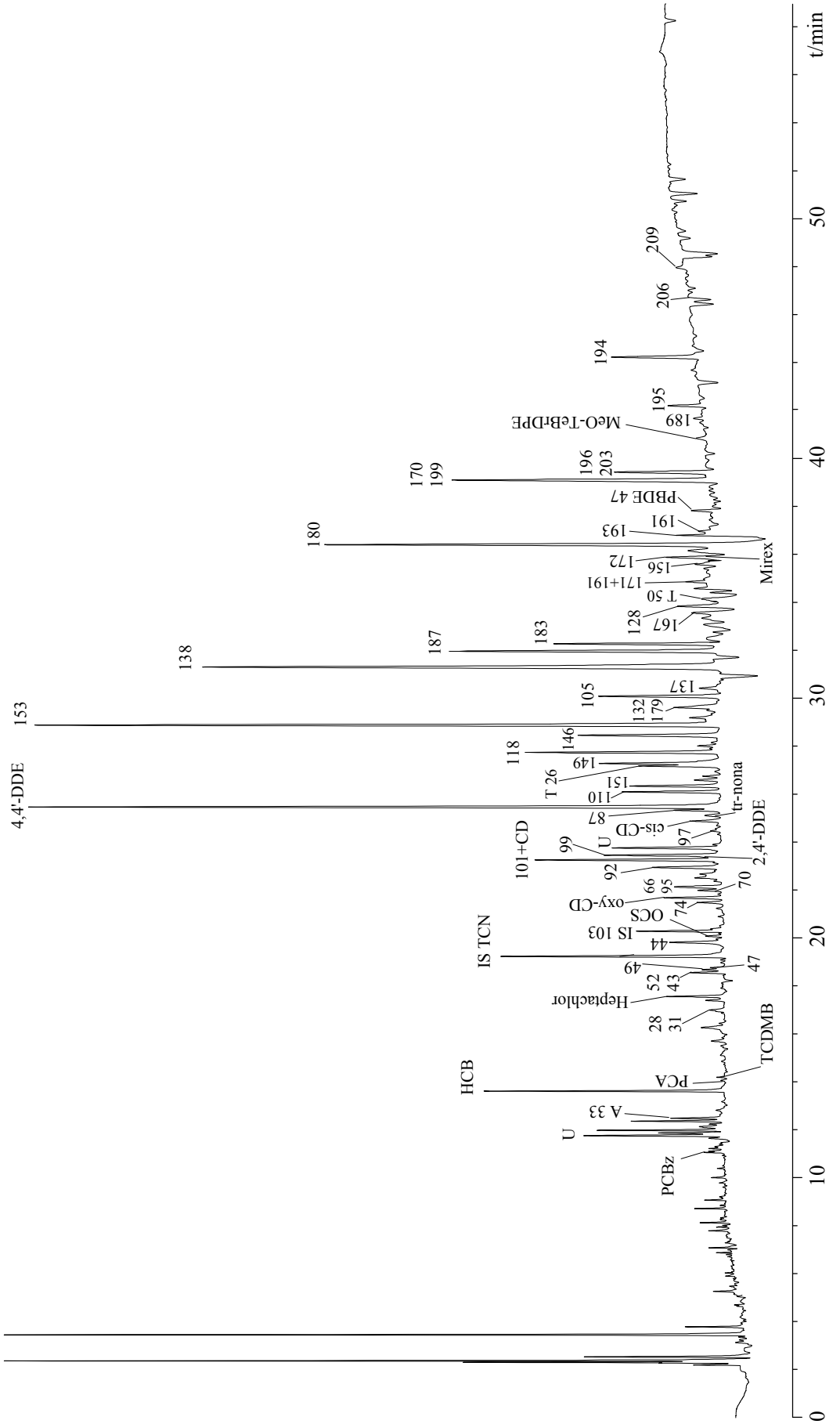


Abb. 5-11. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #10 Pazifischer Dorsch Leber , Zeto Point, Adak N1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 427 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

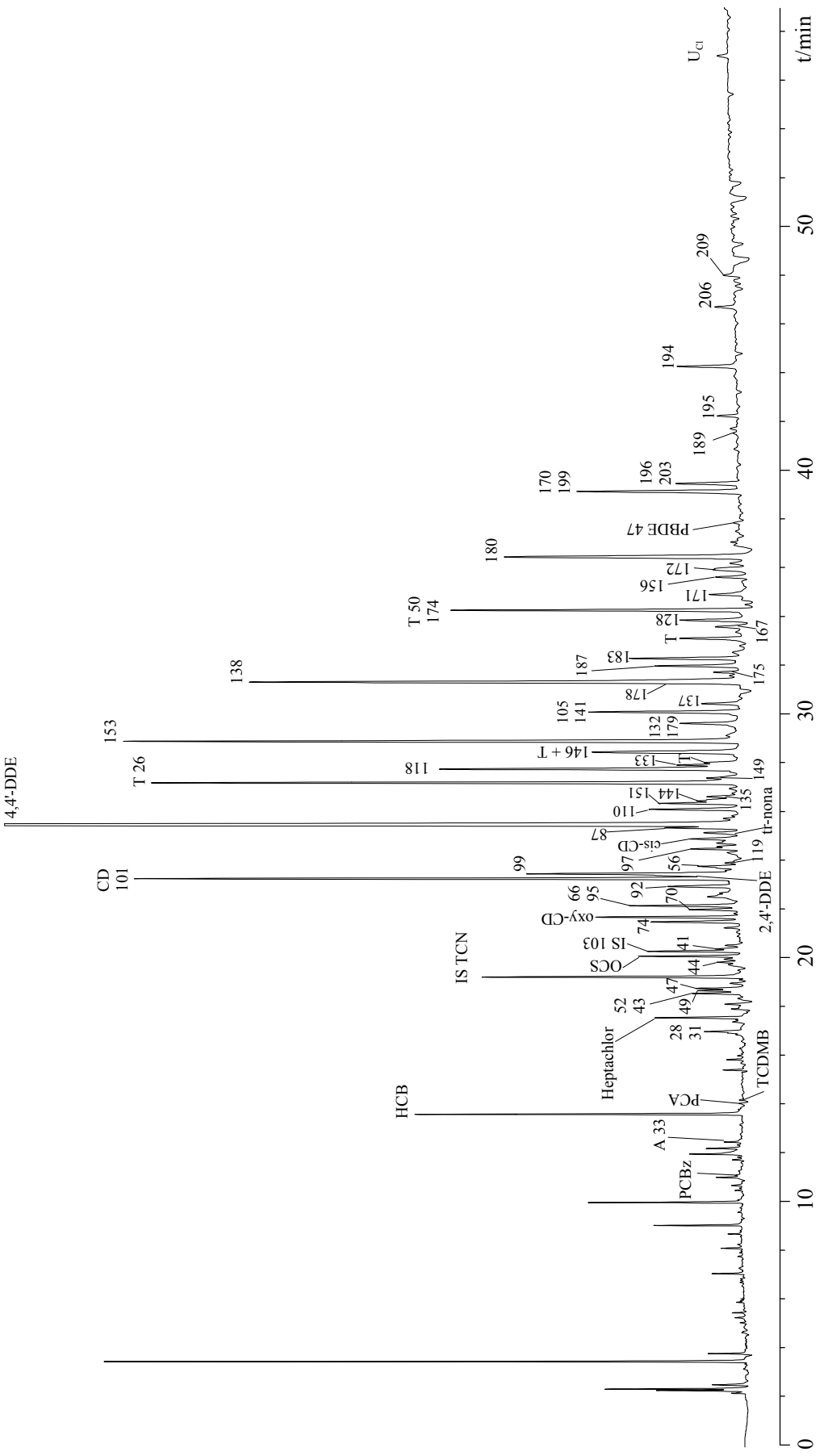


Abb. 5-12. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #11 Pazifischer Dorsch Leber, Sweeper Cove, Adak N1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 353 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

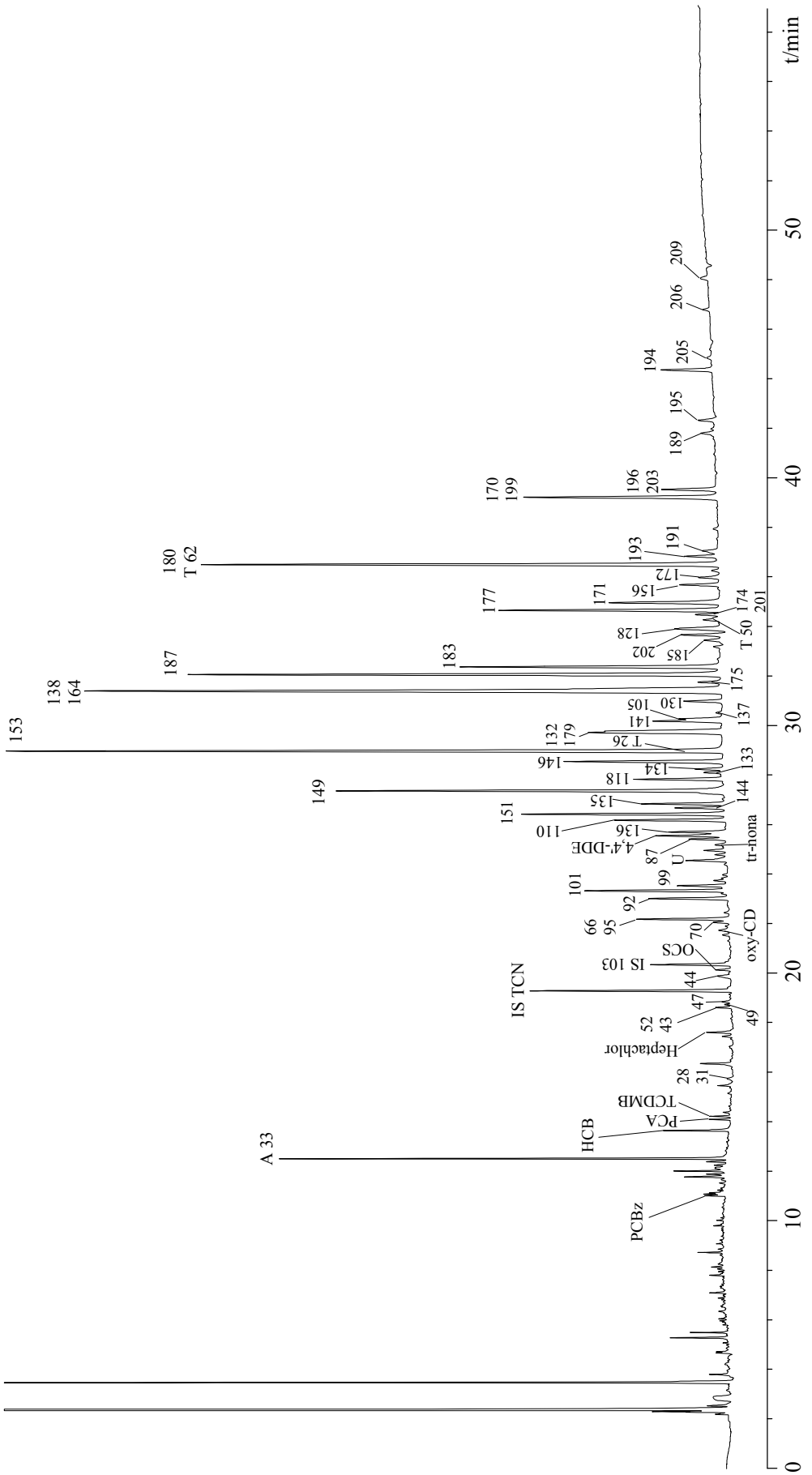


Abb. 5-13. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: Miesmuscheln, Sweeper Cove, Adak N1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 551 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

5.2.2 Weitere Organohalogenverbindungen

Die Gehalte der nachgewiesenen Organohalogenverbindungen (ohne den PCBs) sind in den Tab. 5-5 und Tab. 5-6 enthalten. Zusätzlich werden in den Tabellen noch die Summengehalte der DDX-Gruppe, der HCHs, der Chlordane, der Toxaphene und der PBDEs aufgelistet. In den Abb. 5-15 bis Abb. 5-38 sind die HRGC/ECD-Chromatogramme der N2- (Normal Mode: polare Analyten) und B1- (Backflush-Mode, sehr polare Analyten) Fraktion dargestellt.

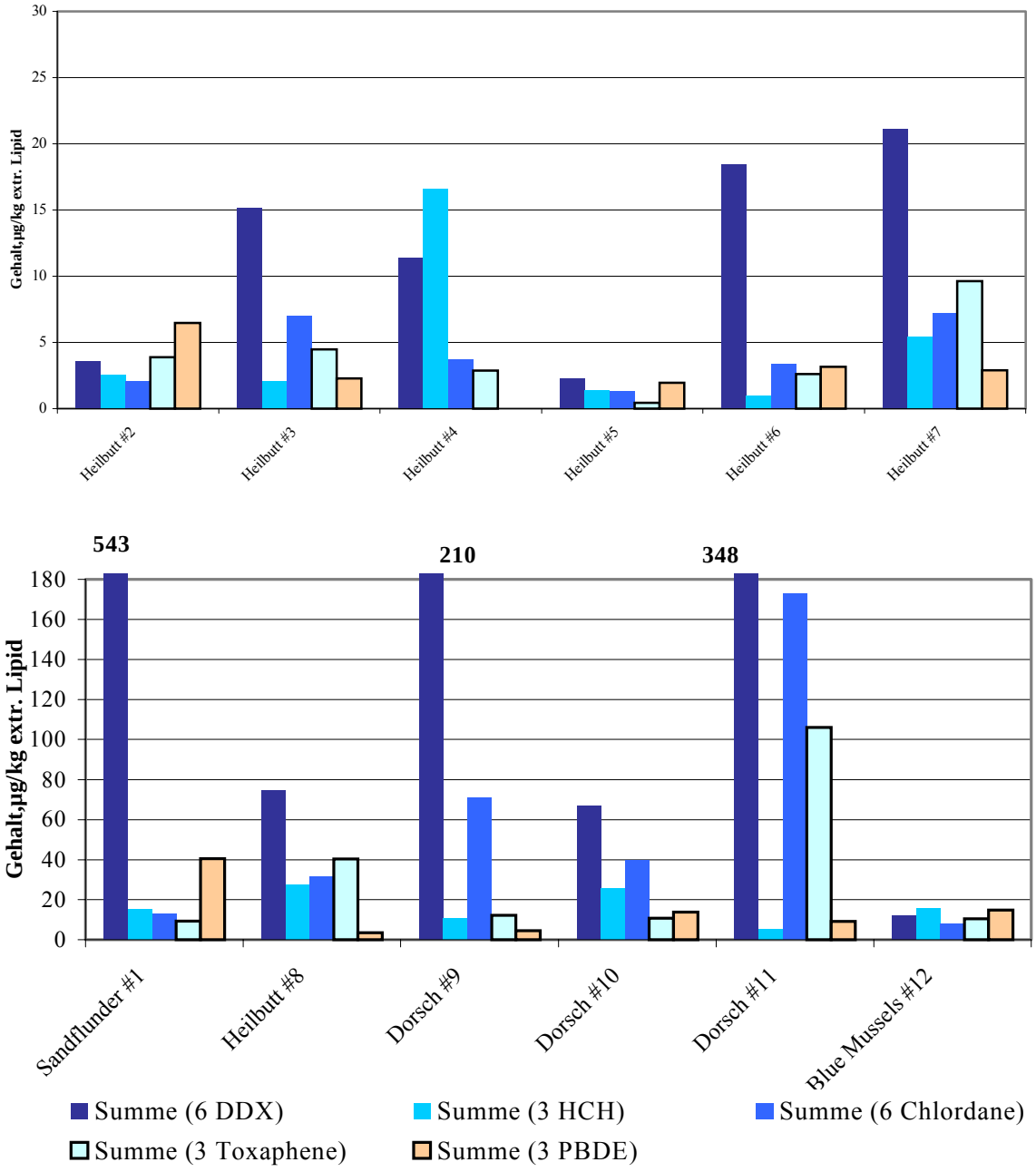


Abb. 5-14 Summenwerte der Massenanteile der DDTs, HCHs, Chlordane, Toxaphene und PBDEs ind den Fischproben aus dem Nord Pazifik (Ordinate ist gekürzt zur besseren Übersicht).

Tab. 5-4 Übersicht der analysierten Proben mit Zuordnung der Probennummern (Tabelle entspricht **Tab. 5-1**)

Nr.	Spezies	Organ	Herkunft
#1	Sandflunder	Leber	Küste San Francisco
#2	Heilbutt	Filet	Golf von Alaska (Anchorage)[a)]
#3	Heilbutt	Filet	Golf von Alaska (San Francisco)[b)]
#4	Heilbutt	Filet	Lucky Point (A) (Adak Island)
#5	Heilbutt	Filet	Kuluk Bay (Adak Island)
#6	Heilbutt	Filet	Amchitka Island
#7	Heilbutt	Filet	Attu Island
#8	Heilbutt	Leber	Lucky Point (B) (Adak Island)
#9	Dorsch	Leber	Kuluk Bay (Adak Island)
#10	Dorsch	Leber	Zeto Point (Adak Island)
#11	Dorsch	Leber	Sweeper Cove (Adak Island)
#12	Miesmuscheln	Muschelfleisch	Sweeper Cove (Adak Island)

a) Diese Probe wurde in Anchorage, Alaska, USA käuflich erworben und stammt aus dem Golf von Alaska

b) Diese Probe wurde in San Francisco, USA käuflich erworben und stammt aus dem Golf von Alaska

In Abb. 5-14 sind die Summenwerte der Massenanteile der einzelnen Organohalogen-Gruppen graphisch dargestellt. Zur besseren Übersicht wurde in dem Diagramm die Ordinate wegen der verhältnissmäsig hohen 4,4'-DDE-Gehalte gekürzt. Die Summenwerte der DDX-Gruppe (Σ (6 DDT) sind an der jeweiligen Probe dazugeschrieben.

DDX-Gruppe

Die höchsten Gehalte an DDX-Komponenten mit 550 µg/kg (Σ (6 DDT)) findet man in der Sandflunder (#1) aus der San Francisco Bay. Zwar liegt dieser Wert unter den von Froescheis gefundenen Gehalten in der Petralen Zunge (1225 µg/kg) und der Dover Zunge (2282 µg/kg) aus der Montery Bay [Froescheis 1997], doch dürfte das am selben Grund liegen wie bei den PCBs, da es sich bei den Sandflundern wohl um relative Jungtiere gehandelt hat. Die hohen Werte resultieren aus dem starken Einsatz von DDT in der Landwirtschaft des Salinas Valley. Obwohl mittlerweile dieses Insektizid nicht mehr ausgebracht werden darf, dürfte sich in den vergangenen Jahren in den Böden eine sehr hohe Menge an DDT-Komponenten angereichert haben, die ausreicht, immer noch für einen verstärkten Eintrag durch Auswaschung in die Hydrosphäre zu sorgen.

In den Heilbutt-Filet-Proben aus dem Golf von Alaska (#2 und #3) und von den Aleuten (#4 - #7) ist die Belastung an DDT Komponenten zwischen 2 µg/kg und 21 µg/kg sehr gering. Vergleicht man die Gehalte mit denen von Kannan in Alaska Pollack-Filet gefundenen aus der Bering See (74 µg/kg) [Kannan 1995] und denen von Looser in Pazifsichem Heilbutt aus dem Golf von Alaska (130 µg/kg) [Looser 1999] nachgewiesenen Werten, liegen sie bis auf zwei Ausnahmen (#2 und #5) in der selben Größenordnung und spiegeln den geringen lokalen Eintrag dieses Insektizids in den kälteren Gegenden wieder. Zusätzlich kann dies als Indiz gewertet werden für eine zurückgehende Organohalogen-Belastung in den nördlichen Breiten. Auffällig ist der mit 4 µg/kg sehr geringe Gehalt in Heilbutt #2 aus dem Golf von Alaska und

mit 2 µg/kg in Heilbutt #5 aus der Nähe von Adak Island. Eventuell handelt es sich hierbei um einen systematischen Fehler bei der Aufarbeitung.

Auch die Heilbutt- und Dorsch-Leberproben (#8 - #11) von Adak entsprechen mit 75 - 350 µg/kg vergleichbaren Werten, die de Brito in Alaska Pollack-Leber aus der Bering See (340 µg/kg) und aus dem Golf von Alaska (420 µg/kg) im Jahre 1992 gefunden hat [de Brito 2002].

Allerdings handelt es sich bei den hier untersuchten Proben um Fische aus unmittelbarer Nähe des Hafens Sweeper Cove auf Adak Island und die beiden Dorschleberproben #9 und # 11 heben sich aufgrund dessen mit ihren DDT-Gehalten (210 und 350 µg/kg) von den andern etwas ab. Dies lässt die Vermutung zu, dass im Bereich der ehemaligen Navy Base DDT als Insektizid auf Adak zur Anwendung kam und durch jahrelange Anreicherung auch noch als lokale Eintragsquelle dient.

Einen niedrigen DDT-Gehalt findet man in den Miesmuscheln von Sweeper Cove. Als Wasserfiltrierer und mit einem Alter von 3 bis 6 Jahren akkumulieren sie nur wenig. Die Werte entsprechen denen von Reese in Miesmuscheln gefundenen Gehalten (2,3 – 23 µg/kg) entlang der Aleuten-Inselkette [Reese 1998]. Dies ist ein weiterer Beweis für einen lokalen Eintrag von DDT auf Adak. Durch Sedimentation gelangte das Insektizid auf den Meeresboden und wird dort von den Raubfischen Heilbutt und Dorsch vermehrt aufgenommen.

HCHs

Für die HCHs findet man in den Heilbutt-Filet-proben aus dem Golf von Alaska (#2, #3) und von Adak-Kuluk Bay (#5), Amchitka (#6) und von Attu (#7) Gehalte von 1 – 5 µg/kg (Σ (3 HCH)). Bei den beiden Heilbuttproben von Adak (#4, #8), Lucky Point, liegen die Gehalte mit 17 – 27 µg/kg deutlich darüber. Ähnlich hohe Werte (25 µg/kg) findet man in dem Dorsch (#10) von Adak, Zeto Point. Überraschend niedrig mit 5µg/kg sind die Gehalte in dem Dorsch (#11) direkt aus dem Hafen von Adak (Seeper Cove) und mit 11 µg/kg in dem Dorsch von Adak, Kuluk Bay (#9). Die von Kannan und de Brito in Pollack aus der Bering See gefundenen HCH-Gehalte (Σ (2 HCH)) liegen mit 74 µg/kg in den Leberproben und 32 µg/kg in den Filetproben um den Faktor 2 bis 5 darüber. Looser hat in dem Heilbutt aus dem Golf von Alaska 46 µg/kg (Σ (3 HCH)) gefunden. In **Tab. 5-5** sind die einzelnen Isomere der HCHs aufgegliedert. Heilbutt #4 hat einen sehr hohen γ-HCH Anteil, was auf eine aktuelle Anwendung von Lindan (hoher γ-HCH-Anteil) hinweist. Auf eine Anwendung von technischen HCH (hoher α-HCH-Anteil) deuten dagegen die Proben #5, #8 bis #12 hin, in denen das α-Isomer deutlich am stärksten akkumuliert ist, besonders gut in der Heilbutt-Probe #8 zu sehen. Die Sandflunder #1, der Heilbutt#2 und #7 zeigen zusätzlich auch einen hohen β-Anteil auf.

Der Gehalt an HCHs in den Muscheln aus Sweeper Cove (#12) liegt mit 15 µg/kg (Σ (3 HCH)) deutlich über der Dorschprobe aus der selben Gegend. Vermutlich liegt das daran, dass die HCH-Konzentrationen an der Grenzfläche Wasser-Atmosphäre deutlich über

den Gehalten im Wasser in 50 – 100 m (und mehr) Tiefe. Reese hat in der selben Gegend vergleichbare Werte gefunden (3,2 – 14 µg/kg) [Reese 1998].

Die Sandflunder (#1) liegt mit 11 µg/kg (Σ (2 HCH)) im gleichen Bereich wie die von Froescheis analysierte in der selben Tiefe vorkommende Petrale Zunge aus der Monterey Bay (11 µg/kg Σ (2 HCH)).

Chlordane

Die Gehalte an Chlordanen (Σ (6 CD)) in den Heilbutt-Filet-Proben aus dem Golf von Alaska und entlang der Aleuten liegen alle mit 1,5 – 7 µg/kg um ein vielfaches unter den Werten von Looser (108 µg/kg) für den Pazifik Heilbutt aus dem Golf von Alaska. Auch die in den Dorsch- und Heilbutt-Lebern gefundenen Chlordan Gehalte auf Adak liegen mit 32 - 71 µg/kg unter denen für den Allaska Pollack von de Brito (150 –190 µg/kg Σ (5 CD)) aus der Bering See. Der relativ hohe Gehalt von Chlordan in der Dorschleber (#11) von Sweeper Cove liegt zwar auch sehr hoch, doch rührt dies vermutlich von einer lokalen Eintragsquelle des Insektizids auf Adak her.

In den Muscheln liegen die Chlordan-Gehalte im selben Bereich (8 µg/kg), wie bei den Fischproben von den Aleuten und bestätigen die Gehalte in den Proben von Reese (2 - 18 µg/kg).

Die Chlordan Gehalte in der Sandflunder liegen mit 10 µg/kg um das fünfache unter den in der Petralen Zunge aus der Monterey Bay von Froescheis gefundenen 54 µg/kg. Eine Erklärung könnte die Abnahme der Chlordan-Belastung in den letzen Jahren sein und der erhöhte landwirtschaftliche Eintrag von Chlordan in der Gegend von Monterey.

Toxaphene

Für die Toxaphenbelastung in den Heilbutt- und Dorsch-Proben aus dem Nord Pazifik gilt ähnliches wie für die Chlordanverteilung. Es werden vergleichbare Gehalte von 3 – 12 µg/kg (Σ (3Tox) gefunden. Diese Werte liegen deutlich unter den Gehalten von Looser für den Pazifik Heilbutt (75 µg/kg). Hervorstechend sind jedoch die Gehalte an Toxaphen in der Heilbutt-Leber-Probe (40 µg/kg) von Adak Lucky Point (#8), und der Dorschprobe (106 µg/kg) aus dem Hafenbereich Sweeper Cove (#11). Die Gehalte in den Miesmuscheln liegen bei 11 µg/kg und deuten auf einen unmittelbaren Eintrag oder eine Quelle (Landfills: Mülldeponien etc.) für diese Schadstoffe auf der Insel hin.

In Dorsch-Leber-Proben (Gadus morhua) aus dem Jarfjord in der Barents See im Nord Atlantik wurden von Foreid Summengehalte für die drei Toxaphenkongenere (Σ (3Tox) von 50 µg/kg gefunden [Foreid 2000].

Für die Sandflunderprobe (#1) ergibt siche eine Toxaphenbelastung der drei Kongenere von 14 µg/kg, was um den Faktor 3 unter den Gehalten von Froescheis für die Petrale Zunge (40 µg/kg Σ (3Tox)) aus der Monterey Bay liegt.

PBDEs

Die Gehalte der tetra- und pentabromierten Diphenylether ließen sich in den meisten Proben in einem Konzentrationsbereich von 2 – 50 µg/kg (Σ (3 PBDEs)) nachweisen. Dabei findet man für die Sandflunder (#1) aus San Francisco mit 50 µg/kg die höchsten Gehalte in allen untersuchten Proben, was einem direkten Eintrag dieser Stoffgruppe in stark industrialisierten Küstengegenden entspricht. In Plattfischen (Sole) von der kanadischen Pazifikküste wurden von Ikonomou vergleichbare Gehalte für die PBDEs gefunden [Ikonomou 2002].

In den Heilbuttproben aus dem Golf von Alaska (#2 und #3) findet man mit 2,5 – 6,5 µg/kg vergleichbare Gehalte wie im gesamten Bereich der Aleuten (#4 – # 9). Teilweise höhere Gehalte (9 – 14 µg/kg) lassen sich in den Dorsch-Proben von Adak (#10 und #11) bestimmen. Ähnliche Konzentrationen wurden von de Boer in Dorschleber aus der Nordsee gefunden [de Boer 1989]. Im Bereich der Aleuten ist die höchste Konzentration von PBDEs mit 15 µg/kg in den Muscheln (#12) aus dem Hafenbereich auf Adak zu finden. In allen Proben ist das 2,2',4,4'-Tetra-Brom Kongener (PBDE 47) domonierend, wohingegen die pentabromierten Kongenere (PBDE 99 und PBDE 100) ebenfalls in allen Proben detektierbar sind, jedoch nur in einer durchschnittlich zehnfach geringeren Konzentration des Tetrabrom-Kongeners. In dem technischen Produkt Bromkal 70-5DE liegen PBDE 47 und PBDE 99 zu ähnlichen Teilen vor, jedoch wird das tetra-Brom-Kongener deutlich stärker akkumuliert oder weniger stark in der Umwelt abgebaut.

Pentachlorbenzol (PCBz)

Der PCBz Gehalt ist in der Sandflunder #1 von der Küstenregion San Franciscos mit über 4 µg/kg am größten, in den Filetproben treten nur sehr geringe Konzentrationen auf und die Gehalte in den Leberproben liegen um den Faktor drei höher, jedoch lassen sich hier keine wesentlichen Unterschiede feststellen.

Hexachlorbenzol (HCB)

Für HCB liegen die Gehalte in den Heilbutt- und Dorschproben zwischen 2 – 16 µg/kg, welche deutlich unter den 75µg/kg für den Pazifik Heilbutt von Looser liegen. Für die Sandflunder findet man einen Gehalt von 7µg/kg, was den 6µg/kg in der Petralen Zunge bei Froescheis entspricht. Der Gehalt von 2,5µg/kg in den Muscheln (#12) liegt etwas über den von Reese gefundenen Werten (1,1 µg/kg).

Tri-Brom-Anisol (A33)

Vergleichbar mit den Gehalten an PBDEs und DPTE findet man eine Verteilung des A33 in den Proben. Die Gehalte in den Heilbutt- und Dorschproben liegen zwischen 1 – 4,5 µg/kg. Mit Abstand die höchste Konzentration an A33 findet man mit 15 µg/kg in den Muschelproben (#12). Dies deutet auf die biogene Entstehung dieses Anisols in Algen und Mikroorganismen an der Wasseroberfläche hin. Eine Anreicherung in den an der Wassergrenzschicht lebenden Muscheln ist deshalb sehr wahrscheinlich.

DPTE

DPTE (2,3-Dibrompropyl-(2,4,6-Tribromphenyl)-Ether (siehe dazu auch Kapitel 5.5) lässt sich in den meisten Proben in gerinen Mengen nachweisen (0,5 – 3,5 µg/kg). Bei den Proben mit einer hohen PBDE-Belastung findet man auch die höchsten Gehalte an DPTE. In dem Dorsch von Zeto Point (#10) lassen sich 5,6 µg/kg nachweisen, während der höchste Gehalt mit 6,2 µg/kg in den Muscheln (#12) zu finden ist. Für die Sandflunder findet man dagegen nur 3,3 µg/kg.

Tab. 5-5 Gehalte (Massenanteile) der Organohalogenverbindungen in den Fischen aus dem Nord Pazifik in µg/kg Lipid

Org. Halogen	Gehalt **µg/kg** extrahierte Lipidmenge (ppb)					
	#1 Sandflunder San Francisco	**#2 Heilbutt** Anchorage	**#3 Heilbutt** Golf v. Alaska	**#4 Heilbutt** Lucky Point (A)	**#5 Heilbutt** Kuluk Bay	**#6 Heilbutt** Amchitka Island
2,4´-DDE	36,9	n.n.	0,6	0,1	0,1	1,8
4,4´-DDE	487,9	3,1	11,0	8,8	2,1	16,3
2,4´-DDD	n.n.	0,0	0,2	0,3	n.n.	n.n.
4,4´-DDD	3,6	n.n.	1,6	2,2	n.n.	n.n.
2,4´-DDT	2,6	n.n.	0,8	n.n.	n.n.	0,4
4,4´-DDT	12,4	0,5	1,0	n.n.	n.n.	n.n.
Σ (6 DDX)	**544**	**3,6**	**15,2**	**11,4**	**2,2**	**18,5**
α-HCH	8,6	0,7	1,2	3,8	0,9	n.n.
β-HCH	8,5	1,4	0,6	1,0	0,2	1,0
γ-HCH	1,8	0,4	0,3	11,7	0,2	n.n.
Σ (3 HCH)	**19**	**2,5**	**2,1**	**16,6**	**1,4**	**10**
HCE	0,7	0,5	0,2	0,4	0,1	0,3
oxy-CD	2,2	1,0	1,6	n.n.	0,4	0,3
cis-CD	4,8	0,5	3,6	1,4	0,3	1,9
trans-CD	n.n.	n.n.	0,2	0,6	0,2	0,2
cis-Nona	2,2	n.n.	1,2	0,8	0,1	0,4
trans-Nona	n.n.	n.n.	0,2	0,6	0,2	0,2
Σ (6 Chlordane)	**10**	**2,1**	**7,0**	**3,7**	**1,3**	**3,3**
Heptachlor	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2,7
Dieldrin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Mirex	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
PCBz	4,1	1,0	0,5	0,4	0,5	1,4
HCB	6,8	4,2	2,7	3,7	1,8	3,1
PCA (A19)	n.n.	0,1	n.q.	0,3	0,1	n.q.
TrBrA (A33)	0,8	0,9	0,2	0,9	0,4	0,7
TCDMB	n.n.	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1
OCS	n.n.	n.n.	0,3	0,2	n.q.	0,2
α-ES	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
β-ES	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
ES-Sulfat	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
TCPM 10	1,1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2,1
T 26	7,1	1,8	3,4	1,4	0,4	2,6
T 50	5,1	2,1	1,0	1,5	n.n.	n.n.
T 62	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Σ (3 Toxaphene)	**12**	**3,9**	**4,5**	**2,9**	**0,4**	**2,6**
PBDE 47	41,7	5,6	1,5	n.n.	1,6	2,5
PBDE 85	n.n.	n.n.	n.q.	n.n.	n.n.	n.n.
PBDE 99	2,2	0,7	0,5	n.n.	0,3	0,3
PBDE 100	4,9	0,1	0,1	n.n.	0,1	0,4
PBDE 153	0,1	n.n.	n.q.	n.n.	n.n.	n.n.
PBDE 154	0,9	n.n.	n.q.	n.n.	n.n.	n.n.
MeO-TeBrDPE	n.n.	n.n.	0,1	n.n.	n.n.	0,1
Σ (PBDE)	**50**	**6,5**	**2,3**	**0,0**	**2,0**	**3,1**
DPTE	**3,3**	1,0	0,3	n.n.	1,0	0,6

Tab. 5-6 Gehalte (Massenanteile) der Organohalogenverbindungen in den Fischen aus dem Nord Pazifik in µg/kg Lipid

Org. Halogen	Gehalt **µg/kg** extrahierte Lipidmenge (ppb)					
	#7 Heilbutt Attu Island	**#8 Heilbutt** Lucky Point (B)	**#9 Dorsch** Kuluk Bay	**#10 Dorsch** Zeto Point	**#11 Dorsch** Sweeper Cove	**#12 Blue Mussels** Sweeper Cove
2,4´-DDE	1,3	2,8	2,7	1,5	8,8	n.n.
4,4´-DDE	15,1	64,9	206,6	53,6	263,3	6,4
2,4´-DDD	n.n.	1,2	n.n.	1,3	2,7	1,1
4,4´-DDD	1,6	n.n.	n.n.	10,5	59,1	3,0
2,4´-DDT	3,1	5,6	n.n.	n.n.	2,7	1,6
4,4'-DDT	0,0	n.n.	0,4	n.n.	11,5	0,0
Σ (6 DDX)	**21,1**	**75**	**210**	**67**	**348**	**12**
α-HCH	1,9	20,2	7,1	22,3	3,1	8,9
β-HCH	2,4	2,8	3,3	2,2	1,4	4,9
γ-HCH	1,1	4,4	0,2	1,2	0,7	1,8
Σ (3 HCH)	**5,4**	**27**	**11**	**26**	**5**	**16**
HCE	0,8	2,5	1,1	4,1	1,5	1,0
oxy-CD	2,6	7,8	4,9	5,1	18,5	1,7
cis-CD	0,5	11,4	21,9	21,4	59,3	2,2
trans-CD	0,9	4,8	21,5	2,6	29,9	0,9
cis-Nona	1,5	0,3	n.n.	4,1	33,9	1,4
trans-Nona	0,9	4,8	21,5	2,6	29,9	0,9
Σ (6 Chlordane)	**7,2**	**32**	**71**	**40**	**173**	**8**
Heptachlor	0,7	n.n.	6,7	4,0	6,5	1,7
Dieldrin	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,3	n.n.
Mirex	n.n.	n.n.	n.n.	8,7	3,6	n.n.
PCBz	0,7	1,9	1,5	1,4	2,3	1,3
HCB	6,8	16,3	13,7	8,9	12,9	2,5
PCA (A19)	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,6
TrBrA (A33)	1,5	4,3	1,9	2,2	0,7	14,8
TCDMB	0,2	0,5	0,3	0,3	0,2	0,6
OCS	0,2	1,0	2,9	0,7	5,1	0,7
α-ES	n.n.	0,3	0,4	n.n.	1,9	0,0
β-ES	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,4
ES-Sulfat	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
TCPM 10	n.n.	0,2	n.n.	n.n.	n.n.	5,1
T 26	6,3	21,2	12,1	7,0	64,9	2,1
T 50	3,3	19,1	n.n.	3,8	34,7	2,0
T 62	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	6,4	6,4
Σ (3 Toxaphene)	**9,6**	**40**	**12**	**11**	**106**	**11**
PBDE 47	2,3	2,7	4,0	9,6	7,2	6,4
PBDE 85	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,4
PBDE 99	0,4	n.n.	0,3	1,5	0,4	4,4
PBDE 100	0,2	0,4	0,2	2,3	1,1	2,2
PBDE 153	n.n.	0,2	n.n.	n.n.	0,3	0,8
PBDE 154	n.n.	0,1	n.n.	0,4	0,2	0,6
MeO-TeBrDPE	0,2	0,8	1,3	1,1	0,8	0,8
Σ (PBDE)	**2,9**	**3**	**4**	**14**	**9**	**15**
DPTE	3,8	**1,4**	**0,4**	**5,6**	**0,5**	**6,2**

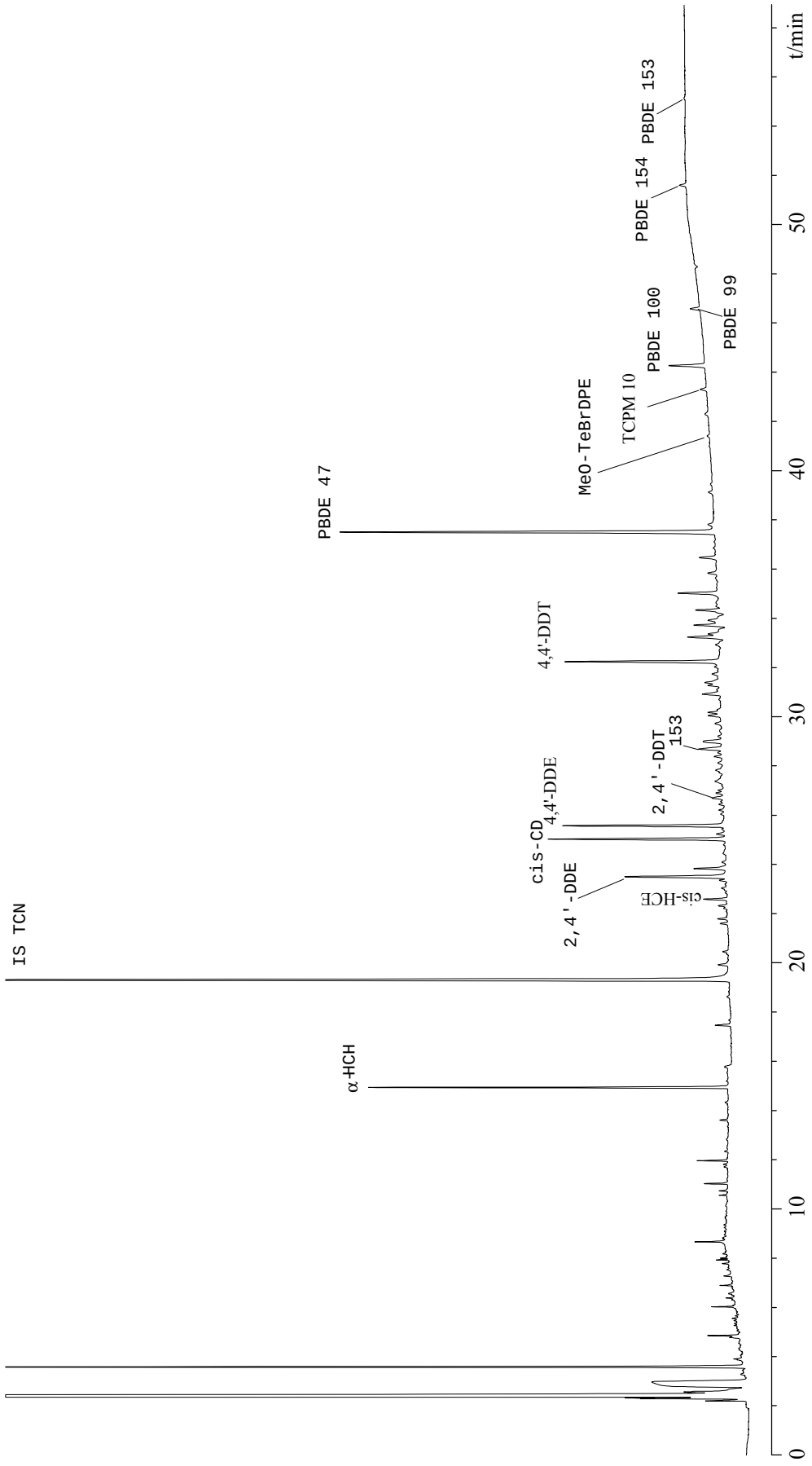


Abb. 5-15 HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #1 Pazifische Sandflunder Leber, San Francisco Bay N2-Fraktion ; (Lipid Aliquot: 245 mg) Trennbedingungen **ECD 2**



Abb. 5-16. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #1 Pazifische Sandflunder Leber, San Francisco Bay B1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 245 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

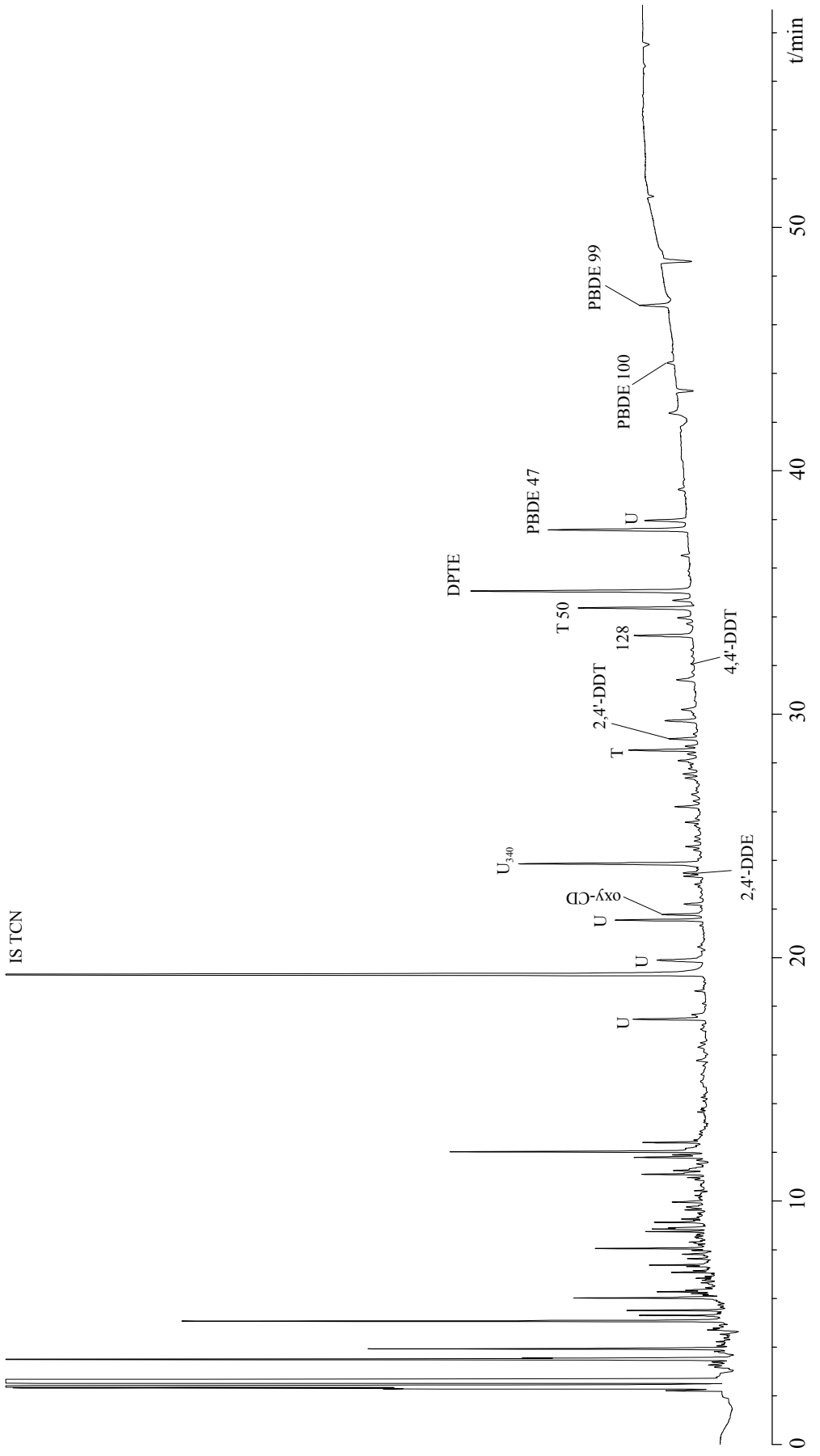


Abb. 5-17. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #2 Pazifischer Heilbutt Filet, Golf von Alaska N2-Fraktion; (Lipid Aliquot: 515 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

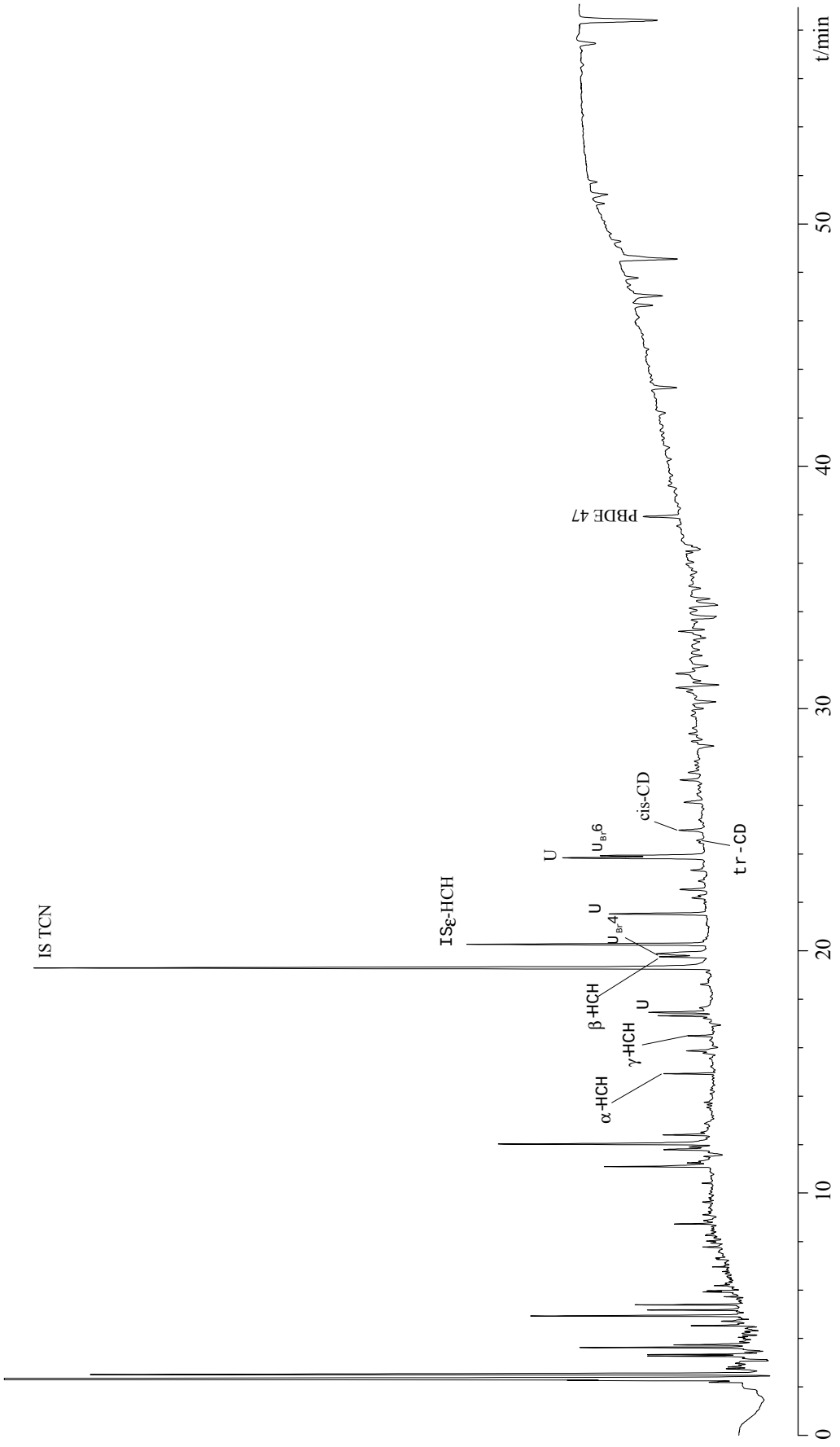


Abb. 5-18. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #2 Pazifischer Heilbutt Filet, Golf von Alaska B1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 515 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

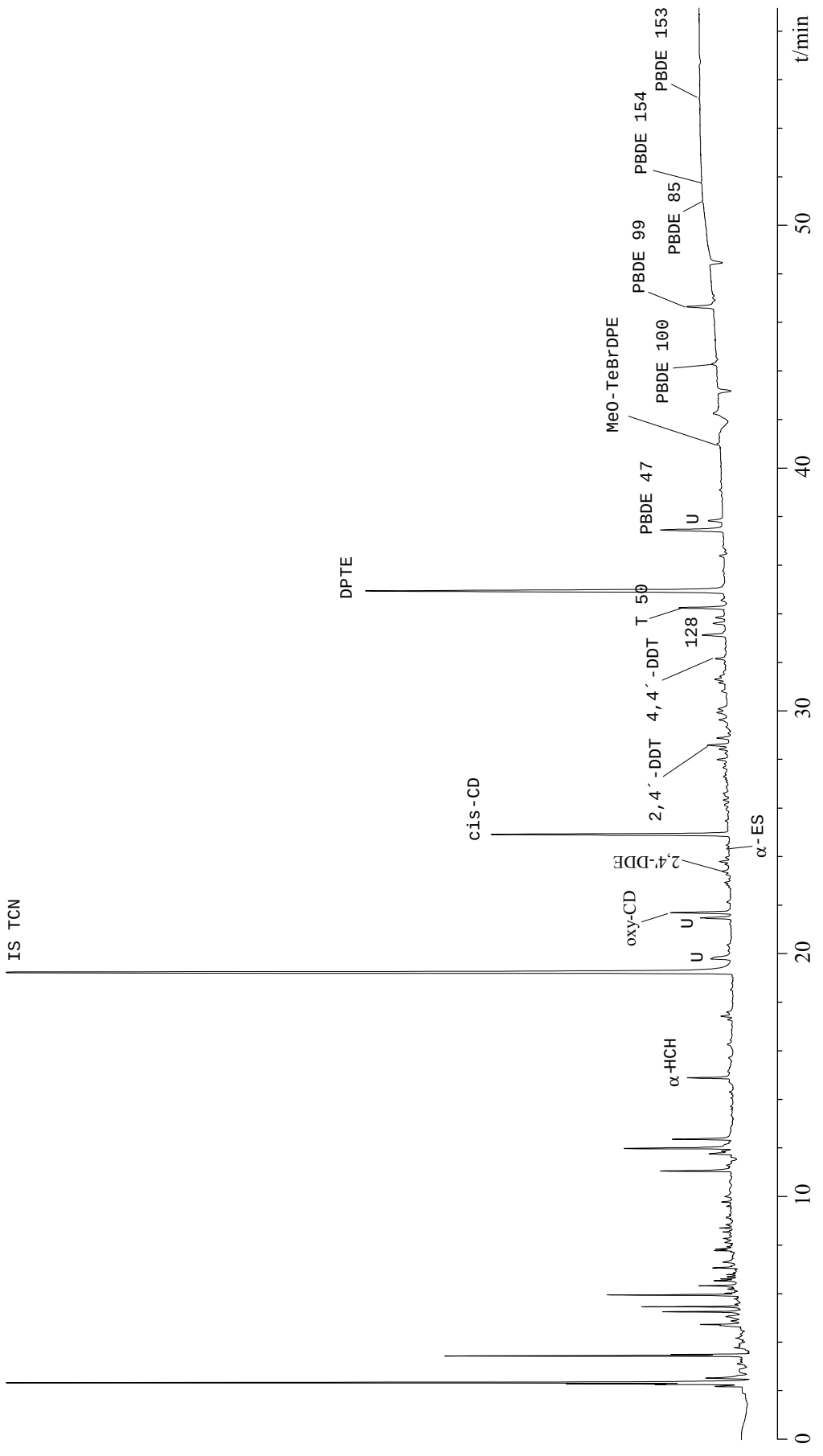


Abb. 5-19. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #3 Pazifischer Heilbutt Filet, Golf von Alaska N2-Fraktion; (Lipid Aliquot: 584 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

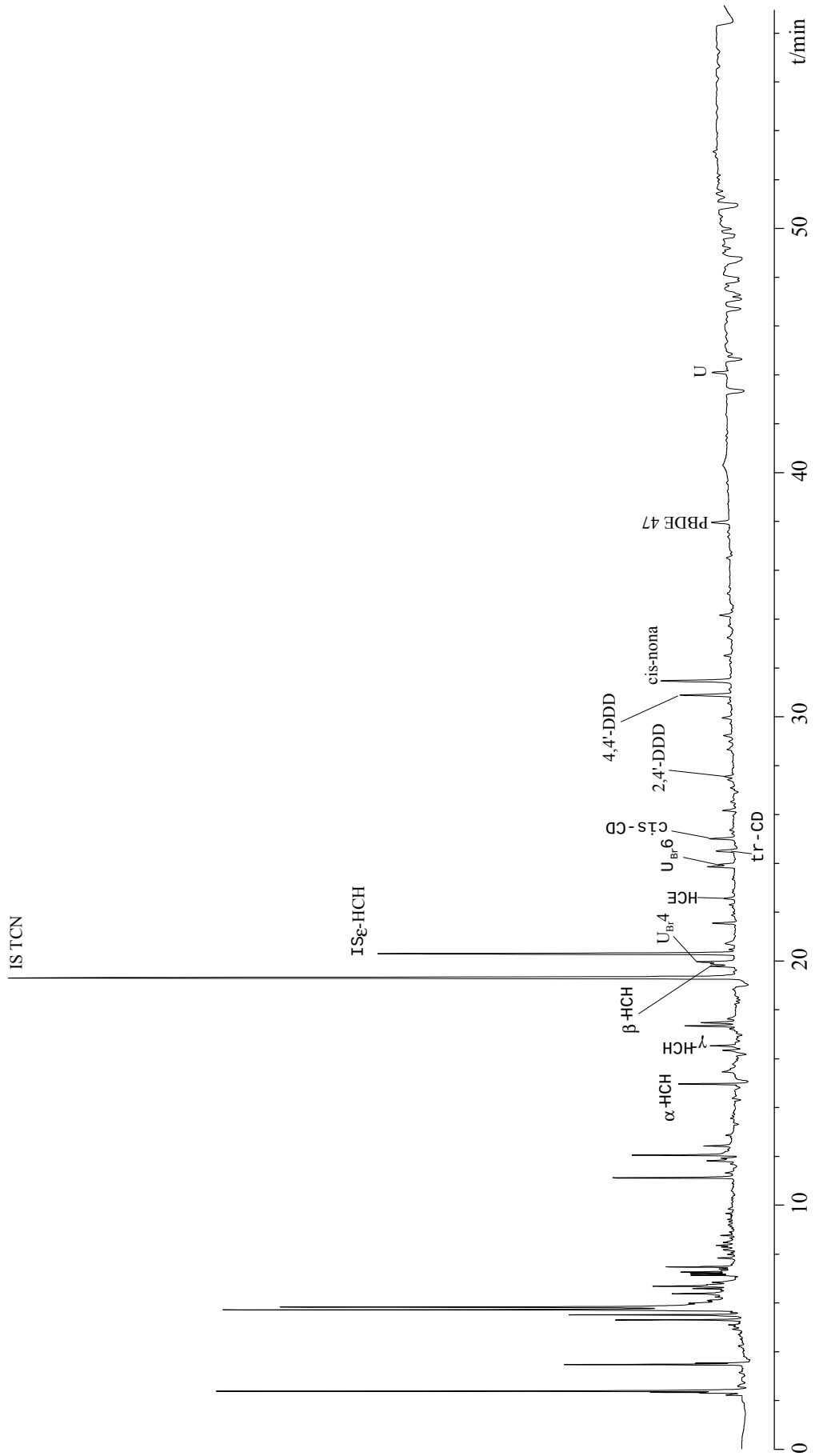


Abb. 5-20. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #3 Pazifischer Heilbutt Filet, Golf von Alaska B1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 584 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

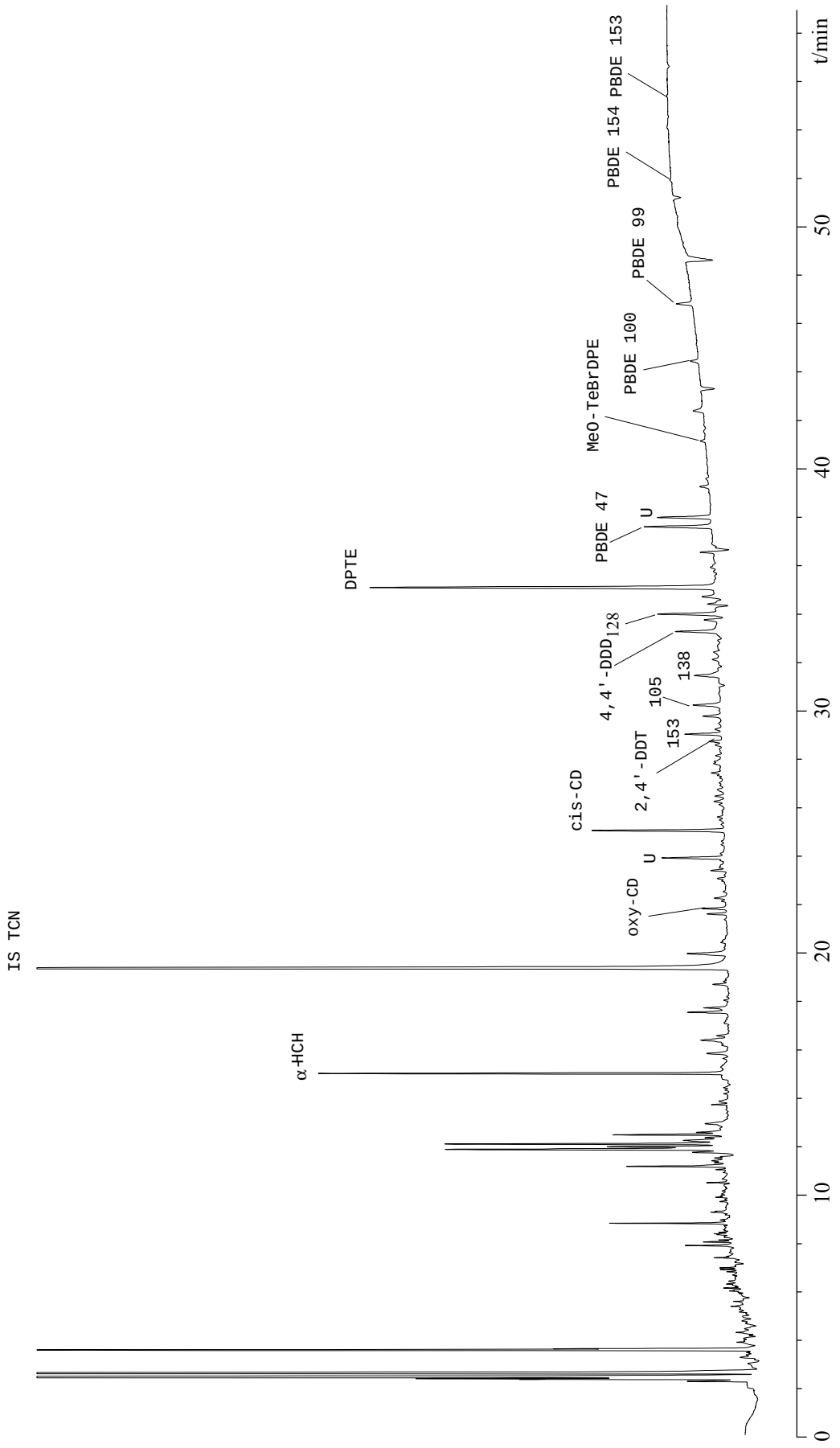


Abb. 5-21. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #4 Pazifischer Heilbutt Filet, Adak, Lucky Point N2-Fraktion; (Lipid Aliquot: 650 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

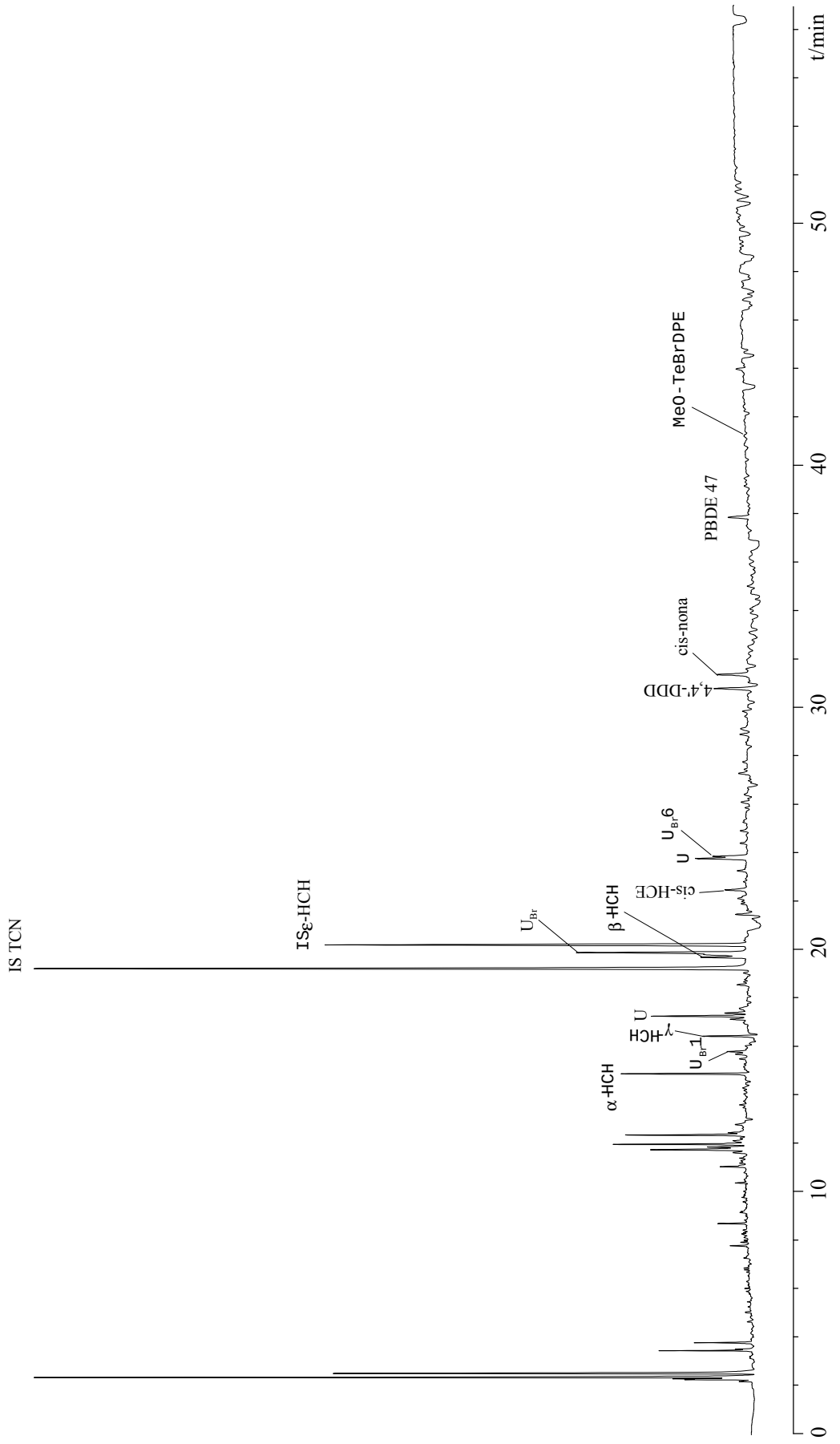


Abb. 5-22. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #4 Pazifischer Heilbutt Filet, Adak, Lucky Point B1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 650 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

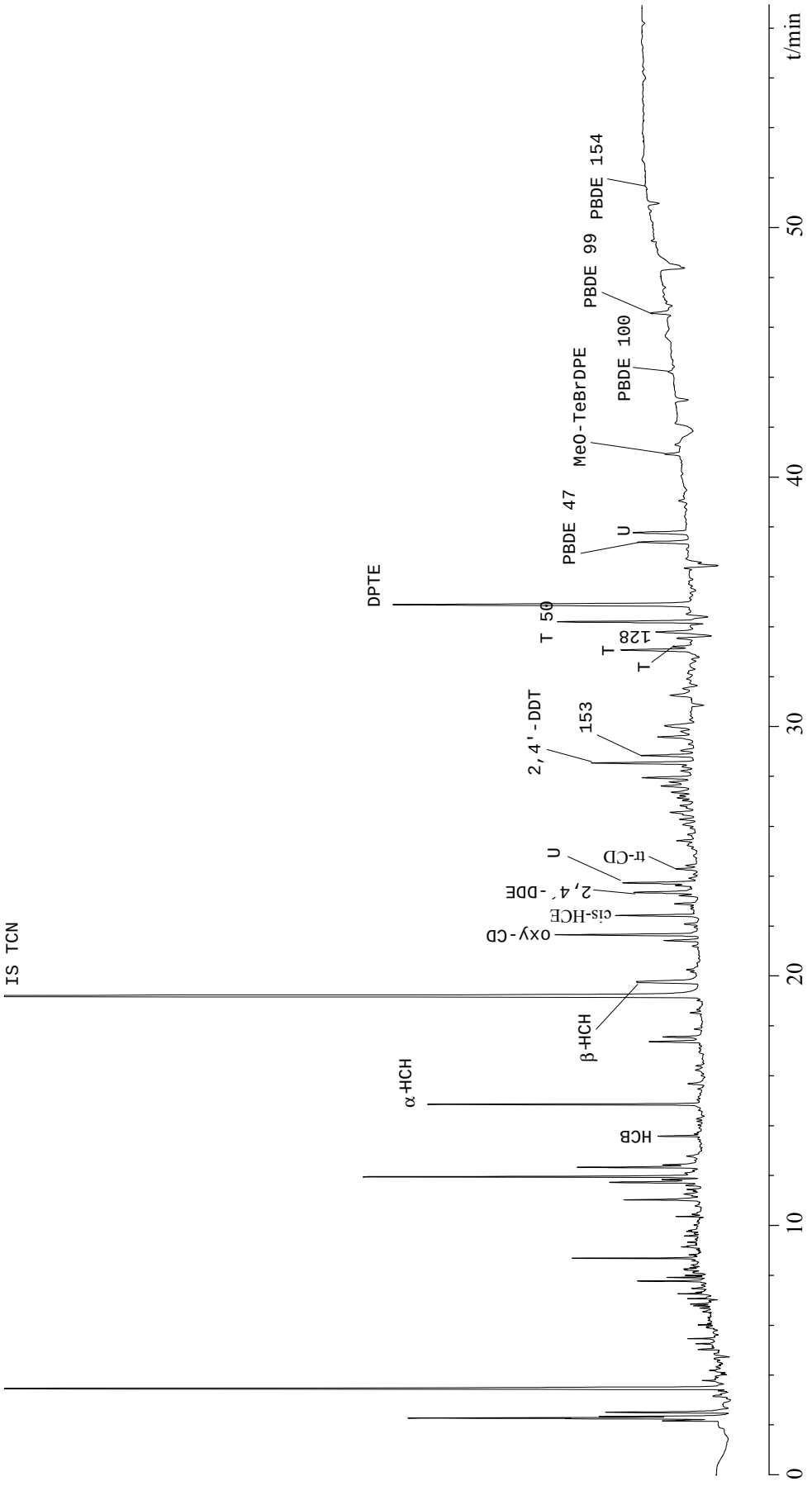


Abb. 5-23. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #5 Pazifischer Heilbutt Filet, Adak, Kuluk Bay N2-Fraktion; (Lipid Aliquot: 657 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

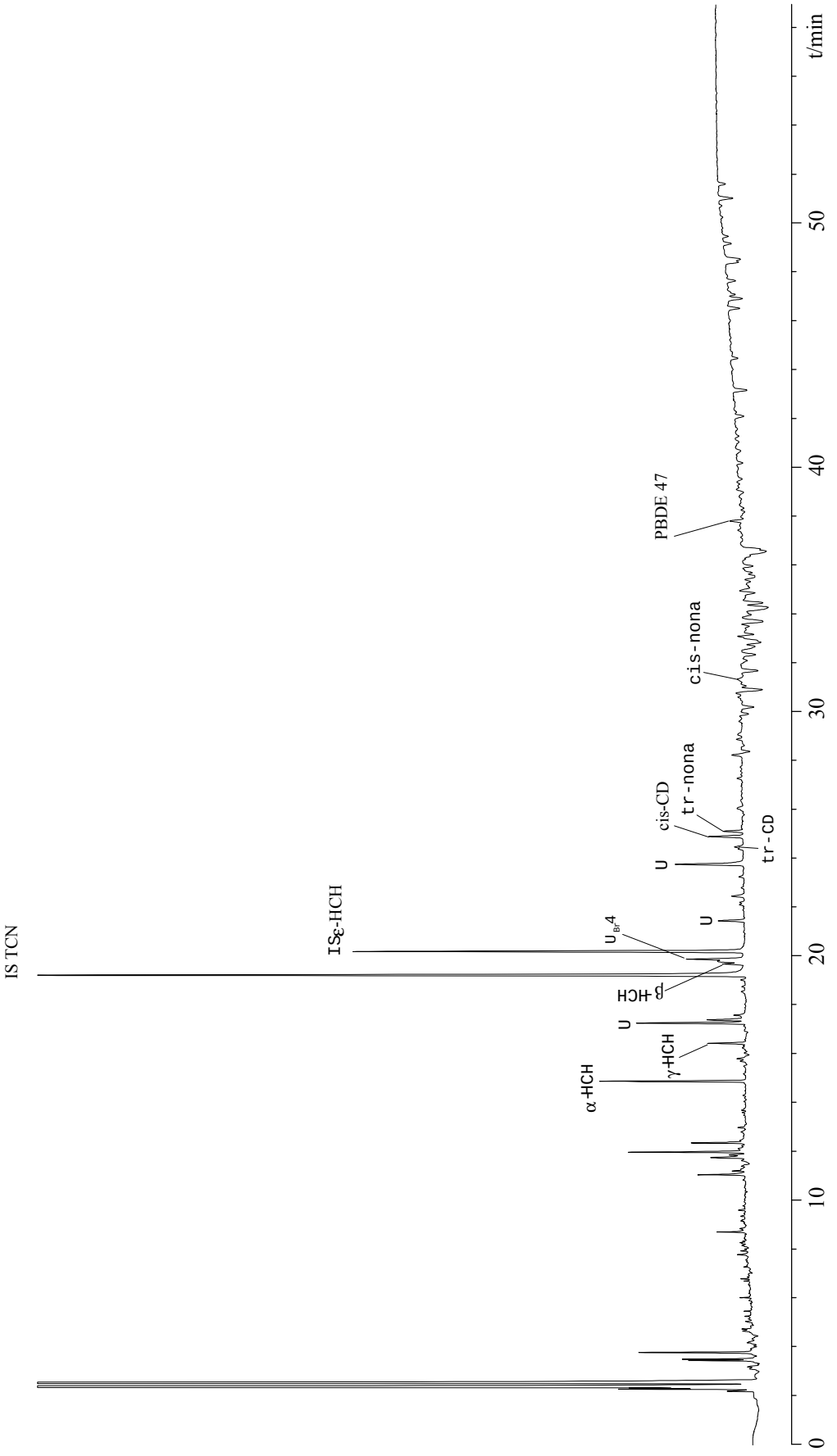


Abb. 5-24. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #5 Pazifischer Heilbutt Filet, Adak, Kuluk Bay B1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 657 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

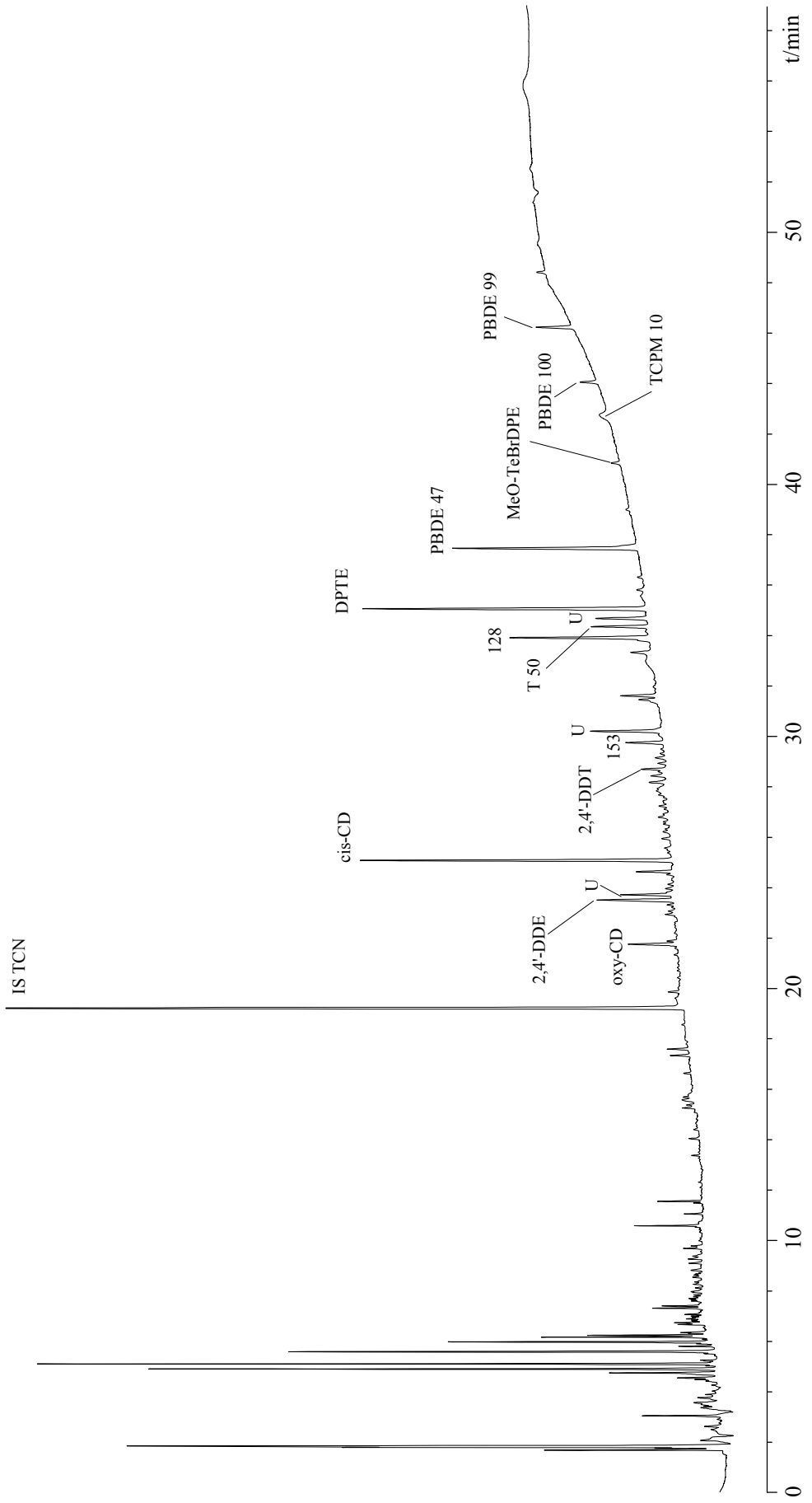


Abb. 5-25. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #6 Pazifischer Heilbutt Filet, Amchitka N2 Fraktion; (Lipid Aliquot: 543 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

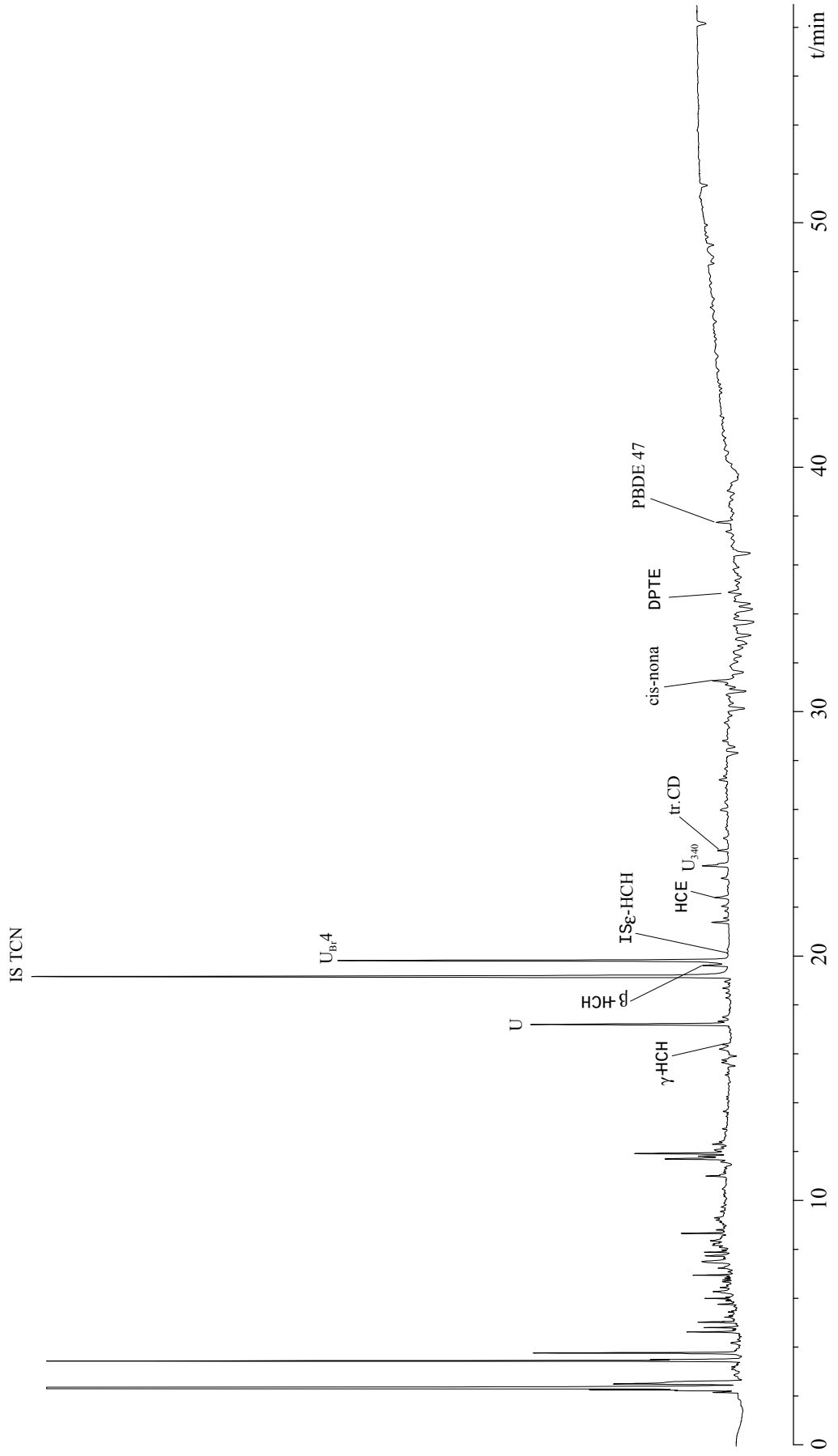


Abb. 5-26. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #6 Pazifischer Heilbutt Filet, Amchitka B1 Fraktion; (Lipid Aliquot: 543 mg) Trennbedingungen **ECD 2**

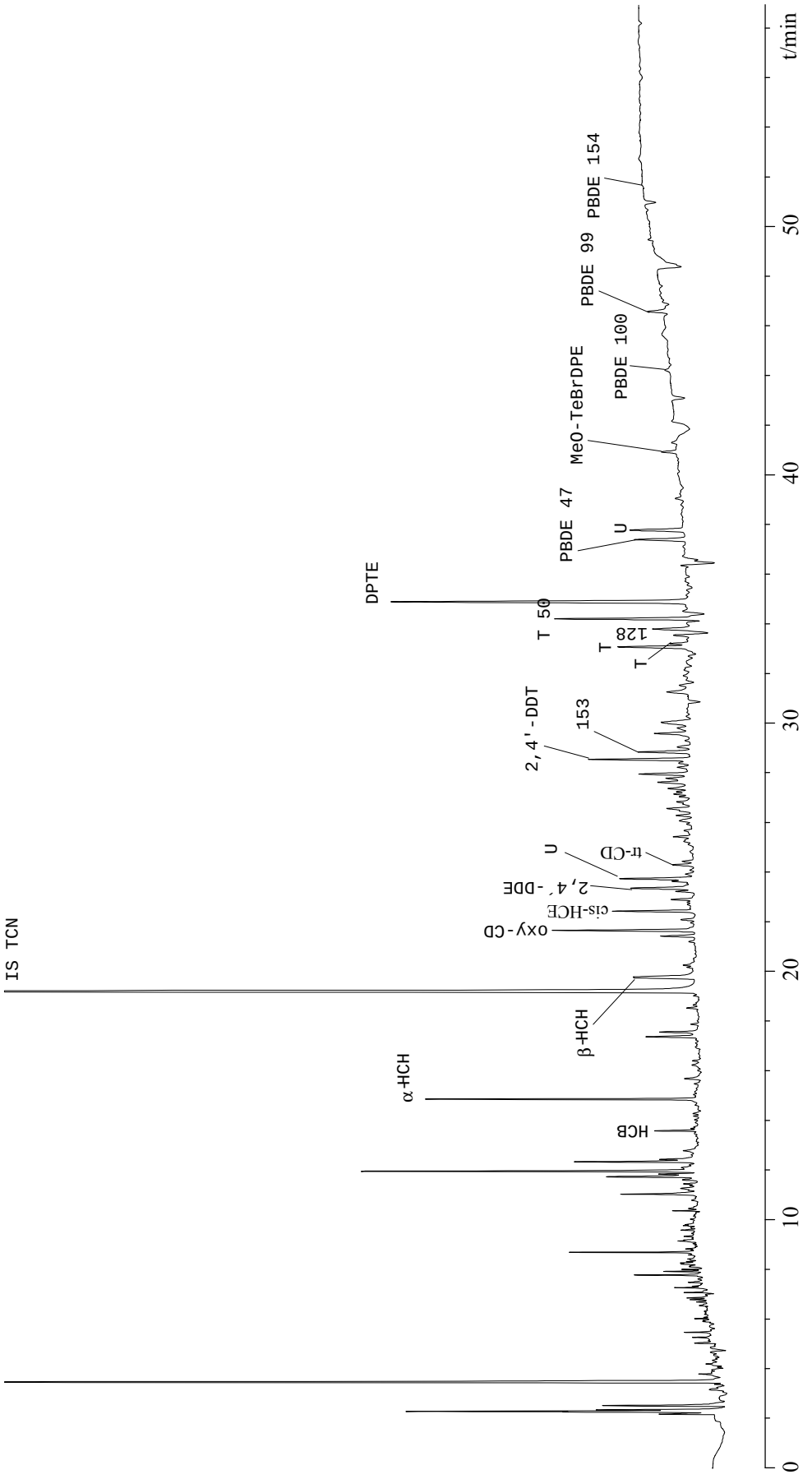


Abb. 5-27. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #7 Pazifischer Heilbutt Filet, Attu N2-Fraktion; (Lipid Aliquot: 507 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

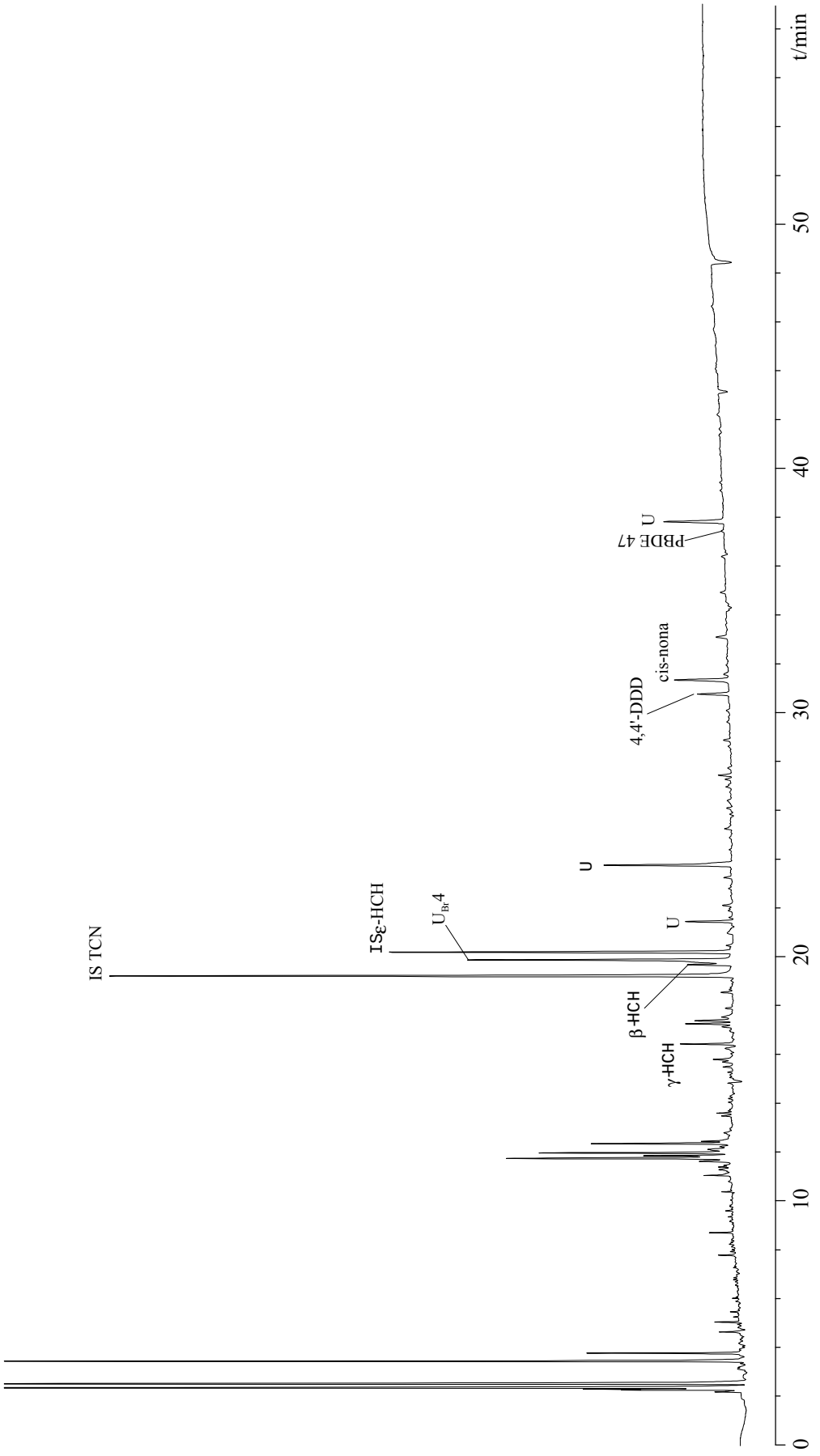


Abb. 5-28. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #7 Pazifischer Heilbutt Filet, Attu B1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 507 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

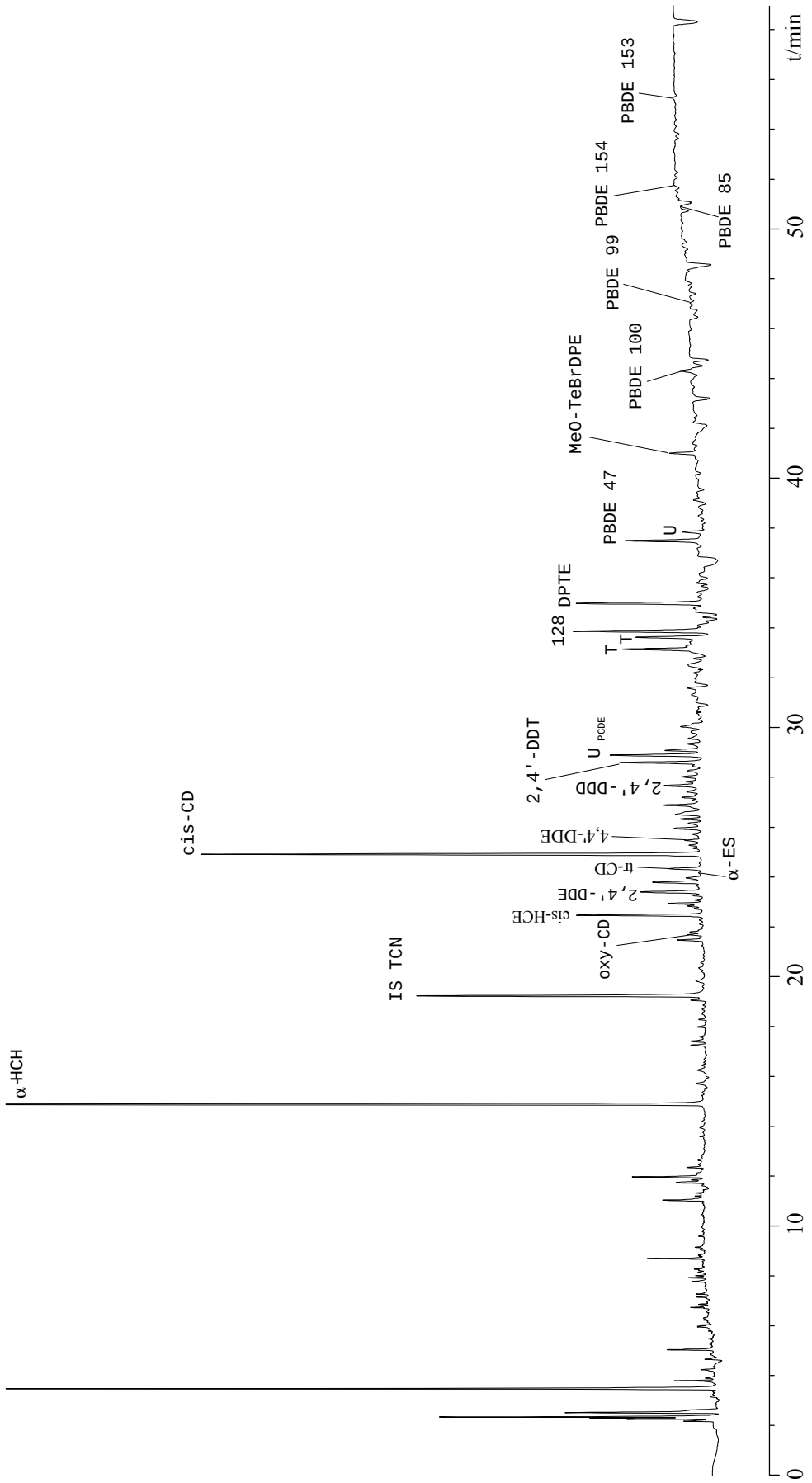


Abb. 5-29. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #8 Pazifischer Heilbutt Leber , Lucky Point Adak N2 -Fraktion; (Lipid Aliquot: 1247 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

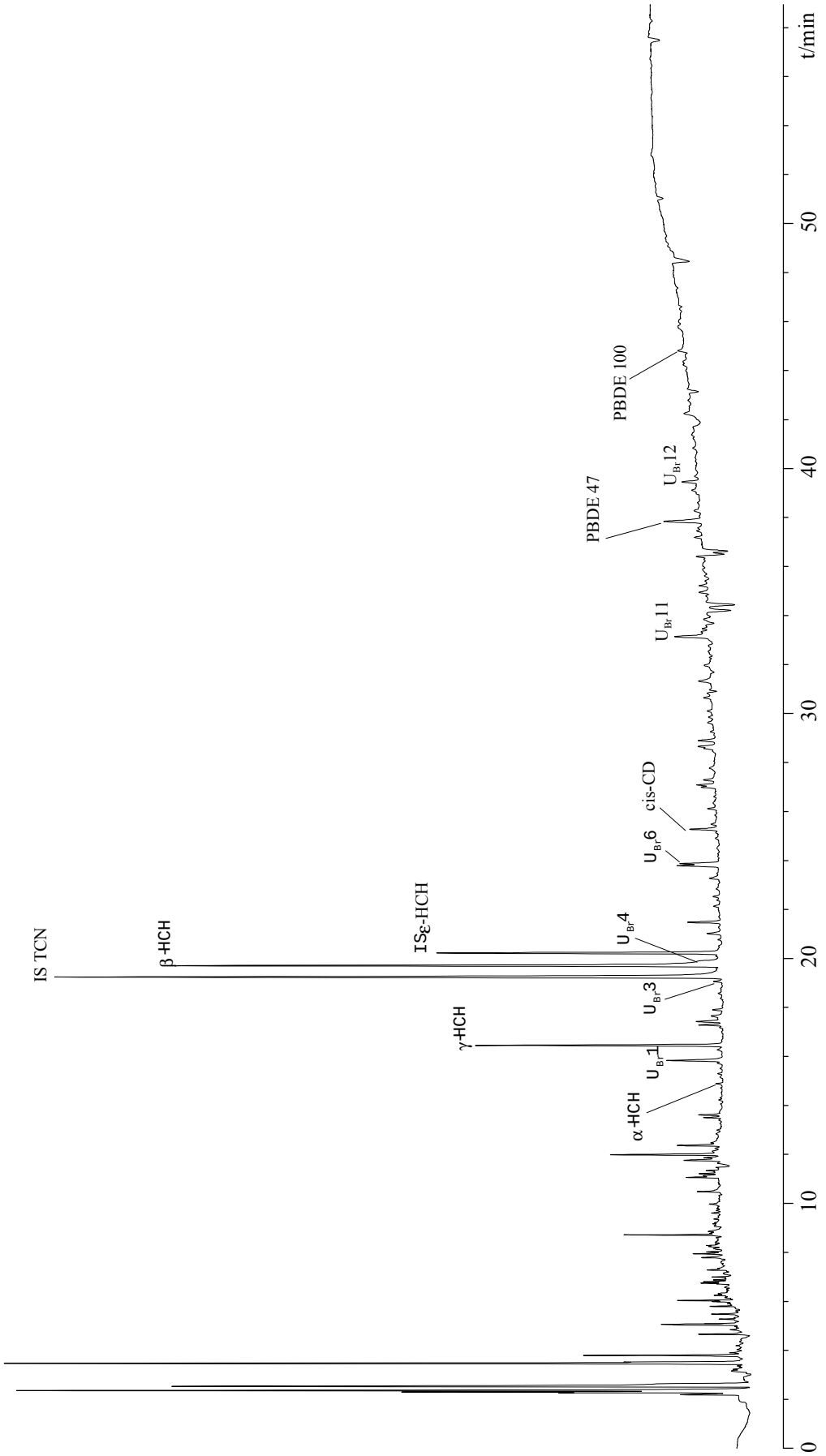


Abb. 5-30. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #8 Pazifischer Heilbutt Leber , Lucky Point Adak B1 -Fraktion; (Lipid Aliquot: 1247 mg)
Trennbedingungen **ECD 1**

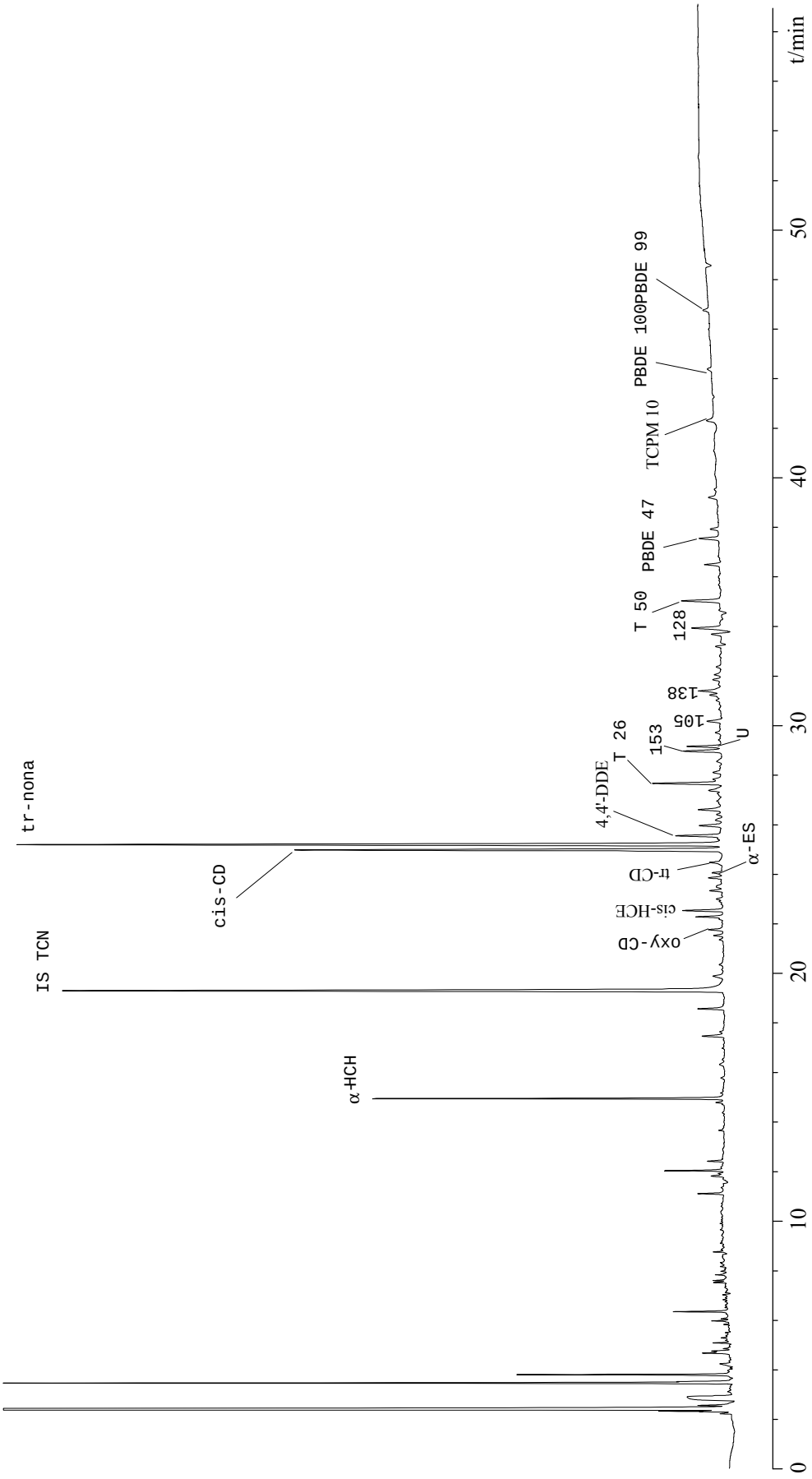


Abb. 5-31. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #9 Pazifischer Dorsch Leber , Kuluk Bay Adak N2-Fraktion; (Lipid Aliquot: 392 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

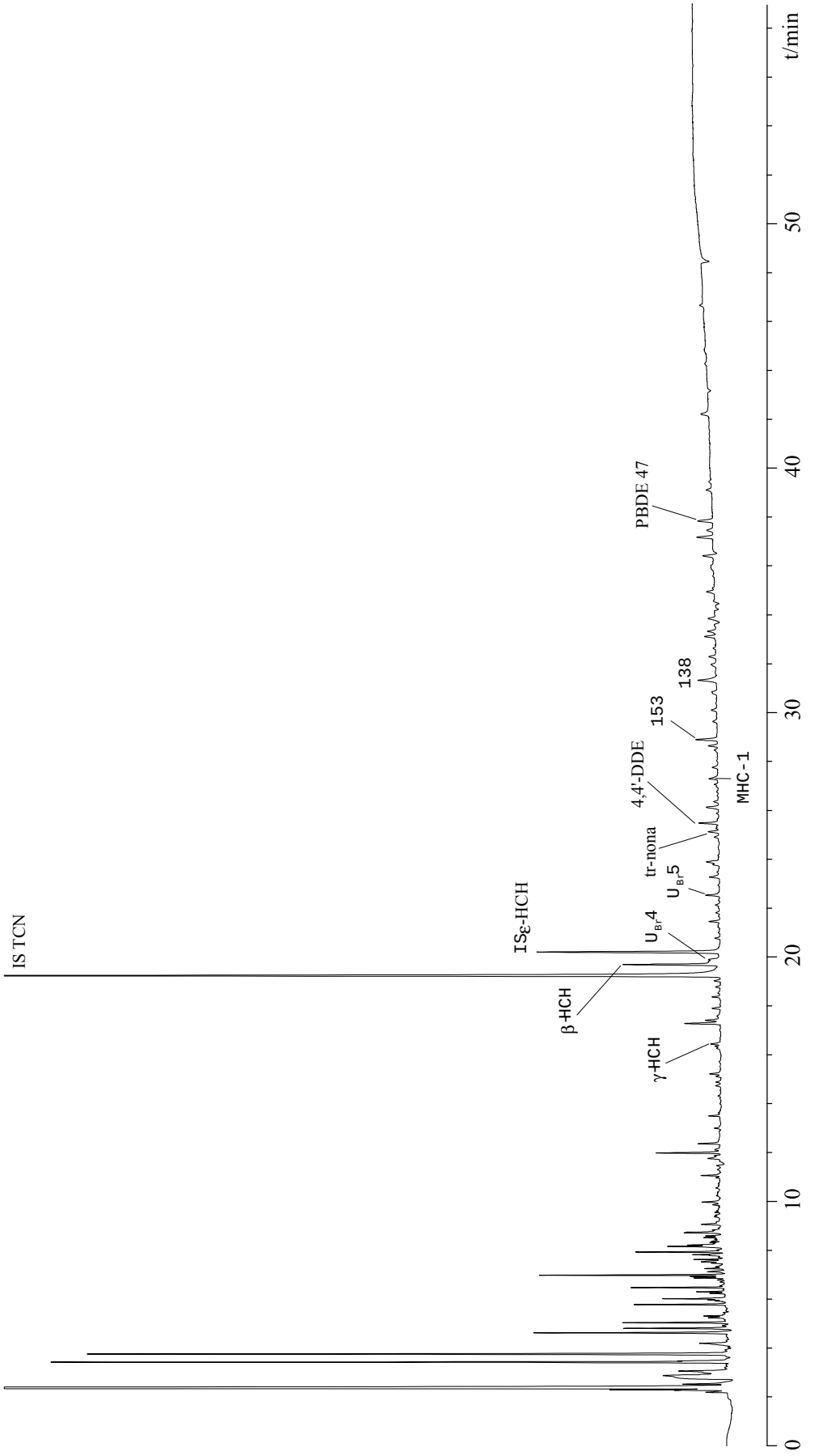


Abb. 5-32. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #9 Pazifischer Dorsch Leber , Kuluk Bay Adak B1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 392 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

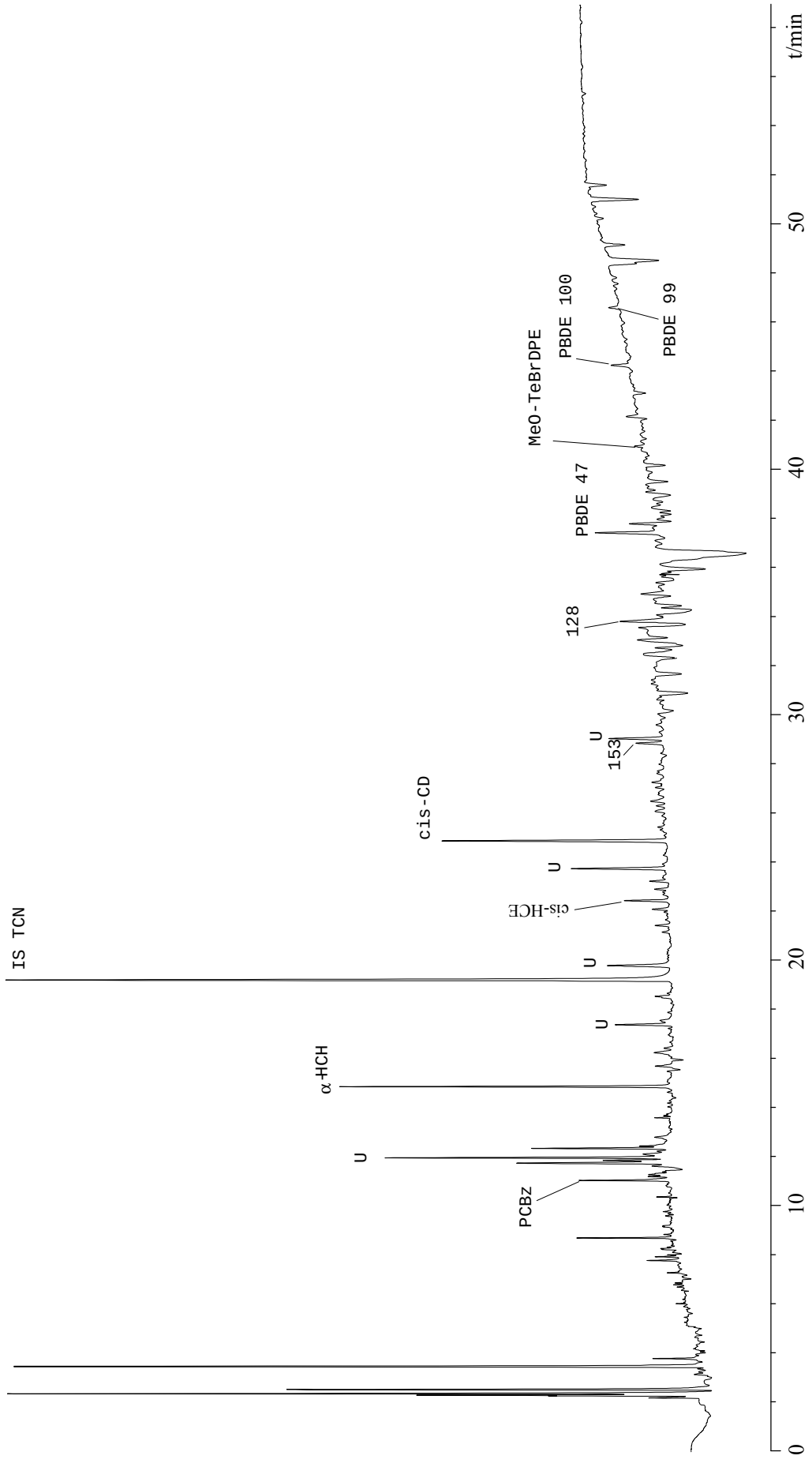


Abb. 5-33. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #10 Pazifischer Dorsch Leber , Zeto Point, Adak N2-Fraktion; (Lipid Aliquot: 427 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

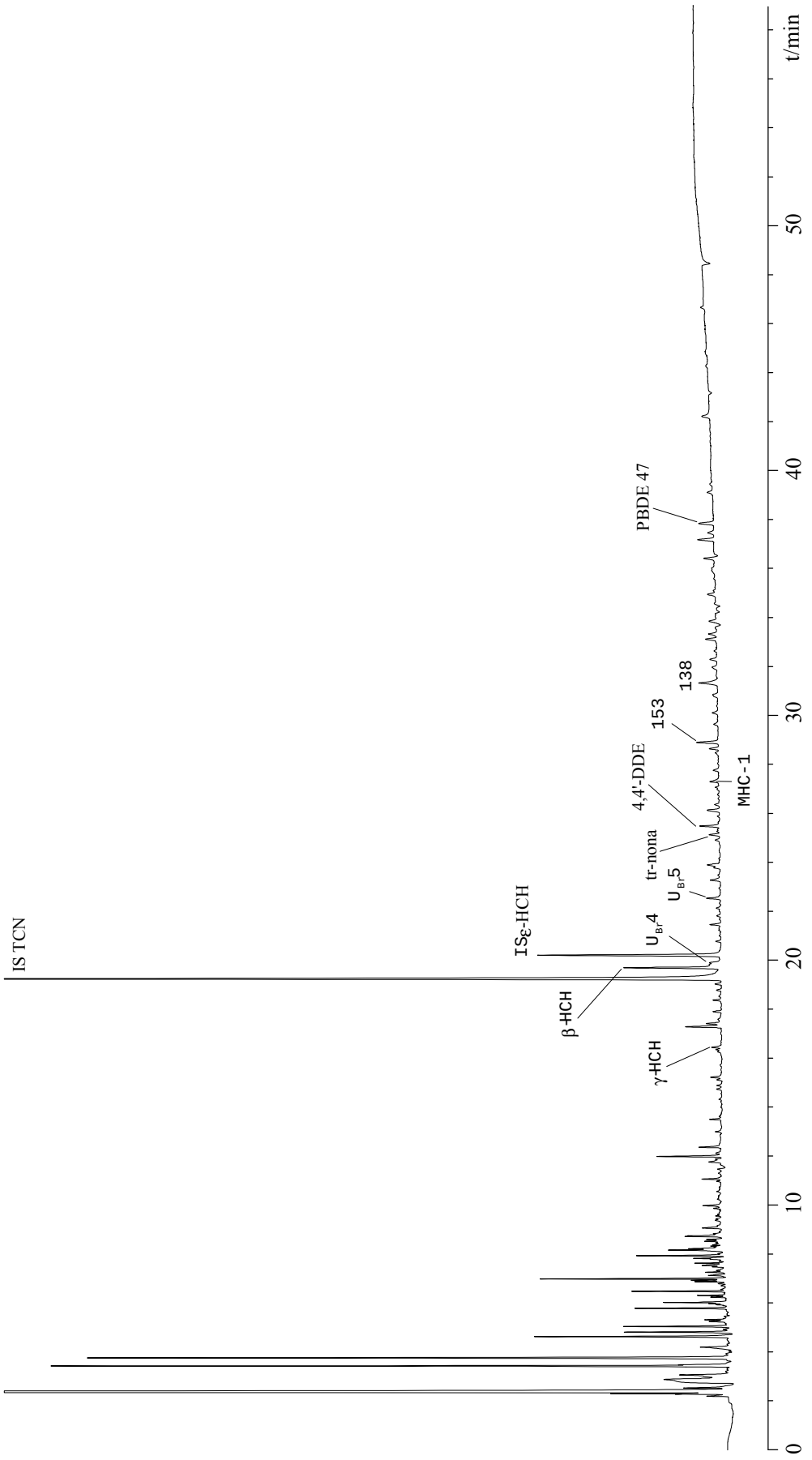


Abb. 5-34. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #10 Pazifischer Dorsch Leber , Zeto Point, Adak B1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 427 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

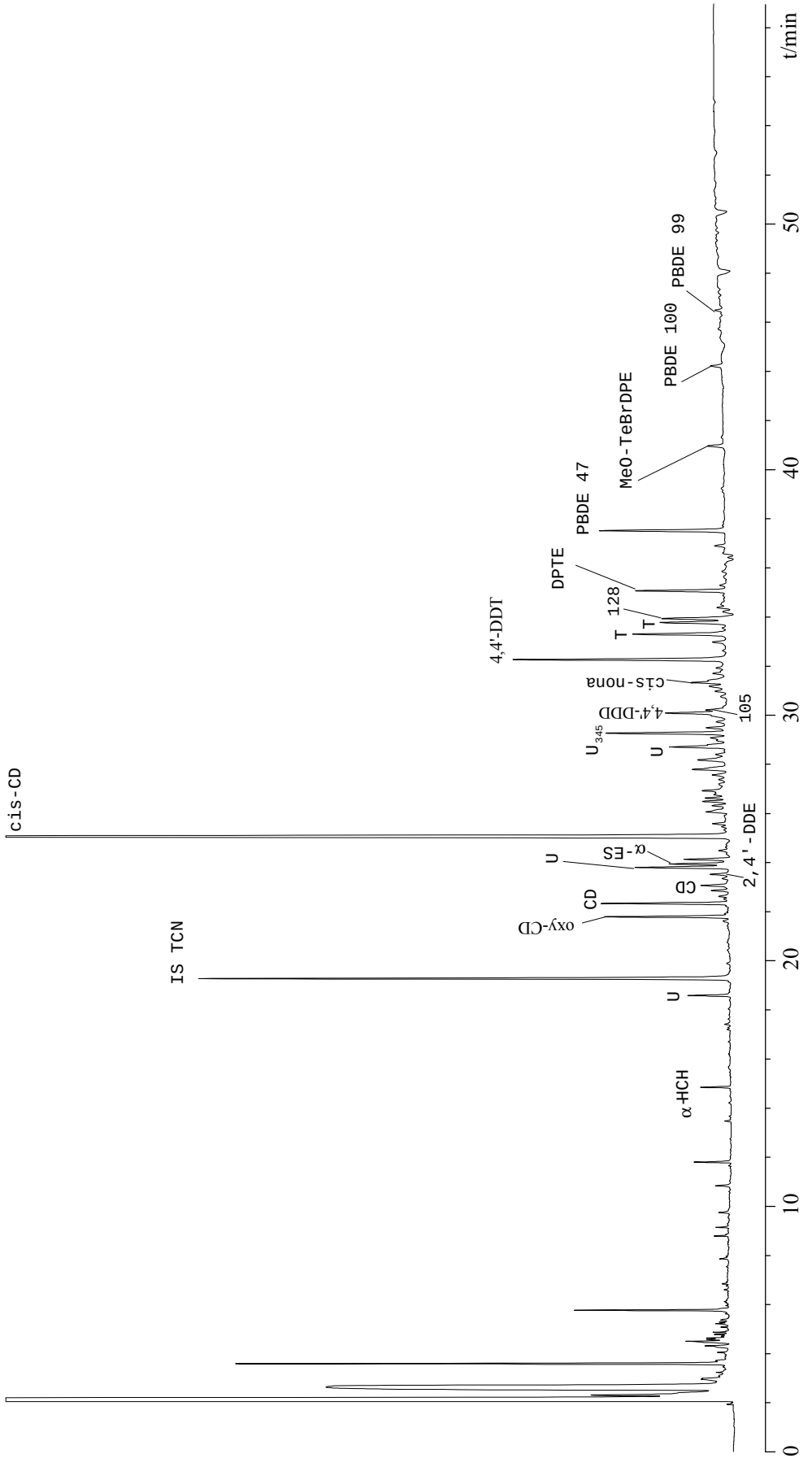


Abb. 5-35. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #11 Pazifischer Dorsch Leber , Sweeper Cove, Adak N2-Fraktion; (Lipid Aliquot: 353 mg) Trennbedingungen **ECD 2**

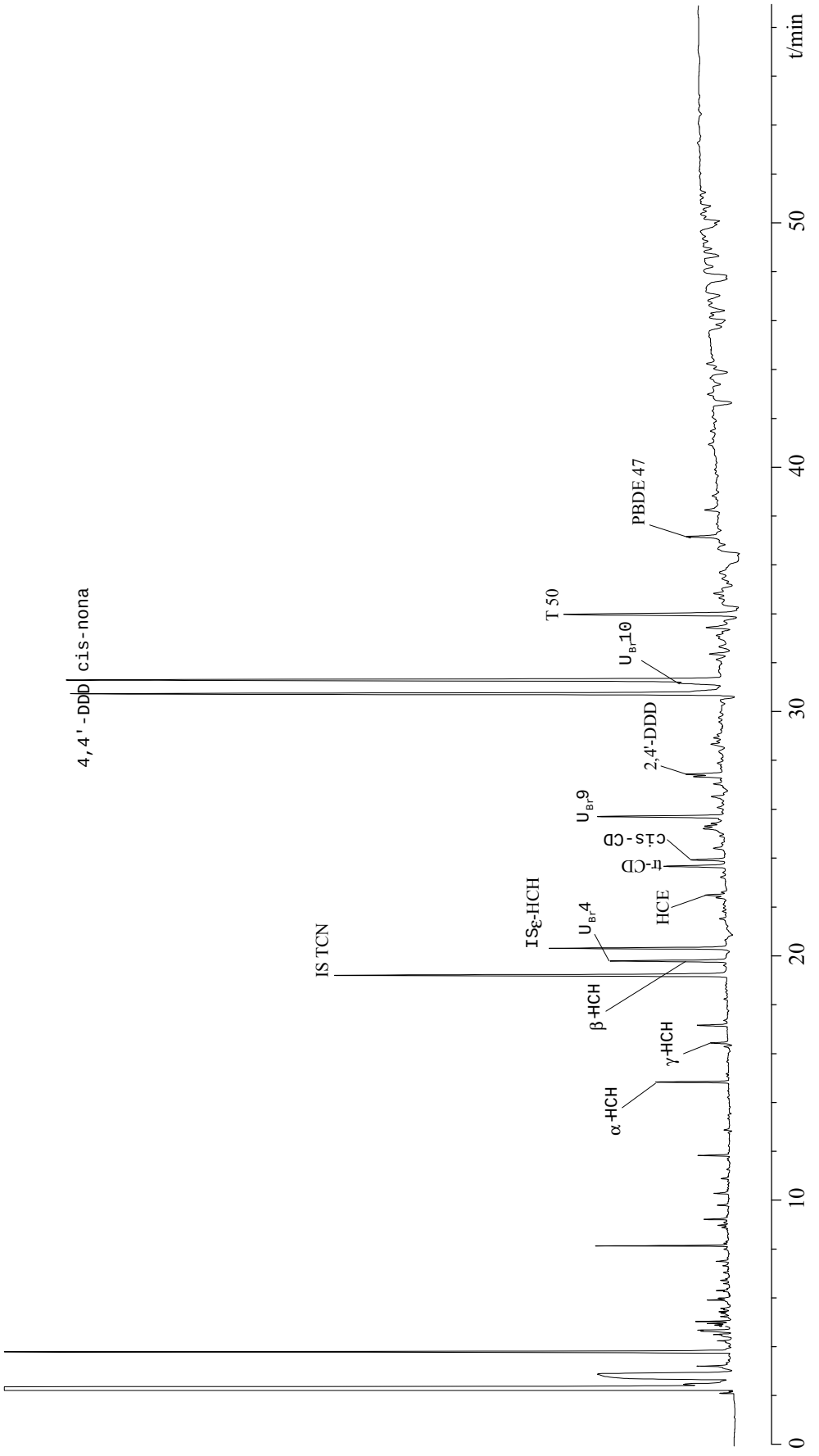


Abb. 5-36. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #11 Pazifischer Dorsch Leber , Sweeper Cove, Adak B1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 353 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

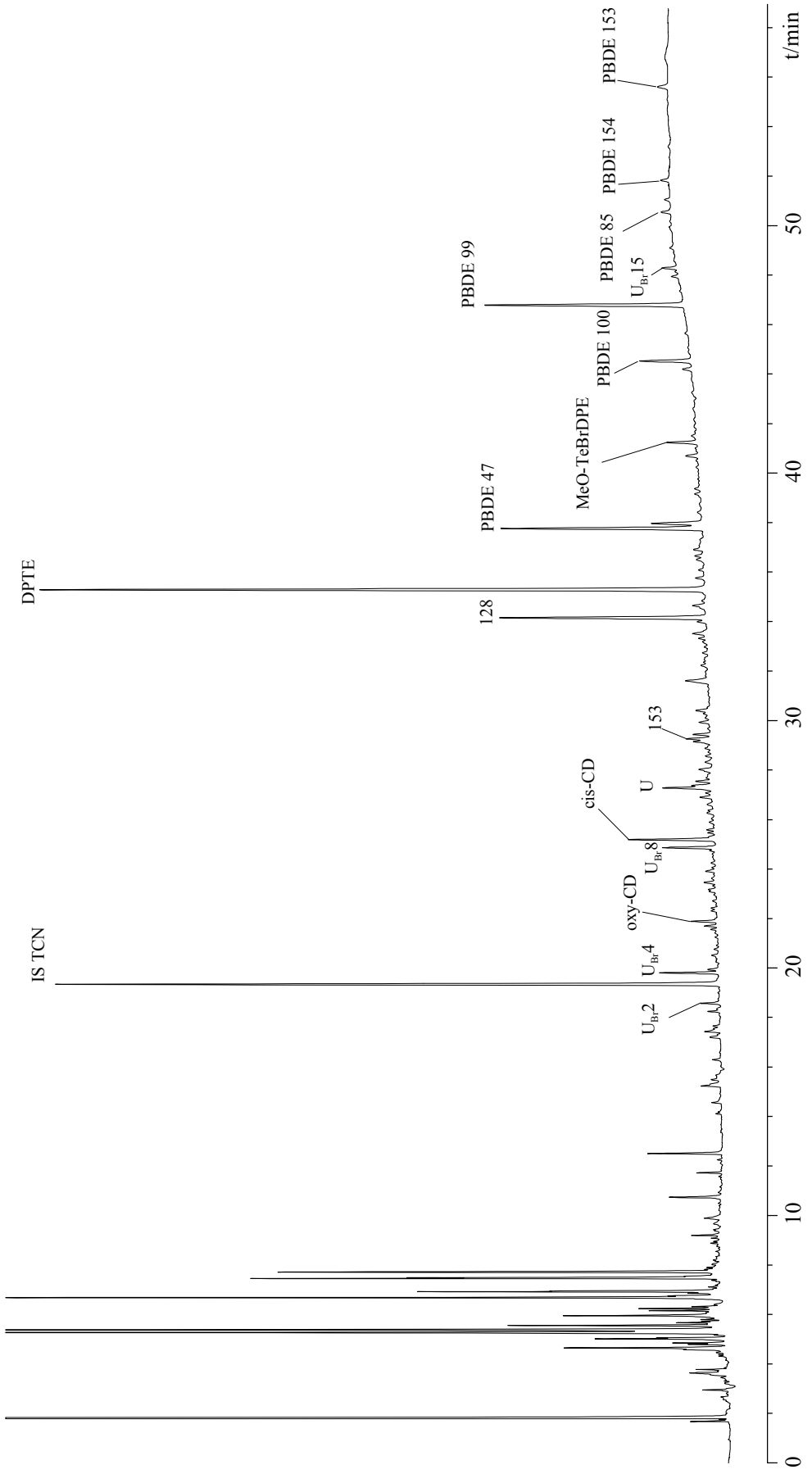


Abb. 5-37. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #12 Miesmuscheln, Sweeper Cove, Adak N2-Fraktion; (Lipid Aliquot: 551 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

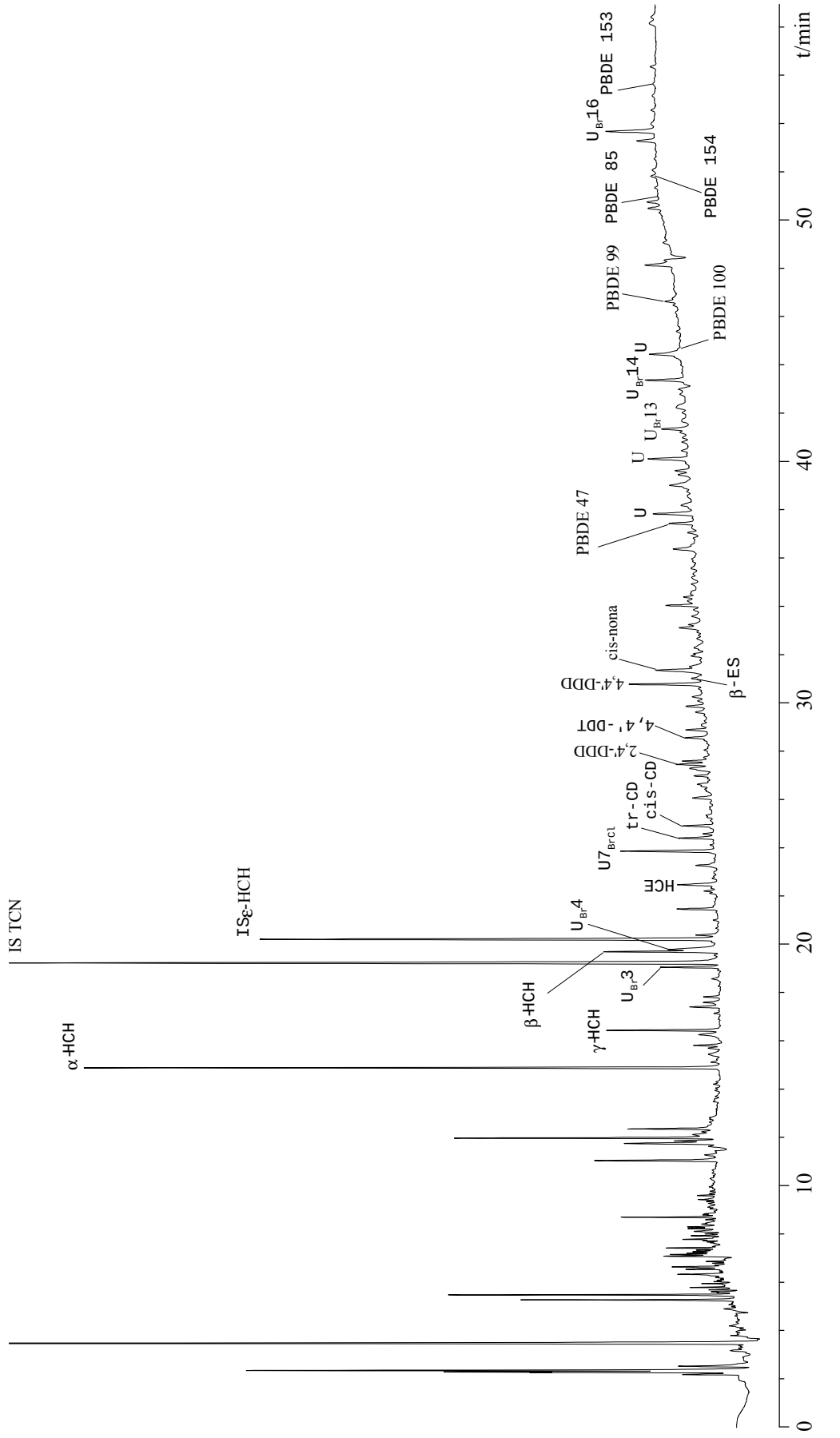


Abb. 5-38. HRGC(SIL 19)/ECD-Chromatogramm: #12 Miesmuscheln, Sweeper Cove, Adak B1-Fraktion; (Lipid Aliquot: 551 mg)
Trennbedingungen **ECD 2**

5.3 Belastungsmuster der untersuchten Proben

5.3.1 Vergleich der Summenwerte der Gehalte aller Verbindungsklassen

Tab. 5-7 Summenwerte der Massenanteile der wichtigsten untersuchten Schadstoffgruppen in den Fischproben

	Gehalt in µg/kg Lipidmenge					
Probe	**Σ(7PCB) x 4**	**Σ(6 DDX)**	**Σ(6 CD)**	**Σ(3 Tox.)**	**Σ(3 HCH)**	**Σ(PBDE)**
Heilbutt Filet *Anchorage* #2	42	4	2	4	3	7
Heilbutt Filet *Alaska-SFO* #3	66	15	7	5	2	2
Heilbutt A Filet *Lucky Point* #4	333	11	4	3	17	n.q.
Heilbutt Filet *Kuluk Bay* #5	92	2	1	n.q.	1	2
Heilbutt Filet *Amchitka* #6	255	19	3	3	1	3
Heilbutt Filet *Attu* #7	93	21	7	10	5	3
Heilbutt B Leber *Lucky Point* #8	1028	75	32	40	27	3
Dorsch Leber *Kuluk Bay* #9	1497	210	71	12	11	4
Dorsch Leber *Zeto Point* #10	1254	67	40	11	26	14
Dorsch Leber *Sweeper Cove* #11	1413	348	173	106	5	9
Sandflunder Leber *SFO* #1	234	331	16	6	11	31
Miesmuscheln *Sweeper Cove #12*	1150	12	8	11	16	15

n.q. nicht quantifiziert (<0,3µg/kg)

Die wesentlichen Unterschiede in dem Belastungsmuster der Fischproben mit Organohalogenverbindungen sind schon bei der Betrachtung der HRGC/ECD-Chromatogramme feststellbar. In **Tab. 5-7** sind nochmal im Überblick die Gehalte (Massenanteile) der Schadstoffgruppen in den Fischproben aufgelistet.

Die relativen Anteile (bezogen auf die Gehalte in µg/kg) der verschiedenen Gruppen von Organohalogenverbindungen (PCBs, DDTs, Chlordane, Toxaphene, HCHs und PBDEs) an der Gesamtbelastung sind in **Abb. 5-39** zusammengefasst. Für die Gesamtbelastung durch die einzelnen Schadstoffgruppen werden die Summenwerte verwendet. Bei den PCBs, den DDT-Komponenten und den Chlordanen treffen diese Werte gut zu, während die drei in dieser Arbeit untersuchten Toxaphenen-Kongenere nur einen Teil der Toxaphenbelastung

ausmachen und keine genauere Analyse des Musters der Toxaphenbelastung in den Proben zulassen.

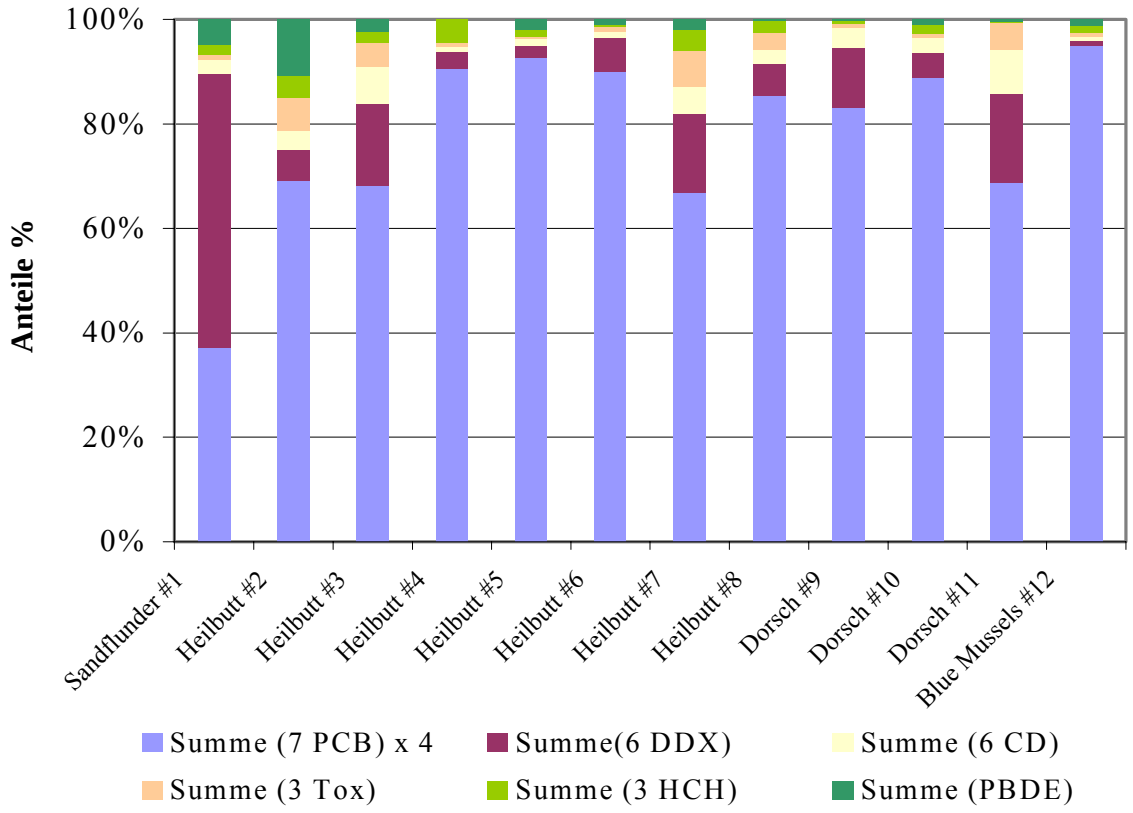


Abb. 5-39 Relative Anteile der einzelnen Schadstoffklassen an der Gesamtbelastung der Fischproben

Für die PCBs findet man in allen Proben die größten prozentualen Anteile, ausser in der Sandflunder-Probe aus der San Francisco Bay (38 %), bei der die DDT-Kompomnenten mit 56 % dominant sind. Dies liegt an der bereits erwähnten Tatsache, dass in Folge der starken landwirtschaftlichen Nutzung im Bereich des Salinas Valley und San Franciscos ein erhöhter Eintrag an Pestiziden stattgefunden hat. In den Heilbuttproben aus dem Golf von Alaska (#2,3) sowie in der von Attu Island (#7) und der stark belasteten Dorschprobe aus dem Hafenbereich (#11), liegen die PCB-Anteile bei 68 – 72 %. Die Heilbutte von Adak und Amchitka (#4 – 6, #8) haben höhere Anteile von 86 – 94 %. In diesem Bereich liegen auch die Anteile in den restlichen Dorsch-Proben und den Muscheln. Den höchsten Anteil an DDTs hat wie bereits erwähnt die Sandflunder, dann kommen mit 10 –12 % die Heilbutt-Probe (#3) aus dem Golf von Alaska und von Attu (#7) und die Dorschproben aus Adak (Kuluk Bay #9 und Sweeper Cove #11). In den restlichen Fischproben liegen die Anteile bei 1 – 5 %, wobei die Muschel als Wasserfiltrierer mit 1 % den niedrigsten Anteil an DDT-Komponenten aufweist.

Die Chlordane tragen mit 1 – 7 % in allen Proben zur Gesamtbelastung bei. Den höchsten Chlordan-Gehalt mit 7 % hat der Dorsch #11.

Für die Toxaphene erhält man Anteile der Summenwerte der drei Kongenere von 1 – 4%, jedoch geben diese nicht unbedingt die Gesamt-Toxaphenbelastung an.

Die größten HCH-Anteile findet man mit ca. 5 % in den Heilbutt-Proben aus dem Golf von Alaska (#2), von Adak-Kucky Point (#4) und von Attu Island (#7). Für die aus südlicheren Breiten stammende Sandflunder findet man einen HCH-Anteil von 2 %.

5.3.2 Belastungsmuster der PCBs

5.3.2.1 Beurteilung über die Massenverhältnisse

Einen ersten Eindruck von dem PCB-Muster einer Probe erhält man schon bei Betrachtung der ECD-Chromatogramme der N1/LC1-Fraktion der Fischproben. Eine wesentliche Verschiebung zu höheren Gehalten der höherchlorierten PCBs ist für die Heilbutt- und Dorschleberproben (#8 - #11) zu sehen. Die Heilbutt-Proben (#2,3) aus dem Golf von Alaska, zeigen eine deutliche Verschiebung in Richtung der niederchlorierten PCBs auf.

Die Verschiebung der Belastung von niederchlorierten zu höherchlorierten PCB-Kongeneren kann quantitativ gefasst werden, indem man für verschiedene Proben das Verhältnis zwischen dem Massenanteil des Heptachlorbiphenyls PCB 180 und dem des Tetrachlorbiphenyls PCB 52 bildet. Die Quotienten sind in **Tab. 5-8** angegeben. Die höchsten 180/52-Quotienten (16,1 – 767) und damit die größte Verschiebung des PCB-Musters zu höheren Chlorierungsgraden ergeben sich für Heilbutt- und Dorschleberproben (2,4 – 11,5). Die beiden Heilbutt-Proben aus dem Golf von Alaska und von Attu zeigen beide niedrige Werte (0,05 – 0,3) und damit eine Verschiebung zu sehr niedrigen Chlorierungsgraden an.

Ein einfaches Entscheidungskriterium dafür, ob ein PCB-Kongener gegenüber Biotransformation durch Mono-Oxygenasen beständig ist, ist die Para-Rekalzitranz, d. h. die Stabilität des PCB-Moleküls bei Vorliegen einer 4,4'-Chlorsubstitution.

Um quantitative Angaben über den Grad des Bioabbaus machen zu können, kann man Verhältnisse der Massenanteile der abbaustabilen Kongenere dieses Typs zu abbaulabilen Kongeneren bilden (vgl. **Tab. 5-8**)

Die entsprechenden Quotienten der technischen PCB-Gemische Aroclor 1242, 1254, 1260 und das als „Grundmuster“ der globalen PCB-Emission herangezogene 1:1:1-Gemisch dieser drei Aroclors [Fischer 1989, Mössner 1995] sind ebenfalls in der Tabelle aufgeführt.

Die Werte für die technischen Gemische sind nur grobe Richtwerte für das globale PCB-Eintragsmuster. Globale Verteilungsvorgänge wie atmosphärischer *long-range-transport* und das Durchdringen von Zellmembranen sind Prozesse, welche einen großen Einfluss auf das PCB-Muster haben, bevor es zur Bioakkumulation in den Planktonfressern kommt.

Diese Quotienten ermöglichen einen Vergleich des Belastungs*musters* von unterschiedlich stark belasteten Proben.

Der Vergleich des 4,4'-substituierten PCB 118 (2,3,4,4',5-Pentachlorbiphenyl) mit dem nicht-4,4'-substituierten PCB 101 (2,2',4,5,5'-Pentachlorbiphenyl) verdeutlicht dies. Ein hoher Wert für den 118/101-Quotienten steht für eine hohe Anreicherung des stabilen, 4,4'-

substituierten PCB 118 gegenüber dem abbaulabileren PCB 101. Hierbei sieht man nur geringe Unterschiede in dem 118/101 Quotienten zwischen den Leberproben (1 - 1,7) und den Filetproben (0,3 – 1). Darin spiegelt sich der Abbau des weniger stabileren PCB 101 in der Leber wieder.

Tab. 5-8 Verhältnisse einiger PCB-Kongenerenpaare, die eine Beurteilung des PCB-Abbaus in den untersuchten Fischproben aus dem Nord Pazifik zulassen. Desweiteren sind die Verhältnisse in den technischen Gemischen angegeben.

Kongeneren Paar	Sandflunder #1	Heilbutt #2	Heilbutt #3	Heilbutt #4	Heilbutt #5	Heilbutt #6	Aroclor 1242[a]	Aroclor 1250[a]	Aroclor 1260[a]	Aroclor 1:1:1[b]
180/52	1,15	0,20	0,34	10,16	1,55	4,14	0,01	0,5	22,8	2,0
118/101	1,42	0,27	0,68	1,09	0,50	0,84	1,0	2,5	0,2	1,6
153/149	3,58	1,30	1,85	13,04	2,27	4,78	1,4	1,5	1,1	1,2
153/138	1.12	1.10	1.23	1.79	1.12	1.34	0.9	0.7	1.4	1.1

Kongeneren Paar	Heilbutt #7	Heilbutt #8	Dorsch #9	Dorsch #10	Dorsch #11	Blue Mussels #12	Aroclor 1242[a]	Aroclor 1250[a]	Aroclor 1260[a]	Aroclor 1:1:1[b]
180/52	0,05	6,13	4,25	2,38	5,93	11,55	0,01	0,5	22,8	2,0
118/101	0,52	1,01	1,13	1,06	1,69	0,47	1,0	2,5	0,2	1,6
153/149	3,30	9,31	4,67	27,09	9,21	1,51	1,4	1,5	1,1	1,2
153/138	1.44	1.25	1.19	1.67	1.31	1.63	0.9	0.7	1.4	1.1

[a] Werte für die Massenanteile der PCBs in den technischen Aroclor-Gemischen aus [Frame 1997b]
[b] Aroclor 1:1:1: Mischung aus gleichen Teilen der technischen PCB-Gemische Aroclor 1242, 1254, 1260

Beim Vergleich der beiden Hexachlorbiphenyle PCB 153 (2,2',4,4',5,5') und PCB 149 (2,2',3,4',5',6) wird die größere Stabilität eines 4,4'-substituierten PCB noch deutlicher. Hier kann man sehr schön sehen, dass die Leberproben mit Massenverhältnissen von 4 – 27 deutlich im Abbaugrad über den Filetproben mit größtenteils 1 - 3 stehen. Aber auch zwischen den Filetproben sieht man einen hohen Abbaugrad für den Heilbutt #4 mit einem Wert von 13. Die von Looser in dem Pazifik Heilbutt gefundenen Quotienten stimmen sehr gut mit den Werten für die Heilbutt-Proben aus dem Golf von Alaska überein [Looser 2000].

Aber auch bei den 4,4'-substituierten Kongeneren PCB 153 und PCB 138 gibt es Unterschiede bzgl. der Stabilität. Das mit 2,3-vicinalen Wasserstoff-Atomen ausgestattete PCB 138 wird durch die Induktion des P-450 1A-Enzymsystems stärker metabolisch abgebaut, wie das PCB 153.

In **Abb. 5-40** ist die Korrelationen der Verhältnisse w(PCB 118)/w(PCB 101) mit w(PCB 153)/w(PCB 149) als Diagramm dargestellt. In der Auftragung nimmt der Abbaugrad

der PCBs von links unten nach rechts oben zu. Der Heilbutt aus dem Golf von Alaska und die Miesmuscheln zeigen demnach ein wenig abgebautes PCB-Muster, während in den Leberproben ein stärker abgebautes Muster zu sehen ist, wie auch in der Heilbutt-Filet Probe #4.

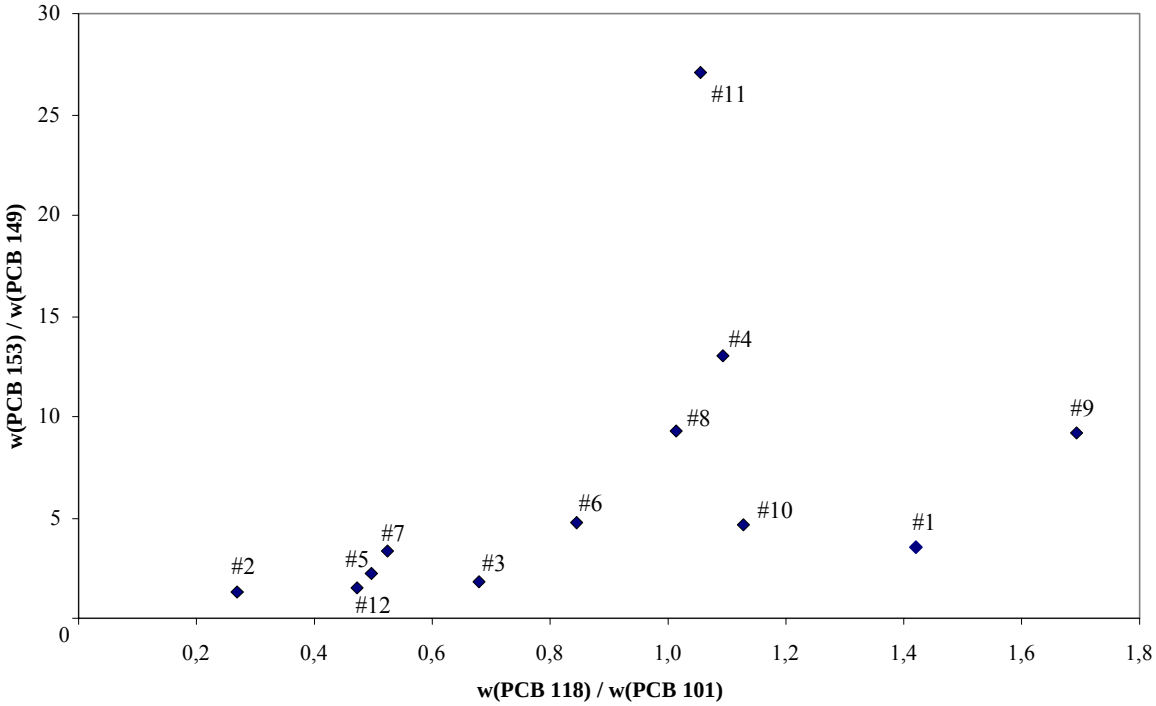


Abb. 5-40 Korrelation der Verhältnisse w(PCB 118)/w(PCB 101) mit w(PCB 153)/w(PCB 149)

In **Abb. 5-41** wird anhand der Auftragung der Korrelation von w(PCB 153)/w(PCB 149) mit w(PCB 153)/w(PCB 138) der Grad des Metabolismus von nicht 4,4'-substituierten (PCB149) Kongeneren und von denen mit 2,3-vicinalen H-Atomen in den Proben gezeigt. Hierfür findet man bei den Proben #10 (Dorschleber, Zeto Point), #4 (Heilbutt Filet, Lucky Point) und #12 (Muschel, Sweeper Cove) einen sehr hohen Metabolismus für das PCB 138. Wie schon in **Abb. 5-40** nimmt in **Abb. 5-41** der Abbaugrad von links unten nach rechts oben im Diagramm zu, jedoch gibt es einen wesentlichen Unterschied bei den Ergebnissen. Die Probe #1 (Sandflunder Leber, San Francisco Küste) zeigt mit einem geringen Abbaugrad des PCB 138, den niedrigeren trophischen Level der Sandflunder im Vergleich zu den Heilbutt- und Dorsch Proben auf. Der relativ hohe Wert des Verältnisses von PCB 153 und PCB 138 (1.63) für die Muschel deutet hier auf einen anderen Metabolismus oder ein anderes Akkumulationsverhalten wie bei den Fischen hin. Es ist jedoch auch wahrscheinlich, dass in dem Lebensraum der Muschel ein anderes Verteilungsmuster der PCBs existiert, als in tieferen Zonen der Hydrosphäre (vgl. dazu auch Kapitel **5.3.2.3**).

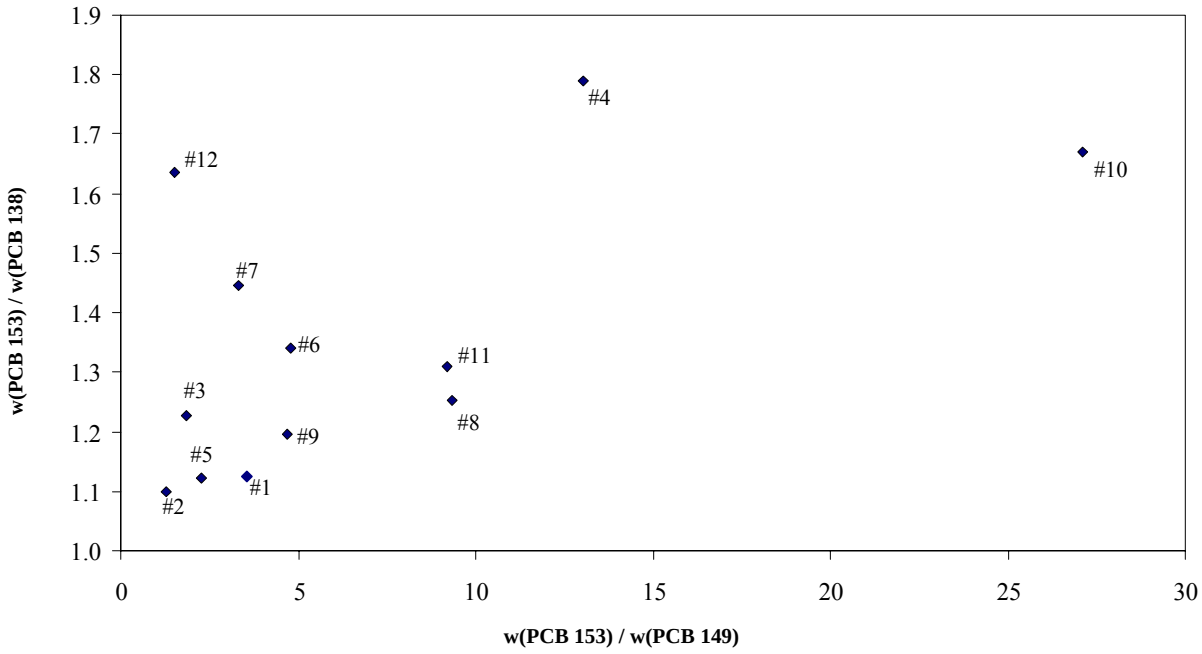


Abb. 5-41 Korrelation der Verhältnisse w(PCB 153)/w(PCB 149) mit w(PCB 153)/w(PCB 138). Zusätzlich noch die Probenliste (siehe unten).

Nr.	Spezies	Organ	Herkunft
#1	Sandflunder	Leber	Küste San Francisco
#2	Heilbutt	Filet	Golf von Alaska (Anchorage)[a)]
#3	Heilbutt	Filet	Golf von Alaska (San Francisco)[b)]
#4	Heilbutt	Filet	Lucky Point (A) (Adak Island)
#5	Heilbutt	Filet	Kuluk Bay (Adak Island)
#6	Heilbutt	Filet	Amchitka Island
#7	Heilbutt	Filet	Attu Island
#8	Heilbutt	Leber	Lucky Point (B) (Adak Island)
#9	Dorsch	Leber	Kuluk Bay (Adak Island)
#10	Dorsch	Leber	Zeto Point (Adak Island)
#11	Dorsch	Leber	Sweeper Cove (Adak Island)
#12	Miesmuscheln	Muschelfleisch	Sweeper Cove (Adak Island)

a) Diese Probe wurde in Anchorage, Alaska, USA käuflich erworben und stammt aus dem Golf von Alaska

b) Diese Probe wurde in San Francisco, USA käuflich erworben und stammt aus dem Golf von Alaska

5.3.2.2 Beurteilung über die Stoffmengenanteile

Zusätzlich zu den Massenanteilen kann man die Gehalte von PCBs auch über ihre Stoffmengenanteile normieren. Der Stoffmengenanteil $\kappa(k)$ (früher: Molenbruch) eines PCB-Kongeners k am Gesamtgehalt von n Kongeneren berechnet sich nach:

$$\kappa(\mathrm{k}) = \frac{b(\mathrm{PCB_k})}{\sum_{i=1}^{n} b(\mathrm{PCB}_i)}$$

mit: $b(\mathrm{PCB}_i)$: Molalität (molarer Gehalt) des PCB-Kongeners i, mol kg^{-1}.

In **Abb. 5-42** bis **Abb. 5-45** sind die Stoffmengenanteile der 28 PCBs in den Fischproben aus dem Nord Pazifik dargestellt.

Vergleicht man die Diagramme der Dorsch- und Heilbuttlebern mit denen der Heilbutt Filets aus dem Golf von Alaska, sieht man bei den Leberproben eine deutliche Verschiebung zu einem höherchlorierten Muster hin. Auch die Heilbutt-Filetprobe von Adak-Lucky Point hat ein ähnlich hochchloriertes Muster, wie die Heilbutt Leberprobe von gleicher Stelle.

Für die Sandflunder Leber findet man, verglichen mit den anderen Leberproben, ein schwächer hochchloriertes PCB-Muster, jedoch sieht man hier anhand der hohen Werte für nicht 4,4'-Chlor substituierte PCB Kongenere, dass es sich um eine aktuelle PCB-Belastung handelt, wie es für die San Francisco Bay durchaus zutrifft. Das Muster in den Muscheln aus Adak deutet ebenfalls auf einen aktuellen Eintrag hin, so ist der Stoffmengenanteil von PCB 149 in den Musheln sehr hoch, dagegen findet man in den Dorschproben von gleicher Stelle (Sweeper Cove) einen sehr viel geringeren Anteil.

Eine Anreicherung der stabilen 4,4'-substituierten PCB-Kongenere gegenüber den meisten anderen Kongeneren ohne 4,4'-Chlorsubstitution in den Dorschleberproben ist hier ebenfalls gut zu erkennen.

Bei der Heilbutt Probe von Attu sieht man eine sehr deutliche Verschiebung zu einem niederchlorierten Muster hin. Der Eintrag eines niederchlorierten PCB-Gemisches kann diese Verschiebung erklären. Zum Vergleich sind noch die Stoffmengenanteile der PCBs in der untersuchten Schafshirnprobe dargestellt. Dies sehr schwach belastet Probe zeigt ebenfalls ein sehr niederchloriertes Muster und wenig Bioabbau, wie an den relativ hohen Werten der nicht 4,4'-chlorierten PCB Kongenere PCB 52, 101 und 149 zu sehen ist. Vermutlich handelt es sich hier um ein nicht stark abgebautes Muster in der Gehirn-Probe.

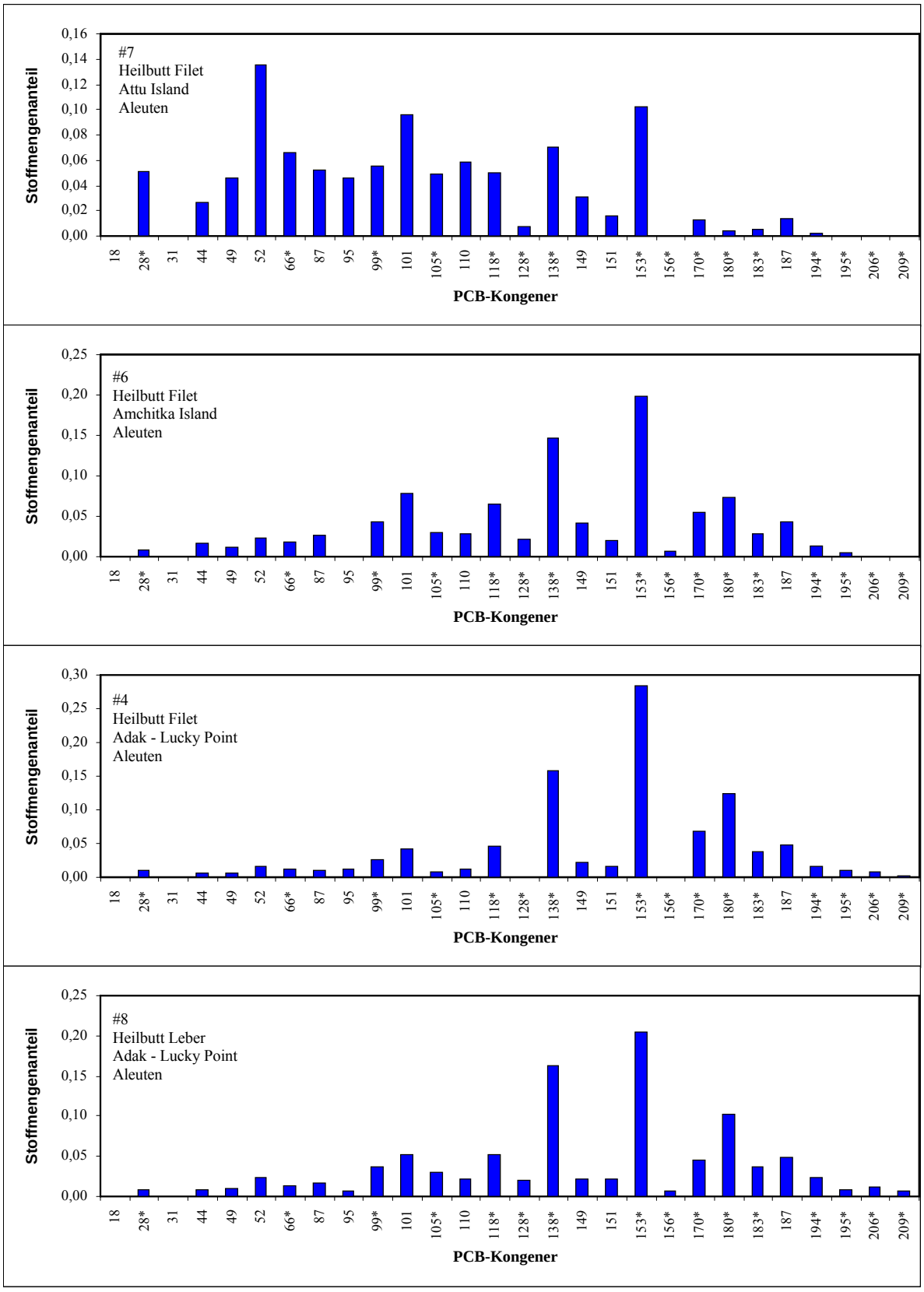


Abb. 5-42 Stoffmengenanteile der PCB-Kongenere in den Fischproben

*: 4,4Chlorsubstitution

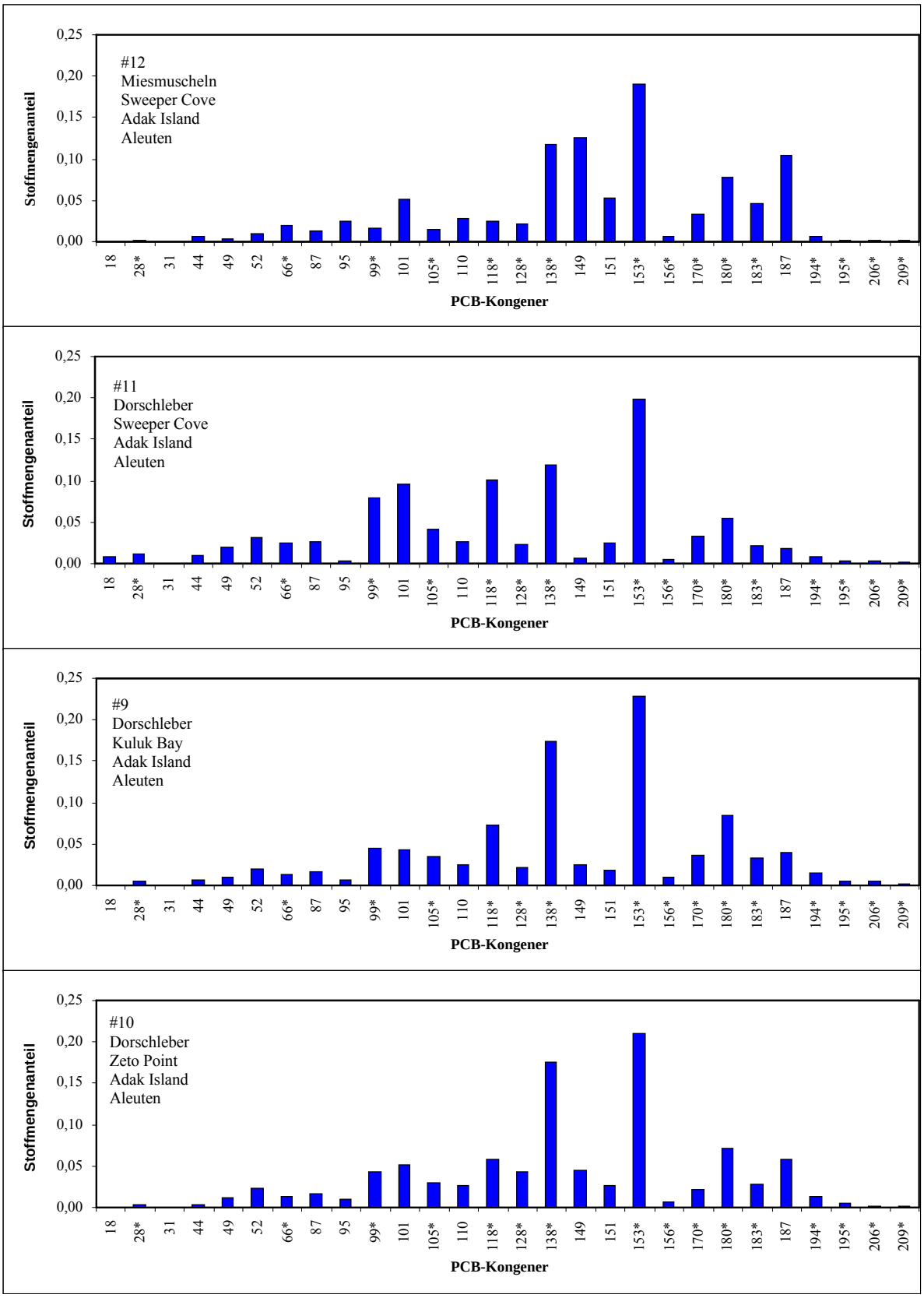


Abb. 5-43 Stoffmengenanteile der PCB-Kongenere in den Fischproben

*: 4,4Chlorsubstitution

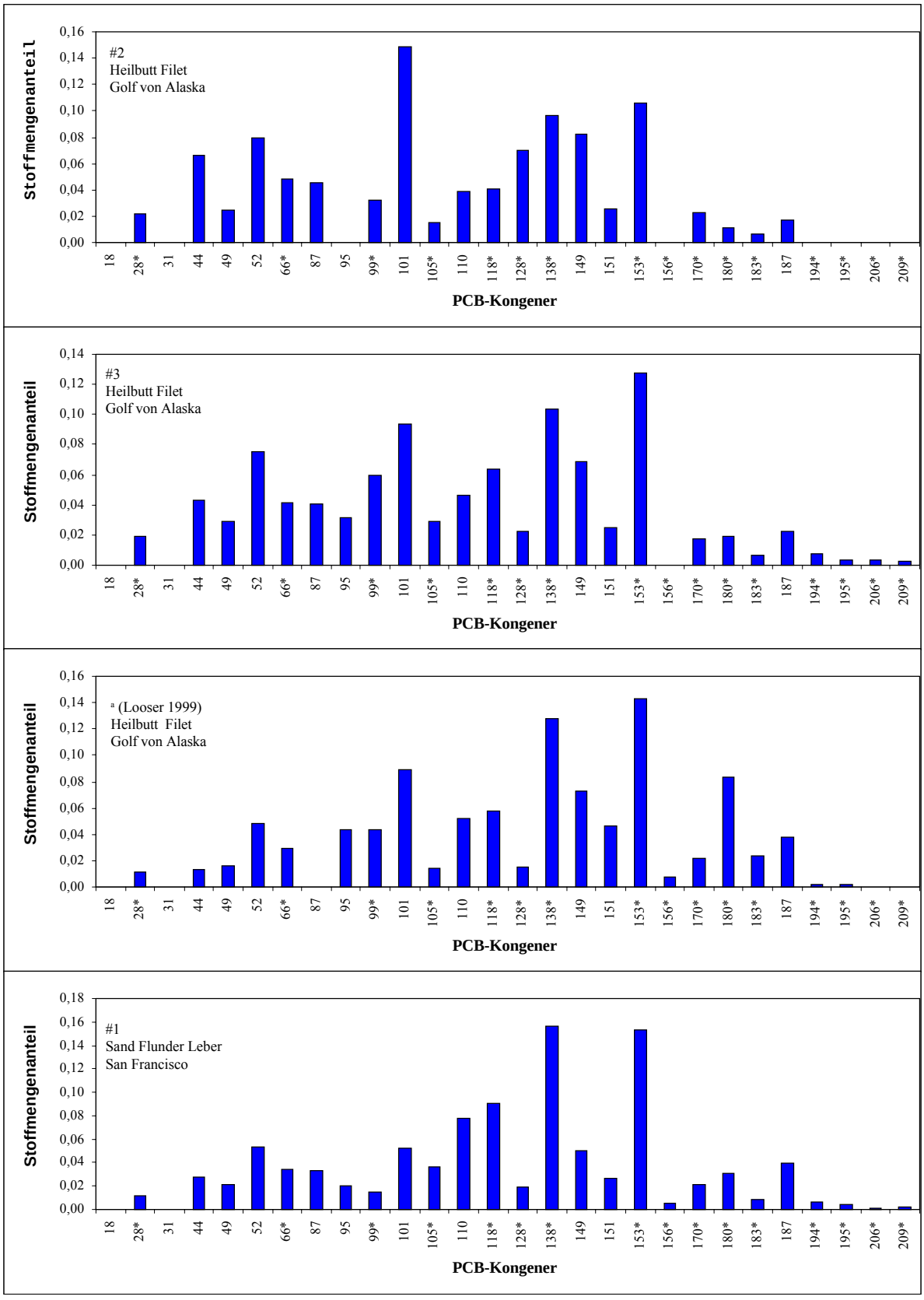


Abb. 5-44 Stoffmengenanteile der PCB-Kongenere in den Fischproben

*: 4,4Chlorsubstitution ,Werte des Heilbutt-Filets aus [Looser 1999]

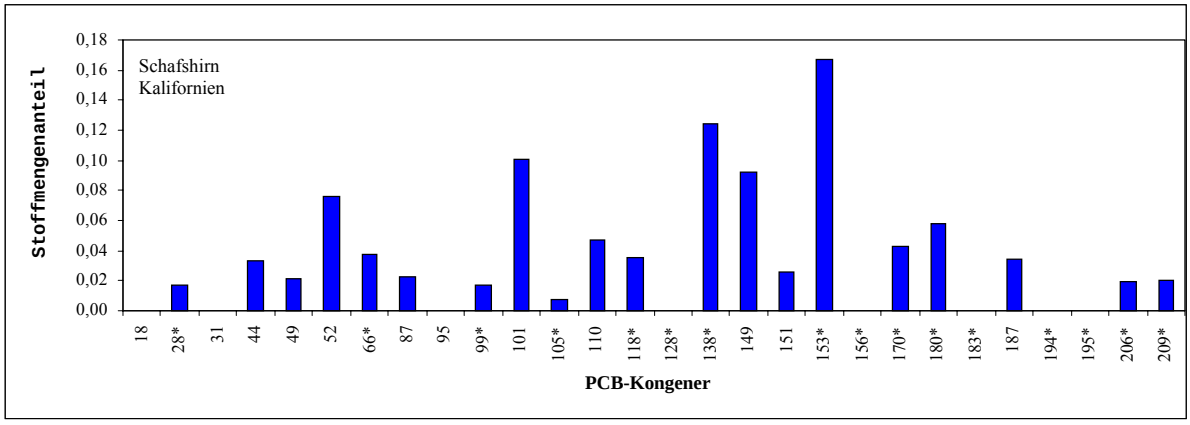


Abb. 5-45 Stoffmengenanteile der PCB-Kongenere in dem Schafhirn:*: 4,4Chlorsubstitution

5.3.2.3 Beurteilung der Musterunterschiede durch GC/MS-SIM-Spuren

Für den Mustervergleich über die GC/MS-SIM-Spuren wurden aufgrund der Ähnlichkeit der Belastungsmuster der Heilbutt Proben aus dem Golf von Alaska nur die Probe #3 verwendet. Bei den Dorschlebern von Adak (#9 und #10) ähneln sich die Muster auch. Hier wurde nur die Probe #9 (Kuluk Bay) verwendet.

Muster der Tetrachlorbiphenyle

Bei der Betrachtung der SIM-Spuren der Tetrachlorbiphenyle in Abb. 5-46 und Abb. 5-47 sieht man hauptsächlich Unterschiede für das 2,3- und 3,4-unsubstituierte PCB 70. Anhand der Peakhöhe und im Vergleich zu den beiden 4,4'-substituierten PCB 66 und PCB 74 sieht man einen Abbau dieses Kongeners in der Dorschleber Probe #11 von Sweeper Cove. Ebenfalls ist eine Abnahme bei dem stabilen PCB 52 zu sehen. Für die Sandflunderleber #1 aus San Francisco ist das abbaulabile PCB 70 der höchste Peak.

Muster der Pentachlorbiphenyle

Anhand der hohen Peaks der nicht 4,4'-chlorsubstituierten PCBs 95, 101 und 110 in den Miesmuscheln lässt sich ein schwacher PCB-Metabolismus bzw. ein Vorliegen dieser Kongenere in der Wasser/Partikel-Grenzschicht des Lebensraum der Muschel erkennen. Der Rückgang der Peakhöhe von PCB 95 und 110 in den Dorsch- und Heilbutt-Leberproben von Adak Island spiegelt im Vergleich zu den Heilbutt-Filetproben, den stärkeren Metabolismus in der Leber wieder. Den stärksten Abbau von PCB 95 findet man in der Dorschleberprobe #11 aus dem Hafen von Adak Island. Die dennoch hohen Gehalte von PCB 95 in der Sandflunderleber, weisen auf einen aktuellen Eintrag und einen geringen Metabolismus hin. Zusätzlich bedeutet eine Zunahme der Peakhöhen des 4,4'-chlorsubstituierten PCB 99 gegenüber denen des PCB 101 (3,4-vicinale H-Atome) einen verstärkten Metabolismus.

Muster der Hexachlorbiphenyle

Bei den SIM-Spuren der Hexachlorbiphenyle sieht man anhand der Peakhöhen der 3,4-unsubstituierten PCBs 136 und 149, dass in den Heilbutt-Filet-Proben nur wenig abgebaut wird. Dagegen ist in den Heilbutt- und Dorsch-Leberproben eine deutliche Abnahme dieser abbaulabilen Kongenere festzustellen. Das trotz keiner 4,4'-Substitution abbaustabile PCB 146 ist in allen Proben in einem ähnlichen Verhältnis zu dem sehr stabilen PCB 153 zu finden. Einen schlechten Metabolismus zeigt die Muschel, mit einem sehr hohen Peak für das PCB 149. Ähnlich schlecht metabolisiert die Sandflunder, was ebenfalls an einem hohen PCB 149 Peak sichtbar ist, aber auch an der Peakhöhe des in den anderen Leberproben kaum sichtbaren PCB 136.

Dieser geringe Bioabbau in den Filet- und Muschelproben und der Sandflunder lässt sich auch anhand des PCB 163 zeigen, welches wie das PCB 146 eine 3,4',5-Substitution, aber 2,3-vicinale H-Atome besitzt. Die daraus resultierende geringere Stabilität des PCB 163 gegenüber dem 4,4'-substituierten PCB 138 ist dem abnehmenden PCB 163/PCB 138-Peakhöhenverhältnis zu entnehmen.

Muster der Heptachlorbiphenyle

Eine 4,4'-Substitution haben die PCBs 170/190, 171, 172, 178, 180 und 183. Für die Heilbutt-Filetproben findet man keine wesentlichen Uterschiede im Muster und nur sehr wenig Abbau der wenig stabileren PCBs 174, 176, 179, 185 mit vicinalen H-Atomen in 3,4-Stellung. Bei den Heilbutt Proben von Amchitka (#6) und Adak Lucky Point (#4) ist eine Abnahme der PCBs 174 und 177 zu sehen. Die Muschelprobe und die Sandflunder zeigen ebenfalls einen sehr geringen Metabolismus an. Bei diesen Proben fällt der sehr hohe Peak für das PCB 187 auf. Was auf den Eintrag des sehr hochchlorierten technischen PCB-Gemisches Aroclor 1268, welches auch schon in Fischproben aus dem Nord Atlantik beschrieben und auch von Looser in den Menhaden und dem Dornkopf aus dem Pazifik gefunden wurde [Kannan 1997, Kannan 1998, Looser 1999].

Die Dorsch- und Heilbutt-Leberproben zeigen einen stärkeren Abbau. Besonders fällt hier der Abbau des PCB 179 und des PCB 177 auf. Obwohl der Bioabbau in den Muscheln und der Sandflunder sehr gering ist, stellt man gerade für die Muscheln einen sehr starken Abbau des PCB 174 fest, in der Sandflunder ist dieser Abbau nur leicht zu erkennen. Für die Dorschleber #11 findet man sogar einen Abbau des PCb 187, welches weniger stabil ist als das 4,4'-substituierte PCB 183. Dies kommt in allen Proben im Verhältnis zum PCB 180 in gleichen Anteilen vor.

Muster der Octachlorbiphenyle

Auf den ersten Blick sind die Muster aller Proben ähnlich. Eine 4,4'-Chlorsubstitution besitzen die Kongenere PCB 194, 195, 196, 197, 203 und 205. Die nicht 4,4'-substituierten Kongenere PCB 198, 199 und 201 haben jeweils eine 3,4',5-Substitution, die sie ebenfalls stabil macht. Dabei findet man in der Sandflunder den höchsten PCB 199 Anteil im Vergleich zu PCB 196/203. Die liegt wahrscheinlich wie schon bei den Heptachlorbiphenylen erwähnt,

an einem regionalen Eintrag sehr hochchlorierte PCB-Gemische Dagegen findet man in den Muscheln sehr hohe Anteile an PCB 202, 201 und 197 und einen auffällig geringen Anteil von PCB 199.

Im PCB 202 sind alle Positionen, bis auf die beiden *para*-Stellungen, mit Chloratomen besetzt. Dies hat schon für eine Abbaustabilität bei niederchlorierten PCBs gesorgt.

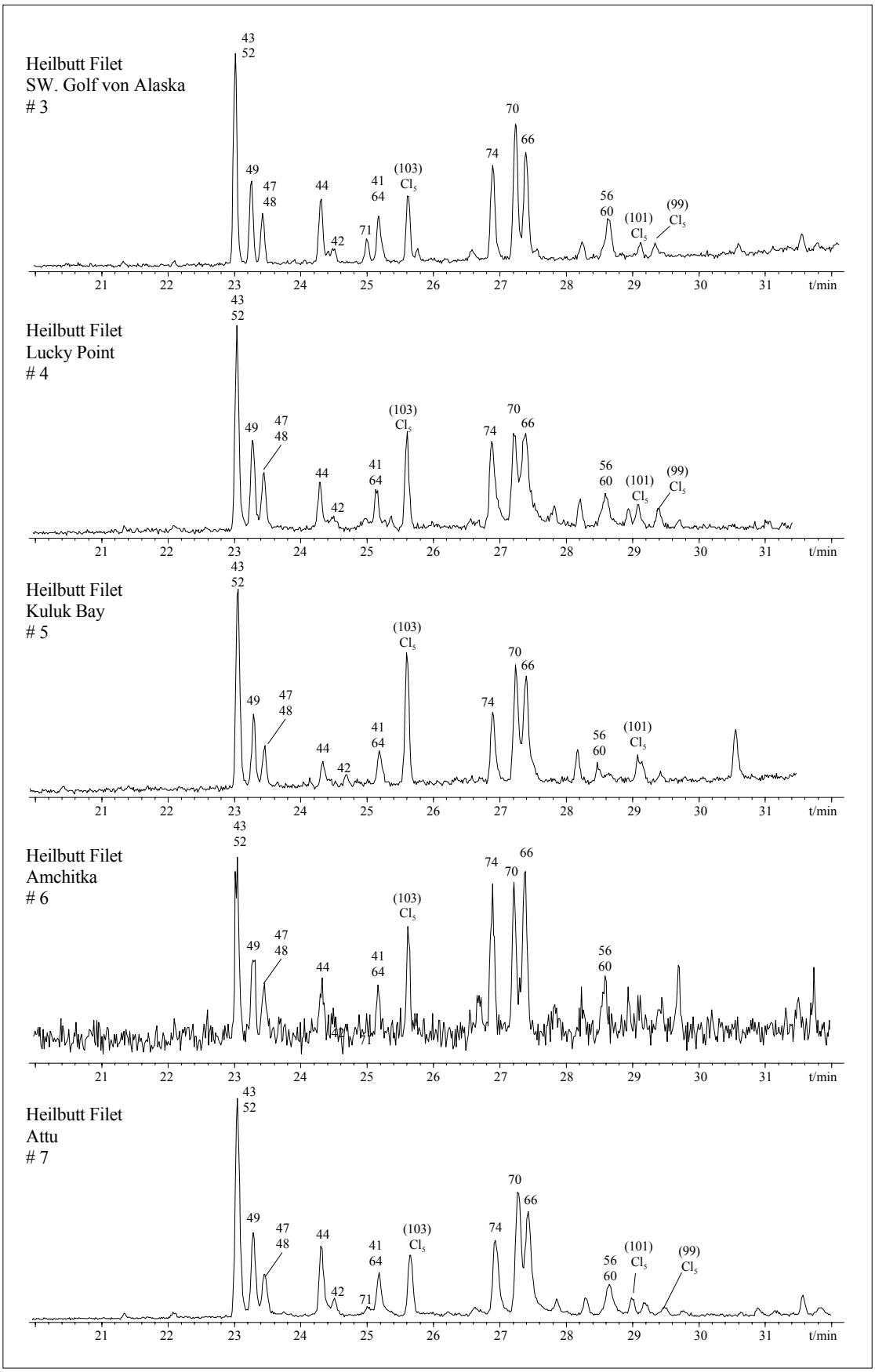


Abb. 5-46 HRGC(SIL 8)/MSD-(EI)SIM Chromatogramme m/z 290:
Tetrachlorierte Biphenyle in Fischproben (#3,4,5,6,7), Trennbedingungen **MSD 2**

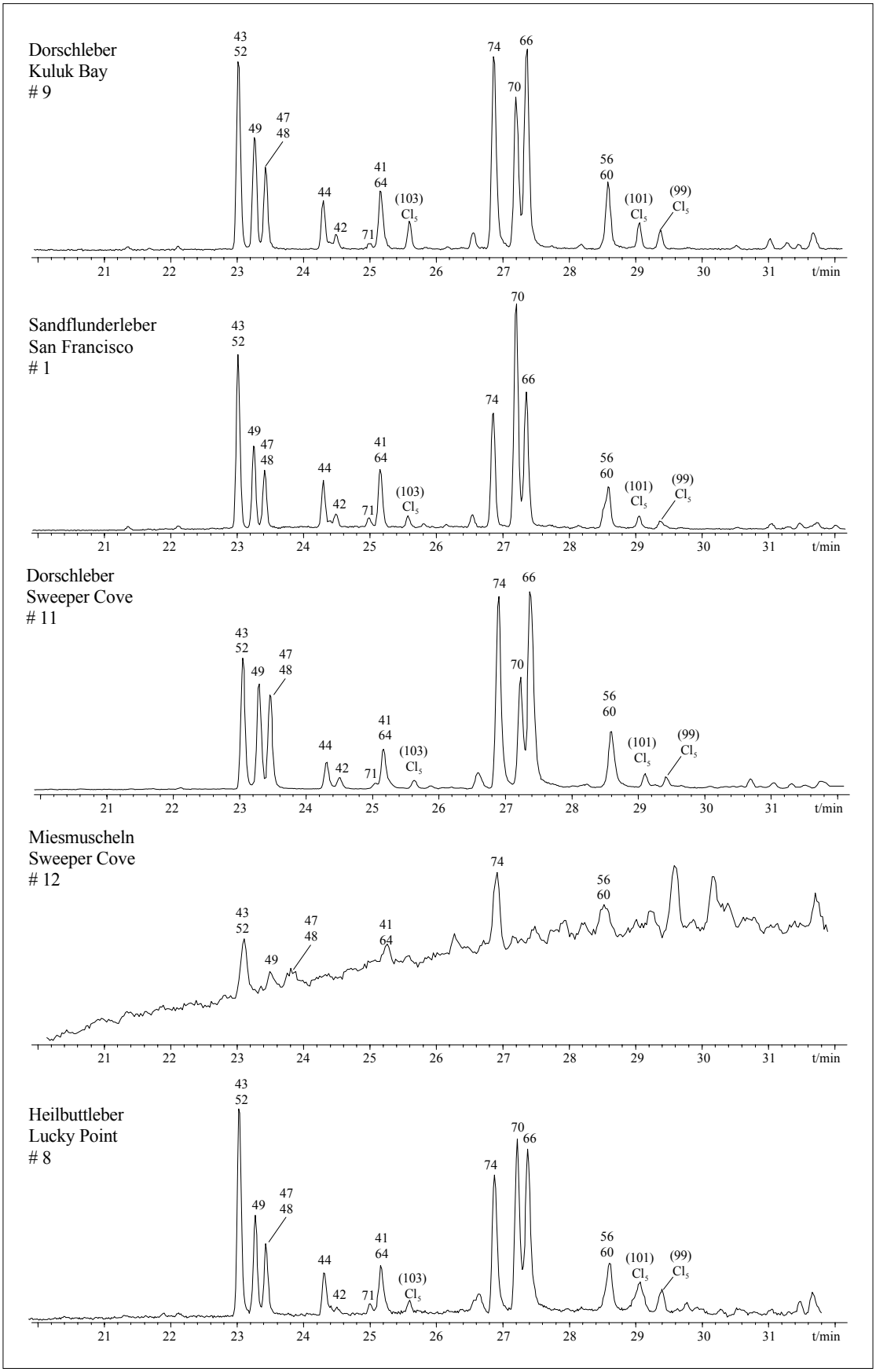


Abb. 5-47 HRGC(SIL 8)/MSD-(EI)SIM Chromatogramme m/z 290:
Tetrachlorierte Biphenyle in Fischproben (#9,1,11,12,8), Trennbedingungen **MSD 2**

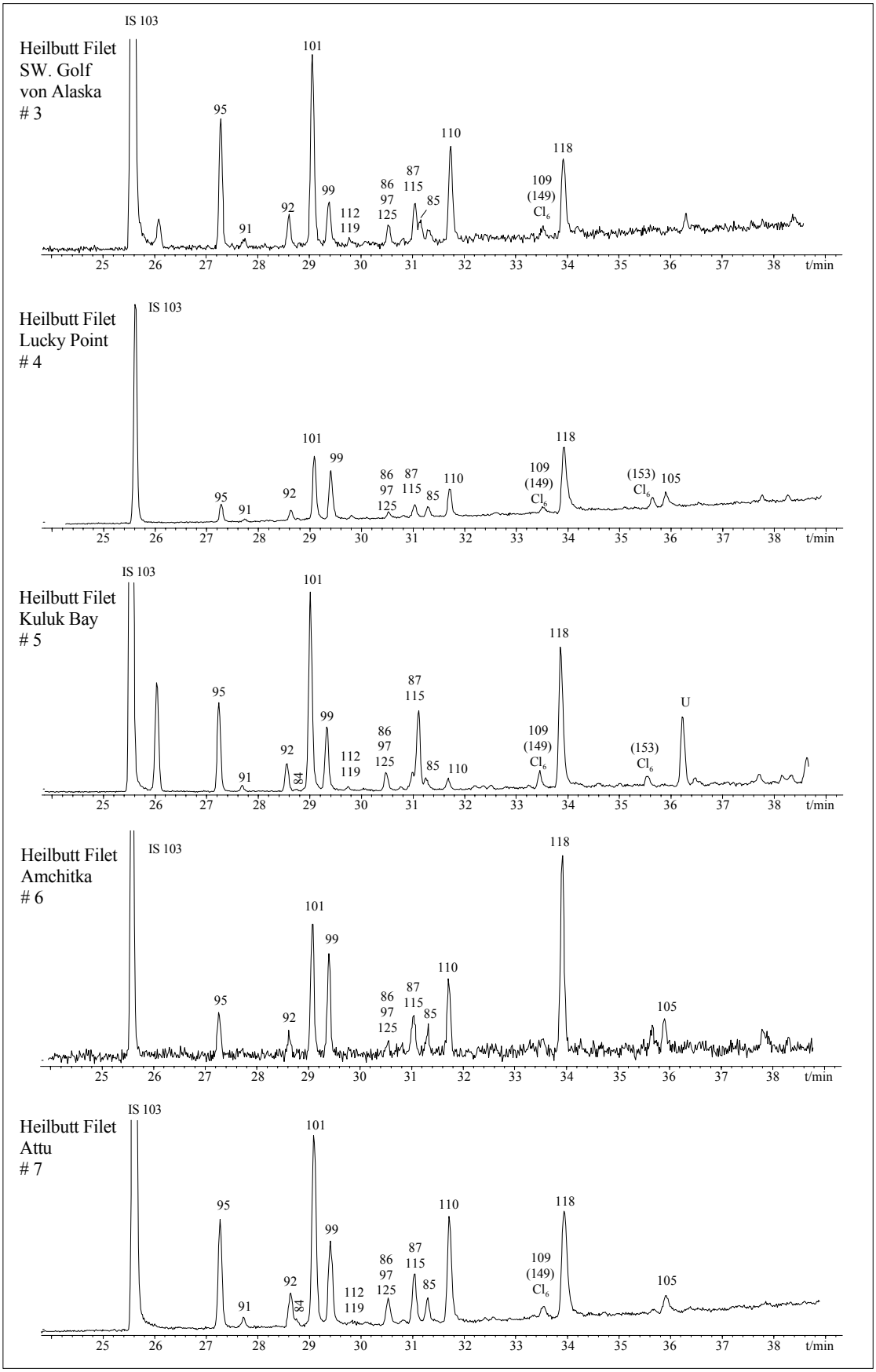


Abb. 5-48 HRGC(SIL 8)/MSD-(EI)SIM Chromatogramme m/z 326

Pentachlorierte Biphenyle in Fischproben (#3,4,5,6,7),Trennbedingungen **MSD 2**

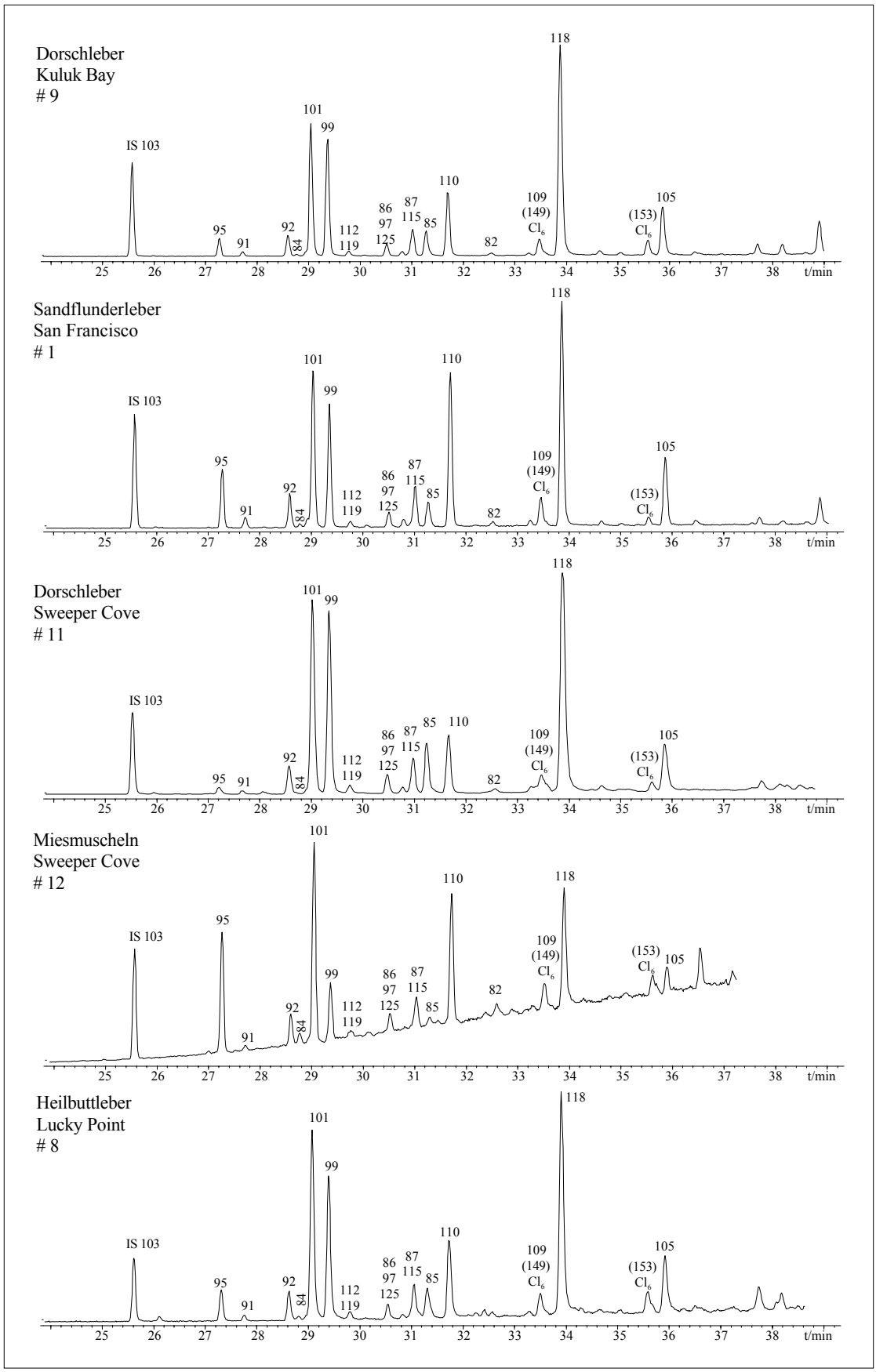


Abb. 5-49 HRGC(SIL 8)/MSD-(EI)SIM Chromatogramme m/z 326

Pentachlorierte Biphenyle in Fischproben (#9,1,11,12,8) Trennbedingungen **MSD 2**

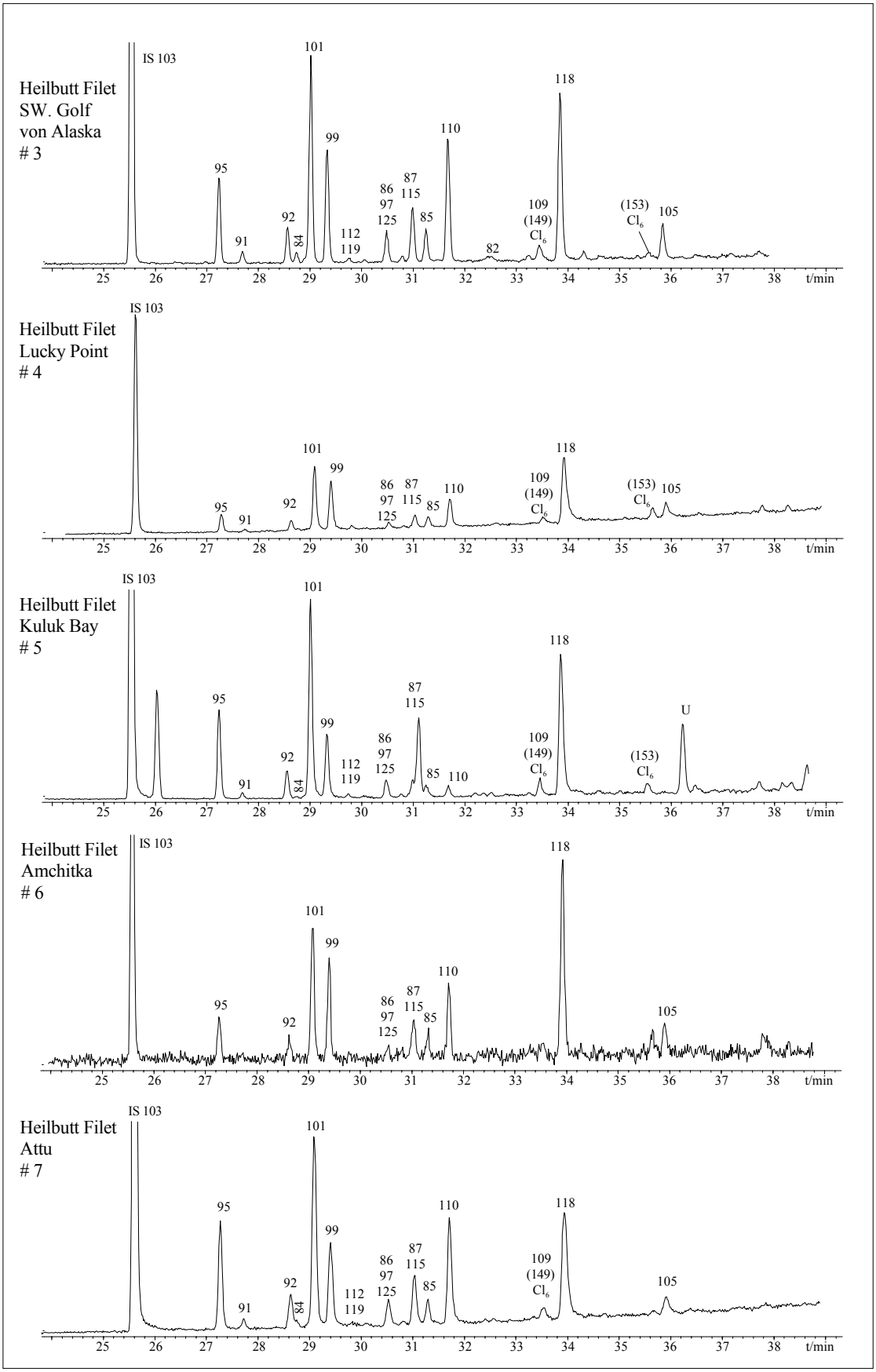


Abb. 5-50 HRGC(SIL 8)/MSD-(EI)SIM Chromatogramme m/z 360

Hexachlorierte Biphenyle in Fischproben (#3,4,5,6,7) Trennbedingungen **MSD 2**

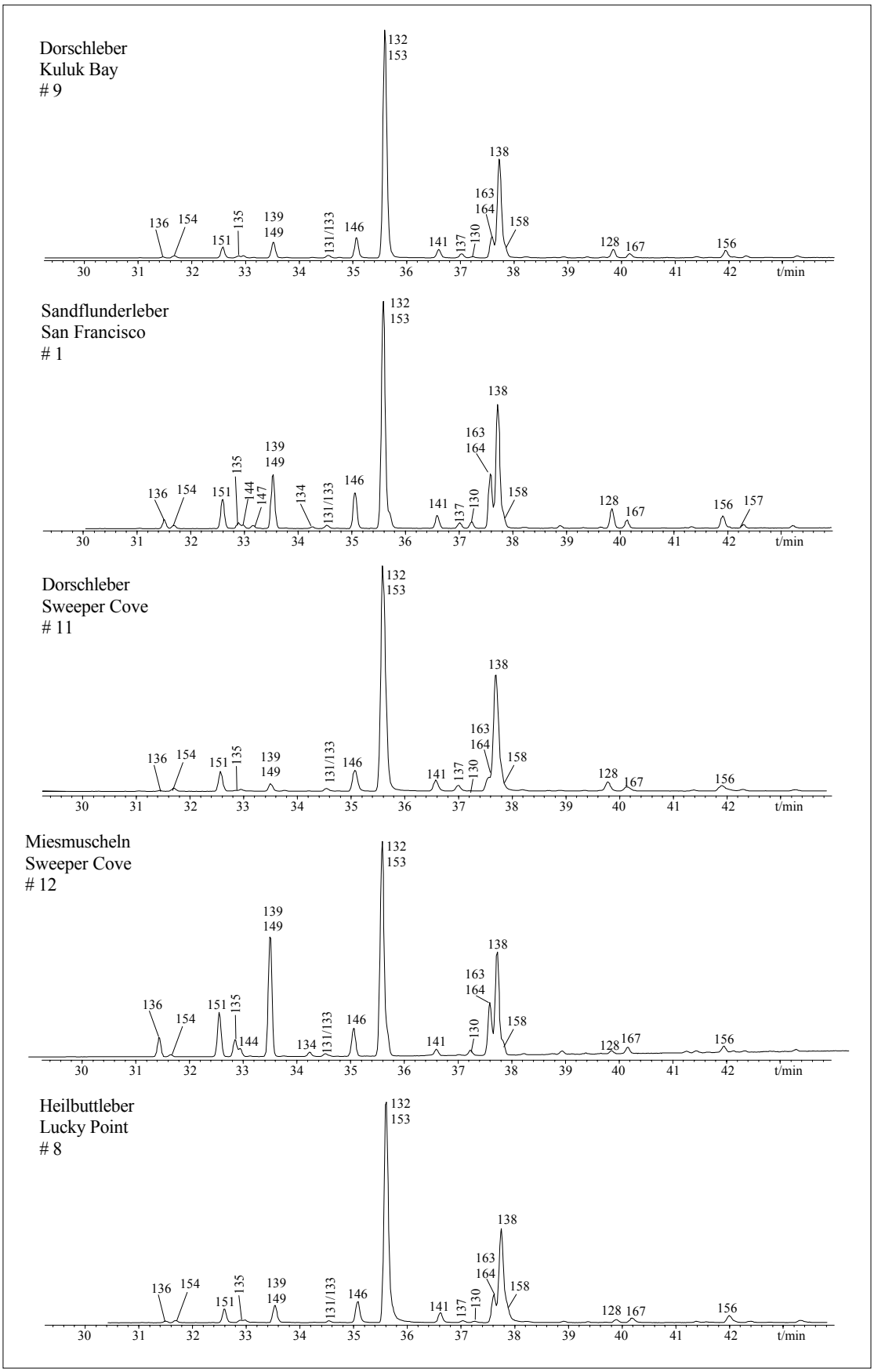


Abb. 5-51 HRGC(SIL 8)/MSD-(EI)SIM Chromatogramme m/z 360

Hexachlorierte Biphenyle in Fischproben (#9,1,11,12,8), Trennbedingungen **MSD 2**

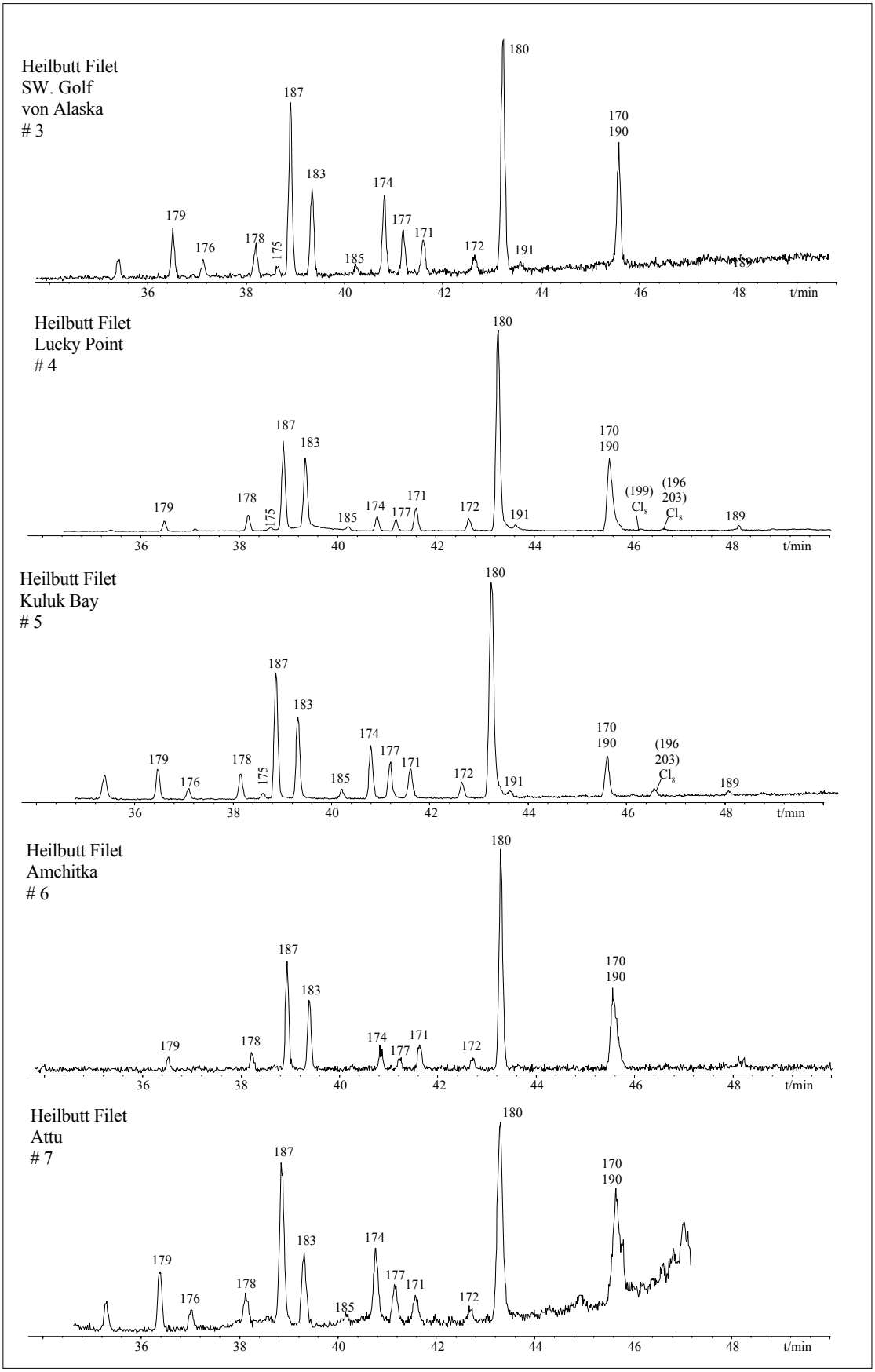


Abb. 5-52 HRGC(SIL 8)/MSD-(EI)SIM Chromatogramme m/z 394

Heptachlorierte Biphenyle in Fischproben (#3,4,5,6,7), Trennbedingungen **MSD 2**

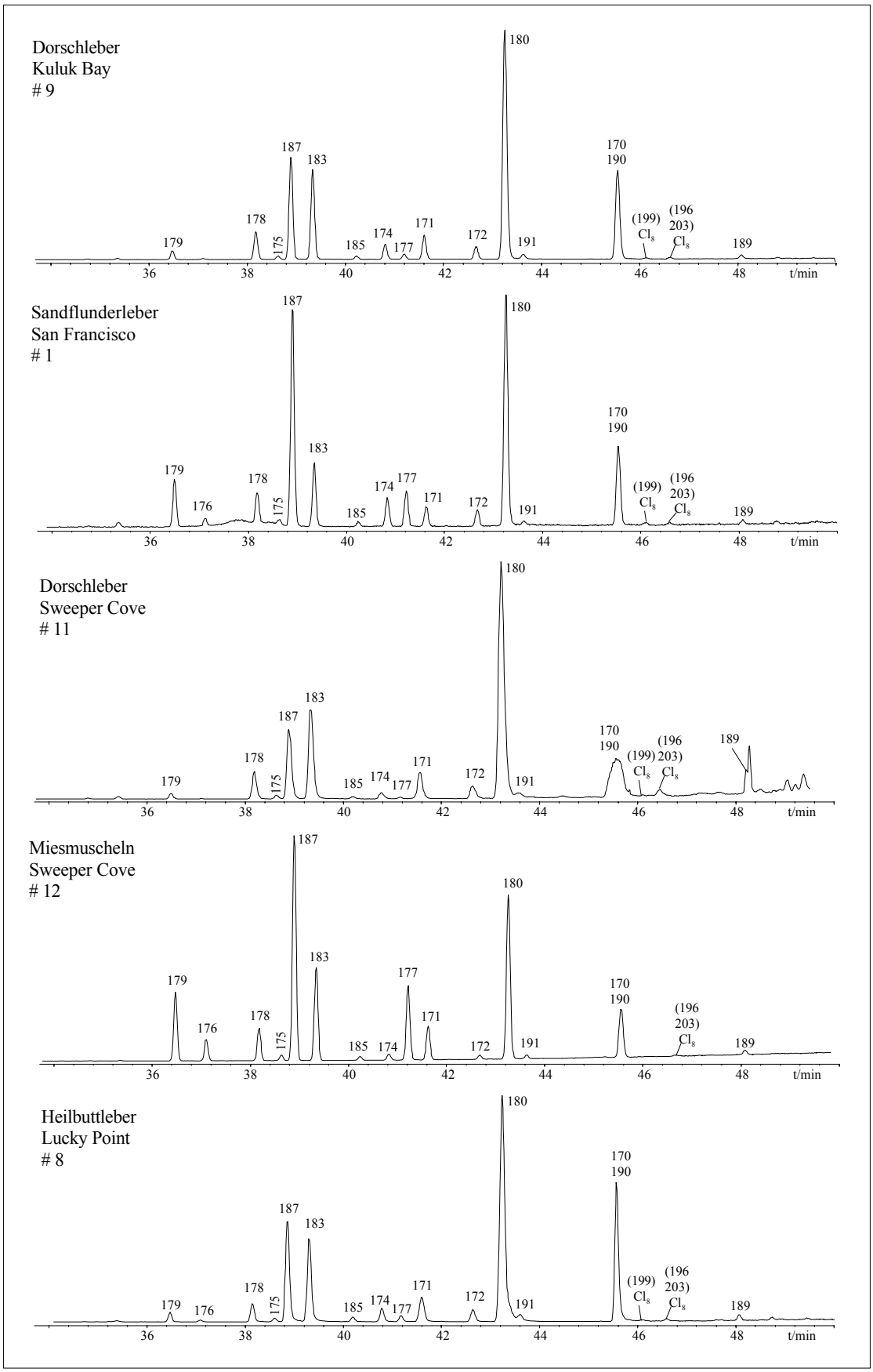


Abb. 5-53 HRGC(SIL 8)/MSD-(EI)SIM Chromatogramme m/z 394

Heptachlorierte Biphenyle in Fischproben (#9,1,11,12,8), Trennbedingungen **MSD 2**

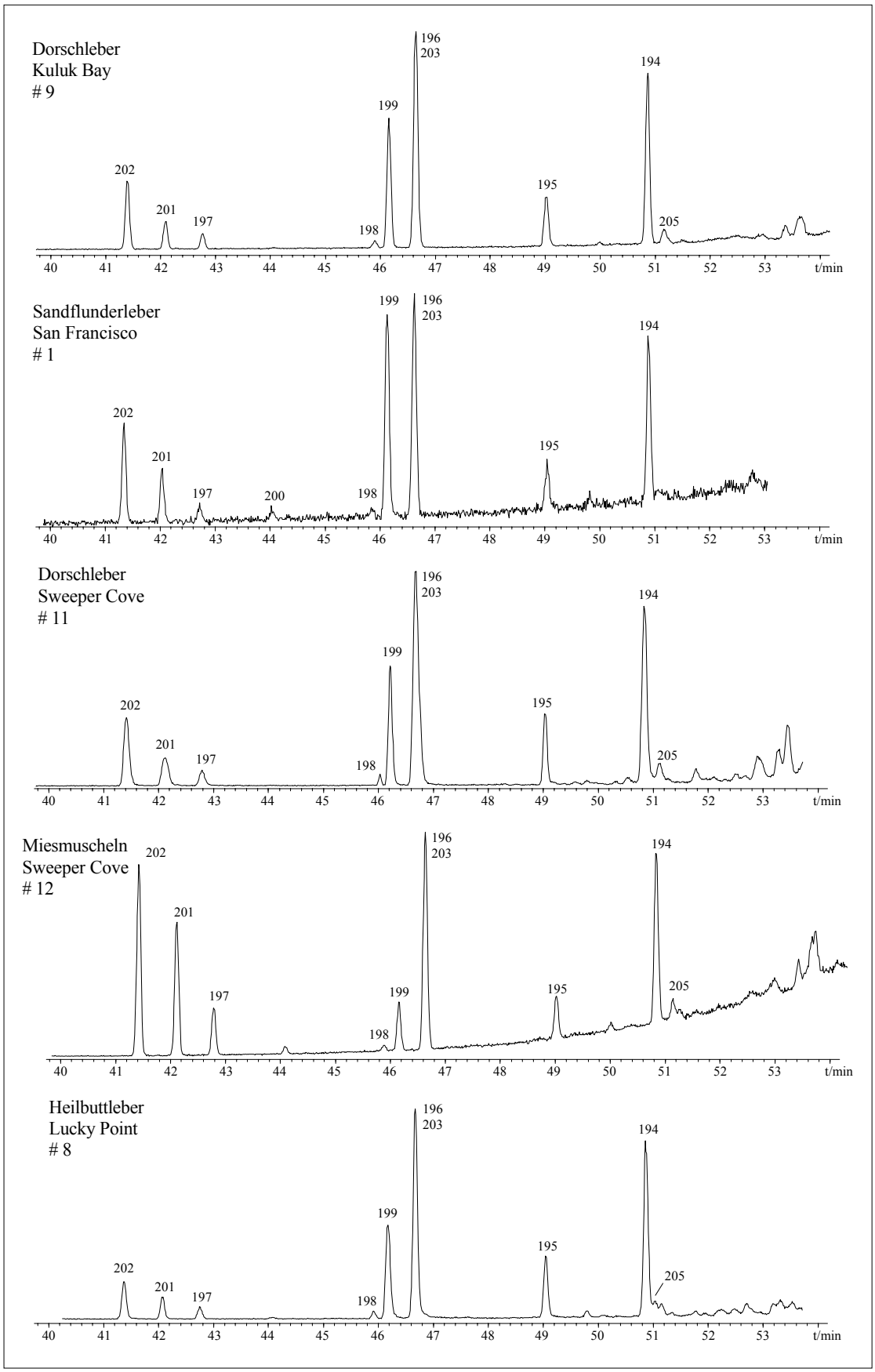


Abb. 5-54 HRGC(SIL 8)/MSD-(EI)SIM Chromatogramme m/z 428

Octachlorierte Biphenyle in Fischproben (#9,1,11,12,8), Trennbedingungen **MSD 2**

5.3.2.4 Musterklassifizierung mit Hilfe der Hauptkomponentenanalyse (PCA)

Die Ähnlichkeit der Belastungsmuster der Proben kann mit Hilfe der Hauptkomponentenanalyse (Principal Component Analysis, PCA), einem statistischen Auswerteverfahren, untersucht werden. Dabei werden die Muster der Proben direkt und unabhängig voneinander verglichen.

Zuerst werden die Gehalte der einzelnen Komponenten normiert, indem man sie durch ihren Summengehalt dividiert. Mit diesen relativen Gehalten und den zugehörigen Analyten wird eine Matrix aufgespannt. Wendet man die PCA auf die polychlorierten Biphenyle an, so erhält man mit den 28 Kongeneren, die in 12 Fischproben nachgewiesen wurden, eine 28 x 12Matrix („Probenmatrix“). Jede Probe wird durch 12 Einheitsvektoren beschrieben, die in einen 12-dimensionalen Raum hineinragen. Bei mehr als drei Komponenten ist die Anordnung der Vektoren bereits nicht mehr vorstellbar. Je geringer der Abstand zwischen den Endpunkten der Vektoren ist, desto ähnlicher sind sich die Proben. Für n Probenkomponenten erhält man also einen n-dimensionalen Raum. Um die Information nun mit möglichst wenig Informationsverlust zu reduzieren, werden über eine Korrelationsmatrix die sogenannten Hauptkomponenten berechnet. Man erhält wieder je Analyt eine Hauptkomponente. Die Hauptkomponentenachsen spannen ebenfalls einen n-dimensionalen Raum auf. Allerdings ist die Variation der Proben entlang der ersten Achse (PC 1) maximal und nimmt mit jeder weiteren Achse ab. Deshalb ist es möglich die Probenvektoren, unter Erhaltung der größtmöglichen Information, in einen 2- oder 3-dimensionalen Raum zu projizieren. Je näher sich die projizierten Endpunkte der Probenvektoren sind, desto ähnlicher ist das Muster dieser Proben.

Führt man die PCA auf der Basis der 28 PCB-Kongenere durch, so erhält man den in Abb. **5-55** dargestellten Faktorwerte-Plot.

Daraus ist sehr gut erkennbar, dass die Datenpunkte der Heilbutt-Filet-Proben (#2-7) sehr nahe beieinander liegen, was für ein ähnliches Eintragsmuster und auch einen ähnlichen Metabolismus spricht. Deutlich davon abgesetzt sind die Datenpunkte der Dorsch- und Heilbutt-Leberproben (#8 – 10). Einzige Ausnahme stellt der Datenpunkt für den Dorsch #11 aus dem Hafenbereich dar, der wie schon bei den SIM-Spuren erwähnt, ein im Vergleich zu den anderen Dorschlebern sehr viel stärkeres metabolisches Muster aufweist. Für die sehr schlecht metabolisierende Sandflunder erhält man einen Datenpunkt, der eher den schwach belasteten Heilbutt-Filet-Proben ähnelt. Erwartungsgemäß setzt sich die Muschel in dem PCA-Plot ebenfalls deutlich ab. Dies spiegelt ein ebenfalls sehr niedriges metabolisches Muster und auch Akkumulationspotential für die PCBs wieder.

Die Hauptkomponenten Analyse mit allen Hauptverbindugsklassen liefert identische Ergebnisse, wie für die PCB-Gehalte, weshalb darauf verzichtet wurde und im folgenden nur auf die einzelnen Verbindungsklassen eingegangen wird.

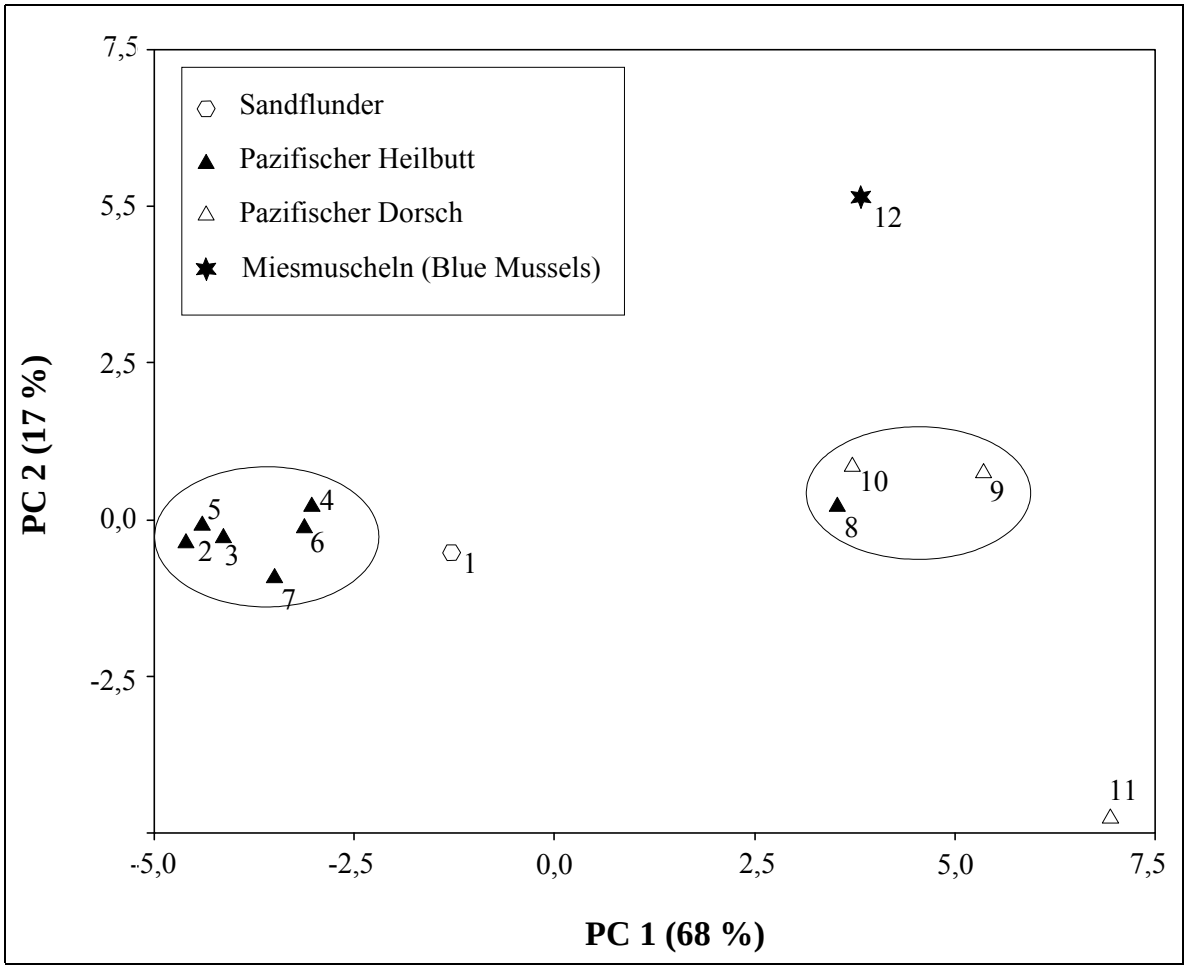


Abb. 5-55 Hauptkomponenten Analyse aller Fischproben aus dem Nord Pazifik auf Basis der Gehalte von 28 PCB-Kongeneren (Faktorwerte-Plot)

5.3.3 Vorkommen von DDT-Verbindungen in Fischen

5.3.3.1 Beurteilung über die Massenverhältnisse

Die Anteile der einzelnen Komponenten der DDT-Gruppe in den Fischproben aus dem Nord Pazifik sind in **Abb. 5-56** zusammengefasst.

Mindestens 80 % der Belastung mit DDT-Komponenten bestehen aus den drei 4,4'-substituierten Substanzen 4,4'-DDD 4,4'-DDE und 4,4'-DDT. Es liegen in allen Proben schon stark abgebaute DDT-Muster vor, bei dem der Anteil des 4,4'-DDE überwiegt.

Die Anteile des 4,4'-DDE betragen zwischen 74 % und knapp 100 % bei fast allen Fischproben. Bei den Muscheln macht es nur einen Anteil von 50 % aus. Das ursprüngliche 4,4'-DDT ist nur noch mit 0 – 12 % vertreten, wobei die Anteile in den Heilbutt-Filet-Proben aus dem Golf von Alaska mit 4 – 12 % am größten sind.

In der Sandflunder mit der höchsten DDT-Gesamtbelastung liegt ebenfalls ein stark abgebautes DDT-Muster vor. In den Muscheln findet wie schon bei den PCBs festgestellt, kein starker Metabolismus statt, weshalb man hier den niedrigsten Anteil an 4,4'-DDE findet,

jedoch wurde auch nicht das 4,4'-DDT gefunden. Vermutlich hängt das mit der schlechten Bioakkumulierbarkeit dieser Verbindungsgruppe in den Muscheln zusammen.

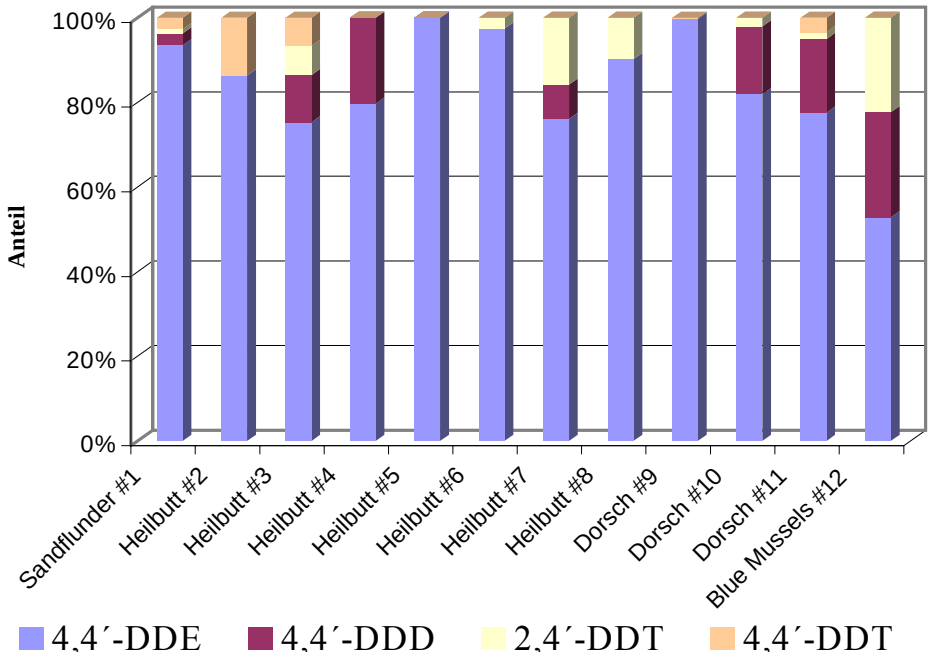


Abb. 5-56 Prozentuale Anteile der verschiedenen DDT-Komponeneten an der DDT-Gesamtbelastung in den Fischproben

5.3.3.2 DDX Musterklassifizierung mittels PCA

Die Hauptkomponentenanalyse auf Basis der 6 DDT-Komponenten mit dem zugehörigen Faktorwerteplot (**Abb. 5-57**) zeigt deutlich die unterschiedlichen DDT-Belastungen der Proben auf. Bei den Proben #1 (Sandflunder), #8 (Heilbutt) und #11 (Dorschleber) mit einer generell hohen DDX-Belastung liegen die Datenpunkte weit auseinander. Für den Heilbutt #8 findet man auch einen prozentual großen 2,4'-DDT-Anteil, was auf einen aktuellen Eintrag hinweist. Bei den Proben #7 (Heilbutt), #9 (Dorsch), #10 (Dorsch) und #12 (Muscheln) liegen die Gesamtgehalte teilweise ebenfalls sehr hoch, jedoch überwiegen hier die 2,4'-DDE-Gehalte deutlich die entsprechenden 2,4'-DDT-Gehalte (besonders bei #9 und #10). Die Muscheln sind hier jedoch eine Ausnahme, was aber in dem unterscheidlichen Metabolismus begründet liegen dürfte. Die Datenpunkte der Proben #2 bis #6 liegen aufgrund der deutlich geringeren DDX-Belastung sehr nahe zusammen.

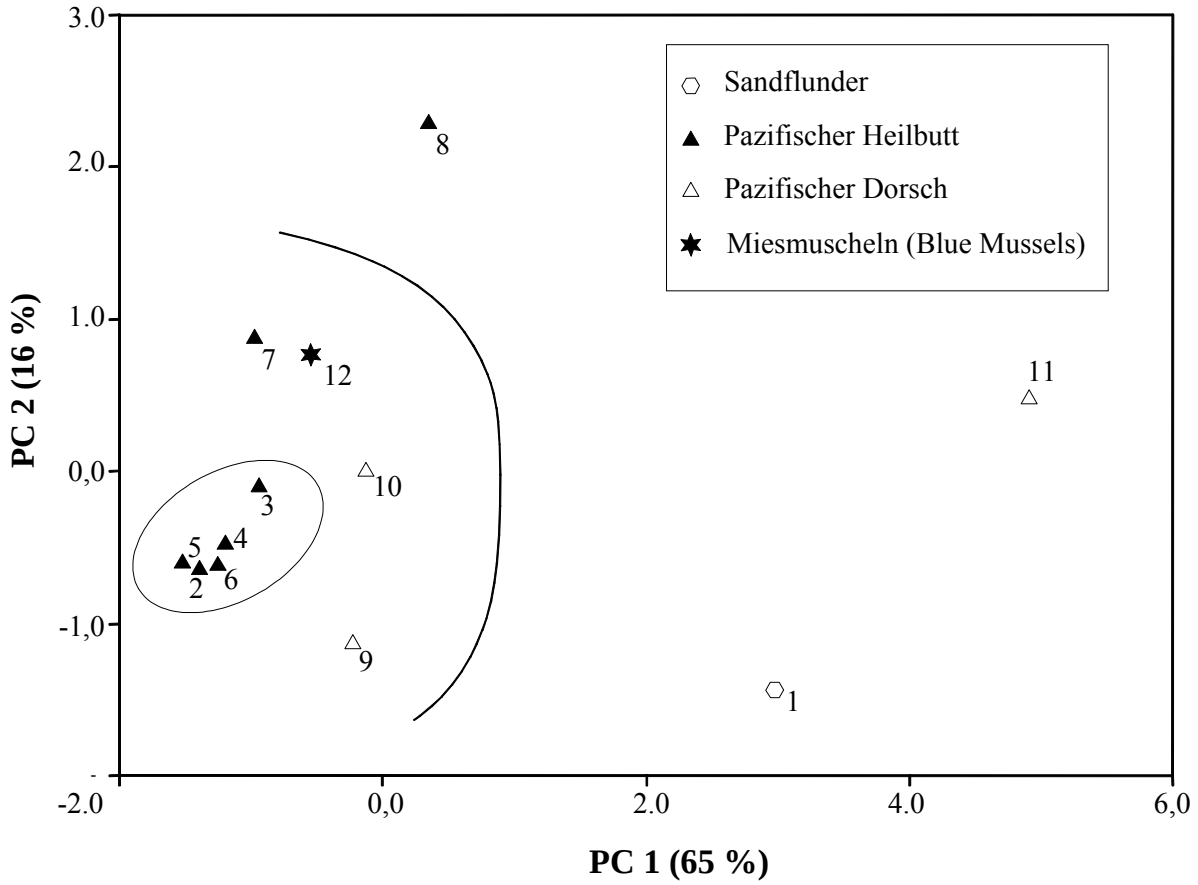


Abb. 5-57 Hauptkomponenten Analyse aller Fischproben aus dem Nord Pazifik auf Basis der Gehalte von 6 DDX-Komponenten (Faktorwerte-Plot)

5.3.4 Vorkommen von Chlordanen in den Fischproben

5.3.4.1 Beurteilung über die Massenverhältnisse

Für die Belastungsmuster in den Bioproben findet man, verglichen mit dem ursprünglich in die Umwelt gelangten technischen Gemisch, veränderte Werte [Buchert 1989]. In Abb. 5-58 sind die relativen Anteile der sechs hier untersuchten Chlordan-Komponenten bzw. -Metaboliten in den Proben dargestellt. Zwar ist das *Trans*-Chlordan die Hauptkomponente im technischen Chlordan, in den Fischproben findet man jedoch stark zurückgegangene Werte.

In den Heilbutt-Filetproben aus dem Golf von Alaska lässt sich trans Chlordan kaum noch nachweisen, in den Heilbutt- und Dorschproben entlang der Aleuten findet man dagegen Anteile von 5 – 18 %. Die größten trans-Chlordan-Anteile weissen mit 26 % der Dorsch aus der Kuluk Bay (#9) und die Sandflunder (#1) auf. Der relativ hohen Anteile des *trans*-Chlordans in dem Dorsch und der Sandflunder deutet wie bei den DDTs auf einen noch nicht lange zurückliegenden Eintrag hin.

Der Dorsch #9 (Kuluk Bay) und die Sandflunder #1 zeigen mit *trans*-Nonachlor-Anteilen von 26 % eine für die untersuchten Proben starke Anreicherung der stabilsten Komponente

unter den Chlordan-Kongeneren. Das ebenfalls abbaustabile cis-Chlordan überwiegt in den meisten Proben den trans-Chlordan Anteil.

5.3.4.2 Chlordan Musterklassifizierung mittels PCA

In dem PCA-Plot der Hauptkomponentenanalyse der 6 Haupt-Chlordan-Komponenten in **Abb. 5-59** werden die unterschiedlichen Chlordan-Belastungsmuster bei den stärker belasteten Proben (#8 bis # 11) gut sichtbar. Die relativ geringen trans-Chlordan-Anteile im Heilbutt #8 und Dorsch #10 sowie auch sehr geringe trans-Nona Gehalte deuten auf keinen aktuellen Eintrag und Akkumulation hin. Die Fische wurden auch etwas weiter vom Hafenbereich entfernt gefangen. Für die Dorschproben #9 und #11, welche aus dem Hafen und in unmittelbarer Nähe dazu gefangen wurden, findet man einen im Vergleich zum cis-Chlordan, gleich hohen trans-Chlordan- und auch trans-Nona-Anteil. Dies bekräftigt die Aussage, dass hier ein nicht lang zurückliegender Eintrag von technischem Chlordan stattgefunden haben muss.

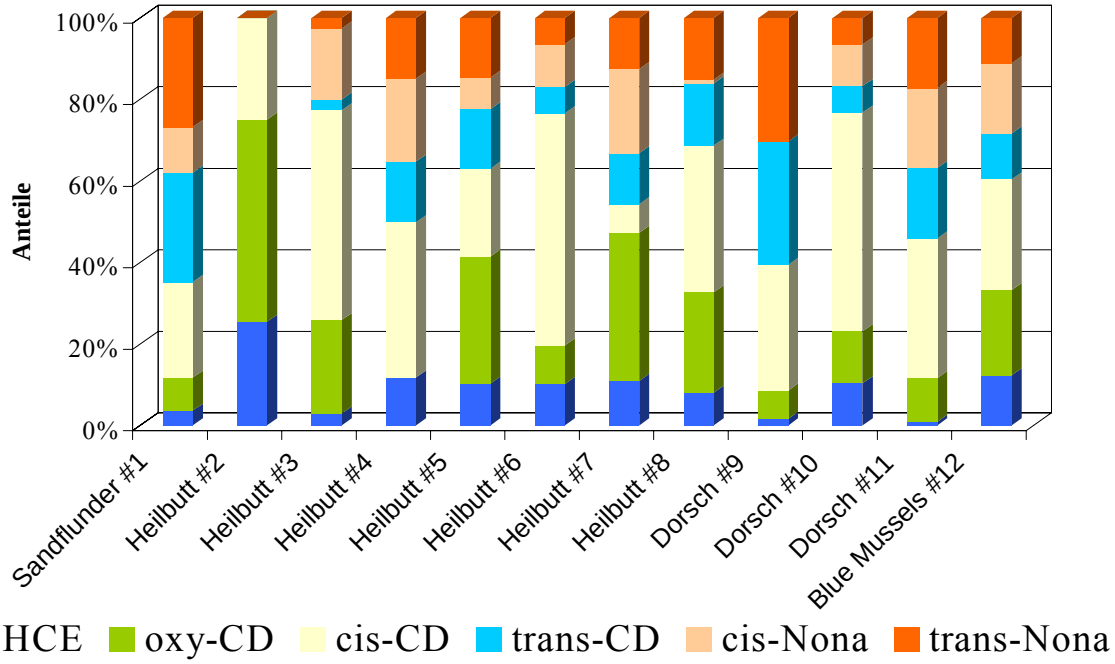


Abb. 5-58 Prozentuale Anteile der Chlordan-Komponeneten an der Chlordan Gesamtbelastung in den Fischproben

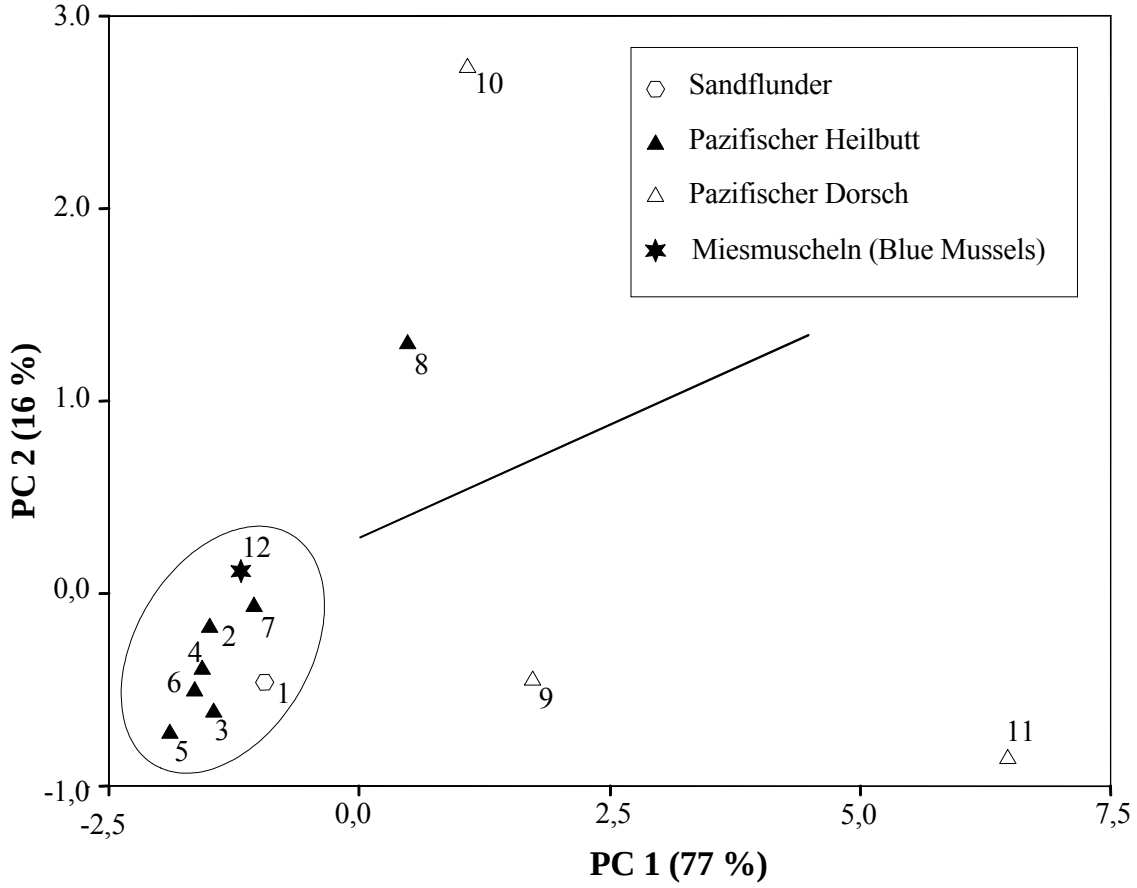


Abb. 5-59 Hauptkomponenten Analyse aller Fischproben aus dem Nord Pazifik auf Basis der Gehalte von 6 Chlordan-Komponenten (Faktorwerte-Plot)

5.3.5 Vorkommen der polybromierten Diphenylether (PBDE) in den Fischproben

5.3.5.1 Beurteilung über die Massenverhältnisse

Für die polybromierten Diphenylether (PBDEs) findet man ebenfalls eine Verschiebung der Muster in den Proben, verglichen mit dem technischen Gemisch Bromkal 70-5DE, welches den Tetra-BDE 47 (2,2',4,4') und den Penta-BDE 99 (2,2',4,4',5) mit 37 % bzw. 35 % enthält. Der Anteil des Penta-BDE 100 (2,2',4,4',6) beträgt nur 7 % [Sjödin 1998].
In den Proben findet man hauptsächlich PBDE 47. Gründe hierfür könnten der unterschiedliche Akkumulationsprozess der verschiedenen Moleküle sein oder ein mikrobieller Abbau im Wasser. Die Debromierung von höher bromierten PBDEs durch Photolyse ist auch wahrscheinlich. (vgl. mikrobielle Dechlorierung von PCBs [Brown 1987, Cleemann 2000, Ofjord 1994, Quensen 1998])

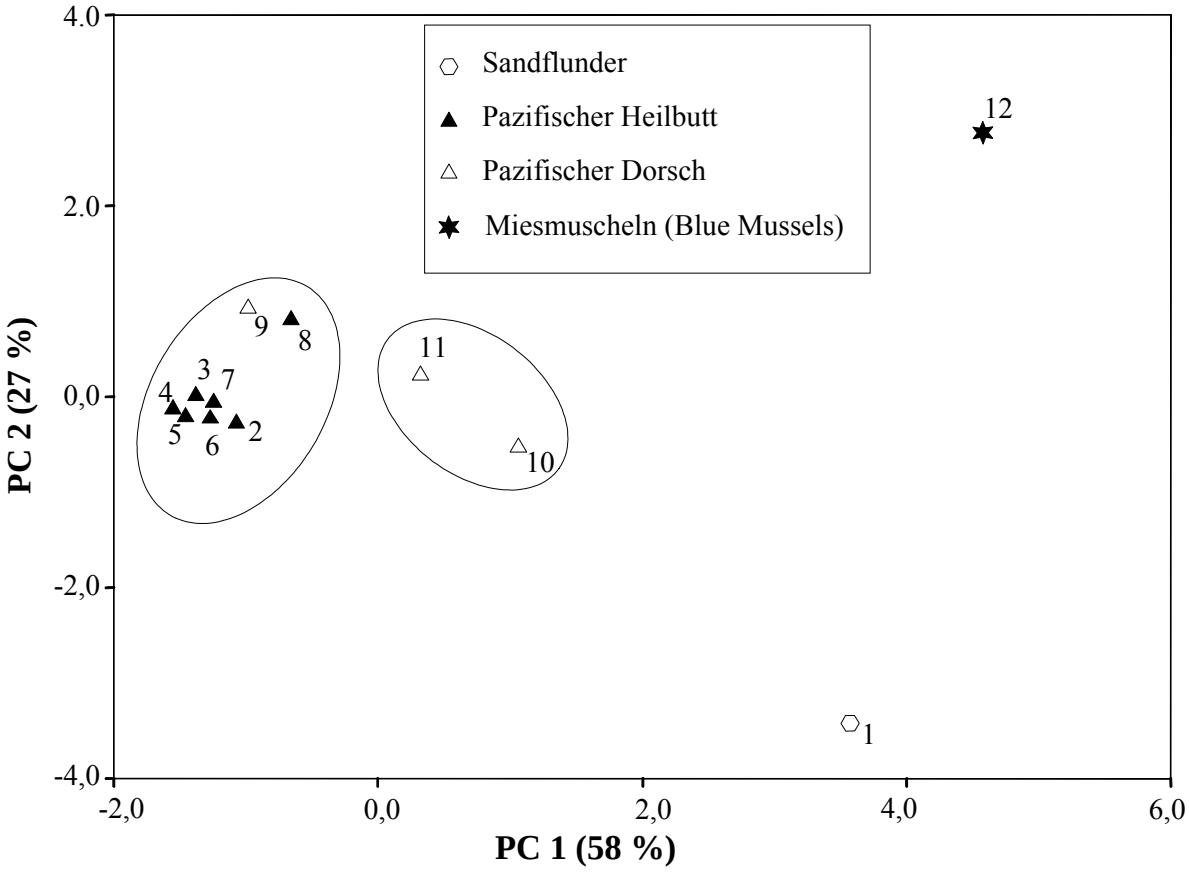


Abb. 5-60 Hauptkomponenten Analyse aller Fischproben aus dem Nord Pazifik auf Basis der Gehalte von 6 Kongeneren der polybromierten Diphenylether (PBDE) und einem Methoxyderivat eines Tetra-BromDPE (Faktorwerte-Plot)

Die Hauptkomponentenanalyse der PBDE-Gehalte in den Proben zeigt in der graphischen Auftragung in **Abb. 5-60** ebenfalls die unterschiedlich starken Gehalte an bromierten Flammschutzmitteln auf. Dabei fallen die sehr hoch belastete Sandflunder #1 und die Muschel #12 auf. Bei letzterer lassen sich auch die hexabromierten Kongenere PBDE 153/154 gut nachweisen, was im Vergleich zur Gesamtbelastung auf ein sehr starkes Bioakkumulationspotential für bromierte Verbindungen hinweist. Ähnliches gilt für die Dorschproben #10 und #11, besonders die relativ hohen Gehalte an dem metabolisiertem Methoxy-Derivat des Tetrabromdiphenylethers. Die Leberproben des Heilbutts #8 und des Dorsches #9 haben nur eine geringe Geasmtbelastung an PBDEs, jedoch ebenfalls einen sehr hohen Anteil an diesem Methoxyderivat. Der Ursprung dieser Verbindung ist unklar. Da er sowohl in den Leberproben der Fische mit starkem Metabolismus wie aber auch in den Muscheln zu finden ist, liegt die Vermutung nahe, dass im Falle der bromierten Verbindungen die Muscheln ebenfalls über einen starken Metabolismus verfügen.

5.4 Bestimmung sehr schwerflüchtiger halogenierter Verbindungen mittels Kurzsäulen-Kapillar-Gaschromatographie

Einen Großteil der heutzutage eingesetzten Flammschutzmittel machen bromierte Verbindungen wie die polybromierten Diphenylether (PBDEs) aus (vgl Kapitel 3.2.5). Neben dem stark verbreiteten technischen Gemisch Bromkal 70-5DE, welcher tetra- und penta-bromierte Biphenylether als Hauptkomponenten aufweist, gibt es auch noch eine Anzahl höher bromierter PBDEs und Bromkals [Akutsu 2001, Huber 2001a, Huber 2001b]. Einer der wichtigsten davon ist der Bromkal 79-8DE mit hepta- bis deca-Bromierung. Hauptkomponenten stellen in diesem Gemisch die Octa- und Nona-Brom-Diphenylether dar. Aber auch der in großem Maße eingesetzte Deca-Brom-Diphenyl-Ether kommt in diesem Gemisch vor [Huber 2002]. Noch immer ungeklärt ist der Verbleib des Deca-BDE in der Natur [de Boer 1998, de Wit 2000]. In manchen Fischproben soll er schon in sehr geringen Konzentrationen nachgewiesen worden sein [Akutsu 2001].

Tab. 5-9 Relative Retentionszeiten und Vorkommen von schwerflüchtigen halogenierten Verbindungen in Fischen gemessen auf der RET15-GC-Kapillare. Kopplung siehe Kapitel 4.1.3.

Susbtanz	RRT (PBDE 47 + PBDE 209)	Sandflunder San Francisco #1	Dorschleber Sweeper Cove #11	CRM 349
U_R1 Br	**0,425**	-	-	+
U_R2 Br	**0,435**	+	-	-
U_R3 Br	**0,474**	-	-	+
U_R4 Cl	**0,486**	-	+	-
U_R5 Cl	**0,514**	-	+	-
U_R6 Cl	**0,526**	-	+	-
U_R7 Br	**0,526**	-	+	-
U_R8 Cl	**0,541**	-	+	-
U_R9 Br	**0,541**	-	+	-
U_R10 BrCl	**0,557**	-	+	-
U_R11 Br	**0,569**	+	-	-
U_R12 Br	**0,576**	-	+	-
U_R13 Cl	**0,582**	-	+	-
U_R14 Br	**0,603**	-	+	-
Deca-BrDPE	**0,668**	+	-	-

+ Vorkommen
- kein Vorkommen

Zur Bestimmung der schwerer flüchtigen halogenierten Verbindungen, wie den Deca-BDE wurden die Fischproben auf einer zusammengesetzten Kapillar-Kurzsäule (10 Retention Gap und 5 m DB5 MS beide 0,32 mm I.D., 0,25 µm Film für die DB5 MS) mit dem MSD im NCI-Modus analysiert. Dabei wurden Fullscans (30 – 800 m/z) gefahren und die Chlor und Brom-SIM–Spuren (Chlorspur: 35 und 37 amu, Bromspur: 79 und 81 amu). Zum Vergleich dienten

eine Bromkal 70-5DE und Bromkal 79-8DE Standardlösung. Zusätzlich wurden noch NCI-Massenspektren der in diesen bromierten technischen Gemischen vorkommenden PBDEs gemessen. Diese NCI Spektren der Standardsubstanzen sind im Kapitel 9 (Anhang) zu finden

In **Abb. 5-61** sind die NCI-SIM-Chromatogramme der Bromspur (m/z 79) von Bromkal 70-5DE, 79-8DE und der B1-Fraktion des CRM 349 abgebildet. Zusätzlich wurden hier noch die Massen für die hexabromierten PBDEs (m/z 563 und 561) mit aufgenommen. In dem Standardreferenzmaterial lassen sich neben den typischen PBDEs aus dem Bromkal 70-5DE (PBDE 47, 99, 100), die von Vetter gefundene gemischt chloriert-bromierte Verbindung MHC-1 (*Mixed Halogenated Carbon*, NCI-Massenspektrum siehe **Abb. 5-72**) nachweisen [Vetter 2001].

Ausserdem sieht man auf der Bromspur den 2,3-Dibrompropyl-(2,4,6-Tribromphenyl)-Ether (DPTE, $C_9H_7Br_5O$) (vgl. Kapitel 5.5) und ein Methoxyderivat eines Tetra-Brom-Diphenylethers (MeO-TeDPE). Von der unbekannten Verbindung U_R1 Br konnte auch im NCI-Fullscan ein Massenspektrum aufgenommn werden (siehe **Abb. 5-64**).

Die in **Abb. 5-62** gezeigten NCI-SIM-Chromatogramme der Sandflunder-Leberprobe #1 aus der San Francisco Bay (zwei getrennte Aufarbeitungen: einmal mit erfolgter HPLC-Gruppentrennung und einmal ohne Gruppentrennung, als Gesamtfraktion) zeigen eine Anzahl von bromierten Verbindungen. Anhand des Retentionsverhaltens der Substanz, welche auf den Bromspuren (m/z 79 und 81) bei 20,7 Minuten eluiert, liegt die Vermutung nahe, dass es sich hierbei um den gesuchten Decabromdiphenylether PBDE 209 handelt. Akutsu hat in einer Flunder Art in den Küstenbereichen Japans ebenfalls sehr geringe Mengen PBDE 209 auf diese Weise detektiert [Akutsu 2001].

Für die Dorschleberprobe #11 aus dem Hafenbereich von Adak –Sweeper Cove findet man in dem Chromatogramm für die Bromspur der N2-Fraktion (**Abb. 5-63**) das typische Bild einer Belastung mit tetra- und penta-BDEs. Bei Detektion der Chlorspur findet man eine unbekannte Substanz U_R13 Cl (NCI-Massenspektrum siehe **Abb. 5-67**). In der B1-Fraktion treten dann in der Brom-Spur wie auch in der Chlorspur eine Reihe von bromierten und chlorierten Verbindungen auf. Bei der U_R10 BrCl handelt es sich vermutlich um eine gemischt halogenierte Verbindung, wie sich an der Übereinstimmung der Peaks in der Chlor- und Bromspur in **Abb. 5-63** erkennen lässt.

Bei den chlorierten unbekannten Substanzen U_R6 Cl und U_R8 Cl in der Dorschleber #11 handelt es sich der Isotopenverteilung der Fragmente nach um nona-chlorierte aromatische Verbindungen (NCI-Massenspektren siehe **Abb. 5-65** und **Abb. 5-66**). Die Identität der relativen Retention der Signale U_R6 Cl und U_R7 Br sowie U_R8 Cl und U_R9 Br deutet aber auch darauf hin, dass es sich bei U_R6 Cl + U_R7 Br und U_R8 Cl + U_R9 Br um jeweils eine chloriert-bromierte Verbindung handelt.

Bei den restlichen Fischproben konnten mit dieser Methode keine schwerer flüchtigen halogenierten Verbindungen im NCI detektiert werden. Zur besseren Übersicht und aufgrund der sehr stark schwankenden Retentionszeiten auf diese Kurzsäule sind in **Tab. 5-9** die in der Sandflunder, Dorschleber und in dem CRM 350 gefundenen *Unknowns* mit Relativen Retentionszeiten angegeben, bezogen auf die Summe der Retentionszeiten von PBDE 47und PBDE 209.

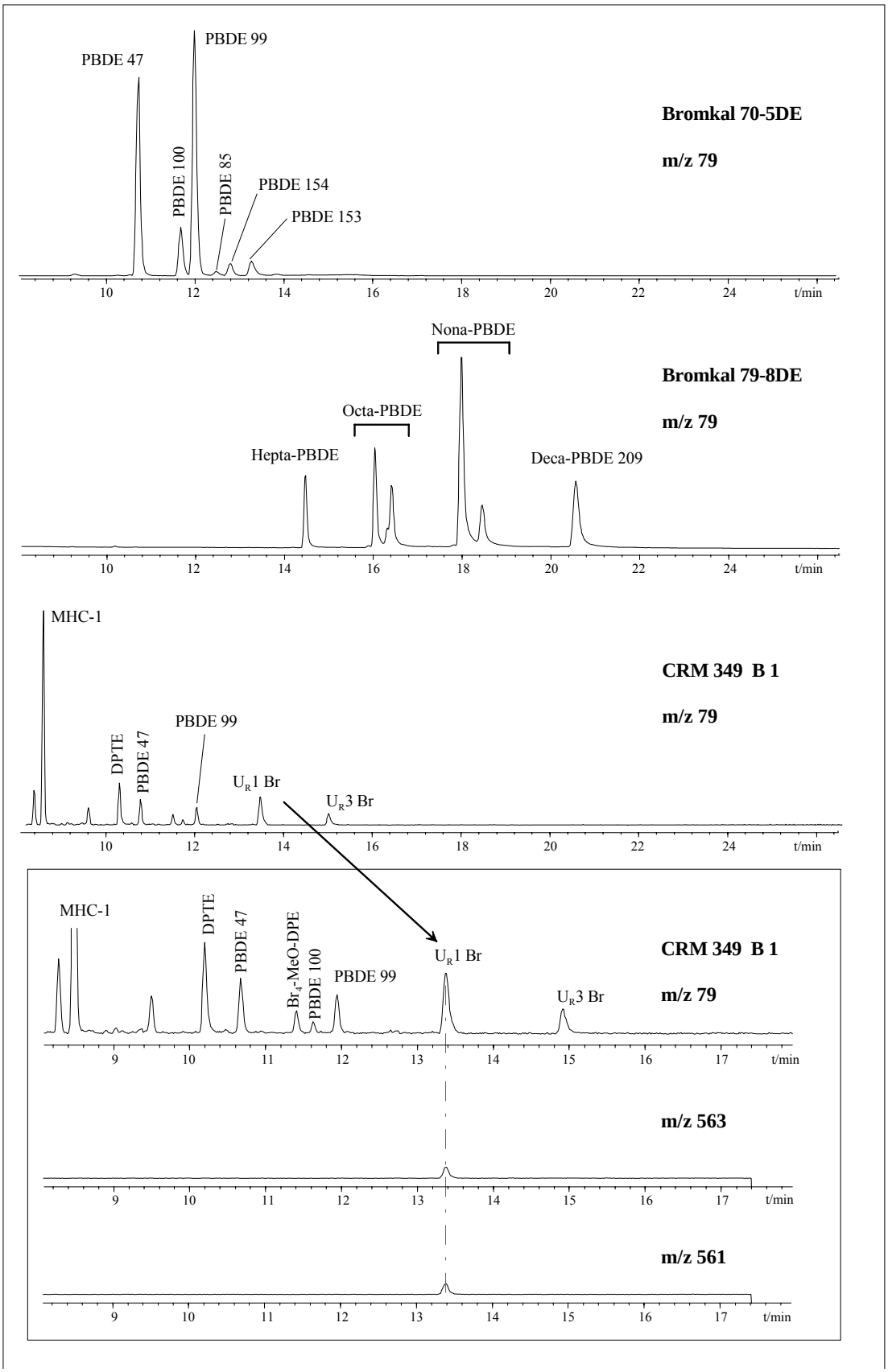


Abb. 5-61 HRGC (RET15) / NCI SIM (m/z 79 und m/z 563 und 561) – Chromatogramme von PBDE Standards und der B1-Fraktion des Dorschlebertrans CRM 349, Trennbedingungen **RET15** (Kurzsäule Kopplung)

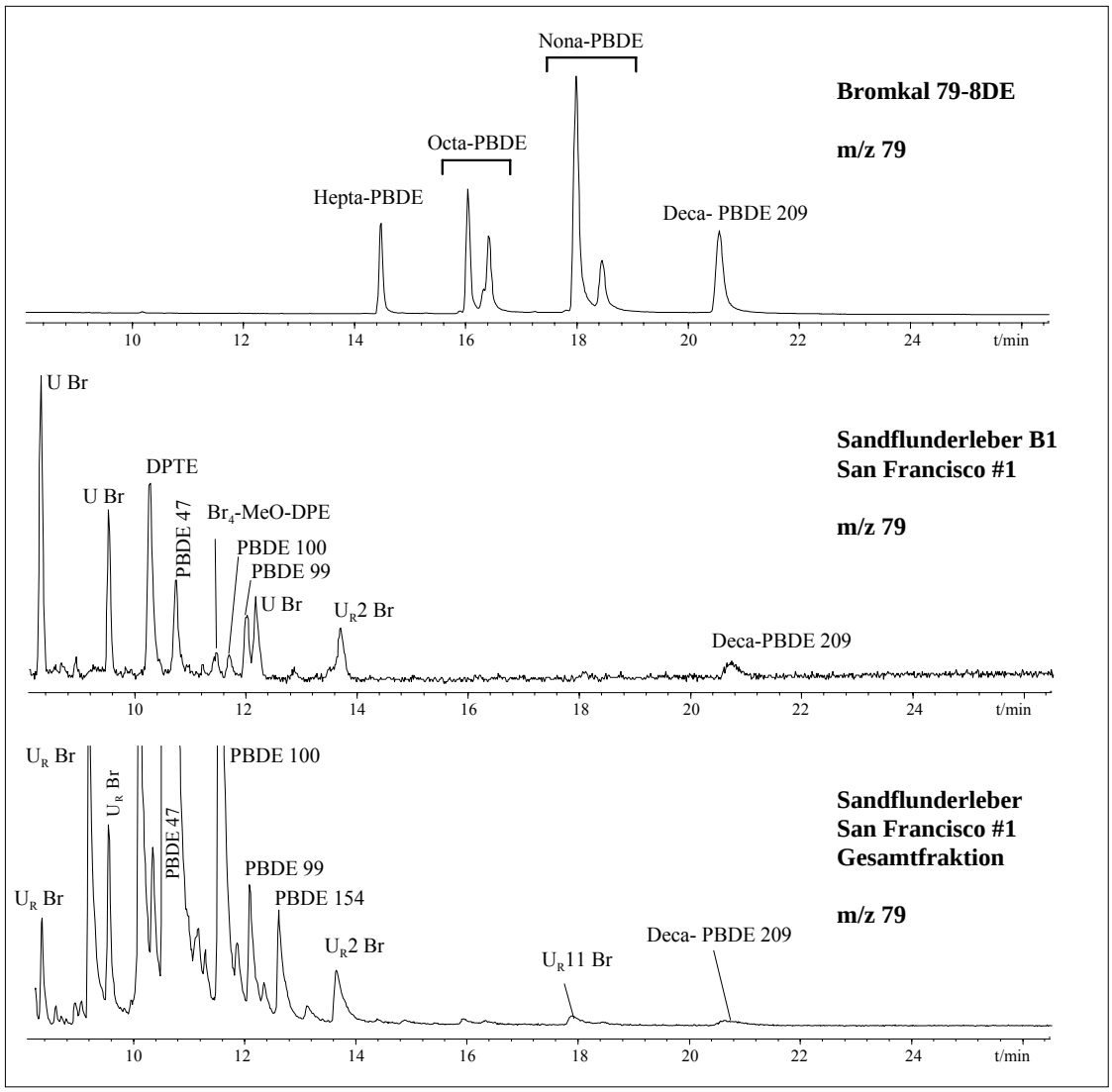


Abb. 5-62 HRGC (RET15) / NCI SIM – Chromatogramme der Bromspur (m/z 79) von Bromkal 79-8DE und des Extrakts der Sandflunder-Leber (San Francisco) #1, einmal komplett aufgearbeitet (B1-Fraktion) und einmal ohne Gruppentrennung (Gesamtfraktion.) Trennbedingung **RET 15,** (Kurzsäule Kopplung)

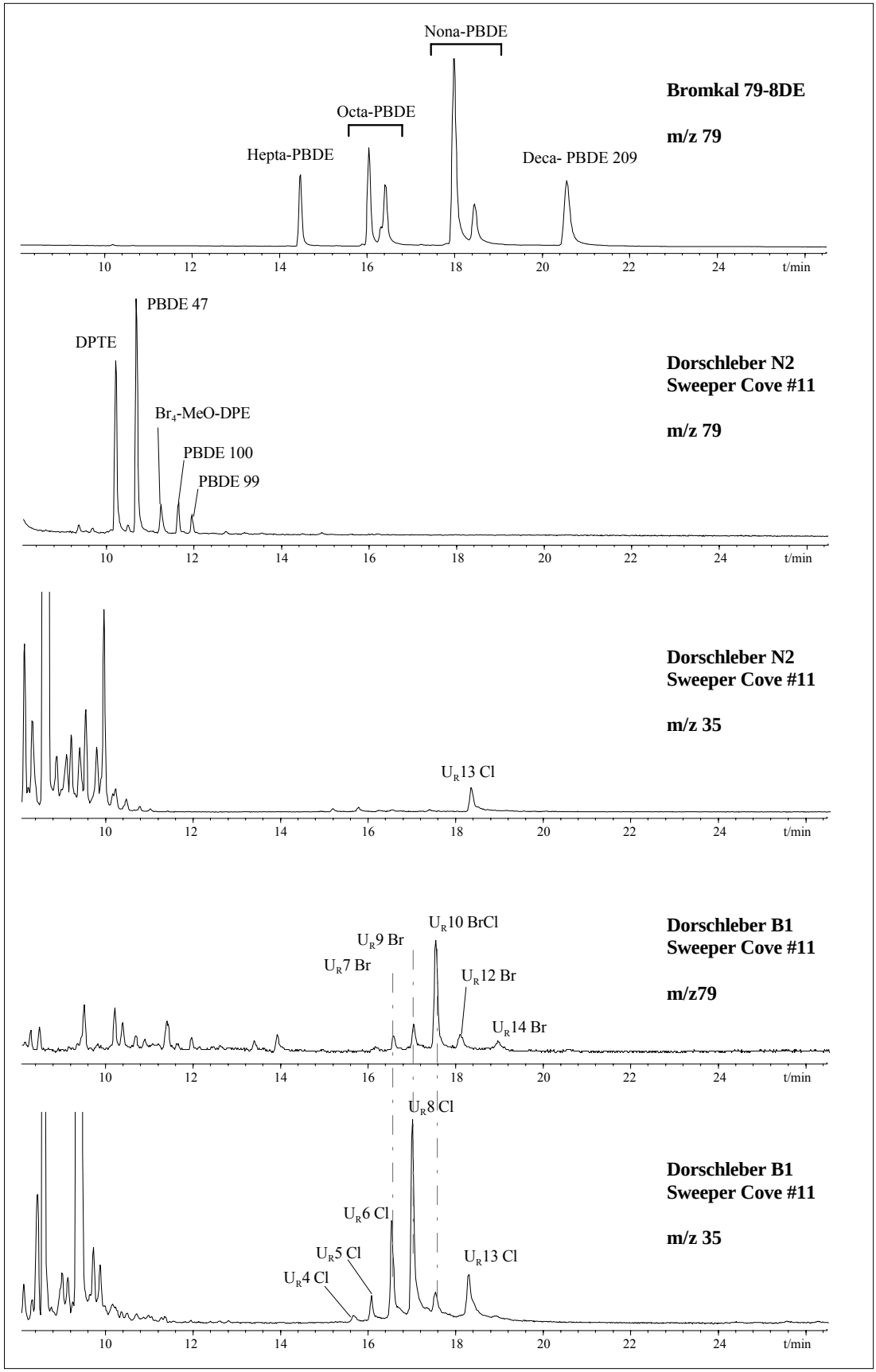


Abb. 5-63 HRGC (RET15) / NCI SIM – Chromatogramme von Bromkal 79-8DE und des Extrakts der Dorsch-Leber (Sweeper Cove #11) N2 u. B1 Fraktion. Trennbedingungen **RET15**

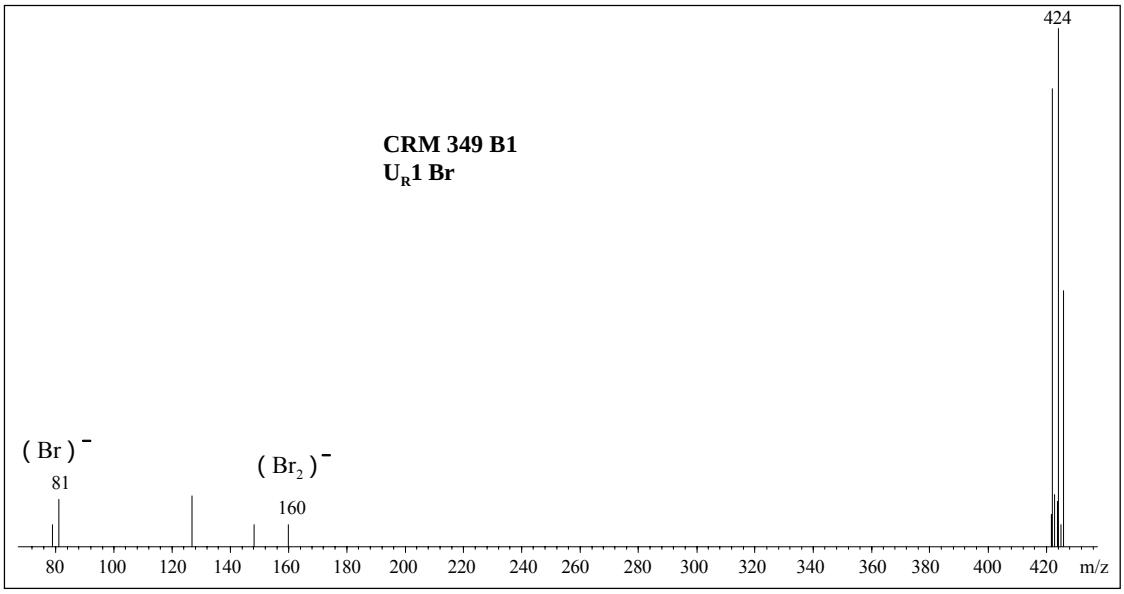


Abb. 5-64 NCI-Massenspektrum der unbekannten Substnz **U_R1** Br im CRM 349

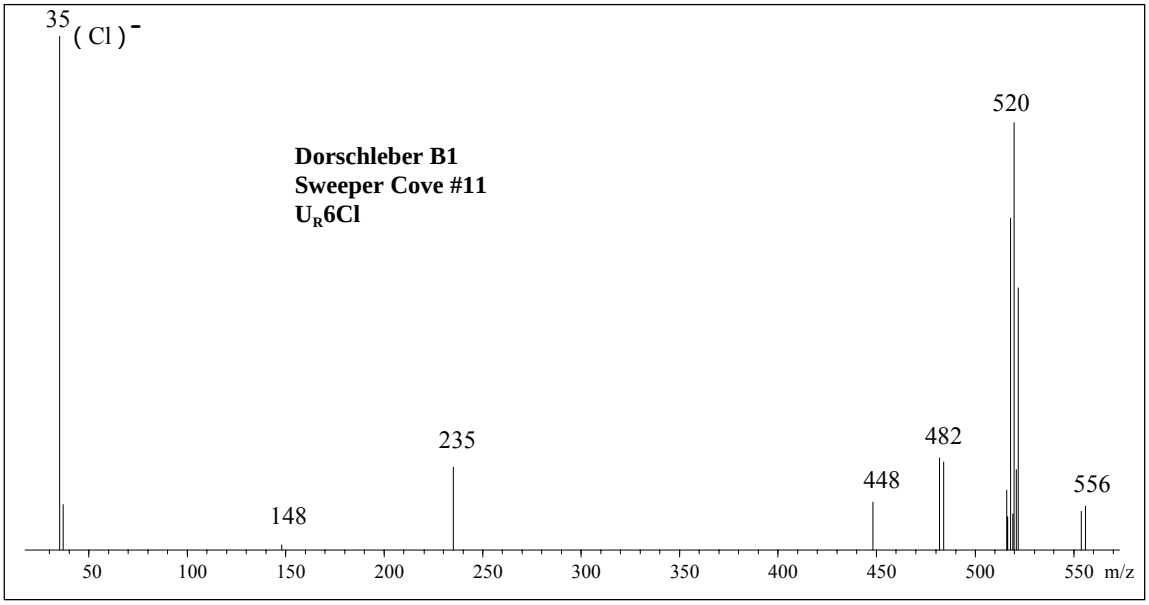


Abb. 5-65 NCI-Massenspektrum der unbekannten Substnz **U_R6** Cl in der Dorschleber, (Sweeper Cove #11)

Das NCI-Massenspektrum in **Abb. 5-65** (und **Abb. 5-66**) lässt die Vermutung zu, dass es sich um eine nona-chlorierte aromatische Verbindung handelt, die vermutlich ein Phenoxy-Diphenyl-Gerüst hat und, wie für die meisten Chloraromaten üblich, durch Dechlorierung im MS fragmentieren. Bei der Substanz in **Abb. 5-66** handelt es sich aufgrund eines ähnlichen NCI-Spektrums um ein Isomer dazu.

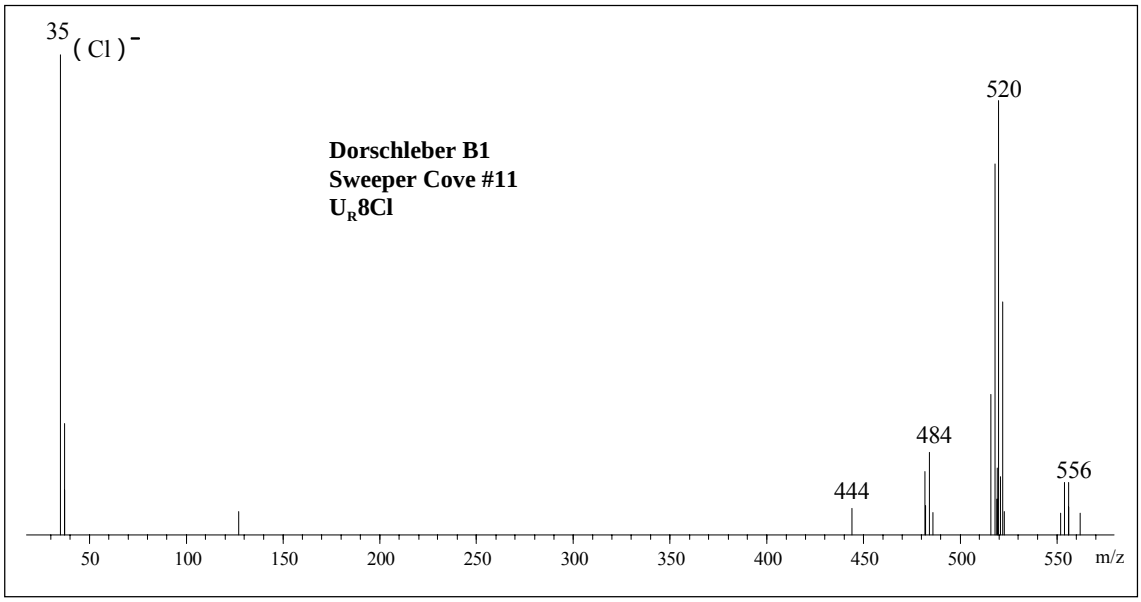


Abb. 5-66 NCI-Massenspektrum der unbekannten Substnz $\mathbf{U_R8}$ Cl in der Dorschleber, (Sweeper Cove #11)

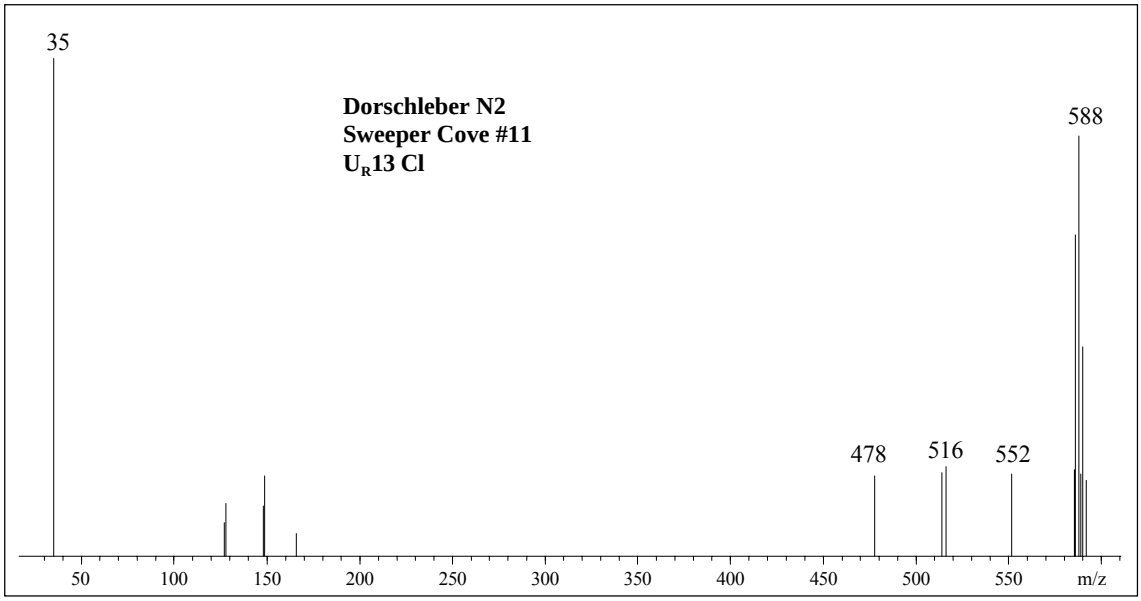


Abb. 5-67 NCI-Massenspektrum der unbekannten Substnz $\mathbf{U_R13}$ Cl in der Dorschleber (Sweeper Cove #11)

5.5 Bromkal 73-5 PE: 2,3-Dibrompropyl-(2,4,6-Tribromphenyl)-Ether

In den meisten Fischproben lässt sich in der detektierten Brom-Spur im NCI-Modus eine neue unbekannte bromierte Substanz erkennen, die in den meisten Proben ein höheres Peaksignal-Signal gibt als es für den PBDE 47 gefunden wird (vgl. Abb. 5-68). Durch Vergleichsmessungen der Proben mit mehreren Produkten von technischen Bromkal-Gemischen im NCI-Modus (SIM und Scan) konnte diese bromhaltige Verbindung in den Fischproben als Bromkal 73-5PE identifiziert werden.
In bisherigen Arbeiten von Huber wurde diese Substanz beschrieben und charakterisiert ($C_9H_7Br_5O$):

> **2,3-Dibrompropyl-(2,4,6-Tribromphenyl)-Ether (DPTE)** oder auch:
> (1,3,5-tribromo-2-(2,3-dibromopropoxy)benzol)

[Huber 2001a, Huber 2001b].[(CAS RN: 35109-60-5))]

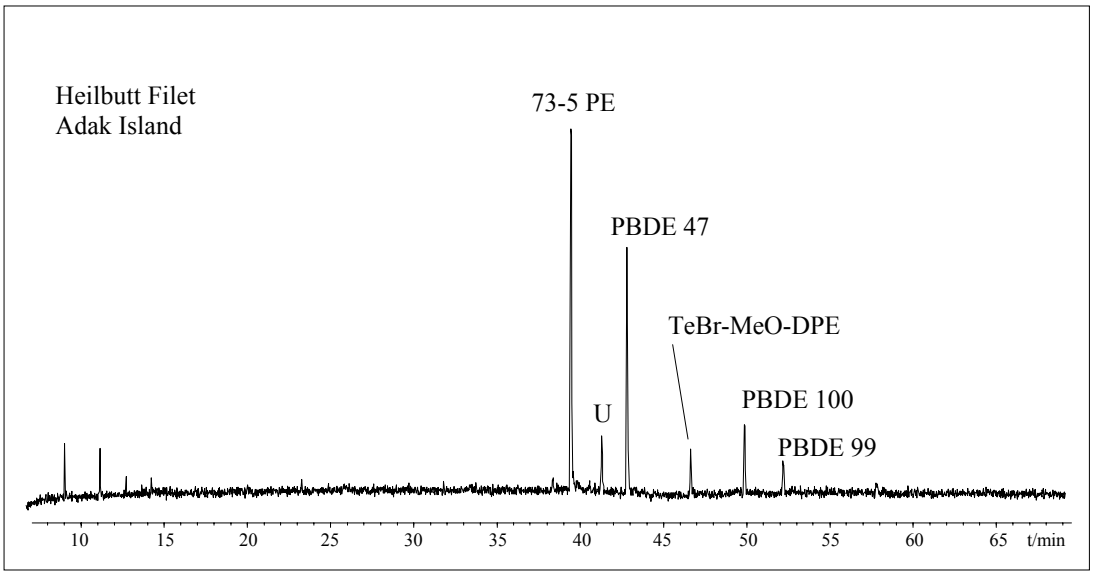


Abb. 5-68 HRGC(**Sil 19**) / MSD (NCI) SIM (m/z 79): Bromspur der Fraktion N2, Heilbutt Filet #4 (Lucky Point, Adak Island) Trennbedingungen **MSD 4**

Ein NCI-Massenspektrum der Hauptkomponente in dem technischen Produkt des Bromkals 73-5PE ist in **Abb. 5-69** zu sehen.

Das NCI-Fullscan-Spektrum der Substanz in der Heilbutt-Filetprobe #4, welche bei 39,5 min von der SIL19 eluiert, ist in **Abb. 5-70** dargestellt. Anhand des Retentionsverhaltens und des Massenspektrums kann man von einer Übereinstimmung mit dem DPTE ausgehen.

In dem Massenspektrum lassen sich deutlich die Debromierungen sehen. Das zweifach debromierte Molekülion spaltet den Propylrest ab und der Cluster mit der nominalen Masse 328 u entspricht dem Tribromphenol. Die intensivsten Fragmente sind das Bromidion und das $[Br_2]^-$ Fragment mit der Masse 158 u.

Für die Bestimmung der Massenanteile von DPTE in den Proben wurden die Relativen Responsefaktoren (RRF) für die fünfach bromierten Diphenylether (PBDE 99 und PBDE 100) ausgewählt und die Gehalte halbempirisch ermittelt. In den **Tab. 5-5** und **Tab. 5-6** sind die Gehalte an DPTE in den Fischproben angegeben.

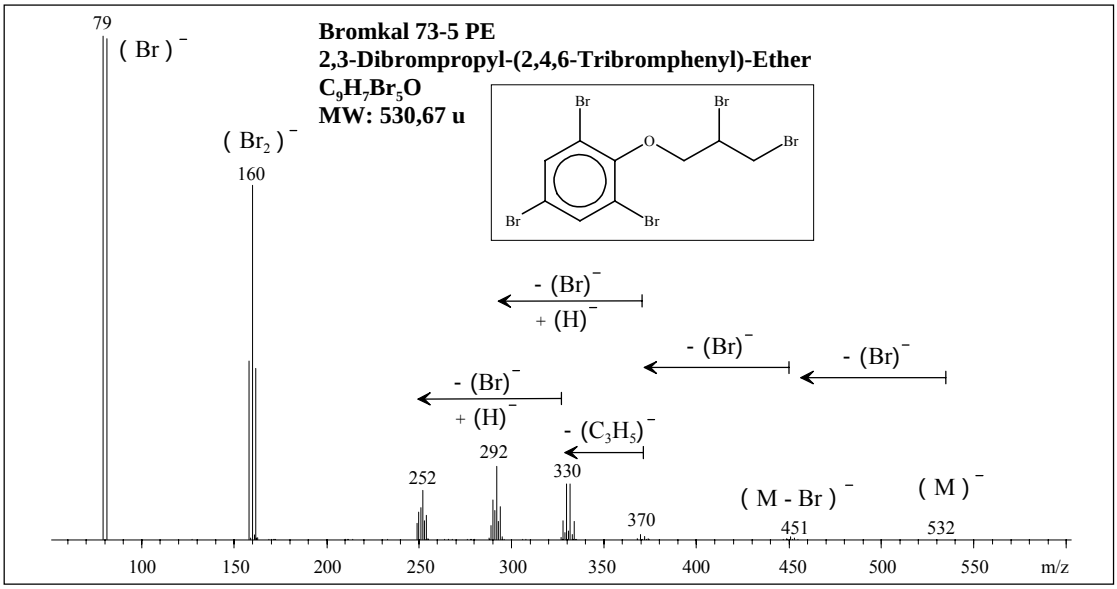


Abb. 5-69 NCI (CH_4)-Massenspektrum (Scan: m/z 30-800) der Hauptkomponente des Bromkals 73-5 PE

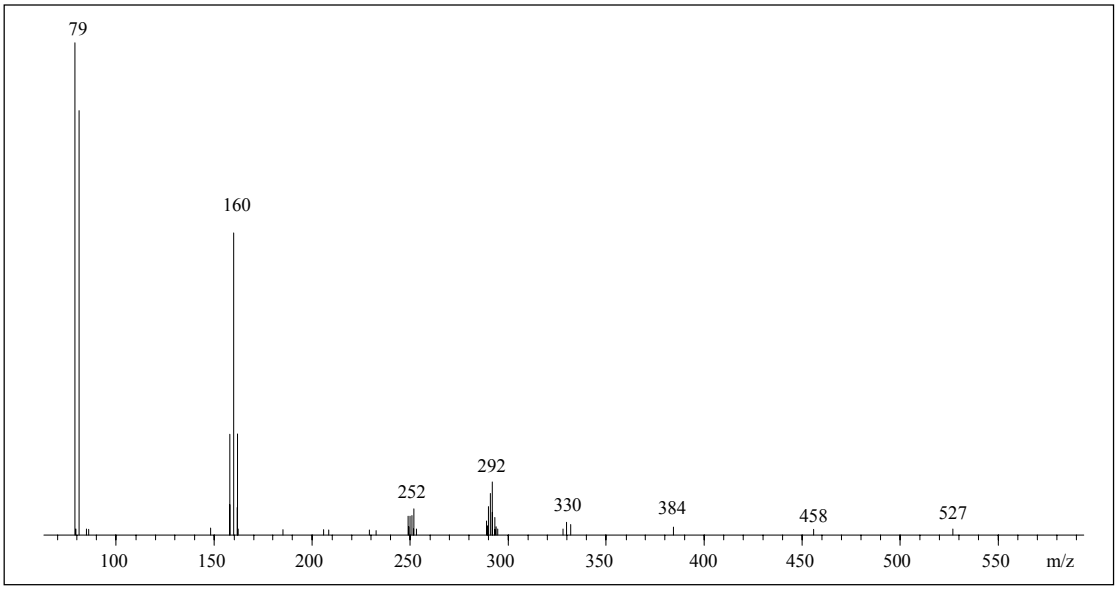


Abb. 5-70 NCI (CH_4)-Massenspektrum (Scan: m/z 30-800) des Peaks im HRGC (SIL19) der Heilbutt Filet Probe N2, Lucky Point # 4 bei 39,9 min. HRGC siehe **Abb. 5-68**

5.6 Bromierte und weitere unbekannte Substanzen in den Fischproben

Mit Hilfe der HRGC(Sil 8)/MSD-(NCI) konnte die Zuordnung in den Chromatogrammen zusätzlich noch durch die Aufnahme von Massenspektren erfolgen. Gerade bei der Identifizierung einzelner Verbindungen und Kongenere ist dies von großem Vorteil. In Kapitel 4.4.6 wurde bereits gezeigt, wie die NCI-Massenspektrometrie bei der Auswertung und Zuordnung der Analyten in den Chromatogrammen hilfreich sein kann.

Durch Aufnahme der Proben im NCI-Fullscanmodus und im SIM-Modus, mit den ausgewählten Massen für die Chlor- und Brom-Isotope, konnten einige Substanzen exakter zugeordent werden. Durch den geringen Untergrund bei der NCI-GC/MS erhält man auch noch bei sehr niedrigen Konzentrationen teilweise gut auswertbare Massenspektren von unbekannten halogenieren Substanzen.

Von wesentlicher Bedeutung waren dabei die NCI-SIM-Chromatogramme mit Detektion der Brom-Isotope (m/z 79 und m/z 81). In **Abb. 5-71** bis **Abb. 5-83** sind einige der NCI-SIM-Chromatogramme der bearbeiteten Fischproben dargestellt.

Für eine Überprüfung und Bestätigung der Zuordnug der Analyten in den ECD-Chromatogrammen wurden die Proben im NCI auf zwei Säulen gemessen (SIL8 und SIL 19). Durch ein deutlich geringeres Grundrauschen bei der MS-Detektion auf der SIL8 Low Bleed-Säule wurden auch hier noch sehr geringe Mengen an Chlor- und Bromverbindungen detektiert. Allerdings liefern diese Messungen teilweise nur qualitative Ergebnisse. Viele dieser Substanzen sind aufgrund eines geringen Responses im ECD und einer Überlagerung der Peaks durch PCB- und Toxaphen-Kongenere in den ECD Chromatogrammen, nur in den Brom und Chlor-SIM-Spuren zu sehen.

Besonderes Augenmerk galt bei den Untersuchungen mit NCI-GC/MS den polybromierten Diphenylethern (PBDEs) und deren Isomeren, wie etwa den methoxylierten Kongeneren.

Nachfolgend noch einmal die Einteilung der Proben nach Herkunft, untersuchtem Organ und Nummerierung:

Nr.	Spezies	Organ	Herkunft
#1	Sandflunder	Leber	Küste San Francisco
#2	Heilbutt	Filet	Golf von Alaska (Anchorage)[a)]
#3	Heilbutt	Filet	Golf von Alaska (San Francisco)[b)]
#4	Heilbutt	Filet	Lucky Point (A) (Adak Island)
#5	Heilbutt	Filet	Kuluk Bay (Adak Island)
#6	Heilbutt	Filet	Amchitka Island
#7	Heilbutt	Filet	Attu Island
#8	Heilbutt	Leber	Lucky Point (B) (Adak Island)
#9	Dorsch	Leber	Kuluk Bay (Adak Island)
#10	Dorsch	Leber	Zeto Point (Adak Island)
#11	Dorsch	Leber	Sweeper Cove (Adak Island)
#12	Miesmuscheln	Muschelfleisch	Sweeper Cove (Adak Island)

a) Diese Probe wurde in Anchorage, Alaska, USA käuflich erworben und stammt aus dem Golf von Alaska

b) Diese Probe wurde in San Francisco, USA käuflich erworben und stammt aus dem Golf von Alaska

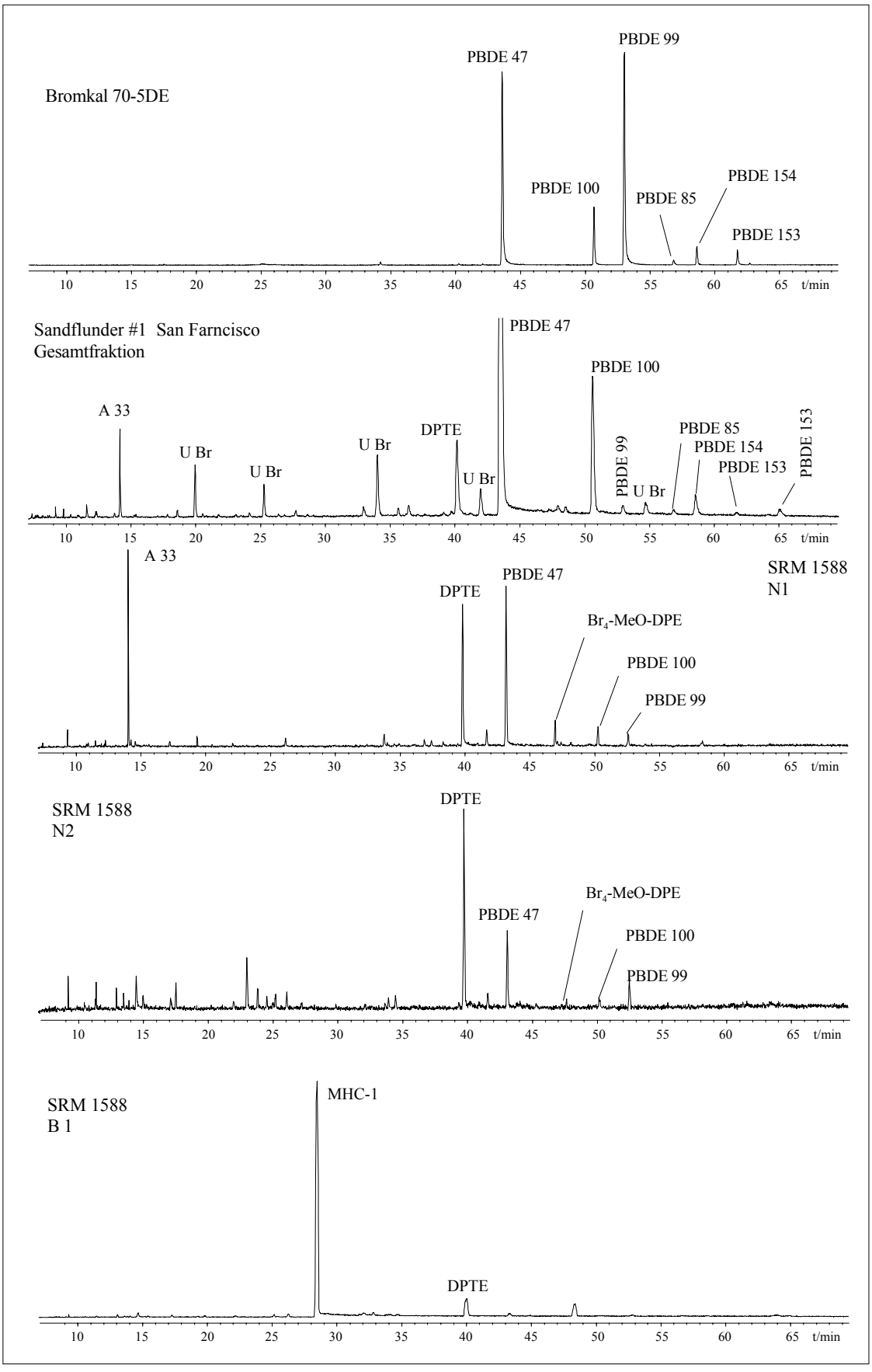


Abb. 5-71 HRGC(**Sil 8**)/MSD (NCI)-SIM (m/z 79): Bromspuren von Bromcal 70-5DE, der Sandflunder-Gesamtfraktion und des SRM 1588, Trennbedingungen **MSD1**

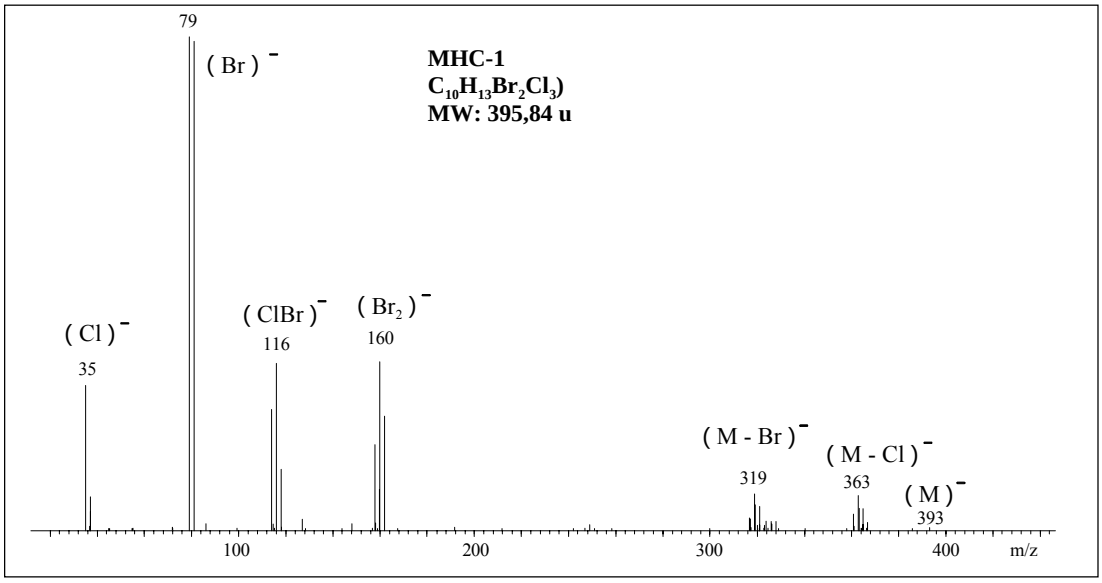


Abb. 5-72 NCI (CH_4)-Massenspektrum (Scan: m/z 30-450) der bromiert-chlorierten Substanz MHC-1 in dem SRM 1588 (siehe **Abb. 5-71**) [Vetter 2001] .

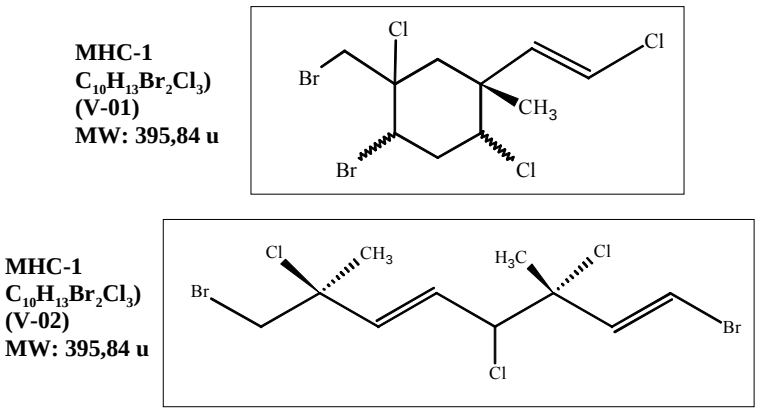


Abb. 5-73 Strukturvorschläge V-01 und V-02 von Vetter für die bromiert-chlorierte Substanz MHC-1 in dem untersuchten SRM 1588, die von Vetter ebenfalls in Fischproben gefunden wurde [Vetter 2001].

In **Abb. 5-71** sind die Bromspuren des PBDE-Standards und technischen Gemisches Bromcal 70-5DE, der Sandflunder und des SRM 1588 aufgezeigt. Die Gesamtfraktion der Sandflunder zeigt sehr gut die hohe Belastung dieses Plattfisches von der Küste San Franciscos mit bromierten Verbindugen auf. Deutlich sichtbar der dominierende Peak des PBDE 47. Bei den unbekannten bromierten Verbindungen im Chromatogramm handelt es sich wahrscheinlich um niederbromierte (di- und tri-bromo) PBDEs oder auch bromierte Biphenyle. Die Bromspuren des SRM 1588 zeigen ebenfalls hauptsächlich eine Belastung mit dem Bromkal 70-5DE. In der B1-Fraktion ist ausserdem eine chloriert-bromierte Verbindung (MHC-1) zu finden, die von Vetter in einigen Fisch-Proben im Nord-Atlantik gefunden wurde [Vetter 2001]. Die Strukturvorschläge sind in **Abb. 5-73** zu sehen.

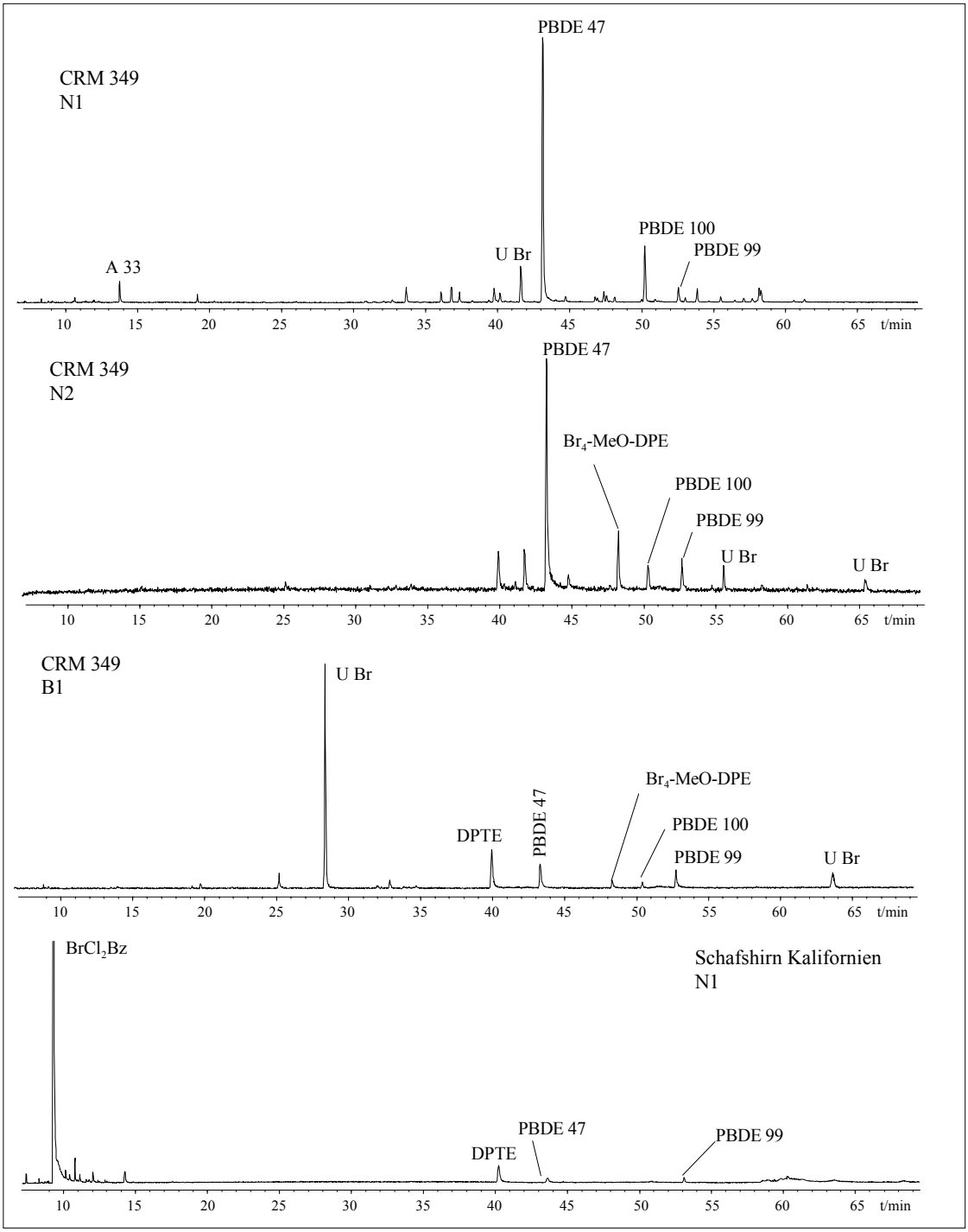


Abb. 5-74 HRGC(**Sil 8**)/MSD (NCI)-SIM (m/z 79): Bromspur des CRM 349 und der N1 Fraktion der Schafshirnprobe, Trennbedingungen **MSD 1**

Die Bromspur der Fraktion des Dorschlebertrans CRM 345 ind **Abb. 5-74** zeigt ebenfalls ein deutliche Belastung mit PBDEs auf. Bei der unbekannten bromierten Verbindung Ubr bei 28,2 min in der B1 Fraktion des CRM 349 handelt es sich nicht um das gemischt halogenierte MHC-1, da in der Chlorpur kein Signal zu sehen war. Zusätzlich ist noch die N1-Fraktion der schwach belasteten Schafshirnprobe zu sehen, wo das Brom-Dichlor-Benzol dominiert.

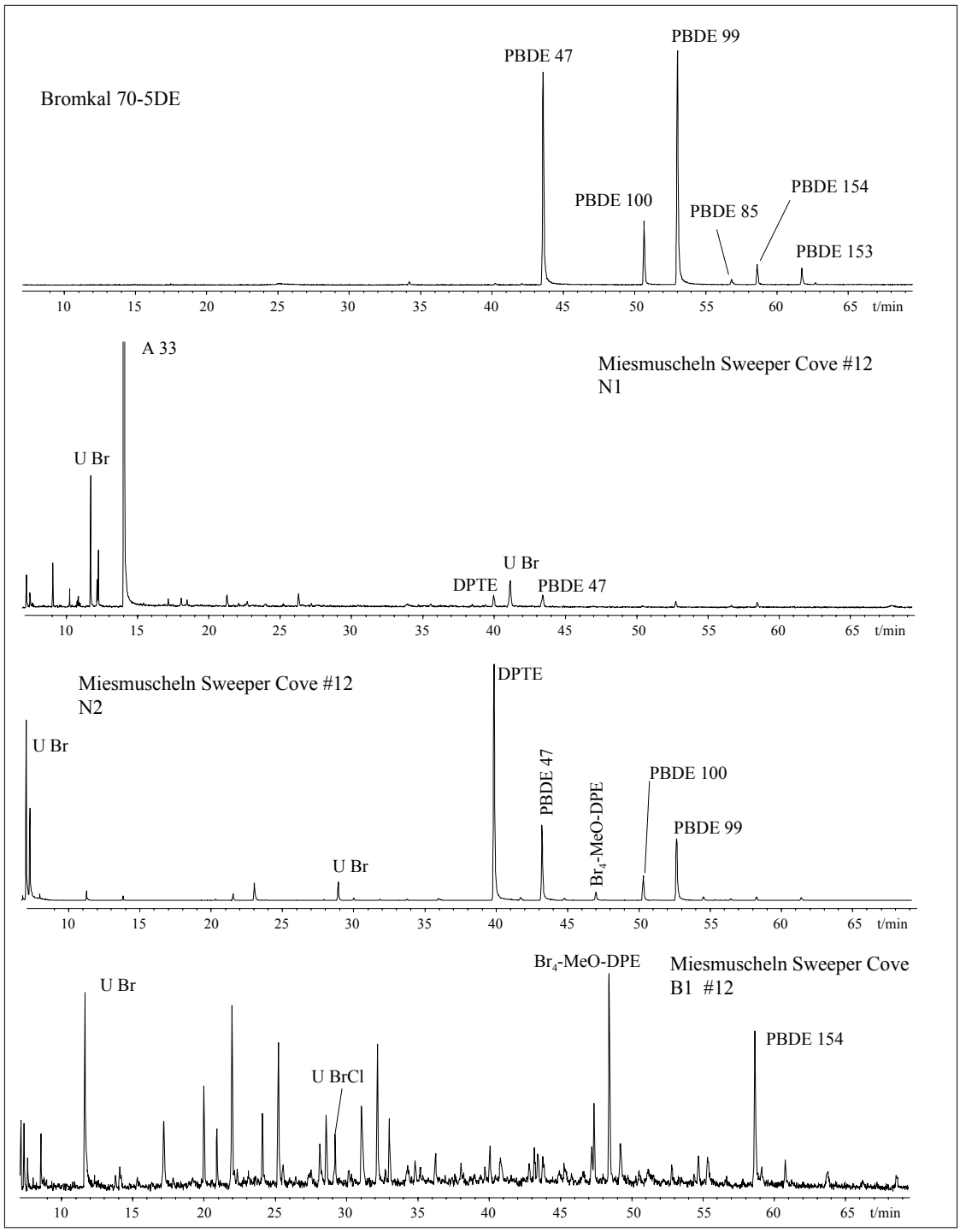


Abb. 5-75 HRGC(**Sil 8**)/MSD (NCI)-SIM (m/z 79): Bromspur der Muschelprobe #12, Fraktionen N1, N2 und B1, Trennbedingungen **MSD 1**

Eine der höchsten Belastungen mit bromierten Verbindungen ist in den Miesmuscheln aus Sweeper Cove (#12) zu finden. In **Abb. 5-75** sind die Brompuren der drei Farktionen der Muschelprobe dargestellt. Besonders auffällig sind die zahlreichen bromierten Verbindungen in der Backflush-Fraktion (B1). Ein biogener Ursprung dieser Substanzen ist, wie von Algen und einzelnen marinen Schwämmen bekannt, in diesem Falle auch durchaus denkbar [Vetter 2002].

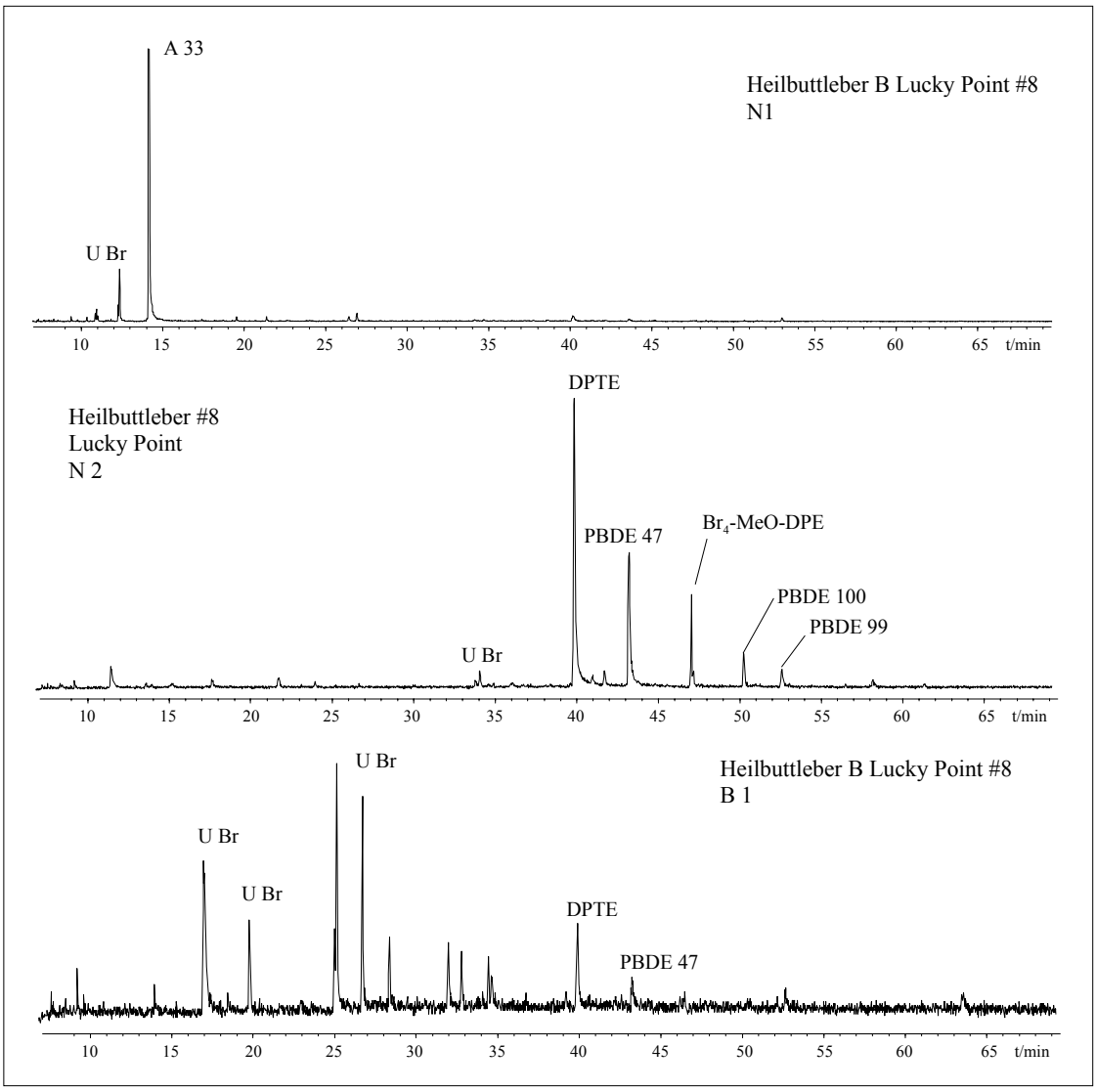


Abb. 5-76 HRGC(**Sil 8**)/MSD (NCI)-SIM (m/z 79): Bromspur der N1, N2 und B1 Fraktion der Heilbutt-Leber-Probe, Lucky Point, Adak Island (#8), Trennbedingungen **MSD 1**

Die NCI-SIM-Chromatogramme (**Abb. 5-76**) der Bromspur der Heilbutt-Leber Probe #8 zeigen sehr gut das Elutionsverhalten der bromierten Verbindungen bei der NP-HPLC-Gruppentrennung auf.
Das Tribromanisol ist in der N1-Fraktion zu finden, die tetra- bis penta/hexa-bromierten PBDEs in der N2 und im Backflush sind zahlreiche polarere organische Bromverbindungen zu detektieren

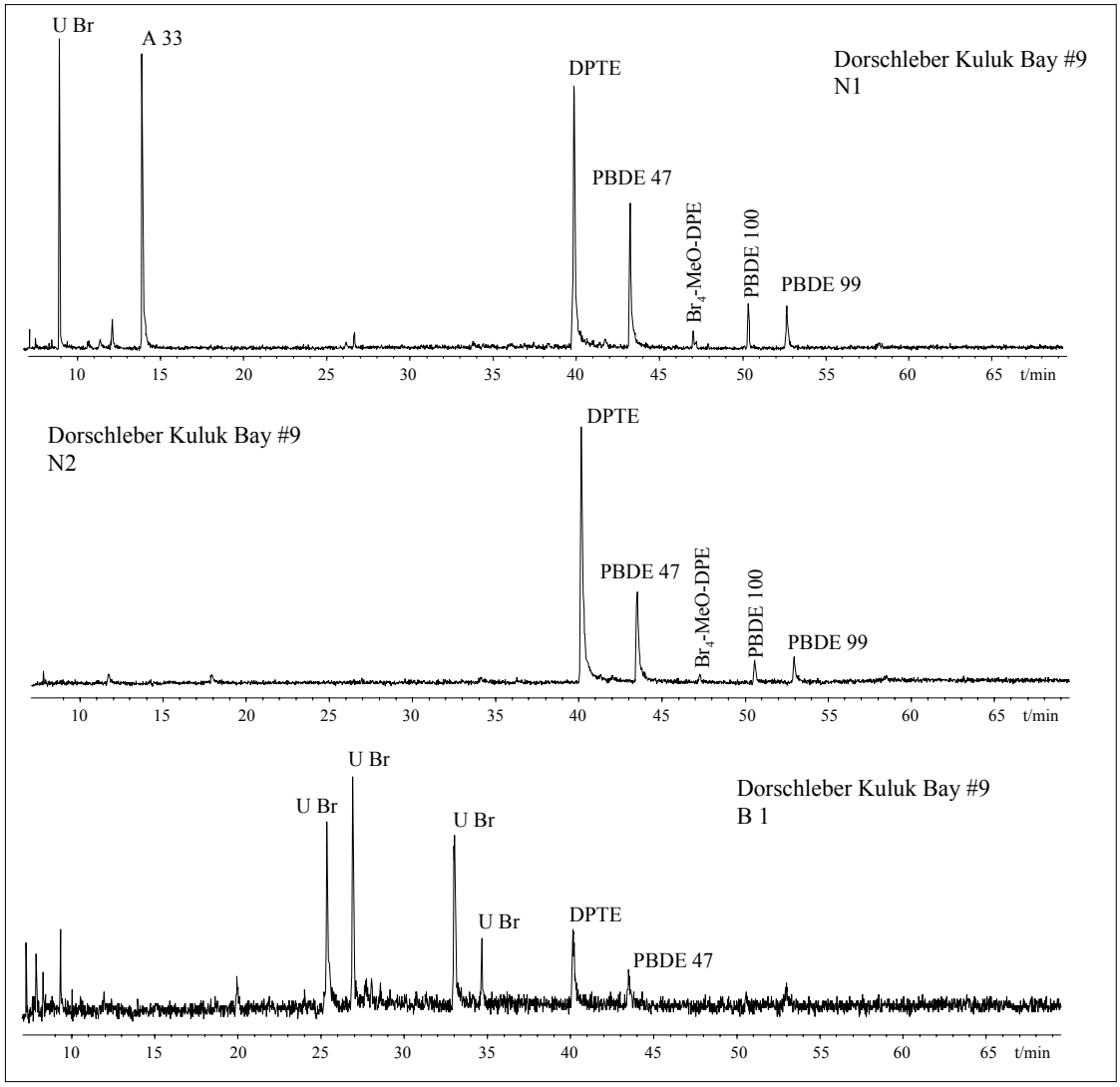


Abb. 5-77 HRGC(**Sil 8**)/MSD (NCI)-SIM (m/z 79): Bromspur der N1, N2 und B1 Fraktion der Dorsch-Leber-Probe, Kuluk Bay, Adak Island (#9), Trennbedingungen **MSD 1**

In den **Abb. 5-77** bis **Abb. 5-79** sind die Bromspuren aller Fraktionen der drei Dorschleber Proben (#9, #10 und #11) dargestellt. Die Proben #9 und #10 zeigen eine große Ähnlichkeit der Bromspuren der jeweiligen Fraktionen. Bei der Dorschleberprobe #12 aus der Hafenbucht Sweeper Cove finden sich auch in der unpolaren N1-Fraktion zahlreiche unbekannte bromierte Verbindungen, sowie auch in der polaren Backflush-Fraktion B1. In dieser treten zwei dominierende Peaks auf.

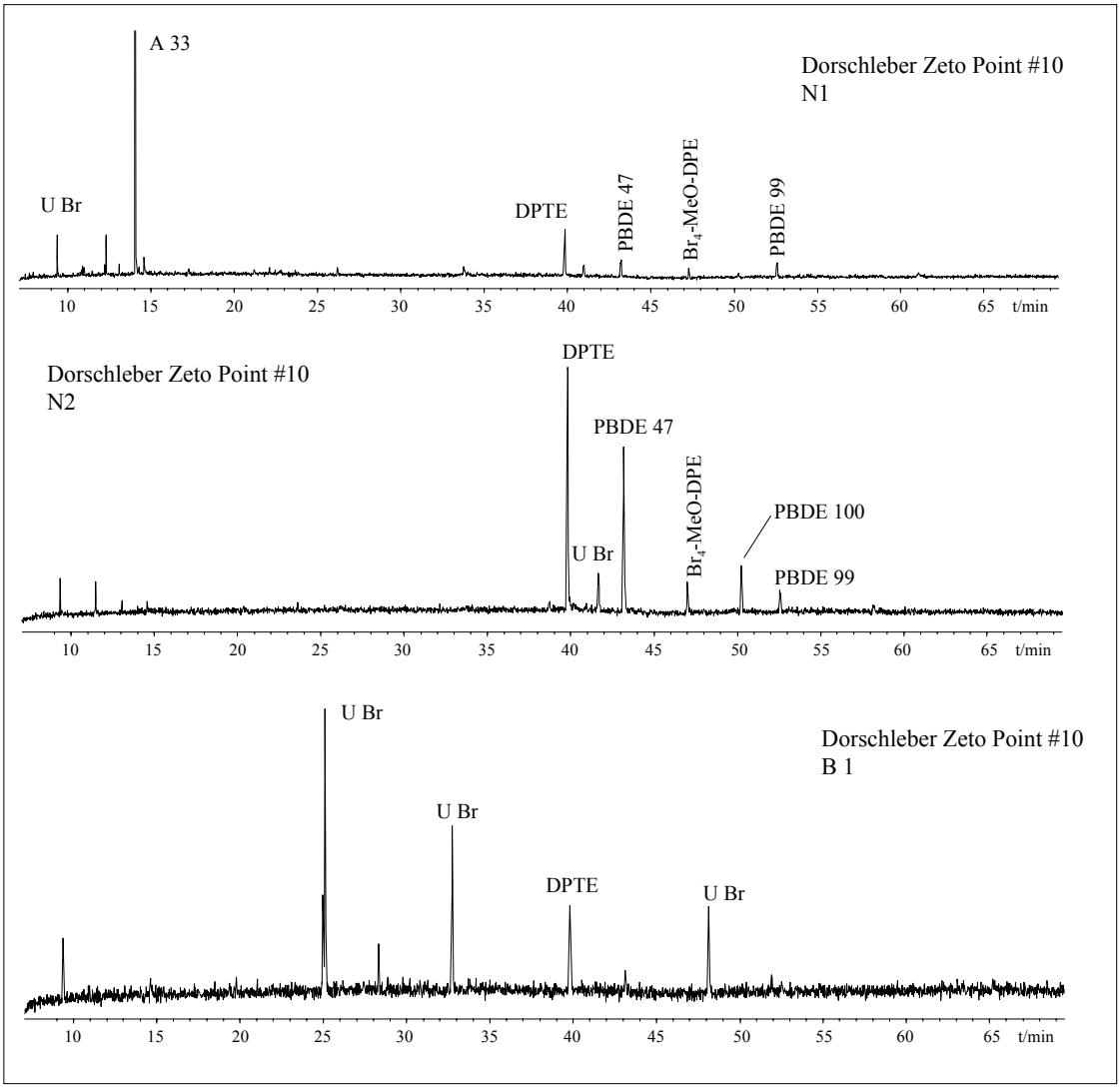


Abb. 5-78 HRGC HRGC(**Sil 8**)/MSD (NCI)-SIM (m/z 79): Bromspur der N1, N2 und B1 Fraktion der Dorsch-Leber-Probe, Zeto Point, Adak Island (#10), Trennbedingungen **MSD 1**

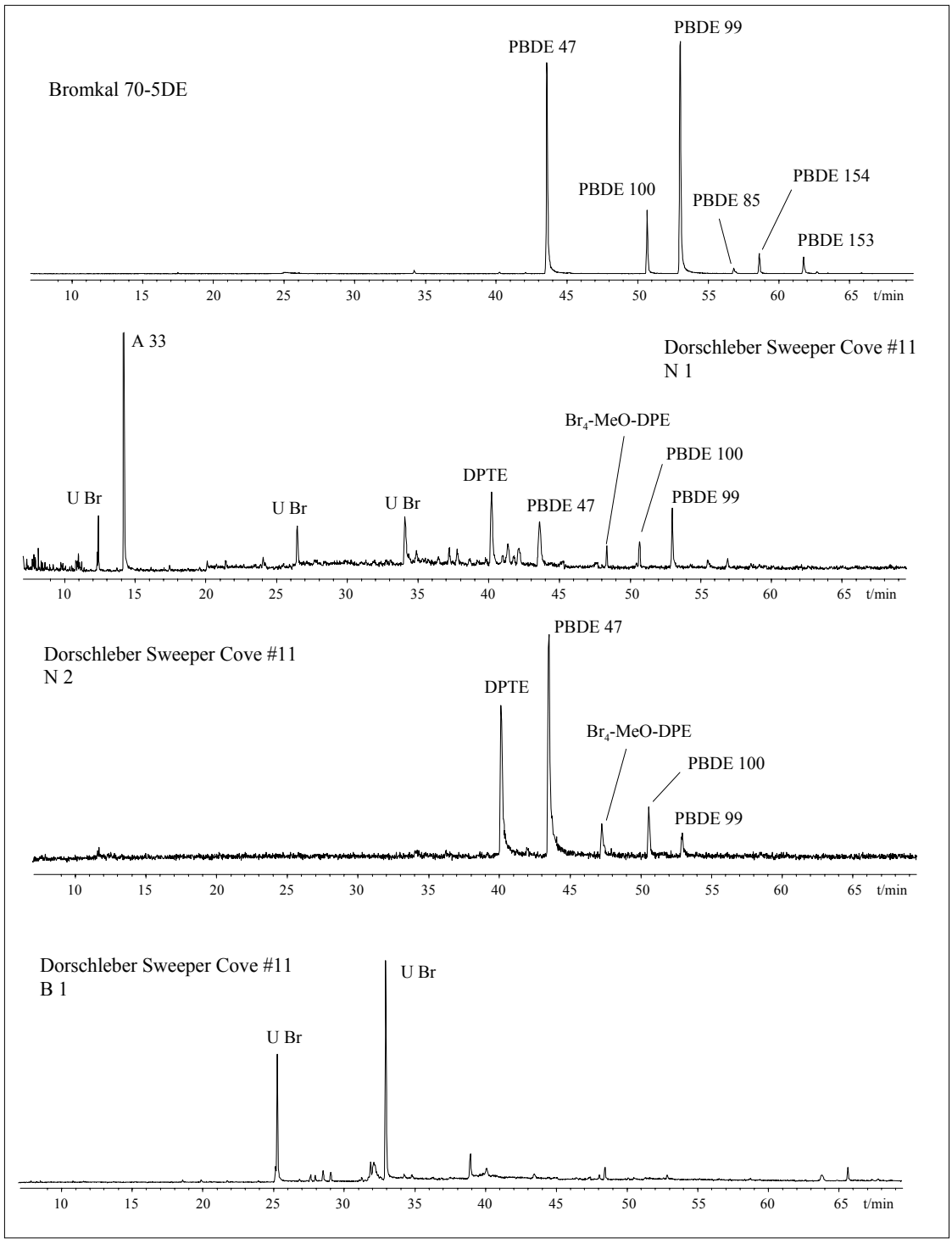


Abb. 5-79 HRGC(**Sil 8**)/MSD (NCI)-SIM (m/z 79): Bromspur der N1, N2 und B1 Fraktion der Dorsch-Leber-Probe, Sweeper Cove, Adak Island (#11), Trennbedingungen **MSD 1**

Zum Vergleich der Fischleberproben sind in **Abb. 5-80** die Bromspuren der N2-Fraktionen der Proben dargestellt. In der Heilbutt-Leber liegt der Gehalt des Methoxyderivats des Tetrabrom-Diphenylethers im Vergleich zu den reinen tetra- und penta-bromierten-PBDEs sehr hoch.

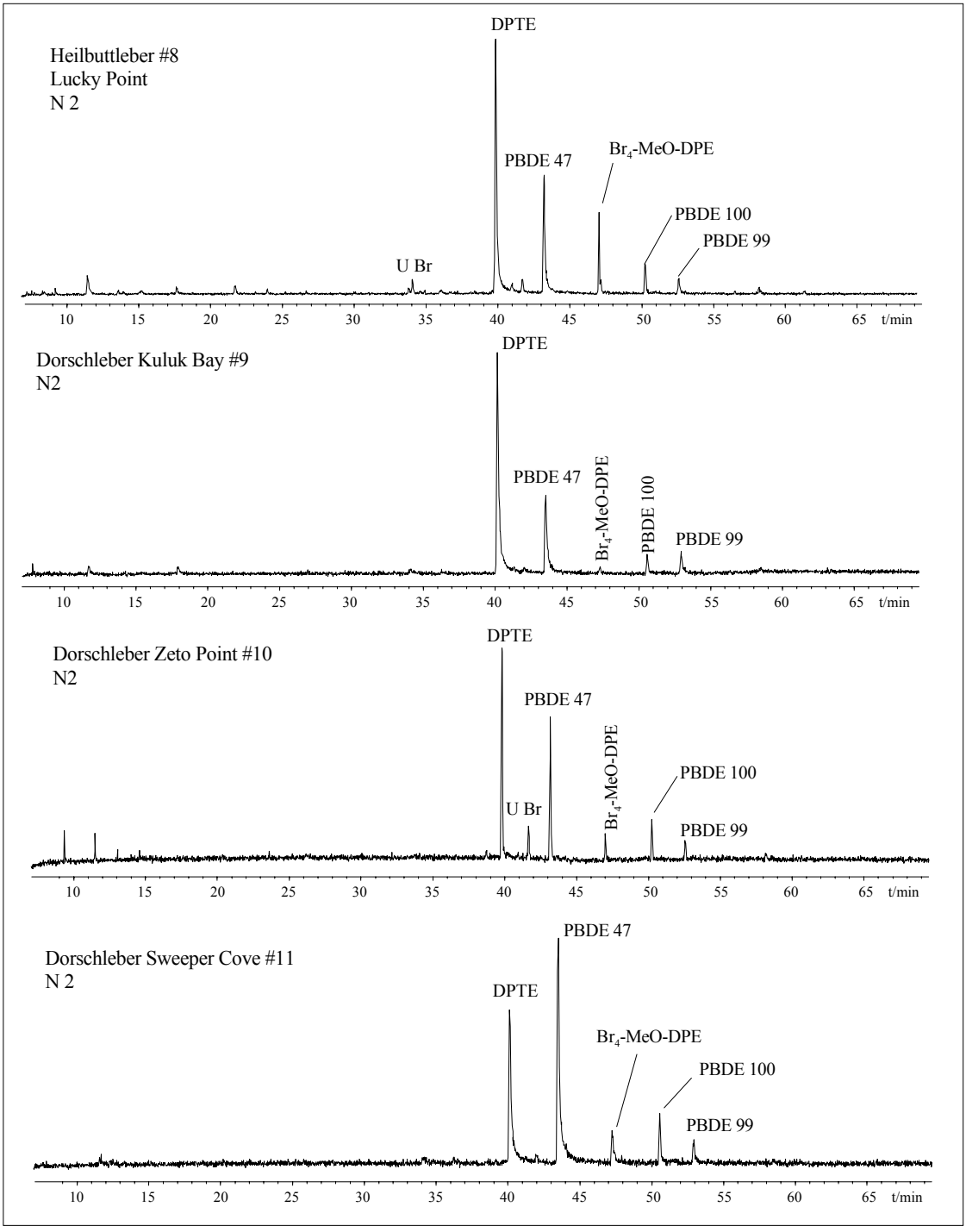


Abb. 5-80 HRGC(**Sil 8**)/MSD (NCI)-SIM (m/z 79): Bromspur der N2-Fraktionen der Heilbutt (#8)- und Dorsch (#9-#11)- Leberproben, Trennbedingungen **MSD 1**

In **Abb. 5-81** und **Abb. 5-82** sind die Bromspuren der Fraktionen der Heilbutt-Filetproben #2, #4, #5 und #6 abgebildet. Die N1-Fraktionen der Proben #2 und #5 werden nicht gezeigt, da sich bis auf das Tribromanisol (A33) keine weiteren bromierten Verbindungen nachweisen ließen.

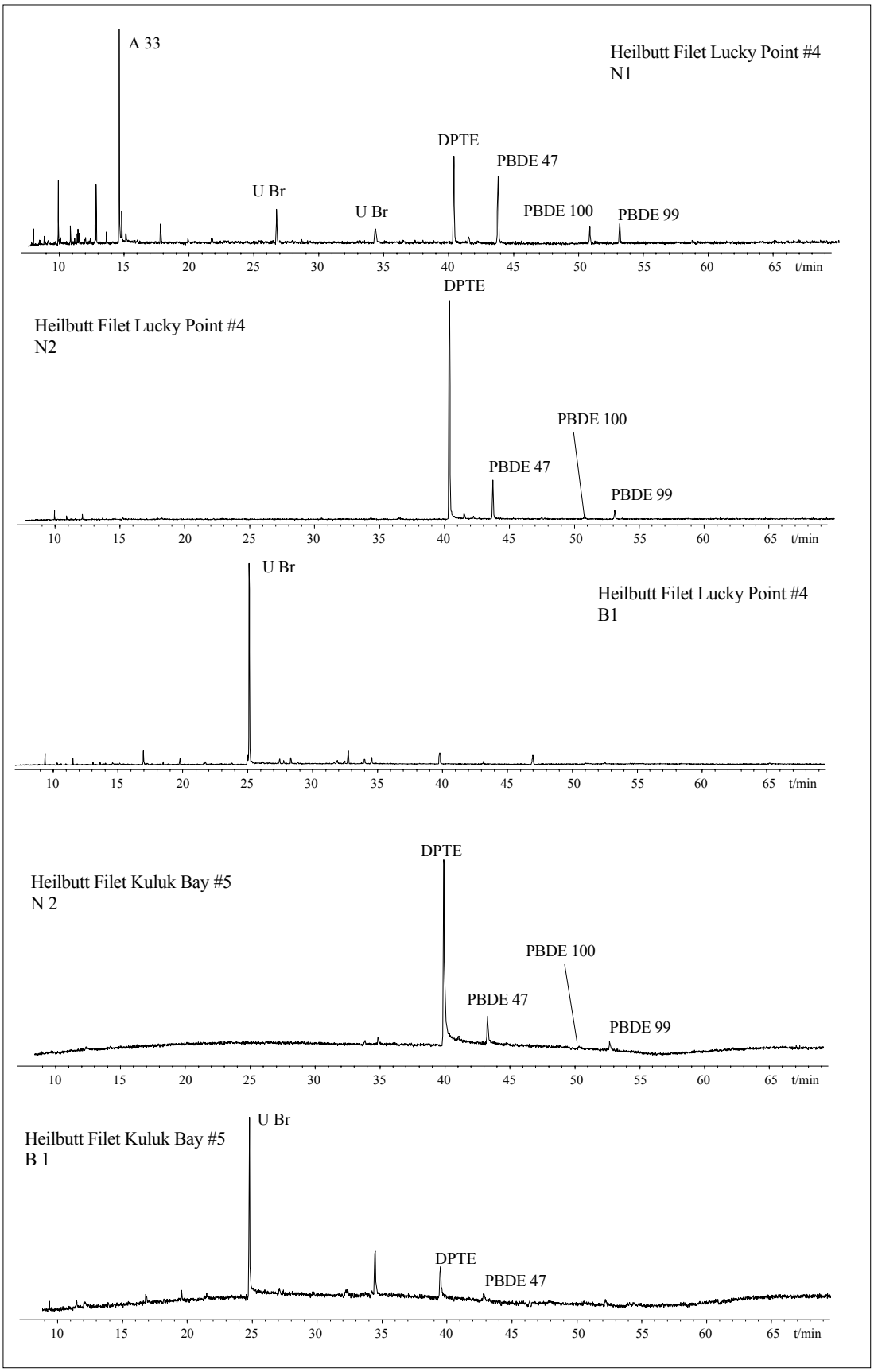


Abb. 5-81 HRGC(**Sil 8**)/MSD (NCI)-SIM (m/z 79): Bromspur der Heilbutt-Filet-Proben #4 und #5 der Fraktionen N1, N2 und B1. Die N1 Fraktion von #5 zeigt außer A33 keine Peaks und wird nicht dargestellt, Trennbedingungen **MSD 1**

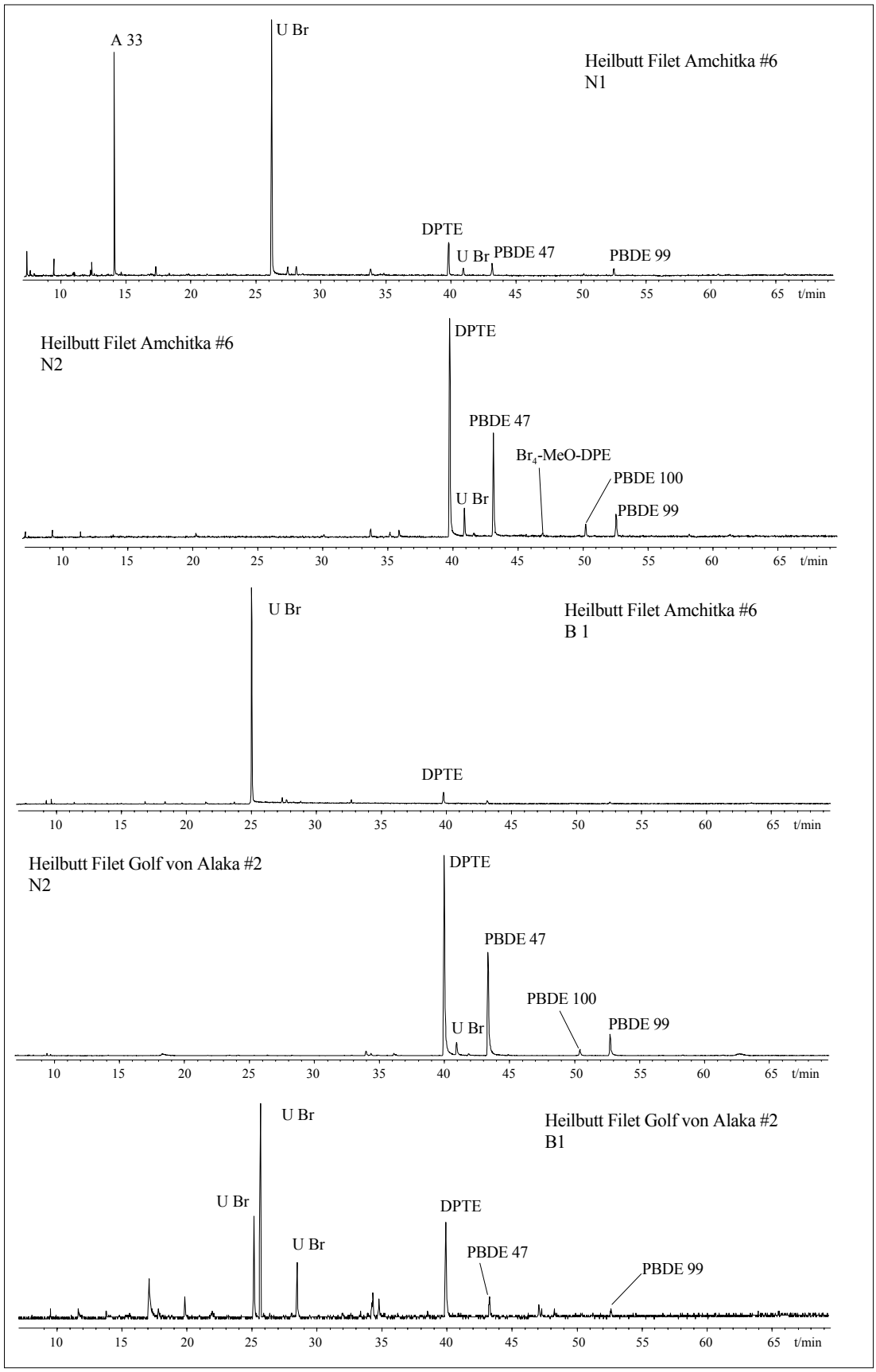


Abb. 5-82 HRGC(**Sil 8**)/MSD (NCI)-SIM (m/z 79): Bromspur der Heilbutt-Filet-Proben #2 und #6 der Fraktionen N1, N2 und B1. Die N1 Fraktion von #2 zeigt außer A33 keine Peaks und wird nicht dargestellt, Trennbedingungen **MSD 1**

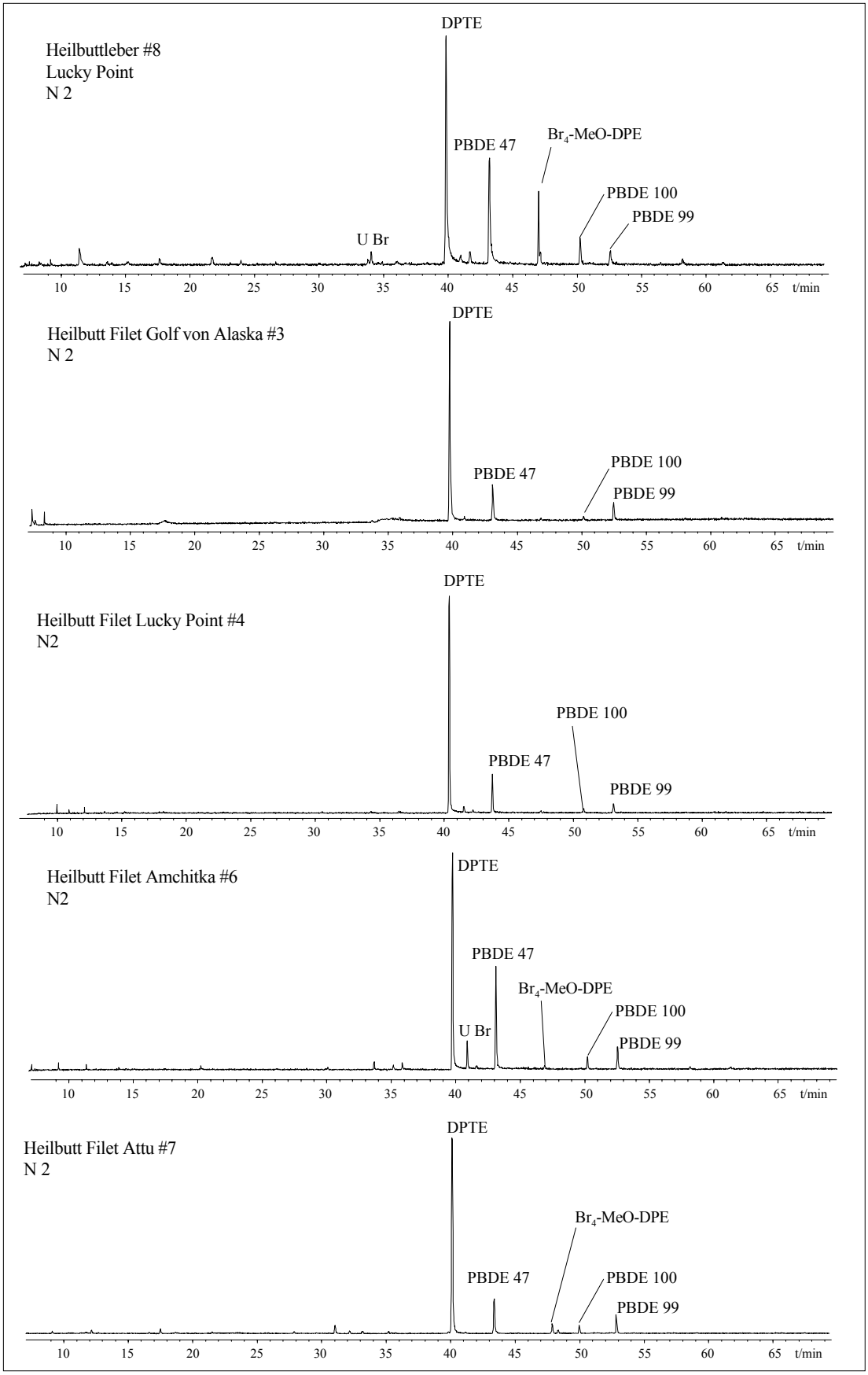


Abb. 5-83 HRGC(**Sil 8**)/MSD (NCI)-SIM (m/z 79): Bromspur der N2-Fraktionen der Heilbutt-Leber- (#8) und Filetproben (#3, #4, #6 und #7), Trennbedingungen **MSD 1**

In **Abb. 5-83** werden die Bromspuren der N2 Fraktionen von Heilbutt-Filetproben von verschieden Fangorten in den Aleuten gezeigt, zum Vergleich die N2-Fraktion der Heilbuttleber #8 von Adak Island. Deutlich sichtbar ist das vermehrte Vorkommen des Methoxyderivats in der Leberprobe, im Vergleich zu den Filetproben, ebenso aber auch das unterschiedliche Verhältnis der beiden pentabromierten PBDEs 99 und 100. In der Leber überwiegt das Kongener mit 2,2',4,4',6-Substitution.

Betrachtet man aber die geographische Verteilung der Proben, fällt auch auf, dass der DPTE im gesamten Bereich des Nord Pazifik vorkommt und in den Proben nachweisbar ist. Bei den polybromierten Diphenylethern kann man bei den Heilbuttfiletproben von einer globalen Grundbelastung ausgehen, da sich hier auch keine wesentlichen geographischen Unterschiede in den Gehalten feststellen lassen.

In **Abb. 5-84** ist ein NCI (CH_4)-Massenspektrum der heptachlorierten Verbindung Heptachloro-1´-methyl-1,2´-bipyrrol ("U3") $C_9H_3N_2Cl_7$ in der Heilbutt Filet-Probe #2 aus dem Golf von Alaska dargestellt. Diese Verbindung wurde bereits von Froescheis und Looser vorwiegend in Fischen des Südatlantiks wie aber auch im Nordpazifik nachgewiesen [Looser 1999, Wu 2002]. Mit Hilfe der NCI-Massenspektren konnte diese Verbindung in den Heilbuttproben #2 und #8 identifiziert werden.

Die Quelle dieser Verbindung ist nicht bekannt, aber in letzter Zeit wurden durch verbesserte Analysenmethoden, insbesondere aber die NCI-MS, zahlreiche neue „natürliche" halogenierte Verbindungen in mariner Biota detektiert [Tittlemier 1999a, Tittlemier 2002]. Dieser Bereich der Umweltanalytik von natürlichen POPs bietet noch ein weites Feld an unerforschten Rätseln, die es zu entschlüsseln heißt (vgl. auch Kapitel 3.2.9).

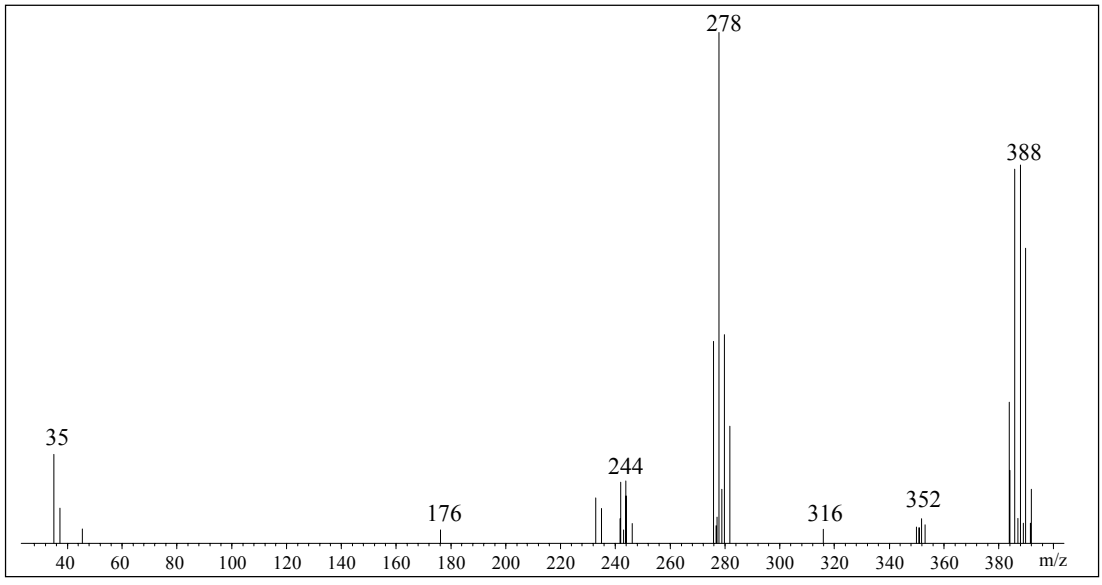


Abb. 5-84 NCI (CH_4)-Massenspektrum (Scan: m/z 30-400) der heptachlorierten Substanz Heptachloro-1´-methyl-1,2´-bipyrrole ("U3") in der N1-Fraktion der Heilbutt-Filet-Probe #2 aus dem Golf von Alaska ([Wu 2002] und vgl. [Looser 1999]). Unbekannte Substanz (m/z 278) koeluiert mit „U3".

6 Zusammenfassung

Die Entwicklung einer neuen Aufarbeitungsmethode von Bioproben zur Analyse von Organohalogenverbindungen (Polychlorierte Biphenyle, DDT, HCH, Chlordane, Toxaphene, Polybromierte Diphenylether etc.) und die Bestimmung dieser schwerflüchtigen Xenobiotika in Fischen aus dem Nord Pazifik, insbesondere aus dem Bereich der Aleuten Inselkette, stellen die beiden zentralen Punkte dieser Arbeit dar.

Dabei wurde eine neuartige Probenaufbereitung auf Basis von Lipidextraktion mit Acetonitril, Festphasenextraktion (SPE) zur Matrixabtrennung, Gruppentrennung mit Normalphasen-Flüssigkeitschromatographie mit Backflush-Technik (NP-HPLC) und anschließender Hochauflösender Kapillar-Gaschromatographie mit Elektroneneinfangdetektor (HRGC-ECD) und Massenselektivem Detektor (HRGC-MSD) entwickelt.

Für die Überprüfung der einzelnen Analysenschritte im Hinblick auf Wiederfindungsraten der Analyten und Effizienz bei der Matrixabtrennung wurden Standardreferenzmaterialien wie die zertifizierten NIST Dorschlebertrane SRM 1588 und CRM 349, das zertifizierte Makrelenöl CRM 350 und käuflich erworbene Lachsproben verwendet und analysiert. Die durchschnittlich erzielten Wiederfindungsraten für den gesamten Clean-Up liegen zwischen 65 und 100 % und damit im selben Bereich wie bisher übliche Verfahren.

Bei der Festphasenextraktion kam ein von Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland entwickeltes neuartiges Polystyrol-Divenylbenzol-Copolymer mit dem Handelsnamen LiChrolut EN zum Einsatz. Die in einem Gemisch aus Acetonitril, Wasser und konzentrieter Ameisensäure enthaltenen Analyten werden in diesem Arbeitsschritt von einem Großteil der Lipidmatrix getrennt.

Speziell die nachfolgende Gruppentrennung der Organohalogenverbindungen durch Normalphasen-Flüssigkeitschromatographie (NP-HPLC) konnte entscheidend weiter-entwickelt werden. Dazu wurden modifizierte Phasenmaterialien auf Basis von Kieselgel eingesetzt und das Fraktionierungsverhalten der Analyten untersucht. Beste Ergebnisse lieferten dabei die Aminopropyl-, eine Cyclodextrin- und eine Kronenetherphase. Die HPLC wird durch eine Mehrventiltechnik in beide Flussrichtungen betrieben. Mit dieser „Backflush-Technik“ gelang es den Lösemittelverbrauch und den Blindwerteintrag stark zu reduzieren. Eine zusätzliche Kopplung von zwei verschiedenen Säulen liefert die Möglichkeit, einzelne Verbindungsklassen selektiv zu trennen. Hierbei kamen eine Pyren- und eine Aminophenyl-methan-Phase zum Einsatz. Mit letzterer wurden aufgrund ihrer hohen Reinheit sämtliche Fischproben analysiert.

Der Gesamtblindwerteintrag und eine Feststellung der Bestimmungsgrenze des gesamten Verfahrens wurden durch die Analyse einer Schafshirnprobe (Kalifornien, USA) untersucht. Dabei ergab sich eine sehr niedrige Gesamtbelastung des Gehirnes, was durch den Effekt der Blut-Hirn-Schranke gut zu erklären ist. Bei dieser Analyse wurde jedoch ein sehr hoher Gehalt eines Brom-Dichlor-Benzols in dem Gehirn des Schafes festgestellt.

Die gesamte Probenaufarbeitung lieferte gute Ansätze für die Analyse von POPs in Fischen und wurde bei sämtlichen in dieser Arbeit untersuchten Fischproben verwendet.

Bei einer Expedition Im Sommer 1999 zu der Aleuten-Insel Adak im Nord Pazifik wurden Pazifischer Heilbutt und Pazifischer Dorsch im Bereich der West-Aleuten gefangen und Miesmuscheln gesammelt. Zusätzlich wurden Heilbutt-Filet-Proben aus dem Golf von Alaska und Sandflunder-Proben aus der Küstenregion San Franciscos, USA, erstanden und analysiert.

Dabei fiel die starke Belastung von Proben von Adak Island mit Organohalogenen auf, wo sich über die letzten 50 Jahre ein großer Militärstützpunkt befand. Speziell in Fischen, welche in unmittelbarer Nähe zu dem Hafenbereich auf der Insel gefangen wurden, konnte eine Belastung der Proben mit polychlorierten Biphenylen bis in den ppm-Bereich festgestellt werden. Auch ein aktueller Eintrag von Pestiziden wie Lindan bzw. technisches HCH, Chlordan und Toxaphen ließ sich im Bereich von Adak Island anhand der Belastungsmuster in den Proben aufzeigen.

Deutlich geringer mit Organohalogenen belastet waren dagegen die Heilbutt-Proben von den West-Aleuten und aus dem Golf von Alaska, welche ein ähnliches und eher globales Grundmuster von Organohalogenen aufzeigen. Der stärkere metabolische Abbau einzelner Verbindungen in den Leberproben wurde unter anderem mit Hilfe der Hauptkomponentenanalyse PCA bestätigt. In allen Proben konnten DDT-Komponenten in teilweise hohen Konzentrationen nachgewiesen werden, jedoch hauptsächlich der Metabolit 4,4'-DDE, was für eine länger zurückliegende Anwendung von DDT spricht. Hierbei wurden in der Sandflunder die höchsten Gehalte detektiert, was auf die langjährige landwirtschaftliche Nutzung und Anwendung von DDT in dieser Region zurückzuführen ist. Ein erhöhtes Vorkommen von DDT in den West-Aleuten, welches auf die aktuelle Anwendnug von DDT in Asien hinweist, war in den hier untersuchten Fischproben nicht zu sehen.

Bei der Analyse der HCHs konnte ein Ansteigen des prozentualen Anteils des alpha-Isomers in den Proben aus höheren Breiten und kälteren Regionen festgestellt werden. Grund für diesen Anstieg sind die geringere Stabilität und höhere Volatilität des α-HCHs im Vergleich zu den anderen Isomeren (β und γ). In den kälteren Regionen mit weniger UV-Licht-Einstrahlung kommt es demnach zu einer Anreicherung dieser Verbindung.

In den Muscheln, welche als lokale Biosampler dienen, konnten vergleichbar hohe Gehalte gefunden werden, jedoch mit zu den Fischproben sehr unterschiedlichen Belastungs- und Abbaumustern von Organohalogenen. Dafür gibt es zwei Gründe: Zum einen den Lebensraum der Muschel, welcher sich an der Wasser-Luft-Grenzschicht befindet und zum anderen den unterschiedlichen Metabolismus der Muschel. In diesen wurden sehr hohe Gehalte und eine Vielzahl von bromierten Verbindungen gefunden. Dabei ist noch unklar, inwieweit einige halogenierte Stoffe biogenen Ursprungs sind. Mit Hilfe der Gaschromatographie und negativer chemischer Ionisation (NCI) war es möglich, bromierte und chlorierte Substanzen durch die Detektion der Bromid- bzw. Chlorid-Ionen selektiv

nachzuweisen. So lies sich auch das bromierte Flammschutzmittel Bromkal 73-5PE (2,3-Dibrompropyl-(2,4,6-Tribromphenyl)-Ether: DPTE) zum erstenmal in Umweltproben indentifizieren. Diese Verbindung wurde im gesamten Bereich der Aleuten verstärkt nachgewiesen, eine direkte Quelle ist noch unbekannt.

Durch Kurzsäulen-Gaschromatographie konnten in den Leberproben einige höherhalogenierte und sehr schwer flüchtige Verbindungen chromatographisch getrennt und analysiert werden. Mit dieser chromatographischen Anordnung war es möglich, in der Sandflunder von San Francisco sogar den aufgrund seiner Größe und Bromierung als „unakkumulierbar“ geltenden Decabromdiphenylether PBDE 209 in geringen Spuren in der Leber nachzuweisen.

7 Summary

The central points of this thesis are the development of a new sample preparation technique for the analysis of organohalogen compounds such es polychlorinated Biphenyls, DDT, HCH, Chlordanes, Toxaphenes, polybrominated Diphenylethers etc. in bio-samples and the determination of low volatile xenobiotics in fish from the Northern Pacific and the Aleutian Islands, respectively. A newly inovated clean-up procedure was developed using lipid extraction with acetonitrile, solid-phase-extraction (SPE) for matrix removal, and group separation by normal-phase-high performance liquid chromatography with backflush-technique followed by high resolution capillary gas chromatography with electron capture detector (HRGC-ECD) and mass selective detector (HRGC-MSD).

Verification of each analysis step with regard to recovery rates of analytes and efficiency of matrix separation was performed by analysing cerified NIST Standard Reference Material (SRM) cod liver oil SRM 1588, the certified refernce material cod lover oil CRM 349, the certified mackerel oil CRM 350 as well as purchased salmon samples. The average recovery rates achieved for the whole clean-up ranged from 65 to 100 % and are similar to those of other methods.

For solid phase extraction a new polystyrene-divenyl-benzene-polymer LiChrolut EN from Merck KGaA, Darmstadt, Germany was used. In this step the analytes dissolved in a mixture of acetonitrile, water and concentrated formic acid were separated from the bulk lipid matrix.

The following group-separation of the organohalogens by normal phase liquid chromatography (NP-HPLC) were improved abitratively by using modified stationary phases and examining the fractionation behavior of the analytes. Best results were obtained by an aminopropyl-, a cyclodextrine- and a 18-crown-6-ether-HPLC-phase. Multi-valve technique provides changing flow-directions of the HPLC-system. Solvent-consumption and blanks were significantly decreased by this „Backflush-Technique“. An additional coupling of two different columns provided the selective seperation of different compund-groups. Best results were obtained by the pyrene- and aminophenylmethane-phase. The latter one was used for analysis of all fish samples shown in this thesis due to its purity.

Total blanks and limit of determination of the whole analysis method were tested by analysis of a sheep-brain sample (California, USA). Very low contamination levels were found in the brain sample which could be asserted by the effect of the blood-brain barrier. A high level of a bromo-dichloro-benzene was found in this sample.

The complete sample preparation was used for analysis of organohalogen POPs in fish and has been used for analyzing all fish samples in this thesis.

On an expedition trip to the Aleutian Island (Adak-Island) in the Northern Pacific in the summer of 1999, Pacific Halibut and Pacific Cod were caught in the Western Aleutians and Blue Mussels were collected for analysis. Additionally halibut filets from the Gulf of Alaska and Pacific Sand Dab liver from the coastal San Francisco region were purchased and analyzed for organohalogen contamination.

Extraordinarily high levels of organohalogens were found in Adak Island samples where an US Naval base had been located for the past 50 years. Especially fish from and near to the harbor bay of the island show total PCB contamination in the lower ppm-range. Current inputs of pesticides such as Lindane, technical HCH, Chlordane and Toxaphene could be seen by the contamination pattern in Adak samples.

Conspicuously lower levels of organohalogens were measured in halibut from the Western Aleutians and the Golf of Alaska indicating a similar and more global pattern of oragnohalogen contamination. The stronger metabolism of some compounds in liver samples could be shown by performing principal component analysis (PCA). In all samples DDT-components were found at high levels with 4,4'-DDE as the major metabolite, indicating a former DDT application and the sand dab samples with highest levels of all caused by long term utilization of this pesticide in this region. An occurrence of increased DDT levels in samples from the Western Aleutians referring to current DDT usage in Asia has not been detected.

Analysis of HCH showed an increasing percentage of the alpha-isomer in samples from higher latitudes and colder regions. Responsible for this shift are the lower stability and higher volatility of the α-HCH compared to the other isomers (β and γ) causing an accumulation of this isomer in colder regions with less UV-light.

The mussel samples used as local biosamplers showed similar high levels, however with different contamination patterns of organohalogens than in the fish samples. Some reasons for this could be seen in the different habitat of the mussels at the air-water boundary layer and the different metabolism. A high number of brominated compounds at high levels were obtained in the mussels. It is still not known how many of these substances are of biogenic origin. By gas chromatography and negative chemical ionization (NCI) brominated and chlorinated compounds were selectively determined by detecting bromine and chlorine negative ions. Thus a new brominated flame retardant, Bromkal 73-5PE, containing 2,3-dibromopropyl-(2,4,6-tribromophenyl)-ether (DPTE) is reported here for the first time as an environmental pollutant. DPTE was detected in all analyzed Aleutian samples,with the source still unkown.

Performing short-capillary-column gas chromatography, highly brominated and very low volatile compounds were separated and analyzed from liver samples. Even the Decabromodiphenyleter (PBDE 209) due to its large molecule size and bromine substitution with a very low potential of bioaccumulation was found at trace-levels in the sand dab liver from San Francisco.

8 Literaturverzeichnis

AHLBORG UG, Becking GL, Birnbaum LS, Brouwer A, Derks HJGM, Feeley M, Golor G, Hanberg A, Larsen JC, Liem DAK, Safe SH, Schlatter C, Waern F, Younes M, Yrjänheikki E ; **1994**; Toxic Equivalency Factors for Dioxin-like PCBs; *Chemosphere*; *28* 1049-1067

AKUTSU K, Obana H, Okihashi M, Kitagawa M, Nakazawa H, Matsuki Y, Makino T, Oda H, Hori S ; **2001**; GC/MS analysis of polybrominated diphenyl ethers in fish collected from the Inland Sea of Seto, Japan; *Chemosphere*; *44* 1325-1333

ALAEE M, Sergeant DB, Ikonomou MG, Luross JM ; **2001**; A gas chromatography/high-resolution mass spectrometry (GC/HRMS) method for determination of polybrominated diphenyl ethers in fish; *Chemosphere*; *44* 1489-1495

ALAEE M, Wenning RJ ; **2002**; The significance of brominated flame retardants in the environment: current understanding, issues and challenges; *Chemosphere*; *46* 579-582

ALLCHIN CR, Law RJ, Morris S ; **1999**; Polybrominated diphenylethers in sediments and biota downstream of potential sources in the UK; *Environmental Pollution*; *105* 197-207

ALLSOPP M, Santillo D, Johnston P, Stringer R ; **1999**; "The Tip of the Iceberg - State of knowledge on Persistant Organic Pollutants in Europe and the Arctic"; ISBN: 90-73361-53-2; *Greenpeace*

ALTÖLV ; **1987**; Altölverordnung (AltölV) vom 27. Oktober 1987; *BGBl I* 2335

ANDERSSON O, Blomkvist G ; **1981**; Polybrominated aromatic pollutants found in fish in Sweden; *Chemosphere*; *10* 1051-1060

ANDERSSON O, Wartanian A ; **1992**; Levels of Polychlorinated Camphenes (Toxaphene), Chlordane Compounds and Polybrominated Diphenyl Ethers in Seals from Swedish Waters; *Ambio*; *21* 550-552

ANDREWS P, Vetter W ; **1995**; A Systematic Nomenclature system for Toxaphene Congeners Part 1: Chlorinated Bornanes; *Chemosphere*; *31* 3879-3886

AONO A, Tanabe S, Fujise Y, Kato H, Tatsukawa R ; **1997**; Persitent organochlorines in mink whale (Balaenoptera acutorostrata) and their prey species from the Antartic and the North Pacific; *Environmental Pollution*; *98*(1): 81-89

AREND MW ; **1997**; *Diplomarbeit*: Entwicklung einer Aufarbeitungsmethode von Bioproben zur Rückstandsanalytik von Xenobiotika; Universität Ulm

AREND MW, Ballschmiter K ; **2000**; A new sample preparation technique for organochlorines in cod liver oil combining SPE and NP-HPLC with HRGC-ECD; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *366*(4): 324-328

AREND MW, Jarman WM, Ballschmiter K ; **2001**; Determination of Organochlorine POPs in Pacific Halibut- and Cod Liver with SPE, NP-HPLC and HRGC-ECD/MSD; *ACS, Division of Envr.Chemistry, Extended Abstracts, ACS National Meeting San Diego 2001, 41*(1): 90-94

ATLAS EL, Sullivan K, Giam CS ; **1986**; Widespread Occurrence of Polyhalogenated Aromatic Ethers in the Marine Atmosphere; *Atmospheric Environment*; *20* 1217-1220

BACCI E, Cerejeira MJ, Gaggi C, Chemello G, Calamari D, Vighi M ; **1991**; Bioconcentration of Organic Chemical Vapours in Plant Leaves: The Azalea Model; *Chemosphere*; *21* 525-537

BACON CE, Jarman WM, Estes JA, Simon M ; **1999**; Comparison of Organochlorine Contaminants Among Sea Otter (Enhydra lutris) Populations in California and Alaska; *Environmental toxicology and chemistry*; *18* 452-458

BALLSCHMITER K ; **1985**; "Ulmer Modell" – Globale Verteilung von Chemikalien; *Nachrichten aus Chemie Technik und Laboratorium*; *33* 206-208

BALLSCHMITER K ; **1988**; Polychlorbiphenyle: Chemie, Analytik und Umweltchemie 393-432

BALLSCHMITER K ; **1992**; Transport und Verbleib organischer Verbindungen im globalen Rahmen; *Angewandte Chemie*; *104* 501-528

BALLSCHMITER K ; **1996**; Persistent, Ecotoxic, and Bioaccumulative Compounds and their Possible Environmental Effects; *Pure and Applied Chemistry*; *68* 1771-1780

BALLSCHMITER K ; **1997a**; Environmental Chemistry with the Whole Globe as a Laboratory; *Science Spectra*; *11* 18-23

BALLSCHMITER K, Buchert H, Bihler S, Zell M ; **1981**; Baseline Sstudies of the Global Pollution IV. The Pattern of Pollution by Organo-Chlorine Compounds in the North Atlantic as Accumulated by Fish.; *Fresenius Z.Anal.Chem*; *306* 323-339

BALLSCHMITER K, Froescheis O, Jarman WM, Caillet G ; **1997b**; Contamination of the Deep-Sea; *Marine Pollution Bulletin*; *34* 288-289

BALLSCHMITER K, Niemczyk R, Schäfer W, Zoller W ; **1987**; Isomer-Specific Identification of Polychlorinated Benzenes (PCBz) and -Biphenyls (PCB) in Effluents of Municipal Waste Incineration; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *328* 583-587

BALLSCHMITER K, Wittlinger R ; **1991b**; Interhemisphere Exchange of Hexachlorocyclohexanes, Hexachlorobenzene, Polychlorobiphenyls, and 1,1,1-Trichloro-2,2-bis(*p*-chlorphenyl)ethane in the Lower Troposphere; *Environmental Science and Technology*; *25* 1103-1111

BALLSCHMITER K, Wittlinger R ; **1991a**; Interhemisphere Exchange of Hexachlorocyclohexanes, Hexachlorobenzene, Polychlorobiphenyls, and 1,1,1-Trichloro-2,2-bis(*p*-chlorphenyl)ethane in the Lower Troposphere; *Environmental Science and Technology*; *25* 1103-1111

BALLSCHMITER K, Zell M ; **1980a**; Analysis of Polychlorinated Biphenyls (PCB) by Glass Capillary Gas Chromatography: Composition of Technical Aroclor- and Clophen-PCB Mixtures; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *302* 20-31

BALLSCHMITER K, Zell M ; **1980b**; Analysis of Poychlorinated Biphenyls (PCB9 nby Glass Capillary Gas Chromatography; *Fresenius Z.Anal.Chem.*; *302* 20-31

BARRIE LA, Gregor D, Hargrave B, Lake R, Muir DCG, Shearer R, Tracey B, Bidleman T ; **1992**; Arctic contaminants: sources, occurence and pathways.; *The Science of the Total Environment*; *122* 1-74

BECKER M, Phillips T, Safe S ; **1991**; Polychlorinated Diphenyl Ethers – A Review; *Toxicology and Environmental Chemistry*; *33* 189-200

BESTER K, Biselli S, Ellerichmann T, Hühnerfuss H, Möller K, Rimkus B, Wolf M ; **1998**; Chlorostyrenes in Fish and Sediment Samples from the River Elbe; *Chemosphere*; *37*(9-12): 2459-2471

BIDLEMAN TF, Patton GW, Walla MD, Hargrave BT, Vass WP, Erickson P, Fowler B, Scott V, Gregor DJ ; **1989**; Toxaphene and Other Organochlorines in Arctic Ocean Fauna: Evidence for Atmospheric Delivery; *Arctic*; *42*(4): 307-313

BJERREGAARD P, Dewailly E, Ayotte P, Pars T, Ferron L, Mulvad G ; **2001**; Exposure of Inuit in Greenland to organochlorines through the marine diet; *Journal of Toxicology and Environmental Health*; *Part A*(62): 69-81

BLIEFERT C; **1994**; *Umweltchemie;* VCH: Weinheim

BOER JD, Wester PG, Evers EHG, Brinkman UAT ; **1996**; Determination of Tris(4-chlorophenyl)methanol and Tris(4-chlorophenyl)methane in Fish, Marine Mammals and Sediment; *Environmental Pollution*; *93*(1): 39-47

BRINGEZU S, Schütz H ; **2001**; "Total material requirement of the European Union"; Technical Report No. 55; *European Environmental Agency*

BRODSKY J, Ballschmiter K ; **1988**; Reversed Phase Liquid Chromatography of PCBs as a Basis for the Calculation of Water Solubility and log K_{ow} for polychlorobiphenyls; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *331* 295-301

BROWN JF, Bedard DL, Brennan MJ, Carnahan JC, Feng H, Wagner RE ; **1987**; Polychlorinated Biphenyl Dechlorination in Aquatic Sediments; *Science*; *236* 709-712

BUA; **1994**; *Beratergremium für umweltrelevante Altstoffe: Hexachlorbenzol, BUA-Stoffbericht 119;* Hirzel: Stuttgart

BUCHERT H, Bihler S, Ballschmiter K ; **1982**; Untersuchungen zur globalen Grundbelastung mit Umweltchemikalien VII: Hochauflösende Gaschromatographie persistenter Chlorkohlenwasserstoffe (CKW) und Polyaromaten (AKW) in limnischen Sedimenten unterschiedlicher Belastung; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *313* 1-20

BUCHERT H, Class T, Ballschmiter K ; **1989**; High Resolution Gas Chromatography of Technical Chlordane with Electron Capture- and Mass Selective Detection; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *333* 211-217

BUCKLEY EH ; **1982**; Accumulation of Airborne PCBs in Foliage; *Science*; *216* 520-522

BUSER HR ; **1995**; DDT, A Potential Source of Environmental Tris(4-chlorophenyl)methane and Tris(4-chlorophenyl)methanol; *Environmental Science and Technology*; *29* 2133-2139

CAMERON P, Schacht K ; **2000**; "Gefahren für die menschliche Gesundheit durch hormonell wirksame Zusätze in Kunststoffprodukten - Flammschutzmittel, Weichmacher und Organozinnverbindungen"; WWF 2000: Gefahren durch Zusätze in Kunstoffprodukten,

CAREY JH, Hart JH ; **1986**; Gas Chromatographic/Mass Spectrometric (GC/MS) Identification of the Major Components of Non-Aqueous Material from the St. Clair River; *Water Pollution Research Journal of Canada*; *21* 309-322

CARLSON GP, Smith EN, Johnson KM ; **1980**; Induction of Xenobiotic Metabolism in Rat Liver by Polychlorinated Diphenyl Ether Isomers; *Drug Chemistry and Toxicology*; *3* 293-303

CHANDURKAR PS, Matsumura F, Ikeda T ; **1978**; Identification and Toxicity of Toxicant Ac, a Toxic Component of Toxaphene; *Chemosphere*; *7*(2): 123-130

CHANG RR, Jarman WM, Hennings JA ; **1993**; Sample Cleanup by Solid-Phase Extraction for the Ultratrace Determination of Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxins and Dibenzofurans in Biological Samples; *Analytical Chemistry*; *65* 2420-2427

CHEMVERBOTSV ; **1996**; Verordnung über Verbote und Beschränkungen des Inverkehrbringens gefährlicher Stoffe, Zubereitungen und Erzeugnisse nach dem Chemikaliengesetz (Chemikalienverbotsverordnung – ChemVerbotsV) vom 19. Juli 1996; *BGBl I* 1151

CHUI YC, Hansell MM, Addison RF, Law FCP ; **1985**; Effects of Chlorinated Diphenyl Ethers on the Mixed-Function Oxidases and Ultrastructure of Rat and Trout Liver; *Toxicology and Applied Pharmacology*; *81* 287-294

CLEEMANN M, Riget F, Paulsen GB, Klungsoyr J, Dietz R ; **2000**; Organochlorines in Greenland marine fish, mussels and sediments; *The Science of the Total Environment*; *245* 87-102

COELHAN M, Parlar H ; **1996**; The Nomenclature of Chlorinated Bornanes and Camphenes Relevant to Toxaphene; *Chemosphere*; *32* 217-228

COLBORN T; Dumanoski, D.; Myers, J. P.; **1996**; *Die bedrohte Zukunft – Gefährden wird unsere Fruchtbarkeit und Überlebensfähigkeit?;* Droemer Knaur: München

COMBA ME, Norstrom RJ, Macdonald CR, Kaiser KLE ; **1993**; A Lake Ontario-Gulf of St. Lawrence Dynamic Mass Budget for Mirex; *Environmental Science and Technology*; *27* 2198-2206

CONNELL DW ; **1988**; Bioaccumulation Behavior of Persistent Organic Chemicals with Aquatic Organisms; *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*; *102* 117-154

CUSTER TW, Custer CM, Hines RK, Gutreuter S, Stromborg KL, Allen PD, Melancon MJ ; **1999**; Organochlorine Contaminants and Reproductive Success of Double-Crested Cormorants from Green Bay, Wisconsin, USA; *Environmental Toxicology and Chemistry*; *18*(6): 1209-1217

DARNERUD PO, Eriksson P, Johannesson T, Larsen PB, Viluksela M ; **2001**; Polybrominated diphenyl ethers: Occurrence, dietry exposure, and toxicology; *Environmental Health Perspectives*; *109*(Suppl. 1): 49-68

DE BOER J ; **1989**; Organochlorine Compounds and Bromodiphenylethers in Livers of Atlantic Cod (*Gadus morhua*) from the North Sea, 1977-1987; *Chemosphere*; *18* 2131-2140

DE BOER J, Cofino WP ; **2002**; First world-wide interlaboratory study on polybrominated diphenylethers (PBDEs); *Chemosphere*; *46* 625-633

DE BOER J, Wester PG, Klamer HJC, Lewis WE, Boon JP ; **1998**; Do Flame Retardants Threaten Ocean life?; *Nature*; *394* 28-29

DE BRITO APX, Ueno D, Takahashi S, Tanabe S ; **2002**; Organochlorine and butyltin residues in walleye pollock (Theragra chalcogramma) from Bering Sea, Gulf of Alaska and Japan Sea; *Chemosphere*; *46* 401-411

DE WIT CA ; **2000**; "Brominated Flame Retardants"; 5065; *Swedish Environmental Protection Agency*

DEARTH MA, Hites RA ; **1991**; Complete Anaylsis of Technical Chlordane Using Negative Ionization Mass Spectrometry; *Environmental Science and Technology*; *25* 245-254

DEISENHOFER R ; **2000**; *Dissertation*: Synthese und Charakterisierung neuer stationärer Phasen für die Normalphasen-Flüssigchromatographie; Abt. Analytische Chemie und Umweltchemie, Universität Ulm

DEKANT W and Vamvakas, S.; **1995**; *Toxikologie für Chemiker und Biologen;* Spektrum Akademischer Verlag: Heidelberg

DFG; **1988**; *Deutsche Forschungsgemeinschaft: Polychlorierte Biphenyle – Bestandsaufnahme über Analytik, Vorkommen, Kinetik und Toxikologie. Mitteilung XIII der Senatskommission zur Prüfung von Rückständen in Lebensmitteln;* VCH: Weinheim

DIETRICH G; Kalle,K; Kraus,W; Siedler,G ; *Allgemeine Meereskunde;* 3. Auflage ed.; Bornträger: Berlin, **1975**

ERIKSSON P, Jakobsson E, Frederiksson A ; **1998**; Developmental neurotoxicity of brominated flame retardants, polybrominated diphenyl ethers and tetrabromo-bis-phenol A.; *Organohalogen Compounds*; *35* 375-377

ERNST W, Weigelt V, Weber K ; **1984**; Octachlorostyrene – A Permanent Micropollutant in the North Sea; *Chemosphere*; *13* 161-168

ESTES JA, Bacon CE, Jarman WM, Norstrom RJ, Anthony RG, Miles AK ; **1997**; Organochlorines in Sea Otters and Bald Eagles from the Aleutian Archipelago; *Marine Pollution Bulletin*; *34*(6): 486-490

EU-KOMMISSION ; **2001**; "EU-Weissbuch - Strategie für eine zukünftige Chemikalienpolitik"; KOM (2001) 88; *Kommission der Europäischen Gemeinschaften*

FAIREY R, Taberski K, Lamerdin S, Johnson E, Clark RP, Downing J, Newman JW, Petreas M ; **1998**; Organochlorines and other environmental contaminants in muscle tissues of sportfish collected from San Francisco Bay; *Marine Pollution Bulletin*; *34* 1058-1071

FALANDYSZ J, Strandberg B, Rappe C ; **1999**; Tris(4-chlorophenyl)methane and Tris(4-chlorophenyl)methanol in Sediment and Food Webs from the Baltic South Coast; *Environmental Science and Technology*; *33*(4): 517-521

FAULKNER DJ, Stallard MO, Fayos J, Clardy J ; **1973**; (3*R*,4*S*,7*S*)-*trans*,*trans*-3,7-Dimethyl-1,8,8-tribromo-3,4,7-trichloro-1,5-octadiene, a Novel Monoterpene from The Sea Hare, *Aplysia californica*; *Journal of the American Chemical Society*; *95* 3413-3414

FISCHER R ; **1989**; *Dissertation*: Globales Verteilungsverhalten und biologischer Abbau schwerflüchtiger Organochlorverbindungen; Universität Ulm

FISCHER R, Krämer W, Ballschmiter K ; **1991**; Hexachlorocyclohexane Isomers as Markers in the Water Flow of the Atlantic Ocean; *Chemosphere*; *23* 889-900

FOCARDI S, Lari L, Marsili L ; **1992**; PCB Congeners, DDTs and Hexachlorobenzene in Antarctic Fish from Terra Nova Bay (Ross Sea); *Antarctic Science*; *4*(2): 151-154

FOREID S, Rundberget T, Severinsen T, Wiig O, Skaare JU ; **2000**; Determination of toxaphenes in fish and marine mammals; *Chemosphere*; *41* 521-528

FRAME GM ; **1997a**; A collaborative study of 209 PCB congeners an 6 Aroclors on 20 different HRGC columns 1. Retention and coelution database; *Fresenius J Anal.Chem.*(357): 701-713

FRAME GM ; **1997b**; A Collaborative Study of 209 PCB Congeners and 6 Aroclors on 20 Different HRGC Columns 2. Semi-Quantitative Aroclor Congener Distributions; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *357* 714-722

FRAME GM ; **1997c**; A collaborative study of 209 PCB congeners and 6 Aroclors on 20 different HRGC columns : 2. Semi-quantitative Aroclor congener distributions; *Fresenius J Anal.Chem.*(357): 714-722

FRAME GM, Cochran JW, Bowadt S ; **1996**; Complete PCB Congener Distributions for 17 Aroclor Mixtures Determined by 3 HRGC Systems Optimized for Comprehensive, Quantitative, Congener-Specific Analysis; *Journal of High Resolution Chromatography*; *19* 657-668

FRANKE C, Studinger G, Berger G, Böhling S, Bruckmann U, Cohors-Fresenborg D, Jöhncke U ; **1994**; The Assessment of Bioaccumulation; *Chemosphere*; *29* 1501-1514

FROESCHEIS O ; **1997**; *Dissertation*: Analytik und Vorkommen anthropogener schwerflüchtiger Organochlorverbindungen in marinen Organismen des
Atlantischen und des Pazifischen Ozeans; Abteilung Analytische Chemie und Umweltchemie, Universität Ulm

FROESCHEIS O, Looser R, Cailliet GM, Jarman WM, Ballschmiter K ; **2000**; The Deep-Sea as a Final Global Sink of Semivolatile Persistent Organic Pollutants? Part I: PCBs in Surface and Deep-Sea Dwelling Fish of the North and South Atlantic and the Monterey Bay Canyon (California); *Chemosphere*; *40* 651-660

FU X, Schmitz FJ, Govindan M, Abbbas SA, Hanson KM, Horton PA, Crews P, Laney M, Schatzman RC ; **1995**; Enzyme Inhibitors: New and Known Polybrominated Phenols and Diphenyl Ethers from four Indo-Pacific *Dysidea* Sponges; *Journal of Natural Products*; *58*(9): 1384-1391

FÜHRER U ; **1996**; *Dissertation*: Analytik und Vorkommen der Bromchlor-Anisole (Bromchlormethoxybenzole) in der Umwelt; Abteilung Analytische Chemie und Umweltchemie, Universität Ulm

FÜHRER U, Ballschmiter K ; **1998a**; Bromochloromethoxybenzenes in the Marine Troposphere of the Atlantic Ocean: A Group of Organohalogens with Mixed Biogenic and Anthropogenic Origin; *Environmental Science and Technology*; *32*(15): 2208-2215

FÜHRER U, Deißler A, Ballschmiter K ; **1998b**; Determination of Biogenic Halogenated Methyl-Phenyl Ethers (Halogenated Anisoles) in the Picogram m^{-3} Range in Air; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *354* 333-343

FÜHRER U, Deißler A, Schreitmüller J, Ballschmiter K ; **1997**; Analysis of Halogenated Methoxybenzenes and Hexachlorobenzene (HCB) in the Picogram m^{-3} Range in Marine Air; *Chromatographia*; *45* 414-427

FULLER RW, Cardelina JH, Kato Y, Brinen LS, Clardy J, Snader KM, Boyd MR ; **1992**; A Pentahalogenated Monoterpene from the Red Alga *Portieria hornemannii* Produces a Novel Cytotoxicity Profile against a Diverse Panel of Human Tumor Cell Lines; *Journal of Medicinal Chemistry*; *35* 3007-3011

GRIBBLE GW ; **1992**; Naturally Occuring Organohalogen Compounds – A Survey; *Journal of Natural Products*; *55* 1353-1395

GRIBBLE GW ; **1994**; The Natural Production of Chlorinated Compounds; *Environmental Science and Technology*; *28* 310A-319A

GRIEPINK B, Wells DE, Ferreira MF ; **1988**; "The Certification of the Contents (mass fraction) of Chlorobiphenyls (IUPAC Nos 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180) in Two Fish Oils, Cod Liver Oil CRM 349 – Mackerel Oil CRM 350"; EUR 11520; *BCR*

GRIMVALL E, Östman C ; **1994**; Retention characteristics of some selected halogenated environmental pollutants in silica and bonded normal-phase liquid chromatography; *Journal of Chromatography*; *A*(675): 55-64

GUITART R, Puig P, Gomez-Catalan J ; **1993**; Requirement for a Standard Nomenclature Criterium for PCBs: Computer Assisted Assignment of Correct Congener Denomination and Numbering; *Chemosphere*; *27* 1451-1459

GURUGE KS, Watanabe M, Tanaka H, Tanabe S ; **2001**; Accumulation status of persistent organochlorines in albatrosses from the North Pacific and the Southern Ocean; *Environmental Pollution*; *114* 389-398

GUSTAVSON K, Jonsson P ; **1999**; Some halogenated organic compounds in sedimants and Blue Mussel (Mytilus edulis) in Nordic Seas; *Marine Pollution Bulletin*; *38*(8): 723-736

HACKENBERG R; **2002**; Experimentelle Bestimmung des Kow-Wertes des polybromierten Diphenyletehers PBDE 47; *Personal Communication*; Abt. Analytische Chemie und Umweltchemie, Universität Ulm

HACKENBERG R, Looser R, Froescheis O, Ballschmiter K ; **2001**; *ACS, Division of Envr.Chemistry, Extended Abstracts, ACS National Meeting San Diego 2001,*

HAGLUND PS, Zook DR, Buser HR, Hu J ; **1997a**; Identification and Quantification of Polybrominated Diphenyl Ethers and Methoxy-Polybrominated Diphenyl Ethers in Baltic Biota; *Environmental Science and Technology*; *31* 3281-3287

HAGLUND PS, Zook DR, Buser HR, Hu J ; **1997b**; Identification and Quantification of Polybrominated Diphenyl Ethers and Methoxy-Polybrominated Diphenyl Ethers in Baltic Biota; *Environ.Sci.Technol.*; *31* 3281-3287

HALE RC, La Guardia MJ, Harvey E, Matt Mainor T ; **2002**; Potential role of fire retardant-treated polyurethane foam as a source of brominated diphenyl ethers to the US environment; *Chemosphere*; *46* 729-735

HALFON E, Allan RJ ; **1995**; Modelling the Fate of PCBs and Mirex in Aquatic Ecosystems Using the TOXFATE Model; *Environment International*; *21* 557-569

HALLGREN S, Sinjari T, Hakansson H, Darnerud PO ; **2001**; Effects of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) on thyroid hormone and vitamin A levels in rats and mice; *Archives of Toxicology*; *75*(4): 200-208

HALSALL CJ, Bailey R, Stern GA, Barrie LA, Fellin P, Muir DCG, Rosenberg B, Rovinsky FY, Kononov EY, Pastukhov B ; **1998a**; Multi-Year Observations of Organohalogen Pesticides in the Arctic Atmosphere; *Environmental Pollution*; *102*(1): 51-62

HALSALL CJ, Bailey R, Stern GA, Barrie LA, Fellin P, Muir DCG, Rosenberg B, Rovinsky FY, Kononov EY, Pastukhov B ; **1998b**; Multi-year observations of organohalogen pesticides in the arctic atmosphere; *Environmental Pollution*; *102* 51-62

HANDAYANI D, Edrada RA, Proksch P, Wray V, Witte L, van Soest RWM, Kunzmann A, Soedarsono ; **1997**; Four new bioactive polybrominated diphenyl ethers of the sponge Dysidea herbeacea from West Sumatra, Indonesia; *Journal of Natural Products*; *60* 1313-1316

HARGRAVE B, Harding GC, Vass WP, Eriksson P, Fowler BR, Scott V ; **1992**; Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in the Arctic Ocean food web; *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*; *22* 41-54

HARNER T ; **1997**; Organochlorine contamination of the Canadian Arctic, and speculation on future trends; *International Journal of Environment and Pollution*; *8*(1/2): 51-73

HARTUNG J ; **1999**; Die Biosythese von Barbamid – ein Radikalweg zur "Biohalogenierung"?; *Angewandte Chemie*; *111*(9): 1287-1289

HAYTEAS DL, Duffield DA ; **2000**; High Levels of PCB and p,p'-DDE found in the Blubber of Killer Whales (Orcinus orca); *Marine Pollution Bulletin*; *40*(6): 558-561

HEBERT CE, Gamberg M, Elkin BT, Simon M, Norstrom RJ ; **1996**; Polychlorinated Dibenzodioxins, Dibenzofurans and Non-*ortho* Substituted Polychlorinated Biphenyls in Caribou (*Rangifer tarandus*) from the Canadian Arctic; *The Science of the Total Environment*; *183* 195-204

HIGA T, Sakemi S ; **1983**; Environmental Studies on Natural Halogen Compounds. I. Estimation of Biomass of the Acorn Worm *Ptychlodera flava Eschscholtz* (Hemichordata: *Enteropneusta*) and Extration Rates of Metabolites at Kattore Bay, Kohama Island, Okinawa; *Journal of Chemical Ecology*; *9* 495-502

HIRAI Y, Tomokuni K ; **1993**; Relationship Between Termicide Treatment and Human Pollution by Chlordane, Oxychlordane, and Nonachlor; *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*; *51* 814-819

HUBER S, Ballschmiter K ; **2001a**; Characterisation of five technical mixtures of brominated flame retardants; *Fresenius J Anal Chem*; *371* 882-890

HUBER Sund Ballschmiter K ; **2001b**; Identification of 6 technical mixtures of brominated flame retardants - Bromcal 54-4BA, 64-3AE, 73-6CD, 79-8DE, 86-6B and 81-5T; ACS, Division of Envr.Chemistry, Extended Abstracts, ACS National Meeting San Diego 2001, 41[1]: 169-173

HUTZINGER O; Safe, S.; Zitko, V.; **1974**; *The Chemistry of PCBs;* CRC Press: Cleveland

IKONOMOU MG, Rayne S, Fischer M, Fernandez MP, Cretney W ; **2002**; Occurrence and congener profiles of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in environmental samples from coastel British Columbia, Canada; *Chemosphere*; *46* 649-663

ISNARD P, Lambert S ; **1989**; Aqueous Solubility and n-Octanol/Water Partition Coefficient Correlations; *Chemosphere*; *18* 1837-1853

IWATA H, Tanabe S, Sakai S, Tatsukawa R ; **1993**; Distribution of persistant organochlorines in the oceanic air and surface seawater and the role of ocean on their global transport and fate; *Environ.Sci.Technol.*; *27* 1080-1098

JANSSON B, Andersson R, Asplund L, Litzen K, Nylund K, Sellström U, Uvemo UB, Wahlberg C, Wideqvist U, Odsjö T, Olsson M ; **1993**; Chlorinated and brominated persitant organic compounds in biological samples from the environment; *Environmental toxicology and chemistry*; *12* 1163-1174

JANSSON B, Asplund L, Olsson M ; **1987**; Brominated Flame Retardants – Ubiquitous Environmental Pollutants?; *Chemosphere*; *16* 2343-2349

JANSSON B, Vaz R, Blomkvist G, Jensen S, Olsson M ; **1979**; Chlorinated Terpenes and Chlordane Components found in Fish, Guillemot and Seal from Swedish Waters; *Chemosphere*; *4* 181-190

JANTUNEN LM, Bidleman T ; **1995**; Reversal of the air-water gas exchange direction of hexachlorocyclohexanes in the Bering and Chukchi seas- 1993 versus 1988; *Environ.Sci.Technol.*; *29* 1081-1089

JARMAN WM, Burns SA, Bacon CE, Rechtin J, Benedetti Sd, Linthicum JL, Walton BJ ; **1996a**; High Levels of HCB and DDE Associated with Reproductive Failure in Prairie Falcons (*Falco mexicanus*) from California; *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*; *57* 8-15

JARMAN WM, Johnson GW, Bacon CE, Davis JA, Risebrough RW, Ramer R ; **1997**; Levels and pattern of polychlorinated biphenyls in water collected from the San Francisco Bay and Estuary, 1993-95; 359: 254-260

JARMAN WM, Norstrom RJ, Muir DCG, Rosenberg B, Simon M, Baird RW ; **1996b**; Levels of organochlorine compounds, including PCDDs and PCDFs, in the blubber of Cetaceans from the West Coast of North America.; 32[5]: 426-436

JARMAN WM, Norstrom RJ, Simon M, Burns SA, Bacon CA, Simoneit BRT ; **1993**; Organochlorines, Including Chlordane Compounds and their Metabolites in Peregrine-Falcon, Prairie-Falcon, and Clapper-Rail Eggs from the USA; *Environmental Pollution*; *81* 127-136

JARMAN WM, Simon M, Norstrom RJ, Burns SA, Bacon CA, Simoneit BRT, Risebrough RW ; **1992**; Global Distribution of Tris(4-chlorophenyl)methanol in High Trophic Level Birds and Mammals; *Environmental Science and Technology*; *26* 1770-1774

JENSEN S ; **1966**; Report of a New Chemical Hazard; *New Scientist*; *15* 612

JONG ED, Field JA, Spinnler HE, Wijnberg JBPA, Bont JAMd ; **1994**; Significant Biogenesis of Chlorinated Aromatics by Fungi in Natural Environments; *Applied and Environmental Microbiology*; *60*(1): 264-270

KAMINSKY R, Kaiser KLE, Hites RA ; **1983**; Fate of Organic Compounds from Niagara Falls Dumpsites in Lake Ontario; *Journal of Great Lakes Research*; *9* 183-189

KANNAN K, Maruya KA, Tanabe S ; **1997**; Distribution and Characterization of Polychlorinated Biphenyl Congeners in Soil and Sediments from a Superfund Site Contaminated with Aroclor 1268; *Environmental Science and Technology*; *31* 1483-1488

KANNAN K, Nakata H, Stafford R, Masson GR, Tanabe S, Giesy JP ; **1998**; Bioaccumulation and Toxic Potential of Extremely Hydrophobic Polychlorinated Biphenyl Congeners in Biota Collected at a Superfund Site Contaminated with Aroclor 1268; *Environmental Science and Technology*; *32*(9): 1214-1221

KANNAN K, Tanabe S, Tatsukawa R ; **1995**; Geographical distribution and accumulation features of organochlorine residues in fish in tropical Asia and Oceania; *Environ.Sci.Technol.*; *29* 2673-2683

KAWANO M, Inoue T, Wada T, Hidaka H, Tatsukawa R ; **1988**; Bioconcentration and Residue Patterns of Chlordane Compounds in Marine Animals: Invertebrates, Fish, Mammals, and Seabirds; *Environmental Science and Technology*; *22* 792-797

KILBURN KH, Thornton JC ; **1995**; Protracted Neurotoxicity from Chlordane Sprayed to Kill Termites; *Environmental Health Perspectives*; *103* 690-694

KIMMEL L, Angerhöfer D, Gill U, Coelhan M, Parlar H ; **1998**; HRGC-ECD and HRGC-ECNI-SIM-HRMS Quantification of Toxaphene Residues by Six Environmentally Relevant Chlorobornanes as Standard; *Chemosphere*; *37*(3): 549-558

KLEIVANE L, Severinsen T, Skaare JU ; **2000**; Biological transport and mammal to mammal transfer of organochlorines in Arctic fauna; *Marine Environmental Research*; *49* 343-357

KOCH R, Wagner BO ; **1991**; Chlorierte Paraffine; *2* 160-163

KOISTINEN J, Koivusaari J, Nuuja I, Paasivirta J ; **1993a**; Levels of Polychlorinated Diphenyl Ehters, PCBs, PCDDs and PCDFs in the Baltic White-Tailed Sea Eagle; *Organohalogen Compounds*; *1* 329-332

KOISTINEN J, Mussalo-Rauhamaa H, Paasivirta J ; **1995**; Polychlorinated Diphenyl Ethers, Dibenzo-*p*-dioxins and Dibenzofurans in Finnish Human Tissues Compared to Environmental Samples; *Chemosphere*; *31* 4259-4271

KOISTINEN J, Vuorinen PJ, Paasivirta J ; **1993b**; Contents and Origin of Polychlorinated Diphenyl Ethers (PCDE) in Salmon from the Baltic Sea, Lake Saimaa and the Tenojoki River in Finland; *Chemosphere*; *27* 2365-2380

KRÄMER W, Buchert H, Reuter U, Biscoito M, Maul DG, Le Grand G, Ballschmiter K ; **1984**; Global Baseline Studies IX: C_6-C_{14} Organochlorine Compounds in Surface Waters and Deep-Sea Fish from the Eastern North Atlantic; *Chemosphere*; *13* 1255-1267

KROCK B, Vetter W, Luckas B, Scherer G ; **1996**; Structure Elucidation of a main Heptachloro Congener of Toxaphene in Marine Organisms after Isolation from Melipax; *Chemosphere*; *33* 1005-1019

KRUSE R, Krüger KE ; **1989**; Kongenere polychlorierte Biphenyle (PCBs) und chlorierte Kohlenwasserstoffe (CKWs) in Fischen, Krusten-, Schalen- und Weichtieren und daraus hergestellten Erzeugnissen aus Nordatlantik, Nordsee, Ostsee und deutschen Binnengewässern; *Archiv für Lebensmittelhygiene*; *40* 99-104

KUCH H ; **2001**; *Dissertation*: Bestimmung von Estrogenen und endokrin aktiven Phenolen aus wässrigen Matrices im 0.1 - 100 Nanogramm/Liter Bereich; Abt. Analyticshe Chemie und Umweltchemie, Universität Ulm

KUEHL DW, Johnson KL, Butterworth B, Leonard EN, Veith GD ; **1983**; Quantification of Octachlorostyrene and Related Compounds in Great Lakes Fish by Gas Chromatography-Mass Spectrometry; *Journal of Great Lakes Research*; *7* 330-335

KURZ J ; **1991**; *Diplomarbeit*: Zweidimensionale Umkehrphasen-Chromatographie (RP-HPLC) der polychlorierten Biphenyle (PCB); Abt. Analytische Chemie und Umweltchemie, Universität Ulm

KURZ J ; **1994a**; *Dissertation*: Chemie und Analytik der polychlorierten Diphenylether (PCDE); Universität Ulm

KURZ J ; **1994b**; *Dissertation*: Chemie und Analytik der polychlorierten Diphenylether (PCDE).; Abteilung Analytische Chemie und Umweltchemie, Universität Ulm

KURZ J, Ballschmiter K ; **1995a**; Analysis of Polychlorinated Diphenyl Ethers (PCDE) in Environmental Samples; *Organohalogen Compounds*; *24* 485-488

KURZ J, Ballschmiter K ; **1995b**; Isomer-specific Determination of 79 Polychlorinated Diphenyl Ethers (PCDE) in Cod Liver Oils, Chlorophenols and in a Fly Ash; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *351* 98-109

LEE JS, Tanabe S, Takemoto N, Kubodera T ; **1997**; Organochlorine Residues in Deep-Sea Organisms from Suruga Bay, Japan; *Marine Pollution Bulletin*; *34* 250-258

LI YF, Cai DJ, Singh A ; **1998**; Technical Hexachlorocyclohexane Use Trends in China and Their Impact on the Environment; *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*; *35* 688-697

LIEBERG-CLARK P, Bacon CE, Burns SA, Jarman WM, Le Boeuf BJ ; **1995**; DDT in California Sea-Lions: A Follow-Up study after twenty years.; 30[11]: 744-745

LINDSTRÖM G, Wingfors H, Dam M, Bavel Bv ; **1999**; Identification of 19 Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in Long-Finned Pilot Whale (*Globicephala melas*) from the Atlantic; *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*; *36* 355-363

LOHSE J ; **1988**; Ocean Incineration of Toxic Wastes: A Footprint in North Sea Sediments; *Marine Pollution Bulletin*; *19* 366-371

LOOSER R ; **1999**; *Dissertation*: Akkumulation und Metabolismus halogenierter Xenobiotika in Fischenals Indikatoren einer globalen Belastung; Abteilung Analytische Chemie und Umweltchemie, Universität Ulm

LOOSER R, Froescheis O, Cailliet GM, Jarman WM, Ballschmiter K ; **2000**; The Deep-Sea as a Final Global Sink of Semivolatile Persistent Organic Pollutants? Part II: Organochlorine Pesticides in Surface and Deep-Sea Dwelling Fish of the North and South Atlantic and the Monterey Bay Canyon (California); *Chemosphere*; *40*(6): 661-670

LUNDE G, Ofstad EB ; **1976**; Determination of Fat-Soluble Chlorinated Compounds in Fish; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *282* 395-399

MACKAY D ; **1979**; Finding Fugacity Feasible; *Environmental Science and Technology*; *13* 1218-1223

MACKAY D; **1991a**; *Multimedia Environmental Models: The Fugacity Approach;* Lewis Publishers: Chelsea, MI, USA

MACKAY D, Diamond M ; **1989**; Application of QWASI (Quantitative Water Air Sediment Interaction) Fugacity Model to the Dynamics of Organic and Inorganic Chemicals in Lakes; *Chemosphere*; *18* 1343-1365

MACKAY D, Paterson G ; **1991b**; Evalutating the Multimedia Fate of Organic Chemicals: A Level III Fugacity Model; *Environmental Science and Technology*; *25* 427-436

MACKAY D, Paterson G, Schroeder WH ; **1986**; Model Describing the Rates of Transfer Processes of Organic Chemicals Between Atmosphere and Water; *Environmental Science and Technology*; *20* 810-816

MACKAY D, Paterson S, Cheung B, Neely EB ; **1985**; Evaluating the Environmental Behavior of Chemicals with a Level III Fugacity Model; *Chemosphere*; *14* 335-374

MACKAY D; Shiu, W. Y.; Ma, K. C.; **1992**; *Illustrated Handbook of Physical-Chemical Properties and Environmental Fate for Organic Chemicals;* Lewis Publishers: Chelsea, MI, USA

MAKINO M ; **1998**; Prediction of n-Octanol/Water Partition Coefficients of Polychlorinated Biphenyls by Use of Computer Calculated Molecular Properties; *Chemosphere*; *37*(1): 13-26

MARCINEK J; Rosenkranz,E; Saratka,J ; *Das Wasser der Erde. Eine geographische Meeres- und Gewässerkunde;* 1 ed.; Perthes Verlag: Gotha, **1996**

MARQUARDT H and Schäfer, S. G.; **1997**; *Lehrbuch der Toxikologie;* Spektrum Akademischer Verlag: Heidelberg

MCDONALD TA ; **2002**; A perspective on the potential health risks of PBDEs; *Chemosphere*; *46* 745-755

MCFARLAND VA, Clarke JU ; **1989**; Environmental Occurrence, Abundance and Potential Toxicity of Polychlorinated Biphenyl Congeners: Considerations for a Congener-Specific Analysis; *Environmental Health Perspectives*; *81* 225-239

METCALFE CD, Metcalfe TL, Cormier JA, Huestis SY, Niimi AJ ; **1997**; Early Life-Stage Mortalities of Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) Exposed to Polychlorinated Diphenyl Ethers; *Environmental Toxicology and Chemistry*; *16*(8): 1749-1754

MITTERMAIER M ; **2001**; *Dissertation*: Spurenanalyse mittelflüchtiger Xenobiotika in der freien Atmosphäre; Abt. Analytische Chemie und Umweltchemie, Universität Ulm

MOESSNER S ; **1995**; *Dissertation*: Isomeren- und enantiomerenspezifische Bestimmung von schwerflüchtigen Organo-chlorverbindungen in Meeressäugetieren: Transformation - Transport - Verbleib; Abteilung Analytische Chemie und Umweltchemie, Universität Ulm

MOESSNER S, Ballschmiter K ; **1997**; Marine mammals as global pollution indicators for organochlorines.; *Chemosphere*; *34*(5-7): 1285-1296

MOESSNER S, Spraker TR, Becker PR, Ballschmiter K ; **1992**; Ratios of enantiomers of alpha-HCH and determination of alpha-, beta-, and gamma-HCH isomers in brain and other tissues of neonatal Northern Fur Seals (Callorhinus Ursinus); *Chemosphere*; *24*(9): 1171-1180

MÖSSNER S ; **1995**; *Dissertation*: Isomeren- und enantiomerenspezifische Bestimmung von schwerflüchtigen Organochlorverbindungen in Meeressäugetieren: Transformation, Transport, Verbleib; Universität Ulm

MÖSSNER S, Barudio I, Spraker TS, Antonelis G, Early G, Geraci JR, Becker PR, Ballschmiter K ; **1994**; Determination of HCHs, PCBs, and DDTs in Brain Tissues of Marine Mammals of Different Age; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *349* 708-716

MUDAMBI AR, Hassett JP, McDowell WH, Scrudato RJ ; **1992**; Mirex-Photomirex Relationships in Lake Ontario; *Journal of Great Lakes Research*; *18* 405-414

MUIR DCG, Braune B, DeMarch B, Norstrom RJ, Wagemann R, Lockhart L, Hargrave B, Bright D, Addison R, Payne J, Reimer K ; **1999**; Saptial and temporal trends and effects of contaminants in the Canadian Arctic marine ecosystem: a review; *The Science of the Total Environment*; *230* 83-144

MUIR DCG, Ford CA, Rosenberg B, Norstrom RJ, Simon M, Beland P ; **1996a**; Persistent Organochlorines in Beluga Whale (*Delphinapterus leucas*) from the St. Lawrence River Estuary. 1. Concentrations and Patterns of Specific PCBs, Chlorinated Pesticides, and Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxins and Dibenzofurans; *Environmental Pollution*; *93* 219-234

MUIR DCG, Jones PD, Karlsson H, Koczansky K, Stern GA, Kannan K, Ludwig JP, Reid H, Robertson CJR, Giesy JP ; **2002**; Toxaphene and Other Persistent Organochlorine Pesticides in Three Species of Albatrosses from the North and South Pacific Ocean; *Environmental toxicology and chemistry*; *21*(2): 413-423

MUIR DCG, Koczanski K, Rosenberg B, Beland P ; **1996b**; Persistent Organochlorines in Beluga Whale (*Delphinapterus leucas*) from the St. Lawrence River Estuary. 2. Temporal Trends, 1982-1994; *Environmental Pollution*; *93* 235-245

MUIR DCG, Norstrom RJ ; **2000**; Geographical differences and time trends of persistent organic pollutants; *Toxicology Letters*; *112-113* 93-101

MUIR DCG, Norstrom RJ, Simon M ; **1988b**; Organochlorine Contaminants in Arctic Marine Food Chains: Accumulation of Specific Polychlorinated Biphenyls and Chlordane-Related Compounds; *Environ.Sci.Technol.*; *22* 1071-1079

MUIR DCG, Norstrom RJ, Simon M ; **1988a**; Organochlorine Contaminants in Arctic Marine Food Chains: Accumulation of Specific Polychlorinated Biphenyls and Chlordane-Related Compounds; *Environmental Science and Technology*; *22* 1071-1079

NIIMI AJ, Metcalfe CD, Huestis SY ; **1994**; Chlorinated Diphenyl Ethers in Great Lakes Fish and their Environmental Implication; *Environmental Toxicology and Chemistry*; *13* 1133-1138

NILSSON CA, Renberg L ; **1974**; Further Studies on Impurities in Chlorophenols; *Journal of Chromatography*; *89* 325-333

NIST ; **1989**; "Certificate of Analysis for Standard Reference Material 1588, Organics in Cod Liver Oil"; *National Institute of Standards and Technology, USA*

NORSTROM RJ, Belikov SE, Born EW, Garner GW, Malone B, Olpinski S, Ramsay MA, Schliebe S, Stirling I, Stishov MS, Taylor MK, Wiig O ; **1998b**; Chlorinated Hycrocarbon Contaminants in Polar Bears from Eastern Russia, North America, Greenland, and Svalbard: Biomonitoring of Arctic Pollution; *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*; *35* 354-367

NORSTROM RJ, Belikov SE, Born EW, Garner GW, Malone B, Olpinski S, Ramsay MA, Schliebe S, Stirling I, Stishov MS, Taylor MK, Wiig O ; **1998a**; Chlorinated Hycrocarbon Contaminants in Polar Bears from Eastern Russia, North America, Greenland, and Svalbard: Biomonitoring of Arctic Pollution; *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*; *35* 354-367

NORSTROM RJ, Muir DCG ; **1994**; Chlorinated hydrocarbon contaminants in arctic marine mammals; *The Science of the Total Environment*; *154* 107-128

NORSTROM RJ, Simon M, Muir DCG, Schweinsburg RE ; **1988**; Organochlorine Contaminants in Arctic Marine Food Chains: Identification, Geographical Distribution and Temporal Trends in Polar Bears; *Environmental Science and Technology*; *22* 1063-1071

O'HARA TM, Krahn MM, Boyd D, Becker PR, Philo LM ; **1999**; Organochlorine contaminant lveles in Eskimo harvested Bowhead whales of Arctic Alaska; *Journal of Wildlife Diseases*; *35*(4): 741-752

OEHME M; **1996**; *Praktische Einführung in die GC/MS-Analytik mit Quadrupolen;* Hüthig: Heidelberg

OFJORD GD, Puhakka JA, Ferguson F ; **1994**; Reductive Dechlorination of Aroclor 1254 by Marine Sediment Cultures; *Environmental Science and Technology*; *28* 2286-2294

OLIVEIRA-FILHO EC, Paumgartten FJR ; **1997**; Comparative Study of the Acute Toxicities of α, β, γ, and δ Isomers of Hexachlorocyclohexane to Freshwater Fishes; *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*; *59* 984-988

OPPERHUIZEN A, Voors PI ; **1987**; Uptake and Elimination of Polychlorinated Aromatic Ethers by Fish: Chloroanisoles; *Chemosphere*; *16*(5): 953-962

ÖRN U, Eriksson L, Jakobsson E, Bergman Å ; **1996**; Synthesis and Characterization of Polybrominated Diphenyl Ethers – Unlabelled and Radiolabelled Tetra-, Penta- and Hexa-bromdiphenyl Ethers; *Acta Chemica Scandinavia*; *50* 802-807

OXYNOS K, Schramm KW, Marth P, Schmitzer J, Kettrup A ; **1995**; Chlorinated Hydrocarbons- (CHC) and PCDD/F-Levels in Sediment and Breams (*Abramis brama*) from the River Elbe (Contribution to the German Environmental Specimen Banking); *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *353* 98-100

PAASIVIRTA J, Rantio T ; **1991**; Chloroterpenes and Other Organochlorines in Baltic, Finnish and Arctic Wildlife; *Chemosphere*; *22* 47-55

PAASIVIRTA J, Tarhanen J, Soikkeli J ; **1986**; Occurrence and Fate of Polychlorinated Aromatic Ethers (PCDE, PCA, PCV, PCPA and PCBA) in the Environment; *Chemosphere*; *15* 1429-1433

PARLAR H, Angerhöfer D, Coelhan M, Kimmel L ; **1995**; HRGC and HRGC-ECNI Determination of Toxaphene Residues in Fish with a New 22 Components Standard; *Organohalogen Compounds*; *26* 357-362

PERKOW W; **1974**; *Wirksubstanzen der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel;* Parey: Berlin

PFEIFER O ; **2002**; *Dissertation*: Spurenanalyse halogenierter Phenylmethylether (Anisole) in der aquatischen Umwelt; Abt. Analytische Chemie und Umweltchemie, Universität Ulm

PFIRMAN SL, Eicken H, Bauch D, Weeks WF ; **1995**; The potential transport of pollutants by Arctic sea ice; *The Science of the Total Environment*; *159* 129-146

PIJNENBURG AMCM, Everts JW, Boer Jd, Boon JP ; **1995**; Polybrominated Biphenyl and Diphenylether Flame Retardants: Analysis, Toxicity and Environmental Occurrence; *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*; *141* 1-26

QUENSEN JF, Mousa MA, Boyd SA, Sanderson JT, Froese KL, Giesy JP ; **1998**; Reduction of Aryl Hydrocarbon Receptor-Mediated Activity of Polychlorinated Biphenyl Mixtures Due to Anaerobic Microbial Dechlorination; *Environmental Toxicology and Chemistry*; *17*(5): 806-813

REESE SL ; **1998**: Levels of organochlorine contamination in Blue Mussels, Mytilus Trossulus, from the Aleutian Archipelago.; University of California Santa Cruz

RENNER MK, Jensen PR, Fenical W ; **1998**; Neomagnicols: Structures and Absolute Stereochemistries of Unprecedented Halogenated Sesterpenes from a Marine Fungus of the Genus *Fusarium*; *Journal of Organic Chemistry*; *63*(23): 8346-8354

RENNER R ; **2000**; Increasing levels of flame retardants found in North American environment; *Environ.Sci.Technol.*; *34*(21): 452-453

ROOS AH, Kienhuis PGM, Traag WA, Tuinstra LGM ; **1989**; Problems Encountered in the Determination of 2,3,4-2',4',5'-Hexachlorobiphenyl (CB 138) in Environmental Samples; *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*; *36* 155-161

ROSS PS, Ellis GM, Ikonomou MG, Barret-Lennard LG, Addison RF ; **2000**; High PCB concentrations in Free Ranging pacific Killer Whales , Orcinus Orca: Effects of Age, Sex and Dietry Preference; *Marine Pollution Bulletin*; *40*(6): 504-515

RUELLE P, Kesserling UW ; **1997**; Aqueous Solubility Prediction of Environmentally Important Chemicals from the Mobile Order Thermodynamics; *Chemosphere*; *34* 275-298

SAFE S ; **1993**; Toxicology, Structure Function Relationship, and Human and Environmental Health Impacts of Polychlorinated Biphenyls – Progress and Problems; *Environmental Health Perspectives*; *100* 259-268

SAFE SH ; **1990**; Polychlorinated Biphenlys, Dibenzo-*p*-dioxins, and Dibenzofurans and Related Compounds: Environmental and Mechanistic Considerations which Support the Development of Toxic Equivalency Factors; *Critical Reviews in Toxicology*; *21* 51-71

SAFE SH ; **1994**; Polychlorinated Biphenyls: Environmental Impact, Biochemical and Toxic Responses, and Implications for Risk Assessment; *Critical Reviews in Toxicology*; *24* 87-149

SALEH MA ; **1991**; Toxaphene: Chemistry, Biochemistry, Toxicity and Environmental Fate; *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*; *118* 1-85

SAUVAIN JJ, Alencastro LFd, Tarradellas J, Camenzind R, Karlaganis G, Vuilleumier C ; **1994**; Comparison of Four Quantification Methods for the Determination of PCB in Transformer Oils; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *350* 555-562

SCHANTZ MM, Parris RM, Kurz J, Ballschmiter K, Wise SA ; **1993a**; Comparison of methods for the gas-chromatographic determination of PCB congeneres and chlorinated pesticides in marine reference materials; *Fresenius J.Anal.Chem.*; *346* 766-778

SCHANTZ MM, Parris RM, Kurz J, Ballschmiter K, Wise SA ; **1993b**; Comparison of Methods for the Gas-Chromatographic Determination of PCB Congeners and Chlorinated Pesticides in Marine Reference Materials; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *346* 766-778

SCHREITMUELLER J ; **1993**; *Dissertation*: Verteilung schwerflüchtiger Organohalogenverbindungen in der Troposphäre und Hydrosphäre des Atlantischen Ozeans; Abteilung Analytische Chemie und Umweltchemie, Universität Ulm

SCHREITMÜLLER J, Ballschmiter K ; **1994a**; The Equilibrium Distribution of Semivolatile Organochloro Compounds Between Atmosphere and Surface Water in the Atlantic Ocean; *Angewandte Chemie, International Edition*; *33* 646-649

SCHREITMÜLLER J, Ballschmiter K ; **1995**; Air-Water Equilibrium of Hexachlorocyclohexanes and Chloromethoxybenzenes in the North and South Atlantic; *Environmental Science and Technology*; *28* 207-215

SCHREITMÜLLER J, Vigneron M, Bacher R, Ballschmiter K ; **1994c**; Pattern Analysis of Polychlorinated Biphenyls (PCB) in Marine Air of the Atlantic Ocean; *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*; *57* 33-52

SCHREITMÜLLER J, Vigneron M, Bacher R, Ballschmiter K ; **1994b**; Pattern Analysis of Polychlorinated Biphenyls (PCB) in Marine Air of the Atlantic Ocean; *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*; *57* 33-52

SCHROETER-KERMANI C, Helm D, Herrmann T, Paepke O ; **2000**; The German environmental specimen bank - application in trend monitoring of polybrominated diphenyl ethers in human blood; *Organohalogen Compounds*; *47* 49-52

SCHULTE E, Malisch R ; **1983**; Berechnung der wahren PCB-Gehalte in Umweltproben; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *314* 545-551

SCHULZ DE, Petrick G, Duinker JC ; **1989**; Complete Characterization of Polychlorinated Biphenyl Congeners in comercial Aroclor and Clophen mixtures by Multidimensional Gas Chromatography-Electron Capture Detection.; *Environmental Science and Technology*; *23* 852-859

SCHWARZENBACH RP; Gschwend, P. M.; Imboden, D. M.; **1993a**; *Environmental Organic Chemistry;* Wiley: New York

SCHWARZENBACH RP; Gschwend, P. M.; Imboden, D. M.; **1993b**; *Environmental Organic Chemistry;* Wiley: New York

SEAGARS DJ, Garlich-Miller J ; **2001**; Organochlorine compounds and Aliphatic Hydrocarbons in Pacific Walrus Blubber; *Marine Pollution Bulletin*; *43*(1-6): 122-131

SEGURA-AGUILAR J, Castro V, Bergmann A ; **1997**; Effects of four organohalogen environmental contaminants on cytochrom P450 forms that catalyze 4- and 2- hydroxylation of estradiol in rat liver; *Mol.Med.*; *60*(2): 149-154

SELLSTRÖM U, Kierkegaard A, Wit Cd, Jansson B ; **1998**; Polybrominated Diphenyl Ethers and Hexabromocyclododecane in Sediment and Fish from a Swedish River; *Environmental toxicology and chemistry*; *17*(6): 1065-1072

SERGEANT DB, Munawar M, Hodson PV, Bennie DT, Huestis SY ; **1993**; Mirex in the North American Great Lakes: New Detection and Their Confirmation; *Journal of Great Lakes Research*; *19* 145-157

SHE J, Petreas M, Winkler J, Visita P, McKinney M, Kopec D ; **2002**; PBDEs in the San Francisco Bay Area: measurement in harbor seal blubber and human breast adipose tissue; *Chemosphere*; *46* 697-707

SHMV ; **1988**; Verornung über Höchstmengen an Schadstoffen in Lebensmitteln (Schadstoff-Höchstmengenverordnung – SHmV) vom 23. März 1988; *BGBl I* 422

SIJM DTHM, Sinnige TL ; **1995**; Experimental Octanol/Water Partition Coefficients of Chlorinated Paraffins; *Chemosphere*; *31* 4427-4435

SIMONICH SL, Hites RA ; **1995**; Organic Pollutant Accumulation in Vegetation; *Environmental Science and Technology*; *29* 2905-2914

SIMPSON CD, Wilcock RJ, Smith TJ, Wilkins AL, Langdon AG ; **1995**; Determination of Octanol-Water Partition Coefficients for the Major Components of Technical Chlordane; *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*; *55* 149-153

SJÖDIN A, Bergman Å, Jakobsson E, Kierkegaard A, Marsh G, Sellström U ; **1997**; Identification and Quantification of Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in the Commercial Product Bromkal 70-5 DE; *Organohalogen Compounds*; *32* 388-393

SJÖDIN A, Jakobsson E, Kierkegaard A, Marsh G, Sellström U ; **1998**; Gas Chromatographic Identification and Quantification of Polybrominated Diphenyl Ethers in a Commercial Product, Bromkal 70-5DE; *Journal of Chromatography A*; *822* 83-89

SOTO AM, Chung KL, Sonnenschein C ; **1994**; The Pesticides Endosulfan, Toxaphene, and Dieldrin Have Estrogenic Effects on Human Estrogen-Sensitive Cells; *Environmental Health Perspectives*; *102* 380-383

SOTO AM, Sonnenschein C, Chung KL ; **1995**; The E-SCREEN Assay as a Tool to Identify Estrogens: An Update on Estrogenic Environmental Pollutants; *Environmental Health Perspectives*; *103 (Suppl. 7)* 113-122

SOVOCOOL GW, Lewis RG, Harless RL, Wilson NK, Zehr RD ; **1977**; Analysis of Technical Chlordane by Gas Chromatography/Mass Spectrometry; *Analytical Chemistry*; *49* 734-740

STAFFORD CJ ; **1983**; Halogenated Diphenyl Ethers identified in Avian Tissues and Egg by GC/MS; *Chemosphere*; *12* 1487-1495

STANLEY JS, Cramer PH, Ayling RE, Thornburg KR, Remmers JC, Breen JJ, Schwemberger J ; **1990**; Determination of the Prevalence of Polychlorinated Diphenyl Ethers (PCDPEs) in Human Adipose Tissues; *Chemosphere*; *20* 981-985

STANSLEY W, Roscoe DE ; **1999**; Chlordane Poisoning of Birds in New Jersey, USA; *Environmental Toxicology and Chemistry*; *18*(9): 2095-2099

STAPLETON HM, Skubinna J, Baker JE ; **2002**; Seasonal dynamics of PCB and toxaphene bioaccumulation within a Lake Michigan food web; *Journal of Great Lakes Research*; *28*(1): 52-64

STEIN JE, Hom T, Collier TK, Brown DW ; **1995**; Contaminant Exposure and Biochemical Effects in Outmigrant Juvenile Chinook Salmon From Urban and Nonurban Estuaries of Puget Sound, Washington; *Environmental toxicology and chemistry*; *14*(6): 1019

STEINWANDTER H, Zimmer L ; **1983**; Research in Environmental Pollution I. Determination of Polychlorinated Styrenes (PCS's) in Rhine Fish; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *316* 705-710

STEPHENSON MD, Martin M, Tjeerdema RS ; **1995**; Long-Term Trends in DDT, Polychlorinated Biphenyls, and Chlordane in California Mussels; *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*; *28* 443-450

STERN GA, Muir DCG, Westmore JB, Buchannon WD ; **1993**; Mass Spectrometric Studies of the Toxaphene Components 2-exo,3-endo,5-exo,6-endo,8,8,10,10-Octachlorobornane (T2) and 2-exo,3-endo,5-exo,6-endo,8,8,9,10,10-Nonachlorobornane (T12); *Biological Mass Spectrometry*; *22* 19-30

STRANDBERG B, Dodder NG, Basu I, Hites RA ; **2002**; Concentrations and Spatial Variations of Polybrominated Ethers and Other Organohalogen Compounds in Great Lakes Air.; *Environ.Sci.Technol.*; *35* 1078-1083

STREIT B ; **1989**; Bioakkumulationen in der Natur; *Biologie in unserer Zeit*; *2* 47-54

STRIEBICH RC, Rubey WA, Tirey DA, Dellinger B ; **1991**; High-temperature Degradation of Polybrominated Flame Retardant Materials; *Chemosphere*; *23*(8-10): 1197-1204

SUNDSTRÖM G, Hutzinger O ; **1976**; Environmental Chemistry of Flame Retardants V. The Composition of Bromkal 70-5 DE – a Pentabromodiphenyl Ether Preparation; *Chemosphere*; *3* 187-190

SUNTIO LR, Shiu WY, Mackay D ; **1988a**; A Rewiew of the Nature and Properties of Chemicals Present in Pulp Mill Effluents; *Chemosphere*; *17* 1249-1290

SUNTIO LR, Shiu WY, Mackay D, Seiber JN, Glotfelty DE ; **1988b**; Critical Review of Henry's Law Constants for Pesticides; *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*; *103* 1-59

TAKAHASHI S, Lee JS, Tanabe S, Kubodera T ; **1998**; Contamination and specific accumulation of organochlorine and butyltin compounds in deep-see organisms collected from Suruga Bay, Japan.; *The Science of the Total Environment*; *214* 49-64

TANABE S, Iwata H, Tatsukawa R ; **1994**; Global contamination by persitent organochlorines and their ecotoxicological impact on marine mammals; *The Science of the Total Environment*; *154* 163-177

THOMSEN C, Leknes H, Lundanes E, Becher G ; **2001**; Brominated flame retardants in laboratory air; *J.of Chromatography A*; *923* 299-304

TITTLEMIER SA, Blank DH, Gribble GW, Norstrom RJ ; **2002**; Structure elucidation of four possible biogenic organohalogens using isotope exchange mass spectrometry; *Chemosphere*; *46* 511-517

TITTLEMIER SA, Simon M, Jarman WM, Elliott JE, Norstrom RJ ; **1999a**; Identification of a Novel C10H6Br4Cl2 Hterocyclic compound in seabird eggs. A bioaccumulating marine natural product?; *Environ.Sci.Technol.*; *33* 26-33

TITTLEMIER SA, Simon M, Jarman WM, Elliott JE, Norstrom RJ ; **1999b**; Identification of a Novel $C_{10}H_6N_2Br_4Cl_2$ Heterocyclic Compound in Seabird Eggs. A Bioaccumulating Marine Natural Product?; *Environmental Science and Technology*; *33*(1): 26-33

TOMY GT, Fisk AT, Westmore JB, Muir DCG ; **1998**; Environmental Chemistry and Toxicology of Polychlorinated n-Alkanes; *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*; *158* 53-128

TOPPARI J, Larsen JC, Christiansen P ; **1996**; Male Reproductive Health and Environmental Xenoestrogens; *Environmental Health Perspectives*; *104 (Suppl. 4)* 741-803

UNEP GOVERNING COUNCIL ; **1995**; "Decision 18/32: Persitent Organic Pollutants.";

VELLEUX M, Burns S, DePinto JVHJ ; **1995**; A Screening-Level Mass Balance Analysis of Mirex Transport and Fate in the Oswego River; *Journal of Great Lakes Research*; *21* 95-111

VETTER W, Hiebl J, Oldham NJ ; **2001**; Determination and Mass Spectrometric Investigation of a New Mixed Halogenated Persitant Component in Fish and Seal; *Environ.Sci.Technol.*; *35*(21): 4157-4162

VETTER W, Luckas B ; **1995**; Theoretical Aspects of Polychlorinated Bornanes and the Composition of Toxaphene in Technical Mixtures and Environmental Samples; *The Science of the Total Environment*; *160/161* 505-510

VETTER W, Scherer G ; **1998**; Variety, Structures, GC Properties, and Persistence of Compounds of Technical Toxaphene (CTTs); *Chemosphere*; *37*(9-12): 2525-2543

VETTER W, Scherer G, Schlabach M, Oehme M ; **1994**; An Unequivocal ^{1}H-NMR Structural Assignment of TOX8 and TOX9, the Two Most Abundant Toxaphene Congeners in Marine Mammals; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *349* 552-558

VETTER W, Stoll E, Garson MJ, Fahey SJ, Gaus C, Mueller JF ; **2002**; Sponge Halogenated natural products found at parts-per-million levels in marine mammals; *Environmental toxicology and chemistry*; *21*(10): 2014-2019

VOGELSANG J, Kypke-Hutter K, Malisch R, Binneman R, Dietz W ; **1986**; The Origin of a Contamination of Fish from the River Neckar with Hexachlorobenzene, Octachlorostyrene, and Pentachlorobenzene; *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -forschung*; *182* 471-474

VOLDNER EC, Li YF ; **1993**; Global Usage of Toxaphene; *Chemosphere*; *27* 2073-2078

VOLDNER EC, Li YF ; **1995**; Global Usage of Selected Persistent Organchlorines; *The Science of the Total Environment*; *160/161* 201-210

WALKER W, Risebrough RW, Jarman WM, Lappe BWd, Tefft JA ; **1989**; Identification of Tris(chlorophenyl)methanol in Blubber of Harbour Seals from Puget Sound; *Chemosphere*; *18* 1799-1805

WANIA F, Mackay D ; **1995**; A Global Distribution Model for Persistent Organic Chemicals; *The Science of the Total Environment*; *160/161* 211-232

WANIA F, Mackay D ; **1996**; Tracking the Distribution of Persistent Organic Pollutants; *Environ.Sci.Technol.*; *30* 390A-396A

WATANABE I, Kashimoto T ; **1983**; Polybrominated Anisoles in Marine Fish, Shellfish, Sediments in Japan; *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*; *12*(6): 615-619

WATANABE I, Kashimoto T, Tatsukawa R ; **1985**; Brominated Phenols and Anisoles in River and Marine Sediments in Japan; *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*; *35* 272-278

WATANABE I, Kawano M, Tatsukawa R ; **1995**; Polybrominated and mixed polybromo/chlorinated dibenzo-p-dioxins (PBDDs) and dibenzofurans (PBDFs) in the Japanese environment; *Organohalogen Compounds*; *24* 337-340

WATANABE, I; Tatsukawa, R **1990**; Anthropogenic brominated aromatics in the Japanese environment. In: (KEMI, 1990) Proceedings: Workshop on brominated aromatic flame retardants; Swedish National Inspectorate, Solna

WEIER, J ; **1999**; Changing currents color the Bering Sea a new shade of blue. *NASA, Earthobservatory, USA:* http://earthobservatory.nasa.gov/Study/Coccoliths/

WHO ; **94**; Brominated Diphenyl Ethers.IPCS, World Health Organization: Geneva,

WILLETT KL, Ulrich EM, Hites RA ; **1998**; Differential Toxicity and Environmental Fates of Hexachlorocyclohexane Isomers; *Environmental Science and Technology*; *32*(15): 2197-2207

WILLIAMS T, Kennedy B, LeBel GL ; **1991**; Chlorinated Diphenyl Ethers in Human Adipose Tissue; *Chemosphere*; *23* 601-608

WITTLINGER R, Ballschmiter K ; **1987**; Global Baseline Pollution Studies XI: Congener Specific Determination of Polychlorinated Biphenyls (PCB) and Occurrence of Alpha- and Gamma-Hexachlorocyclohexane (HCH), 4,4'-DDE and 4,4'-DDT in Continental Air; *Chemosphere*; *16* 2497-2513

WITTLINGER R, Ballschmiter K ; **1990**; Studies of the Global Baseline Pollution XIII. C_6–C_{14} Organochlorines (α- and γ-HCH, HCB, PCB, 4,4'-DDT, 4,4'-DDE, cis- and trans-Chlordane, trans-Nonachlor, Anisols) in the Lower Troposphere of the Southern Indian Ocean; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *336* 193-200

WOESSNER M ; **1999**; *Dissertation*: Neue stationäre Phasen für die NP-HPLC : Syntese und Charakterisierung; Abteilung Analytische Chemie und Umweltchemie, Universität Ulm

WU J, Vetter W, Gribble GW, Schneekloth JS, Blank DH, Görls H ; **2002**; Structure and Synthesis of the Natrural Heptachloro-1´-methyl-1,2´-bipyrrole (Q1); *Angewandte Chemie*; *41*(10): 1740-1743

ZELL M, Ballschmiter K ; **1980a**; Baseline Studies of the Global Pollution II: Global Occurrence of Hexachlorobenzene (HCB) and Polychlorocamphenes (Toxaphene) (PCC) in Biological Samples; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *300* 387-402

ZELL M, Ballschmiter K ; **1980b**; Baseline Studies of the Global Pollution III: Trace Analysis of Polychlorinated Biphenyls (PCB) by ECD Glass Capillary Gas Chromatography in Environmental Samples of Different Trophic Levels; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*; *304* 337-349

9 Anhang

9.1 NCI-(CH_4) Massenspektren von Organohalogenverbindungen

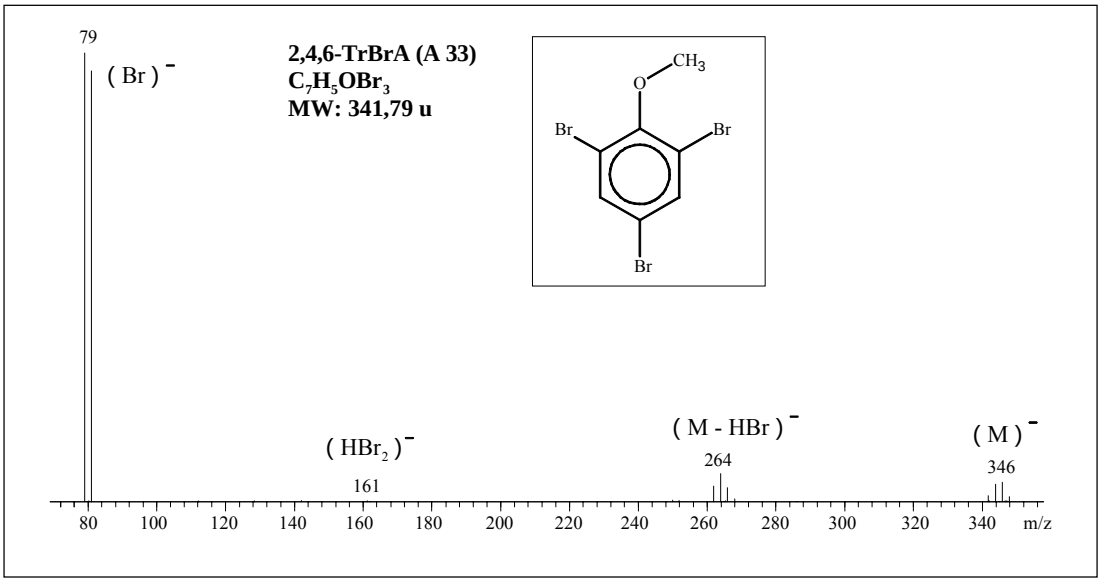


Abb. 9-1 NCI (CH_4)-Massenspektrum (Scan: m/z 30-400) von 2,4,6-Tribromanisol (A33)

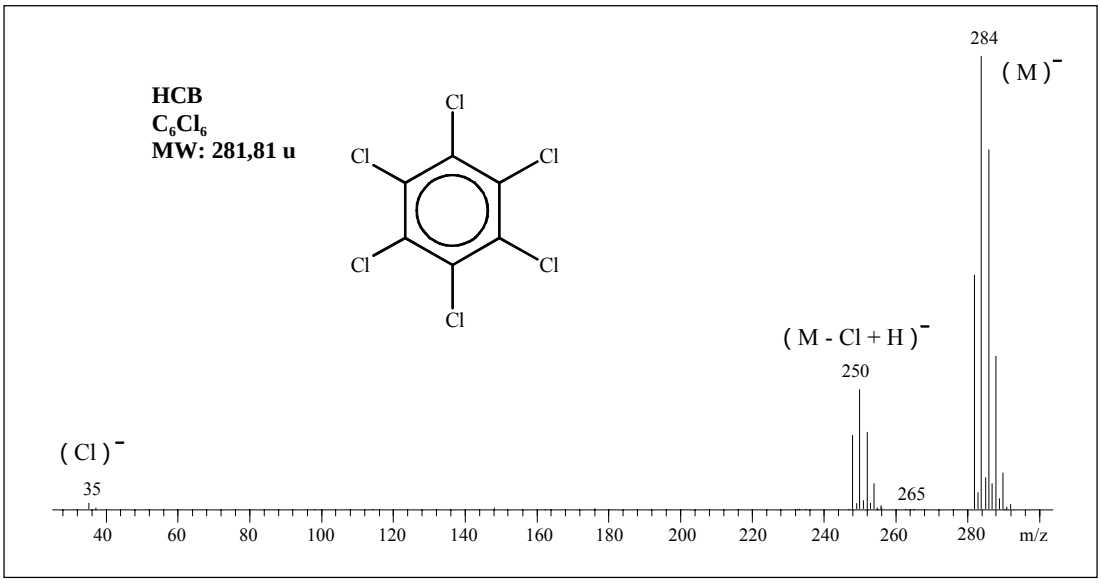


Abb. 9-2 NCI (CH_4)-Massenspektrum (Scan: m/z 30-300) von Hexachlorbenzol (HCB)

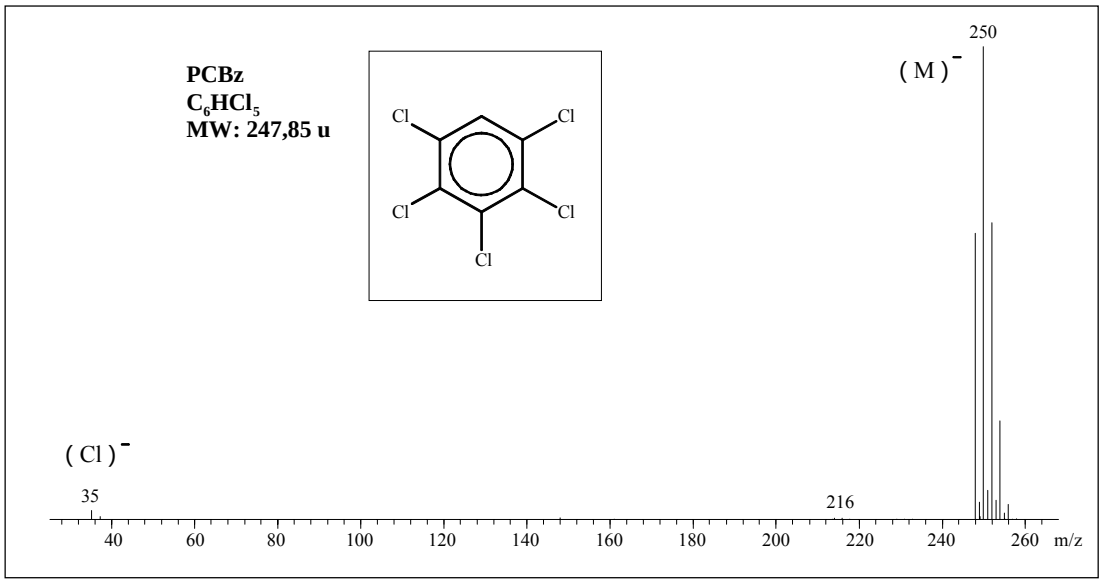


Abb. 9-3 NCI (CH_4)-Massenspektrum (Scan: m/z 30-300) von Pentachlorbenzol (PCBz)

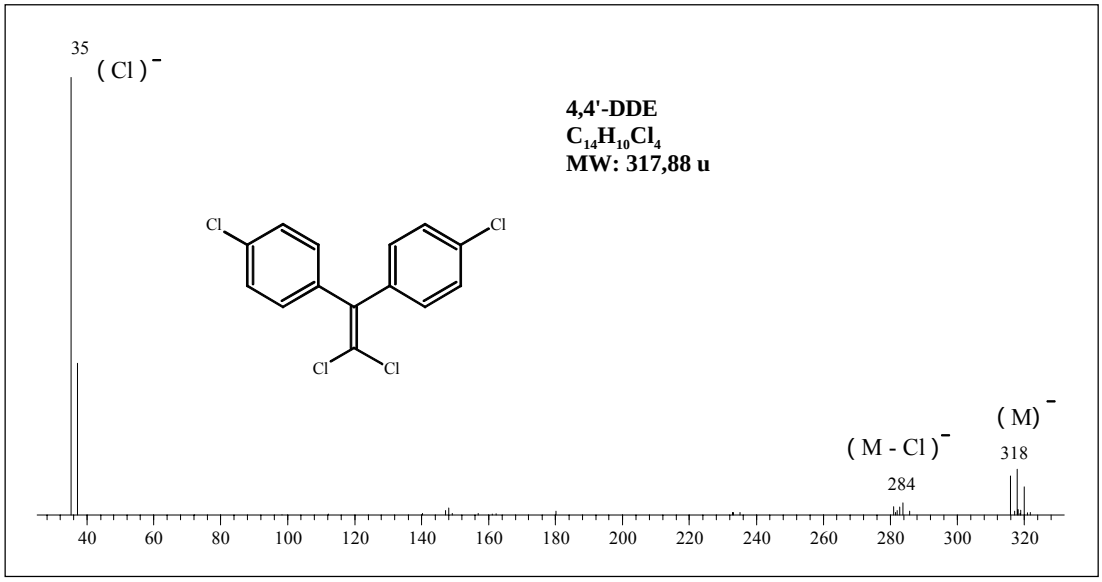


Abb. 9-4 NCI (CH_4)-Massenspektrum (Scan: m/z 30-350) von 4,4’-DDE

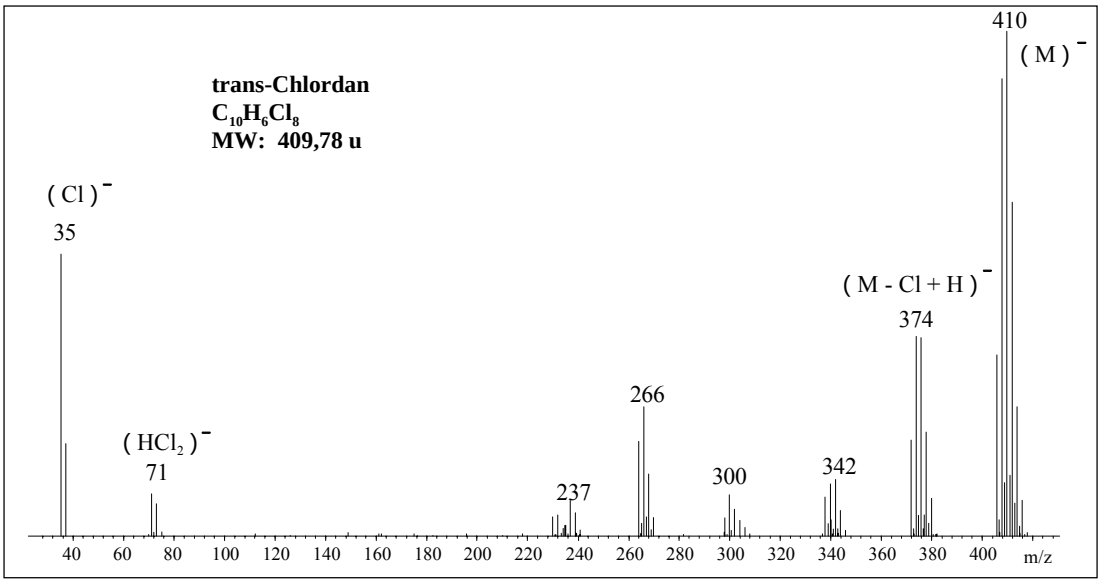


Abb. 9-5 NCI (CH_4)-Massenspektrum (Scan: m/z 30-500) von trans Chlordan

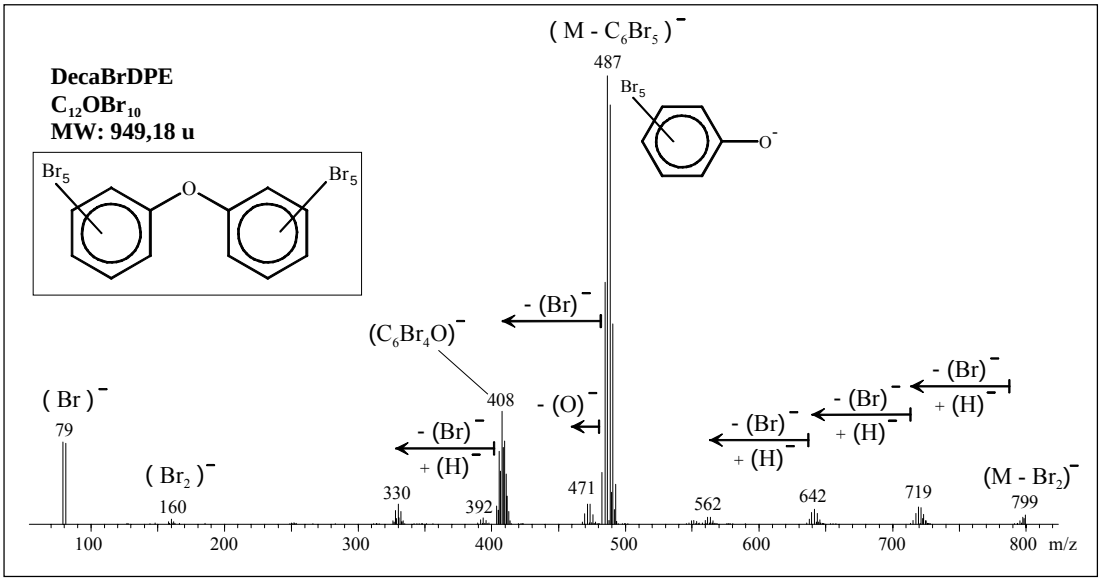


Abb. 9-6 NCI (CH_4)-Massenspektrum (Scan: m/z 30-800) von Deca-Brom-Diphenylether (PBDE 209) (Der maximale Scanbereich des GC-MS geht bis m/z 800)

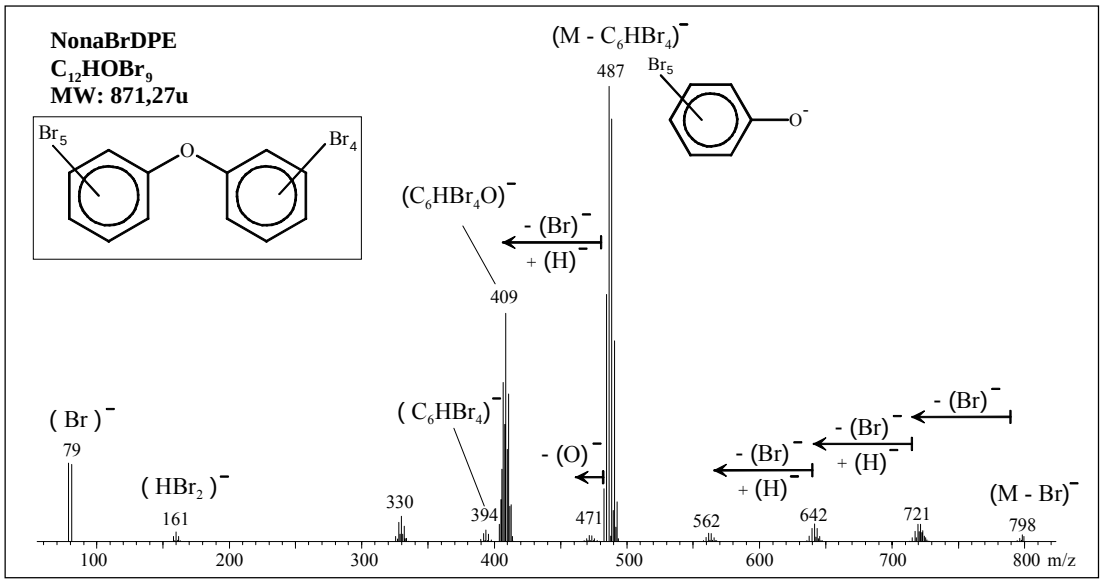


Abb. 9-7 NCI (CH_4)-Massenspektrum (Scan: m/z 30-800) eines Nona-Brom-Diphenylether in dem Gemisch Bromkal 79-8DE. Dieser zeigt ein ähnliches Fragmentierungsverhalten, wie der DecaBromDPE. (Der maximale Scanbereich des GC-MS geht bis m/z 800)

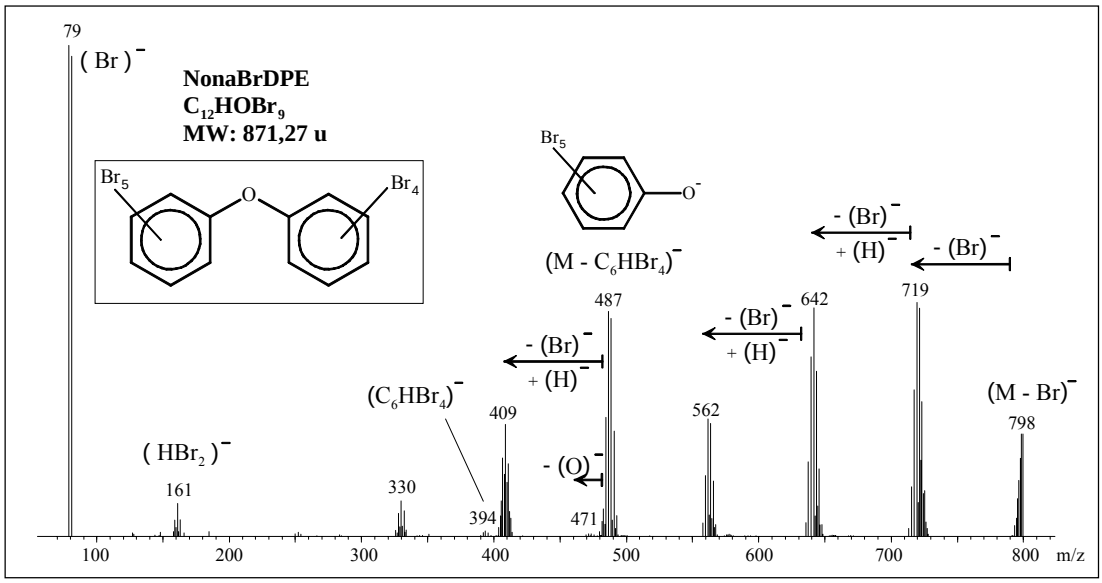


Abb. 9-8 NCI (CH_4)-Massenspektrum (Scan: m/z 30-800) eines Nona-Brom-Diphenylether in dem Gemisch Bromkal 79-8DE. Dieser zeigt ein unterschiedliches Fragmentierungsverhalten, wie der andere Nona-Brom- und DecaBromDPE (siehe oben) (Der maximale Scanbereich des GC-MS geht bis m/z 800)

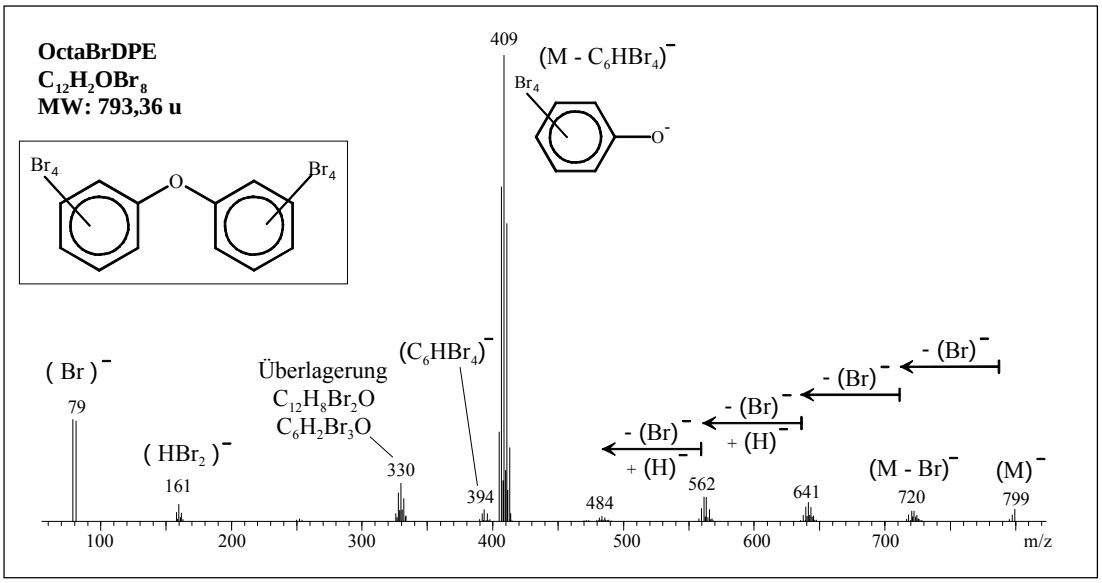


Abb. 9-9 NCI (CH_4)-Massenspektrum (Scan: m/z 30-800) eines Octa-Brom-Diphenylether in dem Gemisch Bromkal 79-8DE. Dieser zeigt ein ähnliches Fragmentierungsverhalten, wie der DecaBromDPE.

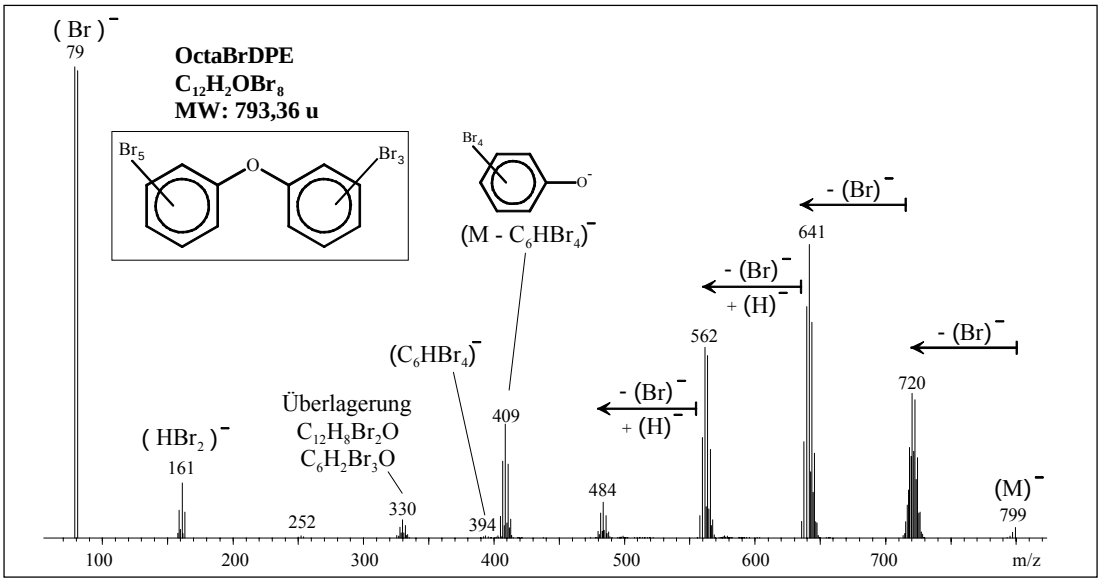


Abb. 9-10 NCI (CH_4)-Massenspektrum (Scan: m/z 30-800) eines Octa-Brom-Diphenylether in dem Gemisch Bromkal 79-8DE. Dieser zeigt ein unterschiedliches Fragmentierungsverhalten, wie der DecaBromDPE.

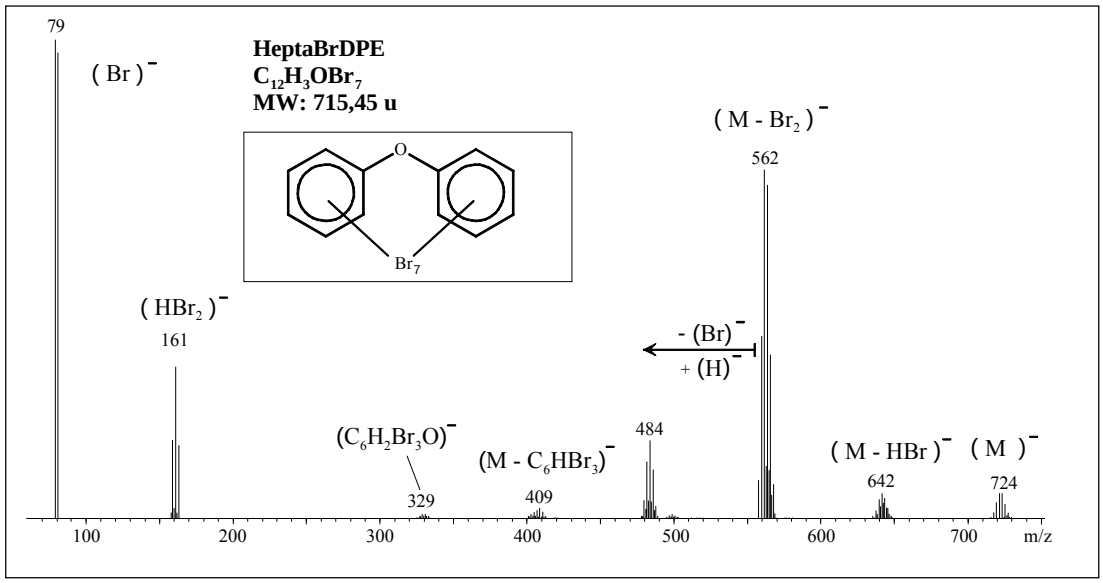


Abb. 9-11 NCI (CH_4)-Massenspektrum (Scan: m/z 30-800) eines Hepta-Brom-Diphenylether in dem Gemisch Bromkal 79-8DE. Dieser zeigt ein ähnliches Fragmentierungsverhalten, wie der DecaBromDPE.

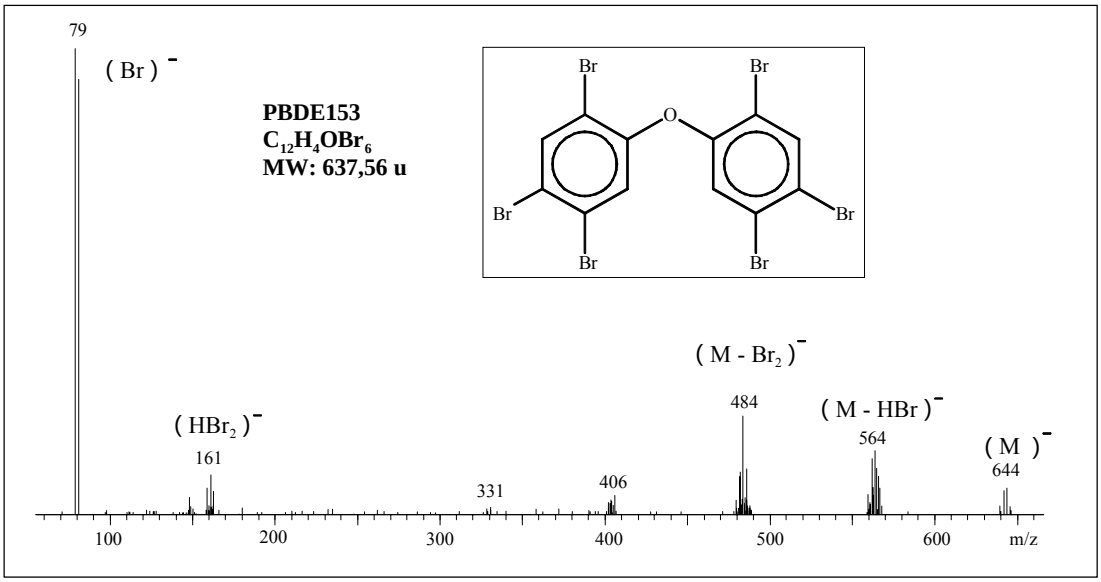


Abb. 9-12 NCI (CH_4)-Massenspektrum (Scan: m/z 30-700) von Hexa-Brom-Diphenylether PBDE 153 in dem Gemisch Bromkal 70-5DE.

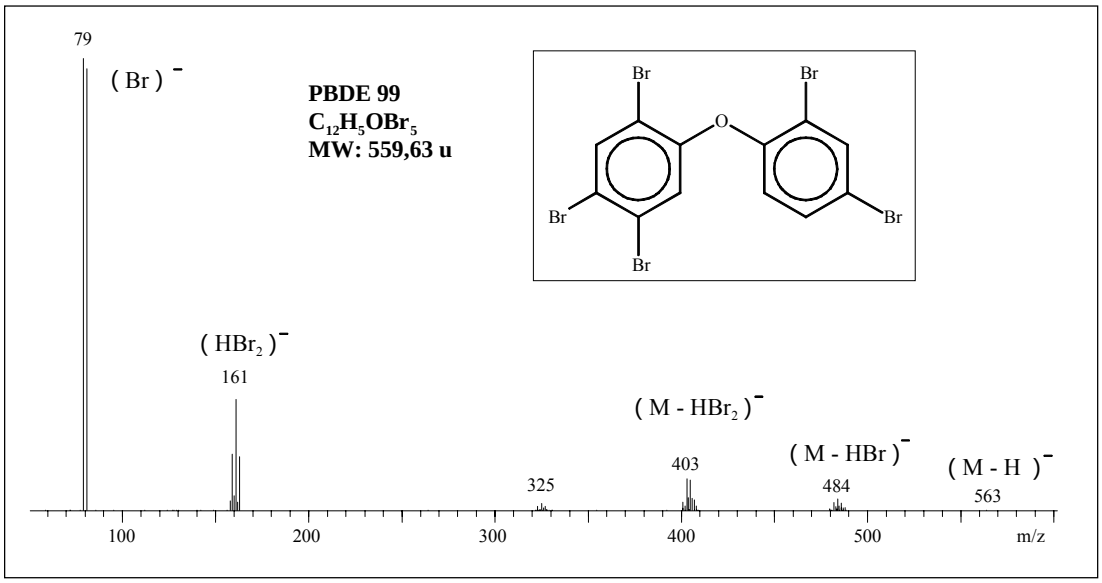


Abb. 9-13 NCI (CH_4)-Massenspektrum (Scan: m/z 30-600) von Penta-Brom-Diphenylether PBDE 99 in dem Gemisch Bromkal 70-5DE.

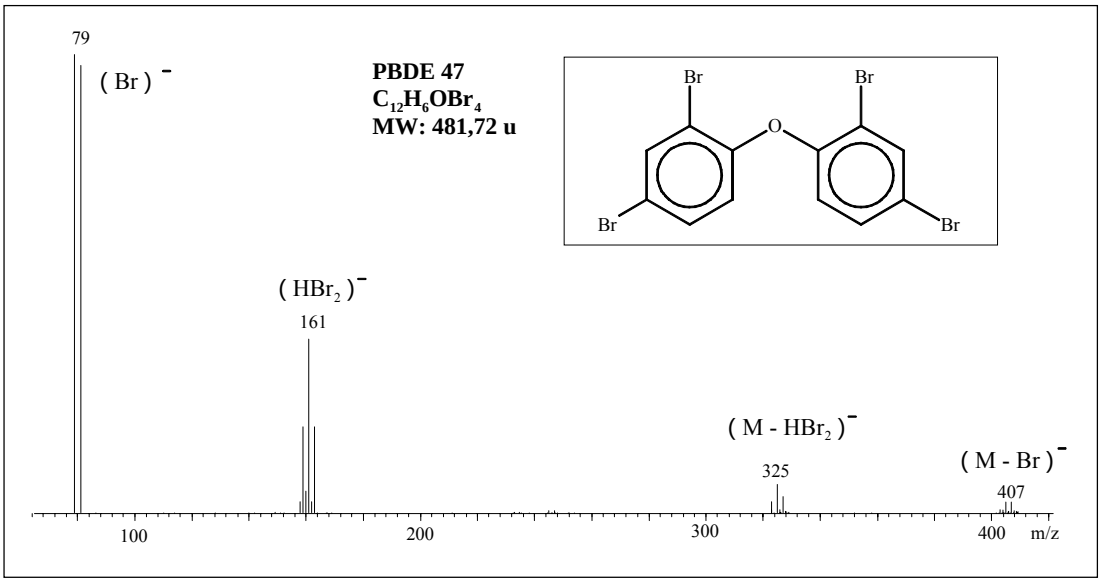


Abb. 9-14 NCI (CH_4)-Massenspektrum (Scan: m/z 30-500) von Tetraa-Brom-Diphenylether PBDE 47 in dem Gemisch Bromkal 70-5DE.

9.2 Tabellen

Tab. 9-1 Substitutionsmuster und Trivialnamen einiger Toxaphen-Kongenere [Andrews 1995, Coelhan 1996, Parlar 1995, Vetter 1998]. Die Kongenere mit den Parlar-Nummern 26, 50 und 62 standen in dieser Arbeit als Standard zur Verfügung.

Parlar-Nummer [Parlar 1995]	Chlor-Substitution (IUPAC) [Andrews 1995]	Systematischer Code [Andrews 1995]	Trivialnamen
26	2-endo,3-exo,5-endo,6-exo, 8,8,10,10-Octachlorbornan	B8-1413	TOX8 [Vetter 1994], T2 [Stern 1993]
50	2-endo,3-exo,5-endo,6-exo, 8,8,9,10,10-Nonachlorbornan	B9-1679	TOX9 [Vetter 1994], T12 [Stern 1993], Toxicant A_c [Chandurkar 1978]
62	2,2,5,5,8,9,9,10,10-Nonachlorbornan	B9-1025	

Tab. 9-2 Nomenklatur der polychlorierten Biphenyle (PCBs) nach Ballschmiter und Zell [Ballschmiter 1980a], modifiziert nach [Ballschmiter 1997a, Guitart 1993, Schulte 1983]**.**

Nr.	Substitution
Monochlorbiphenyle	
1	2
2	3
3	4
Dichlorbiphenyle	
4	2,2'
5	2,3
6	2,3'
7	2,4
8	2,4'
9	2,5
10	2,6
11	3,3'
12	3,4
13	3,4'
14	3,5
15	4,4'
Trichlorbiphenyle	
16	2,2',3
17	2,2',4
18	2,2',5
19	2,2',6
20	2,3,3'
21	2,3,4
22	2,3,4'
23	2,3,5
24	2,3,6
25	2,3',4
26	2,3',5
27	2,3',6
28	2,4,4'
29	2,4,5
30	2,4,6
31	2,4',5
32	2,4',6
33	2',3,4
34	2',3,5
35	3,3',4
36	3,3',5
37	3,4,4'
38	3,4,5
39	3,4',5
Tetrachlorbiphenyle	
40	2,2',3,3'
41	2,2',3,4
42	2,2',3,4'
43	2,2',3,5
44	2,2',3,5'
45	2,2',3,6
46	2,2',3,6'
47	2,2',4,4'
48	2,2',4,5
49	2,2',4,5'
50	2,2',4,6
51	2,2',4,6'
52	2,2',5,5'
53	2,2',5,6'
54	2,2',6,6'
55	2,3,3',4
56	2,3,3',4'
57	2,3,3',5
58	2,3,3',5'
59	2,3,3',6
60	2,3,4,4'
61	2,3,4,5
62	2,3,4,6
63	2,3,4',5
64	2,3,4',6
65	2,3,5,6
66	2,3',4,4'
67	2,3',4,5
68	2,3',4,5'
69	2,3',4,6
70	2,3',4,5
71	2,3',4,6
72	2,3',5,5'
73	2,3',5',6
74	2,4,4',5
75	2,4,4',6
76	2',3,4,5
77	3,3',4,4'
78	3,3',4,5
79	3,3',4,5'
80	3,3',5,5'
81	3,4,4',5
Pentachlorbiphenyle	
82	2,2',3,3',4
83	2,2',3,3',5
84	2,2',3,3',6
85	2,2',3,4,4'
86	2,2',3,4,5
87	2,2',3,4,5'
88	2,2',3,4,6
89	2,2',3,4,6'
90	2,2',3,4',5
91	2,2',3,4',6
92	2,2',3,5,5'
93	2,2',3,5,6
94	2,2',3,5,6'
95	2,2',3,5',6
96	2,2',3,6,6'
97	2,2',3',4,5
98	2,2',3',4,6
99	2,2',4,4',5
100	2,2',4,4',6
101	2,2',4,5,5'
102	2,2',4,5,6'
103	2,2',4,5',6
104	2,2',4,6,6'
105	2,3,3',4,4'

Tab. 9-2 (Forts.). Nomenklatur der polychlorierten Biphenyle (PCBs) nach Ballschmiter und Zell [Ballschmiter 1980a], modifiziert nach [Ballschmiter 1997a, Guitart 1993, Schulte 1983].

Nr.	Substitution
106	2,3,3',4,5
107	2,3,3',4,5'
108	2,3,3',4,6
109	2,3,3',4',5
110	2,3,3',4',6
111	2,3,3',5,5'
112	2,3,3',5,6
113	2,3,3',5',6
114	2,3,4,4',5
115	2,3,4,4',6
116	2,3,4,5,6
117	2,3,4',5,6
118	2,3',4,4',5
119	2,3',4,4',6
120	2,3',4,5,5'
121	2,3',4,5',6
122	2',3,3',4,5
123	2',3,4,4',5
124	2',3,4,5,5'
125	2',3,4,5,6'
126	3,3',4,4',5
127	3,3',4,5,5'
	Hexachlorbiphenyle
128	2,2',3,3',4,4'
129	2,2',3,3',4,5
130	2,2',3,3',4,5'
131	2,2',3,3',4,6
132	2,2',3,3',4,6'
133	2,2',3,3',5,5'
134	2,2',3,3',5,6
135	2,2',3,3',5,6'
136	2,2',3,3',6,6'
137	2,2',3,4,4',5
138	2,2',3,4,4',5'
139	2,2',3,4,4',6
140	2,2',3,4,4',6'
141	2,2',3,4,5,5'
142	2,2',3,4,5,6
143	2,2',3,4,5,6'
144	2,2',3,4,5',6
145	2,2',3,4,6,6'
146	2,2',3,4',5,5'
147	2,2',3,4',5,6
148	2,2',3,4',5,6'
149	2,2',3,4',5',6
150	2,2',3,4',6,6'
151	2,2',3,5,5',6
152	2,2',3,5,6,6'
153	2,2',4,4',5,5'
154	2,2',4,4',5,6'
155	2,2',4,4',6,6'
156	2,3,3',4,4',5
157	2,3,3',4,4',5'
158	2,3,3',4,4',6
159	2,3,3',4,5,5'
160	2,3,3',4,5,6
161	2,3,3',4,5',6
162	2,3,3',4',5,5'
163	2,3,3',4',5,6
164	2,3,3',4',5',6
165	2,3,3',5,5',6
166	2,3,4,4',5,6
167	2,3',4,4',5,5'
168	2,3',4,4',5',6
169	3,3',4,4',5,5'
	Heptachlorbiphenyle
170	2,2',3,3',4,4',5
171	2,2',3,3',4,4',6
172	2,2',3,3',4,5,5'
173	2,2',3,3',4,5,6
174	2,2',3,3',4,5,6'
175	2,2',3,3',4,5',6
176	2,2',3,3',4,6,6'
177	2,2',3,3',4',5,6
178	2,2',3,3',5,5',6
179	2,2',3,3',5,6,6'
180	2,2',3,4,4',5,5'
181	2,2',3,4,4',5,6
182	2,2',3,4,4',5,6'
183	2,2',3,4,4',5',6
184	2,2',3,4,4',6,6'
185	2,2',3,4,5,5',6
186	2,2',3,4,5,6,6'
187	2,2',3,4',5,5',6
188	2,2',3,4',5,6,6'
189	2,3,3',4,4',5,5'
190	2,3,3',4,4',5,6
191	2,3,3',4,4',5',6
192	2,3,3',4,5,5',6
193	2,3,3',4',5,5',6
	Octachlorbiphenyle
194	2,2',3,3',4,4',5,5'
195	2,2',3,3',4,4',5,6
196	2,2',3,3',4,4',5',6
197	2,2',3,3',4,4',6,6'
198	2,2',3,3',4,5,5',6
199	2,2',3,3',4,5,5',6'
200	2,2',3,3',4,5,6,6'
201	2,2',3,3',4,5',6,6'
202	2,2',3,3',5,5',6,6'
203	2,2',3,4,4',5,5',6
204	2,2',3,4,4',5,6,6'
205	2,3,3',4,4',5,5',6
	Nonachlorbiphenyle
206	2,2',3,3',4,4',5,5',6
207	2,2',3,3',4,4',5,6,6'
208	2,2',3,3',4,5,5',6,6'
	Decachlorbiphenyl
209	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'

DANKSAGUNG

Ich möchte mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Karlheinz Ballschmiter bedanken. Einmal für ein interessantes und sehr vielseitiges Promotionsthema und zum anderen für die Bereitstellung von Arbeitsmaterialien, Arbeitsplatz und neuesten Forschungsgeräten. Aber ein besonderer Dank auch an ihn für zahlreiche motivierende Gespräche und das oft anschauliche Näherbringen der Analytischen- und Globalen Umweltchemie. Er ermöglichte mir zahlreiche Teilnahmen an Probenahme-Expeditionen, die mich an entlegene Orte um den ganzen Globus herum gebracht haben und mir stets in guter Erinnerung bleiben werden. Auch konnte ich somit an Tagungen und Kongressen im In- und Ausland teilzunehmen.

Ein Dank an Prof. Dr. Wolfgang Sawodny (Abt. Anorganische Chemie, Universität Ulm) für die Erstellung des Zweitgutachtens.

Dem Landes-Graduierten-Förderungsgesetz (LGFG) für 3 Jahre Promotionsstipendium.

Dr. Walter Jarman, Corinne Bacon und Lisa Jacobson vom Energy and Geoscience Institute (EGI) der University of Utah in Salt Lake City, Utah, USA für eine gute Zusammenarbeit bei der Luftprobennahme in Salt Lake City und auf den Aleuten.

Prof. Dr. Jim Estes vom Institute of Marine Science der University of California Santa Cruz, Kalifornien, USA für die Möglichkeit der Teilnahme an dem „Aleutian Fieldtrip“ nach Adak Island im August1999.

Dr. Ulrich Reuter und Dr. Heinz Buchert für zahlreiche Gespräche und Diskussionen fachlicher und nichtfachlicher Natur.

Den Sekretärinnen Frau Hilma Wenning, Frau Marie Bowman und Frau Erna Schlunck für ihre Hilfsbereitschaft und Unterstützung bei organisatorischen Angelegenheiten.

Bei den Mitgliedern der Abteilung Analytische Chemie und Umweltchemie und Freunden in Ulm und Lindau, die mich lange Zeit durchs Studium und die Promotion begleitet haben:

Ralf Looser für jede Menge Vorarbeit auf dem Forschungsgebiet und das „Einlernen“ in der Gaschromatographie und Massenspektrometrie.

Oliver Pfeifer, Stefan Huber, Stefan Woidich, Rudolf Hackenberg, Holger Kuch, Bernhard Mittermaier, Tobias Schoop, Sandra Gienger, Ralf Deisenhofer, Kerstin Lasch, Harald Wölfle und Alke Petri für gute Zusammenarbeit und langjährige Freundschaft.

Anke Grünert für gute Freundschaft und ihre echte Hilfe, die es mir ermöglichte, diese Doktorarbeit auch von Kanada aus zu vollenden!

Und ein ganz besonderer Dank meiner ganzen Familie und meinen Eltern, die mich während des ganzen Studiums in jeglicher Hinsicht unterstützt haben.

...danke, und mögen Träume wahr werden!

LEBENSLAUF

Markus Werner Arend

Geburtstag:	19. Juni 1972
Geburtsort:	Lindau / Bodensee
Staatsangehörigkeit:	deutsch
Familienstand:	ledig

Schulbildung:

1978 - 1982	Grundschule Aeschach Lindau/B
1982 - 1991	Bodensee Gymnasium Lindau/B ; Abitur Juni 1991

Hochschulbildung:

1991 – 1997	Studium der Chemie an der Universität Ulm
9/1993	Vordiplom Chemie
7/1997	Diplom Chemie (sehr gut)
	Diplomarbeit in der Abt. Analytische Chemie und Umweltchemie an der Universität Ulm (Prof. Ballschmiter) Thema der Diplomarbeit: „Entwicklung einer Aufarbeitungsmethode von Bioproben zur Rückstandsanalytik von Xenobiotika“.
seit Oktober 1997	Promotion in der Abt. Analytische Chemie und Umweltchemie an der Universität Ulm (Prof. Ballschmiter): „Bestimmung halogenierter Xenobiotika in Fischen des Nord-Pazifik“.

Forschungsaufenthalte:

01.07.95 - 30.09.95	Forschungspraktikum am National Institute of Standards and Technology NIST, Gaithersburg, MD, USA

Expeditionsteilnahmen:

Februar 1999:	Luftprobennahme in Salt Lake City, und Yellowstone NP, USA
August 1999:	Bioprobennahme auf die Aleuten, Alaska, USA

Stipendien:

01.10.98 – 30.10.01	Stipendiat des Landes Graduierten Förderungsgesetzes (LGFG) in Baden Württemberg

Diese Arbeit wurde in der Zeit von Oktober 1997 bis August 2002 in der Abteilung Analytische Chemie und Umweltchemie der Universität Ulm angefertigt.

Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt und keine anderen als die aufgelisteten Hilfsmittel und Quellen benutzt habe. Wörtlich oder inhaltlich übernommene Stellen habe ich als solche kenntlich gemacht.

Ulm, im Oktober 2002 .....

(Markus W. Arend)