

**Bestimmung von estrogen-aktiven
Nonylphenolen und Octylphenol in Säuglings-
und Kleinkindernahrung sowie in Biofilmen**

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

Torsten Räcker

aus

Siegburg

Bonn 2004

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

1. Referent: Professor Dr. K. Günther
2. Referent: Professorin Dr. G. M. König

Tag der Promotion: 17.12.2004

... meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	1
1.1. Eigenschaften der 4-Alkylphenole (4-AP) und der 4-Alkylphenol-ethoxylate (4-APEO)	2
1.1.1. Stoffdaten, Darstellung und Verwendung	2
1.1.2. Eintrag in der Umwelt	3
1.1.3. Wirkungen in der Umwelt	6
1.2. 4-AP und 4-APEO in Lebensmitteln	14
1.3. 4-AP und 4-APEO in Biofilmen	20
1.4. Zielsetzung	23
2. Experimenteller Teil	24
2.1. Analyseverfahren für Nonylphenol (4-NP)	25
2.1.1. Verwendete Chemikalien, Lösungen und Geräte	25
2.1.2. Reinheit des 4-NP-Standards	27
2.1.3. Reinigung der Apparatur	27
2.1.4. Blindwertextraktion	28
2.1.5. Probenvorbereitung	29
2.1.6. Probenextraktion	30
2.1.7. Aufreinigung mittels HPLC	31
2.1.8. Derivatisierung	32
2.1.9. Bestimmung mittels GC-MS	33
2.1.10. Kalibrierung und Auswertung	36
2.1.11. Reinigung von Gerätschaften	40

2.2.	Analyseverfahren für 4-NP und Octylphenol (4-tert.-OP)	40
2.2.1.	Verwendete Chemikalien, Lösungen und Geräte	41
2.2.2.	Reinheit des 4-tert.-OP-Standards	42
2.2.3.	Reinigung der Apparatur	43
2.2.4.	Blindwertextraktion	43
2.2.5.	Probenvorbereitung	43
2.2.6.	Probenextraktion	44
2.2.7.	Aufreinigung mittels HPLC	44
2.2.8.	Derivatisierung	45
2.2.9.	Bestimmung mittels GC-MS	45
2.2.10.	Kalibrierung und Auswertung	45
2.2.11.	Reinigung von Gerätschaften	50
2.3.	Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, Nonylphenolmonoethoxylat (4-NP1EO) und Nonylphenoldiethoxylat (4-NP2EO)	51
2.3.1.	Verwendete Chemikalien, Lösungen und Geräte	51
2.3.2.	Reinheit der 4-NP1EO- und 4-NP2EO-Standards	52
2.3.3.	Reinigung der Apparatur	53
2.3.4.	Blindwertextraktion	53
2.3.5.	Probenvorbereitung	53
2.3.6.	Probenextraktion	53
2.3.7.	Aufreinigung mittels HPLC	54
2.3.8.	Derivatisierung	54
2.3.9.	Bestimmung mittels GC-MS	54
2.3.10.	Kalibrierung und Auswertung	54
2.3.11.	Reinigung von Gerätschaften	55

2.4.	Charakterisierung der Biofilmproben	55
2.4.1.	Koloniezahl-Bestimmung heterotropher Bakterien	56
2.4.2.	Bestimmung wichtiger Inhaltsstoffe	56
3.	Ergebnisse und Diskussion	58
3.1.	Methodische Ergebnisse	58
3.1.1.	Analyseverfahren für 4-NP	58
3.1.2.	Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	59
3.1.2.1.	Bestimmung der Reinheit des 4-tert.-OP-Standards	59
3.1.2.2.	Bestimmung der Isomerenverteilung von 4-NP	59
3.1.2.3.	Optimierungen und Veränderungen	59
3.1.3.	Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	65
3.1.3.1.	Reinheit des 4-NP1EO- und 4-NP2EO-Standards	65
3.1.3.2.	Optimierung der Aufreinigung mittels HPLC	65
3.1.3.3.	Optimierung der Derivatisierungsbedingungen	68
3.1.3.4.	Bestimmung der Isomerenverteilung von 4-NP1EO und 4-NP2EO	68
3.1.3.5.	Bestimmung mittels GC-MS	69
3.1.3.6.	Entwicklung einer MS/MS-Methode	72
3.1.3.7.	Probleme bei dem Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO und weitere Tests zur Optimierung	77
3.2.	Säuglings- und Kleinkindernahrung: 4-NP- und 4-tert.-OP-Ergebnisse	81
3.2.1.	4-AP-Werte nach dem Analyseverfahren für 4-NP	81
3.2.2.	4-NP- und 4-tert.-OP-Werte nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	87
3.2.3.	Abschätzung der täglichen Aufnahmemenge ('daily-intake') für 4-NP und 4-tert.-OP	96

3.2.4.	Interpretation der 4-NP- und 4-tert.-OP-Ergebnisse für Säuglings- und Kleinkindernahrung	103
3.3.	Biofilm- und Flusswasserproben: 4-NP und 4-tert.-OP-Ergebnisse	107
3.3.1.	Methodische Unterschiede	107
3.3.2.	4-NP- und 4-tert.-OP-Gehalte	108
3.3.3.	Akkumulation in Biofilmen	116
3.3.4.	Interpretation der 4-NP- und 4-tert.-OP-Ergebnisse für die Biofilm- und Flusswasserproben	117
3.4.	Biofilm- und Flusswasserproben: Ergebnisse der Charakterisierung	120
3.4.1.	Koloniezahl-Bestimmung heterotropher Bakterien	120
3.4.2.	Bestimmung wichtiger Inhaltsstoffe	121
3.4.3.	Mikroskopische Bestimmung der Gesamtzellzahl	123
4.	Ausblick	125
5.	Zusammenfassung	126
6.	Literaturverzeichnis	129
7.	Anhang	143

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

	Seite
Abbildung 1: Strukturformeln der 4-AP und der 4-NPnEO	3
Abbildung 2: Biologischer Abbau der 4-APnEO (n = 1 - 100)	4
Abbildung 3: Strukturformeln wichtiger, natürlicher Estrogene	7
Abbildung 4: Strukturformeln wichtiger, estrogen-aktiver Substanzen	8
Abbildung 5: Kristallstruktur des ER α nach Bindung von 17 β -Estradiol und schematische Darstellung der Bindung ER α mit 17 β -Estradiol über Wasserstoffbrückenbindungen [Brzozowski, 1997]	11
Abbildung 6: Aerober Abbau aromatischer Kohlenwasserstoffe	22
Abbildung 7: Anaerober Abbau aromatischer Kohlenwasserstoffe	22
Abbildung 8: Veith-Kühler	28
Abbildung 9: Phasentrennung	31
Abbildung 10: Derivatisierung der 4-AP mit MTBSTFA	33
Abbildung 11: GC-MS-Chromatogramm und Spektren einer 4-tert.-OP-Standardlösung	62
Abbildung 12: Gehalt an 4-tert.-OP: GC-Fläschchen verschlossen mit Bördelkappen vom Typ R8 – 1,0	63
Abbildung 13: Ausschnitt eines GC-MS-Chromatogrammes einer 4-NP- und 4-tert.-OP-Standardlösung für die GC-MS-Kalibrierung	64
Abbildung 14: HPLC-Gradientenvergleich	65
Abbildung 15: A) HPLC-Chromatogramm einer Standardlösung	66
Abbildung 16: B) HPLC-Chromatogramm eines Blindwertes	67
Abbildung 17: C) HPLC-Chromatogramm einer Lebensmittelprobe	67
Abbildung 18: D) HPLC-Chromatogramm einer Biofilm-Probe	67
Abbildung 19: Ausschnitt eines GC-MS-Chromatogrammes einer kompletten 4-NP-, 4-tert.-OP, 4-NP1EO- und 4-NP2EO-Standardlösung	70

Abbildung 20:	GC-MS-Chromatogramm von 4-NP1EO und 4-n-NP1EO	71
Abbildung 21:	GC-MS-Chromatogramm von 4-NP2EO und 4-n-NP2EO	71
Abbildung 22:	Ausschnitt eines GC-MS-Chromatogrammes, das die MS/MS-Segmente (S 1 bis S 8) für die 4-AP zeigt	74
Abbildung 23:	Ausschnitt eines GC-MS-Chromatogrammes, das die MS/MS-Segmente (S 9 bis S 12) für die 4-NP1EO zeigt	75
Abbildung 24:	Ausschnitt eines GC-MS-Chromatogrammes, das die MS/MS-Segmente (S 13 bis S 17) für die 4-NP2EO zeigt	75
Abbildung 25:	Ausschnitt eines GC-MS-Chromatogrammes aller Analyten; aufgenommen im SRM Scan MS/MS-Modus	76
Abbildung 26:	LV-Injektor im Querschnitt	77
Abbildung 27:	Aufbau eines Ionenfallen-Massenspektrometers	79
Abbildung 28:	Übersicht über 4-tert.-OP-Gehalte [ng/kg] in Lebensmitteln nach dem Verfahren für 4-NP (Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung als Absolutwert in ng/kg.)	81
Abbildung 29:	Übersicht über 4-NP-Gehalte [$\mu\text{g}/\text{kg}$] in Lebensmitteln nach dem Verfahren für 4-NP (Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung als Absolutwert in $\mu\text{g}/\text{kg}$.)	82
Abbildung 30:	Übersicht über 4-NP-Gehalte (breite, helle Balken [$\mu\text{g}/\text{kg}$]) und die jeweiligen Fettgehalte (schmale, dunkle Balken [Gewichts-%]) in Lebensmitteln nach dem Verfahren für 4-NP. Der Fettgehalt war vom Hersteller angegeben oder wurde Souci et al., 1994, entnommen.	83
Abbildung 31:	Isomerenverteilung für Mehrkornbrot im Vergleich zum technischen 4-NP	85
Abbildung 32:	Übersicht über 4-NP-Gehalte [$\mu\text{g}/\text{kg}$] in Lebensmitteln nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP (Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung als Absolutwert in $\mu\text{g}/\text{kg}$.)	88
Abbildung 33:	Übersicht über 4-tert.-OP-Gehalte [ng/kg] in Lebensmitteln nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP (Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung als Absolutwert in ng/kg.)	89
Abbildung 34:	Übersicht über 4-NP-Gehalte (breite, helle Balken [$\mu\text{g}/\text{kg}$]) und die jeweiligen Fettgehalte (schmale, dunkle Balken [Gewichts-%]) in Lebensmitteln nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP. Der Fettgehalt war vom Hersteller angegeben oder wurde Souci et al., 1994, entnommen.	90

Abbildung 35:	Isomerenverteilung für Zwieback im Vergleich zum technischen 4-NP	92
Abbildung 36:	Vergleich der Auftrennung der zwei verschiedenen GC-Trennsäulen (dunkle Linie: CP-Sil-8 CB; helle Linie: FS-OV-1-CB) im Totalionenstromchromatogramm	95
Abbildung 37:	Übersicht über 4-NP-Gehalte [$\mu\text{g}/\text{kg}$] in Biofilm- und Flusswasserproben nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP (Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung als Absolutwert in $\mu\text{g}/\text{kg}$)	109
Abbildung 38:	Übersicht über 4-tert.-OP-Gehalte [ng/kg] in Biofilm- und Flusswasserproben nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP (Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung als Absolutwert in ng/kg)	110
Abbildung 39:	GC-Chromatogramm der Probe 'Biofilm 9'	111
Abbildung 40:	Isomerenverteilung für Biofilm 2 im Vergleich zum technischen 4-NP	113
Abbildung 41:	Vergleich der Differenzen in den Isomerenverteilungen zwischen Biofilm- (BF) und der entsprechenden Flusswasserprobe (FW)	115
Abbildung 42:	Anhang 7.7.: Herkunft und Art der Biofilm- und Flusswasserproben; Karte 1: Rhein - Ruhr	154
Abbildung 43:	Anhang 7.7.: Herkunft und Art der Biofilm- und Flusswasserproben; Karte 2: Niers	155
Abbildung 44:	Anhang 7.13.: Spektren aller derivatisierten Analyten für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP: Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-tert.-OP für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	163
Abbildung 45:	Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 1, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	164
Abbildung 46:	Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 2, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	164
Abbildung 47:	Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 3, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	165
Abbildung 48:	Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 4, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	165

Abbildung 49:	Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 5, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	166
Abbildung 50:	Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 6, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	166
Abbildung 51:	Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 7, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	167
Abbildung 52:	Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 8, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	167
Abbildung 53:	Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 9, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	168
Abbildung 54:	Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 10, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	168
Abbildung 55:	Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 11, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	169
Abbildung 56:	Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten ISTD 4-n-OP für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	169
Abbildung 57:	Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten GSTD 4-(2'-Nonyl)phenol für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	170
Abbildung 58:	Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten ISTD 4-n-NP für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	170
Abbildung 59:	Anhang 7.14.: Spektren aller derivatisierten Analyten für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten GSTD 4-(2'-Nonyl)phenol für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	171
Abbildung 60:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP1EO, Peak 1, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	172
Abbildung 61:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP1EO, Peak 2, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	172
Abbildung 62:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP1EO, Peak 3, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	173

Abbildung 63:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatiserten 4-NP1EO, Peak 4, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	173
Abbildung 64:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatiserten 4-NP1EO, Peak 5, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	174
Abbildung 65:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatiserten 4-NP1EO, Peak 6, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	174
Abbildung 66:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatiserten 4-NP1EO, Peak 7, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	175
Abbildung 67:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatiserten 4-NP1EO, Peak 8, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	175
Abbildung 68:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatiserten 4-NP1EO, Peak 9, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	176
Abbildung 69:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatiserten ISTD 4-n-NP1EO für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	176
Abbildung 70:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatiserten 4-NP2EO, Peak 1, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	177
Abbildung 71:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatiserten 4-NP2EO, Peak 2, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	177
Abbildung 72:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatiserten 4-NP2EO, Peak 3, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	178
Abbildung 73:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatiserten 4-NP2EO, Peak 4, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	178
Abbildung 74:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatiserten 4-NP2EO, Peak 5, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	179

Abbildung 75:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatiserten 4-NP2EO, Peak 6, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	179
Abbildung 76:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatiserten 4-NP2EO, Peak 7, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	180
Abbildung 77:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatiserten 4-NP2EO, Peak 8, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	180
Abbildung 78:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatiserten 4-NP2EO, Peak 9, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	181
Abbildung 79:	Anhang 7.14.: Spektrum des derivatiserten ISTD 4-n-NP2EO, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	181
Abbildung 80:	Anhang 7.16.: Isomerenverteilung von 4-NP für die Proben nach dem Analyseverfahren für 4-NP im Vergleich zum technischen 4-NP: Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Hypoallergene Säuglingsanfangsnahrung 1 nach dem Verfahren für 4-NP	183
Abbildung 81:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Hypoallergene Säuglingsanfangsnahrung 2 nach dem Verfahren für 4-NP	183
Abbildung 82:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Hypoallergene Folgemilchnahrung 1 nach dem Verfahren für 4-NP	184
Abbildung 83:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Folgemilchnahrung 2 nach dem Verfahren für 4-NP	184
Abbildung 84:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Schinkennudeln in Tomatensauce nach dem Verfahren für 4-NP	185
Abbildung 85:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Rindfleischzubereitung mit Reis und Kartoffeln nach dem Verfahren für 4-NP	185
Abbildung 86:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Reis-Gemüsecreme mit Hühnchen nach dem Verfahren für 4-NP	186
Abbildung 87:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Broccoli, Kartoffeln und Putenfleisch nach dem Verfahren für 4-NP	186
Abbildung 88:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Tomatengemüse, Spaghetti und Schweinefleisch nach dem Verfahren für 4-NP	187

Abbildung 89:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Frühkarotte nach dem Verfahren für 4-NP	187
Abbildung 90:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Reis mit Apfel nach dem Verfahren für 4-NP	188
Abbildung 91:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Mehrkornbrot nach dem Verfahren für 4-NP	188
Abbildung 92:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Grießbrot mit Vanille nach dem Verfahren für 4-NP	189
Abbildung 93:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Grießbrot Schoko nach dem Verfahren für 4-NP	189
Abbildung 94:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Butterkeks-Milchbrot nach dem Verfahren für 4-NP	190
Abbildung 95:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Milchbrot Banane nach dem Verfahren für 4-NP	190
Abbildung 96:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Pfirsich-Maracuja mit Joghurt nach dem Verfahren für 4-NP	191
Abbildung 97:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Pfirsich mit Honig nach dem Verfahren für 4-NP	191
Abbildung 98:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Südfrüchte in Apfelsaft nach dem Verfahren für 4-NP	192
Abbildung 99:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Melissentee mit Traubensaft nach dem Verfahren für 4-NP	192
Abbildung 100:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Raffinade-Zucker nach dem Verfahren für 4-NP	193
Abbildung 101:	Anhang 7.19.: Isomerenverteilung von 4-NP für die Proben nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP im Vergleich zum technischen 4-NP	209
	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Muttermilch 1 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	
Abbildung 102:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Muttermilch 2 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	209
Abbildung 103:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Säuglingsanfangsnahrung nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	210
Abbildung 104:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Folgemilchnahrung nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	210

Abbildung 105:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Reis-Gemüse- creme mit Huhn nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	211
Abbildung 106:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Frühkarotte nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	211
Abbildung 107:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Schmelzflocken nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	212
Abbildung 108:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Milchfertigbrei mit Grieß nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	212
Abbildung 109:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Baby-Apfel nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	213
Abbildung 110	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Apfel-Banane mit Quark nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	213
Abbildung 111	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Apfel-Getreide Brei nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	214
Abbildung 112	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Zwieback nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	214
Abbildung 113	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für 'Milder Apfelsaft' nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	215
Abbildung 114	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Babytee nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	215
Abbildung 115	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Cornflakes nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	216
Abbildung 116	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für gekochte Kartof- feln nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	216
Abbildung 117	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Karotte nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	217
Abbildung 118	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Banane nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	217
Abbildung 119	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für H-Vollmilch nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	218
Abbildung 120	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Eier nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	218
Abbildung 121	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Geflügel-Morta- della nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	219

Abbildung 122	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Seelachs nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	219
Abbildung 123	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Butter nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	220
Abbildung 124	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Leitungswasser nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	220
Abbildung 125	Anhang 7.23.: Isomerenverteilung von 4-NP für die Biofilm- und Flusswasserproben im Vergleich zum technischen 4-NP Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 1 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	239
Abbildung 126	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 2 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	239
Abbildung 127	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Flusswasser 1 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	240
Abbildung 128	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 3 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	240
Abbildung 129	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 4 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	241
Abbildung 130	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 5 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	241
Abbildung 131	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 6 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	242
Abbildung 132	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 7 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	242
Abbildung 133	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 8 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	243
Abbildung 134	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Flusswasser 2 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	243
Abbildung 135	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 9 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	244
Abbildung 136	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Flusswasser 3 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	244
Abbildung 137	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 10 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	245

Abbildung 138	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Flusswasser 4 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	245
Abbildung 139	Anhang 7.28.: Übersicht über 4-tert.-OP-Gehalte (breite, helle Balken [ng/kg]) und die jeweiligen Fettgehalte (schmale, dunkle Balken [Gewichts-%]) in Lebensmitteln nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP. Der Fettgehalt war vom Hersteller angegeben oder wurde Souci et al., 1994, entnommen.	282

TABELLENVERZEICHNIS

	Seite	
Tabelle 1:	Übersicht über die Gehalte von 4-AP in Lebensmitteln	15
Tabelle 2:	Übersicht über die Gehalte der Abbauprodukte der 4-APnEO in aquatischen Lebewesen im Zeitraum von 1999 bis 2003	21
Tabelle 3:	Verwendete Chemikalien für das Analysenverfahren für 4-NP	25
Tabelle 4:	Übersicht über die 4-NP-Standardlösungen für die GC-MS-Kalibrierung	26
Tabelle 5:	Übersicht über die 4-tert.-OP-Standardlösungen für die GC-MS-Kalibrierung	27
Tabelle 6:	Verwendete Geräte	27
Tabelle 7:	Beschreibung der HPLC-Anlage	31
Tabelle 8:	Gradientenprogramm für die HPLC-Anlage	32
Tabelle 9:	Beschreibung des GC-MS-Systems	34
Tabelle 10:	Einstellungen am GC-MS-System	35
Tabelle 11:	Zusätzliche Chemikalien für das Analysenverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	41
Tabelle 12:	Übersicht über die 4-NP-/4-tert.-OP-Standardlösungen für die GC-MS-Kalibrierung	42
Tabelle 13:	Beschreibung des GC-FID-Systems	42
Tabelle 14:	Einstellungen am GC-FID-System	42
Tabelle 15:	Geänderte Beschreibung des GC-MS-Systems	45
Tabelle 16:	Verwendete Chemikalien für das Analysenverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO	51
Tabelle 17:	Übersicht über die 4-NP-/4-tert.-OP-/4-NP1EO-/4-NP2EO-Standardlösungen für die GC-MS-Kalibrierung	52
Tabelle 18:	Geänderte Einstellungen am GC-FID-System	53
Tabelle 19:	Optimiertes Gradientenprogramm für die HPLC-Anlage	54
Tabelle 20:	Geänderte Einstellungen am GC-MS-System	55

Tabelle 21:	Übersicht über die verwendeten Verfahren zur biochemischen Analytik der Biofilme bzw. der EPS	56
Tabelle 22:	Analyseverfahren für 4-NP: Vergleich der Blindwerte	58
Tabelle 23:	Vergleich der Isomerenverteilung von 4-NP	60
Tabelle 24:	Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP: Vergleich der Blindwerte von 4-NP	61
Tabelle 25:	Gegenüberstellung der beiden Derivatisierungsmethoden	68
Tabelle 26:	Isomerenverteilung von 4-NP1EO und 4-NP2EO	69
Tabelle 27:	Vergleich der Ionenspuren m/z	70
Tabelle 28:	Vergleich des Grundrauschens (TIC-Wert) bei verschiedenen Derivatisierungslösungen	78
Tabelle 29:	Verhältnis der 4-AP nach dem Analyseverfahren für 4-NP	84
Tabelle 30:	Übersicht über die Differenzen der Verteilungen der einzelnen Isomere zwischen der jeweiligen Probe (Blindwert korrigiert) und dem technischen 4-NP bestimmt nach dem Analyseverfahren für 4-NP. Ein negativer Wert bedeutet, dass der Anteil des Isomers in der Probe kleiner, ein positiver, dass der Anteil in der Probe größer als in dem technischen 4-NP war.	86
Tabelle 31:	Verhältnisse der 4-AP nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	91
Tabelle 32:	Übersicht über die Differenzen der Verteilungen der einzelnen Isomere zwischen der jeweiligen Probe (Blindwert korrigiert) und dem technischen 4-NP bestimmt nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP. Ein negativer Wert bedeutet, dass der Anteil des Isomers in der Probe kleiner, ein positiver, dass der Anteil in der Probe größer als in dem technischen 4-NP war.	93
Tabelle 33:	Übersicht über die bestimmten Gehalte, die zur Berechnung der 'daily-intakes' verwendet wurden	98
Tabelle 34:	Verzehrwerte von Schmelzflocken in g/Tag aus der DONALD-Studie nach den Angaben des Forschungsinstitutes für Kinderernährung in Dortmund	99
Tabelle 35:	'Daily-intakes' für 4-NP von Schmelzflocken in µg/Tag	100

Tabelle 36:	Übersicht über die berechneten 'daily-intakes' für 4-NP in $\mu\text{g}/\text{Tag}$	100
Tabelle 37:	Übersicht über die berechneten 'daily-intakes' für 4-tert.-OP in ng/Tag	101
Tabelle 38:	Übersicht über die ausgewählten 'daily-intakes' für 4-NP in $\mu\text{g}/\text{Tag}$ [in Fett- und Kursiv-Schrift die maximalen Werte]	101
Tabelle 39:	Übersicht über die ausgewählten 'daily-intakes' für 4-tert.-OP in ng/Tag [in Fett- und Kursiv-Schrift die maximalen Werte]	102
Tabelle 40:	Übersicht über die prozentualen Verhältnisse von 4-tert.-OP zu 4-NP für die ausgewählten 'daily-intakes' [in Fett- und Kursiv-Schrift die maximalen Werte]	102
Tabelle 41:	Übersicht über die ausgewählten 'daily-intakes' bezogen auf das Körpergewicht für 4-NP in $\mu\text{g}/\text{Tag}\cdot\text{kg}$ Körpergewicht [in Fett- und Kursiv-Schrift die maximalen Werte]	103
Tabelle 42:	Übersicht über die ausgewählten 'daily-intakes' bezogen auf das Körpergewicht für 4-tert.-OP in $\text{ng}/\text{Tag}\cdot\text{kg}$ Körpergewicht [in Fett- und Kursiv-Schrift die maximalen Werte]	103
Tabelle 43:	Gehalte von anderen, teilweise estrogenen Substanzen in Human-Proben	105
Tabelle 44:	Gehalt von anderen, teilweise estrogenen Substanzen in Muttermilch-Proben	106
Tabelle 45:	Gehalte von anderen, teilweise estrogenen Substanzen in Säuglings- und Kleinkindernahrung	107
Tabelle 46:	Übersicht über die umgerechneten 4-AP-Gehalte pro g Trockenmasse	111
Tabelle 47:	Gehalte der 4-AP in Biofilm- und Flusswasser-Proben und die berechneten Verhältnisse von 4-tert.-OP / 4-NP	112
Tabelle 48:	Übersicht über die Differenzen der Verteilungen der einzelnen Isomere zwischen der jeweiligen Biofilm- bzw. Flusswasserprobe (Blindwert korrigiert) und dem technischen 4-NP bestimmt nach dem Analysenverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP. Ein negativer Wert bedeutet, dass der Anteil des Isomers in der Probe kleiner, ein positiver, dass der Anteil in der Probe größer als in dem technischen 4-NP war.	114
Tabelle 49:	Akkumulationsfaktoren für 4-NP und 4-tert.-OP	117

Tabelle 50:	Überblick über die LOEC-Werte von 4-AP im Bezug auf estrogene Wirkungen für aquatische Lebewesen	119
Tabelle 51:	Übersicht über die Koloniezahlen der Biofilmproben	120
Tabelle 52:	Übersicht über die Ergebnisse der Bestimmung wichtiger Inhaltsstoffe in den Biofilmproben	121
Tabelle 53:	Übersicht über die Verhältnisse der Konzentrationen der Inhaltsstoffe zueinander in den EPS und über die Verhältni- se der Biofilm- zu den EPS-Konzentrationen des jeweiligen Inhaltsstoffes	122
Tabelle 54:	Überblick über die biochemische Zusammensetzung in den EPS verschiedener Biofilmproben, mit einem Ionenaustau- scher extrahiert [Wuertz et al., 2003]	123
Tabelle 55:	Anhang 7.1.: Übersicht über die Gehalte der Abbauprodukte der 4-APnEO in der Umwelt im Zeitraum von 1982 bis 2003	143
Tabelle 56:	Anhang 7.2.: Übersicht über die Gehalte der Abbauprodukte der 4-APnEO in Luft- und Staubproben im Zeitraum von 1999 bis 2002	147
Tabelle 57:	Anhang 7.3.: Übersicht über die NOEC bzw. NOED für 4-AP und andere Xenoestrogene in Tierversuchen im Zeitraum von 1995 bis 2002	148
Tabelle 58:	Anhang 7.4.: Übersicht über Gehalte in Kosmetika und Be- darfsgegenständen und den Übergang in Lebensmittel im Zeitraum 1997 bis 2001	150
Tabelle 59:	Anhang 7.5.: Proben nach dem Analyseverfahren für 4-NP	151
Tabelle 60:	Anhang 7.6.: Weitere Einstellungen des Autosamplers	152
Tabelle 61:	Anhang 7.7.: Herkunft und Art der Biofilm- und Flusswasser- proben	153
Tabelle 62:	Anhang 7.8.: Bestimmung der Isomerenverteilung von 4-NP	156
Tabelle 63:	Anhang 7.9.: Bestimmung der Isomerenverteilung von 4- NP1EO	157
Tabelle 64:	Anhang 7.10.: Bestimmung der Isomerenverteilung von 4- NP2EO	158
Tabelle 65:	Anhang 7.11.: Übersicht über 4-NP-Mengen in Säuglings- und Kleinkindernahrung nach dem Verfahren für 4-NP	159

Tabelle 66:	Anhang 7.12.: Übersicht über 4-NP-Mengen in Säuglings- und Kleinkindernahrung nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	161
Tabelle 67:	Anhang 7.15.: Übersicht über 4-tert.-OP-Mengen in Säuglings- und Kleinkindernahrung nach dem Verfahren für 4-NP	182
Tabelle 68:	Anhang 7.16.: Isomerenverteilung von 4-NP für die Proben nach dem Analyseverfahren für 4-NP im Vergleich zum technischen 4-NP	194
	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Hypoallergene Säuglingsanfangsnahrung 1 nach dem Analyseverfahren für 4-NP	
Tabelle 69:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isoomerenverteilung für Hypoallergene Säuglingsanfangsnahrung 2 nach dem Analyseverfahren für 4-NP	194
Tabelle 70:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isoomerenverteilung für Hypoallergene Folgemilchnahrung 1 nach dem Analyseverfahren für 4-NP	195
Tabelle 71:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isoomerenverteilung für Folgemilchnahrung 2 nach dem Analyseverfahren für 4-NP	195
Tabelle 72:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Schinkennudeln in Tomatensauce nach dem Verfahren für 4-NP	196
Tabelle 73:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Rindfleischzubereitung mit Reis und Kartoffeln nach dem Verfahren für 4-NP	196
Tabelle 74:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Reis-Gemüsecreme mit Hühnchen nach dem Verfahren für 4-NP	197
Tabelle 75:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Broccoli, Kartoffeln und Putenfleisch nach dem Verfahren für 4-NP	197
Tabelle 76:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Tomatengemüse, Spaghetti und Schweinefleisch nach dem Verfahren für 4-NP	198
Tabelle 77:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Frühkarotte nach dem Verfahren für 4-NP	198
Tabelle 78:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Reis mit Apfel nach dem Verfahren für 4-NP	199
Tabelle 79:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Mehrkornbrot nach dem Verfahren für 4-NP	199

Tabelle 80:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Grießbrei mit Vanille nach dem Verfahren für 4-NP	200
Tabelle 81:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Grießbrei Schoko nach dem Verfahren für 4-NP	200
Tabelle 82:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Butterkeks-Milchbrei nach dem Verfahren für 4-NP	201
Tabelle 83:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Milchbrei Banane nach dem Verfahren für 4-NP	201
Tabelle 84:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Pfirsich-Maracuja mit Joghurt nach dem Verfahren für 4-NP	202
Tabelle 85:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Pfirsich mit Honig nach dem Verfahren für 4-NP	202
Tabelle 86:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Südfrüchte in Apfelsaft nach dem Verfahren für 4-NP	203
Tabelle 87:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Melissentee mit Traubensaft nach dem Verfahren für 4-NP	203
Tabelle 88:	Anhang 7.16.: 4-NP-Isomerenverteilung für Raffinade-Zucker nach dem Verfahren für 4-NP	204
Tabelle 89:	Anhang 7.17.: Proben nach dem Analysenverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	205
Tabelle 90:	Anhang 7.18.: Übersicht über 4-tert.-OP-Mengen in Säuglings- und Kleinkindernahrung nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	207
Tabelle 91:	Anhang 7.19.: Isomerenverteilung von 4-NP für die Proben nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP im Vergleich zum technischen 4-NP Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Muttermilch 1 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	221
Tabelle 92:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Muttermilch 2 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	221
Tabelle 93:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Säuglingsanfangsnahrung nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	222
Tabelle 94:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Folgemilchnahrung nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	222

Tabelle 95:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Reis-Gemüse- creme mit Huhn nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	223
Tabelle 96:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Frühkarotte nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	223
Tabelle 97:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Schmelzflocken nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	224
Tabelle 98:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Milchfertigbrei mit Grieß nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	224
Tabelle 99:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Baby-Apfel nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	225
Tabelle 100:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Apfel-Banane mit Quark nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	225
Tabelle 101:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Apfel-Getreide Brei nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	226
Tabelle 102:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Zwieback nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	226
Tabelle 103:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für 'Milder Apfelsaft' nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	227
Tabelle 104:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Babytee nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	227
Tabelle 105:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Cornflakes nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	228
Tabelle 106:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für gekochte Kartof- feln nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	228
Tabelle 107:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Karotte nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	229
Tabelle 108:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Banane nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	229
Tabelle 109:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für H-Vollmilch nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	230
Tabelle 110:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Eier nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	230
Tabelle 111:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Geflügel-Morta- della nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	231

Tabelle 112:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Seelachs nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	231
Tabelle 113:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Butter nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	232
Tabelle 114:	Anhang 7.19.: 4-NP-Isomerenverteilung für Leitungswasser nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	232
Tabelle 115:	Anhang 7.20.: Übersicht über die 'daily-intakes' von 4-NP in µg/Tag·kg Körpergewicht für Säuglinge und Kleinkinder	233
Tabelle 116:	Anhang 7.20.: Übersicht über die 'daily-intakes' von 4-tert.-OP in ng/Tag·kg Körpergewicht für Säuglinge und Kleinkinder	234
Tabelle 117:	Anhang 7.21.: Übersicht über 4-NP-Mengen in Biofilm- und Flusswasserproben nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	235
Tabelle 118:	Anhang 7.22.: Übersicht über 4-tert.OP-Mengen in Biofilm- und Flusswasserproben nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	237
Tabelle 119:	Anhang 7.23.: Isomerenverteilung von 4-NP für die Biofilm- und Flusswasserproben im Vergleich zum technischen 4-NP Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 1 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	246
Tabelle 120:	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 2 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	246
Tabelle 121:	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Flusswasser 1 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	247
Tabelle 122:	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 3 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	247
Tabelle 123:	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 4 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	248
Tabelle 124:	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 5 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	248
Tabelle 125:	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 6 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	249
Tabelle 126:	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 7 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	249

Tabelle 127:	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 8 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	250
Tabelle 128:	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Flusswasser 2 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	250
Tabelle 129:	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 9 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	251
Tabelle 130:	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Flusswasser 3 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	251
Tabelle 131:	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 10 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	252
Tabelle 132:	Anhang 7.23.: 4-NP-Isomerenverteilung für Flusswasser 4 nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	252
Tabelle 133:	Anhang 7.24.: Differenzen prozentualer 4-NP-Verteilungen zwischen der Biofilm- und der entsprechenden Flusswasserprobe	253
Tabelle 134:	Anhang 7.25.: Übersicht über die MS/MS-Methode im SRM Scan MS/MS-Modus für alle Analyten	254
Tabelle 135:	Anhang 7.26.: Übersicht über die Verzehrswerte in g/Tag aus der DONALD-Studie nach den Angaben des Forschungsinstitutes für Kinderernährung in Dortmund Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Muttermilch [g/Tag]	257
Tabelle 136:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Säuglingsanfangsnahrungen [g Trockengewicht/Tag]	258
Tabelle 137:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Folgemilchnahrungen [g Trockengewicht/Tag]	259
Tabelle 138:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für kommerzielle Fleisch-Gemüse-Breie [g/Tag]	260
Tabelle 139:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für kommerzielle, vegetarische Menüs [g/Tag]	261
Tabelle 140:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für kommerzielle Säuglingsgetreideprodukte [g Trockengewicht/Tag]	262
Tabelle 141:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für kommerzielle Milchbreie [g verzehrfertige Mengen/Tag]	263
Tabelle 142:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für kommerzielles Obstpüree [g/Tag]	264

Tabelle 143:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für kommerzielles Obstpüree mit Milchprodukten [g/Tag]	265
Tabelle 144:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für kommerzielle Getreide-Obst-Breie [g/Tag]	266
Tabelle 145:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Säuglings- und Kleinkinderkekse bzw. Zwieback [g/Tag]	267
Tabelle 146:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Säfte für Säuglinge und Kleinkinder [g/Tag]	268
Tabelle 147:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Säuglings- und Kleinkindertee [g verzehrfertiger Tee/Tag]	269
Tabelle 148:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Brot und Getreideflocken [g/Tag]	270
Tabelle 149:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Beilagen [g/Tag]	271
Tabelle 150:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Gemüse und Gemüseprodukte [g/Tag]	272
Tabelle 151:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Obst und Obstprodukte [g/Tag]	273
Tabelle 152:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Milch und Milchprodukte [g/Tag]	274
Tabelle 153:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Eier und Eierprodukte [g/Tag]	275
Tabelle 154:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Fleisch und Wurstwaren [g/Tag]	276
Tabelle 155:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Fisch und Fischprodukte [g/Tag]	277
Tabelle 156:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Fette und Öle [g/Tag]	278
Tabelle 157:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Süßigkeiten und Gebäck [g/Tag]	279
Tabelle 158:	Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Getränke [g/Tag]	280
Tabelle 159:	Anhang 7.27.: Übersicht über die Gewichte der Probanden in kg aus der DONALD-Studie nach den Angaben des Forschungsinstitutes für Kinderernährung in Dortmund Anhang 7.27.: Gewicht der Probanden [kg]	281

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

4-AP	4-Alkylphenole
4-AP1EC	4-Alkylphenolessigsäure
4-AP2EC	4-Alkylphenoethoxyessigsäure
4-AP1EO	4-Alkylphenolmonoethoxylat
4-AP2EO	4-Alkylphenoldiethoxylat
4-APEO	4-Alkylphenolpolyethoxylate
4-APnEO (n = 1 - 100)	4-Alkylphenoethoxylate mit n Ethoxyeinheiten
4-CAPEC	4-Carboxylalkylphenoethoxycarboxylate
4-NP	4-Nonylphenol
4-n-NP	4-NP-Isomer mit linearer Alkylkette, verwendet als ISTD
4-NPEO	4-Nonylphenolpolyethoxylate
4-NPnEO (n = 1 - 100)	4-Nonylphenoethoxylate mit n Ethoxyeinheiten
4-NP1EO	4-Nonylphenolmonoethoxylat
4-NP2EO	4-Nonylphenoldiethoxylat
4-NP-Isomere	4-Nonylphenol-Isomere
4-tert.-OP	4-tertiär-Octylphenol
AcCN	Acetonitril
amu	atomic mass unit
A.-Zeit	Anregungszeit, in der die Anregungsspannung eingeschaltet ist
A.-Spannung	Anregungsspannung
BCF	Bio Concentration Factor
BF	Biofilm
BG	Bestimmungsgrenze
BUA	Bundesumweltamt
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
c	Konzentration
ca.	circa
CAP	Collision Activated Decomposition
CAS	Chemical Abstract Service
CEFIC	European Chemical Industry Council
CID	Collosion Induced Dissociation
cm	Zentimeter
cm ²	Quadratcentimeter
CMTS	Chlortrimethylsilan
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
DAPI	4', 6-Diamidino-2-phenylindol
DDE	Dichlordiphenyldichlorethan
DDT	Dichlordiphenyltrichlorethan
Der.-Lsg.	Derivatisierungslösung
DES	Diethylstilbestrol

DONALD-Studie	Dortmund Nutritional and Anthropometric Longitudinally Designed-Study
EC	European Commission (Europäische Kommission)
€	Euro
EPS	Extrazelluläre polymere Substanzen
ER	Estrogen-Rezeptor
etc.	und so weiter
EU	Europäische Union
eV	Elektronenvolt
FE	Flächeneinheiten
FID	Flammenionisationsdetektor
Fl.	Fläche
FS	Full Scan
FW	Flusswasser
FZ Jülich	Forschungszentrum Jülich
g	Gramm
G	Gehalt
GB	Großbritannien
GC	Gaschromatograph / Gaschromatographie
GC-FID	Gaschromatograph mit gekoppeltem
GC-MS	Gaschromatograph mit gekoppeltem Massenspektrometer
GCQ	Typenbezeichnung des GC-MS-Ionenfallengerätes
Geb.	Gebäude
GSTD	Gerätestandard
h	Stunde
HCB	Hexachlorbenzol
HCH	Hexachlorcyclohexan
HPC	Heterotrophic Plate Count (Quantifizierung heterotropher Wasserbakterien)
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie
HS-Wert	Konzentration der Huminstoffe
I.D.	Innendurchmesser
incl.	inklusive
ISTD	Interner Standard
KAA	Kläranlagenablauf
KAS	Kläranlagenschlamm
KAZ	Kläranlagenzulauf
KbE	Kolonie bildenden Einheiten
kg	Kilogramm
KH-Wert	Konzentration der Kohlenhydrate
KOH	Kaliumhydroxid
L	Liter
LC ₅₀	Letale Konzentration, bei der die Hälfte aller Versuchstiere gestorben ist
LD ₅₀	Letale Dosis, bei der die Hälfte aller Versuchstiere gestorben ist
LOEC	Low Observable Effect Concentration

log K _{OW}	Dekadischer Logarithmus des Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten
LUA	Landesumweltamt
LV-Injektor	Large-Volume-Injektor
PTV-Injektor	Programmed temperature Vaporisation
µg	Mikrogramm
µL	Mikroliter
µm	Mikrometer
µV	Mikrovolt
m	Absolutmasse
m	Meter
mg	Milligramm
min	Minute
mL	Milliliter
mm	Millimeter
mol	Einheit der Stoffmenge
ms	Millisekunde
M	Mittelwert
MI	Mutterion
MS	Massenspektrometrie / Massenspektrometer
MS/MS	Tandem Massenspektrometrie bzw. Speicherung von Ionen in der Ionenfalle mit nachfolgender sekundärer Fragmentierung
MSTFA	N-Methyl-N-tert-trimethylsilyltrifluoracetamid
MTBSTFA	N-Methyl-N-tert-butyltrimethylsilyltrifluoracetamid
m/z	Masse-Ladungsverhältnis
ND	not detected
n.a.	nicht auswertbar
n.b.	nicht bestimmt
ng	Nanogramm
NG	Nachweisgrenze
nm	Nanometer
n.n.	nicht nachweisbar
NOEC	No Observable Effect Concentration
NOED	No Observable Effect Dose
Nr.	Nummer
NRW	Nordrhein-Westfalen
n.z.b.	nicht zu berechnen
OECD	Organisation of Economic Co-operation and Development
PARCOM	Pariser Kommission
PCB	polychlorierte Biphenyle
PCDD	polychlorierte Dibenzodioxine
PCDF	polychlorierte Dibenzofurane
pH	pH-Wert
POP	Persistent Organic Pollutant
ppb	parts per billion (1 : 10 ⁹)

ppm	parts per million (1 : 10 ⁶)
ppt	parts per trillion (1 : 10 ¹²)
%	Prozent
Pr-Wert	Konzentration der Proteine
psi	pounds per square inch
q	Parameter, der die Anregung der Tochterionen beeinflusst
R	organischer Rest
RRF	relative Responsefaktoren
s	Sekunde
± s	Standardabweichung
s.	siehe
SRM	Selected Reaction Monitoring
STABW	Standardabweichung
∑ ...	Summe der ...
S.-Zeit	Sammlungszeit, in der das Mutterion gesammelt wird
t/a	Tonnen pro Jahr
2,3,7,8-TCDD	2,3,7,8-Tetrachlordibenzo(1,4)dioxin
TI	Tochterion
TIC	Total Ion Current
TM	Trockenmasse
TMCS	Chlortrimethylsilan
tr.	Trocken
u.a.	und andere
UBA	Umweltbundesamt
USA	United States of America
V	Volt
V	Volumen
Veith-Kühler	Kühler nach Veith und Kiwus
Vol.-%	Volumen-Prozent
VSV	Vakuum-Sicherheitsverschluss
v/v	Verhältnisangabe in Volumen
WF	Wiederfindung
WGK	Wassergefährdungsklasse
WHO	World Health Organisation
WWF	World Widelife Found for Nature
z.B.	zum Beispiel

1. Einleitung

In die Umwelt eingebrachte natürliche und künstliche Substanzen vermögen das hormonelle Gleichgewicht von Organismen empfindlich zu stören. Dieses Umweltproblem existiert seit geraumer Zeit, aber die Belastung der Umwelt mit hormonell-aktiven Substanzen ist erst seit den 90er Jahren des vergangenen Jahrhunderts in den Blickpunkt von Wissenschaft und Öffentlichkeit gerückt. Dabei waren der erste Estrogentest bereits in den 20er Jahren entwickelt und erste Untersuchungen in den 50er Jahren des vergangenen Jahrhunderts durchgeführt worden. In dem viel beachteten Buch 'Unsere bedrohte Zukunft' ('Our stolen future') [Colborn et al., 1996] zeigt Theo Colborn mit Hilfe der zusammengetragenen Beispiele sehr deutlich welche Folgen hormonell-aktive Substanzen in der Umwelt verursachen können. Im Vordergrund der derzeitigen Diskussion stehen körperfremde Hormone, so genannte Xenohormone, mit estrogener Wirkung. Dazu gehören unter anderem Phytoestrogene (von Pflanzen gebildet, wie z.B. Genistein), Mykoestrogene (von Pilzen gebildet, wie z.B. Zearalenol), polychlorierte Biphenyle, DDT, Bisphenol A, einige Zinn-organische Verbindungen und die Abbauprodukte der 4-Alkylphenoethoxylate (4-APEO).

Die Einführung der 4-APEO begann in den 40er Jahren des vergangenen Jahrhunderts und sie gehören mittlerweile zu der mengenmäßig größten Klasse nichtionischer Tenside. Nach ihrem Einsatz in Reinigungsmitteln gelangen die biologischen Abbauprodukte größtenteils über die Kläranlagen als Abwässer in die aquatische und als Klärschlamm in die terrestrische Umwelt. Bei dem biologischen Abbau entstehen folgende Hauptabbauprodukte: 4-Nonylphenol (4-NP), 4-tertiär-Octylphenol (4-tert.-OP), 4-Nonylphenolmonoethoxylat (4-NP1EO) und 4-Nonylphenoldiethoxylat (4-NP2EO).

Neben der Belastung für die Umwelt ist vor allem die Belastung des Menschen von großem Interesse. Dabei spielt insbesondere die perorale Aufnahme, also die über die Nahrung, eine wesentliche Rolle. Diese Substanzen gelangen auf verschiedensten Eintragswegen in die Lebensmittel. Sie können als Hilfs- oder Wirkstoff in Pflanzenschutzmitteln direkt in pflanzliche oder indirekt in tierische Lebensmittel, als Kunststoffadditiv über Verpackungsmaterialien für Lebensmittel, nach ihrem Einsatz als Reinigungsmittel in der Lebensmittelindustrie und/oder über das Trinkwasser beim Behandeln oder Zubereiten von Lebensmitteln in diese gelangen. Aus toxikologischer Sicht ist es wichtig, die tägliche Aufnahmemenge über die Nahrung, den so genannten 'daily-intake', abschätzen zu können. Diese Abschätzung sollte für Säuglinge und Kleinkinder extra durchgeführt werden, da sich die Ernährung von Säuglingen und Kleinkindern sowohl quantitativ als auch qualitativ von der der Erwachsenen unterscheidet. Zusätzlich besitzen sie eine größere Empfindlichkeit gegenüber Störungen von hormonell-aktiven Substanzen, da sie sich noch in der Entwicklungsphase befinden.

1.1. Eigenschaften der 4-Alkylphenole (4-AP) und der 4-Alkylphenol-ethoxylate (4-APEO)

1.1.1. Stoffdaten, Darstellung und Verwendung

Alkylphenole sind Phenol-Derivate, die am aromatischen Ring eine oder mehrere Alkylgruppen tragen. Sie umfassen eine große Substanzklasse mit ca. 130 Einzelverbindungen. Im Folgenden geht es um Alkylphenole mit einer C₉- (Nonylphenol) bzw. C₈-Alkylgruppe (Octylphenol).

4-Nonylphenol (4-NP):

Bei der technischen Synthese von Nonylphenol wird Phenol in einem säurekatalysierten Prozess mit einer Mischung von Nonen-Isomeren zu Nonylphenol alkyliert. Dabei entsteht das technische Nonylphenol-Gemisch (CAS-Nr.: 25154-52-3) mit einer 1-/4-Normalverteilung von 1:9 [Leisewitz et al., 1997]. Es ist viskos, farblos bis gelb, besitzt einen phenolartigen Geruch und ist stark wassergefährdend (Wassergefährdungsklasse (WGK) 3). Der Schmelzpunkt des technischen Nonylphenol-Gemisches beträgt 2 °C und der Siedepunkt beträgt 295 °C bei Atmosphärendruck [bgvv, 1999].

Zusätzlich führt die chemische Zusammensetzung des Nonens zu einer komplexen Mischung von Nonylphenolen, die aus Isomeren mit unterschiedlich verzweigten Alkylketten bestehen, so auch beim Hauptprodukt 4-NP [Thiele et al., 1997]. Theoretisch können dabei insgesamt 211 verschiedene 4-NP-Konstitutionsisomere bzw. 548 verschiedene 4-NP-Isomere entstehen, wenn man alle anderen Stereoisomere mit einbezieht [Günther, 2003].

4-NP (s. Abbildung 1) (CAS-Nr.: 84852-15-3) wurde in die WGK 3 bzw. als stark wassergefährdend eingestuft. Die Wasserlöslichkeit beträgt bei 20,5 °C 5,4 mg/L, und der Verteilungskoeffizient $\log K_{OW}$ liegt bei pH 7 je nach Bestimmungsverfahren zwischen 3,28 – 4,48. Die weltweiten Produktionskapazitäten für Nonylphenol lagen bei 450.000 t/a. [Gülden et al., 1997; Leisewitz et al., 1997; Rippen, 2003]

In Westeuropa wurden nach Leisewitz et al., 1997, ca. 50 % des produzierten 4-NPs als chemisches Zwischenprodukt für die Kunststoffindustrie verwendet. Es wurde als Edukt für die Darstellung von Phenolharzen, Antioxidantien (meistens zu Tris-(nonylphenyl)-phosphit) und Härtingsbeschleunigern verwendet. Über 40 % setzte man zu Ethoxylaten um (s. unten) und verwendete sie als Wasch- und Reinigungsmittel, Hilfsstoffe für Pflanzenschutzmittel, Hilfsmittel und als Additiv in der Textil-, Leder-, Papier- Metall- und Zement-Industrie. Des Weiteren wurde es in anderen Bereichen, wie z.B. als Zusatz zu Kosmetika oder in Pestizidformulierungen, eingesetzt.

4-tertiär-Octylphenol (4-tert.-OP):

Die Synthese erfolgt über Trimethylpenten, das entsprechend dem Nonen, mit Phenol zu 4-tert.-OP (4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)phenol) umgesetzt wird.

4-tert.-OP (s. Abbildung 1) (CAS-Nr.: 140-66-2) wurde in die WGK 2 bzw. als wassergefährdend eingestuft. Die Wasserlöslichkeit beträgt bei 20,5 °C 12,6 mg/L, und der Verteilungskoeffizient $\log K_{OW}$ liegt bei 3,96.

Es dient als Zwischenprodukt zur Darstellung der 4-Octylphenoethoxylate (s. unten). Der weltweite Verbrauch an 4-tert.-OP lag 1995 bei 450 t/a. [Gülden et al., 1997; Leisewitz et al., 1997; Rippen, 2003]

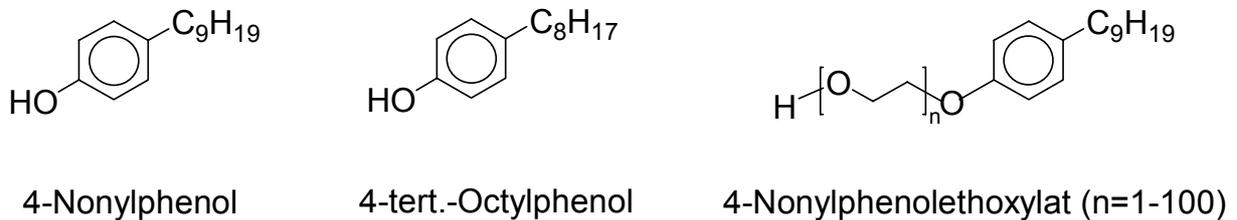


Abbildung 1: Strukturformeln der 4-AP und der 4-NPnEO

Alkylphenoethoxylate (4-APEO):

Die Darstellung der 4-APnEO ($n = 1 - 100$), die zur Klasse der nichtionischen Tenside gehören, erfolgt durch eine Ethoxylierung der Alkylphenole mit KOH/Ethanol als Katalysator. Dabei wird ein bekanntes, molares Verhältnis zwischen Ethylenoxid und Alkylphenol eingesetzt. Die Produkte bestehen aus einer Mischung von oligomeren Homologen mit einer unterschiedlichen Länge der Polyethoxylatkette, die der Poisson-Verteilung entspricht [Thiele et al., 1997]. Die Literatur besagt, dass 80 bis 90 % aller 4-APnEO die Nonylphenoethoxylate (4-NPEO) ausmachen [Günther et al., 2001; Sabik et al., 2003]. Dabei werden für technische Produkte 4-NPnEO mit $n = 100$ Ethoxylateinheiten verwendet, wobei in Reinigungsmitteln 4-NPnEO mit $n = 9 - 10$ Ethoxylateinheiten dominieren [Gülden et al., 1997].

Die Einführung der 4-APnEO begann in den 40er Jahren des vergangenen Jahrhunderts [White et al., 1994]. Mittlerweile werden alleine von den 4-NPnEO (s. Abbildung 1) weltweit 650.000 t/a dargestellt und ein Umsatz von 600 Millionen € erzielt [Günther et al., 2002a]. Dabei handelt es sich um die mengenmäßig größte Klasse nichtionischer Tenside.

4-Nonylphenolmonoethoxylat (4-NP1EO) besitzt eine Wasserlöslichkeit von 3,02 mg/L bei 20,5 °C und der Verteilungskoeffizient $\log K_{OW}$ liegt bei 4,17. 4-Nonylphenoldiethoxylat (4-NP2EO) hat eine Wasserlöslichkeit von 3,38 mg/L bei 20,5 °C und der Verteilungskoeffizient $\log K_{OW}$ liegt bei 4,21.

1.1.2. Eintrag in der Umwelt

Der Haupteintragsweg der 4-APnEO ($n = 1 - 100$) in die Umwelt verläuft über die geklärten Abwässer. Nach ihrer Anwendung gelangen die 4-APnEO in die Kläranlagen, wo sie einem biologischen Abbau unterliegen. Dabei entstehen verschiedene Abbauprodukte (s. Abbildung 2).

Einerseits wird unter aeroben Bedingungen die Ethoxylatkette bis zum 4-Alkylphenolmonoethoxylat & -diethoxylat (4-AP1EO & 4-AP2EO) abgebaut und es kann eine Oxidation zu der 4-Alkylphenolessigsäure & -ethoxyessigsäure (4-AP1EC & 4-AP2EC) stattfinden. Andererseits entstehen unter anaeroben Bedingungen ebenfalls 4-AP1EO & 4-AP2EO und darüber hinaus findet ein vollständiger Abbau der Ethoxylatkette bis hin zum freien 4-AP statt [Thiele et al., 1997].

Die Tabelle 55 'Anhang 7.1.: Übersicht über die Gehalte der Abbauprodukte der 4-APnEO in der Umwelt im Zeitraum von 1982 bis 2003' zeigt unter anderem, dass die Gehalte in Klärschlamm und Sedimenten im Vergleich zu den ebenfalls aufgelisteten Gehalten in Kläranlagen- oder Oberflächenwasser um ein vielfaches höher sind. Des Weiteren sind aus der Tabelle folgende Literaturstellen hervorzuheben:

- Isobe et al., 2001, konnten Gehalte an 4-AP mit maximalen Konzentrationen in Sedimenten, die aus den frühen 70er Jahre stammten, nachweisen.
- Einen weiteren Beweis für die Persistenz von 4-AP erbrachten Bøgh et al., 2001. Sie konnten in der Leber von Lämmern Alkylphenole nachweisen, die auf Weiden, die mit Klärschlamm behandelt worden waren, grasten.
- Besonders hohe Gehalte an 4-NP fanden Tanghe et al., 1999, und Blackburn et al., 1995, in Kläranlagenabläufen aus der Textilindustrie und in Flusswasser, in das geklärte Abwässer aus der Textilindustrie geleitet wurden.
- 4-NP wurde sowohl in Bodenproben von einem mit Zuckerrüben bestellten Feld, als auch in Bodenproben von unbelasteten Kontrollböden, incl. Waldböden, nachgewiesen [UBA, Kubiak, 2001].

Deswegen ist es nicht verwunderlich, dass die Europäische Kommission in der Empfehlung über die Ergebnisse der Risikobewertung und die Risikobegrenzungsstrategien unter anderem für 4-NP [EC, 2001a] folgende Aussagen über den Lebensraum Wasser und Boden gemacht hat:

Es sind weitere Informationen und/oder Prüfungen notwendig, da Bedenken hinsichtlich lokaler und regionaler Auswirkungen im Lebensraum Wasser einschließlich der Sedimente und Bedenken hinsichtlich der Auswirkungen im Lebensraum Boden bestehen.

Im Gegensatz dazu zeigten verschiedene Abbaubarkeitsstudien, dass 4-NP in Böden schnell von Mikroorganismen mineralisiert wird [Topp et al., 1999] und diese Biodegradation und Mineralisierung temperaturabhängig ist [Manzano et al., 1999]. Zusätzlich konnten Gianotti et al., 1998, für 4-NP einen Fotoabbau durch sichtbares Licht belegen. Nach dem Bericht der Risikoabschätzung [JRC, 2002] wird 4-NP in der Atmosphäre wahrscheinlich durch die Reaktion mit Hydroxyl-Radikalen abgebaut und besitzt eine Halbwertszeit von 0,3 Tagen. Dagegen sprechen die in der Literatur gefundenen Gehalte, die in der Tabelle 56 'Anhang 7.2.: Übersicht über die Gehalte der Abbauprodukte der 4-APnEO in Luft- und Staubproben im Zeitraum von 1999 bis 2002' zusammengefasst wurden. Teilweise lagen die Konzentrationen um den Faktor 100 höher als die der polychlorierten Biphenyle (PCB). Trotzdem kam die Europäische Kommission in der Empfehlung über die Ergebnisse der Risikobewertung und die Risikobegrenzungsstrategien unter anderem für 4-NP [EC, 2001a] zu folgendem Ergebnis: Für 4-NP in der Atmosphäre, werden vorläufig keine weiteren Informationen und/oder Prüfungen oder andere als die bereits ergriffenen Risikobegrenzungsmaßnahmen für notwendig erachtet.

Bereits 1986 wurde in Deutschland von betroffenen Industrieverbänden eine freiwillige Verzichtserklärung über die Verwendung von 4-APEO in Wasch- und Reinigungsmitteln unterzeichnet. Danach sollten ab Ende 1986 keine 4-APEO mehr in Haushaltswasch- und Reinigungsmitteln verarbeitet werden und innerhalb von sechs Jahren sollten auch in Textil-, Papier- und Lederhilfsmitteln keine 4-APEO mehr Verwendung finden [BUA, 1988].

Auf europäischer Ebene wurde nach der Pariser Konvention (PARCOM) die Empfehlung 92/8 herausgegeben, die ein Verzicht der 4-APEO in Haushaltsreinigern bis 1995 und in Industriereinigern bis 2000 zum Schutz der Meere vorsah. In der Europäischen Union gibt es seit 1994 eine 'Liste prioritärer Stoffe im Bereich der Wasserpolitik', deren Stoffe aufgrund ihrer Eigenschaften besonders gefährlich für Mensch und Umwelt sind und deswegen gezielt beobachtet und bewertet werden sollen. Das technische Nonylphenol-Gemisch (CAS-Nr.: 25154-52-3) wird seit 1995 in der zweiten Liste geführt. Mittlerweile gibt es die vierte Liste mit insgesamt 141 Substanzen, in der seit 2002 auch Tris-(nonylphenyl)-phosphit und 4-NP aufgenommen wurden [ECB, 2003]. In Kanada wurde bereits 1995 vom 'Canadian Environmental Protection Act' vorgeschlagen, 4-NPEO und 4-NP in die Liste toxischer Substanzen (Priority Substances List) aufzunehmen; anschließend wurden die 4-NPEO als toxische Substanzen aufgenommen, nachdem sie in einer Risikoabschätzung als schädlich für die Umwelt eingestuft worden waren [Sabik et al., 2003; Servos et al., 1999].

1.1.3. Wirkungen in der Umwelt

Toxizität:

Nach Rippen, 2003, liegt die letale Dosis, bei der die Hälfte aller Versuchstiere gestorben ist (LD_{50}), für 4-NP bei Ratten nach oraler Exposition zwischen 580 – 2500 mg/kg Körpergewicht und für Kaninchen bei dermalen Exposition zwischen 2000 – 3200 mg/kg Körpergewicht. Dagegen liegen die letalen Konzentrationen, bei der die Hälfte aller Versuchstiere gestorben ist (LC_{50}), für aquatische Lebewesen wesentlich niedriger. Für den Flohkrebs (*Hyalella azteca*) wurde z.B. für 4-NP eine LC_{50} (96 h) von 0,021 mg/L und für die Süßwasser-Muschel (*Anodonta cataraetae*) eine LC_{50} (144 h) von 5,0 mg/L ermittelt. Für 4-tert.-OP gibt Rippen, 2003, eine LC_{50} (96 h) von 0,29 mg/L für Dickkopfritzen (*Pimephales promelas*) an. Servos et al., 1999, gibt eine akute Toxizität (LC_{50}) für 4-NP und 4-tert.-OP von 0,017 – 3 mg/L für Fische, 0,02 – 3 mg/L für wirbellose Tiere und von 0,027 – 2,5 mg/L für Algen an. Für Insekten, wie z.B. die Libelle (*Ophiogomphus sp.*), liegen die Werte mit LC_{50} (96 h) = 0,6 mg/L ähnlich niedrig wie bei den aquatischen Lebewesen. Für die 4-APEO gilt, dass mit kürzerer Ethoxylatkette ein Anstieg der Toxizität nachzuweisen ist. Die Toxizität der 4-Alkylphenolpolyethoxyessigsäure ist unabhängig von der Länge der Ethoxylatkette und vergleichbar mit der Toxizität von 4-APnEO mit $n = 6 - 9$.

Estrogenität:

Beim Ablauf von Lebensvorgängen sind einzelne Zellverbände und Organe des Organismus in bestimmte Funktionseinheiten integriert. Eine solche Integration ist jedoch nur möglich, wenn zwischen den einzelnen Organen ein "Nachrichtensystem" wirksam ist, welches ihre Funktion räumlich und zeitlich so aufeinander abstimmt, dass sich ein "sinnvoller" Ablauf ergibt. Die Kommunikation zwischen den einzelnen Organen kann auf zwei Weisen erfolgen: erstens durch das Nervensystem und zweitens durch das Hormonsystem. Hormone (Begriff aus dem Griechischem: bedeutet soviel wie 'ich errege') fungieren als chemische Botenstoffe, die in endokrinen Organen (z.B. Hoden, Ovarien, Hirnanhangdrüse, Nebennieren) gebildet werden und über den Blutweg ihre Zielorgane erreichen. Dabei binden manche ganz spezifisch und mit einer hohen Affinität an Serum-Proteine, wie z.B. Globuline und Albumine, und werden dadurch inaktiviert [Milligan et al., 1998]. In den Zielorganen steuern die ungebundenen Hormone Lebensfunktionen wie Stoffwechsel, Reifung, Wachstum u.a. Die

Hormonwirkung auf die Zielzelle wird durch so genannte Rezeptoren vermittelt. Hormone und ihre Rezeptoren passen aufgrund ihrer chemischen Struktur wie "Schlüssel und Schloss" zueinander, wodurch die Spezifität der Wirkung des Boten auf die Zielzelle gewährleistet wird. Es stehen viele Substanzen im Verdacht, toxische Wirkungen aufgrund einer Störung des Hormonhaushaltes zu besitzen. Die Störung kann direkt durch Bindung einer Substanz an einen Hormon-Rezeptor, wodurch die Ausschüttung des natürlichen Hormons "nachgeahmt" wird, ausgelöst werden. Neben dieser direkten Wirkung über die Bindung an Hormon-Rezeptoren können körperfremde Hormone (Xenohormone) im Organismus auch indirekt wirken, z.B. durch Beeinflussung des physiologischen Metabolismus von Steroidhormonen in der Leber und anderen Organen, Einwirkung auf das Nervensystem etc. [Karlson, 1989; Krauss, 1997; Devlin, 1997]. Sie sind somit in der Lage eine große Bandbreite von Organen und physiologischen Systemen im menschlichen Körper zu beeinflussen. Dazu zählen nach Kavlock et al., 1996, das reproduktive, endokrine, neurale und metabolische System sowie das Immunsystem, das Verhalten und das Skelett.

Im Vordergrund der derzeitigen Diskussion stehen Xenohormone mit estrogenen Wirkung. Estrogene sind körpereigene Geschlechtshormone, die aus Cholesterol gebildet werden und wie fast alle Hormone endokrinen Drüsen entstammen. Sie gehören von ihrer Struktur zu den Steroiden, wobei der Ring A aus einem Benzenring besteht. Die wichtigsten Vertreter sind 17 β -Estradiol (3,17-Dihydroxy-1,3,5¹⁰-estradien), Estron (3-Hydroxy-17-oxo-1,3,5¹⁰-estradien) und Estriol (3,16 α ,17 β -Trihydroxy-1,3,5¹⁰-estradien) (s. Abbildung 3). Sie sind am Menstruationszyklus beteiligt und regen das Wachstum z.B. des Ovars und des Uterus an. Dabei zeigt 17 β -Estradiol auch hormonelle Aktivität in bestimmten Regionen des Gehirns und es wurde mehrfach eine neuroprotektive Funktion nachgewiesen [Behl et al., 2001]. 17 β -Estradiol und Estron werden hauptsächlich in den Follikeln des Eierstocks gebildet und können im Organismus auf enzymatischem Wege ineinander umgewandelt werden. Bei Frauen liegt abhängig von Zyklusschwankungen die Sekretionsrate von 17 β -Estradiol zwischen 0,1 und 0,5 mg/Tag und der Blutspiegel liegt zwischen 0,2 und 0,6 μ g/L; bei Männern beträgt er 0,02 mg/Tag bzw. 0,15 μ g/L [Buddecke, 1989]. Wobei zu beachten ist, dass 95 % des 17 β -Estradiols an Plasma-Proteine gebunden und damit inaktiviert ist [Toppari et al., 1996].

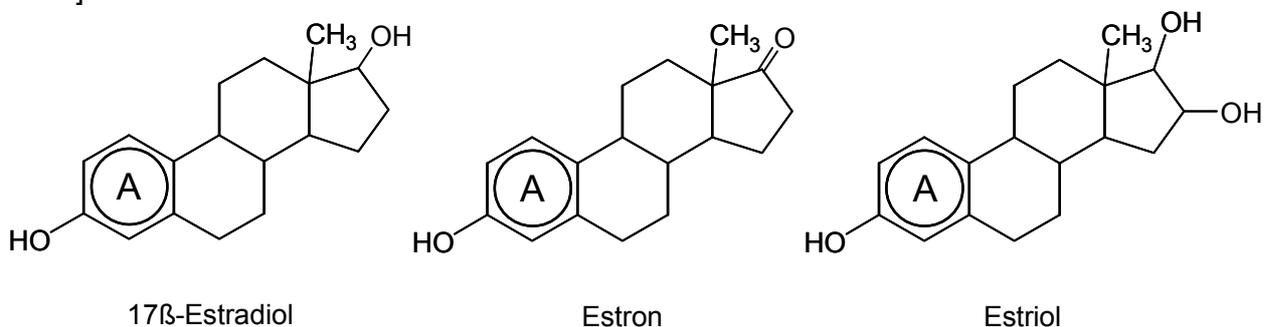


Abbildung 3: Strukturformeln wichtiger, natürlicher Estrogene

Körperfremde Estrogene (Xenoestrogene) können, wie oben beschrieben, direkt oder indirekt Störungen im Hormonhaushalt bewirken. Zu den Xenoestrogenen (s. Abbildung 4) gehören zum einen einige der zwölf 'Persistent Organic Pollutants' (POP) wie PCB, Chlordan, Dichlordiphenyltrichlorethan (DDT) und verschiedene Metabolite und zum anderen einige

Zinn-organische Verbindungen, Bisphenol A, die kurzkettingen Abbauprodukte der 4-APEO (s. unten) und weitere, anthropogene Substanzen (Sonnenschein et al., 1998). Des Weiteren gibt es die so genannten Phytoestrogene, die pflanzlichen Ursprungs sind, wie z.B. einige Isoflavone, wie das Genistein, und Flavonoide, wie das Coumestrol. Zearalenol und Zearalenon sind ebenfalls estrogen-aktiv und zählen zu den so genannten Mykoestrogenen, die von Pilzen gebildet werden. Schließlich gibt es auch noch von Mensch und Tier ausgeschiedene synthetische (17α -Ethinylestradiol, Mestranol) und die oben bereits erwähnten natürlichen Estrogene. Mittlerweile sind mehrere 100 verschiedene Substanzen mit estrogener Aktivität bekannt [Gülden et al., 1997]. Studien wurden veröffentlicht, die die Abnahme der Spermien-dichte und die Zunahme von Hodenkrebs und Hodenmissbildungen mit der Belastung an Xenoestrogenen in Verbindung brachten [Toppari et al., 1996; WWF, 1999]. Swan et al., 2000, hatten 47 zusätzliche Studien aus den Jahren 1934 – 1996 ausgewertet, und kamen zu dem Ergebnis, dass die Spermiedichte in den USA um 1,5 % pro Jahr und in Europa und Australien um 3 % pro Jahr abgenommen hatte.

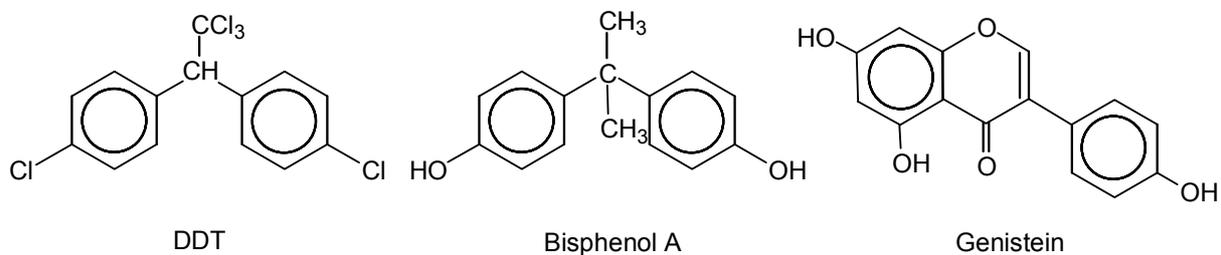


Abbildung 4: Strukturformeln wichtiger, estrogen-aktiver Substanzen

Seit Beginn der 20er Jahre entwickelte sich die Umwelt-Hormon-Forschung stetig weiter. Einige Meilesteine sind im Folgenden aufgeführt [CBR, 2002]:

1923:

- Erster Estrogen-Aktivitäts-Test wurde entwickelt.

1950/68:

- DDT zeigte sich in Säugetieren und Vögeln estrogen-aktiv.

1971:

- Diethylstilbestrol (DES), ein synthetisches Estrogen, wurde mit vaginalem Krebs bei Töchtern, deren Mütter DES während der ersten drei Monate der Schwangerschaft genommen hatten, in Verbindung gebracht.

1991:

- Workshop: Durch Chemikalien verursachte Veränderungen in der geschlechtlichen Entwicklung: Die Verbindung zwischen Wildleben und Mensch
- Inhaltsstoffe von Kunststoffen zeigten estrogen Aktivität im Labor

1993:

- Die Verbindung zwischen Estrogenen in der Umwelt und männlichen Reproduktionsproblemen wurde in wissenschaftlichen Artikeln erwähnt.

1996:

- Das Buch 'Our stolen future' (Unsere bedrohte Zukunft) wurde von Colborn, 1996, veröffentlicht und fasst die Forschung auf dem Gebiet hormonell aktiver Substanzen bis dato zusammen.

- Die Kombination von estrogenen Substanzen zeigten synergistische Effekte in Hefe-Estrogen-Test.

In demselben Jahr einigten sich auf dem europäischen Workshop "Impact of Endocrine Disruptors on Human Health and Wildlife" über 70 Vertreter aus der Wissenschaft, von den Behörden der EU, USA und Japan, von den Institutionen OECD und WHO sowie den Interessenverbänden CEFIC und WWF auf folgende Definition für Xenohormone:

„An endocrine disruptor is a substance or mixture that alters function(s) of the endocrine system and consequently causes adverse health effects in an intact organism, or its progeny, or (sub)populations.“

Diese Definition setzt eine Exposition bei einer bestimmten Dosis voraus, während eine weitere Definition von Xenohormonen von den inhärenten Eigenschaften einer Substanz ausgeht:

„A potential endocrine disruptor is an exogenous substance or mixture that possesses properties that might be expected to lead to endocrine disruption in an intact organism, or its progeny, or (sub)populations.“ [Bolt et al., 2001]

Um die Wirkung von Xenoestrogenen quantitativ vergleichen zu können, gibt es verschiedene 'In vivo'- und 'In vitro'-Testverfahren, die alle 17 β -Estradiol als Bezugsgröße haben. Folgende Übersicht gibt Auskunft über die verschiedensten Testverfahren und deren Endpunkte [Hock et al., 2000]:

'In vivo'-Testverfahren:

Tierversuche/Biomarker:

- Allen-Doisy-Test; Verhornung des Vaginalepithels bei Ratten
- Uterusgewichts-Test; Uterusgewicht bei Nagern
- Vitellogenin-Synthese in Fischen; Nachweis von Vitellogenin im Serum von männlichen Fischen

'In Vitro'-Testverfahren:

Zelluläre Tests:

- Vitellogenin-Synthese in Forellen-Hepatozyten; Produktion von Vitellogenin in Hepatozyten
- E-Screen: Estrogen sensitive Brustkrebs-Zelllinie MCF-7; Bestimmung der Proliferation von MCF-7 Brustkrebszellen nach mehrtägiger Inkubation

Subzelluläre Tests:

- Enzyme-linked Rezeptor-Assays (ELRA); Affinität zum Estrogenrezeptor (ER)
- Estrogen-Radio-Rezeptorassay; Affinität zum ER
- Fluoreszenzpolarisationsassay; Affinität zum ER
- Rezeptorchromatographie; Affinität zum ER

Reporter Gen Assays:

- YES-Assay mit rekombinanten Hefezellen; Messung der β -Galaktosidase Aktivität
- transfizierte HeLa-Zellen; Messung der Luciferase-Aktivität
- transfizierte MCF-7-Zellen; Messung der Luciferase-Aktivität
- DNA-Bindungsassay; Bestimmung der DNA-Bindungseigenschaften des ERs

Sowohl die 'In vivo'- als auch die 'In vitro'-Testverfahren haben Vor- und Nachteile. Die 'In vitro'-Testverfahren schätzen die spezifische, estrogenen Aktivität einer Substanz im Bezug auf ihre Bindung an den ER und Aktivierung von dem ER ab. Dabei werden Faktoren, die ihre Aktivität in einem intakten Organismus beeinflussen, außer Acht gelassen. Dies sind z.B. die Fähigkeit einer estrogen-aktiven Substanz in Zellen einzudringen, ihre Metabolisierungsrate, ihre Bindungsaffinität zu geschlechtshormon-bindenden Serum-Proteinen und die Konzentration von endogenen Estrogenen [Andersen et al., 1999]. Dafür sind sie schnell und preiswert und sind deswegen für Screenings geeignet. Dagegen sind die 'In vivo'-Verfahren teuer und sehr zeitaufwendig, wobei sie andererseits sowohl die Pharmakokinetik, die Metabolisierung als auch die Plasma-Protein-Bindung mitberücksichtigen.

Ein weiteres Problem stellte Andersen et al., 1999, dar. Durch Vergleich von acht verschiedenen 'In vitro'-Testverfahren kam man zu der Erkenntnis, dass sorgfältige Standardisierungen dringend notwendig sind, um eine ausreichende Reproduzierbarkeit zu erreichen. Des Weiteren definierte er folgende Begriffe:

völlig estrogen-aktiv:	> 75 % der Wirkung von 17 β -Estradiol
teilweise estrogen-aktiv:	25 – 75 % der Wirkung von 17 β -Estradiol
schwach estrogen-aktiv:	10 – 25 % der Wirkung von 17 β -Estradiol
nicht estrogen-aktiv:	< 10 % der Wirkung von 17 β -Estradiol

Ein ähnliches Problem bei den 'In vivo'-Verfahren stellten Spearow et al., 1999, fest. Bei Mäusen führten genetische Variationen zu großen Unterschieden bei der Empfindlichkeit (Faktor 16) im Bezug auf estrogenen Störungen. CD-1 Mäuse werden im Allgemeinen am häufigsten in Tierversuchen eingesetzt, sind aber bezogen auf Effekte von estrogenen Substanzen auf die Reproduzierbarkeit ein hoch resistenter Genotyp.

Das Hauptproblem sind nichts desto trotz die Unterschiede zwischen den verschiedenen Tier-Spezies und der Spezies Mensch. Nach NRC, 1993, erschweren unterschiedliche Muster im spezifischen Organwachstum der einzelnen Spezies vergleichende Studien zwischen dem Mensch und typischen Versuchstieren. Ratten sind z.B. bei der Geburt weniger reif als Menschen. Dagegen reifen sie viel schneller in der neonatalen Phase, so dass bereits einige Tage an Alter bei Ratten zu einer geringeren Empfindlichkeit gegenüber toxischen Substanzen führen können. Nach Pryor et al., 2000, beginnt beim Fötus die Organogenese (Entwicklung des Hauptgewebes und des Organsystems) bei Mäusen und Ratten zwischen dem 8. und 15. Tag und beim Menschen zwischen dem 4. und 8. Woche.

Noch komplizierter wird es, wenn man in Betracht zieht, dass es zwei verschiedene ER gibt, den ER α und ER β . Beide ER kommen in Blutgefäßen, der weiblichen Brust, im Uterus und in den Ovarien vor. Der ER α ist vorherrschend im Hoden, Niere und der Nebenniere, wobei der ER β hauptsächlich im menschlichen Gehirn, der Schilddrüse, der Blase, der Prostata, der Lunge und den Knochen vorkommt [Bennetau-Pelissero et al., 2000]. Dabei unterscheiden sie sich in der C-terminalen Bindungsdomain und in der N-terminalen Transaktivierungsdomain. Im Gewebe von Ratten ist nicht nur die Verteilung, sondern auch der relative Expression-Level in verschiedenen Geweben je nach Substanz sehr unterschiedlich [Kuiper et al., 1997]. Dadurch kann es zu Unterschieden in den estrogenen Aktivitäten der Substanzen kommen. Mittels so genannter transfizierter HeLa-Zellen konnten Paris et al., 2002, nach-

weisen, dass 4-tert.-OP eine 2,5-fach höhere Affinität zum ER α als zum ER β hat. Genistein und Bisphenol A haben dagegen eine höhere Affinität zum ER β [Kuiper et al., 1997].

Unabhängig davon konnten Madigou et al., 2001, beim ER von Regenbogenforellen-Hepatozyten zeigen, dass der ER seine Konformation je nach Ligand änderte. So gab es Konformationsunterschiede zwischen gebundenen 4-NP und 17 β -Estradiol.

In Abbildung 5 ist die Kristallstruktur des ER α nach Bindung von 17 β -Estradiol zu sehen. Deutlich ist die Fixierung des 17 β -Estradiols in der Tasche des ER α zu sehen. Es werden dabei Wasserstoffbrückenbindungen (gestrichelte Linien) zwischen dem Liganden und den Aminosäuren des ER gebildet. Aufgrund der unspezifischen Wasserstoffbrückenbindungen und der großen ER-Tasche, die fast doppelt so groß wie 17 β -Estradiol ist, können auch andere Substanzen, wie z.B. die Xenoestrogene dort binden, und eine hormonelle Wirkung hervorrufen.

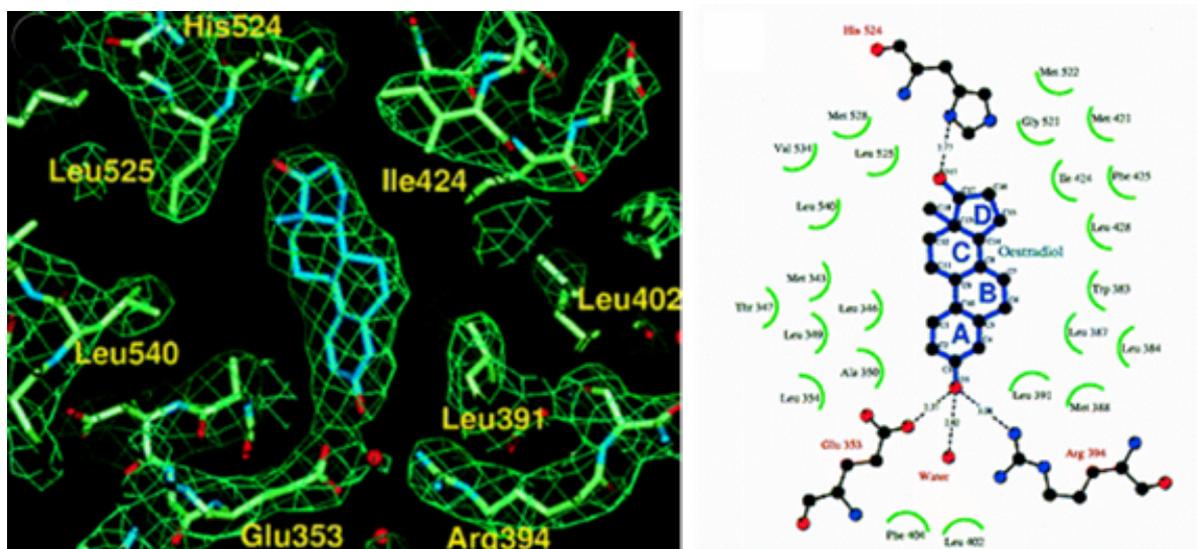


Abbildung 5: Kristallstruktur des ER α nach Bindung von 17 β -Estradiol und schematische Darstellung der Bindung ER α mit 17 β -Estradiol über Wasserstoffbrückenbindungen [Brzozowski et al., 1997]

Estrogenität der Abbauprodukte der 4-APEO:

Den ersten Beweis, dass 4-AP estrogen sein können, wurde Ende der 30er Jahre publiziert. Es waren Fütterungsversuche mit 4-Propylphenol an Ratten durchgeführt worden [Dodds et al., 1938], die zu estrogenen Effekten führten. Müller et al., 1978, fanden 40 Jahre später heraus, dass 4-AP in der Lage sind, 17 β -Estradiol von seinem Rezeptor zu verdrängen. Für die Alkylphenole stellte Gülden et al., 1997, fest, dass sie nur estrogen-aktiv sind, wenn folgendes gegeben ist:

- Alkylgruppe in para-Stellung,
- mehr als vier C-Atome in der Alkylgruppe
- Substanz mit maximal drei Ethoxylateinheiten

Routledge et al., 1997, zeigte, dass Alkylgruppen in para-Stellung mit sechs bis acht C-Atomen im YES-Assay mit rekombinanten Hefezellen die größte Aktivität hatten. Dabei beeinflusste auch die Verzweigung der Alkylgruppe die estrogenen Aktivität. Je nach Isomer unterschied sich die estrogenen Aktivität im YES-Assay mit rekombinanten Hefezellen um den Faktor 10^4 [Günther, 2002b].

Die estrogene Aktivität von 4-NP wurde von Soto et al., 1991, mehr oder weniger zufällig in 4-NP-haltigen Zentrifugenröhrchen aus Polystyrol entdeckt und darauf mehrfach mit unterschiedlichen Testverfahren bestätigt. Es zeigte sich, dass je nach Testverfahren 4-NP und 4-tert.-OP um den Faktor 1.000 bis 10.000 weniger estrogen-aktiv sind als 17 β -Estradiol [Moffat et al., 2001]. White et al., 1994, wiesen mit Hilfe des Vitellogenin-Synthese-Tests in Forellen-Hepatozyten nach, dass 4-tert.-OP 10- bis 20-fach estrogen-aktiver ist als 4-NP. Sie konnten eine Reihenfolge der estrogenen Aktivität, die später von Gülden et al., 1997, mit Hilfe transfizierter MCF-7-Zellen bestätigt wurde, folgender Substanzen festlegen:

4-tert.-OP > 4-NP1EC > 4-NP = 4-NP2EO

Dagegen stellten Satoh et al., 2001, für 4-NP mit Hilfe eines kompetitiven ER α -Tests mit fluoreszenz-markiertem 17 β -Estradiol eine höhere Affinität zum ER α als für 4-tert.-OP oder andere Xenoestrogene, wie z.B. BPA, TBT, Phthalaten, fest. Für Genistein gibt Yellayi et al., 2002, an, dass es ebenfalls um den Faktor 1.000 bis 10.000 weniger estrogen-aktiv ist als 17 β -Estradiol.

In vielen Tierversuchen wurden für 4-AP und andere Xenoestrogene Konzentrationen (NOEC) bzw. Dosen (NOED), bei denen ein bestimmter Endpunkt nicht mehr feststellbar war, untersucht. Die Tabelle 57 'Anhang 7.3.: Übersicht über die NOEC bzw. NOED für 4-AP und andere Xenoestrogene in Tierversuchen im Zeitraum von 1995 bis 2002' zeigt, dass die NOEC bzw. NOED sich um den Faktor 1.000 für ein und dieselbe Substanz unterscheiden können. Die niedrigsten NOED liegen sowohl für 4-NP als auch für 4-tert.-OP bei 0,01 mg/Tag für verschiedene Säugetiere (Colerangle et al., 1996 bzw. Khurana et al., 2000).

Des Weiteren wurde in Tierversuchen bei der Untersuchung von Dosis-Wirkungsbeziehungen für Xenoestrogene folgendes festgestellt: ausgehend von einer bestimmten Dosis mit maximaler Wirkung konnte sowohl mit höherer als auch mit niedrigerer Dosis eine Abnahme der Wirkung erzielt werden. Man spricht von einer Dosis-Wirkungsbeziehung mit einer Funktionskurve, die einem auf dem Kopf stehendem U entspricht. Vom Saal et al., 1995, gab DES an schwangere Mäuse. Dies führte zu einer umgekehrten U-Dosis-Wirkungskurve bei männlichen Nachkommen, wenn man das spätere territoriale Verhalten in Betracht zog. Die fetale Exposition von Mäusen mit 17 β -Estradiol und DES ergab ebenfalls eine umgekehrte U-Dosis-Wirkungskurve, bezogen auf das Prostata-Gewicht [Vom Saal et al., 1997]. Oehlmann et al., 2000, ermittelten für 4-tert.-OP eine umgekehrte U-Konzentrations/Dosis-Wirkungskurve, bezogen auf die Eiproduktion von Schnecken (*Mollusca: Gastropoda*). Geringste Konzentrationen führten zu 'Super-Weibchen' mit zusätzlichen, weiblichen Geschlechtsorganen. Ein Panel aus Wissenschaftlern [EPA, 2001] bestätigte die Wirkungen niedriger Dosen; teilweise konnte Studien mit Wirkungen bei niedrigen Dosen von anderen Wissenschaftlern bestätigt werden, so auch die umgekehrte U-Konzentrations/Dosis-Wirkungskurve [Kaiser, 2000]. In dem Bericht 'Endocrine Disruptors Low-Dose Peer Review' [EPA, 2001] wird zusätzliche Forschung empfohlen, um sicherere Erkenntnisse über Mechanismen und Konsequenzen von Niedrig-Dosis-Effekten zu erhalten.

Mit Hilfe von Tierversuchen und 'In-vitro'-Testverfahren konnten mehrere Forscher synergistische bzw. additive Effekte von den verschiedensten Substanzen nachweisen:

- Arnold et al., 1996a zeigte, dass Dieldrin mit Endosulfan oder Toxaphen als Mischung um den Faktor 1.600 im YES-Assay estrogen-aktiver war, als jede Substanz alleine.
- Payne et al., 2000, konnten die additive Wirkung von einer Mischung aus DDT, Genistein, n-OP und 4-NP im YES-Assay vorhersagen.
- Rajapakse et al., 2002, mischten elf Xenoestrogene (ohne 4-AP) mit Konzentrationen, die halb so hoch waren wie der NOEC. Im YES-Assay war eine dramatische Verstärkung der hormonellen Effekte erkennbar.
- Silva et al., 2002, mischten acht Xenoestrogene (ohne 4-AP) mit Konzentrationen unterhalb der NOEC. Im YES-Assay zeigten sich vorhersagbare, additive Effekte.
- Kwak et al., 2001, untersuchte den Einfluss von 4-NP, BPA und deren Mischung auf lebend gebärende Schwerträger-Fische (*Xiphophorus helleri*). Es stellte sich heraus, dass 4-NP und Bisphenol-A synergistisch wirkten.
- Thorpe et al., 2001, wiesen für 4-NP und 4-tert.-OP jeweils in Mischung mit 17 β -Estradiol (Verhältnis 1000:1) additive Effekte mittels Vitellogenin-Synthese in Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) nach.

Neben den synergistischen Effekten bezogen auf die Estrogenität untersuchte Walter et al., 2002, die Toxizität elf strukturell unterschiedlicher Substanzen (ohne 4-AP) mit Hilfe eines Algen-Biotests. Es zeigte sich, dass die Toxizität der Mischung erhöht und außerdem noch gut vorhersagbar war. Dabei lagen die Konzentrationen der Substanzen in der Mischung im Bereich ihrer NOEC.

Wie bereits erwähnt binden manche Estrogene ganz spezifisch und mit einer hohen Affinität an Serum-Proteine, wie z.B. Globuline und Albumine, und werden dadurch inaktiviert. Dabei können sie von Xenoestrogenen, auch wenn diese in hohen Konzentrationen vorliegen, nicht in dieser Estrogen-Serum-Protein-Bindung ersetzt werden. Nach Arnold et al., 1996b, bindet Albumin bzw. Globulin 17 β -Estradiol um den Faktor 1,7 bzw. 4 stärker als 4-tert.-OP. Deswegen sind Xenoestrogene nicht in der Lage, über diesen Umweg biologische Effekte auszulösen [Milligan et al., 1998]. Andererseits erhöht diese geringere Bindungsaffinität die Konzentration an freiem und damit aktiven Xenoestrogen im Körper.

Die beiden letzten Unterkapitel 'Estrogenität' und 'Estrogenität der Abbauprodukte der 4-APEO' zeigen wie komplex das Hormonsystem ist, wie schwierig Vergleiche zwischen verschiedenen Spezies und Aktivitäten von Substanzen sind und warum Aussagen über eine Risikobewertung von 4-AP und 4-APEO allgemein noch viel schwieriger sind, obwohl Umwelt-Hormon-Forschung seit den 20er Jahren des vergangenen Jahrhunderts betrieben wurde.

Deswegen ist es nicht verwunderlich, dass laut Empfehlung der Europäischen Kommission über die Ergebnisse der Risikobewertung und die Risikobegrenzungsstrategien unter anderem für 4-NP [EC, 2001a] im Bezug auf die menschliche Gesundheit weitere Informationen und/oder Prüfungen notwendig sind, die aber nicht näher beschrieben wurden. Um eine Risikoabschätzung für 4-AP und 4-APEO machen zu können, muss die vom Körper aufgenommene Menge bekannt sein. Eine Aufnahme von Substanzen ist prinzipiell über die Haut (perkutan), die Atemwege (inhalativ) und über den Magen-Darmtrakt (peroral) möglich.

Eine perkutane Aufnahme ist möglich, wenn, wie in Dickey, 1997, beschrieben, kosmetische Mittel oder Haushaltsreiniger 4-NPEO als waschaktive Substanz oder Emulgator enthalten.

Des Weiteren ist auch eine Aufnahme über die Haut bei der Verwendung von Bedarfsgegenständen, wie z.B. Papierküchenrollen [Vingaard et al., 2000], oder Handschuhen oder Spielzeug aus Plastik [Kawaruma et al., 2000] denkbar. Generell ist eine Aufnahme von 4-NP über die Haut überprüft worden. Blume et al., 2000, wiesen eine schnelle Adsorption für eine Modellhaut mit einem Konzentrationsfaktor von 1.500 nach, wobei Monteiro-Riviere et al., 2000, von einer minimalen Adsorption für menschliche und tierische Haut von weniger als 1 % der applizierten Menge berichteten. In Tabelle 58 'Anhang 7.4.: Übersicht über Gehalte in Kosmetika und Bedarfsgegenständen und den Übergang in Lebensmittel im Zeitraum von 1997 bis 2001' sind die oben genannten und weitere Literaturstellen zusammengefasst.

Wenn man in Betracht zieht, dass 4-NP mehrfach sowohl in Luft- als auch Indoor-Luft-Proben und 4-tert.-OP und 4-APEO in Indoor-Luft-Proben nachgewiesen wurden (s. Tabelle 56: Anhang 7.2.: Übersicht über die Gehalte der Abbauprodukte der 4-APnEO in Luft- und Staubproben im Zeitraum von 1999 bis 2002), liegt die Vermutung nahe, dass auch eine inhalative Aufnahme über die Atemwege möglich ist. Dabei ist bis dato völlig unbekannt, ob überhaupt und in welchem Umfang 4-AP und 4-APEO vom menschlichen Körper über die Luft aufgenommen werden können.

Am besten erforscht ist die Aufnahme über den Magen-Darm-Trakt. Dies zeigen viele Literaturstellen, die die Akkumulierung bzw. den Metabolismus im Menschen [Müller et al., 1998a & b] und in verschiedenen Versuchstieren [Certa et al., 1996; Coldham et al., 1998; Lee et al., 1998; Staples et al., 1999; Upmeier et al., 1999; Ferreira-Leach et al., 2000 & 2001; Pedersen et al., 2000; Moffat et al., 2001] beschreiben.

Die hohen Gehalte von 4-NP (2.300 – 25.000 µg/kg), 4-tert.-OP (720 – 1100 µg/kg) und NP1/2EO (820 – 14.500 µg/kg) in Hausstaub-Proben legen die Vermutung nahe, dass eine perkutane, inhalative und/oder perorale Aufnahme über kontaminierten Hausstaub möglich sein kann. Dieser Weg ist möglicherweise besonders für Säuglinge und Kleinkinder wichtig, da sie im Vergleich zum Erwachsenen ganz andere Verhaltensweisen zeigen. So verbringen Säuglinge und Kleinkinder häufig mehrere Stunden am Tag auf dem Boden und nehmen dabei vieles in den Mund.

1.2. 4-AP und 4-APEO in Lebensmitteln

Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die bisher ermittelten Gehalte an 4-AP in Lebensmitteln. Im Folgenden soll erläutert werden, wie die 4-AP und 4-APEO in die Lebensmittel gelangen können. Aufgrund des vielseitigen Einsatzes von 4-AP bzw. 4-APEO gibt es mehrere Eintragswege in die Lebensmittel.

Über den Haupteintragsweg erreichen die 4-APnEO (n = 3 - 100) nach ihren unterschiedlichsten Anwendungen über das Abwasser die Kläranlagen. Dort erfolgt, wie bereits beschrieben, der biologische Abbau zum 4-AP bzw. 4-APnEO (n = 1 - 2). Über den Kläranlagenablauf erreichen die Abbauprodukte die limnische und/oder marine Umwelt oder sie werden mit dem Klärschlamm auf Felder und Wiesen ausgebracht [BUA, 1988]. Somit kann es zur einer Bioakkumulation in den unterschiedlichsten Organismen sowohl der aquatischen als auch der terrestrischen Umwelt kommen. Über die aus diesen Tieren gewonnenen Lebensmittel gelangen die 4-AP und 4-APEO schließlich in den menschlichen Organismus.

Tabelle 1: Übersicht über die Gehalte von 4-AP in Lebensmitteln

Gehalt [µg/kg bzw. µg/L]	Probenart	Herkunft der Werte	Literaturstelle
4-NP1EO: 0,077 4-NP2EO: 0,147	Trinkwasser	USA	Clark et al., 1992
4-NP: 0,001 – 0,002	Trinkwasser	Deutschland	Petrick et al., 1992
4-NP: < 5 - 114 4-tert.-OP: 0,1 – 0,8	Beilagen	Japan	Sasaki et al., 1999
4-NP: < 5 - 82 4-tert.-OP: 0,1 – 1,5	Gemüse		
4-NP: < 5 - 113 4-tert.-OP: 0,3 – 1,3	Früchte		
4-NP: < 5 - 180 4-tert.-OP: 0,1 – 20	Fleisch		
4-NP: < 5 - 723 4-tert.-OP: < 0,5	Fisch		
4-NP: < 5 - 89 4-tert.-OP: 0,2 – 4,3	Milchprodukte		
4-NP: < 5 - 123 4-tert.-OP: 0,1 – 0,6	Lebensmittel in Dosen		
4-NP: < 8 - 800	verpackter Fisch	Japan	
4-NP: < NG – 1,0 4-NP: < NG – 18,5 4-NP: < NG – 19,4 4-NP: 3,8 – 13,0 4-NP: 8,0 4-NP: 1,1 – 7,5 4-NP: < NG – 0,3 4-NP: 10,2 – 14,4 4-NP: 0 – 14,1	Beilagen Gemüse Obst Fleisch Fisch Milchprodukte Getränke Fette Sonstiges	Deutschland	Heinke, 2000
4-NP: 0,003 – 0,016 4-tert.-OP: 0,0002 - 0,005	Trinkwasser	Deutschland	Kuch et al., 2001

Zusätzlich können 4-AP ins Trinkwasser, welches aus Oberflächenwasser oder Grundwasser [Latorre et al., 2003] gewonnen wurde, gelangen. Dadurch werden die 4-AP unmittelbar über verzehrtes Trinkwasser oder mittelbar über das bei der Herstellung den Lebensmitteln zugesetzte Trinkwasser beim Verzehr dieser in den menschlichen Körper aufgenommen.

Ferner werden 4-NP und 4-NPEO als Wirkstoff und Hilfsstoff in Pflanzenschutzmitteln eingesetzt [EC, 2001a, und Leisewitz et al., 1997]. Somit können sie direkt über pflanzliche Lebensmittel oder indirekt über tierische Lebensmittel, die mit behandeltem Futtermittel ernährt worden sind, aufgenommen werden. Wobei dies unter normalen Umständen nicht für Lebensmittel, die speziell für Säuglings- und Kleinkinderernährung nach den Vorschriften für den kontrolliert ökologischen Landbau erzeugt wurden, gilt. Laut der Empfehlung der Europäischen Kommission über die Ergebnisse der Risikobewertung und die Risikobegrenzungsstrategien unter anderem für 4-NP [EC, 2001a], ist in der europäischen 'Richtlinie über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmittel' [EWG, 1991a] seit Juli 2003 vorgesehen, dass 4-NP und 4-NPEO als Wirkstoffe in Pestiziden vom Markt genommen werden. Bei Verwendung als Hilfsstoff in Pestiziden gibt es noch keine Bewertung auf EU-Ebene im Rahmen dieser Richtlinie.

Außerdem können Kunststoffe, die 4-NP oder Tris-(nonylphenyl)-phosphit als Additiv enthalten, 4-NP freisetzen. Nach Sun et al., 2001, enthielten Polyvinylchlorid-Kunststoffe zwischen 1.400 und 1.028.000 µg/kg 4-NP. Wenn diese Kunststoffe zu Bedarfsgegenständen, wie z.B. Verpackungsmaterialien, verarbeitet werden, kann 4-NP in die verpackten Lebensmittel übergehen. Nach Nemoto et al., 2000, enthielt verpackter Fisch zwischen < 8 – 800 µg/kg 4-NP, wobei diese Gehalte fast ausschließlich auf die Verpackung aus Kunststoff (4-NP: < 0,4 – 931 ng/cm²) zurückzuführen waren. Auch Inoue et al., 2001, wiesen in Kunststoff-Verpackungen 4-NP-Gehalte von < 500.000 bis 3.300.000 µg/kg nach. Nach 30 min Raumtemperatur war 4-NP in verpackten Reis übergegangen und man konnte < 1 – 76,5 µg 4-NP pro kg verpackten Reis nachweisen. Nach 1 minütiger Mikrowellenbehandlung waren < 1 - 410 µg 4-NP pro kg verpackten Reis nachweisbar.

Dabei können Kunststoffe nicht nur zu Verpackungsmaterialien, sondern auch zu anderen Bedarfsgegenständen, wie z.B. Bauteilen von Anlagen und Gerätschaften, die zum Herstellen, Um- und Abfüllen von Lebensmittel dienen, verarbeitet werden. Somit kann 4-NP auch vor dem Verpacken in die Lebensmittel gelangen.

Ähnlich verhält es sich mit 4-APEO-haltigen Reinigungsmitteln, die in der Lebensmittelindustrie zum Reinigen von Anlagen und anderen Gerätschaften Anwendung finden und aufgrund ihrer Tensid-Eigenschaften nur schwer vollständig wieder entfernt werden können.

Nachdem die verschiedenen Eintragswege in die Lebensmittel aufgezeigt worden sind, stellt sich die Frage, wie viel der Mensch über die Nahrung täglich zu sich nimmt. Man spricht dabei auch vom so genannten 'daily-intake'. Für die Bewohner der alten Bundesländer, die älter als vier Jahre waren, wurde mit Hilfe der Daten einer Nationalen Verzehrsstudie ein 'daily-intake' für 4-NP von 6,6 µg für Männer, 6,0 µg für Frauen und 6,9 µg für beide Geschlechter abgeschätzt [Heinke, 2000].

Zwischen Erwachsenen auf der einen und Säuglingen und Kleinkindern auf der anderen Seite gibt es im Hinblick auf die Empfindlichkeit durch Störungen von hormonell-aktiven Substanzen und auf die Verzehrsgewohnheiten große Unterschiede (s. unten). Im Sinne der europäischen 'Richtlinie über Säuglingsanfangsnahrung und Folgenahrung' [EWG, 1991b] sind Säuglinge, Kinder unter zwölf Monaten, und Kleinkinder, Kinder zwischen ein und drei Jahren. Nach Faustmann et al., 2000, ist die Empfindlichkeit von Kindern gegenüber Umweltkontaminanten altersabhängig und bedarf einer eigenen Evaluierung von Aufnahme, Verteilung, Biotransformation und Ausscheidung. Außerdem wurde in einigen Tierversuchen bewiesen, dass es Unterschiede in der Empfindlichkeit zwischen weiblichen und männlichen Tieren gibt (s. unten). Deswegen bestand ein großes Interesse, den Gehalt an 4-NP in Säuglings- und Kleinkindernahrung zu quantifizieren und den 'daily-intake' einzeln für bestimmte Altersstufen und getrennt nach Geschlecht abschätzen zu können. Zusätzlich sollten auch die Gehalte an 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO in Säuglings- und Kleinkindernahrung quantifiziert und deren 'daily-intake' ebenfalls für bestimmte Altersstufen einzeln abgeschätzt werden. Bis dato lagen nur sehr wenige Werte für 4-tert.-OP aus Japan (s. Tabelle 1) und keine Werte für 4-NP1EO und 4-NP2EO in Lebensmitteln vor.

Höhere Empfindlichkeit von Säuglingen und Kleinkindern:

Immer wieder wird in der Literatur [Gellert et al., 1978, Cornacoff et al., 1988, Czaja et al., 1997, EPA, 1997; Yu et al., 2003] eine größere Empfindlichkeit von Säuglingen und Klein-

Kindern im Bezug auf Störungen durch hormonell-aktive Substanzen erwähnt. Meistens wird nur davon gesprochen, dass sich Säuglinge und Kleinkinder noch in der Entwicklungsphase befinden. Dagegen findet man in NRC, 1993, DFG, 1998, Mishra et al., 2002 und Damgaard et al., 2002 sehr ausführliche Abhandlungen dieser Frage, die erläutern, warum Säuglinge und Kleinkinder nicht als „kleine Erwachsene“ angesehen werden dürfen.

Zum einen bestehen bereits gravierende Unterschiede zwischen einem Neugeborenen und z.B. einem 17-jährigen, wenn man physiologische Faktoren betrachtet. Bei einem Neugeborenen steigt das Körpergewicht um das 18-fache schneller an. Die Länge bzw. Statur nimmt um das 3-fache, die Hautoberfläche um das 8-fache, das gesamte Körperfett bei Mädchen um das 36- und bei Jungen um das 17-fache, das Körperwasser um das 15-fache, das extrazelluläre Wasser um das 10-fache, das gesamte Körperprotein um das 20-fache und die Knochenminerale um das 25-fache zu. Auch bei den Organen gibt es Unterschiede. Das relativ große Gehirn wächst bei einem Neugeborenen schnell und erreicht im Alter von sechs Monaten 50 % des Gewichts bei einem Erwachsenen. Im Gegensatz dazu, werden 50 % des Gewichtes der Leber, des Herzens und der Niere eines Erwachsenen erst mit neun Jahren erreicht.

Zum anderen ist die normale männliche Geschlechtsentwicklung von einer Reihe an Ereignissen abhängig, die fetal beginnt, und neonatal bzw. postnatal sich von der Kindheit bis zum Erwachsensein fortsetzt. Alle diese Phasen werden straff von genetischen und hormonabhängigen Mechanismen reguliert. Hormonelle Aktivität ist in drei Phasen besonders hoch: fetal, neonatal bzw. postnatal in den ersten Monaten und während der Pubertät. Diese Phasen sind die empfindlichsten bei der Entwicklung des Reproduktionssystems. Dabei sind die Geschlechtshormone auch unerlässlich für eine normale Entwicklung anderer Gewebe, wie z.B. Knochen, Haut, Haare, Follikel, Skelett und Muskel. Somit können Störungen des Hormonsystems Einfluss auf die Entwicklung des gesamten Organismus haben, besonders wenn sie in utero in den ersten Monaten der Schwangerschaft auftreten.

Eine Exposition durch toxische Substanzen kann in kritischen Stadien der Entwicklung zu einem permanenten Schaden von Organfunktionen führen, da auch die Organe selber noch nicht vollkommen ausgebildet sind. Dabei ist der Grad der Exposition beim Fötus unter anderem von der Schranke der Plazenta und beim Neugeborenen unter anderem von der Blut-Hirn-Schranke abhängig. Diese ist beim Menschen bis zum ersten Lebensjahr noch nicht vollständig entwickelt und man weiß nicht, wann sie voll funktionstüchtig ist. Sie begrenzt den Eintritt von nicht-ionischen, lipophilen Substanzen in das zentrale Nervensystem. Deshalb wird spekuliert, dass eine unreife Blut-Hirn-Schranke bei Säuglingen und Kleinkindern zu einer größeren Empfindlichkeit gegenüber einer chemisch-induzierten Neurotoxizität führen kann. Hinzu kommt noch, dass das zentrale Nervensystem für zelluläre Differentiation, Wachstum und funktionelle Organisation länger als die meisten anderen Organe benötigt.

Speziell für Säuglinge und Kleinkinder gilt, dass physiologische Barrieren wie die Haut, die Lungen und der Gastrointestinal-Trakt weniger weit entwickelt sind als bei Erwachsenen, so dass toxische Substanzen eher adsorbiert werden können. So adsorbieren Kinder z.B. 50 – 90% des aufgenommenen Bleis, wohingegen Erwachsene nur 10% aufnehmen. Auch die Zusammensetzung der Darm-Mikroflora eines Säuglings ist ganz verschieden verglichen mit der eines Erwachsenen, was gravierenden Einfluss auf den Metabolismus und die Biover-

ffügbarkeit von Lebensmittelinhaltsstoffen bzw. -kontaminanten haben kann. Unterschiede gibt es ebenfalls beim pH-Wert des Magensaftes. Er fällt während der ersten Stunden nach der Geburt, wobei er für zehn bis 15 Tage zur Neutralität zurückkehrt. Danach fällt er schrittweise und erreicht erst ab dem Alter von zwei Jahren den Wert eines Erwachsenen (pH-Wert: 1-2).

Im Allgemeinen steigt das Risiko der Exposition durch die Ernährung, da vor allem in den ersten Jahren die durchschnittliche Kalorien-Aufnahme pro kg Körpergewicht sehr hoch ist. Im Vergleich zum Erwachsenen konsumieren Säuglinge z.B. die drei- bis vierfache Menge an Lebensmitteln, bezogen auf das Verhältnis zum Körpergewicht. Die Ernährung von Säuglingen, Kleinkindern und Kindern unterscheidet sich nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ von denen der Erwachsenen. Dabei ist die Art der Lebensmittel weit weniger abwechslungsreich.

Nur wenige Studien haben die Unterschiede in Adsorptionsraten und Metabolismen durch die enzymatische Aktivität oder die Leber- und Nierenfunktion in Kindern untersucht. Auch diese Systeme können sich von denen der Erwachsenen unterscheiden. So sind die Prozesse, wie Metabolismus und Ausscheidung, von Substanzen in der neonatalen Phase verringert bzw. verlangsamt. Einige metabolische Systeme, wie z.B. die P450-Aktivität sind effizienter, andere wie z.B. die Glukuronisierung sind weniger effizient, da sich in der Leber die Kapazität der Detoxifikation durch Konjugation von Substanzen erst langsam entwickelt. Auch die Niere ist bei der Geburt noch nicht vollständig ausgebildet und so kommt es zu einer verzögerten Ausscheidung von Substanzen. Weiterhin können Unterschiede in der Durchlässigkeit von Membranen und in der Bindung und Lagerung von Xenobiotika zu Differenzen in der Pharmakokinetik zwischen Kindern und Erwachsenen führen.

Zusätzlich haben Kinder ein relativ großes Oberflächen-Volumen-Verhältnis, verglichen mit Erwachsenen, so dass auch das Risiko der Exposition über die Haut ansteigt. Die Hautoberfläche von Säuglingen und Kleinkindern ist im Verhältnis zum Körpergewicht um das 2,5-fache größer und bei Kindern doppelt so groß wie bei Erwachsenen. Dabei scheint die Durchlässigkeit der Haut ähnlich der bei Erwachsenen zu sein. Weiterhin ist zu beachten, dass Kinder andere Verhaltensweisen zeigen als Erwachsene. Im Gegensatz zu Erwachsenen spielen Kinder z.B. stundenlang auf dem Boden und sind deswegen sämtlichen Substanzen im Hausstaub oder im Boden ausgesetzt (s. Kapitel 1.1.).

Diese höhere Empfindlichkeit von Säuglingen und Kleinkindern im Vergleich zum Erwachsenen zeigte sich auch in den verschiedensten Tierversuchen. Folgende Textstellen belegen eine höhere Empfindlichkeit von unreifen, ganz jungen Tieren im Verhältnis zu reifen, erwachsenen Tieren und zum anderen gab es Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Tieren.

- Eine größere Empfindlichkeit von jungen Tieren stellten Mena et al., 1992, bei weiblichen Ratten fest. Sie wurden mit Testosteronpropionat an unterschiedlichen Tagen postnatal androgenisiert und am 21. Tag mit 17 β -Estradiol stimuliert. Es zeigte sich, dass der Zeitpunkt der Androgenisierung einen Einfluss auf die verschiedenen Wirkungen hatte, so dass Mena et al. die Existenz von kritischen Altersstufen annahm.

- NRC, 1993, berichtete von einer Unterdrückung des Immunsystems nach fetaler und neonataler Exposition mit 2,3,7,8-Tetrachlordibenzo(1,4)dioxin (2,3,7,8-TCDD), was aber nicht bei erwachsenen Tieren zu beobachten war.
- Von Foster, 1998, wurde erklärt, dass der sich entwickelnde, männliche Reproduktionstrakt gegenüber 2,3,7,8-TCDD teilweise empfindlicher ist, als der von erwachsenen Tieren. Daneben ist die Schilddrüse empfindlich gegenüber Xenoestrogenen und die Effekte auf die Schilddrüse beeinflussen auch den Reproduktionstrakt. So ist die Spermienproduktion von der Anzahl der Sertoli-Zellen abhängig, die sich nur während der pränatalen und frühen postnatalen Phase teilen. Diese Teilung wird ebenfalls durch die Konzentrationen von Schilddrüsen-Hormonen beeinflusst.
- Aruwke et al., 2000, zeigten, dass 4-n-NP die Blut-Hirn-Schranke von jungem atlantischem Lachs (*Salmo salar*) überwand, da sie es unter anderem im Gehirn nachweisen konnten. Für unreife bzw. reife männliche Medakas (*Oryzias latipes*) gaben Tabata et al., 2001, 0,13 ppm bzw. 0,86 ppm 4-NP als toxisch an.
- Eine Exposition mit estrogen-aktiven Substanzen aus Kläranlagenabläufen führte laut Rodgers-Gray et al., 2001, bei erst 50 Tage alten Plötzen (*Rutilus rutilus*) zu permanenten Effekten bei der Entwicklung der Reproduktionsorgane, bei erwachsenen Tieren dagegen nicht.
- Unterschiede zwischen weiblichen und männlichen Tieren stellten Upmeier et al., 1999, fest, da sie für 4-tert.-OP je nach Geschlecht der Ratten unterschiedliche Halbwertszeiten bestimmt hatten.
- Nach der Exposition von neugeborenen männlichen und weiblichen Ratten mit 4-tert.-OP fanden Khurana et al., 2000, je nach Geschlecht Unterschiede darin, ob von 4-tert.-OP eine ER α -Expression bzw. ER β -Expression in der Hirnanhangdrüse und/oder Hypothalamus beeinflusst wurde oder nicht.
- Bei Versuchen mit Genistein fanden Nagao et al., 2001, heraus, dass die weibliche Fruchtbarkeit bei 100 mg/kg gestört wurde, die männliche dagegen nicht.

Wie bereits erwähnt unterscheidet sich die Ernährung von Säuglingen und Kleinkindern nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ von denen der Erwachsenen. So ist die Art der Lebensmittel weit weniger abwechslungsreich. Eine ganz besondere Rolle spielt in diesem Fall die Muttermilch. Meistens stellt sie die einzige Nahrungsquelle in den ersten Monaten eines Säuglings dar. Nach Kersting et al., 1998a, wird das Stillen immer populärer, wobei es regionale Unterschiede in der Beliebtheit gibt. In Skandinavien werden z.B. 80 % aller drei Monate alten Säuglinge und 60 % aller sechs Monate alten Säuglinge gestillt. In Deutschland werden dagegen nur 50 % und 47 % aller Säuglinge im entsprechenden Alter gestillt [Alexy et al., 1998]. Laut DFG, 1984, ist der Nutzen des Stillens höher einzuschätzen, als ein möglicherweise vorhandenes Gesundheitsrisiko durch festgestellte Rückstände, vor allem der PCB und polychlorierten Dibenzofurane (PCDF). Diese und einige andere Umweltkontaminanten besitzen die Eigenschaft, im Körperfett des Menschen zu akkumulieren. Während und nach der Schwangerschaft werden sämtliche Reserven des Körpers und damit auch die akkumulierten Substanzen mobilisiert. Deswegen kann Muttermilch zur Abschätzung der Exposition mit solchen Substanzen nicht nur von Säuglingen und Kleinkindern, sondern auch von Müttern selber dienen [Groer et al., 2002]. Deswegen war es aus zweierlei Hinsicht interes-

sant, die Gehalte an 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO nicht nur in Säuglings- und Kleinkindernahrung, sondern auch in Muttermilchproben zu quantifizieren.

1.3. 4-AP und 4-APEO in Biofilmen

Fast alle Mikroorganismen leben in multizellulären Aggregaten – den so genannten Biofilmen – zusammen. In Böden, Sedimenten und auf anderen Oberflächen aquatischer Standorte liegen sie als Schleime, Aufwüchse, suspendiert als Flocken oder Schlämme vor. Ihnen allen ist gemeinsam, dass sie in eine Matrix aus extrazellulären, polymeren Substanzen (EPS) eingebettet sind, die ihnen einen einzigartigen Lebensraum bieten.

Für die Ausbildung eines Biofilmes müssen Grenzflächen (Feststoff-Wasser, Wasser-Luft, Luft-Feststoff), eine ausreichende Menge Wasser, mikrobiell verwertbare Nährstoffe und die Mikroorganismen selber vorhanden sein. Diese Voraussetzungen sind praktisch ubiquitär gegeben und man findet deshalb Biofilme in der Natur weit verbreitet. So ist z.B. der glitschige Überzug auf Flusskiesel, die beschleunigte Korrosion von Metallrohren in technischen Systemen, die Darmflora, der Zahnbelag oder die in letzter Zeit immer wieder durch Legionellen verursachte Legionella-Pneumonie (so genannte Legionärskrankheit) im medizinischen Bereich zu nennen. Weiterhin sind die Biofilme maßgeblich an den biologischen Selbstreinigungsprozessen in Gewässern, Sedimenten und Böden beteiligt [Costerton et al., 1999 und 2001].

Biofilme sind eine Lebensform, in der Mikroorganismen in synergistischen Lebensgemeinschaften zusammenleben. Innerhalb dieser Lebensgemeinschaften sind sie in der Lage, Nährstoffe zu akkumulieren und wiederzuverwerten und Signale und Gene leicht auszutauschen. Der Biofilm bietet den Mikroorganismen zudem die Möglichkeit, auch unter ungünstigen Umweltbedingungen zu überleben. So bietet er Schutz vor Salzbelastungen, extremen pH-Werten, hydraulischer Belastung, toxischen Umweltkontaminanten durch Bindung an die EPS (s. unten), Antibiotika, Desinfektionsmitteln und der Immunabwehr des Wirtsorganismus. Des Weiteren bewirkt die Wasserrückhaltung der EPS einen gewissen Schutz vor einer Austrocknung des Biofilms. Allen Biofilmen ist gemeinsam, dass die Mikroorganismen in eine Matrix aus EPS eingebettet sind. Die EPS bestehen aus Polysacchariden, Proteinen, Nucleinsäuren, Lipiden und anderen Makromolekülen. Aufgrund von hydrophoben und elektrostatischen Wechselwirkungen und Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den verschiedenen Molekülen wird ein Biofilm zusammengehalten. Dadurch entsteht seine dreidimensionale Struktur und gegebenenfalls binden die EPS-Moleküle an Oberflächen (sessile Lebensweise). Weiterhin bestehen Biofilme in der Regel aus Mischpopulationen unterschiedlicher Mikroorganismen. An aquatischen Standorten können sessile Biofilme bis zu 10^{12} Zellen pro mL Biofilmvolumen enthalten, wobei in der freien Wasserphase (planktonische Lebensweise) die Konzentrationen um den Faktor 10^3 bis 10^4 kleiner sind. Meistens dominieren die Bakterien, aber es können je nach Standort auch beträchtliche Anteile an Algen (bei Lichtzutritt), Pilzen und Protozoen vorhanden sein. Auch mehrzellige Organismen, wie z.B. Fadenwürmer, Milben, Insektenlarven, können sich ansiedeln. Sie ernähren sich von den Mikroorganismen und sind selber wieder Nahrung für höhere aquatische Lebewesen, sodass es zur Ausbildung von Nahrungsketten kommen kann [Flemming et al., 2001a und 2002].

Wie bereits erwähnt, forderte die Europäische Kommission in der Empfehlung über die Ergebnisse der Risikobewertung und die Risikobegrenzungsstrategien unter anderem für 4-NP [EC, 2001a] weitere Informationen und/oder Prüfungen für den Lebensraum Wasser, einschließlich der Sedimente. Dabei beziehen sich die Informations- und/oder Prüfanforderungen auf weitere Toxizitätstests im Hinblick auf in Sedimenten lebende Organismen. Des Weiteren bestehen auch Bedenken hinsichtlich einer Sekundärvergiftung von anderen aquatischen Lebewesen, wie Fischen und Erdwurmräubern.

Laut dem Gewässergüte-Bericht 2000 des Landesumweltamtes (LUA) Nordrhein-Westfalen (NRW) sind 4-NP, 4-tert.-OP und deren Ethoxylate seit 1999 im Untersuchungsprogramm des LUA am Rhein festgelegt. Daten aus dem Jahr 2001 belegen, dass Flusswasser in NRW sowohl 4-NP als auch 4-tert.-OP enthalten. Die Gehalte liegen für 4-NP zwischen 0,002 – 0,778 µg/L und für 4-tert.-OP zwischen 0,001 – 0,035 µg/L.

Die Tabelle 2 zeigt, dass aquatische Lebewesen stärker belastet sind, als z.B. die Flusswasserproben in NRW oder andere Wasserproben (s. Tabelle 55: Anhang 7.1.: Übersicht über die Gehalte der Abbauprodukte der 4-APnEO in der Umwelt im Zeitraum von 1982 bis 2003).

Tabelle 2: Übersicht über die Gehalte der Abbauprodukte der 4-APnEO in aquatischen Lebewesen im Zeitraum von 1999 bis 2003

Gehalt [µg/kg]	Probenart	Herkunft der Werte	Literaturstelle
4-NP: 5 - 180 4-NP1EO: 190 - 940	Fisch	Großbritannien	Lye et al., 1999
4-NP: 2 - 19 4-tert.-OP: < 1 4-NP1EO: 2 - 21 4-NP2EO: < 2 – 6,2	Schlangen	Japan	Tsuda et al., 2000
4-NP: < 2 - 6 4-tert.-OP: < 1 4-NP1EO: < 2 - 4 4-NP2EO: < 2	Fische		
4-NP: < 3,3 – 8,1	Fische aus Flüssen	USA	Keith et al., 2001
4-NP: 1,1 - 4	Muscheln aus der Nordsee	Deutschland	Günther et al., 2001
4-NP: 184 4-NP1EO: 242 4-NP2EO: < 18,2	Fischgewebe feucht	USA	Snyder et al., 2001
4-NP: 1 – 19,3 4-tert.-OP: ND – 0,6 4-NP1EO: 2,1 – 23,3 4-NP2EO: 1,1 – 6,4	Wasserschlangen	Japan	Tsuda et al., 2002
4-NP: < 3,3 - 29,1	Fisch feucht	USA	Kannan et al., 2003
ND: not detected			

Es stellt sich die Frage, wie es zu einer Akkumulation der Abbauprodukte der 4-APEO in aquatischen Lebewesen kommen kann. In Kapitel 1.1. wurde gezeigt, dass es eine Akkumulation in Sedimente von limnischen und marinen Standorten gibt. In der Literatur wird die oberste Schicht von Sedimenten als Biofilm angesehen, da die oberste Sedimentschicht eine Grenzschicht zwischen Wasser und Feststoff darstellt und Biofilme nur zwischen Grenzschichten existieren können. In dieser Grenzschicht konkurrieren zwei Vorgänge: einerseits kann es in der obersten Sedimentschicht zum Abbau durch so genannte heterotrophe Mikro-

organismen kommen und andererseits zu einer Akkumulation der lipophilen, organischen Abbauprodukte der 4-APEO.

Heterotrophe Mikroorganismen bevorzugen organische Kohlenstoff-Quellen zum Aufbau ihrer Zellwände. Unter den heterotrophen Mikroorganismen, wie z.B. Acinetobacter, Bacillus, Enterobacter, Legionella, Micrococcus, Staphylococcus u.a. [Keevil, 1999], gibt es sowohl aerobe als auch anaerobe. Der aerobe Abbau aromatischer Kohlenwasserstoffe (s. Abbildung 6) erfolgt je nach Ausgangssubstanz über das Brenzkatechin bzw. die Protocatechusäure. Die Ringspaltung erfolgt über die ortho- oder meta-Spaltung, wobei als Endprodukte Succinat und Acetat oder Acetaldehyd und Pyruvat in den Intermediärstoffwechsel der Mikroorganismen eingehen.

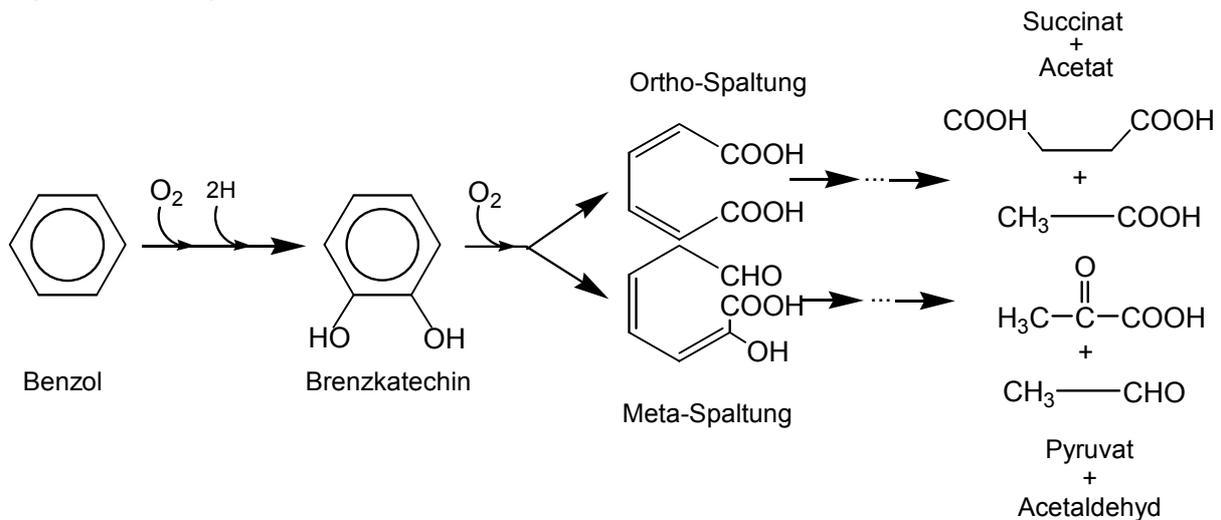


Abbildung 6: Aerober Abbau aromatischer Kohlenwasserstoffe

Lange Zeit nahm man an, dass aromatische Verbindungen unter anoxischen oder sogar anaeroben Bedingungen, wie sie in Sedimenten vorliegen, nicht abgebaut werden können. Es war kein Mechanismus für eine anaerobe Ringspaltung bekannt, der die Barriere der hohen Aromatisierungsenergie überwindet. Einige Mikroorganismen haben einen Mechanismus (s. Abbildung 7) entwickelt, der über eine Aktivierung von Benzoat mit Coenzym A zu Benzoyl-CoA, eine schrittweise Hydrierung zu cyclischen, aliphatischen Kohlenwasserstoffen, eine Hydratation und Dehydrierung und schließlich nach einer hydrolytischen Ringöffnung zu drei Molekülen Essigsäure und CO_2 führt.

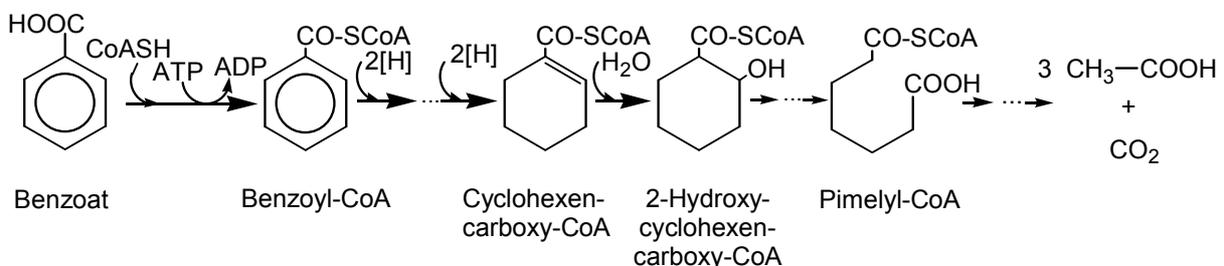


Abbildung 7: Anaerober Abbau aromatischer Kohlenwasserstoffe

Allerdings verläuft dieser Prozess aufgrund des geringen Energiegewinns sehr langsam und es kann somit je nach Gehalt der Substanz im Wasser zu einer Akkumulation in Sedimenten kommen. Voraussetzung sowohl für den aeroben als auch den anaeroben Abbau ist immer,

dass toxische Substanzen in Konzentrationen vorliegen, die unter dem hemmenden Schwellenwert für die jeweiligen Mikroorganismen liegen [Fritsche, 2002].

Eine Akkumulation von organischen Substanzen ist demnach hauptsächlich abhängig von der Konzentration bzw. der Toxizität der Substanz, der Sauerstoff-Konzentration und der Anzahl der Mikroorganismen.

In der Literatur waren für die Abbauprodukte der 4-APEO nur Gehalte in Sedimenten zu finden, aber keine in Biofilmen. Um eine mögliche Akkumulation der Abbauprodukte der 4-APEO in Biofilmen untersuchen zu können, war es interessant sowohl Biofilm- als auch Flusswasserproben zu analysieren. So konnte man Informationen über evt. Sekundärvergiftungen für höhere aquatische Lebewesen wie z.B. Fische erlangen, die am Ende der Nahrungskette aquatischer Lebewesen stehen.

1.4. Zielsetzung

Lebensmittel:

Die Gehalte von vier estrogen aktiven Substanzen, dem 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO, sollten in Säuglings- und Kleinkindernahrung quantifiziert werden, um anschließend die täglichen Aufnahmemengen über die Nahrung, die so genannten 'daily-intakes', abschätzen zu können.

Es musste eine genaue und aktuelle Studie über die Ernährungsgewohnheiten von Säuglingen und Kleinkindern in bestimmten Altersstufen in Deutschland gefunden werden. Als Datengrundlage wurde die so genannte DONALD-Studie (Dortmund Nutritional and Anthropometric Longitudinally Designed-Study) verwendet, aus der die Verzehrswerte für bestimmte Lebensmittelgruppen der Jahre 1995 bis 2000 berücksichtigt wurden. Innerhalb dieser Gruppen konnten die am häufigsten verzehrten Lebensmittel genau benannt und somit ganz gezielt im Handel eingekauft werden (s. Kapitel 3.2.3.).

Es sollte ein Verfahren für Lebensmittel aller Art entwickelt werden, mit dem alle vier Analyten zusammen quantifiziert werden konnten. Dafür war eine Ausweitung bzw. Modifizierung des Verfahrens nach Heinke, 2000, sowohl auf die Bestimmung von 4-tert.-OP als auch auf die isomerenspezifische Bestimmung von 4-NP1EO und 4-NP2EO nötig.

Nach der Bestimmung der Gehalte sollten die Werte für jeden Analyten zusammengefasst, diskutiert und der 'daily-intake' für die verschiedenen Altersstufen getrennt nach Geschlecht berechnet werden.

Biofilme:

Neben den Lebensmitteln stand auch eine Untersuchung der Gehalte von Biofilm- und Flusswasserproben auf 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO an. Dafür wurden in Zusammenarbeit mit der Universität Duisburg-Essen, Fachgebiet Aquatische Mikrobiologie, sowohl Biofilm- als auch Flusswasserproben in Flüssen aus NRW gesammelt.

Diese Proben sollten mit dem modifizierten Verfahren für Lebensmittel auf alle vier Analyten untersucht werden, um anschließend die Werte zusammenzufassen, zu diskutieren und Akkumulationsfaktoren berechnen zu können.

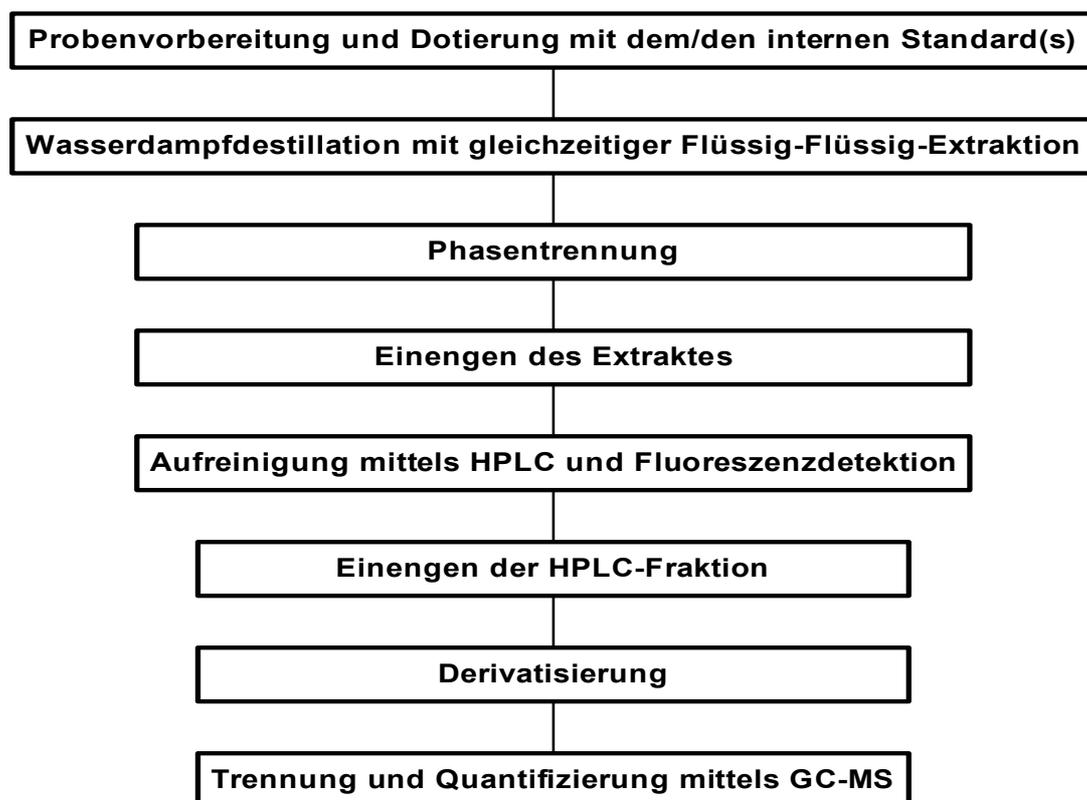
Eine mikrobiologische Charakterisierung der Biofilmproben fand ausschließlich an der Universität Duisburg-Essen, Fachgebiet Aquatische Mikrobiologie, statt. Diese Daten mussten ebenfalls zusammengefasst und diskutiert werden.

2. Experimenteller Teil

Im folgenden Kapitel werden die einzelnen Analyseverfahren beschrieben. Die Aufteilung erfolgte anhand der zu untersuchenden Analyten, sodass drei verschiedene Verfahren beschrieben werden:

- 2.1. Analyseverfahren für 4-NP
- 2.2. Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP
- 2.3. Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

Teilweise ähneln sich die Verfahren sehr stark, wobei dann nur auf die Unterschiede in den einzelnen Unterkapiteln eingegangen werden wird. Für alle gleich ist folgender Analysegang:



Lebensmittel-, Biofilm- oder Flusswasserproben wurden nach diesem Schema analysiert. Nach der entsprechenden Probenvorbereitung und der Zugabe eines oder mehrerer interner Standards (je nach Analyseverfahren) wurden die Analyten mit einer Wasserdampfdestillation aus der Probe extrahiert. Die gleichzeitig stattfindende Flüssig-Flüssig-Extraktion überführte die Analyten in ein Lösungsmittelgemisch. Nach dem Abtrennen der wässrigen Phase engte man den Extrakt ein und reinigte ihn mittels der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) auf. Diese HPLC-Fraktion wurde eingengt, um anschließend die Analyten zu derivatisieren und mittels Gaschromatograph (GC) zu trennen und Massenspektrometer (MS) quantifizieren zu können. Des Weiteren wird im Kapitel 2.4. die Charakterisierung der Biofilmproben skizziert. Mittels eines standardisierten Spatelplattenverfahrens wurde die Koloniezahl heterotropher Bakterien pro mL Probe bzw. pro g Trockenmasse Probe bestimmt, wobei die Gesamtzellzahl mikroskopisch bestimmt werden sollte. Zusätzlich quantifizierte

man sowohl in den Biofilmen als auch in den EPS wichtige Inhaltsstoffe wie Kohlenhydrate, Proteine und Huminstoffe.

2.1. Analyseverfahren für Nonylphenol (4-NP)

In dem folgenden Unterkapitel wird der allgemeine Analysegang am ausführlichsten beschrieben. Da dieser, wie bereits erwähnt, für alle gleich ist, wird sowohl im Kapitel '2.2. Analyseverfahren für 4-NP und 4.tert.-OP' als auch in '2.3. Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO' nur auf die einzelnen Unterschiede eingegangen. Dort wird immer wieder auf die nun folgenden Unterkapitel verwiesen, um unnötige Wiederholungen zu vermeiden.

2.1.1. Verwendete Chemikalien, Lösungen und Geräte

Verwendete Chemikalien:

Tabelle 3: Verwendete Chemikalien für das Analyseverfahren für 4-NP

Chemikalie	Reinheit	Hersteller
Aceton	pro analysis	Merck, Darmstadt
Acetonitril	für die Rückstands-analytik	Merck, Darmstadt
Cyclohexan	für die Chromatographie	Merck, Darmstadt
Glaswolle, silyliert	für Liner des FIDs	Macherey und Nagel, Düren
Helium	5.0 und 6.0	Praxair, Oevel (Belgien)
n-Hexan	für die Spektroskopie	Merck, Darmstadt
Isooctan	für die Spektroskopie	Merck, Darmstadt
Methanol	gradient grade	Merck, Darmstadt
N-Methyl-N-tert-butyl-dimethylsilyltrifluoracetamid (MTBSTFA)	keine Angabe	CS, Chromatographie-Service, Langerwehe
Natriumsulfat (6h bei 350°C getrocknet)	pro analysis	Merck, Darmstadt
Natriumchlorid	pro analysis	Merck, Darmstadt
neodisher N	maschineller Glasreiniger	neoLab, Heidelberg
4-n-NP	99,5 %	Dr. Ehrendorfer, Augsburg
4-NP, technisches Gemisch	92,9 % *	Fluka, Buchs (Schweiz)
4-(2'-Nonyl)phenol	als GSTD verwendet	Fremdlaboratorium, Uni Bonn
2-Propanol	für die Chromatographie	Merck, Darmstadt
Reinstwasser	bidestilliert	Forschungszentrum Jülich, ICG V
Salpetersäure, 65 %	pro analysis	Merck, Darmstadt
Salzsäure, > 32 %	pro analysis	Riedel, Hannover
Salzsäure, 35,5 - 38 %	intra analysed	Baker, Deventer (Niederlande)
Stickstoff	5.0	Linde, Höllriegelskreuth
Siedesteine (Teflon)	keine Angabe	Norton Performance Plastics, New Jersey (USA)
synthetische Luft	keine Angabe	Messer, Griesheim
Wasserstoff	5.0	Messer, Griesheim
* Heinke, 2000, bestimmt		
FID: Flammenionisationsdetektor		
GSTD: Gerätestandard		

Verwendete Lösungen:

Extraktionslösung:

In einem Becherglas wurden 40 g Natriumchlorid auf 1 g genau eingewogen und in einen 2 L Rundkolben überführt. Anschließend wurden ca. 600 mL Leitungswasser hinzugegeben und mit 2 mL Salzsäure (Baker) angesäuert. Nach Zugabe von einigen Siedesteinen wurde die Lösung durch Umschwenken gemischt.

Derivatisierungslösung:

Aus MTBSTFA und Acetonitril wurde eine 1 %ige (v/v) Lösung hergestellt, die mit einem Rüttelgerät gemischt wurde.

Organische Phase:

Jeweils 500 mL Cyclohexan und Isooctan wurden im Ultraschallbad einige Minuten gemischt.

Lösung interner Standard (ISTD-NP):

4-n-NP wurde auf 0,01 mg genau in einem Becherglas eingewogen und mit Hilfe von Methanol quantitativ in einen Messkolben überführt. Es wurden ca. 20 mg eingewogen und durch entsprechendes Verdünnen erhielt man die gewünschte Endkonzentration ($c = 0,0405$ mg/L).

Lösung GSTD:

4-(2'-Nonyl)phenol wurde ebenfalls auf 0,01 mg genau in einem Becherglas eingewogen und mit Hilfe von Cyclohexan quantitativ in einen Messkolben überführt. Es wurden ca. 20 mg eingewogen und durch entsprechendes Verdünnen erhielt man die gewünschte Endkonzentration ($c = 0,410$ mg/L).

4-NP-Standardlösung für die HPLC:

4-n-NP und 4-NP wurden auf 0,1 mg genau in einem Becherglas eingewogen und mittels Cyclohexan quantitativ in einen Messkolben überführt. Durch entsprechendes Verdünnen erhielt man die gewünschten Endkonzentrationen von ungefähr 0,01 und 0,1 mg/L.

4-NP-Standardlösungen für GC-MS-Kalibrierung:

Ca. 20 mg 4-n-NP und 4-NP wurden auf 0,01 mg genau in einem Becherglas eingewogen und mittels Cyclohexan quantitativ in einen Messkolben überführt. Durch entsprechendes Verdünnen dieser Stammlösungen erhielt man die Kalibrierlösungen für die GC-Kalibrierung.

Tabelle 4: Übersicht über die 4-NP-Standardlösungen für die GC-MS-Kalibrierung

Kalibrierlösung	4-n-NP-Konzentration [mg/L]	4-NP-Konzentration [mg/L]
Std. 1	0,465	10,59
Std. 2	0,465	5,295
Std. 3	0,465	1,059
Std. 4	0,465	0,8472

4-tert.-OP-Standardlösungen für GC-MS-Kalibrierung:

Ca. 20 mg 4-tert.-OP wurden auf 0,01 mg genau in einem Becherglas eingewogen und mittels Cyclohexan quantitativ in einen Messkolben überführt. Durch entsprechendes Verdünnen dieser Stammlösungen erhielt man die Kalibrierlösungen für die GC-Kalibrierung.

Tabelle 5: Übersicht über die 4-tert.-OP-Standardlösungen für die GC-MS-Kalibrierung

Kalibrierlösung	4-tert.-OP-Konzentration [mg/L]
Std. 1	1,148
Std. 2	0,574
Std. 3	0,1148
Std. 4	0,07175

Säurebad:

Salzsäure (Riedel) wurde mit Reinstwasser zu einer ungefähr 1 molaren Lösung verdünnt.

Verwendete Geräte:

Tabelle 6: Verwendete Geräte

Geräteart	Gerätetyp	Hersteller
Analysenwaage	CP 225 D	Sartorius, Göttingen
Heizblock	aus Aluminium	Forschungszentrum Jülich, mechanische Werkstatt
Heizhaube	HRT 2	Horst, Lorsch
Kühler nach Veith und Kiwus	Veith-Kühler	Forschungszentrum Jülich, Glasbläserei
Mixer	8011 E	Waring Products Division, New Hartford (USA)
Oberschalenwaage	PL 1200	Mettler Toledo, Gießen
Rüttelgerät	Vibrofix VF 1	Janke & Kunkel Ika Werk, Staufen
Ultraschallbad	2210	Branson Ultrasonics, Dansbury (USA)
Ultra-Turrax	TP 18/10	Janke & Kunkel Ika Werk, Staufen
Trockenschrank	VT 5050 EK	Heraeus, Hanau

2.1.2. Reinheit des 4-NP-Standards

Die Reinheit des technischen 4-NP-Gemisches (Fluka) wurde nicht selber bestimmt, sondern der Wert von 92,9 % wurde von Heinke, 2000, übernommen.

2.1.3. Reinigung der Apparatur

Die Extraktionsapparatur bestand aus einem 2 L Rundkolben auf dem ein Veith-Kühler [Veith, 1977] und ein Intensivkühler mit einem U-Rohr steckte.

Eventuell anhaftende Probenreste wurden mit Leitungswasser aus dem Rundkolben entfernt. Zur vollständigeren Reinigung der Apparatur wurde für alle folgenden Reinigungsvorgänge das Kühlwasser nicht durch den Veith-Kühler (s. Abbildung 8) geleitet, sodass die Säure und die Lösungsmittel auch in den oberen Teil der Apparatur gelangten.

Man gab ca. 500 mL Salpetersäure, 65 %, und ein paar Siedesteine aus Teflon in den Rundkolben und erhitze unter Rückfluss 2 h lang. Die Salpetersäure wurde maximal 5-mal wieder verwendet. Nach dem Abkühlen entfernte man die Säure und spülte die komplette Apparatur mit Leitungswasser säurefrei.

Anschließend wurden ca. 250 mL Methanol und ein paar Siedesteinen ebenfalls unter Rückfluss 2 h lang erhitzt.

Nach dem Entfernen des Methanols wiederholte man die gleiche Prozedur mit n-Hexan, sodass im Anschluss die Apparatur komplett gereinigt für die Extraktion zur Verfügung stand.

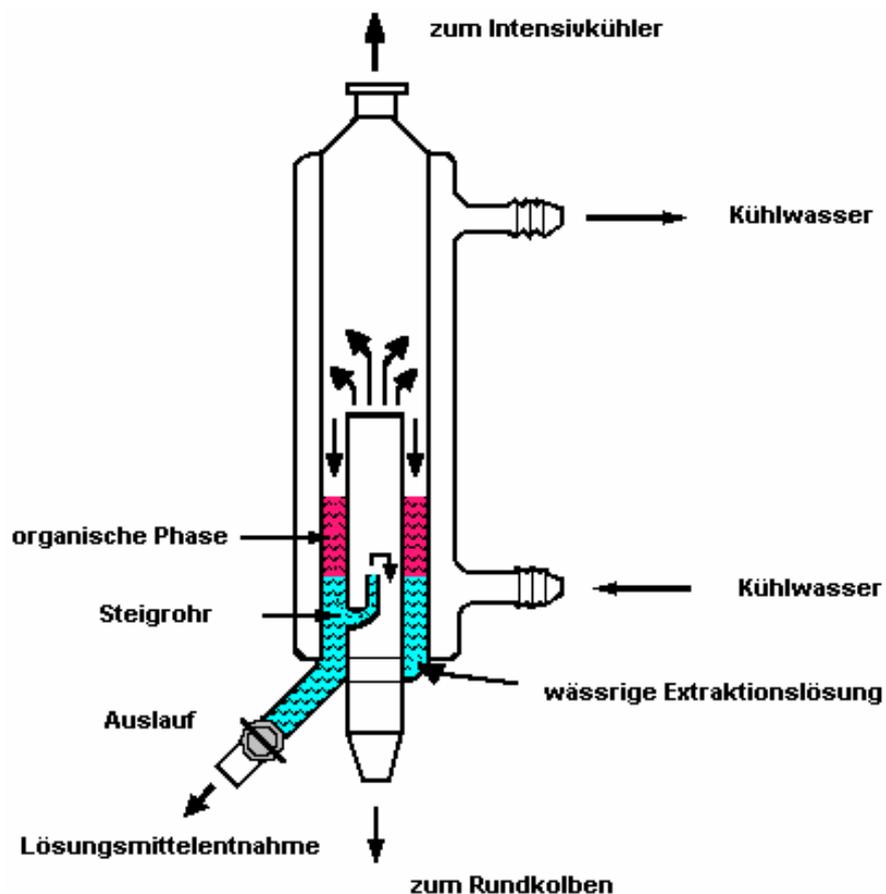


Abbildung 8: Veith-Kühler

2.1.4. Blindwertextraktion

In der gereinigten Apparatur (s. Kapitel 2.1.3.) extrahierte man vor jeder Probenextraktion einen so genannter Reagenzienblindwert (im Folgenden als Blindwert bezeichnet). Jeder Blindwert wurde genau wie die Probe aufgearbeitet, wobei nur die jeweilige Probe fehlte.

In einen Rundkolben wurden ca. 600 mL Extraktionslösung angesetzt. Um eventuellen Schwankungen in der Qualität des Leitungswassers vorzubeugen, füllte man für die Probenextraktion direkt im Anschluss eine 2,5 L Glasflasche mit Leitungswasser.

Auskochen der Extraktionslösung für den Blindwert:

Von dieser Extraktionslösung legte man jeweils mit einer Vollpipette ca. 25 mL in den Veith-Kühler vor und überschichtete mit 20 mL organischer Phase. Dabei achtete man darauf, dass keine organische Phase in das Steigrohr des Veith-Kühlers gelangte. Nun wurde 5 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen ließ man die wässrige Extraktionslösung und die organische Phase aus dem Veith-Kühler (im weiteren Text mit 'Inhalt des Auslaufes' bezeichnet) über den Auslauf ab und verwarf sie.

Die Wandungen des Veith-Kühlers reinigte man mit Hilfe einer Pasteurpipette und 3-8 mL Methanol. Das Steigrohr, den Auslauf und den unteren Schliff des Veith-Kühlers sowie des Intensiv-Kühlers spülte man mit jeweils 4 mL Methanol.

Blindwertextraktion:

Von dieser ausgekochten Extraktionslösung wurden wieder ca. 25 mL mit einer Vollpipette in den Veith-Kühler vorgelegt und mit 20 mL organischer Phase überschichtet. Als internen Standard gab man 500 µL der ISTD-NP Lösung [$c(4\text{-n-NP}) = 0,0405 \text{ mg/L}$ in Methanol], entsprechend 20,25 ng absolut, mittels einer Mikroliter-Spritze, die vorher mit derselben Lösung konditioniert wurde, hinzu. 5 h wurde unter Rückfluss erhitzt und nach dem Abkühlen wurde der Inhalt des Auslaufes, in dem sich die Analyten angereichert hatten, in einem 100 mL Messkolben aufgefangen. Anschließend wurde wie in Kapitel 2.1.6. beschrieben der Veith-Kühler mit organischer Phase gespült und eine Phasentrennung durchgeführt.

Auskochen der Extraktionslösung für die Probe:

Vor dem Auskochen musste die Apparatur erst wieder gereinigt werden. Dafür wurde der Inhalt des Rundkolben verworfen und dieser mit Hilfe einer Pasteurpipette und 3-8 mL Methanol gespült. Die Reinigung des Veith-Kühlers erfolgte wie oben beschrieben. Nach dem Abdampfen des Methanols setzte man mit dem vorher abgefüllten Leitungswasser ca. 600 mL Extraktionslösung im Rundkolben an. Ca. 25 mL dieser Lösung legte man wieder in den Veith-Kühler vor und überschichtete sie mit 20 mL organischer Phase. 5 h wurde unter Rückfluss erhitzt und nach dem Abkühlen konnte der Inhalt des Auslaufes verworfen und der Veith-Kühler wie oben beschrieben gereinigt werden.

2.1.5. Probenvorbereitung

Probennahme:

Alle Säuglings- und Kleinkindernahrungen waren handelsübliche Lebensmittel, die kommerziell erhältlich waren. Die Proben wurden so gelagert, wie sie im Einzelhandel zum Kauf bereit standen.

Probenvorbereitung:

Meistens lagen sie als homogener Brei vor, sodass ein gutes Umrühren mit einem Glasspatel ausreichend war. Ähnlich verhielt es sich mit pulverigen oder flüssigen, homogenen Proben, die kurz vor der Einwaage noch mal gut durchmengt wurden. Einige andere feste Proben mussten mittels eines Mixers oder Ultra-Turrax homogenisiert werden. Eine genaue Übersicht über die einzelnen Probenvorbereitungen gibt die Tabelle 59 'Anhang 7.5.: Proben nach dem Analyseverfahren für 4-NP'.

Für die Einwaage der Lebensmittelproben wurde eine entsprechende Menge (je nach Probe, die nach dem Analyseverfahren für 4-NP analysiert wurde: 7 - 102 g) in ein Becherglas gegeben. Weitere Hilfsmittel, wie ein Trichter und eventuell ein Glasspatel, wurden mitgewogen. Diese benötigt man, um die Lebensmittelprobe ohne Verluste in den Rundkolben, in dem sich die ausgekochte Extraktionslösung (s. Kapitel 2.1.5.) befand, zu überführen. Danach konnte man das Becherglas und eventuell gebrauchte Hilfsmittel zurückwiegen und aus der Differenz die Menge an Lebensmittelprobe errechnen.

Eine aufwendige Lagerung von Rückstellproben wurde vermieden, da meistens der verbleibende Rest in den Gläschen für keine weitere Analyse ausreichte. Bei den anderen Proben achtete man darauf, dass nur eine bestimmte Menge, die für die Analyse ausreichend war, eingekauft wurde.

2.1.6. Probenextraktion

Zuerst mussten von der sich im Rundkolben befindenden, ausgekochten Extraktionslösung wieder ca. 25 mL in den Veith-Kühler vorgelegt werden und mit 20 mL organischer Phase überschichtet werden.

Die entsprechend nach Kapitel 2.1.5. vorbereitete Lebensmittelprobe konnte nun in den Rundkolben gegeben werden. Als interner Standard wurden, wie bei der Blindwertextraktion, von derselben ISTD-NP Lösung wiederum 500 µL hinzugegeben. Die verwendete Mikroliter-Spritze war vorher mit dieser Lösung konditioniert worden.

Eigens für die Extraktion von Hühnerei-Homogenat musste vor dem Erhitzen noch 1 mL hochreine Salzsäure (Baker) hinzugegeben werden, um zu verhindern, dass Schaum bis in den Veith-Kühler stieg. Da dies aus der Arbeit von Heinke bekannt war, gab man auch vor der dazugehörigen Blindwertextraktion 1 mL hochreine Salzsäure (Baker) zur Extraktionslösung hinzu.

Dann wurde 5 h unter Rückfluss erhitzt und nach dem Abkühlen konnte der Inhalt des Auslaufes, in dem sich die Analyten angereichert hatten, in einem 100 mL Messkolben aufgefangen werden.

Sowohl für den Blindwert als auch für die Probe spülte man den Veith-Kühler mit einer Pasteurpipette und ca. 8 mL organischer Phase. Diese Spüllösung fing man ebenfalls in dem 100 mL Messkolben auf. Daraufhin wurde noch mit Leitungswasser solange der Veith-Kühler nachgespült, bis der 100 mL Messkolben, in den diese Spüllösung auch aufgefangen wurde, gefüllt war. Zur Phasentrennung wurde eine Apparatur, wie in Abbildung 9 schematisch dargestellt, verwendet.

Hierzu wurden ein Trichter und ein Trennaufsatz auf den 100 mL Messkolben gesetzt und durch Zugabe der entsprechenden Menge an Leitungswasser wurde die organische Phase komplett in den Trennaufsatz gedrückt. Der Hahn des Trennaufsatzes wurde nun geschlossen und der Trennaufsatz konnte daraufhin vom Rest der Apparatur abgenommen werden. Man entfernte überschüssige, wässrige Phase aus dem Trennaufsatz durch vorsichtiges Öffnen des Hahnes. Daraufhin gab man drei Spatelspitzen Natriumsulfat zu der organischen Phase. Nach einer Trocknungszeit von 30 min über Natriumsulfat überführte man mit Hilfe einer Pasteurpipette die organische Phase mit den angereicherten Analyten (im Folgenden mit Extrakt bezeichnet) in ein Spitzgläschen. Bei einer Temperatur von 43 °C und unter Stickstoffstrom wurde der Extrakt fast bis zur Trockne eingeengt.

Von den Wandungen des Spitzgläschens spülte man die anhaftenden Analyten mit 1 mL und 0,5 mL Cyclohexan herunter und engte wie oben beschrieben fast bis zur Trockne ein.

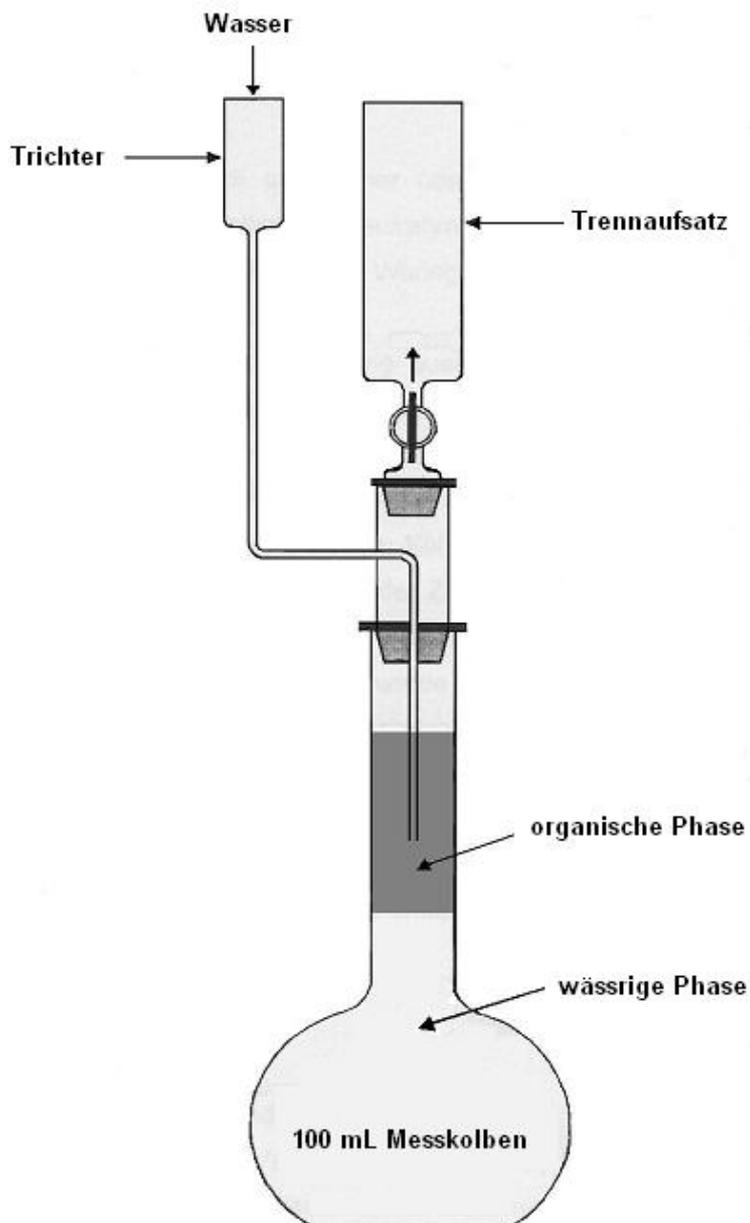


Abbildung 9: Phasentrennung

2.1.7. Aufreinigung mittels HPLC

Zur Aufreinigung der Extrakte wurde folgende HPLC-Anlage verwendet.

Tabelle 7: Beschreibung der HPLC-Anlage

Geräteart	Typ	Hersteller
Steuerung	L-5000 LC-Controller	Merck/Hitachi, Darmstadt
Injektor	Rheodyne 7161; 100 µL Probenschleife	Merck/Hitachi, Darmstadt
Pumpe	L 6200 Intelligent Pump	Merck/Hitachi, Darmstadt
Säule	Hypersil APS, 125 x 4 mm; sphärische 3 µm Partikel	CS-Chromatographie Service, Langerwehe
Säulenthermostat	T-6300	Merck/Hitachi, Darmstadt
Detektor	F-1080 Fluoreszenzdetektor Anregungswellenlänge: 259 nm Emissionswellenlänge: 300 nm	Merck/Hitachi, Darmstadt
Software	HPLC Manager, Version 2, 1993	Merck/Hitachi, Darmstadt

Um zu sehen, ob die HPLC-Anlage frei von Verunreinigungen war, startete man zu Beginn einer Probenaufreinigung nur das Gradientenprogramm (Tabelle 8) (Leergradient), ohne vorher injiziert zu haben. Bei einem starken Anstieg der Basislinie oder auch des Druckes wurde die umgedrehte Säule mehrere Stunden mit 2-Propanol gespült und anschließend wieder mit dem Lösungsmittelgemisch (97% : 3%) konditioniert.

Tabelle 8: Gradientenprogramm für die HPLC-Anlage

Zeit [min]	Gehalt an n-Hexan [%]	Gehalt an Gemisch* [%]	Flussrate [mL/min]
0	97	3	1
1	97	3	1
11	75	25	1
13	50	50	1
14	50	50	2
15	50	50	2
16	97	3	2
25,9	97	3	2
26	97	3	1

* n-Hexan und 2-Propanol wurden im Verhältnis 80:20 (v/v) gemischt.

Um die Retentionszeiten der Analyten zu bestimmen, wurden 150 µL der 4-NP-Standardlösung für die HPLC injiziert. Mit Hilfe dieser Retentionszeit konnte das Zeitfenster berechnet werden, in der nach erfolgter Probeninjektion die Probe in einem Spitzgläschen aufgefangen wurde. Dieses Zeitfenster wählte man so, dass kleinere Retentionsschwankungen nicht zu einem Verlust an Analyten führen konnten. Meistens fand eine Koeluierung von 4-n-NP und 4-NP statt, wobei das Zeitfenster dann so gewählt wurde, dass von der dieser Retentionszeit 0,9 min subtrahiert und 1,1 min addiert wurden. Falls es zwei Retentionszeiten gab, wurde von der ersten 0,9 min subtrahiert und zu der zweiten 1,1 min addiert.

Daraufhin nahm man den eingeeengten Extrakt für die Aufreinigung in meistens 900 µL Cyclohexan auf und brachte ihn mit Hilfe eines Rüttelgerätes (mindestens 10 s lang) in Lösung. Von dieser Lösung injizierte man 150 µL mit einer HPLC-Mikroliter-Spritze und fing das Eluat in dem zuvor ermittelten Zeitfenster in einem Spitzgläschen auf (Fraktion). Für jeden Blindwert wurde pro Apparatur eine Fraktion und für jede Probe wurden pro Apparatur mindestens zwei Fraktionen (außer bei den ersten fünf Proben – dort war es nur eine Fraktion) aufgefangen, wobei der restliche Extrakt bei 4 °C im Kühlschrank aufbewahrt wurde, um bei Bedarf darauf zurückgreifen zu können.

Jede einzelne Fraktion wurde unter Stickstoffstrom bei 43 °C fast bis zur Trockne eingeeengt. Anschließend spülte man von den Wandungen des Spitzgläschens die anhaftenden Analyten mit 1 mL und 0,25 mL Cyclohexan herunter und engte wie eben beschrieben ein.

2.1.8. Derivatisierung

Die eingeengte Fraktion in dem Spitzgläschen wurde in ca. 400 µL Derivatisierungslösung aufgenommen und etwa 10 s lang mittels Rüttelgerät gelöst. Mit einer Mikroliter-Spritze wurden 5 µL der Lösung Gerätestandard, mit 4-(2'-Nonyl)phenol in Cyclohexan, in ein braunes GC-Fläschchen gegeben. Nun konnte die in der Derivatisierungslösung gelöste Fraktion mit einer Mikroliter-Spritze in das GC-Fläschchen überführt werden, welches mit einer Bördelkappe vom Typ R8–1,0 (s. Tabelle 9) verschlossen wurde. Vor der Derivatisierung mussten

die Lösungen im dem GC-Fläschchen mindestens 10 s lang aufrecht und auf dem Kopf stehend durchmischt werden. Anschließend wurden sie 10 min lang bei 60 °C erwärmt. Es handelte sich bei der Derivatisierung um eine Silylierung des 4-NPs mit MTBSTFA.

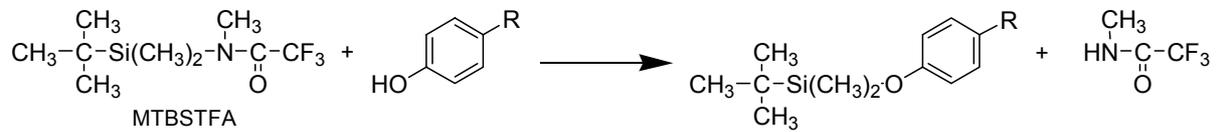


Abbildung 10: Derivatisierung der 4-AP mit MTBSTFA

2.1.9. Bestimmung mittels GC-MS

Die derivatisierten Lösungen der 4-NP-Standards für die GC-MS-Kalibrierung (s. Kapitel 2.1.10.), der Blindwerte und der Proben wurden mit einem GC-MS-System vermessen, das mit einem automatischen Probengeber und einem Large-Volume-System ausgestattet war. Von jeder Lösung wurden 105 µL durch den automatischen Probengeber injiziert.

Mit dem in Tabelle 9 beschriebenen GC-MS-System wurden meistens zwei verschiedene Proben, von denen immer jeweils eine Doppelbestimmung in zwei unterschiedlichen Apparaturen durchgeführt wurde, mit ihren Blindwerten wie folgt vermessen:

- Acetonitril (AcCN) und Derivatisierungslösung (Der.-Lsg.) jeweils einmal injiziert
- Standard-Kalibrierungslösung 4 mit der niedrigsten Analyt-Konzentration, die wie alle Kalibrierungslösungen dreimal injiziert wurde
- acht Blindwert-Injektionen, die sich aus den vier verschiedenen Apparaturen (App. 1-4), die jeweils zweimal injiziert wurden, zusammensetzten
- Der.-Lsg. (einmal injiziert)
- Standard-Kalibrierlösung 3 (dreimal injiziert)
- acht Injektionen von Probe I, die sich aus zwei verschiedenen Apparaturen (App. 1, 2), von denen jeweils zwei HPLC-Fraktionen existierten und die alle zweimal injiziert wurden, zusammensetzten
- Der.-Lsg. (einmal injiziert)
- Standard-Kalibrierlösung 2 (dreimal injiziert)
- acht Injektionen von Probe II, die sich aus zwei verschiedenen Apparaturen (App. 3, 4), von denen jeweils zwei HPLC-Fraktionen existierten und die alle zweimal injiziert wurden, zusammensetzten
- Der.-Lsg. (einmal injiziert)
- Standard-Kalibrierlösung 1 (dreimal injiziert)

Nachfraktionierte Blindwerte oder Proben wurden so in die Messsequenz eingebaut, dass sie direkt nach den vorgesehenen Blindwerten bzw. Proben vermessen wurden.

Tabelle 9: Beschreibung des GC-MS-Systems

Geräteart	Gerätetyp	Hersteller	Beschreibung
Autosampler	CTC A200 SE	CTC Analytics bzw. Chromtech, Idstein	automatischer Pro- bengeber
Autosampler-Spritze	Mikroliter-Spritze	SGE, Darmstadt	250 µL; mit aus- wechselbarer, koni- scher Nadelspitze
Autosampler GC- Fläschchen	R 07s, braun	CS- Chromatographie Service, Langer- wehe	600 µL Braunglas- Fläschchen
Autosampler Bördel- kappen für GC- Fläschchen	R8 – 1,0	CS- Chromatographie Service, Langer- wehe	Naturkautschuk plus 1 mm Teflon
Injektionssystem	Large-Volume- Controller	ATAS, Cambridge (GB)	Optic 2
	Large-Volume-Injektor	ATAS, Cambridge (GB)	Optic 2-200 PTV- Injektor
	Liner	SGE, Darmstadt	mit Diatomit ge- packter Glas-Liner, 3,5 mm I.D.
Gaschromatograph	GCQ	Finnigan MAT, San Jose (USA)	
GC-Säulen	Vorsäule	J&W Scientific, Folsom (USA)	deactivated-fused- silica; 0,25 mm I.D. · 10 m Länge
	Säulenverbinder	SGE, Darmstadt	Universal-Einweg- Steckverbinder aus Glas
	Trennsäule	Chrompack, Frankfurt	WCOT Fused Silica CP-Sil-8 CB; 0,25 mm I.D. · 30 m Länge; Filmdicke: 0,25 µm
Massenspektrometer	GCQ	Finnigan MAT, San Jose (USA)	Ionenfallengerät
Computer	Gateway 2000, P5-75	Gateway 2000, Sioux City (USA)	
Software für das GCQ	Steuerungs- und Aus- wertungssoftware	Finnigan MAT, San Jose (USA)	GCQ Analysis 1997, Version 2.2
weitere Software	Makro Semrau.xls, 1997, Version 2.0	Axel Semrau, Sprockhövel	Umwandlung von GCQ- in Excel- Formate
	Excel Version 7	Microsoft Corpora- tion, Redmond (USA)	Microsoft Excel, für Windows 95

In Tabelle 10 sind die genauen Einstellungen aufgelistet, unter denen die derivatisierten Lösungen vermessen wurden.

Tabelle 10: Einstellungen am GC-MS-System

Geräteteil	Parameter	Einstellung
Autosampler *	Injektionsvolumen	4,7 entspricht 105 µL bei einer 250 µL Spritze
	Volumen der mitinjizierten Luft	0 µL
	Konditionierung der Spritze	dreimal
	Spülschritte vor der Injektion	1
	Spülschritte mit Probe	0
	Spülschritte nach der Injektion	2
	Aufheizzeit der Nadel im Injektor	1 s
	Verbleiben der Nadel im Injektor nach der Injektion	1 s
Injektionssystem	Trägergas	Helium 6.0
	Trägergasdruck	19 psi
	Trägergasgeschwindigkeit	45 cm/s (bei 70 °C)
	Equilibrierungszeit	30 s
	Anfangstemperatur	70 °C
	Vent-Time (Abblaszeit)	60 s
	Aufheizrate	5 °C / s
	Endtemperatur	275 °C (bei AcCN & Der.-Lsg.: 300 °C)
	Dauer, für die die erreichte Endtemperatur gehalten wird	33 min
	Dauer, für die das Split-Ventil geschlossen ist	2 min
	Transferdruck	25 psi
	Transferdauer	0 min
	Druck zu Beginn des GC-Laufes	25 psi
	Druck am Ende des GC-Laufes	25 psi
Gaschromatograph	Temperaturprogramm	70 °C (3 min lang) mit 20 °C / min auf 165 °C mit 4 °C / min auf 250 °C mit 40 °C / min auf 280 °C 280 °C (5 min lang) (bei AcCN & Der.-Lsg.: mit 40 °C / min auf 290 °C 290 °C (5 min lang))
Massenspektrometer	Temperatur der Transferline	280 °C (bei AcCN & Der.-Lsg.: 290 °C)
	Ionisierungsart	Elektronenstoßionisation
	Ionisierungsenergie	70 eV
	Polarität	positiv
	gemessener Messbereich	100 – 340 amu
	Zeit für einen Scan	0,33 s
	Massendefekt	0 mmu/amu
	Temperatur der Ionenquelle	180 °C
	Beginn der Ionisation	10 min nach GC-Start
Messart	Full-Scan-Modus über den eingestellten Bereich	
Datenauswertung	Suchmethode	über das Massenspektrum
	Mindestübereinstimmung der Spektren	700 (70 %)
	Breite des Suchfensters	20 s (10 s vor und hinter dem Maximum)

* Weitere Einstellungen des Autosamplers sind in Tabelle 60: 'Anhang 7.6.: Weitere Einstellungen des Autosamplers' zu finden.

2.1.10. Kalibrierung und Auswertung

Ermittlung der Isomerenverteilung des technischen 4-NPs:

Genauso wie die Reinheitsüberprüfung von 4-NP konnte auch die Isomerenverteilung von Heinke, 2000, übernommen werden. Denn alle Messdaten, die nach dem Analysenverfahren für 4-NP ermittelt wurden, waren auf einer identischen CP-Sil-8-GC-Säule unter den gleichen GC-MS-Bedingungen gemessen worden.

Kalibrierung und Ermittlung der Responsefaktoren:

Für die Kalibrierung des unter Kapitel 2.1.9. beschriebenen GC-MS-Systems wurden die 4-NP-Standardlösungen (Std. 1 - 4) innerhalb jeder neuen Messsequenz mit vermessen (genaue Abfolge s. Kapitel 2.1.9.). Dabei wurde das technische 4-NP in elf Isomere aufgetrennt. Die für die Kalibrierung verwendeten Lösungen wurden wie folgt hergestellt:

- 5 µL Lösung Gerätestandard (4-(2'-Nonyl)phenol),
- 5 µL 4-NP-Standardlösung, die jeweils immer dieselbe Menge an 4-n-NP enthielt,
- und 390 µL Derivatisierungslösung

wurden mittels verschiedener Mikroliter-Spritzen in ein braunes GC-Fläschchen gegeben, welches mit einer Bördekkappe vom Typ R8 – 1,0 verschlossen wurde. Anschließend wurden die Lösungen in dem verschlossenen GC-Fläschchen jeweils mindestens 10 s lang aufrecht und auf dem Kopf stehend mit dem Rüttelgerät durchmischt. Für die Derivatisierung der Analyten wurde es daraufhin 10 min lang bei 60 °C erwärmt.

Für die Ermittlung der Responsefaktoren der einzelnen 4-NP-Isomere wurden die Peaks der zwölf Messungen der Standardlösungen mit der GCQ-Auswertesoftware integriert. Dafür wurde eine so genannte Kalibrierdatei benötigt, die teilweise neu erstellt werden musste, da sich die Retentionszeiten und Spektren der einzelnen 4-NP-Isomere leicht verändert hatten. Zur automatischen Erkennung der 4-NP-Peaks durch die Software waren des Weiteren folgende Festlegungen aus der Kalibrierdatei von Heinke, 2000, übernommen worden:

- Breite des Suchfensters, in dem nach dem entsprechenden Peak gesucht wurde
- Masse-Ladungsverhältnis [m/z] des Fragmentions (Im Folgenden als 'Ionenspur m/z' bezeichnet), über das (auf der) quantifiziert wurde
- Zuordnung der Peaks zum internen Standard
- Wert für die minimale Übereinstimmung zwischen abgespeichertem Vergleichspektrum und dem Spektrum des gesuchten Peaks

Somit ergaben sich nach Integration, die für jeden der Peaks manuell kontrolliert wurde, 13 Flächenwerte (elf-4-NP, 4-n-NP und GSTD), die zusammen mit allen anderen Messinformationen mittels der GCQ-Auswertesoftware nach Excel exportiert werden konnten. Dort wurden in einer selbsterstellten Datei die relativen Responsefaktoren für die elf 4-NP-Isomere nach folgender Gleichung berechnet:

$$RRF (\text{Isomer } n) = \frac{FI (\text{Isomer } n) \cdot c(ISTD)}{c(\text{Isomer } n) \cdot FI(ISTD)} \quad \text{Gleichung 1}$$

Dabei sind:

$RRF(\text{Isomer } n)$:	relativer Responsefaktor des 4-NP-Isomers n im Verhältnis zum internen Standard 4-n-NP
$FI(\text{Isomer } n)$:	Fläche des 4-NP-Peaks n in Flächeneinheiten (FE), bestimmt auf der jeweiligen Ionenspur m/z
$FI(\text{ISTD})$:	Fläche des internen Standard-Peaks 4-n-NP in FE, bestimmt auf der Ionenspur m/z 165
$c(\text{Isomer } n)$:	Konzentration des 4-NP-Isomers n in mg/L (von Heinke, 2000)
$c(\text{ISTD})$:	Konzentration des internen Standards 4-n-NP in mg/L

Auf diese Weise erhielt man für jedes 4-NP-Isomer – bei vier verschiedenen 4-NP-Standardlösungen und jeweils drei Injektionen – zwölf relative Responsefaktoren, über die zur Erlangung eines einzelnen Faktors gemittelt wurden.

Der jeweilige Responsefaktor für den GSTD, der für die Berechnung der Wiederfindung benötigt wurde (s. unten), wurde wie folgt berechnet:

$$RRF(\text{GSTD}) = \frac{c(\text{GSTD}) \cdot FI(4nNP)}{FI(\text{GSTD}) \cdot c(4nNP)} \quad \text{Gleichung 2}$$

Dabei sind:

$RRF(\text{GSTD})$:	relativer Responsefaktor von 4-n-NP bezogen auf den Gerätestandard 4-(2'-Nonyl)phenol
$FI(4nNP)$:	Fläche des 4-n-NP-Peaks in FE, bestimmt auf der Ionenspur m/z 165
$FI(\text{GSTD})$:	Fläche des Gerätestandard-Peaks 4-(2'-Nonyl)phenol in FE, bestimmt auf der Ionenspur m/z 235
$c(\text{GSTD})$:	Konzentration des Gerätestandards 4-(2'-Nonyl)phenol in mg/L
$c(4nNP)$:	Konzentration des 4-n-NPs in mg/L

Man erhielt wiederum zwölf relative Responsefaktoren, über die zur Erlangung eines einzelnen Faktors gemittelt wurden.

Auswertung von Probenmessdaten:

Nach der Integration der Blindwert- und Proben Daten mit der GCQ-Auswertesoftware wurden sämtliche Messinformationen mit der GCQ-Software exportiert und mit dem Excel-Makro umgewandelt. Anschließend konnten aus den einzelnen Flächenwerten jedes 4-NP-Peaks die Absolutmassen sowohl der Blindwerte als auch der Probenwerte nach folgender Gleichung berechnet werden:

$$m(\text{Isomer } n, \text{abs}) = \frac{FI(\text{Isomer } n, \text{abs}) \cdot m(\text{ISTD})}{FI(\text{ISTD}) \cdot RRF(\text{Isomer } n)} \quad \text{Gleichung 3}$$

Dabei sind:

$m(\text{Isomer } n, \text{abs})$:	Absolutmasse des 4-NP-Isomers n in ng
$FI(\text{Isomer } n, \text{abs})$:	Fläche des 4-NP-Peaks n in FE, bestimmt auf der jeweiligen Ionenspur m/z
$FI(\text{ISTD})$:	Fläche des internen Standard-Peaks 4-n-NP in FE, bestimmt auf der Ionenspur m/z 165

$m(ISTD)$: Masse des internen Standards 4-n-NP in ng
 $RRF(Isomer\ n)$: relativer Responsefaktor des 4-NP-Isomers n im Verhältnis zum internen Standard 4-n-NP

Daraufhin subtrahierte man die Absolutmassen der Blindwerte von den Absolutmassen der Probenwerte und erhielt die korrigierten Absolutmassen jedes einzelnen 4-NP-Isomers in der Probe. Dabei wurde jeweils von dem Probenwert der Blindwert abgezogen, der unmittelbar zuvor in derselben Apparatur analysiert worden war.

$$m(Isomer\ n, abs, LM) = m(Isomer\ n, abs, Pr) - m(Isomer\ n, abs, BW) \quad \text{Gleichung 4}$$

Dabei sind:

$m(Isomer\ n, abs, LM)$: Absolutmasse des 4-NP-Isomers n im Lebensmittel in ng
 $m(Isomer\ n, abs, Pr)$: Absolutmasse des 4-NP-Isomers n in der Probe in ng
 $m(Isomer\ n, abs, BW)$: Absolutmasse des 4-NP-Isomers n im Blindwert in ng

Daraus ließ sich der Gehalt an 4-NP in der Probe berechnen, indem die Absolutmassen aller elf 4-NP-Isomere aufsummiert und auf die Einwaage bezogen wurden.

$$G(LM) = \frac{\sum_{n=1}^{11} m(Isomer\ n, abs, LM)_n \cdot 1000}{m(Einwaage)} \quad \text{Gleichung 5}$$

Dabei sind:

$G(LM)$: Gehalt an 4-NP gesamt im Lebensmittel in ng/kg
 $m(Isomer\ n, abs, LM)$: Absolutmasse des 4-NP-Isomers n im Lebensmittel in ng
 $m(Einwaage)$: Einwaage der Probe in g

Berechnung der Wiederfindung:

Die Wiederfindung des ISTD wurde mit Hilfe der Lösung GSTD bestimmt, der erst kurz vor Ende des Analysenganges ins GC-Fläschchen hinzugegeben worden war. Die Berechnung erfolgte mittels folgender Gleichungen:

$$WF(ISTD) = \frac{m(Messung) \cdot 100\%}{m(Berechnung)} \quad \text{Gleichung 6}$$

Dabei sind:

$WF(ISTD)$: Wiederfindung des internen Standards in %
 $m(Messung)$: absolute Masse des internen Standards, bezogen auf 4-(2'-Nonyl)phenol
 $m(Berechnung)$: absolute Masse des 4-n-NPs (Berechnung aus der zugegebenen Masse und der Verdünnung bei der HPLC-Aufreinigung)

$m(Messung)$ wurde berechnet nach:

$$m(Messung) = \frac{FI(4nNP) \cdot m(GSTD)}{FI(GSTD) \cdot RRF(GSTD)} \quad \text{Gleichung 7}$$

wobei RRF(GSTD) nach Gleichung 2 (s. oben) berechnet wurde.

Dabei sind:

<i>FI(4nNP)</i> :	Fläche des 4-n-NP-Peaks in FE, bestimmt auf der Ionenspur m/z 165
<i>FI(GSTD)</i> :	Fläche des Gerätestandard-Peaks 4-(2'-Nonyl)phenol in FE, bestimmt auf der Ionenspur m/z 235
<i>m(GSTD)</i> :	absolute Masse des Geräte-Standards 4-(2'-Nonyl)phenol
<i>RRF(GSTD)</i> :	relativer Responsefaktor von 4-n-NP bezogen auf den Gerätestandard 4-(2'-Nonyl)phenol

m(Berechnung) wurde berechnet nach:

$$m(\text{Berechnung}) = \frac{m(4nNP) \cdot 100}{V(HPLC)} \quad \text{Gleichung 8}$$

Dabei sind:

<i>m(4nNP)</i> :	absolute Masse des 4-n-NPs
<i>100</i> :	Volumen der verwendeten HPLC-Probeschleife in μL
<i>V(HPLC)</i> :	Volumen, in dem der Extrakt vor der HPLC-Aufreinigung aufgenommen wurde, in μL

Berechnung der Nachweis- (NG) und Bestimmungsgrenze (BG):

Die NG kann nach Funk et al., 1985, wie folgt definiert werden:

Die NG eines Analyseverfahrens ist jene kleinste Menge oder Konzentration eines Stoffes, die mit einer geforderten statistischen Sicherheit (z.B. Wahrscheinlichkeit von 95 %) bei einer einmaligen Analyse mit einem Fehlerrisiko von 5 % qualitativ von der Arbeitsmenge Null unterschieden werden kann.

Die Berechnung wurde, wie folgt, durchgeführt [EURACHEM, 1998]:

$$NG = M + 3 \cdot STABW \quad \text{Gleichung 9}$$

Dabei sind:

<i>NG</i> :	Nachweisgrenze in ng abs.
<i>M</i> :	Mittelwert von zwei Blindwert-Messungen in ng abs.
<i>STABW</i> :	Standardabweichung von zwei Blindwert-Messungen in ng abs.

Die BG ist definiert als die geringste Konzentration, die mit einer gegebenen statistischen Sicherheit (z.B. Wahrscheinlichkeit von 95 %) quantitativ von der Arbeitsmenge Null unterschieden werden kann [Funk et al., 1985].

Die Berechnung ergab sich wie folgt [EURACHEM, 1998]:

$$BG = M + 6 \cdot STABW \quad \text{Gleichung 10}$$

Dabei sind:

<i>BG</i> :	Bestimmungsgrenze in ng abs.
<i>M</i> :	Mittelwert von zwei Blindwert-Messungen in ng abs.
<i>STABW</i> :	Standardabweichung von zwei Blindwert-Messungen in ng abs.

2.1.11. Reinigung von Gerätschaften

Alle Glasgeräte, die nicht mit Lebensmitteln in Berührung gekommen waren, wurden sowohl mit Aceton und als auch mit Reinstwasser mehrmals gespült. Anschließend folgte eine Trocknung im Trockenschrank bei ca. 80 °C.

Außer der Extraktionsapparatur mussten alle Glasgeräte, die mit Lebensmitteln in Berührung gekommen waren, zuerst von groben Proberesten befreit werden. Anschließend spülte man diese mehrmals mit warmer neodisherN-Lösung, mit Leitungswasser und zum Schluss mit Aceton. Nachdem sie mindestens 12 h lang im Säurebad gelegen hatten, wurden sie jeweils dreimal mit Leitungswasser und Reinstwasser gespült. Anschließend folgte eine Trocknung im Trockenschrank bei etwa 80 °C.

Alle Maßgefäße trockneten bei Raumtemperatur und nicht im Trockenschrank. Vollpipetten konnten durch Spülen mit Methanol getrocknet werden.

Die Vollpipette zum Vorlegen der Extraktionslösung in den Veith-Kühler spülte man zuerst mehrmals mit Reinstwasser und anschließend mit Methanol. Die Vollpipette zum Befüllen des Veith-Kühlers mit organischer Phase wurde nicht gespült, sondern bei Raumtemperatur getrocknet.

Der Mixer musste zuerst von groben Proberesten befreit werden. Danach erfolgte die Reinigung durch mehrmaliges Betreiben des Mixers mit warmer neodisherN-Lösung, Leitungswasser und Reinstwasser. Durch mehrmaliges Ausspülen mit Methanol wurde zum Schluss gereinigt und getrocknet.

Nach dem Entfernen grober Probenreste spülte man den Ultra-Turrax durch mehrmaliges Betreiben mit warmer neodisherN-Lösung und Leitungswasser. Anschließend wurde er auseinander gebaut und durch mehrmaliges Spülen mit Aceton und Reinstwasser gereinigt. Zum Schluss erfolgte die Trocknung durch kurzes Spülen mit Methanol.

Hilfsmittel aus Metall, wie z.B. Messer oder Spatel, wurden mehrmals mit Aceton und Reinstwasser gespült und bei Raumtemperatur getrocknet. Wenn sie mit Lebensmitteln in Berührung gekommen waren, spülte man sie vorher mit warmer neodisherN-Lösung und Leitungswasser.

Sämtliche Mikroliter-Spritzen spülte man von außen mit Aceton, um sie anschließend dreimal mit n-Hexan, dreimal mit Cyclohexan und zum Schluss dreimal mit dem Lösungsmittel aufzuziehen, welches als Lösungsmittel der entsprechenden Lösung diente, wofür die Spritze bestimmt war.

2.2. Analyseverfahren für 4-NP und Octylphenol (4-tert.-OP)

Mit Hilfe des Analyseverfahrens für 4-NP und Octylphenol (4-tert.OP) wurden nicht nur Säuglings- und Kleinkinderproben untersucht, sondern auch alle Biofilm- und Flusswasserproben. Deswegen wird hier im Kapitel 2.2.5. auf die Probennahme und Probenvorbereitung der Biofilm- und Flusswasserproben eingegangen.

2.2.1. Verwendete Chemikalien, Lösungen und Geräte

Hier sind nur weitere Chemikalien aufgeführt, die vorher noch nicht verwendet wurden. Es wurden auch alle im Kapitel 2.1.1. aufgeführten Chemikalien verwendet.

Zusätzliche Chemikalien:

Tabelle 11: Zusätzliche Chemikalien für das Analysenverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Chemikalie	Reinheit	Hersteller
Formaldehyd-Lsg.	37 %, Baker analyzed	Baker, Deventer (NL)
N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoroacetamid (MSTFA)	keine Angabe	CS, Chromatographie-Service, Langerwehe
4-n-OP	99 %	Aldrich, Milwaukee (USA)
4-tert.-OP	93,6 % *	Merck Schuchardt, München

* selber bestimmt

Andere Lösungen:

Hier sind nur weitere Lösungen aufgeführt, die vorher noch nicht verwendet wurden. Es wurden auch alle im Kapitel 2.1.1. aufgeführten Lösungen verwendet, soweit sie hier nicht verändert aufgeführt sind.

Lösung interner Standard (ISTD-OP):

4-n-OP wurde auf 0,01 mg genau in einem Becherglas eingewogen und mit Hilfe von Methanol quantitativ in einen Messkolben überführt. Es wurden ca. 20 mg eingewogen und durch entsprechendes Verdünnen erhielt man die gewünschte Endkonzentration ($c = 0,04936$ mg/L).

4-tert.-OP-Standardlösungen zur Bestimmung der Reinheit:

4-tert.-OP wurde auf 0,1 mg genau in einem Becherglas eingewogen und mittels Cyclohexan quantitativ in einen Messkolben überführt. Durch entsprechendes Verdünnen erhielt man die gewünschten Endkonzentrationen von ungefähr 25, 50 und 150 mg/L.

4-NP-Standardlösung zur Bestimmung der Isomerenverteilung:

4-n-NP und 4-NP wurden auf 0,01 mg genau in einem Becherglas eingewogen und mittels Cyclohexan quantitativ in einen Messkolben überführt. Durch entsprechendes Verdünnen erhielt man die gewünschten Endkonzentrationen von 93,0 und 787,05 mg/L.

4-NP-/4-tert.-OP-Standardlösung für die HPLC:

4-n-NP, 4-NP, 4-n-OP und 4-tert.-OP wurden auf 0,1 mg genau in einem Becherglas eingewogen und mittels Cyclohexan quantitativ in einen Messkolben überführt. Durch entsprechendes Verdünnen erhielt man die gewünschten Endkonzentrationen von ungefähr 0,01 und 0,1 mg/L für 4-NP und 0,01 mg/L für beide OP.

4-NP-/4-tert.-OP-Standardlösungen für GC-MS-Kalibrierung:

Ca. 20 mg 4-n-NP, 4-NP, 4-n-OP und 4-tert.-OP wurden jeweils auf 0,01 mg genau in einem Becherglas eingewogen und mittels Cyclohexan quantitativ in einen Messkolben überführt. Durch entsprechendes Verdünnen dieser Stammlösungen erhielt man die Kalibrierlösungen für die GC-MS-Kalibrierung.

Tabelle 12: Übersicht über die 4-NP-/4-tert.-OP-Standardlösungen für die GC-MS-Kalibrierung

Kalibrierlösung	4-n-NP Konzentration [mg/L]	4-NP Konzentration [mg/L]	4-n-OP Konzentration [mg/L]	4-tert.-OP Konzentration [mg/L]
Std. 1	0,465	10,59	0,5394	1,148
Std. 2	0,465	5,295	0,5394	0,574
Std. 3	0,465	1,059	0,5394	0,1148
Std. 4	0,465	0,8472	0,5394	0,07175

Verwendete Geräte:

(s. Kapitel 2.1.1.)

2.2.2. Reinheit des 4-tert.-OP-Standards

Die Reinheit von 4-tert.-OP wurde mit Hilfe eines Gaschromatographen, der mit einem Flammenionisationsdetektor (GC-FID) gekoppelt war, bestimmt. Jeweils dreimal 1 µL der drei 4-tert.-OP-Standardlösungen wurden zur Bestimmung der Reinheit injiziert. Eine Derivatisierung wurde nicht durchgeführt. Nähere Beschreibungen des verwendeten Systems geben Tabelle 13 und 14 wieder:

Tabelle 13: Beschreibung des GC-FID-Systems

Geräteart	Gerätetyp	Hersteller	Beschreibung
Gaschromatograph mit eingebautem Split-/Splitless-Injektor und Flammenionisationsdetektor	HP 5890 A	Hewlett-Packard, Delaware (USA)	
GC-Säule	Trennsäule	CS Chromatographie-Service, Langerwehe	FS-OV-1-CB-Säule, 0,25 mm I.D. · 30 m Länge; Filmdicke: 0,25 µm
Integrator		Hewlett-Packard, Delaware (USA)	HP 3396 Series II Integrator

Tabelle 14: Einstellungen am GC-FID-System

Geräteteil	Parameter	Einstellung
Injektor	Betriebsart	Split-/Splitless (3 min nach Injektion öffnet sich Split)
	Temperatur	280 °C
	Trägergas	Helium 5.0
	Trägergasdruck	133 kPa
	Trägergasgeschwindigkeit	1,6 mL / min (bei 70 °C)
	Spülung des Septums	2,8 mL / min (bei 70 °C)
	Split	22 mL / min (bei 70 °C)
Gaschromatograph	Temperaturprogramm	70 °C (3 min lang) mit 20 °C / min auf 165 °C mit 4 °C / min auf 250 °C mit 40 °C / min auf 280 °C 280 °C (5 min lang)
Detektor	Brenngase	Wasserstoff: 34 mL / min synthetische Luft: 420 mL / min (jeweils bei 70 °C)
	Hilfsgas	Helium 5.0: 30 mL / min (bei 70 °C)
	Temperatur	300 °C

2.2.3. Reinigung der Apparatur

(s. Kapitel 2.1.3.)

Folgende Änderungen wurden gemacht:

Beim Erhitzen der Salpetersäure, 65%, des Methanols und von n-Hexan achtete man darauf, dass die ersten mL Säure bzw. Lösungsmittel, die sich im Veith-Kühler gesammelt hatten, aus diesem über den Auslauf entfernt wurden, bevor sie wieder in den Rundkolben gelangen konnten.

2.2.4. Blindwertextraktion

Es wurde grundsätzlich wie unter Kapitel 2.1.4. beschrieben vorgegangen, wobei sich folgendes änderte:

Wie bereits beschrieben, legte man in den Veith-Kühler ausgekochte Extraktionslösung und organische Phase vor. Anschließend gab man zu der ausgekochten Extraktionslösung als internen Standard zusätzlich zu den 500 µL der ISTD-NP Lösung ebenfalls 500 µL der ISTD-OP Lösung [$c(4\text{-n-OP}) = 0,04936 \text{ mg/L}$ in Methanol], entsprechend 24,68 ng absolut, mittels einer Mikroliter-Spritze hinzu. Die Mikroliter-Spritze war vorher mit der jeweiligen Lösung konditioniert worden.

Für die Analyse der Biofilm- und Flusswasserproben gab man ein bestimmtes Volumen an Formaldehyd-Lsg. hinzu. Die Höhe des Volumens richtete sich danach, wie viel Formaldehyd-Lsg. zu der Biofilm- bzw. Flusswasserprobe, die nach dem Blindwert extrahiert werden sollte, zugesetzt worden war (s. Kapitel 2.2.5.). Dabei halbierte man das zugesetzte Volumen, da auch die Biofilm- bzw. Flusswasserprobe auf zwei Apparaturen aufgeteilt werden musste.

2.2.5. Probenvorbereitung

Säuglings- und Kleinkindernahrung:

Probennahme:

Bei den Säuglings- und Kleinkindernahrungen handelte es sich wie im Kapitel 2.1.5. um handelsübliche Lebensmittel. Frischgut wurde erst am Tag zuvor gekauft und ebenso wie die haltbaren Proben so gelagert, wie sie im Einzelhandel zum Kauf bereit standen.

Probenvorbereitung:

Zusätzlich zu den in Kapitel 2.1.5. beschriebenen Probenvorbereitungen mussten einige Lebensmittel (Eier, Karotten, Bananen und Kartoffeln) von ihrer Schale befreit werden, um nur den essbaren Anteil zu erhalten. Wobei die Kartoffeln zusätzlich noch gekocht wurden. Die Einwaagen für die Lebensmittelproben, die nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP analysiert worden waren, lagen je nach Art des Lebensmittels zwischen 11 g und fast 1000 g.

Biofilm- und Flusswasserproben:

Die Biofilm- und Flusswasserproben hatten teilweise Mitarbeitern der Universität Duisburg-Essen, Fachgebiet Aquatische Mikrobiologie, an der Ruhr nahe Duisburg (Biofilm 1 - 7, Flusswasserprobe 1) gesammelt. Die anderen Proben waren von mir selber an der Niers nördlich

von Mönchengladbach (Biofilm 8-10, Flusswasserprobe 2 - 4) gesammelt worden (s. Anhang 7.7. 'Herkunft und Art der Biofilm- und Flusswasserproben').

Probennahme:

Bei den Biofilmproben handelte es sich entweder um epilithische Biofilme oder um Biofilme, die aus der obersten Sediment-Schicht des Flussbettes bestanden. Die epilithischen Biofilme wurden mit Hilfe eines Metallspatels von im Fluss gelegenen Steinen direkt in eine 250 mL Glasflasche gekratzt. Es wurden nur Steine verwendet, die komplett unter Wasser lagen. Anschließend konservierte man die Proben durch Zugabe von Formaldehyd-Lsg. (1% Formaldehyd in der Probe (v/v)). Die Proben wurden bis zur Analyse bei 4 °C gelagert.

Die Probennahme für Flusswasser erfolgte durch Eintauchen von 250 mL bzw. 1000 mL Glasflaschen in den Fluss. Die Konservierung und Lagerung erfolgte wie bei den Biofilmproben. Zur Charakterisierung der Biofilm- und Flusswasserproben (s. Kapitel 2.4.) wurden die Proben wie oben beschrieben gesammelt, aber es fand keine Konservierung mit Formaldehyd-Lsg. statt.

Bei allen Probennahmen achtete man darauf, dass sie immer stromaufwärts vom eigenen Standpunkt stattfanden, um Kontaminationen zu vermeiden.

Der Transport der gekühlten Proben von Duisburg nach Jülich bzw. umgekehrt wurde mit Hilfe eines Express-Dienstes durchgeführt.

Probenvorbereitung:

Die Homogenisierung der Biofilm- und Flusswasserproben erfolgte durch kräftiges Schütteln. Bei der Einwaage in ein Becherglas wurde darauf geachtet, dass die Probe wenn möglich genau halbiert wurde (s. Kapitel 2.2.4.). Hilfsmittel wie Trichter und ein eventuell benutzter Glasspatel wog man mit. Nach der Überführung der Probe in den Rundkolben wurde das Becherglas mit den gebrauchten Hilfsmitteln zurückgewogen. Aus der Differenz konnte die Menge an Probe berechnet werden. Für die Biofilme lagen die Einwaagen zwischen 52 g und fast 150 g und bei den Flusswasserproben zwischen 242 g und 505 g. Dabei war die Höhe der Einwaage nur von der gesammelten Menge abhängig, da immer die gesamte Probe einwogen wurde.

2.2.6. Probenextraktion

Zuerst musste der Veith-Kühler wie in Kapitel 2.1.6. beschrieben befüllt werden.

Anschließend konnte die vorbereitete Lebensmittel-, Biofilm- oder Flusswasserprobe (s. Kapitel 2.2.5.) in den Rundkolben gegeben werden und es wurde nicht nur die Lösung ISTD-NP als interner Standard hinzugegeben, sondern auch wie bei der Blindwertextraktion 500 µL der Lösung ISTD-OP als interner Standard für 4-tert.-OP. Die verwendete Mikroliter-Spritze war vorher jeweils mit der entsprechenden Lösung konditioniert worden. Dann wurde wie in Kapitel 2.1.6. beschrieben weiterverfahren.

2.2.7. Aufreinigung mittels HPLC

Es wurde wie in Kapitel 2.1.7. beschrieben verfahren, außer dass zur Bestimmung der Retentionszeiten nicht die 4-NP-Standardlösung für die HPLC, sondern die 4-NP/4-tert.-OP-Standardlösung für die HPLC verwendet wurde. Es fand meistens eine Koeluierung aller vier

Analyten statt, sodass das Zeitfenster so wie in Kapitel 2.1.7. beschrieben gewählt werden konnte.

2.2.8. Derivatisierung

Die einzigen Unterschiede im Bezug zu Kapitel 2.1.8. bestanden in der Behandlung der GC-Fläschchen und in Wahl der Bördelkappen.

Die GC-Fläschchen wurden vor dem Gebrauch aufrecht stehend in einem GC-Ofen 3 h lang bei 300 °C ausgeheizt und anschließend kühlten sie im Exsikkator ab.

Nach dem Befüllen der ausgeheizten GC-Fläschchen verschloss man sie mit Hilfe von Bördelkappen des Typs R8 - Sil, rot/weiß.

2.2.9. Bestimmung mittels GC-MS

Die Bestimmung mittels GC-MS erfolgte wie in Kapitel 2.1.9. beschrieben, außer dass die derivatisierten 4-NP-/4-tert.-OP-Standardlösungen für die GC-MS-Kalibrierung anstelle der 4-NP-Standardlösungen verwendet wurden. Die Änderungen im Bezug auf das GC-MS-System sind in Tabelle 15 aufgelistet:

Tabelle 15: Geänderte Beschreibung des GC-MS-Systems

Geräteart	Gerätetyp	Hersteller	Beschreibung
Autosampler GC-Fläschchen	R 07s, braun	CS-Chromatographie Service, Langerwehe	600 µL Braunglas-Fläschchen 3 h lang bei 300 °C ausgeheizt
Autosampler Bördelkappen für GC-Fläschchen	R8 – Sil, rot/weiß	CS-Chromatographie Service, Langerwehe	Silikon plus 1 mm Teflon
GC-Säulen	Vorsäule	CS-Chromatographie- Service, Langerwehe	Fused-Silica, FS-Phenyl-Sil; 0,25 mm I.D. 10 m Länge
	Trennsäule	CS-Chromatographie- Service, Langerwehe	FS-OV-1-CB-Säule; 0,25 mm I.D. · 30 m Länge; Filmdicke: 0,25 µm

2.2.10. Kalibrierung und Auswertung

Ermittlung der Isomerenverteilung des technischen 4-NPs:

Alle Messdaten, die nach dem Analysenverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP ermittelt wurden, waren nicht auf einer CP-Sil-8-CB-, sondern auf einer FS-OV-1-CB-GC-Säule unter leicht veränderten GC-MS-Bedingungen (s. Kapitel 2.2.9.) gemessen worden. Deswegen musste die 4-NP-Isomerenverteilung wie folgt neu bestimmt werden:

2,5 bzw. 5 µL der 4-NP-Standardlösung zur Bestimmung der Isomerenverteilung füllte man auf 100 µL mit Derivatisierungslösung auf und anschließend wurde wie unter Kapitel 2.2.9. beschrieben derivatisiert. Von diesen Lösungen injizierte man jeweils sechsmal 1 µL in den GC-FID, der bereits unter Kapitel 2.2.2. beschrieben wurde. Die Tabelle 62 'Anhang 7.8.: Bestimmung der Isomerenverteilung von 4-NP' gibt eine genaue Übersicht über die einzelnen Messungen. Die Berechnung der einzelnen Konzentrationen der 4-NP-Isomere erfolgte

unter der Annahme, dass 4-n-NP und die einzelnen Isomere alle denselben Responsefaktor im GC-FID-Chromatogramm besitzen bzw. die Signalstärke pro Stoffmengeneinheit gleich ist. Zusätzlich musste noch mit Hilfe der GCQ-Auswertesoftware ein Totalionenstrom-Chromatogramm angezeigt und mit dem GC-FID-Chromatogramm verglichen werden. Da diese beiden Chromatogramme identisch waren, konnte die Berechnung der Konzentrationen der elf 4-NP-Isomere mittels folgender Gleichung durchgeführt werden:

$$c(\text{Isomer } n) = \frac{FI(\text{Isomer } n) \cdot c(\text{ISTD})}{FI(\text{ISTD})} \quad \text{Gleichung 11}$$

Dabei sind:

$c(\text{Isomer } n)$:	Konzentration des 4-NP-Isomers n in mg/L
$FI(\text{Isomer } n)$:	Fläche des 4-NP-Peaks n in FE, bestimmt mittels GC-FID
$c(\text{ISTD})$:	Konzentration des internen Standards 4-n-NP in mg/L
$FI(\text{ISTD})$:	Fläche des internen Standard-Peaks 4-n-NP in FE, bestimmt mittels GC-FID

Somit lag eine auf der neuen Säule bestimmte Verteilung der elf 4-NP-Isomere bzw. lagen die Einzel-Konzentrationen der elf 4-NP-Isomere im technischen Gemisch vor.

Kalibrierung und Ermittlung der Responsefaktoren:

Für die Kalibrierung des unter Kapitel 2.2.9. beschriebenen GC-MS-Systems wurden die 4-NP-/4-tert.-OP-Standardlösungen (Std. 1 - 4) innerhalb jeder neuen Messsequenz mit vermessen (genaue Abfolge s. Kapitel 2.1.9.).

Die für die Kalibrierung verwendeten Lösungen wurden wie folgt hergestellt:

- 5 µL Lösung Gerätestandard (4-(2'-Nonyl)phenol),
- 5 µL 4-NP-/4-tert.-OP-Standardlösung, die jeweils immer dieselbe Menge an 4-n-NP bzw. 4-n-OP enthielten,
- und 390 µL Derivatisierungslösung

wurden mittels verschiedener Mikroliter-Spritzen in ein braunes, ausgeheiztes GC-Fläschchen gegeben, welches mit einer Bördelkappe vom Typ R8 – Sil, rot/weiß verschlossen wurde. Anschließend mussten die Lösungen in dem verschlossenen GC-Fläschchen jeweils mindestens 10 s lang aufrecht und auf dem Kopf stehend mit dem Rüttelgerät durchmischt werden. Für die Derivatisierung der Analyten wurde es daraufhin 10 min lang bei 60 °C erwärmt.

Für die Ermittlung der Responsefaktoren der elf 4-NP-Isomere, des 4-tert.-OPs und des Gerätestandards integrierte man die Peaks der zwölf Messungen der Standardlösungen mit der GCQ-Auswertesoftware. Dafür musste eine Kalibrierdatei komplett neu erstellt werden. Zur automatischen Erkennung aller Peaks durch die Software mussten folgende Informationen in der neuen Kalibrierdatei festgelegt und gespeichert werden:

- Retentionszeit des jeweiligen Peaks
- Spektrum des jeweiligen Peaks, das der späteren Erkennung diene
- Breite des Suchfensters, in dem nach dem entsprechenden Peak gesucht wurde
- Masse-Ladungsverhältnis [m/z] des Fragmentions (Im Folgenden als 'Ionenspur m/z' bezeichnet), über das (auf der) quantifiziert wurde
- Zuordnung der Peaks zum jeweiligen internen Standard

- Wert für die minimale Übereinstimmung zwischen abgespeichertem Vergleichsspektrum und dem Spektrum des gesuchten Peaks
- Konzentration bzw. absolute Menge in ng absolut aller Peaks

Somit ergaben sich nach Integration, die für jeden der Peaks manuell kontrolliert wurde, 15 Flächenwerte (elf-4-NP und 4-n-NP, 4-tert.-OP und 4-n-OP plus GSTD), die zusammen mit allen anderen Messinformationen mit der GCQ-Auswertesoftware nach Excel exportiert wurden. Dort wurden in einer selbsterstellten Datei die Responsefaktoren für die elf Isomere des 4-NPs und für 4-tert.-OP (Im Folgenden als Analyten bezeichnet) nach folgender Gleichung berechnet:

$$RRF_{4AP}(\text{Analyt}) = \frac{FI(\text{Analyt}) \cdot c(\text{ISTD})}{c(\text{Analyt}) \cdot FI(\text{ISTD})} \quad \text{Gleichung 12}$$

Dabei sind:

$RRF_{4AP}(\text{Analyt})$:	relativer Responsefaktor des Analyten im Verhältnis zum jeweiligen internen Standard 4-n-NP bzw. 4-n-OP
$FI(\text{Analyt})$:	Fläche des Analyten-Peaks (elf · 4-NP-Isomere und 4-tert.-OP) in FE, bestimmt auf der jeweiligen Ionenspur m/z
$FI(\text{ISTD})$:	Fläche des internen Standard-Peaks 4-n-NP bzw. 4-n-OP in FE, jeweils bestimmt auf der Ionenspur m/z 165
$c(\text{Analyt})$:	Konzentration des Analyten (elf · 4-NP-Isomere und 4-tert.-OP) in mg/L
$c(\text{ISTD})$:	Konzentration des internen Standards 4-n-NP bzw. 4-n-OP in mg/L

Auf diese Weise erhielt man für jeden Analyten – bei vier verschiedenen 4-NP-/4-tert.-OP-Standardlösungen und jeweils drei Injektionen – zwölf relative Responsefaktoren, über die zur Erlangung eines einzelnen Faktors gemittelt wurde.

Der jeweilige Responsefaktor für den GSTD, der für die Berechnung der Wiederfindungen von 4-n-NP und 4-n-OP benötigt wurde (s. unten), wurde wie folgt berechnet:

$$RRF_{4AP}(\text{GSTD}) = \frac{c(\text{GSTD}) \cdot FI(4nAP)}{FI(\text{GSTD}) \cdot c(4nAP)} \quad \text{Gleichung 13}$$

Dabei sind:

$RRF_{4AP}(\text{GSTD})$:	relativer Responsefaktor von 4-n-NP bzw. 4-n-OP jeweils bezogen auf den Gerätestandard 4-(2'-Nonyl)phenol
$FI(4nAP)$:	Fläche des 4-n-NP- bzw. 4-n-OP-Peaks in FE, jeweils bestimmt auf der Ionenspur m/z 165
$FI(\text{GSTD})$:	Fläche des Gerätestandard-Peaks 4-(2'-Nonyl)phenol in FE, bestimmt auf der Ionenspur m/z 235
$c(\text{GSTD})$:	Konzentration des Gerätestandards 4-(2'-Nonyl)phenol in mg/L
$c(4nAP)$:	Konzentration des 4-n-NPs bzw. 4-n-OP in mg/L

Man erhielt wiederum zwölf relative Responsefaktoren, über die zur Erlangung eines einzelnen Faktors gemittelt wurde.

Auswertung von Probenmessdaten:

Nach der Integration der Blindwert- und Proben Daten mit der GCQ-Auswertesoftware exportierte man sämtliche Messinformationen mit der GCQ-Software und wandelte sie mit dem Excel-Makro um. Nun konnten aus den einzelnen Flächenwerten jedes Analyten die Absolutmassen sowohl der Blindwerte als auch der Probenwerte nach folgender Gleichung berechnet werden:

$$m(\text{Analyt}, \text{abs}) = \frac{FI(\text{Analyt}, \text{abs}) \cdot m(\text{ISTD})}{FI(\text{ISTD}) \cdot RRF_{4AP}(\text{Analyt})} \quad \text{Gleichung 14}$$

Dabei sind:

$m(\text{Analyt}, \text{abs})$:	Absolutmasse des Analyten (elf · 4-NP-Isomere und 4-tert.-OP) in ng
$FI(\text{Analyt}, \text{abs})$:	Fläche des Analyten-Peaks (elf · 4-NP-Isomere und 4-tert.-OP) in FE, bestimmt auf der jeweiligen Ionenspur m/z
$FI(\text{ISTD})$:	Fläche des internen Standard-Peaks 4-n-NP bzw. 4-n-OP in FE, jeweils bestimmt auf der Ionenspur m/z 165
$m(\text{ISTD})$:	Masse des internen Standards 4-n-NP bzw. 4-n-OP in ng
$RRF_{4AP}(\text{Analyt})$:	relativer Responsefaktor des Analyten im Verhältnis zum jeweiligen internen Standard 4-n-NP bzw. 4-n-OP

Daraufhin subtrahierte man die Absolutmassen der Blindwerte von den Absolutmassen der Probenwerte und man erhielt die korrigierten Absolutmassen jedes einzelnen Analyten in der Probe. Dabei wurde jeweils von dem Probenwert der Blindwert abgezogen, der unmittelbar zuvor in derselben Apparatur analysiert wurde.

$$m(\text{Analyt}, \text{abs}, LM) = m(\text{Analyt}, \text{abs}, Pr) - m(\text{Analyt}, \text{abs}, BW) \quad \text{Gleichung 15}$$

Dabei sind:

$m(\text{Analyt}, \text{abs}, LM)$:	Absolutmasse des Analyten (elf · 4-NP-Isomere und 4-tert.-OP) im Lebensmittel in ng
$m(\text{Analyt}, \text{abs}, Pr)$:	Absolutmasse des Analyten (elf · 4-NP-Isomere und 4-tert.-OP) in der Probe in ng
$m(\text{Analyt}, \text{abs}, BW)$:	Absolutmasse des Analyten (elf · 4-NP-Isomere und 4-tert.-OP) im Blindwert in ng

Daraus ließ sich nun der **Gehalt an 4-NP in der Probe** berechnen, indem die Absolutmassen aller elf 4-NP-Isomere aufsummiert und auf die Einwaage bezogen wurden.

$$G_{4NP}(LM) = \frac{\sum_{n=1}^{11} m(\text{Isomer } n, \text{abs}, LM)_n \cdot 1000}{m(\text{Einwaage})} \quad \text{Gleichung 16}$$

Dabei sind:

$G_{4NP}(LM)$:	Gehalt an 4-NP gesamt im Lebensmittel in ng/kg
$m(\text{Isomer } n, \text{abs}, LM)$:	Absolutmasse des 4-NP-Isomers n im Lebensmittel in ng
$m(\text{Einwaage})$:	Einwaage der Probe in g

Der **Gehalt an 4-tert.-OP in der Probe** ließ sich durch folgende Gleichung berechnen:

$$G_{4tert.OP}(LM) = \frac{m(4tert.OP,abs,LM) \cdot 1000}{m(Einwaage)}$$

Gleichung 17

Dabei sind:

$G_{4tert.OP}(LM)$: Gehalt an 4-tert.-OP im Lebensmittel in ng/kg
 $m(4tert.OP,abs,LM)$: Absolutmasse des 4-tert.-OPs im Lebensmittel in ng
 $m(Einwaage)$: Einwaage der Probe in g

Zur **Berechnung der Gehalte in den Biofilm- und Flusswasserproben** musste der Zusatz an Formaldehydlösung zur Konservierung der Biofilm- und Flusswasserproben berücksichtigt werden. Bei der Einwaage wurde die Menge an Formaldehydlösung mitgewogen und musste deswegen vor der Berechnung der Gehalte wieder rausgerechnet werden. Dies erfolgte mittels folgender Gleichungen:

$$m(Probe) = m(Einwaage 1) + m(Einwaage 2)$$

Gleichung 18

Dabei sind:

$m(Probe)$: Masse der Biofilm- bzw. Flusswasserprobe insgesamt in g
 $m(Einwaage 1)$: Masse der ersten eingewogenen Biofilm- bzw. Flusswasser-Teilprobe in g
 $m(Einwaage 2)$: Masse der zweiten eingewogenen Biofilm- bzw. Flusswasser-Teilprobe in g

$$m(Formaldehydlösung) = V(Formaldehydlösung) \cdot 1,09$$

Gleichung 19

Dabei sind:

$m(Formaldehydlösung)$: Masse des zur Konservierung der Biofilm- bzw. Flusswasserprobe zugegebenen Volumens an Formaldehydlösung in g
 $V(Formaldehydlösung)$: Volumen der zur Konservierung der Biofilm- bzw. Flusswasserprobe zugegebenen Formaldehydlösung in mL
1,09: Dichte der verwendeten Formaldehydlösung in g/mL

$$F = 1 - \frac{m(Formaldehydlösung)}{m(Probe)}$$

Gleichung 20

Dabei sind:

F : Korrekturfaktor
 $m(Formaldehydlösung)$: Masse des zur Konservierung der Biofilm- bzw. Flusswasserprobe zugegebenen Volumens an Formaldehydlösung in g
 $m(Probe)$: Masse der Biofilm- bzw. Flusswasserprobe insgesamt in g

$$m_{korrigiert}(Einwaage n) = F \cdot m(Einwaage n)$$

Gleichung 21

Dabei sind:

$m_{korrigiert}(Einwaage n)$: korrigierte Masse der Einwaage der Biofilm- bzw. Flusswasser-Teilprobe (n=1,2) in g

m (Einwaage n): Masse der Einwaage der Biofilm- bzw. Flusswasser-Teilprobe (n=1,2) in g

Berechnung der Wiederfindung:

Die Wiederfindungen der internen Standards 4-n-NP und 4-n-OP wurde mit Hilfe der Lösung Gerätestandard (GSTD) bestimmt, die erst kurz vor Ende des Analysenganges ins GC-Fläschchen hinzugegeben worden war. Die Berechnung erfolgte mittels folgender Gleichungen:

$$WF_{4AP}(ISTD) = \frac{m_{4AP}(\text{Messung}) \cdot 100\%}{m_{4AP}(\text{Berechnung})} \quad \text{Gleichung 22}$$

Dabei sind:

$WF_{4AP}(ISTD)$: Wiederfindung des internen Standards 4-n-NP bzw. 4-n-OP in %
 $m_{4AP}(\text{Messung})$: absolute Masse des internen Standards 4-n-NP bzw. 4-n-OP, bezogen auf 4-(2'-Nonyl)phenol
 $m_{4AP}(\text{Berechnung})$: absolute Masse des 4-n-NPs bzw. 4-n-OPs (Berechnung aus der zugegebenen Masse und der Verdünnung bei der HPLC-Aufreinigung)

$m_{4AP}(\text{Messung})$ wurde berechnet nach:

$$m_{4AP}(\text{Messung}) = \frac{FI(4nAP) \cdot m(GSTD)}{FI(GSTD) \cdot RRF_{4AP}(GSTD)} \quad \text{Gleichung 23}$$

wobei $RRF_{4AP}(GSTD)$ nach Gleichung 13 (s. oben) berechnet wurde.

Dabei sind:

$FI(4nAP)$: Fläche des 4-n-NP- bzw. 4-n-OP-Peaks in FE, jeweils bestimmt auf der Ionenspur m/z 165
 $FI(GSTD)$: Fläche des Gerätestandard-Peaks 4-(2'-Nonyl)phenol in FE, bestimmt auf der Ionenspur m/z 235
 $m(GSTD)$: absolute Masse des Geräte-Standards 4-(2'-Nonyl)phenol
 $RRF_{4AP}(GSTD)$: relativer Responsefaktor von 4-n-NP bzw. 4-n-OP bezogen auf den Gerätestandard 4-(2'-Nonyl)phenol

$m_{AP}(\text{Berechnung})$ wurde berechnet nach:

$$m_{4AP}(\text{Berechnung}) = \frac{m(4nAP) \cdot 100}{V(HPLC)} \quad \text{Gleichung 24}$$

Dabei sind:

$m_{4AP}(4nAP)$: absolute Masse des 4-n-NPs bzw. 4-n-OPs
 100 : Volumen der verwendeten HPLC-Probeschleife in μL
 $V(HPLC)$: Volumen, in dem der Extrakt vor der HPLC-Aufreinigung aufgenommen wurde, in μL

2.2.11. Reinigung von Gerätschaften

(s. Kapitel 2.1.11.)

Die Trocknung sämtlicher Glasgeräte – außer den Maßgefäßen und der Extraktionsapparatur – erfolgte bei ca. 130 °C im Trockenschrank.

Des Weiteren mussten die Glasflaschen für die Probenahmen der Biofilm- und Flusswasserproben gereinigt werden. Es handelte sich um neue Glasflaschen, die mehrmals mit Reinstwasser, Methanol, Cyclohexan und n-Hexan ausgespült worden waren.

2.3. Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, Nonylphenolmonoethoxylat (4-NP1EO) und Nonylphenoldiethoxylat (4-NP2EO)

Ziel dieses Verfahrens war es, ein Analytik zu entwickeln, die alle vier Analyten in ein und demselben Analysegang mit ausreichender Empfindlichkeit aus der Probe extrahiert, aufreinjigt und mit Hilfe des GC-MS-Systems isomerenspezifisch trennte und quantifizierte.

2.3.1. Verwendete Chemikalien, Lösungen und Geräte

Hier sind nur weitere Chemikalien aufgeführt, die vorher noch nicht verwendet wurden. Es wurden auch alle unter Kapitel 2.1.1. und 2.2.1. aufgeführten Chemikalien verwendet.

Zusätzliche Chemikalien:

Tabelle 16: Verwendete Chemikalien für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

Chemikalie	Reinheit	Hersteller
4-n-NP1EO	> 99 %	Promochem, Wesel
4-NP1EO	95,5 % *	Radian International, Austin (USA)
4-n-NP2EO	> 99 %	Cambridge Isotope Laboratories, Andover (USA)
4-NP2EO	98,2 % *	Radian International, Austin (USA)
Pyridin	SeccoSolv, getrocknet	Merck, Darmstadt
Chlortrimethylsilan (TMCS)	> 99 %	Aldrich, Milwaukee (USA)

* selber bestimmt

Andere Lösungen:

Hier sind nur weitere Lösungen aufgeführt, die vorher noch nicht verwendet wurden. Es wurden auch alle unter Kapitel 2.1.1. und 2.2.1. aufgeführten Lösungen verwendet, soweit sie hier nicht verändert aufgeführt sind.

Derivatisierungslösung:

Acetonitril und Pyridin wurden im Verhältnis 80:20 (v/v) gemischt. Diese Lösung wurde mit einer entsprechenden Menge an MTBSTFA zum Erhalt einer 15 %igen (v/v) Lösung versetzt und dann mit einem Rüttelgerät gemischt.

Lösung Interner Standard (ISTD-NP1EO):

4-n-NP1EO wurde auf 0,01 mg genau in einem Becherglas eingewogen und mit Hilfe von Methanol quantitativ in einen Messkolben überführt. Es wurden ca. 20 mg eingewogen und durch entsprechendes Verdünnen erhielt man die gewünschte Endkonzentration (c = 0,05292 mg/L).

Lösung Interner Standard (ISTD-NP2EO):

4-n-NP2EO wurde auf 0,01 mg genau in einem Becherglas eingewogen und mit Hilfe von Methanol quantitativ in einen Messkolben überführt. Es wurden ca. 20 mg eingewogen und durch entsprechendes Verdünnen erhielt man die gewünschte Endkonzentration (c = 0,0541 mg/L).

4-NP1EO- und 4-NP2EO-Standardlösungen zur Bestimmung der Reinheit:

Getrennt voneinander wurden 4-NP1EO und 4-NP2EO auf 0,01 mg genau in einem Becherglas eingewogen und mittels Cyclohexan quantitativ in einen Messkolben überführt. Durch entsprechendes Verdünnen erhielt man die gewünschten Endkonzentrationen von 1322,3 bzw. 1191,9 mg/L.

4-NP1EO- und 4-NP2EO-Standardlösungen zur Bestimmung der Isomerenverteilung:

Es wurden jeweils getrennt voneinander 4-n-NP1EO und 4-n-NP2EO auf 0,01 mg genau in einem Becherglas eingewogen und mittels Cyclohexan quantitativ in einen Messkolben überführt. Durch entsprechendes Verdünnen dieser 4-n-NP1EO-Stammlösung und der 4-NP1EO-Standardlösung zur Bestimmung der Reinheit mit Cyclohexan erhielt man die gewünschten Endkonzentrationen von 70,56 und 1057,84 mg/L. In einem weiteren Messkolben wurde die 4-n-NP2EO-Stammlösung und die 4-NP2EO-Standardlösung zur Bestimmung der Reinheit auf 86,56 und 953,52 mg/L mit Cyclohexan verdünnt.

4-NP-/4-tert.-OP-/4-NP1EO-/4-NP2EO-Standardlösung für die HPLC:

Entsprechende Volumina von 4-n-NP-, 4-NP-, 4-n-OP-, 4-tert.-OP-, 4-n-NP1EO-, 4-NP1EO-, 4-n-NP2EO- und 4-NP1EO-Stammlösungen wurden mittels Mikroliter-Spritzen in einen Messkolben gegeben und durch Auffüllen mit Cyclohexan auf die gewünschten Endkonzentrationen von ungefähr 0,01 und 0,1 mg/L verdünnt.

4-NP-/4-tert.-OP-/4-NP1EO-/4-NP2EO -Standardlösungen für GC-MS-Kalibrierung:

Entsprechende Volumina von 4-n-NP-, 4-NP-, 4-n-OP-, 4-tert.-OP-, 4-n-NP1EO-, 4-NP1EO-, 4-n-NP2EO- und 4-NP1EO-Stammlösungen wurden mittels Mikroliter-Spritzen in vier verschiedene Messkolben gegeben. Durch Auffüllen mit Cyclohexan erhielt man die Kalibrierlösungen für die GC-MS-Kalibrierung.

Tabelle 17: Übersicht über die 4-NP-/4-tert.-OP-/4-NP1EO-/4-NP2EO-Standardlösungen für die GC-MS-Kalibrierung

Kalibrierlösung	4-n-NP Konz. [mg/L]	4-NP Konz. [mg/L]	4-n-OP Konz. [mg/L]	4-tert.-OP Konz. [mg/L]	4-n-NP1EO Konz. [mg/L]	4-NP1EO Konz. [mg/L]	4-n-NP2EO Konz. [mg/L]	4-NP2EO Konz. [mg/L]
Std. 1	0,465	10,59	0,5394	1,148	0,441	13,223	0,541	11,919
Std. 2	0,465	5,295	0,5394	0,574	0,441	6,6115	0,541	5,9595
Std. 3	0,465	1,059	0,5394	0,1148	0,441	1,3223	0,541	1,1919
Std. 4	0,465	0,8472	0,5394	0,07175	0,441	0,79338	0,541	0,83433

Verwendete Geräte:

(s. Kapitel 2.1.1.)

2.3.2. Reinheit der 4-NP1EO- und 4-NP2EO-Standards

Die Reinheit von 4-NP1EO und 4-NP2EO wurde mit Hilfe desselben GC-FID-Systems, wie unter Kapitel 2.2.2. beschrieben, bestimmt. Jeweils achtmal injizierte man 1 µL der 4-NP1EO-Standardlösung und 1 µL der 4-NP2EO-Standardlösung zur Bestimmung der Reinheit. Eine Derivatisierung wurde nicht durchgeführt. Geänderte Einstellungen am verwendeten System gibt Tabelle 18 wieder:

Tabelle 18: Geänderte Einstellungen am GC-FID-System

Geräteteil	Parameter	Einstellung
Injektor	Temperatur	300 °C
Gaschromatograph	Temperaturprogramm	70 °C (3 min lang) mit 20 °C / min auf 165 °C mit 4 °C / min auf 250 °C mit 40 °C / min auf 300 °C 300 °C (5 min lang)
Detektor	Temperatur	310 °C

2.3.3. Reinigung der Apparatur

(s. Kapitel 2.1.3)

2.3.4. Blindwertextraktion

Es wurde wie unter Kapitel 2.1.4. beschrieben vorgegangen, nur die Blindwertextraktion änderte sich wie folgt:

Wie bereits beschrieben gab man in den Veith-Kühler ausgekochte Extraktionslösung und organische Phase vor. Anschließend gab man zu der ausgekochten Extraktionslösung nicht nur 500 µL der ISTD-NP Lösung, sondern ebenfalls

- 500 µL der ISTD-OP Lösung [c(4-n-OP) = 0,04936 mg/L in Methanol], entsprechend 24,68 ng absolut,
- 500 µL der ISTD-NP1EO Lösung [c(4-n-NP1EO) = 0,05292 mg/L in Methanol], entsprechend 26,46 ng absolut,
- und 500 µL der ISTD-NP2EO Lösung [c(4-n-NP2EO) = 0,0541 mg/L in Methanol], entsprechend 27,05 ng absolut,

als internen Standard für den jeweiligen Analyten mittels einer Mikroliter-Spritze hinzu. Die Mikroliter-Spritze war vorher mit der jeweiligen Lösung konditioniert worden.

2.3.5. Probenvorbereitung

Säuglings- und Kleinkindernahrung:

(s. Kapitel 2.1.5)

Biofilm- und Flusswasserproben:

(s. Kapitel 2.2.5)

2.3.6. Probenextraktion

Zuerst musste der Veith-Kühler wie unter Kapitel 2.1.6. beschrieben befüllt werden.

Anschließend konnte die vorbereitete Lebensmittel-, Biofilm- oder Flusswasserprobe (s. Kapitel 2.1.5. bzw. 2.2.5.) in den Rundkolben gegeben werden und es wurden nicht nur 500 µL der Lösung ISTD-NP als interner Standard für 4-NP hinzugegeben, sondern auch wie bei der Blindwertextraktion

- 500 µL der ISTD-OP Lösung als interner Standard für 4-tert.-OP,
- 500 µL der ISTD-NP1EO Lösung als interner Standard für 4-NP1EO
- und 500 µL der ISTD-NP2EO Lösung als interner Standard für 4-NP2EO.

Die verwendete Mikroliter-Spritze war vorher jeweils mit der entsprechenden Lösung konditioniert worden. Dann wurde wie in Kapitel 2.1.6. beschrieben weiterverfahren.

2.3.7. Aufreinigung mittels HPLC

Für die Aufreinigung der Extrakte, die 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO enthielten, wurde dieselbe HPLC-Anlage wie in Kapitel 2.1.7. verwendet. Um eine bestmögliche Aufreinigung zu erzielen, wurde das Gradientenprogramm mit denselben Lösungsmitteln wie folgt optimiert:

Tabelle 19: Optimiertes Gradientenprogramm für die HPLC-Anlage

Zeit [min]	Gehalt an n-Hexan [%]	Gehalt an Gemisch* [%]	Flussrate [mL/min]
0	97	3	1
3	97	3	1
12	0	100	1
16	0	100	1
18	97	3	1
35	97	3	1

* n-Hexan und 2-Propanol wurden im Verhältnis 80:20 (v/v) gemischt.

Um die Retentionszeiten der Analyten zu bestimmen, injizierte man 150 µL der 4-NP-/4-tert.-OP-/4-NP1EO-/4-NP2EO-Standardlösung für die HPLC. Dabei eluierten die Analyten in folgender Reihenfolge: 4-NP1EO, 4-NP2EO und meistens gleichzeitig 4-NP und 4-tert.-OP. Das Zeitfenster wählte man so, dass von der ersten Retentionszeit 0,9 min subtrahiert und zu der letzten 1,1 min addiert wurden. Die Aufreinigung der eingegangenen Extrakte wurde wie unter Kapitel 2.1.7. beschrieben durchgeführt.

2.3.8. Derivatisierung

Die eingegangene HPLC-Fraktion in dem Spitzgläschen nahm man in 400 µL Derivatisierungslösung aus Acetonitril, Pyridin und MTBSTFA (s. Kapitel 2.3.1.) auf. Nachdem 5 µL der Lösung GSTD, 4-(2'-Nonyl)phenol in Cyclohexan, in ein ausgeheiztes GC-Fläschchen gegeben worden waren, konnte die in der Derivatisierungslösung gelöste Fraktion mit Hilfe einer Mikroliter-Spritze ebenfalls in das GC-Fläschchen überführt werden. Nach dem Verschließen des GC-Fläschchens mit einer Bördekkappe vom Typ R8 – Sil, rot/weiß, musste es mindestens 10 s lang aufrecht und auf dem Kopf stehend gerüttelt und dann 180 min lang bei 75 °C erwärmt werden.

2.3.9. Bestimmung mittels GC-MS

Die Bestimmung mittels GC-MS erfolgte wie in Kapitel 2.1.9. beschrieben, außer dass die derivatisierten 4-NP-/4-tert.-OP-/4-NP1EO-/4-NP2EO-Standardlösungen für die GC-MS-Kalibrierung anstelle der 4-NP-Standardlösungen verwendet wurden.

Es wurde das geänderte GC-MS-System für das Analysenverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP (s. Kapitel 2.2.9.) verwendet.

Des Weiteren mussten für dieses Analyseverfahren auch Änderungen an den Einstellungen des GC-MS-Systems, entsprechend Tabelle 20, vorgenommen werden.

2.3.10. Kalibrierung und Auswertung

Ermittlung der Isomerenverteilung der technischen Gemische von 4-NP1EO und 4-NP2EO: Sowohl die Isomerenverteilung von 4-NP1EO als auch von 4-NP2EO war nicht bekannt und deswegen mussten beide Verteilungen entsprechend der Bestimmung der Isomerenverteilung

lung für 4-NP bestimmt werden (s. Kapitel 2.2.10.). So erhielt man die Verteilungen bzw. die Einzel-Konzentrationen der jeweils neun 4-NPnEO-Isomere in den technischen Gemischen.

Tabelle 20: Geänderte Einstellungen am GC-MS-System

Geräteteil	Parameter	Einstellung
Injektionssystem	Endtemperatur	300 °C (bei AcCN & Der.-Lsg.: 310 °C)
	Dauer, für die die erreichte Endtemperatur gehalten wird	41 min
Gaschromatograph	Temperaturprogramm	70 °C (3 min lang) mit 20 °C / min auf 165 °C mit 4 °C / min auf 250 °C mit 40 °C / min auf 300 °C 300 °C (5 min lang) (bei AcCN & Der.-Lsg.: mit 40 °C / min auf 310 °C 310 °C (5 min lang))
Massenspektrometer	Temperatur der Transferline	300 °C (bei AcCN & Der.-Lsg.: 310 °C)
	gemessener Massenbereich	4-AP: 100 – 340 amu 4-NP1EO: 100 – 384 amu 4-NP2EO: 100 – 428 amu

Kalibrierung und Ermittlung der Responsefaktoren:

Für die Kalibrierung des unter Kapitel 2.3.9. beschriebenen GC-MS-Systems wurde entsprechend Kapitel 2.2.10. vorgegangen. Man verwendete anstelle der 4-NP-/4-tert.-OP-Standardlösungen die 4-NP-/4-tert.-OP-/4-NP1EO-/4-NP2EO-Standardlösungen entsprechend Kapitel 2.2.10. und erwärmte die Analyten 180 min lang bei 75 °C, um sie zu derivatisieren.

Für die Ermittlung der Responsefaktoren der elf 4-NP-Isomere, des 4-tert.-OPs, der jeweils neun 4-NP1EO- und 4-NP2EO-Isomere und des Gerätestandards ging man ebenfalls wie unter Kapitel 2.2.10 vor.

Auswertung von Probenmessdaten:

Auch die Auswertung der Probenmessdaten wurde entsprechend Kapitel 2.2.10. durchgeführt.

Berechnung der Wiederfindung:

Ebenso erfolgten die Berechnungen der Wiederfindungen der internen Standards 4-n-NP, 4-n-OP, 4-n-NP1EO und 4-n-NP2EO gemäß Kapitel 2.2.10.

2.3.11. Reinigung von Gerätschaften

(s. Kapitel 2.1.11. und 2.2.11.)

2.4. Charakterisierung der Biofilmproben

In den folgenden Unterkapiteln wird kurz auf die Charakterisierung der Biofilmproben eingegangen, die von Mitarbeitern der Universität Duisburg-Essen, Fachgebiet Aquatische Mikrobiologie, durchgeführt wurde.

2.4.1. Koloniezahl-Bestimmung heterotropher Bakterien

Das Verfahren zur Bestimmung der Koloniezahlen heterotropher Bakterien war für alle Biofilmproben gleich. Es handelte sich hierbei um ein Standardverfahren zur Quantifizierung der Koloniezahlen heterotropher Wasserbakterien (Heterotrophic Plate Count, HPC-Bestimmung), welches auch in den 'American Standards of the Examination of Water and Wastewater (1998)' aufgeführt ist.

Die HPC-Bestimmung erfolgte mittels des Spatelplattenverfahrens auf so genannten R2A-Nährmedien nach Bebrütung für 7 Tage bei 20 °C. Auf diese Weise konnte mit einer relativ hohen Ausbeute der Nachweis von heterotrophen Wasserbakterien in oligotropher Umgebung sichergestellt werden [Reasoner, 1985].

Um den Wert sowohl in der Einheit koloniebildende Einheiten (KBE) / mL als auch in KBE / g Trockenmasse angeben zu können, wurde die Trockenmasse der Biofilmproben nach der DIN EN 12880 bestimmt.

2.4.2. Bestimmung wichtiger Inhaltsstoffe

Zu den wichtigsten Inhaltsstoffen von Biofilmen gehören die Kohlenhydrate, Uronsäuren, Proteine und Huminstoffe. Sie wurden auf verschiedene Art und Weise sowohl in der Biofilmsuspension als auch EPS photometrisch bestimmt. Bei den Biofilmsuspensionen handelte es sich um die nicht aufgearbeiteten Biofilmproben, aus denen zum Teil die EPS gewonnen wurden (s. unten). Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die angewandten biochemischen Verfahren:

Tabelle 21: Übersicht über die verwendeten Verfahren zur biochemischen Analytik der Biofilme bzw. der EPS

Inhaltsstoff	Literaturstelle	verwendeter Standard	Hersteller
Kohlenhydrate	Dubois et al., 1956	Glukose	Sigma, G-7528
Uronsäuren	Fillisetti-Cozzi et al., 1991	Glukuronsäure	Sigma, G-5269
Proteine	Frølund et al., 1996	Rinderserumalbumin, BSA	Sigma, A-4503
Huminstoffe	Frølund et al., 1996	Humussäure	Fluka, 53680

Dabei handelte es sich bei der Bestimmung der Kohlenhydrate nach Dubois et al., 1956, um die photometrische Bestimmung eines orange-gelben Farbstoffes, der sich nach Umsatz der einfachen Zucker, Oligo- und Polysacchariden und ihren Derivaten mit Phenol und schwefliger Säure gebildet hatte. Die Bestimmung der Uronsäuren bei Anwesenheit von neutralen Zuckern wurde nach der Methode von Fillisetti-Cozzi et al., 1991, durchgeführt. Es handelte sich ebenfalls um eine photometrische Bestimmung, wobei die Uronsäuren mit meta-Hydroxydiphenyl in schwefliger Säure umgesetzt wurden und der Zusatz von Sulfamat die Braunfärbung durch Zucker verhinderte. Die Proteine und Huminstoffe wurden beide mit der Lowry-Methode [Frølund et al., 1996] bestimmt, bei der es sich ebenfalls um ein photometrisches Verfahren handelte. Die Peptide reagierten mit Kupferionen in alkalischer Lösung und anschließend fand eine Reduktion in einem phenolischen Reagenz statt. Dabei wurde für die Bestimmung der Huminstoffe das Kupfersulfat weggelassen.

Gewinnung der wasserlöslichen EPS:

Zur Gewinnung der wasserlöslichen EPS homogenisierte man die Biofilme durch Schütteln und man gab ungefähr 70 g eines Kationenaustauscher-Harzes (Dowex 50 · 8, Fluka) pro g

Trockenmasse Biofilm hinzu. Anschließend konnten die gelösten EPS durch Hochgeschwindigkeitszentrifugation (bei 20.000-facher Erdbeschleunigung, 20 min, 10 °C) von den Bakterien abgetrennt werden. Aus den so erhaltenen Überständen wurden durch Membranfiltration (0,2 µm) die restlichen Bakterien entfernt. Diese zellfreien Überstände enthielten die wasserlöslichen EPS, die anschließend wie die Biofilmsuspensionen mit den oben genannten Verfahren auf ihre Gehalte an Kohlenhydraten, Uronsäuren, Proteinen und Huminstoffen analysiert wurden.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1. Methodische Ergebnisse

3.1.1. Analyseverfahren für 4-NP

Das Analyseverfahren für 4-NP glich dem Verfahren nach Methode B [Heinke, 2000]. Deswegen war es nicht verwunderlich, dass weder die absoluten Blindwerte von 4-NP oder die über die Standardabweichung (STABW) berechnete Nachweis- (NG) bzw. Bestimmungsgrenze (BG), noch die Wiederfindungen des internen Standards 4-n-NP sich im Vergleich zu Heinke, 2000, wesentlich voneinander unterschieden. In Tabelle 22 sind alle Blindwerte der vier Apparaturen gegenüber gestellt, die nach Methode B bzw. dem Analyseverfahren für 4-NP bestimmt wurden.

Tabelle 22: Analyseverfahren für 4-NP: Vergleich der Blindwerte

Methode B (Heinke) Blindwerte 4-NP [ng abs.]					Analyseverfahren für 4-NP Blindwerte 4-NP [ng abs.]			
App. 1	App. 2	App. 3	App. 4		App. 1	App. 2	App. 3	App. 4
8	8	10						
7	7	6	13					
4	5	6	6		27,5	21,3	3,8	5
6	9	8			8,1	5,8	9,2	9
15	8	7	12		28,5	16,6	14,4	14,5
9	7	7	4		5,9	6,3	8,8	9,4
14	13	12	16		23,3	24,7	15,3	12,9
12	9	10	15		3,9	4,2	6,4	8,5
9	10	9	10		9,2	8,2	4,9	12,8
10	11	10	12		15	12,9	15,9	14,1
9	7	8	6		9,2	11,4	6,9	4
		5	5		3,9	3,2	8,8	9,2
5	5	5	5		14	13,6		
9	8	8	10	Mittelwert (M)	13,5	11,7	9,4	9,9
3	2	2	4	STABW	1,2	0,8	0,4	0,3
18	15	15	22	NG: M + 3·STABW	17,0	14,0	10,6	11,0
27	21	21	34	BG: M + 6·STABW	20,5	16,3	11,8	12,0

Bei den Wiederfindungen des internen Standards 4-n-NP schwankten die Werte nach Methode B zwischen 1 und 161 % und nach dem Analyseverfahren für 4-NP zwischen 20,7 und 117,0 % (s. Tabelle 65: Anhang 7.11.: 'Übersicht über 4-NP-Mengen in Säuglings- und Kleinkindernahrung nach dem Verfahren für 4-NP'). Es war auffällig, dass die fettreichsten, analysierten Lebensmittel (Säuglingsanfangs- und Folgemilchnahrung) Wiederfindungen von 20, 30 oder um die 50 % hatten, wobei die restlichen Proben mit wenigen Ausnahmen Wiederfindungen von über 70% hatten. Eine Beobachtung, die bereits Heinke gemacht hatte, spielte auch in diesen Fällen eine Rolle. Nach dem Einengen des Extraktes blieben bei fettreichen Proben Rückstände im Spitzgläschen zurück, deren Volumen beim Aufnehmen in Cyclohexan bzw. bei der Bestimmung der Wiederfindung nicht berücksichtigt werden konn-

ten. Zusätzlich war aber auch ein Zurückhalten von 4-n-NP durch die in der Probe vorhandenen Lipide denkbar, da 4-NP mit einem $\log k_{O/W}$ -Wert zwischen 3,28 und 4,48 [Rippen, 2003] zu den lipophilen Substanzen gehört.

3.1.2. Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

3.1.2.1. Bestimmung der Reinheit des 4-tert.-OP-Standards

Die Reinheit des 4-tert.-OP-Standards war wie unter Kapitel 2.2.2. beschrieben mit Hilfe des GC-FID-Systems bestimmt worden. Aus den neun Messungen ergab sich eine gemittelte Reinheit von 93,6 %, mit einer Standardabweichung von 8,8 %. Dieser Wert musste bei der Eingabe der absoluten Menge in die GCQ-Auswertesoftware bzw. bei der Auswertung mit Excel mitberücksichtigt werden.

3.1.2.2. Bestimmung der Isomerenverteilung von 4-NP

Da für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP, wie bereits erwähnt, eine andere GC-Säule verwendet wurde, musste auch die Isomerenverteilung von 4-NP neu bestimmt werden. Die beiden GC-Säulen unterschieden sich im Hinblick auf die Polarität der beiden Belegungsfilme und kamen von zwei verschiedenen Herstellern.

Man verwendete eine derivatisierte Lösung von 4-NP und den ISTD 4-n-NP, die mit einem GC-FID-System (s. Kapitel 2.2.2.) vermessen wurde. Da sich die mit einem FID erzeugten Signale proportional zum Kohlenstoffgehalt verhalten, konnte davon ausgegangen werden, dass gleiche Stoffmengen aller Isomere zu gleichen Signalen führen müssen. Bei dem ISTD 4-n-NP handelte es sich auch um ein NP-Isomer, welches nicht im technischen Gemisch vorkam, sich chromatographisch gut davon abtrennen ließ und als einziges als reine Einzelsubstanz vorlag. Auf diesem Wege konnten die Flächenwerte der einzelnen Isomere nach Gleichung 25 in Konzentrationen (s. Tabelle 62: Anhang 7.8.: 'Bestimmung der Isomerenverteilung von 4-NP') umgerechnet und diese anschließend untereinander ins Verhältnis gesetzt werden.

$$c(\text{Isomer } n) = \frac{c(\text{ISTD}) \cdot FI(\text{Isomer } n)}{FI(\text{ISTD})} \quad \text{Gleichung 25}$$

Dabei sind:

$c(\text{Isomer } n)$: Konzentration des 4-NP-Isomers in mg/L

$c(\text{ISTD})$: Konzentration des internen Standards 4-n-NP in mg/L

$FI(\text{Isomer } n)$: Fläche des 4-NP-Peaks n in FE, bestimmt mittels GC-FID

$FI(\text{ISTD})$: Fläche des internen Standard-Peaks 4-n-NP in FE, bestimmt mittels GC-FID

Dabei zeigte sich, dass beim Vergleich der beiden Säulen einige Unterschiede in der Verteilung auftraten, besonders stark sichtbar bei Isomer Nr. 4 (s. Tabelle 23).

3.1.2.3. Optimierungen und Veränderungen

Für die Bestimmung von 4-NP und 4-tert.-OP in einem Analysegang wurde das unter Kapitel 2.1. beschriebene Verfahren optimiert und verändert. Folgende Optimierungen wurden bei der Reinigung der Apparatur bzw. der Glasgeräte durchgeführt:

- bei der Reinigung der Apparatur mit Salpetersäure, 65 %, Methanol und n-Hexan wurden jeweils die ersten mL Säure bzw. Lösungsmittel aus dem Veith-Kühler über den Auslauf entfernt, bevor sie in den Rundkolben zurücklaufen konnten.
- das Trocknen sämtlicher Glasgefäße, außer der Extraktionsapparatur und den Maßgefäßen, wurde bei 130 °C im Trockenschrank durchgeführt.

Beim Vergleich der absoluten Blindwerte zwischen der Methode B [Heinke, 2000] und dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP stellte sich eine deutliche Reduzierung sowohl der absoluten Werte als auch der NG und BG, die über M und STABW berechnet wurden, heraus (s. Tabelle 24).

Tabelle 23: Vergleich der Isomerenverteilung von 4-NP

NP-Isomer	Isomerenverteilung bestimmt auf CP-Sil-8-CB-Säule von Chrompack [Heinke, 2000]	Isomerenverteilung bestimmt auf FS-OV-1-CB-Säule von CS (selber)
1	5,5 %	4,5 %
2	8,4 %	9,5 %
3	11,7 %	13,0 %
4	11,2 %	6,9 %
5	8,9 %	9,5 %
6	14,8 %	14,3 %
7	8,4 %	8,7 %
8	4,0 %	4,0 %
9	5,1 %	5,3 %
10	15,3 %	18,2 %
11	6,7 %	6,1 %

Im Gegensatz zu den Blindwerten waren bei den Wiederfindungen des internen Standards 4-n-NP keine wesentlichen Unterschiede zwischen der Methode B [Heinke, 2000] und dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP feststellbar. Nach Methode B bestimmte Wiederfindungen lagen zwischen 1 und 161 % und die nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP bestimmten Wiederfindungen zwischen 16,4 und 178,9 % (s. Tabelle 66: Anhang 7.12.: Übersicht über 4-NP-Mengen in Säuglings- und Kleinkindernahrung nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP). Des Weiteren wurde der gleiche Zusammenhang zwischen Höhe der Wiederfindung (WF) und dem Fettgehalt der Probe, wie bereits unter Kapitel 3.1.1. beschrieben, gefunden. Die fettreichsten Proben, die nach dem Analysenverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP analysiert wurden, waren wieder die Proben Dauermilchnahrung und Folgemilch (WF: ca. 20%) bei der Säuglingsnahrung. Bei der Kleinkindernahrung waren dies die Proben H-Vollmilch (WF: ca. 20 %), Eier (WF: ca. 20 %) und Butter (WF: ca. 30 %). Selbst von den Größenordnungen stimmten diese Werte für die WF von 4-n-NP fast mit denen für 4-n-OP überein. Dies zeigte, dass sich 4-n-NP und 4-n-OP im Bezug auf fettreiche Proben sehr ähnlich verhalten. ($\log K_{OW}$ -Wert für 4-tert.-OP: 3,96; im Vergleich dazu 4-NP: 3,28 – 4,48 [Rippen, 2003]).

Die folgenden Veränderungen sind darauf zurückzuführen, dass bei der Ausweitung des Analyseverfahrens für 4-NP auf 4-tert.-OP zwei Probleme auftraten. Die beiden Probleme, deren Auswirkungen sich überlagerten, bestanden zum einen aus einem Störpeak, der mit

4-tert.-OP koeluierte, und zum anderen aus einer nicht unerheblichen Kontamination durch 4-tert.-OP selber, das aus dem Dichtungsmaterial der Bördelkappen des Typs R8 – 1,0 diffundierte.

Tabelle 24: Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP: Vergleich der Blindwerte von 4-NP

Methode B [Heinke, 2000] Blindwerte 4-NP [ng abs.]					Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP Blindwerte 4-NP [ng abs.]			
App. 1	App. 2	App. 3	App. 4		App. 1	App. 2	App. 3	App. 4
8	8	10			7,2	6,1	3,3	2
7	7	6	13		6,4	7,4		
4	5	6	6		5,9	3,6	5,3	4,4
6	9	8			3,4	3,5	13	9,9
15	8	7	12				3,4	3,3
9	7	7	4		5,8	5,1	7,6	8,7
14	13	12	16		4,9	4,6	12,7	7
12	9	10	15		10,2	9,8	2,6	2,4
9	10	9	10		4,4	4,7	4,5	2,5
10	11	10	12		7,4	5,6	2,7	2,6
9	7	8	6		7,3	8,5	6,7	5
		5	5		8,8	8,5	5,8	6,9
5	5	5	5			4,3		
9	8	8	10	Mittelwert (M)	6,5	5,8	6,4	5,3
3	2	2	4	STABW	0,1	0,1	0,2	0,1
18	15	15	22	NG = M + 3·STABW	6,8	6,2	7,1	5,7
27	21	21	34	BG = M + 6·STABW	7,2	6,5	7,8	6,1

1. Problem: Störpeak

In Abbildung 11 sind ein Ausschnitt eines GC-MS-Chromatogrammes und zwei Spektren einer 4-tert.-OP-Standardlösung (Injektionsmenge: ca. 1 ng abs.) zu sehen. Im Totalionenstrom-Chromatogramm (TIC: Total Ion Current) sieht man für den Störpeak und 4-tert.-OP nur einen Peak. Beim Vergleich der beiden Ionenspuren m/z 249 und 275 erkennt man deutlich, dass der Störpeak ein wenig früher eluierte. Dies alleine wäre nicht problematisch gewesen. Aber in den beiden Spektren ist zusätzlich noch eine Überlagerung des oberen Spektrums (4-tert.-OP: Hauptmassen m/z 249 und 320) mit den Massen des Störpeaks m/z 275 und 257 erkennbar. Dadurch war weder eine Kalibrierung des GC-MS-Systems noch eine Quantifizierung von 4-tert.-OP im entsprechenden Konzentrationsbereich möglich.

Um die Ursache für den Störpeak ausfindig machen zu können, wurde zuerst getestet, ob die verwendeten Lösungsmittel verunreinigt waren. Anschließend wurde auch MSTFA als neues Derivatisierungsreagenz getestet. Da aber alle Chemikalien incl. des MSTFA sauber waren und der Störpeak auch in Standardlösungen zu sehen war, konnte der Störpeak nur noch von den Bördelkappen oder den GC-Fläschchen herrühren. Weitere Tests zeigten, dass die GC-Fläschchen verunreinigt waren und am effektivsten und einfachsten durch Ausheizen bei 300 °C für 3h in einem alten GC-Ofen gereinigt werden konnten.

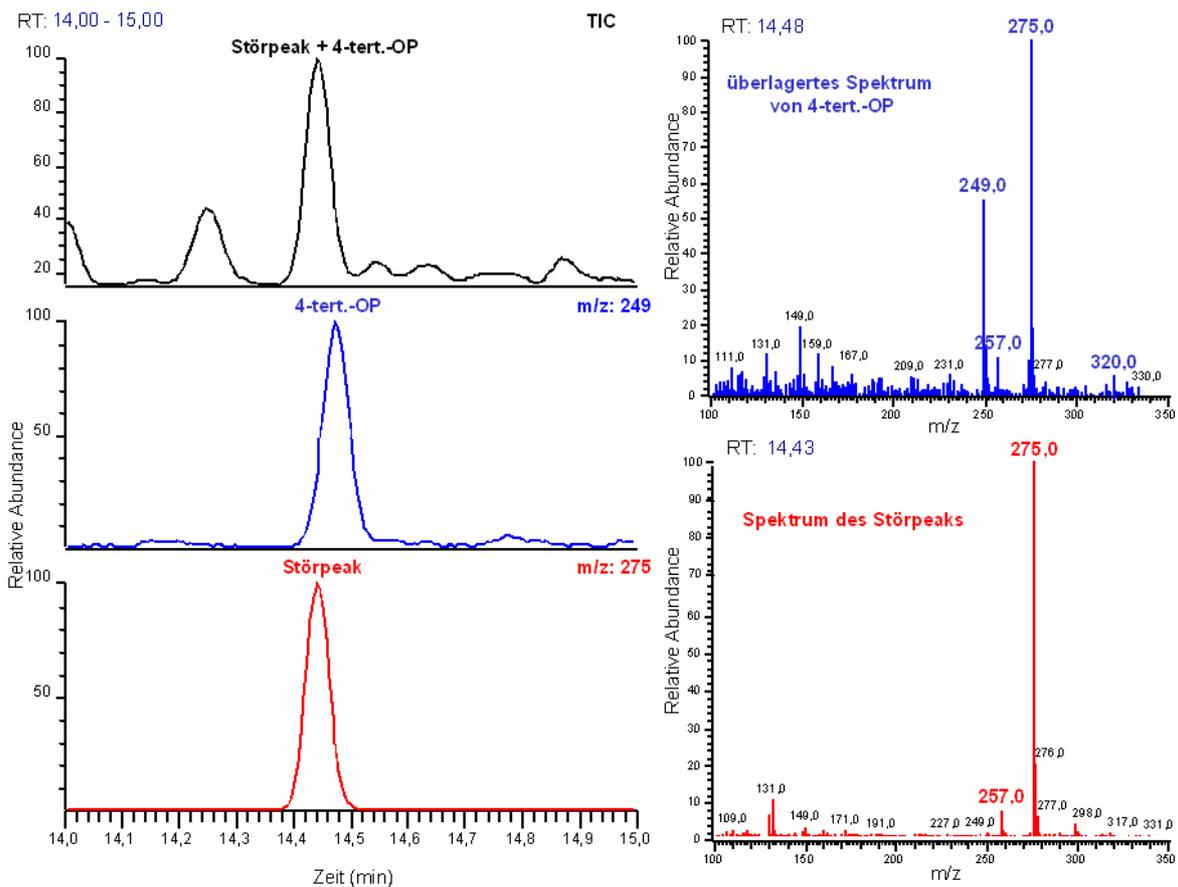


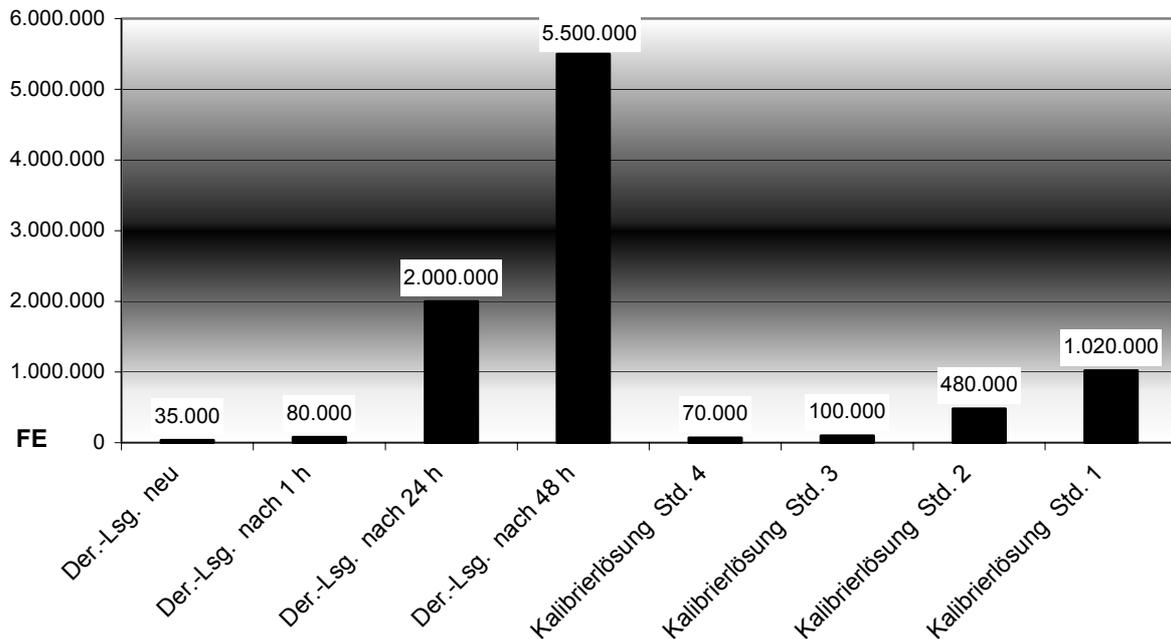
Abbildung 11: GC-MS-Chromatogramm und Spektren einer 4-tert.-OP-Standardlösung

2. Problem: Kontamination durch Bördekkappen

Es stellte sich heraus, dass nach dem Entfernen des Störpeaks immer noch keine Kalibrierung des GC-MS-Systems mit 4-tert.-OP-Standardlösungen möglich war. Die Standardabweichung der berechneten, relativen Responsefaktoren RRF lag teilweise über 50 %. Nach vielen verschiedenen Tests, in denen unter anderem Glasliner mit anderem Packungsmaterial und geringere Injektionsvolumina getestet wurden, blieben als Kontaminationsquelle nur noch die Septen der Bördekkappen vom Typ R8 - 1,0 übrig. Diese bestanden aus einer Schicht Naturkautschuk und einer 1 mm dicken Schicht Teflon. In Abbildung 12 ist deutlich zu sehen, dass die Menge an 4-tert.-OP, die aus dem Naturkautschuk in die Der.-Lsg. diffundierte, anstieg, je länger die Zeit zwischen dem Verschließen der GC-Fläschchen mit den Bördekkappen und dem Vermessen mittels GC-MS (im Folgenden als Standzeit bezeichnet) wurde. Dabei ist zu beachten, dass bei diesem Test bereits nach einer Standzeit von 1 h mehr 4-tert.-OP in die Der.-Lsg. diffundiert war, als die Kalibrierlösung mit der kleinsten 4-tert.-OP-Konzentration überhaupt enthielt. Des Weiteren waren aber auch Standzeiten von bis zu 24 h bei einer kompletten Messserie normal.

Das bedeutete, dass Bördekkappen mit anderen Septen getestet werden mussten. Dabei stellte sich heraus, dass die Bördekkappen vom Typ R8 - Sil rot/weiß geeignet waren, da kein 4-tert.-OP aus dem Silikon-Teflon-Septen diffundiert, nach dem Durchstechen durch die

Autosamplernadel keine Silikonpeaks im Chromatogramm zu sehen und die Septen dicht waren.



**Abbildung 12: Gehalt an 4-tert.-OP:
GC-Fläschchen verschlossen mit Bördelkappen vom Typ R8 - 1,0**

Erläuterungen:

Nachdem die oben erwähnten Veränderungen etabliert waren, wurden die ersten Proben zusammen mit Standardlösungen in folgender Reihenfolge vermessen:

- AcCN und Der.-Lsg. jeweils einmal injiziert
- Standard-Kalibrierlösung 4 mit der niedrigsten Analyt-Konzentration, die wie alle Kalibrierlösungen dreimal injiziert wurde
- acht Blindwert-Injektionen, die sich aus den vier verschiedenen Apparaturen (App. 1 - 4), die jeweils zweimal injiziert wurden, zusammensetzten
- Der.-Lsg. (einmal injiziert)
- Standard-Kalibrierlösung 3 (dreimal injiziert)
- acht Injektionen von Probe I, die sich aus zwei verschiedenen Apparaturen (App. 1, 2), von denen jeweils zwei HPLC-Fraktionen existierten und die alle zweimal injiziert wurden, zusammensetzten
- Der.-Lsg. (einmal injiziert)
- Standard-Kalibrierlösung 2 (dreimal injiziert)
- acht Injektionen von Probe II, die sich aus zwei verschiedenen Apparaturen (App. 3, 4), von denen jeweils zwei HPLC-Fraktionen existierten und die alle zweimal injiziert wurden, zusammensetzten
- Der.-Lsg. (einmal injiziert)
- Standard-Kalibrierlösung 1 (dreimal injiziert)

Zu Beginn einer jeden Messserie wurde AcCN und Der.-Lsg. jeweils einmal injiziert, um das GC-MS-System zu überprüfen. Dabei konnten Verunreinigungen und evt. Kontaminationen des GC-MS-Systems festgestellt werden und die GC-Säule wurde gleichzeitig konditioniert.

Des Weiteren gewährleistete diese Messsequenz, dass unerwartete Schwankungen des Detektors durch die immer wieder zwischendurch vermessenen Standardlösungen spätestens bei der Berechnung der relativen Responsefaktoren (RRF) aufgefallen wären [McDowall, 1998]. Die Berechnung der RRF mit Hilfe von Excel, die nach Gleichung 12 (s. Kapitel 2.1.10.) durchgeführt wurde, zeigte, dass die RRF im benötigten Konzentrationsbereich nahezu konstant waren. Somit konnte über alle RRF eines Analyten gemittelt werden. Auf diese Weise wurde unter anderem die Stabilität des GC-MS-Systems über eine komplette Messserie überprüft. Durch die Injektion der Standard-Kalibrierlösung mit der geringsten Konzentration direkt am Anfang, konnte kontrolliert werden, ob das GC-MS-System empfindlich genug und die Chromatographie der Analyten in Ordnung war.

In Abbildung 13 ist ein Ausschnitt eines GC-MS-Chromatogrammes einer 4-NP- und 4-tert.-OP-Standardlösung für die GC-MS-Kalibrierung zu sehen:

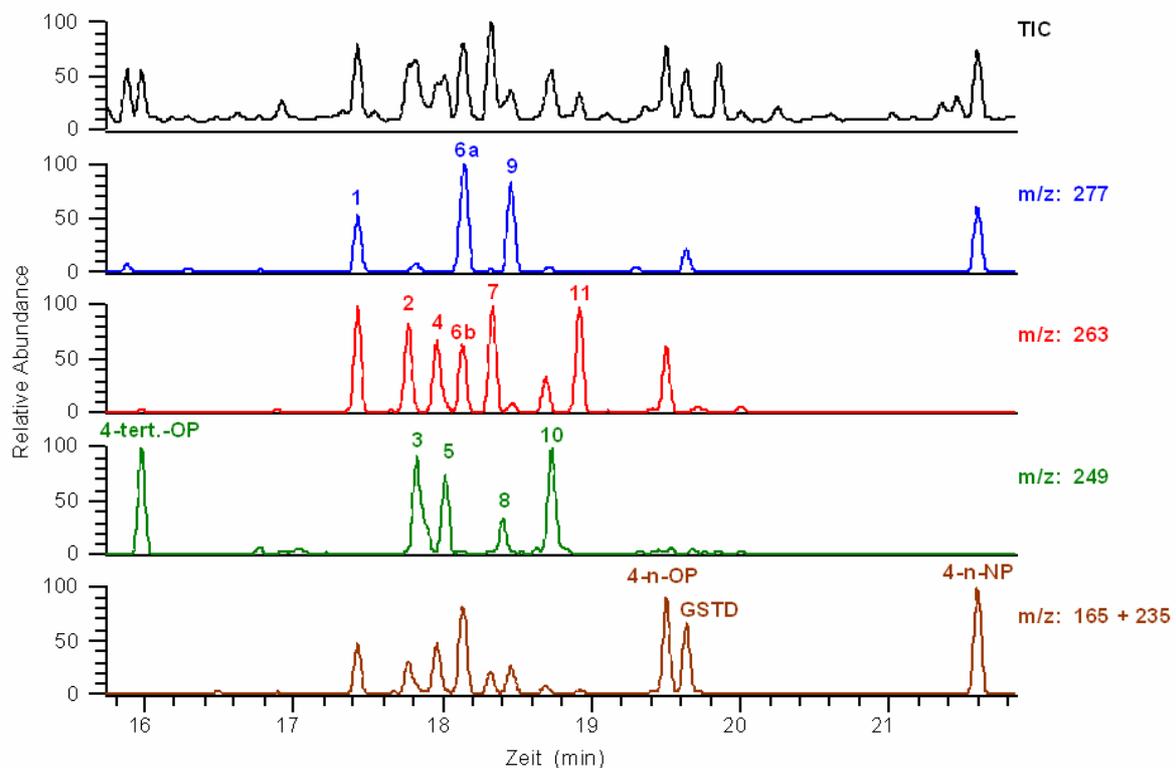


Abbildung 13: Ausschnitt eines GC-MS-Chromatogrammes einer 4-NP- und 4-tert.-OP-Standardlösung für die GC-MS-Kalibrierung

Injektionsmenge für 4-NP 10 ng abs. und für 4-tert.-OP 1 ng abs.;

angezeigt sind der TIC und die jeweils für die Analyten typischen Ionenspuren

Die Nummern zeigen, welches Isomer auf welcher Ionenspur m/z quantifiziert wurde. Isomer Nr. 6 wurde auf der Summe beider Ionenspuren vermessen, da keine Trennung im TIC vorlag.

Die einzelnen Spektren der 15 derivatisierten Analyten sind ab Abbildung 44 in Anhang 7.13. 'Spektren aller derivatisierten Analyten für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP' aufgelistet. Die Blindwerte wurden vor den Proben vermessen, da durch sie eine geringere Belastung an Matrixbestandteilen vor allem für Injektor und Säule ausging. Die Integration der Analyten-Peaks erfolgte mit Hilfe der GCQ-Auswertesoftware, wobei jeder Peak manuell

kontrolliert wurde. Diese Werte wurden nach Excel exportiert und dort weiter ausgewertet. Zur Berechnung der Probengehalte an 4-NP und 4-tert.-OP wurden jeweils die Absolutmassen der Blindwerte von den Absolutmassen der Probe subtrahiert. Anschließend konnte aus diesen korrigierten Absolutmassen - nach Aufsummierung der Absolutmassen aller elf 4-NP-Isomere und unter Berücksichtigung der Einwaage - der Gehalt der Probe berechnet werden.

3.1.3. Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

3.1.3.1. Reinheit des 4-NP1EO- und 4-NP2EO-Standards

Die Reinheit des 4-NP1EO- und des 4-NP2EO-Standards war wie unter Kapitel 2.2.2. beschrieben mit Hilfe des GC-FID-Systems bestimmt worden. Aus den acht Messungen für 4-NP1EO ergab sich eine gemittelte Reinheit von 95,5 %, mit einer Standardabweichung von 10,7 %. Aus den acht Messungen für 4-NP2EO ergab sich eine gemittelte Reinheit von 98,2 %, mit einer Standardabweichung von 7,8 %. Diese Werte mussten bei der Eingabe der absoluten Mengen in die GCQ-Auswertesoftware bzw. bei der Auswertung mit Excel für jedes einzelne Isomer mitberücksichtigt werden.

3.1.3.2. Optimierung der Aufreinigung mittels HPLC

Um eine bestmögliche Aufreinigung zu erzielen, musste das HPLC-Gradientenprogramm so geändert werden, dass das Zeitfenster, in dem die Analyten im Spitzgläschen aufgefangen wurden, so klein wie möglich war. Nur so war die Abtrennung eines Großteils der überdestillierten Matrixbestandteile am effektivsten.

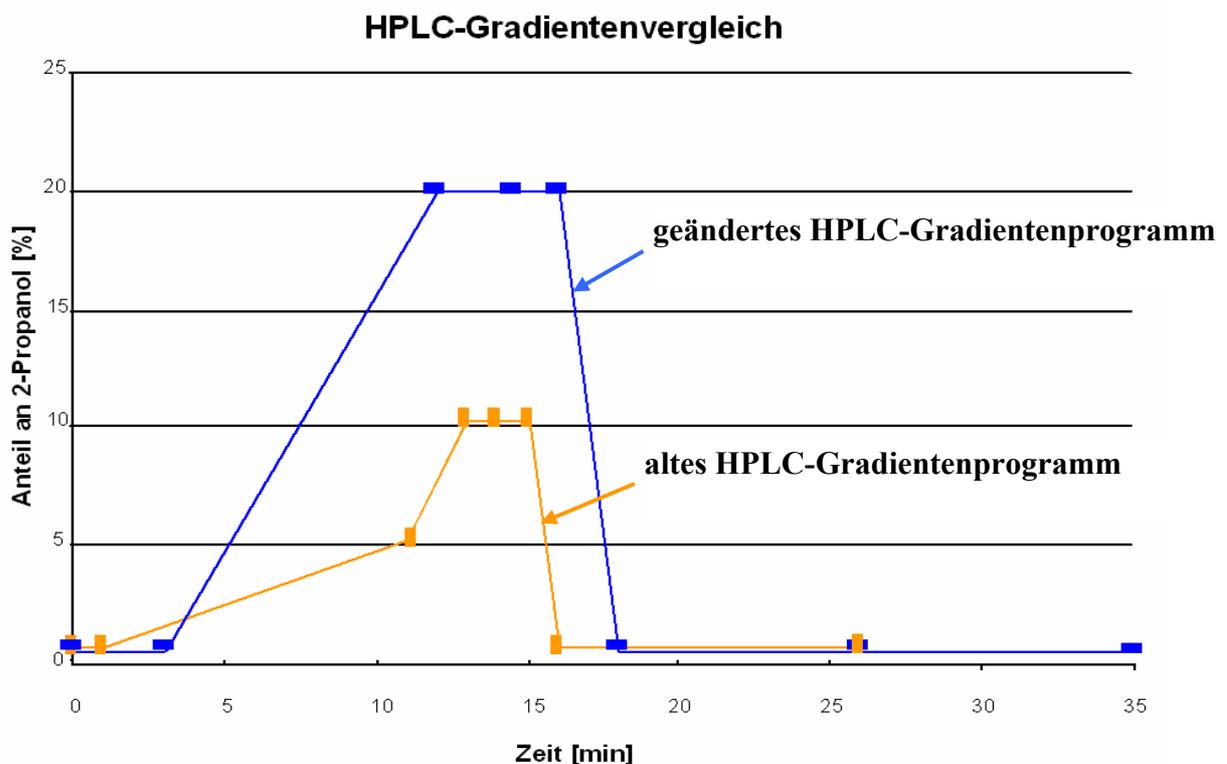


Abbildung 14: HPLC-Gradientenvergleich

In Abbildung 14 sind die beiden Gradientenprogramme für das Analyseverfahren für 4-NP bzw. für 4-NP und 4-tert.-OP (altes Gradientenprogramm) und für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO (geändertes Gradientenprogramm) gegenübergestellt. Man sieht, dass für eine bestmögliche Aufreinigung der Gradient wesentlich polarer (von maximal 10 % 2-Propanol im Lösemittelgemisch auf 20 %) eingestellt worden war und die Dauer eines HPLC-Laufes wesentlich länger war (35 statt 26 min). Die um ca. ein Drittel verlängerte Dauer eines HPLC-Laufes war notwendig, um die Säule wieder ausreichend konditionieren zu können. Kürzere HPLC-Läufe hatten zu Schwankungen in den Retentionszeiten der Analyten geführt.

Auf den folgenden Abbildungen sind vier HPLC-Chromatogramme, die nach dem geänderten Gradientenprogramm gelaufen sind, zu sehen:

- A) Chromatogramm einer 4-NP-/4-tert.-OP-/4-NP1EO-/4-NP2EO-Standardlösung für die HPLC
- B) Chromatogramm eines Blindwertes
- C) Chromatogramm einer Probe (Karottenbrei für Säuglinge nach dem 4. Monat)
- D) Chromatogramm einer Biofilm-Probe

Man erkennt in Chromatogramm A) und B), dass die drei Analyten incl. ihrer internen Standards innerhalb von 1,5 min eluierten, wobei es bei dem alten Gradientenverfahren bis zu 4 min gewesen waren. Durch das geänderte Gradientenprogramm konnte das Zeitfenster von bis zu 6 min auf 3,5 min gekürzt werden.

Dabei eluierte 4-NP1EO vor 4-NP2EO und zum Schluss 4-NP und 4-tert.-OP gleichzeitig. Auch die Retentionszeit von 4-NP hatte sich geändert. Beim alten Gradientenprogramm eluierte 4-NP bei ca. 12,5 min, bei dem geänderten Gradientenprogramm dagegen bereits bei 10,5 min, wobei 4-NP1EO bei ca. 9 min und 4-NP2EO bei ca. 9,8 min eluierten.

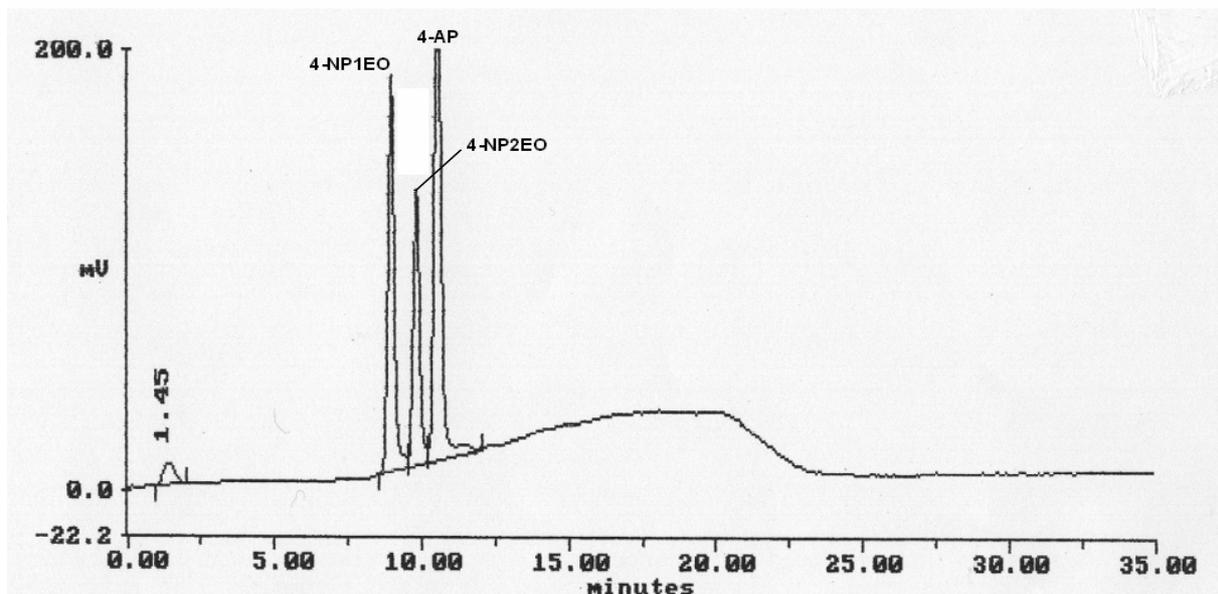


Abbildung 15: A) HPLC-Chromatogramm einer Standardlösung

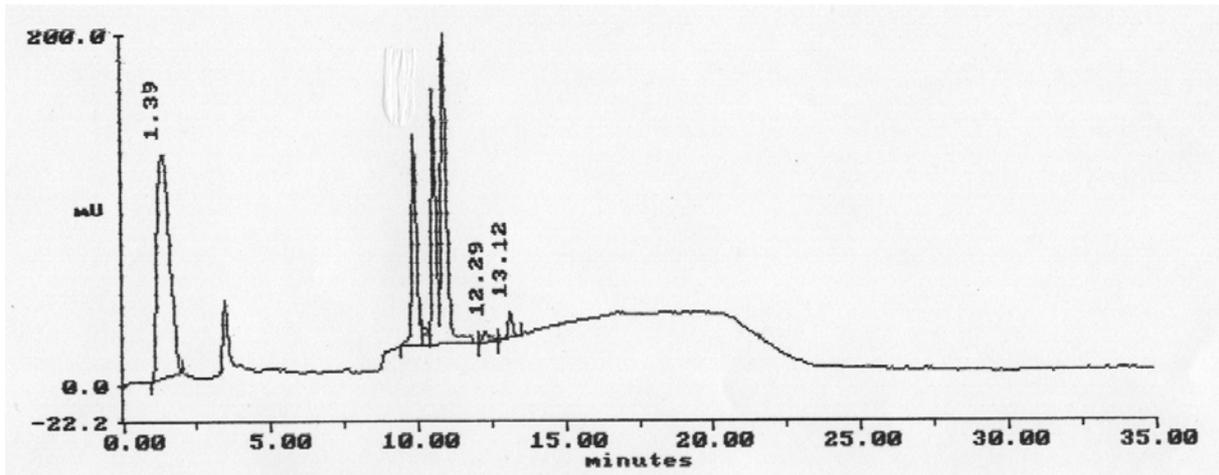


Abbildung 16: B) HPLC-Chromatogramm eines Blindwertes

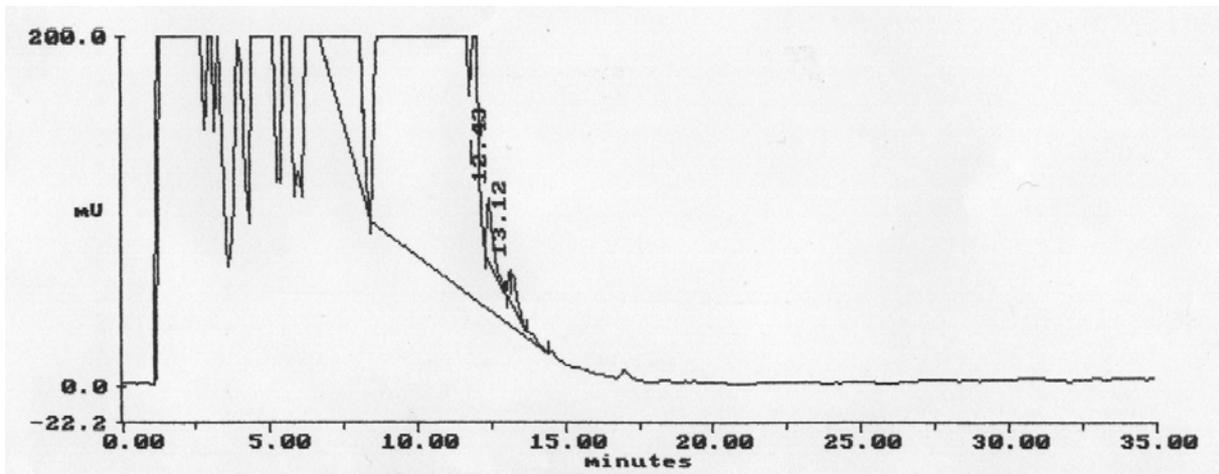


Abbildung 17: C) HPLC-Chromatogramm einer Lebensmittel-Probe

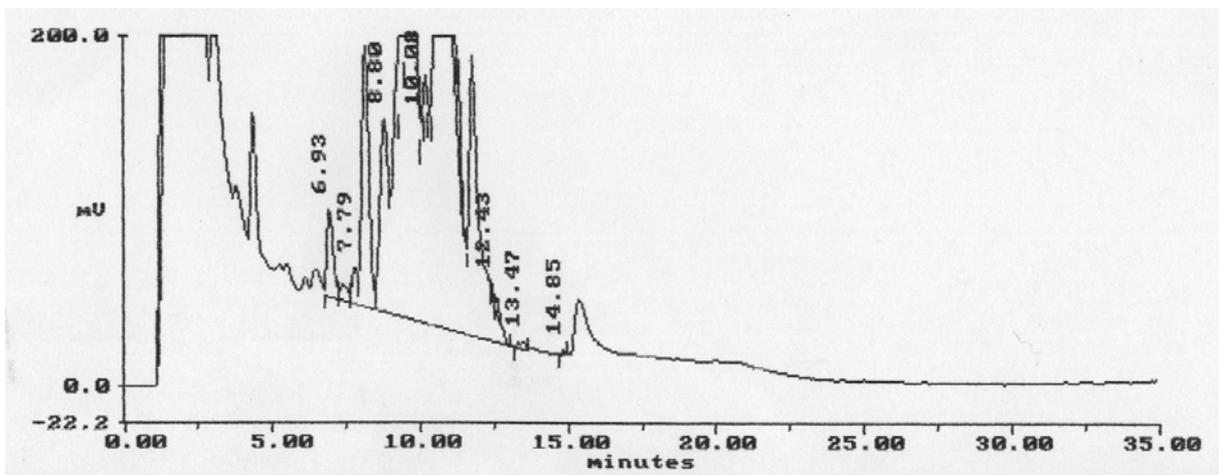


Abbildung 18: D) HPLC-Chromatogramm einer Biofilm-Probe

Wie wichtig die Optimierung hinsichtlich eines möglich kleinen Zeitfensters, in dem die Analyten in einem Spitzgläschen aufgefangen wurden, war, zeigen die beiden Probenchromatogramme. Vor allen Dingen bei Chromatogramm C), welches einen Karottenbrei für Säuglinge zeigt, ist eine sehr starke Belastung der Probe mit ebenfalls überdestillierten Matrixbestandteilen, die fluoreszenz-aktive Substanzen enthielten, zu beobachten. So, wie man es in Chromatogramm C) und D) erkennt, war es auch bei vielen anderen Proben nicht möglich, die Analyten im Chromatogramm ausfindig zu machen, da sie teilweise vollkommen von störenden Matrixkomponenten überlagert wurden. Dies bestätigte nur, wie wichtig für alle Verfahren eine bestmögliche Aufreinigung mittels HPLC gewesen war.

3.1.3.3. Optimierung der Derivatisierungsbedingungen

Mit Hilfe der 4-NP-/4-tert.-OP-/4-NP1EO-/4-NP2EO-Standardlösungen (s. Kapitel 2.3.1.) mussten die Bedingungen bei der Derivatisierung optimiert werden, da bei 4-NP1EO und 4-NP2EO unter den bisherigen Bedingungen kein vollständiger Umsatz mit dem Derivatisierungsreagenz stattfand. Als veränderbare Parameter konnten und wurden die Dauer (zwischen 1 und 6 h), die Temperatur (50 bis 100 °C), verschiedene Derivatisierungsreagenzien, der Anteil an Derivatisierungsreagenz im Lösungsmittel (5 bis 20 %) und andere Chemikalienzusätze bei der Derivatisierung aller Analyten getestet.

Als alternative Derivatisierungsreagenzien wurde MSTFA und eine Mischung aus Acetonitril und Pyridin (80:20; v/v) mit unterschiedlichen Konzentrationen an MSTFA/CTMS (10:1, v/v) getestet [Spengler et al., 1999]. Dabei stellte sich heraus, dass eine Derivatisierung aller vier Analyten am effektivsten mit einem Gemisch aus Acetonitril und Pyridin mit 15% MTBSTFA bei 75 °C für 3 h war (s. Tabelle 25). Dabei handelte es sich um einen Kompromiss zwischen den leichter derivatisierbaren 4-AP und den schwieriger zu derivatisierenden 4-NPnEO. Je nach Analyt variierten die Dauer und der Anteil an MTBSTFA für die effektivste Derivatisierung. Diese Derivatisierungsmethode (s. rechte Spalte Tabelle 25) machte die Bestimmung aller vier Analyten in einem Analysegang möglich.

Tabelle 25: Gegenüberstellung der beiden Derivatisierungsmethoden

Parameter	Derivatisierung nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP	Derivatisierung nach dem Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO
Dauer	10 min	180 min
Temperatur	60 °C	75 °C
Lösungsmittel	Acetonitril	Acetonitril plus 20 Vol.-% Pyridin
Anteil an MTBSTFA im Lösungsmittel	1 Vol.-%	15 Vol.-%

3.1.3.4. Bestimmung der Isomerenverteilung von 4-NP1EO und 4-NP2EO

Zur Bestimmung der Isomerenverteilung von 4-NP1EO und 4-NP2EO wurden die beiden Analyten nach der oben beschriebenen Derivatisierungsmethode umgesetzt und anschließend wie bei 4-NP auch mittels des GC-FID-Systems (s. Kapitel 2.3.2.) auf einer FS-OV-1-CB-Säule von CS vermessen. Dabei ließen sich die 4-NPnEO jeweils in neun Isomere trennen. Tabelle 26 gibt eine Übersicht über die ermittelten Verteilungen. Es fiel auf, dass die beiden Verteilungen sich sehr ähnelten.

Tabelle 26: Isomerenverteilung von 4-NP1EO und 4-NP2EO

NPnEO-Isomer	Isomerenverteilung von NP1EO	Isomerenverteilung von NP2EO
1	4,9 %	5,5 %
2	24,8 %	25,0 %
3	16,7 %	16,6 %
4	10,0 %	10,7 %
5	4,0 %	4,2 %
6	10,4 %	10,8 %
7	5,2 %	4,9 %
8	18,0 %	16,2 %
9	6,0 %	6,1 %

Zur Bestimmung der einzelnen Mengen jedes Isomers in 4-NP1EO bzw. 4-NP2EO wurden im Bezug auf ein GC-FID-System dieselben Annahmen gemacht wie bei 4-NP (s. Kapitel 3.1.2.). Da sich die ISTD 4-n-NP1EO und 4-NP2EO jeweils nicht im 4-NP1EO- bzw. 4-NP2EO-Gemisch befanden und sich chromatographisch gut abtrennen ließen, konnte so jeweils auf dem gleichen Wege wie für 4-NP die Isomerenverteilung bestimmt werden.

3.1.3.5. Bestimmung mittels GC-MS

Beim Temperaturprogramm des GC-Ofens war die Endtemperatur für die AcCN- und Der.-Lsg.-Injektion von 300 °C auf 310 °C erhöht worden (s. Tabelle 20). Dadurch sollten innerhalb einer Messserie eventuell anhaftende Verunreinigungen im Injektor und/oder in der Säule mobilisiert werden. Denn es fand vor den Injektionen von Standardlösungen zur Kalibrierung des GC-MS-Systems immer ein GC-Lauf nur mit Der.-Lsg. statt. Dadurch sollte erreicht werden, dass die Bedingungen jeweils vor den Injektionen der Standardlösungen vergleichbar waren. In Abbildung 19 ist ein Ausschnitt (15 – 34 min) eines GC-MS-Chromatogrammes einer kompletten 4-NP-, 4-tert.-OP-, 4-NP1EO- und 4-NP2EO-Standardlösung für die GC-MS-Kalibrierung zu sehen.

Wie in Kapitel 2.3.9. aufgeführt, dauerte ein GC-Lauf für die Vermessung der vier verschiedenen Analyten 43 min, da die Endtemperatur für die NPnEOs auf 300 °C erhöht werden musste. Bereits an den angegebenen Summen der Ionenspuren m/z der einzelnen Analyten erkennt man, dass der gemessene Massenbereich der einzelnen Analyten verändert werden musste. Für 4-NP und 4-tert.-OP lag er wie bei den beiden vorherigen Analyseverfahren zwischen 100 und 340 amu, da die derivatisierte Molekülmasse für 4-NP m/z 334 (underivatisiert: m/z 220) und für 4-tert.-OP m/z 320 (underivatisiert: m/z 206) betrug.

In Abbildung 20 ist ein Ausschnitt eines GC-MS-Chromatogrammes für NP1EO mit dem TIC und den typischen Ionenspuren zu sehen. Für 4-NP1EO lag der gemessene Massenbereich zwischen 100 und 384 amu, da die derivatisierte Molekülmasse für 4-NP1EO m/z 378 (underivatisiert: m/z 264) betrug.

Einen entsprechenden Ausschnitt eines GC-MS-Chromatogrammes für 4-NP2EO zeigt die Abbildung 21. Für 4-NP2EO lag der gemessene Massenbereich zwischen 100 und 428 amu, da die derivatisierte Molekülmasse für 4-NP1EO m/z 422 (underivatisiert: m/z 308) betrug. Die einzelnen Spektren der neun derivatisierten NP1EO-Isomere plus den ISTD 4-n-NP1EO

und für die neun derivatisierten NP2EO-Isomere plus den ISTD 4-n-NP2EO wurden ab Abbildung 59 in Anhang 7.14.: 'Spektren aller derivatisierten Analyten für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO' aufgelistet.

Man erkennt anhand der Spektren und der oben abgebildeten Chromatogramme, dass die stabilsten Fragmente, auf denen quantifiziert wurde, beim derivatisierten 4-NP und den derivatisierten 4-NPnEO im Bezug auf die Länge ihrer Kohlenstoffkette identisch waren.

Tabelle 27: Vergleich der Ionenspuren m/z

Fragment	4-NP	4-NP1EO	4-NP2EO
$[M - C_5H_{13}]^+$	m/z 277	m/z 321	m/z 365
$[M - C_4H_8]^+$	m/z 263	m/z 307	m/z 351
$[M - C_3H_6]^+$	m/z 249	m/z 293	m/z 337

Die Differenzen in den Ionenspuren m/z entsprechen der Masse einer Ethoxylatgruppe $[O - CH_2 - CH_2]$ mit einer Differenz von 44 amu. Nur beim 4-NP2EO kam noch eine Ionenspur m/z 247 hinzu. Wahrscheinlich handelte es sich dabei um ein Fragment, bei dem sowohl die Silyl-Gruppe (m/z 115), eine Ethoxylat-Gruppe (m/z 44) als auch ein O-Atom (m/z 16) abgespalten wurde. In allen 4-NP2EO-Spektren war neben der Ionenspur m/z 247 auch eine m/z 203 zu sehen, so dass davon ausgegangen werden konnte, dass die komplette Ethoxylat-Seitenkette abgespalten wurde und nur noch der Benzen-Ring mit der C_9 -Kohlenstoffkette als stabilstes Fragment übrig geblieben ist.

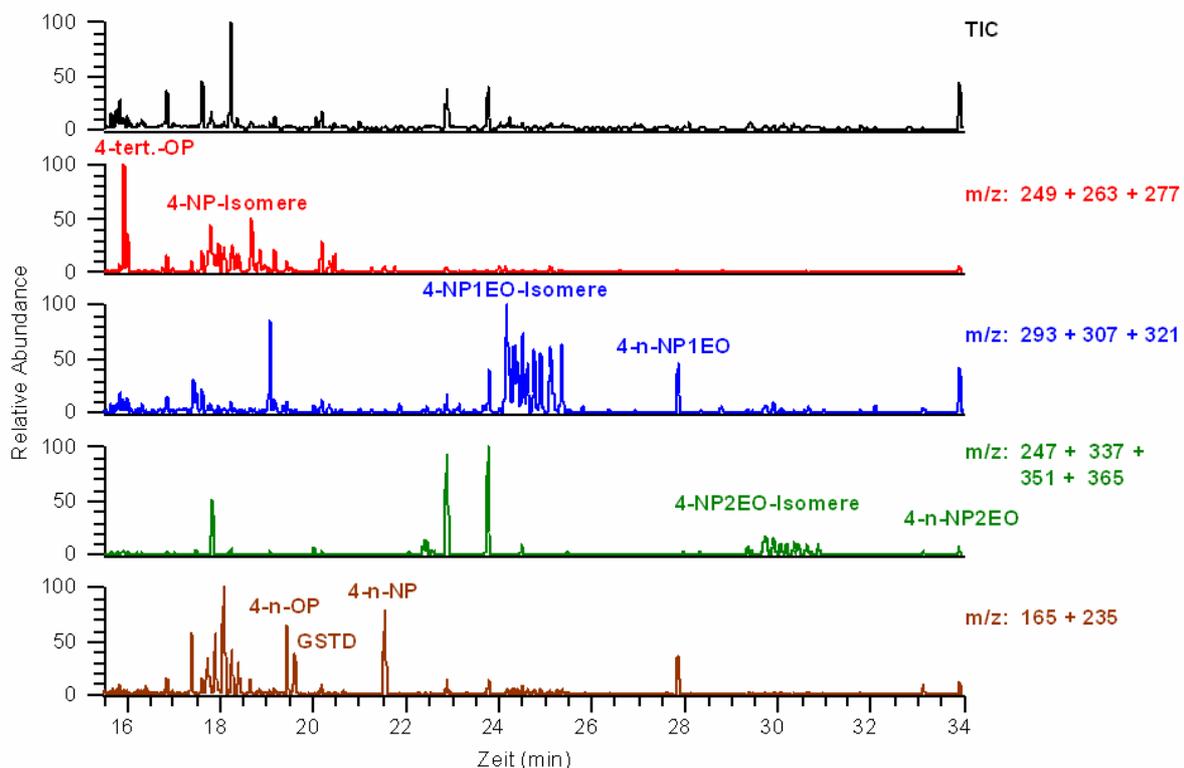


Abbildung 19: Ausschnitt eines GC-MS-Chromatogrammes einer kompletten 4-NP-, 4-tert.-OP-, 4-NP1EO- und 4-NP2EO-Standardlösung für die GC-MS-Kalibrierung

Injektionsmenge: jeweils ca. 10 ng abs. (für 4-tert.-OP 1 ng abs.); angezeigt sind der TIC und die jeweils für die Analyten typischen Ionenspuren m/z

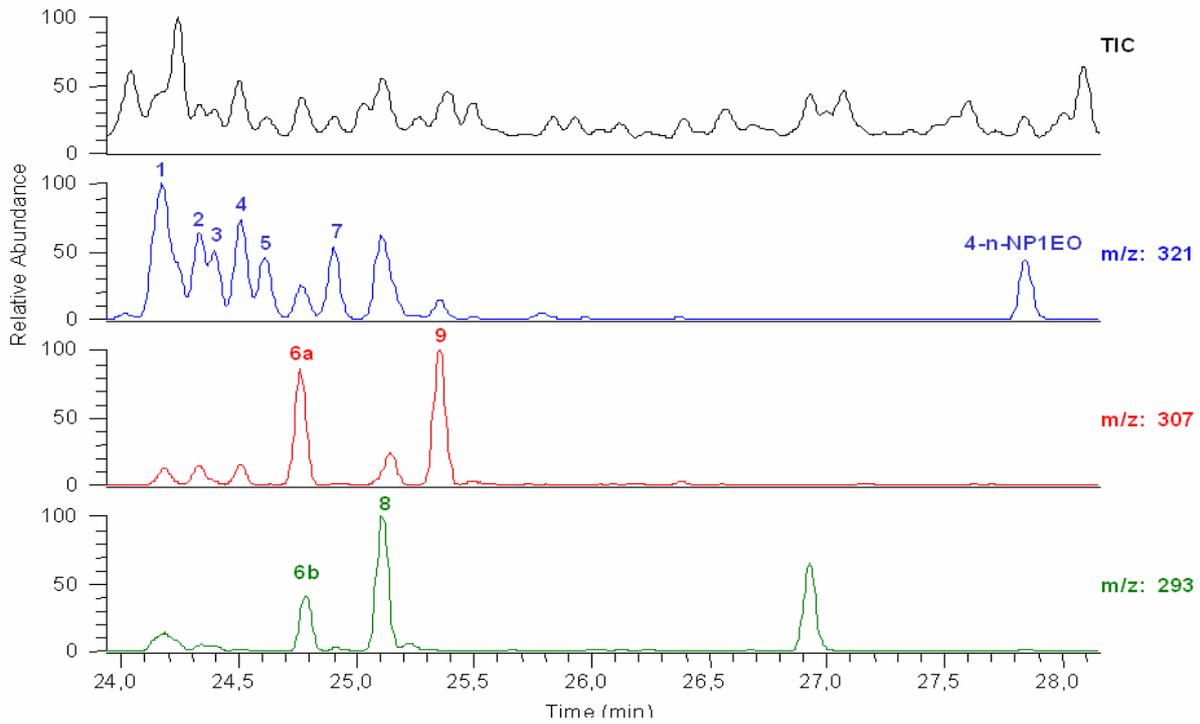


Abbildung 20: GC-MS-Chromatogramm von 4-NP1EO und 4-n-NP1EO

Die Nummern zeigen, welches Isomer auf welcher Ionenspur m/z quantifiziert wurde. Isomer Nr. 6 wurde auf der Summe beider Ionenspuren vermessen, da keine Trennung im TIC vorlag.

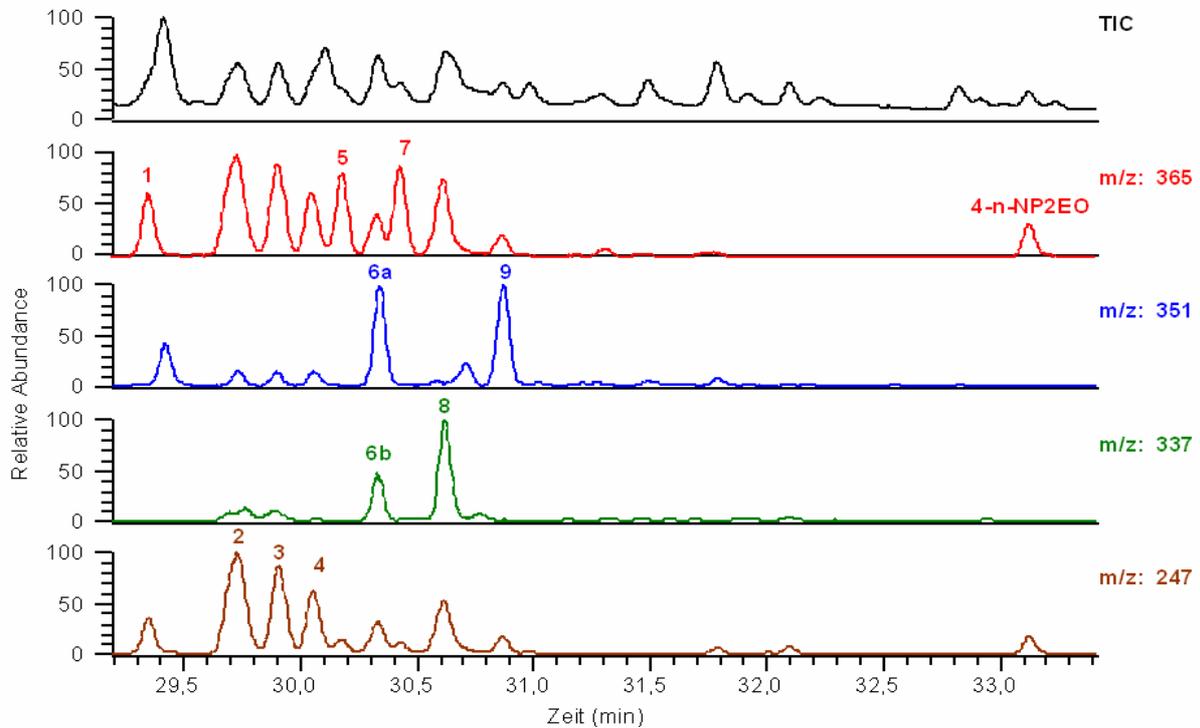


Abbildung 21: GC-MS-Chromatogramm von 4-NP2EO und 4-n-NP2EO

Die Nummern zeigen, welches Isomer auf welcher Ionenspur m/z quantifiziert wurde. Isomer Nr. 6 wurde auf der Summe beider Ionenspuren vermessen, da keine Trennung im TIC vorlag.

Des Weiteren war in den Spektren zu beobachten, dass bei den Analyten die Intensität der entsprechenden Molekülmasse mit steigender molarer Masse abnahm. Bei 4-n-OP und 4-tert.-OP war die Molekülmasse m/z 320 immer zu sehen, bei 4-n-NP und dem GSTD war die Molekülmasse m/z 334 auch immer und bei 4-NP war sie bei acht von elf Isomeren zu sehen (s. ab Abbildung 44: Anhang 7.13.: Spektren aller derivatisierten Analyten für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP). Dagegen war die Molekülmasse m/z 378 nur bei einem von neun 4-NP1EO-Isomeren und 4-n-NP1EO zu sehen und die Molekülmasse m/z 422 für 4-NP2EO gar nicht mehr (s. ab Abbildung 59: Anhang 7.14.: Spektren aller derivatisierten Analyten für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO).

3.1.3.6. Entwicklung einer MS/MS-Methode

Erste Probenmessungen ließen vermuten, dass die Absolutmengen an 4-NPnEO noch geringer sein würden als für die 4-AP. Deswegen sollte eine MS/MS-Methode für alle Analyten mit Hilfe von 4-NP-/4-tert.-OP-/4-NP1EO-/4-NP2EO-Standardlösungen entwickelt werden. Dadurch wollte man versuchen, die volle Leistungsfähigkeit des GC-MS-Ionenfallengerätes im Hinblick auf Empfindlichkeit auszuschöpfen. Dabei kann man die erste MS-Trennstufe (Sammlung von spezifischen Mutterionen, s. unten) als einen massenspezifischen Aufreinigungsschritt ansehen.

Bei dem MS/MS-Verfahren werden so genannte Mutterionen in der Ionenfalle gesammelt und durch Anlegen einer elektrischen Spannung angeregt. Sie fragmentieren durch Kollision mit neutralen Gasmolekülen (meistens Helium) zu den so genannten Tochterionen. Dieser Vorgang wird als 'Collision Induced Dissociation' (CID) oder als 'Collision Activated Decomposition' (CAD) bezeichnet. Anschließend werden die Tochterionen wie sonst auch üblich aus der Ionenfalle nacheinander ausgeschleust und detektiert. Man unterscheidet bei der Detektion zwei verschiedene Modi:

- Beim Full Scan MS/MS-Modus wird ein komplettes Spektrum des fragmentierten Mutterions detektiert, so dass bei diesem Modus alle Tochterionen detektiert werden.
- Beim Selected Reaction Monitoring (SRM) Scan MS/MS-Modus wird nur ein Tochterion – meistens das stabilste Fragment – detektiert.

Beim Vergleich der beiden Modi bleibt festzuhalten, dass der Full Scan MS/MS-Modus langsamer und damit unempfindlicher ist, aber dafür mehr Informationen liefert als der SRM Scan MS/MS-Modus.

Des Weiteren konnten folgende Parameter der Steuerungssoftware variiert werden:

- Startzeit, zu der die folgenden Parameter eines MS/MS-Segmentes gelten sollen
- Durch die Wahl von Dual MS/MS kann man innerhalb eines jeden MS/MS-Segmentes zwei Mutterionen gleichzeitig sammeln, fragmentieren und detektieren lassen und alle folgenden Parameter jeweils getrennt voneinander einstellen.
- Sammlung der Mutterionen:
 - Ionenspur m/z des zu sammelnden Mutterions
 - Weite des Massenbereiches (0,5 - 10 amu) für das Mutterion [Standardeinstellung: 1 entspricht +/- 0,5 amu;]
 - Sammlungszeit (S-Zeit), in der das Mutterion gesammelt wird (2 -16 ms) [Standardeinstellung: 8 ms]

- Anregung der Tochterionen:
 - Höhe der Anregungsspannung (0 - 10 V) [Standardeinstellung: 1 V]
 - Anregungszeit (A-Zeit), in der die Anregungsspannung eingeschaltet ist (1 - 30 ms) [Standardeinstellung: 15 ms]
 - q-Wert erlaubt, mehr Energie auf die Tochterionen einwirken zu lassen, ohne dass sie aus der Ionenfalle rausgeworfen werden (0.225, 0.300, 0.450) [Standardeinstellung: 0.225; Dieser Wert sollte erhöht werden, wenn Mutterionen schwer fragmentierbar sind, dann wird aber auch der Massenbereich der gesammelten Tochterionen kleiner]

- Detektion der Tochterionen:
 - 'Erste Masse' (bis zu drei Angaben möglich): Eingabe der kleinsten Masse, die gesammelt werden soll (Diese ist auch abhängig vom q-Wert und der Ionenspur m/z des Mutterions, da man bei $q = 0.225$ einen Wert von ca. $1/4$ m/z des Mutterions, bei $q = 0.300$ ca. $1/3$ m/z und bei $q = 0.450$ einen Wert von ca. $1/2$ m/z des Mutterions angeben soll.)
 - 'Letzte Masse' (bis zu drei Angaben möglich): Eingabe der größten Masse, die gesammelt werden sollte. Für die Full Scan MS/MS-Detektion sollte man hier einen Wert eingeben, der ein wenig höher als die Ionenspur m/z des Mutterions liegt. Für die SRM Scan MS/MS-Detektion muss man stattdessen an dieser Stelle genau den gleichen Wert wie bei 'Erste Masse' eingeben, wobei dies jeweils das stabilste Fragment des Tochterions sein sollte.

Um eine MS/MS-Methode für alle 35 Analyten (4-n-OP, 4-tert.-OP, 4-n-NP, 11·4-NP, 4-n-NP1EO, 9·4-NP1EO, 4-n-NP2EO, 9·4-NP2EO und GSTD) entwickeln zu können, mussten alle Retentionszeiten genau feststehen, um der Steuerungssoftware den Anfangs- und Endpunkt eines einzelnen MS/MS-Segementes mitteilen zu können. Ebenso mussten die typischen bzw. stabilsten Ionenspuren m/z der einzelnen Analyten als zu sammelnde Mutterionen in die Software eingegeben werden. Dafür wurden 4-NP-/4-tert.-OP-/4-NP1EO-/4-NP2EO-Standardlösungen injiziert. In den folgenden drei Abbildungen sind Ausschnitte eines GC-MS-Chromatogramms einer dieser Standardlösungen zu sehen, in dem die einzelnen MS/MS-Segemente eingetragen wurden. Abbildung 22 zeigt die acht verschiedenen MS/MS-Segemente S 1 bis S 8, für die 4-AP, Abbildung 23 zeigt die Segmente S 9 bis S 12 für 4-NP1EO und Abbildung 24 zeigt die Segmente S 13 bis S 17 für 4-NP2EO, wobei FS Full Scan bedeutet.

Aufgrund der teilweise nicht Basislinien getrennten Peaks mussten in mehreren Segmenten zwei verschiedene Mutterionen gleichzeitig gesammelt werden. Zusätzlich fragmentierten die Mutterionen so unterschiedlich, dass die Tochterionen auf verschiedenen Ionenspuren m/z detektiert werden mussten. Aus diesen beiden Gründen war die Option Dual MS/MS für die MS/MS-Detektion mancher Isomere unumgänglich, führte aber gleichzeitig zu einem Empfindlichkeitsverlust, da die Detektion in solch einem Segment länger dauerte.

Nachdem für die einzelnen MS/MS-Segmente die Anfangs- und Endzeiten und die Ionenspuren m/z der entsprechenden Mutterionen ermittelt worden waren, konnte nun die Optimierung der anderen Parameter für den Full Scan MS/MS-Modus stattfinden. Dabei wurden ausschließlich die S-Zeit, die Höhe der Anregungsspannung und der Q-Wert variiert. Zu diesem Zeitpunkt war der Full Scan MS/MS-Modus unbedingt dem SRM Scan MS/MS-Modus vorzuziehen, da nur auf diese Art und Weise ein komplettes Spektrum des fragmentierten Mutterions zu erhalten war und somit das stabilste Tochterion gefunden werden konnte. Das bedeutete, dass der Wert für die 'Erste Masse' je nach q-Wert ca. $1/4$, $1/3$ bzw. $1/2$ der Ionenspur m/z des Mutterions betragen musste und der für die 'Letzte Masse' ein wenig größer als die Ionenspur m/z des Mutterions sein musste.

Anschließend musste in dieser optimierten MS/MS-Methode noch der Full Scan MS/MS-Modus durch den SRM Scan MS/MS-Modus ersetzt werden, in dem sowohl für die 'Erste Masse' als auch für die 'Letzte Masse' jeweils die Ionenspur m/z des stabilsten Tochterions eingegeben wurde. Die Tabelle 134 in Anhang 7.25. 'Übersicht über die MS/MS-Methode im SRM Scan MS/MS-Modus für alle Analyten' gibt einen Überblick über die optimierte MS/MS-Methode mit den entsprechenden Segmenten für alle Analyten.

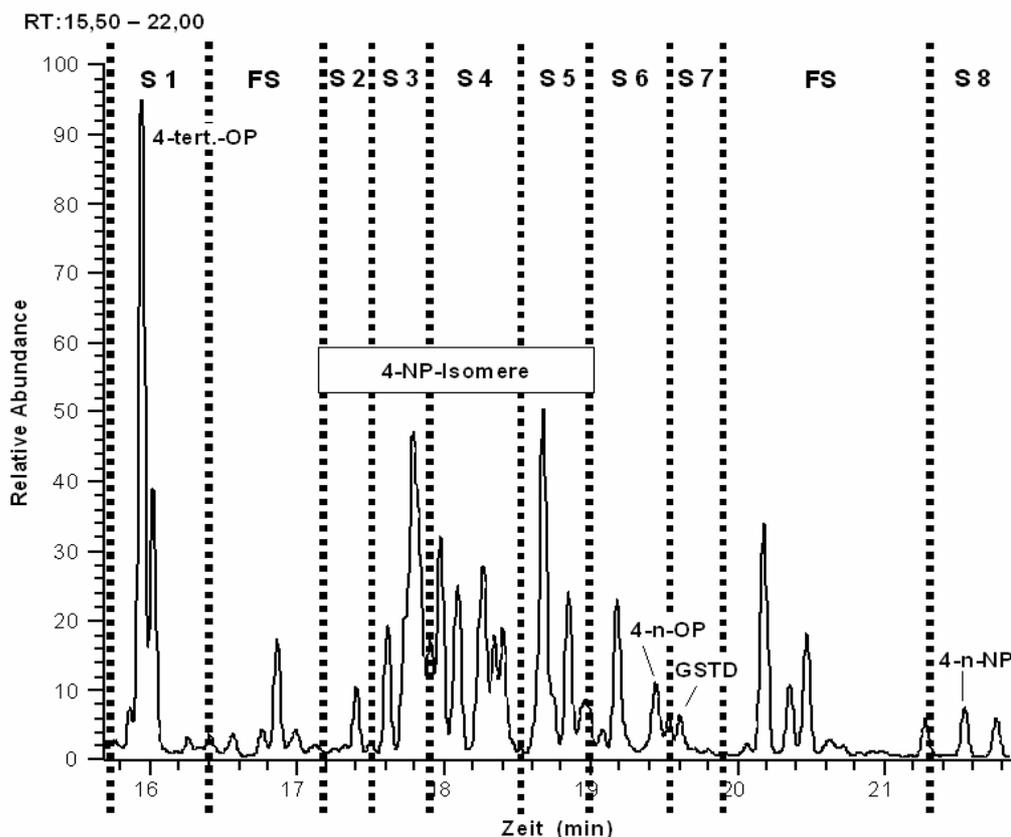


Abbildung 22: Ausschnitt eines GC-MS-Chromatogrammes, das die MS/MS-Segmente (S 1 bis S 8) für die 4-AP zeigt

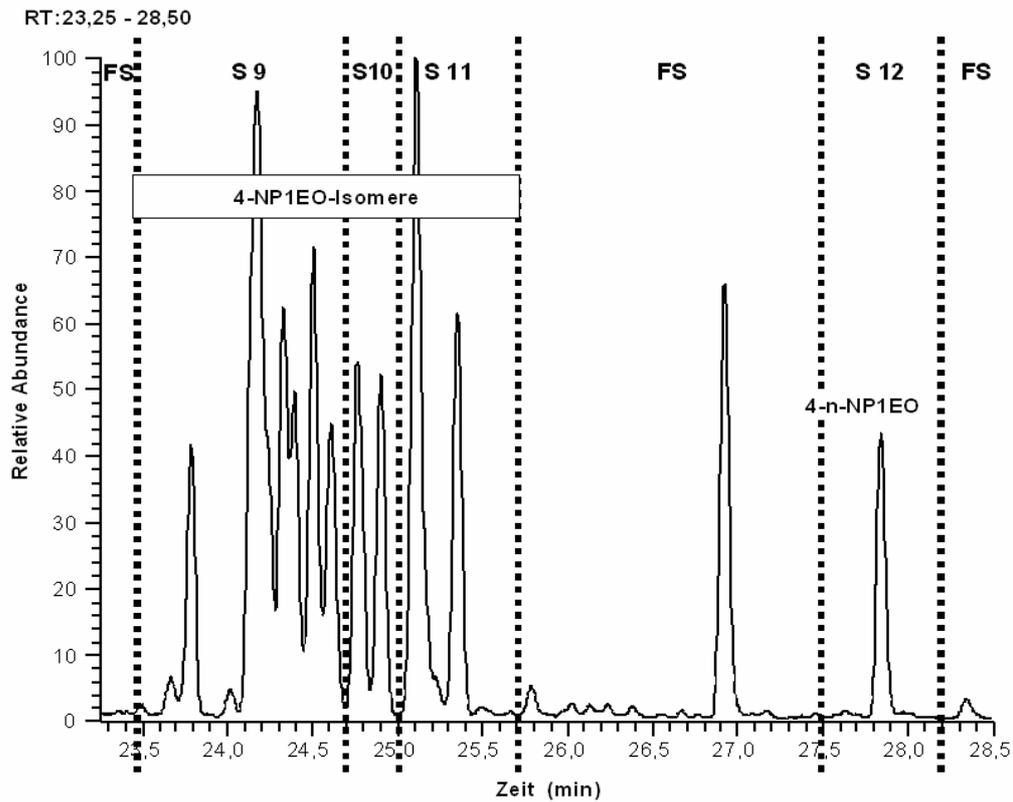


Abbildung 23: Ausschnitt eines GC-MS-Chromatogrammes, das die MS/MS-Segmente (S 9 bis S 12) für 4-NP1EO zeigt

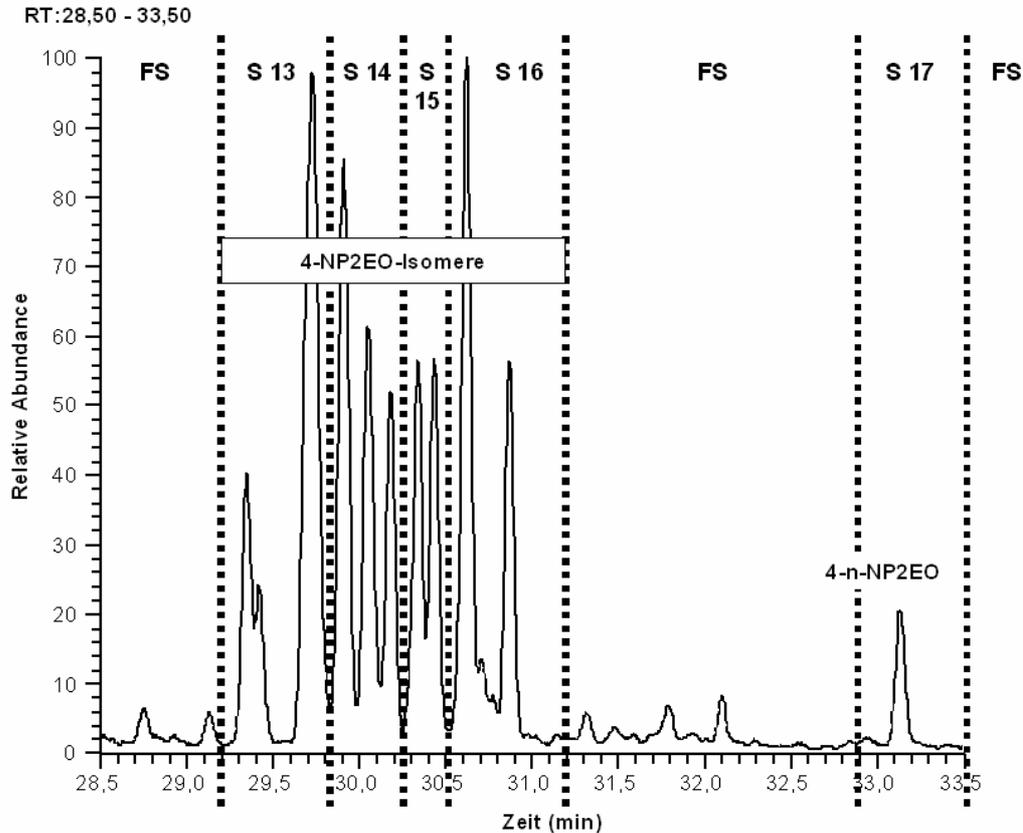


Abbildung 24: Ausschnitt eines GC-MS-Chromatogrammes, das die MS/MS-Segmente (S 13 bis S 17) für 4-NP2EO zeigt

Folgende Abbildung zeigt einen Ausschnitt eines GC-MS/MS-Chromatogramms, das nach der entwickelten MS/MS-Methode gemessen wurde. Deutlich sichtbar sind tiefer liegenden MS/MS-Segmente, in denen so gut wie kein Untergrund vorhanden und deswegen das Signal/Rausch-Verhältnis wesentlich verbessert worden war.

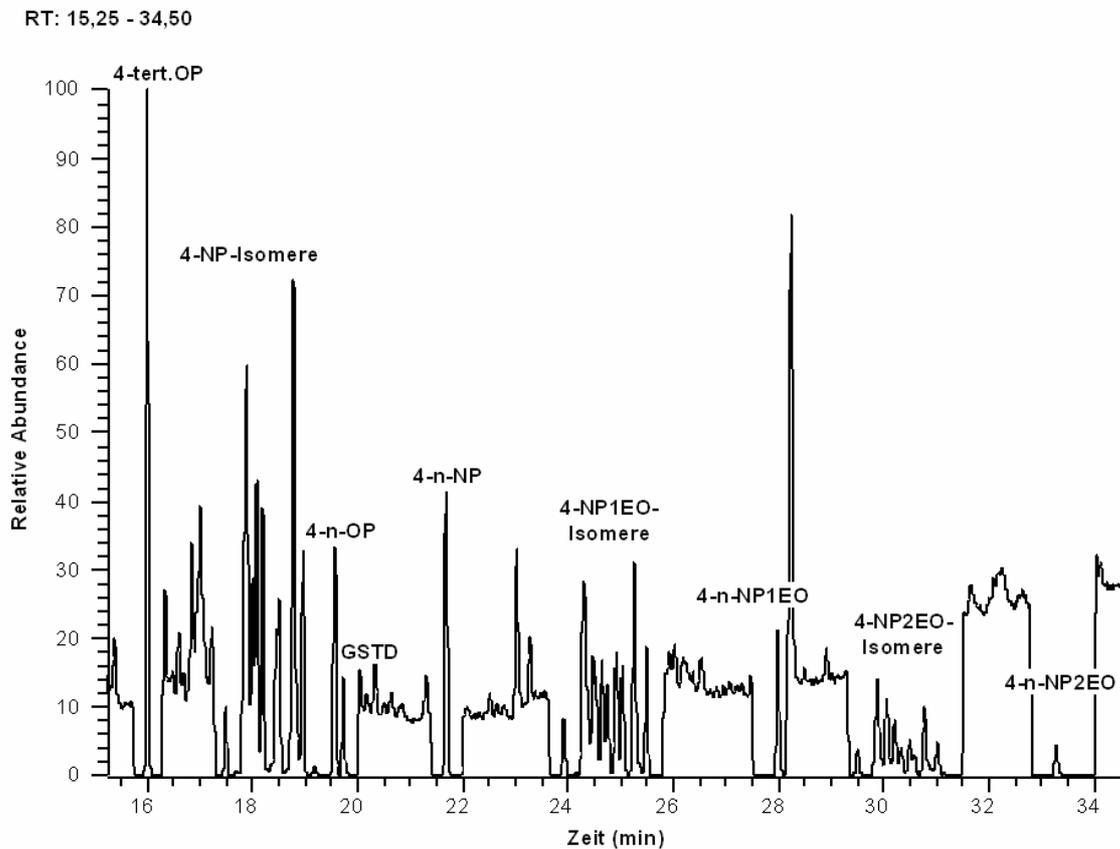


Abbildung 25: Ausschnitt eines GC-MS/MS-Chromatogramms einer Standardlösung mit allen Analyten; aufgenommen im SRM Scan MS/MS-Modus

Bei der Optimierung gab es zwei Probleme:

- Zum einen musste ein Kompromiss gefunden werden zwischen einer verbesserten Empfindlichkeit, überprüft durch ein höheres Signal/Rausch-Verhältnis, und einer ausreichend hohen Signalstärke, überprüft durch die Flächenwerte der einzelnen Peaks.
- Zum anderen waren wegen der selten Basislinien-getrennten Peaks und der unterschiedlich fragmentierenden Mutterionen häufig sekundengenaue Wechsel der MS/MS-Segmente erforderlich.

Es stellte sich heraus, dass meistens ein guter Kompromiss zwischen Empfindlichkeit und Signalstärke gefunden werden konnte. Auch die sekundengenaue Wechsel der MS/MS-Segmente stellten an sich für die Option Dual MS/MS kein Problem dar. Aber es zeigte sich, dass es innerhalb einer Messserie mit Injektionen von matrixbelasteten, realen Proben, immer wieder zu geringen Retentionszeitschwankungen für die einzelnen Analyten kam. Diese Schwankungen waren größer als bei den 4-NP-/4-tert.-OP-/4-NP1EO-/4-NP2EO-Standardlösungen. Innerhalb einer Messserie hätte es somit bei der entwickelten MS/MS-Methode zu einem kompletten Verlust von Messdaten kommen können, da zur falschen Zeit

die falschen Mutterionen gesammelt und die falschen Tochterionen detektiert worden wären. Die MS/MS-Methode konnte auch nicht wesentlich vereinfacht werden, da ansonsten nicht alle Isomere eines Analyten hätten detektiert werden können. Deswegen war der MS/MS-Modus für die Analytik aller Isomere in realen Proben nicht geeignet und wurde nicht weiter verfolgt.

3.1.3.7. Probleme bei dem Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO und weitere Tests zur Optimierung

Probleme:

Da eine MS/MS-Methode für die Analytik der verschiedenen Isomere nicht geeignet war, wurde nach dem in Kapitel 2.3. beschriebenen Verfahren weiter analysiert. Dabei traten immer häufiger Probleme bei dem kompletten GC-MS-System auf. So verringerte sich die Empfindlichkeit innerhalb einer Messserie erheblich oder die Chromatographie der einzelnen Isomere verschlechterte sich und Filamente hatten eine wesentlich kürzere Lebensdauer als beim Analyseverfahren nach Kapitel 2.1. Es erhärtete sich der Verdacht, dass die Erhöhung des MTBSTFA-Anteils in der Derivatisierungslösung von 1 auf 15 % (v/v) der Auslöser für diese Probleme war. Um dies zu erläutern, wird im Folgenden der Aufbau des Injektor- und Detektor-Bereiches näher beschrieben:

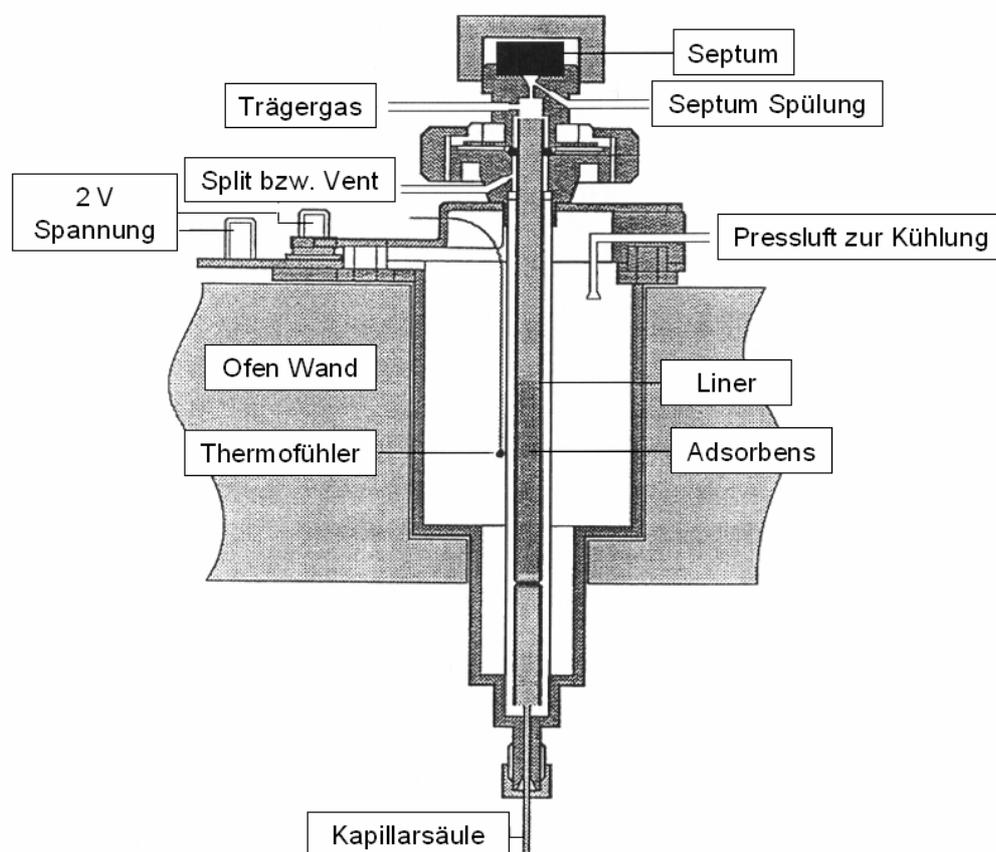


Abbildung 26: LV-Injektor im Querschnitt

Bei dem verwendeten Injektor handelte es um einen Temperatur programmierbaren Split-/Splittless-Injektor (Programmed Temperature Vaporisation PTV-Injektor), der schnell aufge-

heizt und mittels Pressluft rasch abgekühlt werden konnte. Er war mit einem gepackten Glasliner (Diatomit als Adsorbens) bestückt, der bis zu 150 µL Flüssigkeit aufnehmen konnte. Deswegen wird er auch als Large-Volume-Injektor (LV-Injektor) bezeichnet. Abbildung 26 zeigt einen Querschnitt durch einen solchen PTV- bzw. LV-Injektor.

In diesem Fall wurden 105 µL kalt injiziert (70 °C). Mit Hilfe eines erhöhten Gasstromes (ca. 200 mL/min) wurde das Lösungsmittel fast vollständig entfernt, in dem es über das Vent-Ventil abgeblasen wurde. Die dafür benötigte Zeit (Vent-Zeit) war optimiert worden, so dass die Analyten ohne größere Verluste und diskriminierungsfrei auf die Kapillarsäule übertragen werden konnten. Dafür wurde nach dem Entfernen des Lösungsmittels das Vent-Ventil geschlossen und der Injektor mit 5 °C/s schnell aufgeheizt. Nach 2 min wurde das Split-Ventil geöffnet (Fluss von 29 mL/min).

Da MTBSTFA erst bei 168 – 170 °C siedet, konnten von den über 15 µL MTBSTFA, die injiziert wurden, nur sehr wenig über das Vent-Ventil bei 70 °C abgeblasen werden. Somit gelangte fast die gesamte Menge an injiziertem MTBSTFA vom Injektor über die Säule bis hin zum Detektor und verursachte verschiedene Probleme.

Es war z.B. ein Rückschlag in die Zuleitungen des Injektors aufgrund des schnellen Aufheizens bei geschlossenen Ventilen und der damit verbundenen, enormen Volumenvergrößerung des flüssigen zum gasförmigen MTBSTFA festgestellt worden. Aufwendige Reinigungen aller Zu- und Ableitungen des Injektors waren immer wieder erforderlich, damit während der Testphase überhaupt Standardmessungen unter analytischen Bedingungen möglich waren. Diese um den Faktor 15 vergrößerte Menge MTBSTFA hatte auch Einfluss auf die Häufigkeit von Reinigungsintervallen für einige Bauteile im MS-Detektor und auf die Lebensdauer von Filamenten.

Ein weiteres Problem war die geringere Empfindlichkeit, die auf ein erhöhtes Grundrauschen durch MTBSTFA zurückzuführen war. In Tabelle 28 sind TIC-Werte von Derivatisierungslösungen mit verschiedenen MTBSTFA-Anteilen in den jeweiligen Zeitfenstern der Analyten aufgeführt. Es ist deutlich zu erkennen, dass sich der TIC-Wert proportional zum Anteil des MTBSTFA verhielt.

Tabelle 28: Vergleich des Grundrauschens (TIC-Wert) bei verschiedenen Derivatisierungslösungen

	100 % Wert (Höhe) des TIC im			
	gesamten Chromatogramm	Bereich, in dem 4-NP eluiert	Bereich, in dem 4-NP1EO eluiert	Bereich, in dem 4-NP2EO eluiert
Acetonitril	1.937	152	121	148
1 % MTBSTFA (v/v) Derivatisierungslösung	45.642	2.172	1.383	1.474
15 % MTBSTFA (v/v) Derivatisierungslösung	6,42 Mio.	83.483	160.545	34.035
30 % MTBSTFA (v/v) Derivatisierungslösung	21,79 Mio.	200.464	335.560	106.768

Warum dieses erhöhte Grundrauschen einen so großen Einfluss auf die Empfindlichkeit hatte, wird erst deutlich, wenn man das Messprinzip eines Ionenfallen-MS-Detektors genauer betrachtet (s. Abbildung 27).

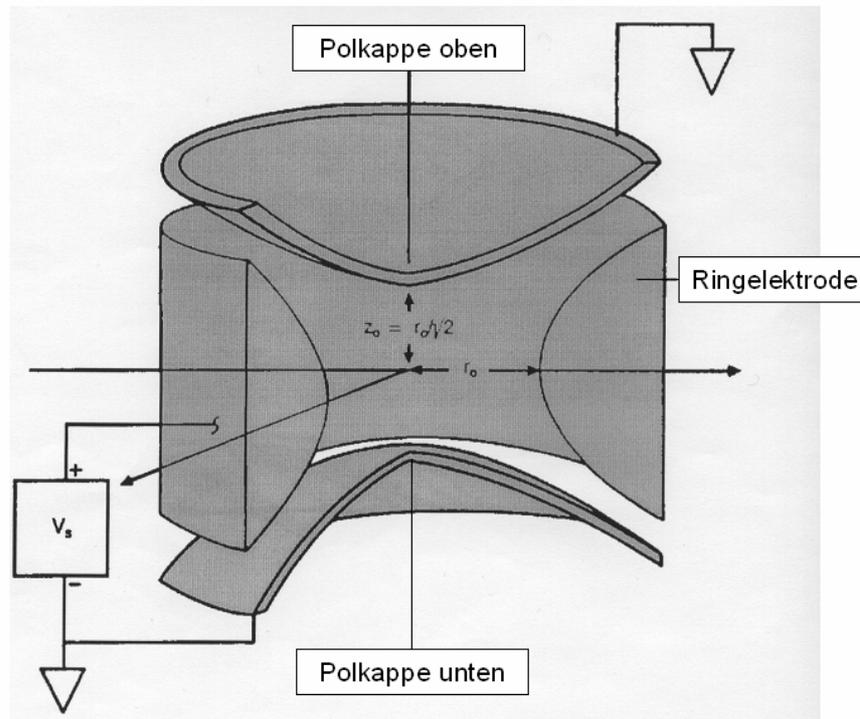


Abbildung 27: Aufbau eines Ionenfallen-Massenspektrometers

Im Gegensatz zum Quadrupol-Massenspektrometer handelt es sich beim Ionenfallen-Massenspektrometer nicht um einen Massenfilter, sondern um einen Massenspeicher. Die Flugbahnen von Ionen werden durch verschiedene Spannungen an Ringelektrode und Polkappen in allen drei Raumrichtungen kontrolliert und somit können die Ionen in der Ionenfalle gespeichert werden. Dabei ist die Speicherkapazität bzw. die Anzahl der Ionen, mit der die Ionenfalle beladen werden kann, begrenzt (bei dem verwendeten Gerät ca. 10^8 Ionen). Extreme Beladungssituationen führen zu einer Abstoßung der gleichgeladenen Ionen untereinander und damit zu einer Einschränkung der Qualität bei der Detektion.

Deswegen wird vor jedem analytischen Scan, der sich aus dem Speicher- und Scanzklus zusammensetzt, ein so genannter Pre-Scan durchgeführt. Durch den Pre-Scan wird die Öffnungszeit der Gate-Linse ermittelt, durch die die Anzahl der Ionen, die in der Ionenfalle gespeichert werden, geregelt wird. Andererseits bleibt diese Gate-Linse maximal 25 ms geöffnet, wenn z.B. kaum Substanzen eluieren, also die Grundlinie detektiert wird. Das bedeutet, dass die Beladung der Ionenfalle entweder bei maximaler Befüllung oder mit Ablauf der maximalen Zeit von 25 ms durch Schließen der Gate-Linse beendet wird.

Wenn nun das Grundrauschen, wie oben erläutert und aufgeführt, angestiegen war, hieß das für die Beladung der Ionenfalle, dass aufgrund des erhöhten Ionenstromes die Gate-Linse nur sehr kurze Zeit geöffnet sein konnte, damit nicht mehr als ca. 10^8 Ionen in der Ionenfalle

gespeichert wurden. Damit gelangten aber zwangsweise auch viel weniger Analyten in die Ionenfalle und somit sank die Empfindlichkeit insgesamt.

Zusammenfassend konnte festgehalten werden, dass alle Probleme, die durch das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO auftraten, ein Vermessen von Standardlösungen und realen Proben unter diesen Bedingungen nicht zuließen. Deswegen wurden weitere Tests zur Optimierung dieses Analyseverfahrens durchgeführt, um die Belastungen für das komplette System (Injektor – Säule – Detektor) zu reduzieren.

Weitere Tests zur Optimierung:

Zuerst wurde versucht, durch Variation von Vent-Zeit und/oder Anfangstemperatur, bei der abgeblasen wurde (im Folgenden als Vent-Temperatur bezeichnet) mehr MTBSTFA mittels des erhöhten Gasstromes über das Vent-Ventil zu entfernen. Dies scheiterte daran, dass sowohl bei einer Verlängerung der Vent-Zeit um 30 s als auch bei einer Erhöhung der Vent-Temperatur um 30 °C bereits die derivatisierten Analyten, vor allem die niedriger siedenden 4-AP, zum größten Teil mitentfernt wurden.

Daraufhin wurde das Injektionsvolumen reduziert, um somit die Menge an injiziertem MTBSTFA zu verringern. Eine Reduktion des Injektionsvolumen um ein 1/5 auf 20 µL brachte auch noch keine wesentlichen Verbesserungen im Bezug auf die oben genannten Probleme. Weiter konnte das Injektionsvolumen nicht reduziert werden, da mehrere praktische, analytische Gründe dagegen sprachen, wie z.B. die begrenzte Löslichkeit der Standardlösungen zur GC-MS-Kalibrierung in der Derivatisierungslösung oder eine ausreichend große Menge an Derivatisierungslösung zur Aufnahme der HPLC-Fraktion vor der Derivatisierung usw.

Als Letztes wurden zwei weitere Tests durchgeführt, um die silylierten Analyten vom MTBSTFA abzutrennen. Durch Ausschütteln mit verschiedenen Lösungsmitteln (Methanol, Acetonitril, n-Hexan, Cyclohexan oder Isooctan) oder der organischen Phase (Cyclohexan und Isoctan, 1:1, v/v) konnte nur bei der Standardlösung für die GC-MS-Kalibrierung mit der höchsten Konzentration qualitativ ein Übergang der derivatisierten Analyten festgestellt werden. Deswegen wurde nach Mol et al., 2000, versucht, überschüssiges MTBSTFA durch den Zusatz von Wasser zu neutralisieren. Durch Ausschütteln mit der organischen Phase sollten die derivatisierten Analyten aus der wässrigen Phase extrahiert und anschließend durch Natriumsulfat getrocknet werden. Es stellte sich heraus, dass die derivatisierten Analyten nicht stabil genug waren und durch den Zusatz von Wasser zum größten Teil wieder in die underivatisierten Phenole bzw. Ethoxylate zerfielen.

Damit stand fest, dass dieses GC-MS-System in Kombination mit der in Kapitel 2.3. beschriebenen Analytik nicht für die Bestimmung der Gehalte von 4-NP1EO und 4-NP2EO geeignet war.

3.2. Säuglings- und Kleinkindernahrung: 4-NP- und 4-tert.-OP-Ergebnisse

3.2.1. 4-AP-Werte nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Nach dem Analyseverfahren für 4-NP wurden insgesamt 21 Proben untersucht (s. Tabelle 59: Anhang 7.5.: Proben nach dem Analysenverfahren für 4-NP). Dabei handelte es sich um 20 Lebensmittel für die Ernährung von Säuglingen und um eines für die Ernährung von Kleinkindern (Raffinade-Zucker). Erst nachdem die unter Kapitel 3.1.2. beschriebenen Probleme für die Quantifizierung von 4-tert.-OP gelöst worden waren, konnten von diesen 21 Proben noch zwei Proben nach dem Analyseverfahren für 4-NP auf 4-tert.-OP untersucht werden. Die Quantifizierung der 4-tert.-OP-Gehalte erfolgte hierfür über den ISTD 4-n-NP, da 4-n-OP noch nicht vorlag. Es wurde jeweils eine Doppelbestimmung (Einwaage 1 und 2), die in zwei verschiedenen Veith-Apparaturen extrahiert wurden, durchgeführt. Fast alle Proben waren jeweils zweimal per HPLC fraktioniert worden, nur die Proben 'Tomatengemüse, Spaghetti und Schweinefleisch', 'Reis mit Apfel', 'Mehrkornbrei', 'Grießbrei mit Vanille' und 'Milchbrei Banane' waren einmal mit der HPLC fraktioniert worden. Erst nach diesen aller ersten fünf Proben war die Analytik auf zwei HPLC-Fractionen umgestellt worden, um die analytische Sicherheit bei der Aufreinigung zu erhöhen.

Die Berechnungen der einzelnen Gehalte erfolgten nach den unter Kapitel 2.1.10. (Auswertung von Probenmessdaten) aufgeführten Formeln. Hierfür wurden aus den Flächenwerten die Absolutmassen sowohl der Blindwerte als auch der Proben berechnet. Da vor jeder Probenextraktion auch eine Blindwertextraktion durchgeführt wurde, konnten anschließend die Absolutmassen der Blindwerte von denen der Probe subtrahiert werden. Diese Berechnungen wurden für jedes 4-NP-Isomer einzeln durchgeführt und deswegen mussten zum Schluss die Absolutmassen der 4-NP-Isomere aufsummiert werden, um dann bezogen auf die Einwaage in Gehalte pro kg Lebensmittel umgerechnet werden zu können. Über die so erhaltenen 4-tert.-OP-Gehalte bzw. 4-NP-Gehalte der analysierten Proben gibt Abbildung 28 bzw. Abbildung 29 eine Übersicht (s. auch Tabelle 65 Anhang 7.11.: Übersicht über 4-NP-Mengen in Säuglings- und Kleinkindernahrung nach dem Verfahren für 4-NP bzw. Tabelle 67 Anhang 7.15.: Übersicht über 4-tert.-OP-Mengen in Säuglings- und Kleinkindernahrung nach dem Verfahren für 4-NP). Dabei handelt es sich um den Mittelwert einer Doppelbestimmung, dessen Standardabweichung als Absolutwert in ng/kg bzw. µg/kg mittels Fehlerbalken dargestellt wurde.

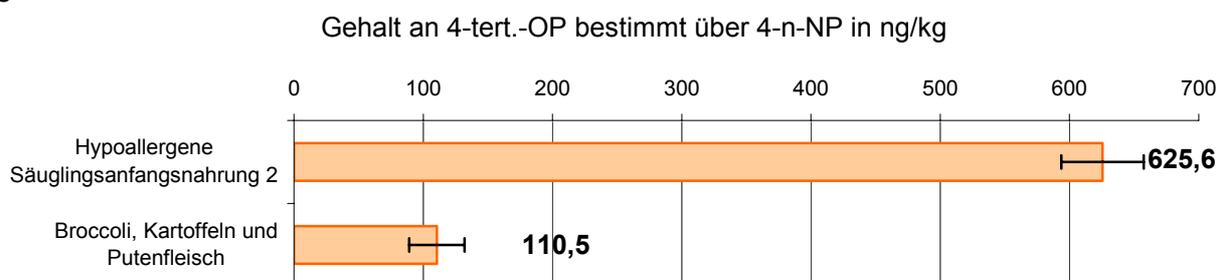


Abbildung 28: Übersicht über 4-tert.-OP-Gehalte [ng/kg] in Lebensmitteln nach dem Verfahren für 4-NP (Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung als Absolutwert in ng/kg.)

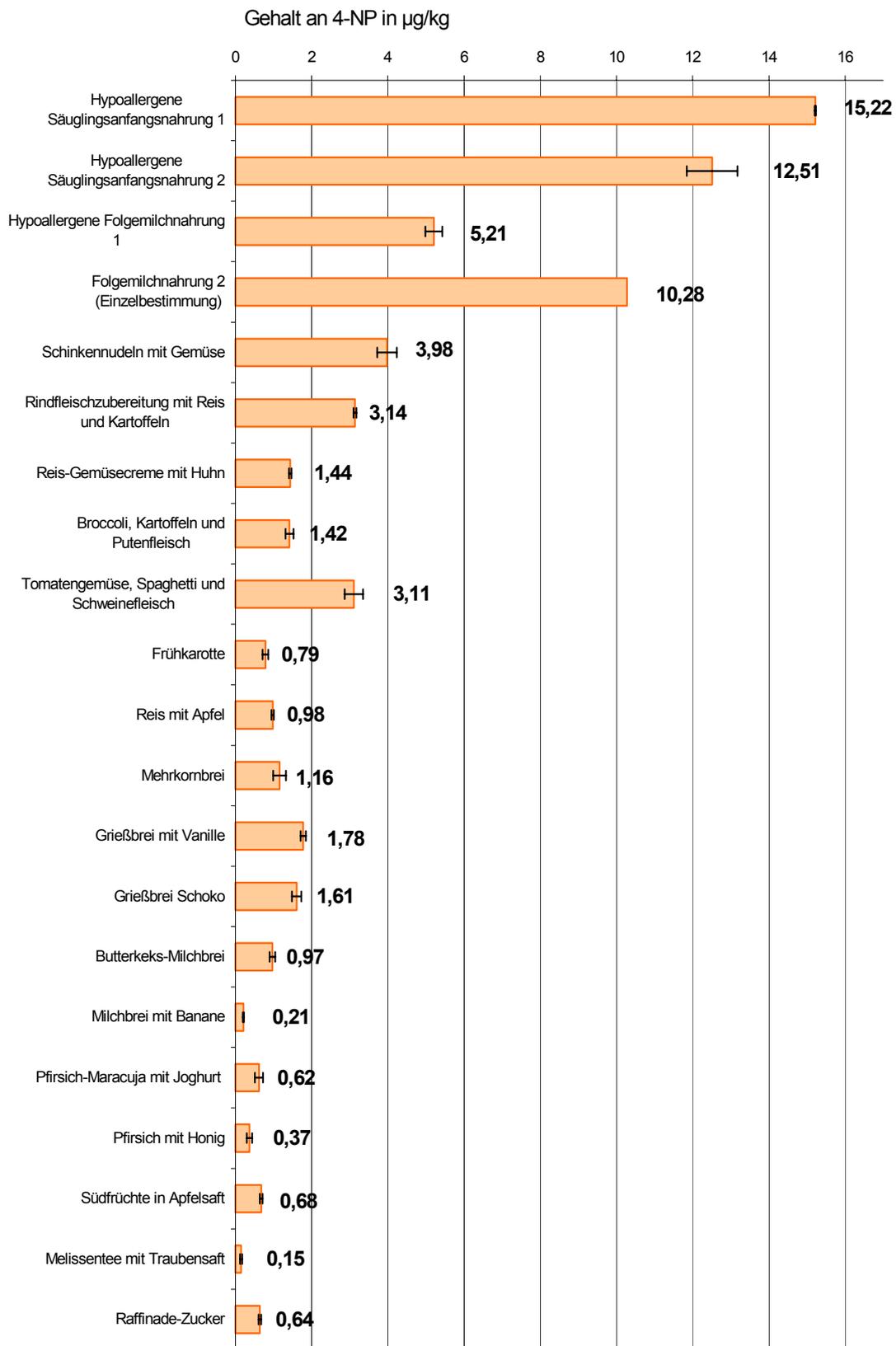


Abbildung 29: Übersicht über 4-NP-Gehalte [$\mu\text{g}/\text{kg}$] in Lebensmitteln nach dem Verfahren für 4-NP (Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung als Absolutwert in $\mu\text{g}/\text{kg}$.)

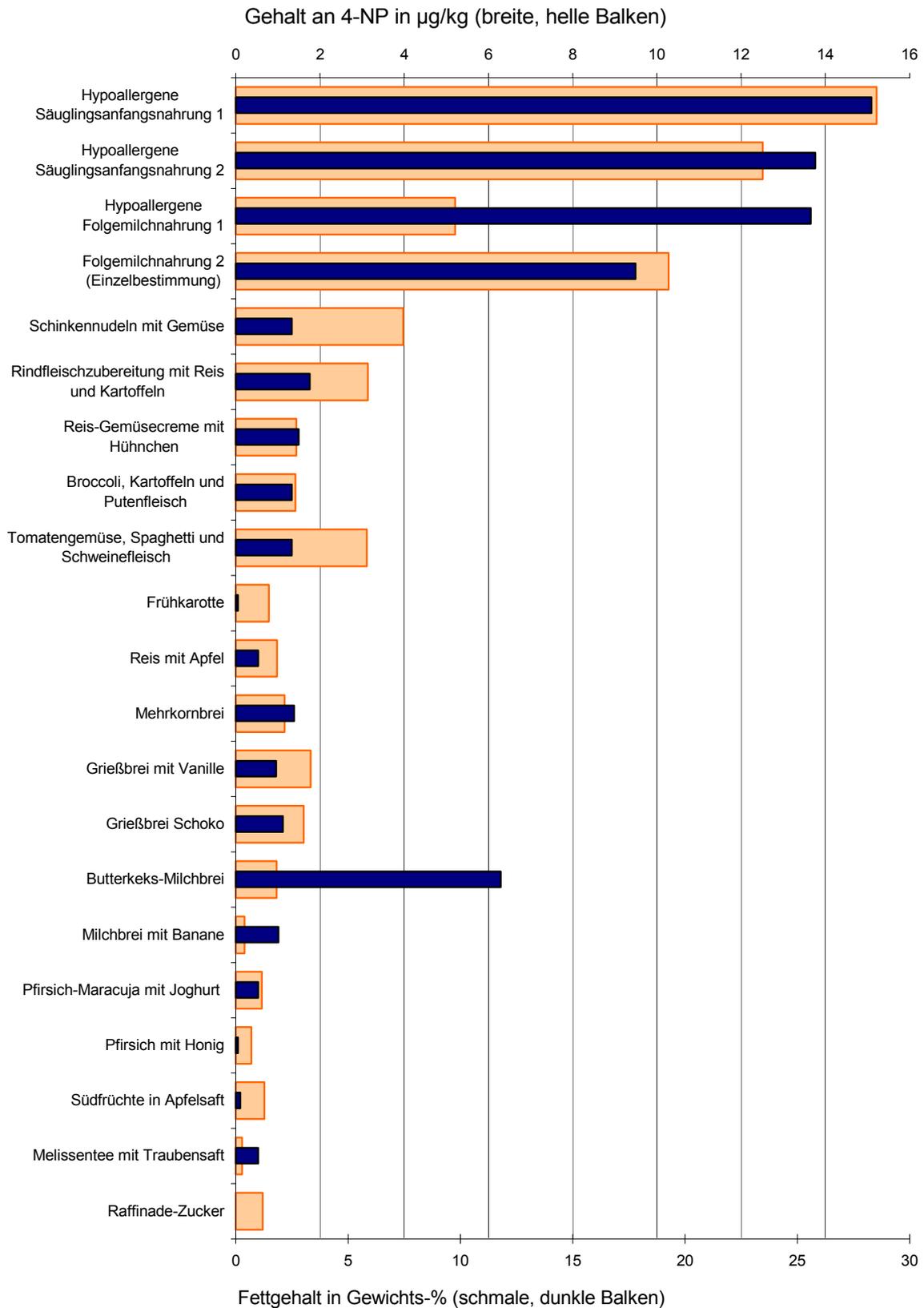


Abbildung 30: Übersicht über 4-NP-Gehalte (breite, helle Balken [$\mu\text{g}/\text{kg}$]) und die jeweiligen Fettgehalte (schmale, dunkle Balken [Gewichts-%]) in Lebensmitteln nach dem Verfahren für 4-NP. Der Fettgehalt war vom Hersteller angegeben oder wurde Souci et al., 1994, entnommen.

In Abbildung 30 ist deutlich zu erkennen, dass fettreiche Proben wie die Säuglingsanfängsnahrung oder die Folgemilchnahrung (Fettanteil von bis zu 30%) mit Abstand am stärksten mit 4-NP belastet sind. Des Weiteren sind Proben mit Fleisch-, Milch- oder Zerealien-Zusatz (Fettanteil ca. 3 %) ebenfalls stärker belastet als andere vegetarische oder wässrige Proben (Fettanteil < 1 %). Diese Tendenz – je höher der Fettanteil im Lebensmittel, desto größer der 4-AP-Gehalt – lässt sich mit dem lipophilen Charakter der 4-AP erklären. Der lipophile Charakter zeigt sich in den log P_{OW} -Werten der 4-AP, der für 4-NP zwischen 3,28 und 4,48 und für 4-tert.-OP bei 3,96 liegt [Rippen, 2003]. Durch diese Ergebnisse wird auch die Vermutung von Heinke, 2000, bestärkt, dass die von ihm ermittelten hohen Gehalte für Äpfel und Tomaten auf die Verwendung von 4-NP- bzw. 4-NPEO-haltigen Pestizidformulierungen zurückzuführen sein können. Im Gegensatz zu den Proben von Heinke, 2000, handelte es sich bei den Proben für die Ernährung von Säuglingen um Lebensmittel, die ausschließlich aus Bio-Zutaten aus dem organisch-biologischen Landbau hergestellt worden waren. Da keine der Proben, die Obst oder Gemüse enthielt, besonders stark belastet war, und der Einsatz von Pestiziden im organisch-biologischen Landbau generell nicht erlaubt ist, kam dieser Eintragungsweg für Säuglingsnahrung nicht in Frage und bestärkt so die Vermutung von Heinke, 2000.

Verhältnisse der 4-AP:

Tabelle 29: Verhältnis der 4-AP nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Probe	Gehalt an 4-NP [µg/kg]	Gehalt an 4-tert.-OP * [ng/kg]	Verhältnis 4-tert.-OP / 4-NP [%]
Hypoallergene Säuglingsanfängsnahrung 2	12,51	625,6	5,0
Broccoli, Kartoffeln und Putenfleisch	1,42	110,5	7,8

* bestimmt über den ISTD 4-n-NP

Beim Vergleich der 4-NP- und 4-tert.-OP-Gehalte in ein und derselben Probe sind die beiden Verhältnisse ziemlich gleich. Aber bei nur zwei vorliegenden Werten kann man an dieser Stelle noch keine Schlüsse ziehen bzw. Trends ableiten (s. Kapitel 3.2.2.).

Isomerenspezifische Auswertung:

Wie beschrieben wurde das 4-NP isomerenspezifisch quantifiziert. Dadurch ließ sich das Isomerenmuster ('fingerprint') von 4-NP in den einzelnen Proben mit dem der 4-NP-Standardlösung des technischen Gemisches von Fluka vergleichen. Es sollte untersucht werden, ob durch die verschiedensten Prozesse beim Abbau der 4-NPEO in der Umwelt und bei ihrem Weg in die Lebensmittel sich das Isomerenmuster des 4-NP verändern konnte. Deswegen überprüfte man, ob sich einzelne Isomere im Vergleich zum technischen 4-NP in den Lebensmittelproben an- oder abgereichert hatten. Dafür wurden die Absolutmassen der blindwertkorrigierten 4-NP-Gehalte der Proben in prozentuale Anteile umgerechnet und anschließend mit der Verteilung der 4-NP-Standardlösung verglichen.

Abbildung 31 zeigt beispielhaft die Isomerenverteilung für die Säuglingsnahrung 'Mehrkornbrei'. Als Fehlerbalken wurde einmal die Standardabweichung jedes einzelnen Isomers einer Doppelbestimmung dargestellt (dicke Fehlerbalken) und zum anderen wurde für technisches

4-NP die Standardabweichung jedes einzelnen Isomers von zwölf Messungen (s. Kapitel 3.1.2. und Tabelle 62: Anhang 7.8.: Bestimmung der Isomerenverteilung von 4-NP) dargestellt. Die anderen Diagramme der restlichen Proben und alle dazugehörigen Tabellen finden sich ab Tabelle 68 in 'Anhang 7.16.: Isomerenverteilung von 4-NP für die Proben nach dem Analyseverfahren für 4-NP im Vergleich zum technischen 4-NP'.

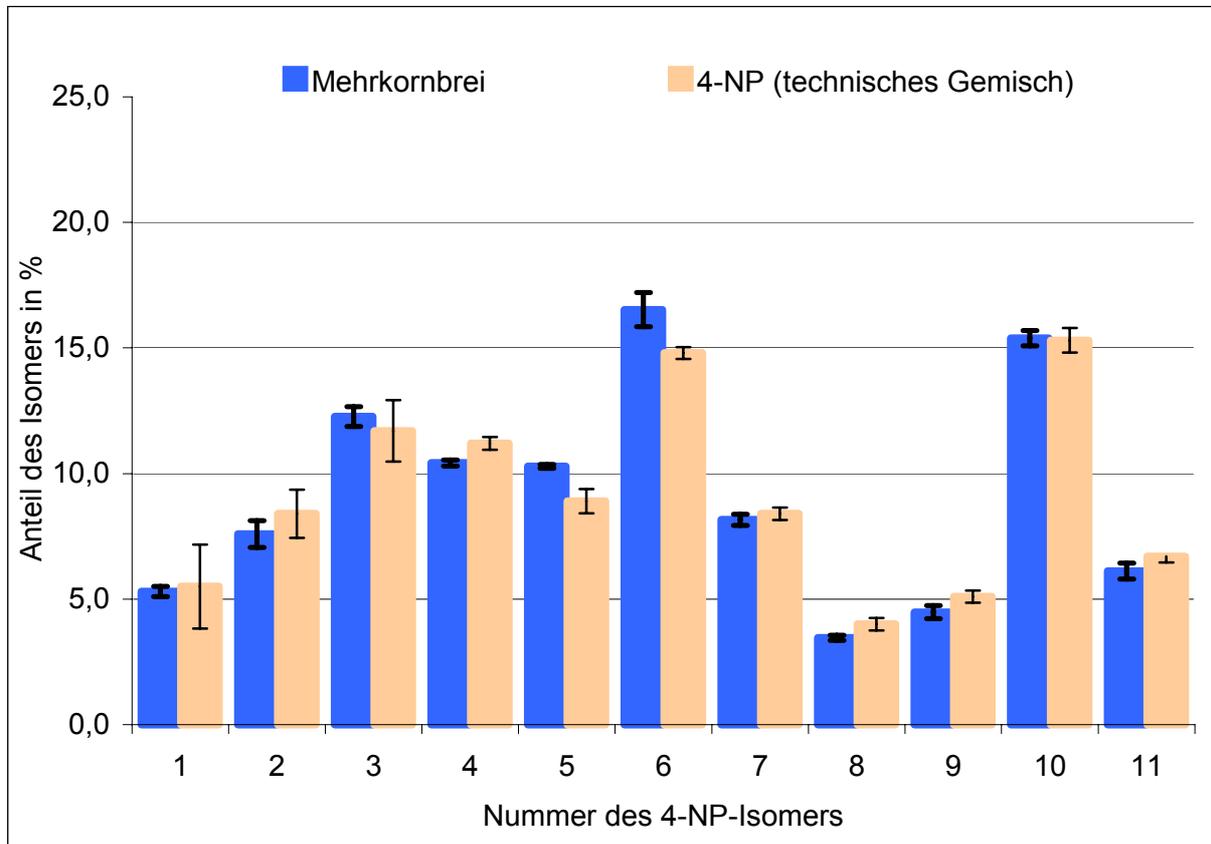


Abbildung 31: Isomerenverteilung für Mehrkornbrot im Vergleich zum technischen 4-NP

Eine komplette Übersicht über alle Proben, die nach dem Analyseverfahren für 4-NP analysiert wurden, gibt Tabelle 30. Dort wurden die Differenzen der prozentualen Verteilungen aller elf Isomere in den Proben (Blindwert korrigiert) minus die in der 4-NP-Standardlösung zusammengefasst. Dabei bedeutete ein negativer Wert, dass der Anteil des entsprechenden Isomers in der Probe kleiner als in der 4-NP-Standardlösung gewesen ist. Umgekehrt bedeutete ein positiver Wert, dass der Anteil des entsprechenden Isomers in der Probe höher als in der 4-NP-Standardlösung gewesen ist. Im Bezug auf die Abbildung 31 kann man anschaulicher folgendes formulieren:

- ein positiver Wert bedeutet, dass die linke, dunkle Säule der Probe höher als die rechte, helle Säule des technischen 4-NP war (z.B.: Isomer Nr. 5)
- ein negativer Wert bedeutet, dass die linke, dunkle Säule der Probe kleiner als die rechte, helle Säule des technischen 4-NP war (z.B.: Isomer Nr. 8)

Des Weiteren wurden in der Tabelle 30 zwei Summen gebildet. Zum einen summierte man die Beträge der oben genannten Differenzen jeder einzelnen Probe über alle Isomere ('Summe über alle Isomere') auf. Durch die Aufsummierung der Beträge konnten Informationen darüber gewonnen werden, ob und wenn ja, welche Lebensmittelprobe/n im Bezug auf

die Verteilung der Isomere besonders von dem technischen 4-NP abwich. Dies lies Rückschlüsse zu, inwieweit sich die Zusammensetzung der Lebensmittel auf Veränderungen im Isomerenmuster auswirkte. Zum anderen bildete man die Summen aller Differenzen eines jeden Isomers über alle Proben ('Summe über alle Proben'). Dadurch sollte überprüft werden, welches Isomer sich im Vergleich zum technischen 4-NP über alle Lebensmittelproben an- oder abgereichert hatte. In der Tabelle wurden die Proben einfach der Reihe nach durchnummeriert, wie sie in Abbildung 30 aufgeführt sind. Somit entspricht z.B. Pr. 12 der Probe 'Mehrkornbrei'.

Tabelle 30: Übersicht über die Differenzen der Verteilungen der einzelnen Isomere zwischen der jeweiligen Probe (Blindwert korrigiert) und dem technischen 4-NP bestimmt nach dem Analysenverfahren für 4-NP. Ein negativer Wert bedeutet, dass der Anteil des Isomers in der Probe kleiner, ein positiver, dass der Anteil in der Probe größer als in dem technischen 4-NP war.

4-NP Peak	Pr. 1	Pr. 2	Pr. 3	Pr. 4	Pr. 5	Pr. 6	Pr. 7	Pr. 8	Pr. 9	Pr. 10	Pr. 11
1	0,0	0,0	0,0	-1,0	0,0	0,2	-0,4	-0,3	0,0	-0,7	-0,9
2	-0,5	0,0	-0,6	-0,7	-0,3	-0,7	-1,4	-0,9	0,1	-0,8	-1,3
3	3,5	2,4	2,8	0,5	1,4	-0,3	0,8	1,0	0,5	0,1	-1,7
4	0,6	1,0	0,8	-0,6	-0,3	-0,2	0,3	-0,5	0,1	-0,5	-0,4
5	0,8	0,2	0,3	-0,6	0,5	0,8	0,4	-1,0	0,8	0,5	0,8
6	0,8	0,0	0,4	0,3	-0,1	0,8	1,7	0,8	0,1	2,3	0,1
7	0,4	-0,6	-0,7	0,4	-0,3	-0,4	0,1	0,2	-0,1	0,0	-0,2
8	-0,8	-1,0	-0,6	-0,7	-0,4	-0,3	-0,5	-0,9	-0,6	-0,3	-0,9
9	-1,5	-1,3	-1,1	-0,4	-0,4	-0,5	-0,7	-0,6	-0,5	-0,5	-0,6
10	-1,8	0,6	-0,4	2,9	0,3	1,0	0,4	2,6	0,5	0,9	5,2
11	-1,5	-1,3	-0,9	0,0	-0,4	-0,5	-0,7	-0,3	-0,8	-0,9	-0,1
Summe über alle Isomere:	12,2	8,6	8,6	8,0	4,5	5,7	7,4	8,9	3,9	7,4	12,1

4-NP Peak	Pr. 12	Pr. 13	Pr. 14	Pr. 15	Pr. 16	Pr. 17	Pr. 18	Pr. 19	Pr. 20	Pr. 21	Summe über alle Proben
1	-0,2	-0,3	0,2	-0,7	-3,7	-0,5	0,5	-1,1	-0,7	0,7	-8,8
2	-0,8	-0,5	-0,5	0,1	-2,1	-1,3	-0,9	0,1	-1,7	-0,6	-15,3
3	0,6	1,5	2,3	1,2	2,9	1,6	1,5	1,2	0,9	4,0	28,6
4	-0,8	-0,5	-1,0	0,9	-4,4	-2,1	-1,1	1,1	-1,0	-0,2	-8,8
5	1,4	0,6	0,6	-1,4	2,8	-0,8	-0,5	3,0	1,6	-0,5	10,2
6	1,7	1,1	1,2	0,3	2,1	1,5	-0,2	1,0	3,2	1,6	20,6
7	-0,2	-0,9	0,9	-0,1	0,6	1,1	-0,6	-2,1	0,2	-1,3	-3,8
8	-0,5	-0,9	-1,0	-1,1	-1,0	-0,8	-1,0	-1,3	-0,7	-0,9	-16,5
9	-0,6	-0,7	-0,9	-1,1	-1,3	-0,9	-1,0	-1,9	-0,9	-1,0	-18,3
10	0,1	1,0	-1,2	2,4	3,6	2,4	4,0	1,7	0,0	-0,3	25,8
11	-0,6	-0,3	-0,7	-0,4	0,6	-0,2	-0,7	-1,6	-1,1	-1,4	-13,6
Summe über alle Isomere:	7,5	8,4	10,4	9,8	25,0	13,2	11,9	16,2	11,9	12,5	-

Der Tabelle ist zu entnehmen, dass es in der Zeile 'Summe über alle Isomere' Unterschiede in den Abweichungen der Proben untereinander gab. Die Werte lagen zwischen 3,9 (Pr. 9:

Tomatengemüse, Spaghetti und Schweinefleisch) und 25 (Pr. 16: Milchbrei Banane). Es stellte sich die Frage, ob in diesen Abweichungen Tendenzen im Bezug auf die Zusammensetzung der Lebensmittel festzustellen waren. Für fetthaltige Lebensmittel konnten keine Tendenzen abgeleitet werden. So hatten die fettreichen Proben (Pr. 1 – 4) und die fettarmen Proben (Pr. 10, 11, 18 - 21) sowohl hohe Abweichungen von über 10, als auch kleine Abweichungen unter 10. Dagegen lagen die Werte für fleischhaltige Proben (Pr. 5 – 9) bei der 'Summe über alle Isomere' alle unter 10. Bei den vegetarischen Proben waren die Verhältnisse mit einer Ausnahme (Pr. 10; Frühkarotte) genau umgekehrt. Hier lagen die Abweichungen alle über 10. Dies kann darauf zurückgeführt werden, dass durch den Metabolismus im tierischen Körper die Isomerenverteilung stärker angeglichen wird, wobei das 4-NP in vegetarischen Proben diesem offensichtlich angleichenden Prozess nicht unterzogen wird. Tendenziell trifft dies auch für milchhaltige Lebensmittel (Pr. 1 – 4, 12 - 13) zu, deren Werte im Durchschnitt unter 10 liegen.

Anhand der Werte für 'Summe über alle Proben' war zu erkennen, dass das Isomer 3 die größten Unterschiede zwischen Probe und 4-NP-Standardlösung aufwies. Es war in jeder Probe (außer in Pr. 6, 11) durchschnittlich ca. 1,5 % mehr vorhanden, als in der 4-NP-Standardlösung (Wert: 28,6). Ähnliches galt für Isomer 10, dessen prozentualer Anteil in den Proben um durchschnittlich 1,2 % größer war als in der 4-NP-Standardlösung (Wert: 25,8). Dagegen war vor allem bei den Isomeren 2, 8 und 9 der prozentuale Anteil in der Probe um ca. 0,8 % kleiner als in der 4-NP-Standardlösung (Werte: -15,3, -16,5 und -18,3). Am ausgeglicheneren war die Isomerenverteilung für das Isomer 7. Es zeigte sich kaum ein Unterschied zwischen der Verteilung in der Probe verglichen mit der in der 4-NP-Standardlösung (Wert: -3,8).

3.2.2. 4-NP- und 4-tert.-OP-Werte nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP wurden nicht nur Lebensmittel-, sondern auch Biofilm- und Flusswasserproben analysiert. Die Biofilm- und Flusswasserproben werden in Kapitel 3.3. abgehandelt, sodass an dieser Stelle zuerst die Auswertung der verschiedenen Lebensmittelproben dargestellt wird. Dabei handelte es sich um zwei Muttermilchproben, dreizehn Proben aus verschiedenen Lebensmittelgruppen für kommerziell-erhältliche Säuglingsnahrungen und elf Proben aus verschiedenen Gruppen für kommerziell-erhältliche Lebensmittel für Kleinkinder, die jeweils auf 4-NP und 4-tert.-OP analysiert wurden (s. Tabelle 89: Anhang 7.17.: Proben nach dem Analysenverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP).

Es wurde jeweils eine Doppelbestimmung (Einwaage 1 und 2) durchgeführt, die jeweils zweimal per HPLC fraktioniert worden waren. Die Berechnungen der einzelnen Gehalte erfolgten nach den unter Kapitel 2.2.10. (Auswertung von Probenmessdaten) aufgeführten Formeln. Hierfür wurden aus den Flächenwerten die Absolutmassen sowohl der Blindwerte als auch der Proben berechnet. Da vor jeder Probenextraktion auch eine Blindwertextraktion durchgeführt wurde, konnten anschließend die Absolutmassen der Blindwerte von denen der Probe subtrahiert werden. Diese Berechnungen wurden für jedes 4-NP-Isomer einzeln durchgeführt und deswegen mussten zum Schluss die Absolutmassen der 4-NP-Isomere aufsummiert werden, um dann bezogen auf die Einwaage in Gehalte pro kg Lebensmittel

umgerechnet werden zu können. Da es sich beim 4-tert.-OP nur um eine Substanz handelte, konnte hierfür direkt über die Einwaage der Gehalt berechnet werden.

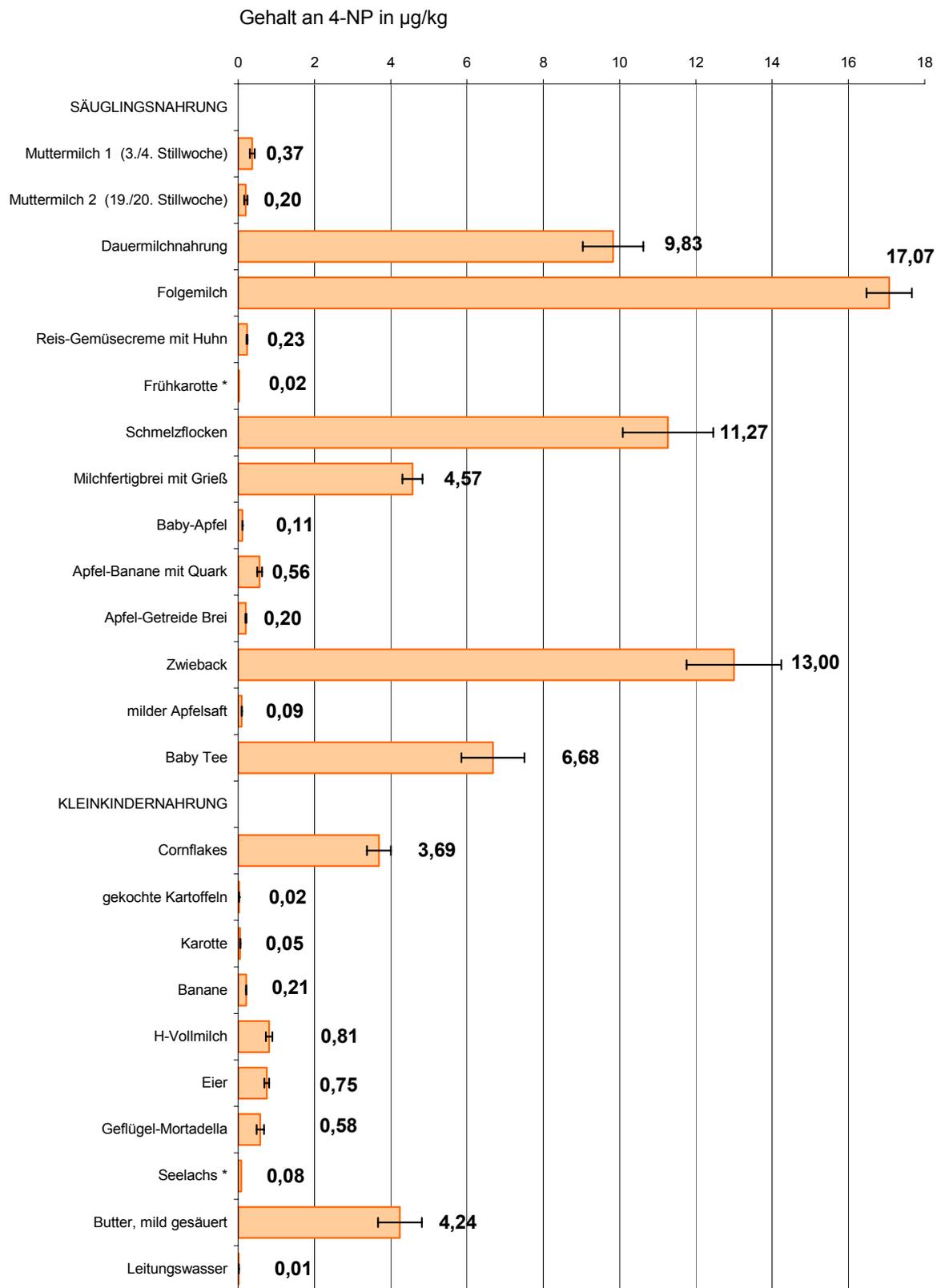


Abbildung 32: Übersicht über 4-NP-Gehalte [µg/kg] in Lebensmitteln nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.OP (Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung als Absolutwert in µg/kg)

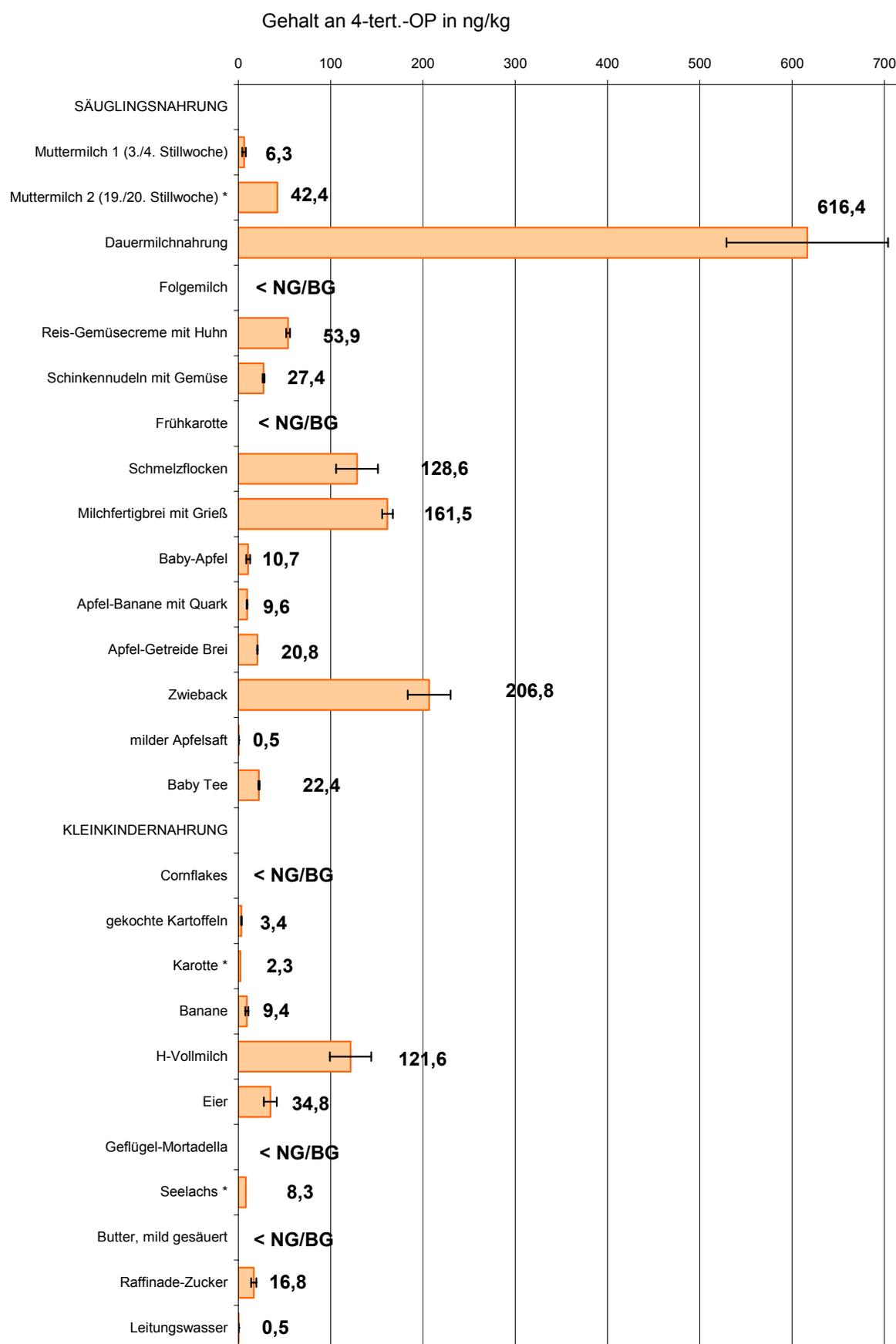


Abbildung 33: Übersicht über 4-tert.-OP-Gehalte [ng/kg] in Lebensmitteln nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.OP (Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung als Absolutwert in ng/kg)

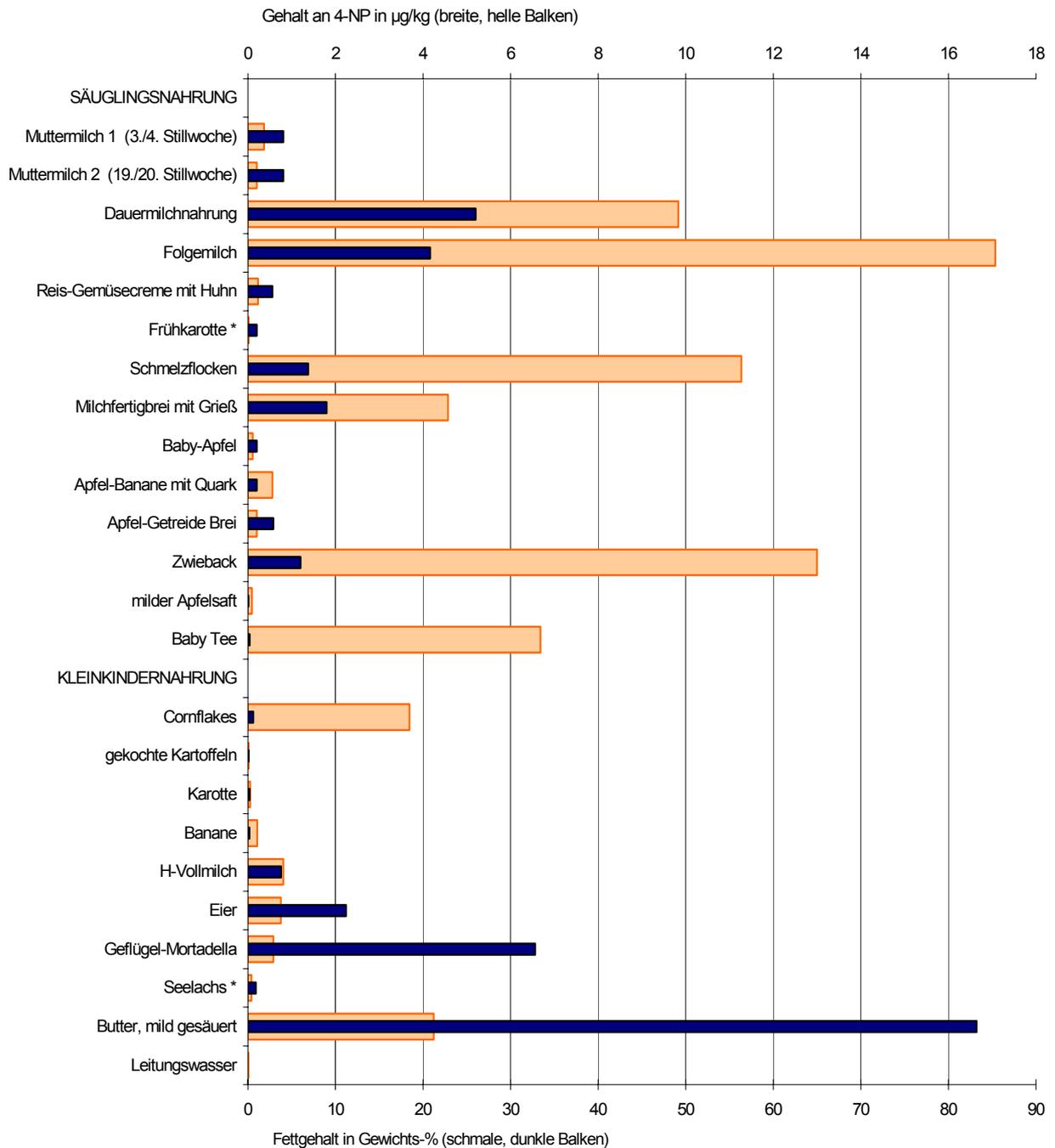


Abbildung 34: Übersicht über 4-NP-Gehalte (breite, helle Balken [µg/kg]) und die jeweiligen Fettgehalte (schmale, dunkle Balken [Gewichts-%]) in Lebensmitteln nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP. Der Fettgehalt war vom Hersteller angegeben oder wurde Souci et al., 1994, entnommen.

Über die so erhaltenen 4-NP-Gehalte bzw. 4-tert.-OP-Gehalte der analysierten Proben gibt Abbildung 32 bzw. Abbildung 33 eine Übersicht (s. auch Tabelle 66: Anhang 7.12.: Übersicht über 4-NP-Mengen in Säuglings- und Kleinkindernahrung nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP' bzw. Tabelle 90: Anhang 7.18.: Übersicht über 4-tert.-OP-Mengen in Säuglings- und Kleinkindernahrung nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP). Dabei handelt es sich um den Mittelwert einer Doppelbestimmung, dessen Standardabweichung als Absolutwert in µg/kg bzw. ng/kg mittels Fehlerbalken dargestellt wurde. Bei Proben, die mit einem Stern '*' gekennzeichnet sind, lag ein Wert der Doppelbestimmung unterhalb der Bestimmungs- (BG) bzw. Nachweisgrenze (NG).

Ein Vergleich der Gehalte an 4-NP und 4-tert.-OP, die nach dem Analyseverfahren für 4-NP ermittelt wurden (s. Kapitel 3.2.1.), mit denen, die nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP bestimmt wurden, zeigt folgendes:

Es stimmten im Bezug auf alle Lebensmittel nicht nur die Größenordnungen im unteren ppb-Bereich für 4-NP und im hohen ppt-Bereich für 4-tert.-OP überein, sondern meistens waren sich auch die Werte für ein vergleichbares Lebensmittel sehr ähnlich. Die proportionale Korrelation zwischen dem 4-NP- bzw. 4-tert.-OP- und dem Fett-Gehalt, die sich in Kapitel 3.2.1. zeigte, war auch bei den Proben der 'SÄUGLINGSNAHRUNG' ganz deutlich zu erkennen. Bei den Proben der 'KLEINKINDERNAHRUNG' ist die Proportionalität zwischen dem 4-AP- und dem Fett-Gehalt nicht so stark gegeben, wie bei der 'SÄUGLINGSNAHRUNG' (s. Abbildung 34 für 4-NP und für 4-tert.-OP Abbildung 139: Anhang 7.28.: Übersicht über 4-tert.-OP-Gehalte (breite, helle Balken [ng/kg]) und die jeweiligen Fettgehalte (schmale, dunkle Balken [Gewichts-%]) in Lebensmitteln nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP).

Tabelle 31: Verhältnisse der 4-AP nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Nr.	Probe	Gehalt an 4-NP [µg/kg]	Gehalt an 4-tert.-OP [ng/kg]	Verhältnis 4-tert.-OP / 4-NP [%]
SÄUGLINGSNAHRUNG:				
1a	Muttermilch 1	0,37	6,3	1,7
1b	Muttermilch 2	0,20	42,4 *	21,2
2	Dauermilchnahrung	9,83	616,4	6,3
3	Folgemilch	17,07	< NG/BG	-
4a	Reis-Gemüsecreme mit Huhn	0,23	53,9	23,4
4b	Schinkennudeln mit Gemüse	3,98	27,4	(0,7)
5	Frühkarotte	0,02 *	< NG/BG	-
6	Schmelzflocken	11,27	128,6	1,1
7	Milchfertigbrei mit Grieß	4,57	161,5	3,5
8	Baby-Apfel	0,11	10,7	9,7
9	Apfel-Banane mit Quark	0,56	9,6	1,7
10	Apfel-Getreide Brei	0,20	20,8	10,4
11	Zwieback	13,00	206,8	1,6
12	Milder Apfelsaft	0,09	0,5	0,6
13	Baby Tee	6,68	22,4	0,3
KLEINKINDERNAHRUNG:				
14	Cornflakes	3,69	< NG/BG	-
15	gekochte Kartoffeln	0,02	3,4	17,0
16	Karotte	0,05	2,3 *	4,6
17	Banane	0,21	9,4	4,5
18	H-Vollmilch	0,81	121,6	15,0
19	Eier	0,75	34,8	4,6
20	Geflügel-Mortadella	0,58	< NG/BG	-
21	Seelachs	0,08 *	8,3 *	10,4
22	Butter, mild gesäuert	4,24	< NG/BG	-
23	Raffinade-Zucker	0,64	16,8	(2,6)
24	Leitungswasser	0,01	0,5	5,0
	Mittelwert	(3,3)	(80,6)	7,0

Farbig hinterlegte Werte der Tabelle 31 wurden nach dem Analyseverfahren für 4-NP analysiert. Deswegen stammen diese 4-NP- und 4-tert.-OP-Werte von zwei verschiedenen Proben. Somit kann auch das berechnete Verhältnis der beiden Analyten nur in Klammern gesetzt werden.

Dies kann, wie bereits in Kapitel 3.2.1. erläutert, mit der Verwendung von 4-NP- bzw. 4-NPEO-haltigen Pestizidformulierungen zusammenhängen, die im Bereich der Säuglingsnahrung nicht verwendet werden dürfen.

Verhältnisse der 4-AP:

Bei Proben, die mit einem Stern '*' gekennzeichnet sind, lag ein Wert der Doppelbestimmung unterhalb der NG bzw. BG. Zur Berechnung der prozentualen Verhältnisse zwischen 4-tert.-OP und 4-NP verwendete man in diesem Fall den anderen Wert zur Berechnung des Verhältnisses.

Wie bereits in Kapitel 1.1.1. erwähnt wurde, werden 4-APEO technisch in einem bestimmten Verhältnis dargestellt. Aufgrund der Literaturangaben war zu vermuten, dass 4-tert.-OP ca. 10 - 20% des 4-NP-Gehaltes in den Lebensmitteln ausmachen würde. Wie der Tabelle 31 zu entnehmen ist, schwankten die Verhältnisse relativ stark. Die Prozentwerte lagen zwischen fast 0 % (allerhöchster Gehalt für 4-NP / <NG/BG für 4-tert.OP) und 23,4 %. Somit liegen die berechneten Verhältnisse im Bereich der in der Literatur angegebenen Verhältnisse für die Darstellung der 4-APEO. Auch der Mittelwert von 7 % lag in der Nähe des vermuteten Wertes für das Verhältnis von 4-tert.-OP zu 4-NP. Trotzdem sind Rückschlüsse vom 4-NP-Gehalt auf den Gehalt an 4-tert.-OP in ein und demselben Lebensmittel aufgrund der relativ großen Schwankungsbreite von 0 - > 20 % sehr gewagt.

Isomerenspezifische Auswertung:

Wie im Analyseverfahren für 4-NP (s. Kapitel 3.2.1.) so wurde auch für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP eine isomerenspezifische Auswertung vorgenommen.

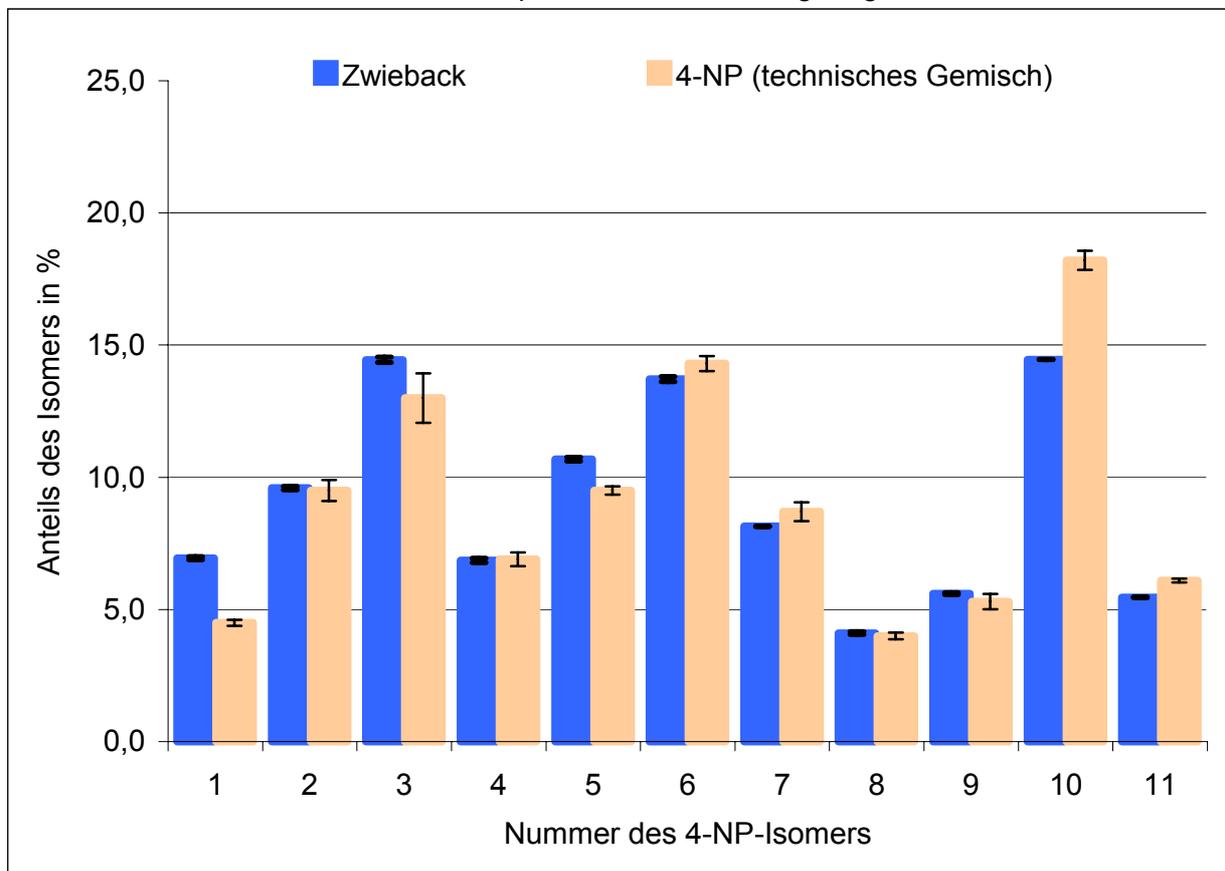


Abbildung 35: Isomerenverteilung für Zwieback im Vergleich zum technischen 4-NP

Abbildung 35 zeigt beispielhaft die Isomerenverteilung für die Säuglingsnahrung 'Zwieback'. Die Berechnung und Darstellung entspricht der in Kapitel 3.2.1. bereits beschriebenen und gezeigten Art und Weise. Weitere Diagramme der restlichen Proben und alle dazugehörigen Tabellen finden sich ab Tabelle 91 in 'Anhang 7.19.: Isomerenverteilung von 4-NP für die Proben nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP im Vergleich zum technischen 4-NP'.

Eine komplette Übersicht über die 4-NP-Isomerenverteilungen aller Lebensmittelproben, die nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP analysiert wurden, gibt Tabelle 32. Die Berechnung und Darstellung erfolgte analog zu Kapitel 3.2.1. Für die folgende Tabelle wurden die Proben einfach der Reihe nach durchnummeriert, wie dies bereits in Tabelle 31 geschehen war. Pr. 11 entspricht z.B. der Probe 'Zwieback'.

Tabelle 32: Übersicht über die Differenzen der Verteilungen der einzelnen Isomere zwischen der jeweiligen Probe (Blindwert korrigiert) und dem technischen 4-NP bestimmt nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP. Ein negativer Wert bedeutet, dass der Anteil des Isomers in der Probe kleiner, ein positiver, dass der Anteil in der Probe größer als in dem technischen 4-NP war.

4-NP Peak	Pr. 1a	Pr. 1b	Pr. 2	Pr. 3	Pr. 4a	Pr. 5	Pr. 6	Pr. 7	Pr. 8	Pr. 9	Pr. 10
1	4,1	4,4	3,8	1,5	1,0	7,9	1,0	-0,2	0,9	0,2	2,0
2	-0,5	-2,3	-1,6	-0,5	-2,0	-16,3	-1,4	0,3	-3,3	-0,5	8,9
3	-3,6	1,1	6,1	-0,5	-2,9	-8,1	0,1	1,1	6,8	-1,8	-1,3
4	8,3	2,3	7,8	4,5	6,4	39,3	4,0	3,4	-3,4	2,9	-0,4
5	2,1	3,7	-1,2	1,6	0,2	2,1	-0,1	0,3	1,9	1,9	-0,9
6	-3,7	-1,8	-2,9	-1,9	-1,5	-10,4	0,4	-1,6	-1,5	-1,5	-1,0
7	-2,6	-2,1	-3,0	-1,8	-3,1	-11,2	-0,6	-1,6	-1,5	-2,0	-1,2
8	-1,5	-0,6	-1,6	-1,3	-1,5	23,1	-0,4	-1,3	-0,5	-1,0	-1,2
9	0,2	-1,5	-1,9	-1,0	0,6	-0,3	-0,6	-0,5	0,6	-0,4	-1,5
10	-1,7	-1,8	-4,2	0,3	3,7	-24,4	-2,6	0,5	-1,0	2,3	-2,0
11	-1,1	-1,6	-1,5	-1,0	-0,9	-1,7	0,2	-0,5	0,9	-0,3	-1,4
Summe über alle Isomere:	29,4	23,2	35,5	16,0	23,9	144,8	11,5	11,4	22,2	14,8	21,8

4-NP Peak	Pr. 11	Pr. 12	Pr. 13	Pr. 14	Pr. 15	Pr. 16	Pr. 17	Pr. 18	Pr. 19	Pr. 20	Pr. 21
1	2,4	-0,1	-1,9	-1,8	12,7	0,2	2,6	1,5	7,0	1,4	7,8
2	0,1	5,0	-0,6	-0,7	-6,9	-0,1	0,8	-1,2	-1,4	0,0	2,7
3	1,4	-3,0	-4,6	-1,6	-8,6	-0,8	1,5	-0,8	-2,1	-4,0	-8,0
4	0,0	-0,2	-2,8	-1,7	39,2	-2,9	-0,9	3,8	10,7	14,0	35,2
5	1,2	0,3	2,1	-0,5	0,5	2,5	1,1	0,2	1,7	-1,1	-5,0
6	-0,6	-4,0	-2,1	-0,7	-4,1	-4,0	0,7	-2,3	-2,0	-2,5	-5,8
7	-0,6	-0,8	-2,5	-1,4	-7,0	-0,6	-0,1	-2,5	-2,2	-4,9	-3,4
8	0,1	-0,7	-1,0	-0,7	-2,7	1,1	-0,4	-1,4	-1,9	-2,0	-3,2
9	0,3	0,1	0,1	1,1	-4,1	-1,8	0,7	-1,3	-1,8	-0,7	-4,2
10	-3,7	2,4	11,3	6,4	-15,1	6,0	-5,7	4,4	-5,5	1,0	-12,1
11	-0,6	0,9	2,0	1,6	-4,0	0,5	-0,2	-0,5	-2,6	-1,1	-4,0
Summe über alle Isomere:	11,2	17,6	30,9	18,1	105,0	20,6	14,8	19,9	38,9	32,8	91,4

Fortsetzung Tabelle 32:

4-NP Peak	Pr. 22	Pr. 23	Summe über alle Proben
1	-1,3	1,7	43,4
2	-2,9	-1,7	-12,2
3	8,9	2,7	-5,7
4	5,6	4,1	104,8
5	-2,1	-1,1	14,3
6	-4,6	2,1	-41,1
7	-4,9	-1,6	-48,6
8	-0,7	-0,9	-22,1
9	-0,8	-1,2	-15,4
10	4,0	-3,2	-4,2
11	-1,2	-0,8	-13,2
Summe über alle Isomere:	37,0	21,0	-
Proben die kleiner als NG/BG waren, sind farbig hinterlegt und wurden nicht in der Summenberechnung berücksichtigt.			

Wenn man die Isomerenverteilungen des 4-NP in den Proben - bestimmt nach dem Analyseverfahren für 4-NP (s. Kapitel 3.2.1.) und dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tet.-OP – miteinander verglich, dann konnte man feststellen, dass sie recht unterschiedlich waren. Zum einen waren die Abweichungen der Proben bestimmt nach dem Analyseverfahren für 4-NP wesentlich geringer (Mittelwert 10,2 zu 26,2) und zum anderen gab es fünf Isomere bei denen nicht einmal das Vorzeichen in der Spalte 'Summe über alle Proben' übereinstimmte. Das bedeutete, dass z.B. das Isomer 6 in den Proben bestimmt nach dem Analyseverfahren für 4-NP um durchschnittlich 1 % mehr und in den Proben bestimmt nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP um durchschnittlich 2 % weniger in den Proben als in der 4-NP-Standardlösung vorhanden war.

Des Weiteren zeigten die Werte 'Summe über alle Isomere' bei den Proben untereinander große Unterschiede. Die aufsummierten Beträge der Differenzen jeder einzelnen Probe über alle Isomere lagen zwischen 11,2 (Pr. 11: Zwieback) und 105,0 (Pr. 15: gekochte Kartoffeln). Wie in Kapitel 3.2.1. stellte sich die Frage, ob es Tendenzen im Vergleich dieser Abweichungen mit der Zusammensetzung der Lebensmittel gab. Im Gegensatz zu Kapitel 3.2.1. konnten für die Proben, die nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tet.-OP analysiert worden waren, keine Tendenzen im Bezug auf den Fettgehalt festgestellt werden. Entsprechend hatten Proben mit einem hohen Fettgehalt, wie z.B. Pr. 3 (Folgemilch) bzw. Pr. 19 (Eier), eine geringe bzw. hohe Abweichung. Für Proben mit einem geringen Fettgehalt gab es ebenfalls Beispiele mit einem kleinen bzw. großen Wert für 'Summe über alle Isomere', wie z.B. Pr. 12 (Milder Apfelsaft) bzw. Pr. 13 (Babytee). Das gleiche galt für Proben unabhängig davon, ob sie mit oder ohne Fleisch (Pr. 4a bzw. Pr. 20) bzw. Milch (Pr. 9 bzw. Pr. 2) hergestellt worden waren.

Anhand der Werte unter 'Summe über alle Proben' war zu erkennen, dass das Isomer 4 die größten Unterschiede zwischen Probe und 4-NP-Standardlösung aufwies. Es war durch-

schnittlich 5 % mehr in den Proben vorhanden als in der 4-NP-Standardlösung (Wert: 104,8), wobei es auch in einigen Proben umgekehrt war. Ähnliches galt für Isomer 1, dessen prozentualer Anteil in allen 21 Proben um durchschnittlich 2% größer war als in der 4-NP-Standardlösung (Wert: 43,4). Dagegen war der prozentuale Anteil der Isomere 6 und 7 in der Probe um ca. 2 % kleiner als in der 4-NP-Standardlösung (Werte: -41,1 und -48,6). Für die Isomere 3 und 10 zeigte sich kaum ein Unterschied zwischen der Verteilung in der Probe verglichen mit der in der 4-NP-Standardlösung (Werte: -5,7 und 4,2).

Obwohl mit beiden Analyseverfahren ähnliche Lebensmittel analysiert worden waren, ließen sich die Tabellen 30 und 32 schwer miteinander vergleichen. Als Begründung kann angeführt werden, dass in den beiden Analyseverfahren zwei unterschiedliche GC-Trennsäulen benutzt worden waren. Die FS-OV-1-CB GC-Trennsäule, die im Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP zum Einsatz gekommen war (helle Linie), hatte die Isomere anders aufgetrennt (s. Abbildung 36). Somit war es sowohl bei der Anzahl als auch bei den Verhältnissen der Peaks zueinander zu Unterschieden gekommen.

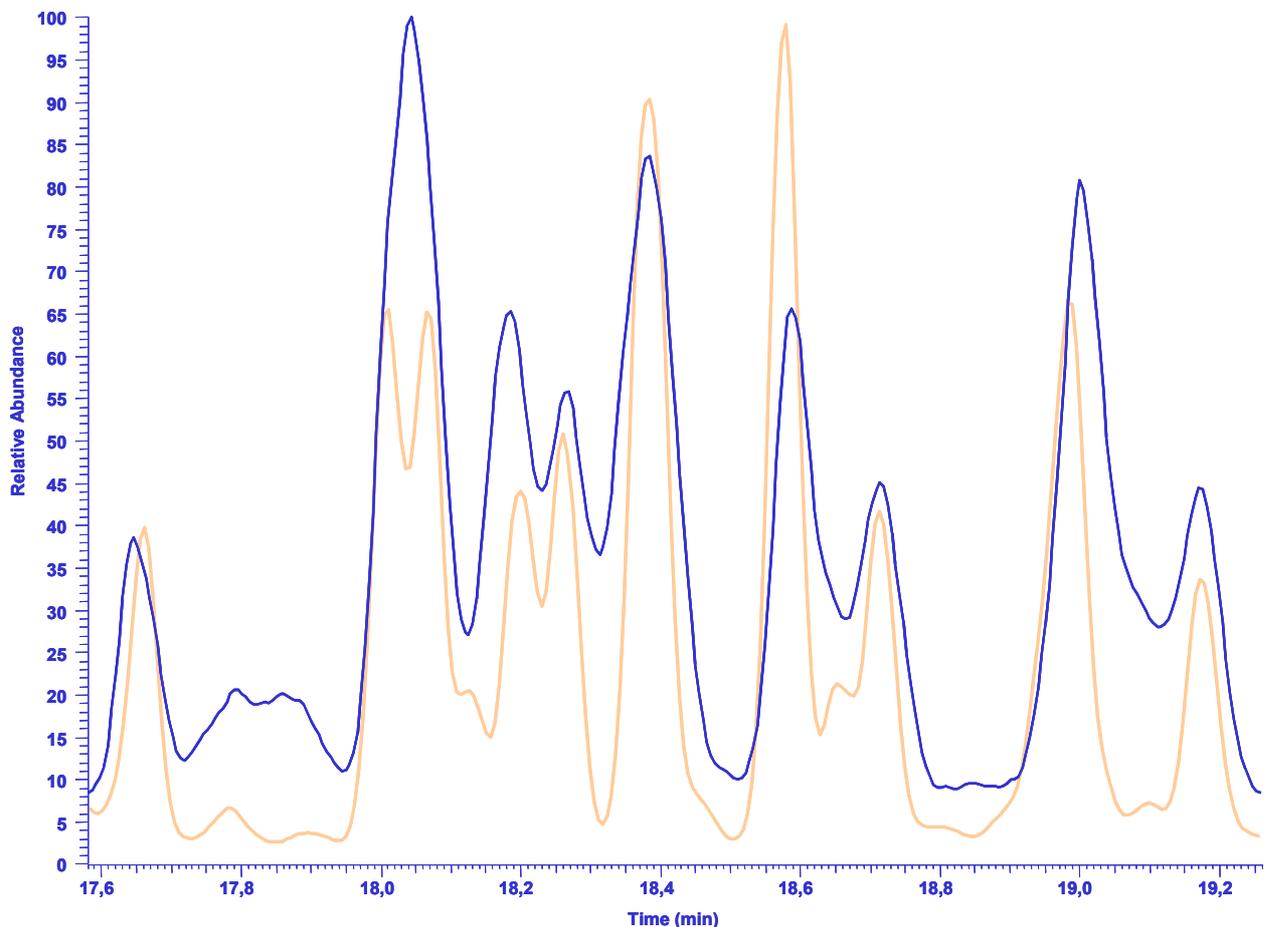


Abbildung 36: Vergleich der Auftrennung der zwei verschiedenen GC-Trennsäulen (dunkle Linie: CP-Sil-8 CB; helle Linie: FS-OV-1-CB) im Totalionenstromchromatogramm

Auch eine Zuordnung von Strukturen zu den einzelnen Isomeren (elf 4-NP-Peaks), die chromatographiert worden waren und deren Tendenzen hier diskutiert wurden, war aufgrund der Auflösung der verwendeten GC-Säulen nicht möglich. Bei den verwendeten Säulen mit

einer Länge von 30 m konnten nur elf Isomere aufgetrennt werden, wobei teilweise erst auf den verschiedenen Ionenspuren (Abbildung 13) eine Quantifizierung, der koeluerenden Isomere möglich war. Thiele et al., im Druck, zeigten, dass auf einer 100m-Säule bei verschiedenen Temperaturen 4-NP in 21 Isomere isokratisch aufgetrennt werden konnten. Dabei wurde die Struktur von zehn 4-NP-Isomeren eindeutig identifiziert.

3.2.3. Abschätzung der täglichen Aufnahmemenge (daily-intake) für 4-NP und 4-tert.-OP

Allgemeines:

Bei der täglichen Aufnahmemenge bzw. dem 'daily-intake' einer Substanz handelt es sich um die Menge, die ein Mensch während eines Tages über die Nahrung im Durchschnitt zu sich nimmt. Dabei werden andere Aufnahmewege (s. Kapitel 1.1.) meistens vernachlässigt. Deswegen waren zur Abschätzung des 'daily-intakes' ausschließlich Lebensmittel für die Säuglings- und Kleinkinderernährung auf 4-NP und 4-tert.OP untersucht worden. Um mit den ermittelten Gehalten den 'daily-intake' abschätzen zu können, musste eine aussagekräftige Studie über die Ernährungs- bzw. Verzehrsgewohnheiten von Säuglingen und Kleinkindern gefunden werden. Eine vergleichbare Studie, wie Heinke, 2000, sie ausgewählt hatte, kam nicht in Frage, da diese Studie Kinder unter vier Jahren nicht berücksichtigt hatte. Des Weiteren ist die Art der Ernährung vor allem von Säuglingen, aber auch von Kleinkindern nicht mit der eines Erwachsenen vergleichbar (s. Kapitel 1.2.). All diese Kriterien werden von der so genannten DONALD-Studie (s. unten) erfüllt, da sie ausschließlich die Ernährungsgewohnheiten von Säuglingen und Kleinkindern in Deutschland berücksichtigt. Durch den Zusatz '...in Deutschland...' lassen sich die Ergebnisse nicht ohne weiteres auf andere Länder übertragen. Stattdessen konnte aber ein genaueres Bild für die Situation in Deutschland gewonnen werden, da nur Lebensmittelproben aus dem deutschen Einzelhandel gekauft und analysiert worden waren.

DONALD-Studie:

Als Datengrundlage diente die so genannte DONALD-Studie des Forschungsinstitutes für Kinderernährung in Dortmund [Kersting et al., 1998 a und b]. Für die Auswertung berücksichtigte man die Verzehrswerte von insgesamt 294 Probanden (141 Jungen und 153 Mädchen) im Alter zwischen drei und 36 Monaten der DONALD-Studie. Dabei schwankte das Alter bei den drei, sechs und neun Monate alten Säuglinge um ± 15 Tage und bei den zwölf, 18, 24 und 36 Monate alten Kleinkindern um \pm einen Monat [Alexy et al., 1998]. Im berücksichtigten Untersuchungszeitraum von 1995 bis 2000 waren über drei Tage lang die Lebensmittel, die der Proband verzehrte, gewogen und protokolliert worden. So entstanden 1159 Drei-Tage-Wiege-Ernährungsprotokolle, deren Verzehrswerte für die 24 verschiedenen Lebensmittel-Kategorien getrennt nach Säuglings- und Kleinkindernahrung zusammengefasst wurden. Dabei handelte es sich bei der Kleinkindernahrung um herkömmliche Lebensmittel, die nach den Lebensmittel-Kategorien der optimierten Mischkost gruppiert worden waren [Alexy et al., 1999].

Die Angabe der Verzehrswerte erfolgte in g/Tag, getrennt nach der Gruppe 'Gesamtkollektiv' und der Gruppe 'Konsumenten'. Dabei wurden für die Gruppe 'Gesamtkollektiv' die individuellen Mittelwerte der Drei-Tage-Wiege-Ernährungsprotokolle genutzt. Für die Gruppe 'Konsumenten' bezog man nur die Tage in die Auswertung mit ein, in denen der Proband das

entsprechende Lebensmittel auch verzehrt hatte. Des Weiteren konnten die Verzehrswerte nach der statistischen Auswertung als Mittelwert \pm die Standardabweichung, als 50. (Median), 90., 95. und 100. (Maximum) Perzentil angegeben werden. Dabei bedeutete der Median, dass 50 % der Probanden weniger und 50 % mehr gegessen hatten. Beim 90. Perzentil (P90) hatten 90% der Probanden weniger und 10 % mehr gegessen. Entsprechendes galt für das 95. Perzentil (P95) und 100. Perzentil (s. ab Tabelle 135: Anhang 7.26.: 'Übersicht über die Verzehrswerte in g/Tag aus der DONALD-Studie nach den Angaben des Forschungsinstitutes für Kinderernährung in Dortmund').

Alle oben genannten Verzehrswerte wurden für Jungen und Mädchen getrennt berechnet und lagen somit für eine geschlechtsspezifische Abschätzung des 'daily-intakes' vor. Dies war gerade im Hinblick auf die estrogene Aktivität der Analyten sinnvoll. Auch das Gewicht der Jungen und Mädchen wurde in der Probandenzeit protokolliert und somit war die Angabe des 'daily-intakes' für die 4-AP nicht nur in g/Tag, sondern auch ganz exakt in g/Tag und kg Körpergewicht möglich (s. Tabelle 159: Anhang 7.27.: Übersicht über die Gewichte der Probanden in kg aus der DONALD-Studie nach den Angaben des Forschungsinstitutes für Kinderernährung in Dortmund').

Um die Aussagekraft der abgeschätzten 'daily-intakes', berechnet nach den Verzehrswerten der Donald-Studie, zu erhöhen, wurden zusätzlich noch die drei am häufigsten verzehrten Lebensmittel angegeben. Diese Angabe erfolgte für die Säuglingsnahrung mit genauem Produkt- und Firmennamen, sodass es möglich war, genau die Säuglingsnahrung zu kaufen, die in dem oben genannten Zeitraum am häufigsten verzehrt worden war. Auch für die Kleinkindernahrung wurden für jede Lebensmittel-Kategorie die drei am häufigsten verzehrten Lebensmittel angegeben, hier jedoch ohne Angabe des Firmennamens. Auf diese Weise konnten die bei Heinke, 2000, noch vorhandenen Unsicherheiten bei der Auswahl eines entsprechenden Lebensmittels für eine bestimmte Lebensmittel-Kategorie vermieden werden. Für jede der 24 Lebensmittel-Kategorien wurde jeweils nur eine Probe analysiert, da das sehr zeitintensive Analyseverfahren keine allzu große Probenzahl zuließ. Dabei handelte es sich immer um das am häufigsten verzehrte Lebensmittel bzw. Produkt.

Berechnung der 'daily-intakes':

In Tabelle 33 sind alle 4-NP- und 4-tert.-OP-Gehalte aufgeführt, die zur Berechnung der jeweiligen 'daily-intakes' verwendet wurden. Dabei wurde der Gehalt von Proben, bei denen beide Werte der Doppelbestimmung unterhalb der BG und/oder NG lagen, gleich 0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bzw. ng/kg gesetzt. Gehalte, bei denen nur ein Wert unterhalb der BG und/oder NG lag, wurden gekennzeichnet und der andere Wert ging mit in die Berechnung ein.

Zur Lebensmittel-Kategorie Tee (Nr.13) ist anzumerken, dass das reine Teepulver (Trockenpulver) analysiert worden war, um mögliche Kontaminationen beim Zubereiten des Tees zu verhindern. Dagegen konnte die Angabe der Verzehrswerte für Tee nur als verzehrfertiger Tee angegeben werden. Deswegen wurde laut Herstellerangaben (2,5 g Trockenpulver in 100 mL Wasser), der Gehalt von $\mu\text{g}/\text{kg}$ bzw. ng/kg Trockenpulver auf $\mu\text{g}/\text{kg}$ bzw. ng/kg verzehrfertiger Tee umgerechnet.

Am Beispiel der Schmelzflocken, deren Verzehrswerte in Tabelle 34 aufgeführt sind, soll die Berechnung der 'daily-intakes' verdeutlicht werden.

Tabelle 33: Übersicht über die bestimmten Gehalte, die zur Berechnung der 'daily-intakes' verwendet wurden

Nr.	Lebensmittel-Kategorie	Probe	Gehalt an 4-NP [µg/kg]	Gehalt an 4-tert.-OP [ng/kg]
SÄUGLINGSNAHRUNG:				
1a	Muttermilch 1	(3./4. Stillwoche)	0,37	6,3
1b	Muttermilch 2	(19./20. Stillwoche)	Wert von Probe 1a verwendet	42,4 *
2	Säuglingsanfangsnahrung	Dauermilchnahrung	9,83	616,4
3	Folgenahrung	Folgemilch	17,07	0
4a	Komplettmenü 1 (ab dem 6. Monat)	Reis-Gemüsecreme mit Huhn	1,44	53,9
4b	Komplettmenü 2 (ab dem 8. Monat)	Schinkennudeln mit Gemüse	3,98	Wert von Probe 4a verwendet
5	vegetarisches Menü	Frühkarotte	0,02 **	0
6	Getreide (milchfrei)	Schmelzflocken	11,27	128,6
7	Milchbrei (verzehrfsfertig)	Milchfertigbrei mit Grieß	4,57	161,5
8	Obstpüree	Baby-Apfel	0,11	10,7
9	Obstpüree und Milcherzeugnis	Apfel-Banane mit Quark	0,56	9,6
10	Getreide-Obst-Brei	Apfel-Getreide Brei	0,20	20,8
11	Gebäck	Zwieback	13,00	206,8
12	Saft	Milder Apfelsaft	0,09	0,5
13	Tee	Baby Tee	6,68 bzw. 0,16	22,4 bzw. 0,6
KLEINKINDERNAHRUNG:				
14	Brot und Getreideflocken	Cornflakes	3,69	0
15	Beilagen	Kartoffeln, gekocht	0,02	3,4
16	Gemüse, einschließlich Saft	Karotte	0,05	2,3 *
17	Obst, einschließlich Saft	Banane	0,21	9,4
18	Milch und Milchprodukte	H-Vollmilch	0,81	121,6
19	Ei und Eiprodukte	Eier	0,75	34,8
20	Fleisch und Wurstwaren	Geflügel-Mortadella	0,58	0
21	Fisch und Fischprodukte	Seelachs	0,08 *	8,3 *
22	Fette und Öle	Butter, mild gesäuert	4,24	0
23	Süßigkeiten und Gebäck	Raffinade-Zucker	0,64	16,8
24	Getränke	Leitungswasser	0,01	0,5
*: Der andere Wert der Doppelbestimmung lag unterhalb der NG und BG.				
**: Der andere Wert der Doppelbestimmung lag unterhalb der BG.				

Tabelle 34: Verzehrswerte von Schmelzflocken in g/Tag aus der DONALD-Studie nach den Angaben des Forschungsinstitutes für Kinderernährung in Dortmund

Gesamtkollektiv												
Alter	Anzahl		Jungen M ± s	P50	P90	P95	P 100	Mädchen M ± s	P50	P90	P95	P 100
	♂	♀										
3 Mon.	50	64	0					0				
6 Mon.	81	94	9,4 ± 4,4	0	29,4	37,2	76,0	4,9 ± 8,3	0	18,2	24,7	32,7
9 Mon.	93	90	19,3 ± 16,5	19,8	40,3	50,8	73,2	17,5 ± 14,8	15,8	39,2	41,7	56,7
12 Mon.	88	94	13,4 ± 14,9	10,6	31,7	47,4	61,0	10,2 ± 1,9	7,0	28,3	33,3	51,7
18 Mon.	87	98	3,2 ± 7,8	0	10,9	27,8	34,6	3,4 ± 7,7	0	12,8	21,0	42,7
24 Mon.	76	90	0,9 ± 4,5	0	0	5,9	34,1	1,1 ± 4,1	0	0,7	10,0	25,7
36 Mon.	75	79	0,5 ± 4,4	0	0	0	38,3	1,6 ± 5,6	0	6,0	13,8	36,7

Konsumenten												
Alter	Anzahl		Jungen M ± s	P50	P90	P95	P 100	Mädchen M ± s	P50	P90	P95	P 100
	♂	♀										
3 Mon.	0	0	0					0				
6 Mon.	33	30	23,0 ± 14,0	20,6	37,7	43,6	76,0	15,3 ± 7,6	15,0	25,8	28,8	32,7
9 Mon.	71	69	25,2 ± 4,3	23,3	42,8	51,5	73,2	22,9 ± 12,8	20,6	40,0	43,9	56,7
12 Mon.	57	56	20,6 ± 13,9	17,7	41,6	55,1	60,8	17,2 ± 10,9	15,8	29,5	42,1	51,7
18 Mon.	20	24	13,8 ± 10,9	9,3	29,9	32,8	34,6	13,9 ± 9,9	11,8	26,2	30,7	42,7
24 Mon.	4	9	16,6 ± 2,2	13,1	34,1	34,1	34,1	11,1 ± 7,8	10,0	25,7	25,7	25,7
36 Mon.	1	8	38,3 ± 0					15,5 ± 9,9	13,1	36,7	36,7	36,7

Diese Verzehrswerte der Schmelzflocken wurden zum einen mit dem entsprechenden 4-NP-Gehalt von 11,27 µg/kg und zum anderen mit dem entsprechenden 4-tert.-OP-Gehalt von 128,6 ng/kg multipliziert. Auf diese Weise erhielt man für 4-NP bzw. 4-tert.-OP 'daily-intakes' in µg/Tag bzw. ng/Tag. Diese waren jeweils aufgeteilt nach Gesamtkollektiv und Konsumenten, nach Jungen und Mädchen, nach Alter des Probanden (drei, sechs, neun, zwölf, 18, 24 und 36 Monate) und nach Mittelwert bzw. Perzentil (P50, P90, P95 und P100). Dies zeigt die Tabelle 35 exemplarisch für 4-NP.

Analog wurde mit jedem analysierten Lebensmittel der 24 Lebensmittel-Kategorien verfahren. Die entsprechenden Verzehrswerte für die anderen Lebensmittel sind ab Tabelle 135 in 'Anhang 7.26.: Übersicht über die Verzehrswerte in g/Tag aus der DONALD-Studie nach den Angaben des Forschungsinstitutes für Kinderernährung in Dortmund' aufgelistet. So erhielt man analog zu Tabelle 35 für jede Lebensmittel-Kategorie 'daily-intakes' für 4-NP und 4-tert.-OP. Dabei achtete man darauf, dass Gehalte von Proben, die laut Herstellerangaben nur ab einem bestimmten Alter verzehrt werden sollten (z.B. Komplettmilch), den nur entsprechenden Verzehrswerten zugeordnet wurden. Diese Einzelwerte fasste man zusammen, um daraus jeweils die Summe über alle Lebensmittel-Kategorien ebenfalls wieder aufgeteilt nach Gesamtkollektiv und Konsumenten, nach Jungen und Mädchen, nach Alter des Probanden (drei, sechs, neun, zwölf, 18, 24 und 36 Monate) und nach Mittelwert bzw. Perzentil (P50, P90, P95 und P100) bilden zu können. Einen Überblick über die so erhaltenen 'daily-intakes' geben die Tabelle 36 (4-NP) und 37 (4-tert.-OP).

Tabelle 35: 'Daily-intakes' für 4-NP von Schmelzflocken in µg/Tag

Gesamtkollektiv												
Alter	Anzahl		Jungen M ± s	P50	P90	P95	P 100	Mädchen M ± s	P50	P90	P95	P 100
	♂	♀										
3 Mon.	50	64	0					0				
6 Mon.	81	94	0,11	0,00	0,33	0,42	0,86	0,06	0,00	0,21	0,28	0,37
9 Mon.	93	90	0,22	0,22	0,45	0,57	0,82	0,20	0,18	0,44	0,47	0,64
12 Mon.	88	94	0,15	0,12	0,36	0,53	0,69	0,11	0,08	0,32	0,38	0,58
18 Mon.	87	98	0,04	0,00	0,12	0,31	0,39	0,04	0,00	0,14	0,24	0,48
24 Mon.	76	90	0,01	0,00	0,00	0,07	0,38	0,01	0,00	0,01	0,11	0,29
36 Mon.	75	79	0,01	0,00	0,00	0,00	0,43	0,02	0,00	0,07	0,16	0,41

Konsumenten												
Alter	Anzahl		Jungen M ± s	P50	P90	P95	P 100	Mädchen M ± s	P50	P90	P95	P 100
	♂	♀										
3 Mon.	0	0	0					0				
6 Mon.	33	30	0,26	0,23	0,42	0,49	0,86	0,17	0,17	0,29	0,32	0,37
9 Mon.	71	69	0,28	0,26	0,48	0,58	0,82	0,26	0,23	0,45	0,49	0,64
12 Mon.	57	56	0,23	0,20	0,47	0,62	0,69	0,19	0,18	0,33	0,47	0,58
18 Mon.	20	24	0,16	0,10	0,34	0,37	0,39	0,16	0,13	0,30	0,35	0,48
24 Mon.	4	9	0,19	0,15	0,38	0,38	0,38	0,13	0,11	0,29	0,29	0,29
36 Mon.	1	8	0,43					0,17	0,15	0,41	0,41	0,41

Die Werte der Tabelle 36 zbd 37 zeigen, dass in den allermeisten Fällen die Jungen mehr 4-AP über die Nahrung aufnahmen, da die Verzehrsmengen auch dementsprechend größer waren. Aus toxikologischer Sicht ist dies nicht unerheblich, da aufgrund der niedrigeren 17β-Estradiol-Konzentration im Blut von Jungen [Cutler et al., 1997; Andersson, 1999] estrogenaktive Substanzen einen höheren Einfluss auf das Hormonsystem haben können. An den hervorgehobenen Werten (fett und kursive Schreibweise) erkennt man, dass die maximalen 'daily-intakes' für 4-NP bei den Altersstufen sechs bis zwölf Monate und für 4-tert.-OP bei den Altersstufen sechs bis 18 Monate zu finden waren.

Tabelle 36: Übersicht über die berechneten 'daily-intakes' für 4-NP in µg/Tag

Alter	Mittelwert x				Median (P50)				90. Perzentil (P90)			
	Gesamtkollektiv		Konsumenten		Gesamtkollektiv		Konsumenten		Gesamtkollektiv		Konsumenten	
	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen
3 Monate	0,67	0,43	1,61	1,10	0,25	0,25	1,47	1,21	1,68	1,36	1,77	1,55
6 Monate	0,96	0,67	3,31	2,92	0,08	0,17	3,41	2,79	3,39	2,37	5,43	5,36
9 Monate	1,47	1,37	3,27	3,36	0,77	0,57	2,92	3,10	4,05	3,94	5,72	5,40
12 Monate	1,36	1,19	3,48	3,26	0,65	0,51	3,08	3,00	3,89	3,36	6,14	5,42
18 Monate	0,88	0,80	2,87	2,49	0,55	0,52	2,43	2,22	2,19	1,57	4,57	3,92
24 Monate	0,70	0,66	1,47	2,61	0,57	0,53	1,50	1,51	1,41	1,49	2,52	2,86
36 Monate	0,74	0,66	1,92	1,67	0,66	0,53	1,35	1,44	1,22	1,12	2,19	3,03

Alter	95. Perzentil (P95)				100. Perzentil (P100)			
	Gesamtkollektiv		Konsumenten		Gesamtkollektiv		Konsumenten	
	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen
3 Monate	1,80	1,44	1,86	1,63	2,27	1,72	1,93	1,71
6 Monate	4,41	3,84	5,84	5,70	7,48	6,04	7,41	6,00
9 Monate	5,14	4,97	6,77	5,79	8,12	6,80	8,12	6,80
12 Monate	5,05	4,86	7,54	5,92	8,51	6,68	8,51	6,61
18 Monate	3,02	2,12	5,05	4,01	5,66	4,79	5,56	4,74
24 Monate	1,97	1,90	3,90	3,09	4,39	4,66	4,10	3,62
36 Monate	1,49	1,59	3,08	2,65	3,17	4,26	2,61	4,21

Tabelle 37: Übersicht über die berechneten 'daily-intakes' für 4-tert.-OP in ng/Tag

Alter	Mittelwert x				Median (P50)				90. Perzentil (P90)			
	Gesamtkollektiv		Konsumenten		Gesamtkollektiv		Konsumenten		Gesamtkollektiv		Konsumenten	
	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen
3 Monate	32,0	17,3	67,0	56,1	4,2	4,2	78,5	63,7	88,4	70,4	93,4	82,7
6 Monate	42,0	32,0	124,3	97,2	7,2	19,0	125,4	96,3	141,8	96,9	197,0	173,3
9 Monate	37,1	34,3	90,5	95,4	16,0	9,7	81,3	91,7	111,8	107,8	170,7	167,1
12 Monate	41,6	38,3	103,8	99,6	26,9	23,9	91,3	90,3	107,6	98,6	192,4	176,3
18 Monate	45,8	45,7	103,0	82,9	39,6	42,1	85,7	79,9	82,8	77,3	153,8	122,5
24 Monate	39,7	39,8	63,5	66,1	38,3	35,5	46,4	59,0	72,8	70,9	81,5	114,6
36 Monate	42,7	40,6	66,5	53,1	38,5	33,1	56,2	39,3	79,4	72,8	101,0	91,6

Alter	95. Perzentil (P95)				100. Perzentil (P100)			
	Gesamtkollektiv		Konsumenten		Gesamtkollektiv		Konsumenten	
	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen
3 Monate	93,8	75,3	97,5	87,1	101,3	88,5	101,3	88,5
6 Monate	169,3	143,2	208,7	195,7	257,1	209,6	257,1	207,8
9 Monate	145,5	150,5	194,9	181,5	234,1	210,7	234,0	210,7
12 Monate	147,2	150,6	226,4	191,8	251,4	215,5	251,4	215,2
18 Monate	100,0	96,5	163,7	135,6	206,4	163,2	198,8	162,4
24 Monate	82,3	98,3	96,9	134,9	129,4	176,1	113,4	174,3
36 Monate	98,2	89,5	120,0	105,1	135,5	203,3	135,6	203,3

Aus dieser Vielzahl an 'daily-intakes' wurden entsprechend EC, 2001b, zwei Werte, ein Minimalwert für einen Durchschnittsverzehrer und ein Maximalwert für einen Hochverzehrer ausgewählt. Als Minimalwert wurde der Median (P50) der Gruppe 'Gesamtkollektiv' und als Maximalwert das 95. Perzentil (P95) der Gruppe 'Konsumenten' herausgenommen. Somit ergaben sich folgende 'daily-intakes' für die einzelnen Altersstufen, getrennt nach Analyt und Geschlecht (Tabelle 38 und 39).

Die ausgewählten Minimal- und Maximalwerte unterschieden sich gewaltig. Bei 4-NP lag der Faktor 10 dazwischen, bei 4-tert.-OP der Faktor 5. In den Tabellen 38 und 39 erkennt man, dass für 4-NP die maximalen Werte bei den Alterstufen neun und zwölf Monate und für 4-tert.-OP wiederum bei sechs bis 18 Monate zu finden waren. Dies machte einmal mehr deutlich, wie wichtig zum einen die gleichzeitige Bestimmung von 4-NP und 4-tert.-OP und zum anderen eine für Säuglinge und Kleinkinder spezifische Ernährungsstudie war.

Wenn man für die 'daily-intakes', ähnlich wie bei den 4-AP-Gehalten (s. Kapitel 3.2.2.), die prozentualen Verhältnisse von 4-tert.-OP zu 4-NP bildete, erhielt man Tabelle 40.

Tabelle 38: Übersicht über die ausgewählten 'daily-intakes' für 4-NP in µg/Tag [in Fett- und Kursiv-Schrift die maximalen Werte]

Alter	Minimalwert		Maximalwert	
	Median (P50) Gesamtkollektiv [µg 4-NP/Tag]		95. Perzentil (P95) Konsumenten [µg 4-NP/Tag]	
	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen
3 Monate	0,25	0,25	1,86	1,63
6 Monate	0,08	0,17	5,84	5,70
9 Monate	0,77	0,57	6,77	5,79
12 Monate	0,65	0,51	7,54	5,92
18 Monate	0,55	0,52	5,05	4,01
24 Monate	0,57	0,53	3,90	3,09
36 Monate	0,66	0,53	3,08	2,65

Tabelle 39 Übersicht über die ausgewählten 'daily-intakes' für 4-tert.-OP in ng/Tag [in Fett- und Kursiv-Schrift die maximalen Werte]

Alter	Minimalwert Median (P50) Gesamtkollektiv [ng 4-tert.-OP/Tag]		Maximalwert 95. Perzentil (P95) Konsumenten [ng 4-tert.-OP/Tag]	
	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen
3 Monate	4,2	4,2	97,5	87,1
6 Monate	7,2	19,0	208,7	195,7
9 Monate	16,0	9,7	194,9	181,5
12 Monate	26,9	23,9	226,4	191,8
18 Monate	39,6	42,1	163,7	135,6
24 Monate	38,3	35,5	96,9	134,9
36 Monate	38,5	33,1	120,0	105,1

Tabelle 40 Übersicht über die prozentualen Verhältnisse von 4-tert.-OP zu 4-NP für die ausgewählten 'daily-intakes' [in Fett- und Kursiv-Schrift die maximalen Werte]

Alter	Minimalwert Verhältnis 4-tert.-OP / 4-NP [%]		Maximalwert Verhältnis 4-tert.-OP / 4-NP [%]	
	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen
3 Monate	1,7	1,7	5,2	5,3
6 Monate	9,0	11,2	3,6	3,4
9 Monate	2,1	1,7	2,9	3,1
12 Monate	4,1	4,7	3,0	3,2
18 Monate	7,2	8,1	3,2	3,4
24 Monate	6,7	6,7	2,5	4,4
36 Monate	5,8	6,2	3,9	4,0
Mittelwert	5,2	5,8	3,5	3,8

Es war zu erkennen, dass die 4-tert.-OP-Werte beim Minimalwert im Durchschnitt ca. 5,5 % und beim Maximalwert im Durchschnitt ca. 4 % vom 4-NP-Wert betragen. Damit lagen sie noch niedriger als das durchschnittliche Verhältnis für alle untersuchten 4-AP-Gehalte (7 %). Dies deutete darauf hin, dass die analysierten Lebensmittel im Verhältnis stärker mit 4-NP belastet waren.

Wie bereits erwähnt, wurde auch das Gewicht aufgeteilt nach Jungen und Mädchen, nach Alter des Probanden (drei, sechs, neun, zwölf, 18, 24 und 36 Monate) und nach Mittelwert bzw. Perzentil (P50, P90, P95 und P100) innerhalb der DONALD-Studie festgehalten (s. Tabelle 159: Anhang 7.27.: Übersicht über die Gewichte der Probanden in kg aus der DONALD-Studie nach den Angaben des Forschungsinstitutes für Kinderernährung in Dortmund). Daraus ließ sich exakt der 'daily-intake' bezogen auf das Körpergewicht in µg bzw. ng/Tag·kg Körpergewicht berechnen. Somit ergaben sich für die einzelnen Altersstufen, getrennt nach Analyt und Geschlecht, folgende 'daily-intakes' für 4-NP (Tabelle 41) und für 4-tert.-OP (Tabelle 42) bezogen auf das Körpergewicht.

Im Vergleich zu Tabelle 38 und 39 hatten sich zwei der acht maximalen Werte geändert. Sowohl der Maximalwert für 4-NP bei den Mädchen, als auch der Maximalwert für 4-tert.-OP

bei den Jungen hatte sich von der Alterstufe zwölf Monate zur Alterstufe sechs Monate verschoben. Daraus ließ sich schließen, dass vor allem bei Säuglingen und Kleinkindern das durchschnittliche Gewicht einer Alterstufe eine entscheidende Rolle für die maximalen Werte bei den 'daily-intakes' haben kann.

Tabelle 41: Übersicht über die ausgewählten 'daily-intakes' bezogen auf das Körpergewicht für 4-NP in µg/Tag·kg Körpergewicht [in Fett- und Kursiv-Schrift die maximalen Werte]

Alter	Minimalwert		Maximalwert	
	Median (P50) Gesamtkollektiv [µg 4-NP/Tag·kg Körpergewicht]		95. Perzentil (P95) Konsumenten [µg 4-NP/Tag·kg Körpergewicht]	
	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen
3 Monate	0,04	0,04	0,23	0,23
6 Monate	0,01	0,02	0,60	0,66
9 Monate	0,08	0,07	0,62	0,59
12 Monate	0,07	0,05	0,63	0,54
18 Monate	0,05	0,05	0,37	0,31
24 Monate	0,04	0,04	0,26	0,22
36 Monate	0,04	0,04	0,16	0,15

Tabelle 42: Übersicht über die ausgewählten 'daily-intakes' bezogen auf das Körpergewicht für 4-tert.-OP in ng/Tag·kg Körpergewicht [in Fett- und Kursiv-Schrift die maximalen Werte]

Alter	Minimalwert		Maximalwert	
	Median (P50) Gesamtkollektiv [ng 4-tert.-OP/Tag·kg Körpergewicht]		95. Perzentil (P95) Konsumenten [ng 4-tert.-OP/Tag·kg Körpergewicht]	
	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen
3 Monate	0,6	0,7	11,9	12,4
6 Monate	0,9	2,6	21,3	22,5
9 Monate	1,8	1,2	17,7	18,5
12 Monate	2,7	2,6	19,0	17,4
18 Monate	3,4	3,9	11,9	10,4
24 Monate	3,0	3,0	6,4	9,4
36 Monate	2,5	2,3	6,1	6,1

Es bleibt festzuhalten, dass diese berechneten und nach EC, 2001b, ausgewählten Minimal- und Maximalwerte nur eine Abschätzung des tatsächlichen 'daily-intakes' für 4-NP und 4-tert.-OP über die Nahrung darstellen. Es konnte aufgrund der zeitintensiven Analytik immer nur eine Probe aus jeder Lebensmittel-Kategorie untersucht werden, so dass über eine durchschnittliche Belastung eines Lebensmittels bzw. einer Lebensmittel-Kategorie keine Aussage getroffen werden konnte.

3.2.4. Interpretation der 4-NP- und 4-tert.-OP-Ergebnisse für Säuglings- und Kleinkindernahrung

Aus Tabelle 31 ist ersichtlich, dass 4-NP in allen Säuglings- und Kleinkindernahrungen nachgewiesen wurde. Dagegen konnte 4-tert.-OP in fünf Lebensmittel-Kategorien (Nr. 3, 5, 14, 20 und 22) nicht nachgewiesen werden. Durch die höheren Gehalte und die größere

Häufigkeit wird bestätigt, dass 4-NP als der wichtigere Lebensmittelkontaminant im Vergleich zu 4-tert.-OP anzusehen ist.

Säuglings- und Kleinkindernahrung wird nach den Vorschriften für den kontrolliert ökologischen Landbau erzeugt. Dadurch ist der Einsatz von Pflanzenschutzmitteln für Rohstoffe, die für Säuglings- und Kleinkindernahrung verwendet werden, verboten. Des Weiteren ist der Tabelle 31 ist zu entnehmen, dass Säuglings- und Kleinkindernahrung (Nr. 1 - 13) häufiger und ein wenig stärker mit 4-AP belastet sind als die Kleinkindernahrung (Nr. 14 - 24). Es muss demnach auch andere, nicht unbedeutende Kontaminationswege geben, über die die 4-AP in die Lebensmittel gelangen.

Um die in Kapitel 3.2.2., Tabelle 31, aufgeführten 4-NP-Werte mit dem von Heinke, 2000, ermittelten 'daily-intake' für einen Erwachsenen vergleichen zu können, wurde entsprechend EC, 2001b, für einen Erwachsenen ein Gewicht von 60 kg angenommen. Bei einem von Heinke, 2000, abgeschätzten 'daily-intake' von 6,9 µg 4-NP/Tag ergibt dies einen 'daily-intake' bezogen auf das Körpergewicht von 0,10 (Mädchen) bzw. 0,11 (Junge) µg 4-NP/Tag·kg Körpergewicht. Damit liegen diese Werte nur geringfügig über den Minimalwerten (Median, P50) für neun und zwölf Monate alte Säuglinge (0,07 (Mädchen) bzw. 0,08 (Junge) µg 4-NP/Tag·kg Körpergewicht). Wenn man anstelle des Medians (P50) den Mittelwert \bar{x} mit dem von Heinke, 2000, abgeschätzten Wert vergleicht, so liegen in diesem Fall die Werte für neun und zwölf Monate alte Säuglinge (0,13 (Mädchen) bzw. 0,16 (Junge) µg 4-NP/Tag·kg Körpergewicht) darüber (s. Tabelle 115 und 116 in Anhang 7.20.: Übersicht über die daily-intakes von 4-NP bzw. 4-tert.-OP für Säuglinge und Kleinkinder bezogen auf das Körpergewicht). Ein Vergleich mit den Maximalwerten für Hochverzehrer (95. Perzentil, P95 - liegen ca. um den Faktor sechs höher) ist nicht sinnvoll. Heinke, 2000, hatte nämlich zur Berechnung des 'daily-intakes' die Verbundstudie „Ernährungserhebung und Risikofaktoren Analytik“ [Kübler et al., 1995] herangezogen, in der die durchschnittliche Zusammensetzung der täglichen Nahrung aufgeführt worden war.

Unter Kapitel 1.2. wurde erläutert, dass Säuglinge und Kleinkinder empfindlicher auf hormonelle Wirkungen von Umweltchemikalien reagieren können, als Erwachsene. Wenn man in Betracht zieht, dass die abgeschätzten 'daily-intakes' bezogen auf kg Körpergewicht ähnlich hohe Werte liefern, wie für einen Erwachsenen, dann muss für Säuglinge ein wesentlich höheres Gefährdungspotential angenommen werden. Weiterhin wurde im Kapitel 1.2. aufgezeigt, dass Säuglinge und Kleinkinder auch aufgrund anderer Verhaltensweisen nicht als „kleine Erwachsene“ angesehen werden können. Deshalb ist eine Aufnahme von Abbauprodukten der 4-APEO über den perkutanen und inhalativen Weg für Säuglinge und Kleinkinder wahrscheinlicher und vergrößert das Gefährdungspotential zusätzlich.

Ein Vergleich des 'daily-intakes' für 4-tert.-OP zwischen Erwachsenen und Säuglingen bzw. Kleinkindern ist nicht möglich, da Heinke, 2000, kein 4-tert.-OP untersucht hatte.

Die Konzentrationen von Phytoestrogenen liegen in einigen Lebensmitteln, wie z.B. Sojaerzeugnissen, Getreide oder Leinsamen, höher als die von Xenoestrogenen. Für Genistein, Daidzein und andere Isoflavone wurde insgesamt ein 'daily-intake' von 4,5 – 8 mg/Tag·kg Körpergewicht für Säuglinge errechnet, die sich ausschließlich mit auf Soja basierender Säuglingsnahrung ernähren [Bolt et al., 2001]. Aufgrund der ähnlich hohen, estrogenen Akti-

vität von 4-NP und Genistein [Payne et al., 2000 & Routledge et al., 1996] wird Genistein in Zusammenhang mit den unterschiedlich hohen 'daily-intakes' (Faktor > 1.000) als wesentlich risikoreicher angesehen. Dabei beschränken sich die Gehalte an Phytoestrogenen auf einige wenige Pflanzen, wovon die meisten, außer Getreide und Bier, als Nahrungsmittel in Europa kaum eine Rolle spielen. Dahingegen gibt es große Unterschiede in der estrogenen Aktivität der 4-NP-Isomere, die von der Struktur der Alkylkette abhängig ist [Günther, 2002b]. Somit kann es abhängig vom Gehalt zu einer höheren Aktivität von 4-NP im Vergleich zu Genistein kommen. In der Alkylkette sind theoretisch bis zu drei chirale C-Atome möglich, so dass auch Stereoisomere eine Rolle spielen könnten. Dementsprechend fanden Karlsson et al., 2000, heraus, dass das Enantiomeren-Verhältnis von Chlordan-Kongoneren geschlechtsspezifisch in Kabeljau (*Gadus morhua*) akkumuliert wird. Wong et al., 2002, stellten eine Änderung des Racemates für Chlorbiphenyl 136 und trans-Chlordan CB 136 nach Abbau durch Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) fest.

Andererseits nimmt man auch natürliche Estrogene sowohl über die tierische als auch die pflanzliche Nahrung auf. Nach Fritsche et al., 1999, nimmt ein Erwachsener etwa 0,17 µg Progesteron/Tag·kg Körpergewicht und etwa 0,002 µg 17β-Estradiol/Tag·kg Körpergewicht zu sich. Dabei liegt die estrogenen Aktivität dieser natürlichen Estrogene um einige Zehnerpotenzen höher als für alle Phyto-, Myko- oder Xenoestrogene.

Tabelle 43: Gehalte von anderen, teilweise estrogenen Substanzen in Human-Proben

Gehalt [µg/kg bzw. µg/L]	Probenart	Herkunft der Werte	Literaturstelle
4-NP: < NG (7-13) 4-tert.-OP: 9,1 – 474 Gesamt-DDT: 0,3 – 14,6 PCB: 0 – 4,7	Gebärmutterschleimhaut (Endometrium)	Deutschland	Schäfer et al., 1997
4-NP: < NG (7-13) 4-tert.-OP: 4,2 – 133 Gesamt-DDT: 109 - 3233 PCB: 0,1 - 492	Bauchfett von Frauen		
Σ-PCB: 1,22 HCB: 0,53	Nabelschnurproben	Deutschland	Lackmann et al., 2001
Σ-PCB: 1,01 Σ-PCB: 0,92 Σ-PCB: 0,66	Blutplasma von Kindern < 6 Jahre zw. 6 – 12 Jahre zw. 12 – 18 Jahre	Deutschland	Heudorf, 2001
PCB: polychlorierte Biphenyle Σ-PCB: Summe der PCB HCB: Hexachlorbenzol DDT: Dichlordiphenyltrichlorethan			

Zusätzlich gibt es weitere Abbauprodukte der 4-APEO, wie z.B. 4-AP1EO, 4-AP2EO und 4-APEC, die alle weniger estrogen-aktiv sind als 4-NP. Deren Gehalte sind wie die von 4-tert.-OP nicht vorhersagbar und deswegen ist eine Abschätzung der 'daily-intakes' und damit eine Risikoabschätzung nicht möglich. Es ist aber wahrscheinlich, dass sich die estrogenen Effekte der Hauptabbauprodukte, 4-NP und 4-tert.-OP, mit denen der restlichen Abbauprodukte addieren bzw. sich synergistische, estrogenen Effekte ergeben (s. Kapitel 1.1.). Solche additiven bzw. synergistischen Effekte sind auch für andere Xenoestrogene möglich, deren Kon-

zentrationen in Human-Proben sowohl kleiner als auch größer sein können, wenn man sie mit denen von 4-NP vergleicht (s. Tabelle 43). Außerdem geht aus Tabelle 43 hervor, dass 4-tert.-OP in zwei verschiedenen Arten von Human-Proben in relativ hohen Konzentrationen gefunden wurde, wobei 4-NP in allen Proben unterhalb der NG von 7 – 13 µg/kg lag. Eine vollständige Eliminierung von 4-tert.-OP und evt. auch 4-NP im menschlichen Körper kann demnach nicht stattfinden.

Tabelle 44: Gehalt von anderen, teilweise estrogenen Substanzen in Muttermilch-Proben

Gehalt [µg/kg bzw. µg/L]	Probenart	Herkunft der Werte	Literaturstelle
Σ-PCB: 1 – 320 p,p'-DDT: 0,8 – 135,5 p,p'-DDE: 0,9 – 185 β-HCH: 0,4 – 83,5 HCB: 0,2 – 15,2	Muttermilch industrialisierte Gegend	Polen	Czaja et al., 1997
Σ-PCB: 1 – 74,1 p,p'-DDT: 0,8 – 135,5 p,p'-DDE: 0,9 – 111,7 β-HCH: 0,4 – 83,5 HCB: 0,2 – 15,2	Muttermilch ländliche Gegend		
Σ-PCB: 330,2	Muttermilch (im Fettanteil)	Großbritannien	Çok et al., 2003 Werte von 1991
448	“	Frankreich	Werte von 1993
286,9	“	Norwegen	Werte von 1994
625	“	Deutschland	Werte von 1995
109,5	“	Kanada	Werte von 1995
936,7	“	Tschechische Republik	Werte von 1996
486	“	Ukraine	Werte von 1999
265,6	“	Türkei	Werte von 2001
p,p'-DDT: 240 p,p'-DDE: 1720 β-HCH: 1180 HCB: 39	Muttermilch (im Fettanteil)	Beijing, China	Yu et al., 2003
PCB: polychlorierte Biphenyle Σ-PCB: Summe der PCB DDT: Dichlordiphenyltrichlorethan DDE: Dichlordiphenyldichlorethan HCH: Hexachlorcyclohexan HCB: Hexachlorbenzol			

Wie bereits in Kapitel 1.2. erwähnt, kann Muttermilch nicht nur zur Abschätzung der Exposition von Säuglingen und Kleinkindern, sondern auch der von Müttern selber dienen. Deswegen ist es in doppelter Hinsicht interessant, die ermittelten Gehalte von 4-NP und 4-tert.-OP mit denen anderer, teilweise estrogenen Substanzen zu vergleichen. Die 4-NP-Gehalte lagen bei 0,2 und 0,37 µg/kg und für 4-tert.-OP bei 6,3 und 42,4 ng/kg. Man erkennt, dass die Gehalte an PCB oder DDT teilweise um den Faktor 100 bis 10.000 über denen für die 4-NP

liegen. Dies zeigt einerseits, dass die 4-NP-Belastung von Müttern und Säuglingen geringer ist, aber andererseits beweist es wiederum, dass eine vollständige Eliminierung im menschlichen Körper nicht stattfinden kann und es eine gewisse Grundbelastung des Menschen zu geben scheint.

Tabelle 45: Gehalte von anderen, teilweise estrogenen Substanzen in Säuglings- und Kleinkindernahrung

Gehalt [µg/kg bzw. µg/L]	Probenart	Herkunft der Werte	Literaturstelle
β-HCH: < NG – 335,9 p,p'-DDT: < NG – 1,3 p,p'-DDE: < NG – 3,0 Malathion: < NG – 26,8	Kommerzielle Säuglingsnahrung	Indien	Mishra et al., 2002
PCDD: 0,215 · 10 ⁻³ – 1,701 · 10 ⁻³ PCDF: 0,121 · 10 ⁻³ – 0,317 · 10 ⁻³ Σ-PCB: 0,579 · 10 ⁻³ – 2,28 · 10 ⁻³	Kommerzielle Säuglingsnahrung	USA	Schechter et al., 2002
p,p'-DDT: < NG – 0,7 p,p'-DDE: 0,03 – 0,5 andere Pestizide: 5 - 22	Säuglingsanfangs- & Folgemilchnahrung	Neuseeland	Cressey et al., 2003
DDT: Dichlordiphenyltrichlorethan DDE: Dichlordiphenyldichlorethan HCH: Hexachlorcyclohexan PCDD: polychlorierte Dibenzodioxine PCDF: polychlorierte Dibenzofurane PCB: polychlorierte Biphenyle Σ-PCB: Summe der PCB			

3.3. Biofilm- und Flusswasserproben: 4-NP und 4-tert.-OP-Ergebnisse

3.3.1. Methodische Unterschiede

Wie in Kapitel 2.2.5. bereits erwähnt, mussten die Biofilm- und Flusswasserproben direkt nach der Probennahme konserviert werden. Durch die Zugabe einer entsprechenden Menge an wässriger Formaldehyd-Lösung (Baker, 1L Glasflasche) wurden die Proben mit 1 % Formaldehyd (v/v) konserviert. Diese je nach Probenvolumen unterschiedlichen Mengen an Formaldehydlösung mussten sowohl bei der Blindwertextraktion als auch bei der Probeneinwaage berücksichtigt werden.

Da es sich bei dem Blindwert um einen reinen Chemikalien-Blindwert handelte, wurde vor der Blindwertextraktion jeweils die Hälfte der zur Probe zugesetzten Formaldehydlösung in die zur Doppelbestimmung vorgesehenen Kolben gegeben. Somit war sicher gestellt, dass eine eventuelle Kontamination an 4-NP und/oder 4-tert.-OP durch die Formaldehydlösung, mitberücksichtigt werden konnte, da der Blindwert immer vom Probenwert abgezogen worden war.

Der Zusatz an Formaldehydlösung musste anschließend bei der Probeneinwaage auch berücksichtigt werden. Es wurde versucht, die Probenvolumina genau für die beiden Doppelbestimmungen aufzuteilen. Dies klappte nicht immer, wie den Tabellen 117 bzw. 118 in

Anhang 7.21. 'Übersicht über 4-NP-Mengen in Biofilm- und Flusswasserproben nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP' bzw. 7.22. 'Übersicht über 4-tert.-OP-Mengen in Biofilm- und Flusswasserproben nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP' zu entnehmen ist. Bei der Probe Biofilm 5 war es z.B. sehr schwierig durch einfaches Schütteln eine Homogenisierung zu erreichen. Es standen aber für solche Proben keine geeigneten Gerätschaften zum Homogenisieren zur Verfügung. Es hatte sich aber bei den vorherigen Proben gezeigt, dass die Absolutmassen der Blindwerte für 4-NP und 4-tert.-OP durch den Zusatz der Formaldehydlösung nicht angestiegen waren. Deswegen konnte davon ausgegangen werden, dass die Formaldehydlösung in Glasflaschen unbelastet war.

3.3.2. 4-NP- und 4-tert.-OP-Gehalte

Nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP wurden wie bereits erwähnt auch die Biofilm- und Flusswasserproben analysiert. Dabei handelte es sich um insgesamt zehn Biofilm- und vier Flusswasserproben. Die Biofilmproben waren an der Ruhr (sechs Proben), am Rhein (eine Probe) und an der Niers (drei Proben) und die Flusswasserproben an der Ruhr (eine Probe) und an der Niers (drei Proben) gesammelt worden (s. Tabelle 61: Anhang 7.7.: Herkunft und Art der Biofilm- und Flusswasserproben). Dabei wurde die Flusswasserprobe 1 an derselben Stelle und zum selben Zeitpunkt wie Biofilm 2 gesammelt, die Flusswasserproben 2, 3 und 4 wie Biofilm 8, 9 und 10.

Die Bestimmung und Berechnung der Gehalte in den Biofilm- und Flusswasserproben erfolgte wie für die Lebensmittel unter Kapitel 3.2.2. kurz beschrieben. In Abbildung 37 bzw. 38 sind die 4-NP- bzw. 4-tert.-OP-Gehalte in den Biofilm- und Flusswasserproben dargestellt (s. Tabelle 117 bzw. 118 in Anhang 7.21. 'Übersicht über 4-NP-Mengen in Biofilm- und Flusswasserproben nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP' bzw. 7.22. 'Übersicht über 4-tert.-OP-Mengen in Biofilm- und Flusswasserproben nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP'). Der Gehalt setzt sich aus dem Mittelwert einer Doppelbestimmung zusammen, dessen Standardabweichung als Absolutwert in $\mu\text{g}/\text{kg}$ bzw. ng/kg mittels Fehlerbalken dargestellt wurde. Dabei bedeuten die Sterne hinter den Probenamen der Probe:

- * 4-NP-Gehalt lag über $40 \mu\text{g}/\text{kg}$, da die maximale Detektorleistung überschritten war (halbquantitativer Wert).
- ** Ein Wert der Doppelbestimmung lag unterhalb der BG.

Wie bereits erwähnt, war die Probe 'Biofilm 9' so stark belastet, dass die maximale Detektorleistung für 4-NP überschritten worden war. In der Abbildung 39 erkennt man dies an den Sternchen, die einen solchen, übersättigten Bereich kennzeichnen. Es war nicht möglich, die Probe noch mal aufzuarbeiten, da bei den Biofilm- und Flusswasserproben jeweils die komplette Probe zur Analyse verwendet worden war. Deswegen wurde ein Teil des restlichen Extraktes 1:10 verdünnt und anschließend per HPLC-Fraktionierung aufgereinigt. Nach den GC-Messungen stellte sich heraus, dass durch die Verdünnung des Extraktes die Konzentration des ISTD 4-n-NP so gering geworden war, dass eine Quantifizierung nicht mehr möglich war. Deswegen konnte der Gehalt an 4-NP nur als halbquantitativer Wert angegeben werden.

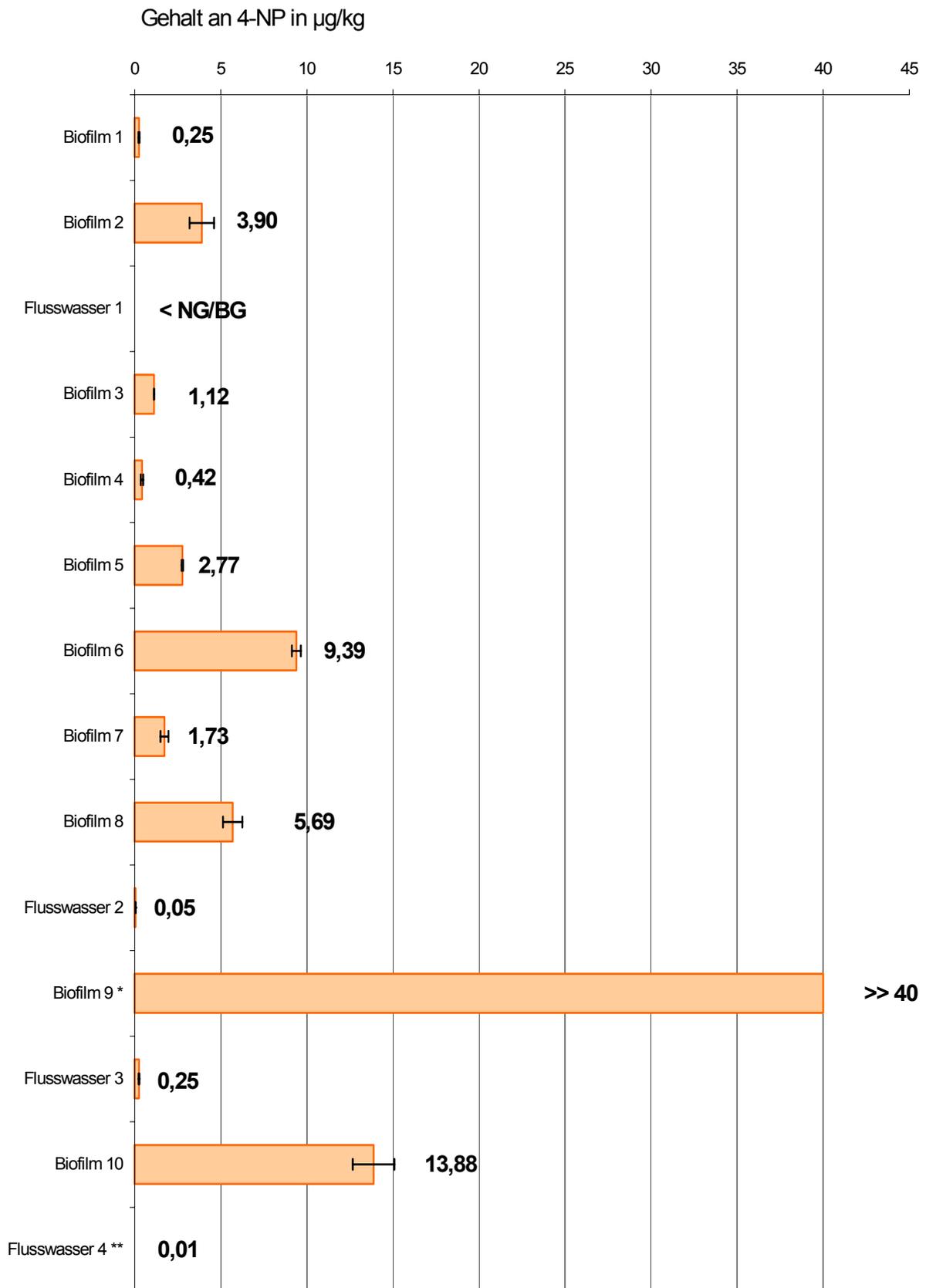


Abbildung 37: Übersicht über 4-NP-Gehalte [$\mu\text{g}/\text{kg}$] in Biofilm- und Flusswasserproben nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP (Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung als Absolutwert in $\mu\text{g}/\text{kg}$)

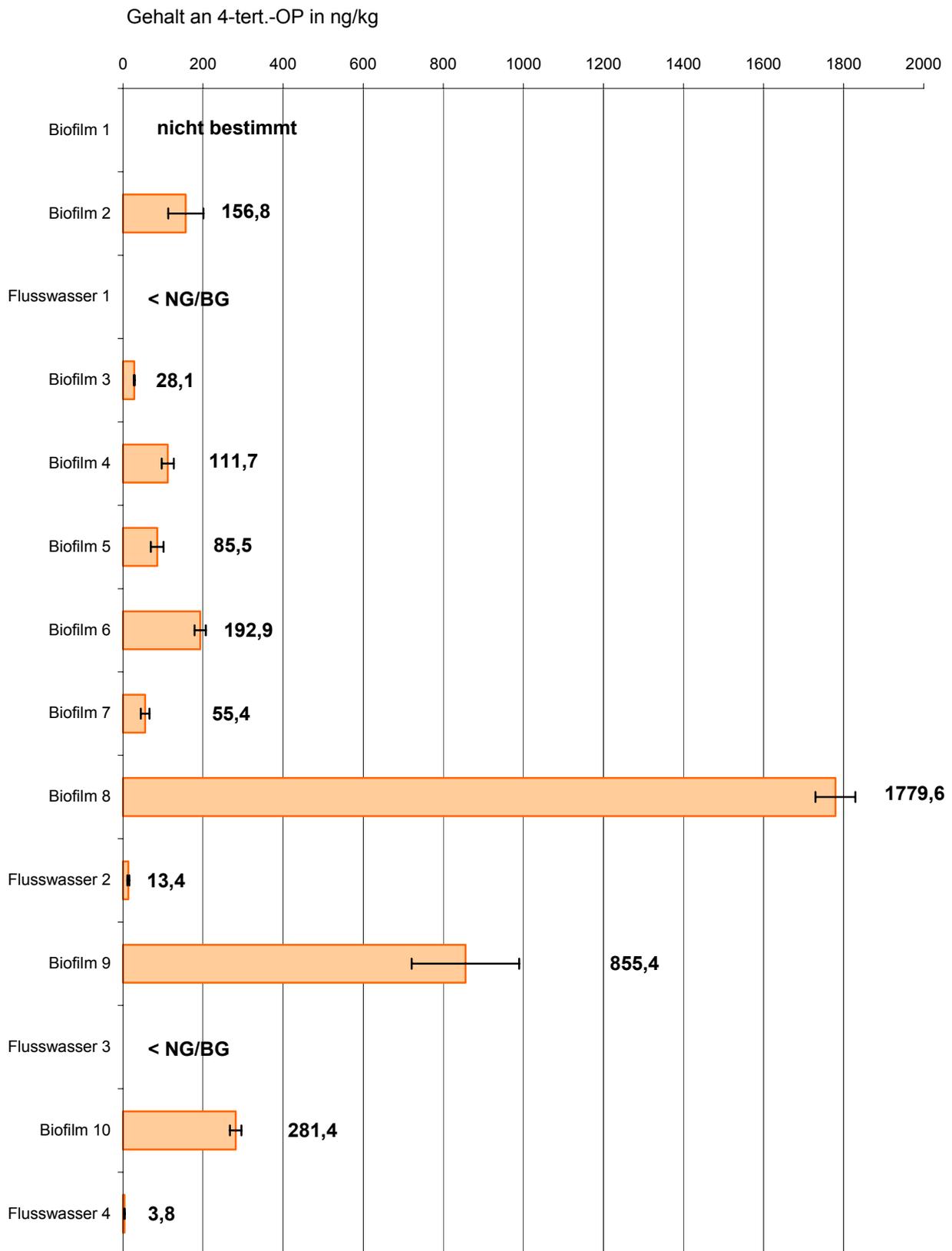


Abbildung 38: Übersicht über 4-tert.-OP-Gehalte [ng/kg] in Biofilm- und Flusswasserproben nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP (Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung als Absolutwert in ng/kg)

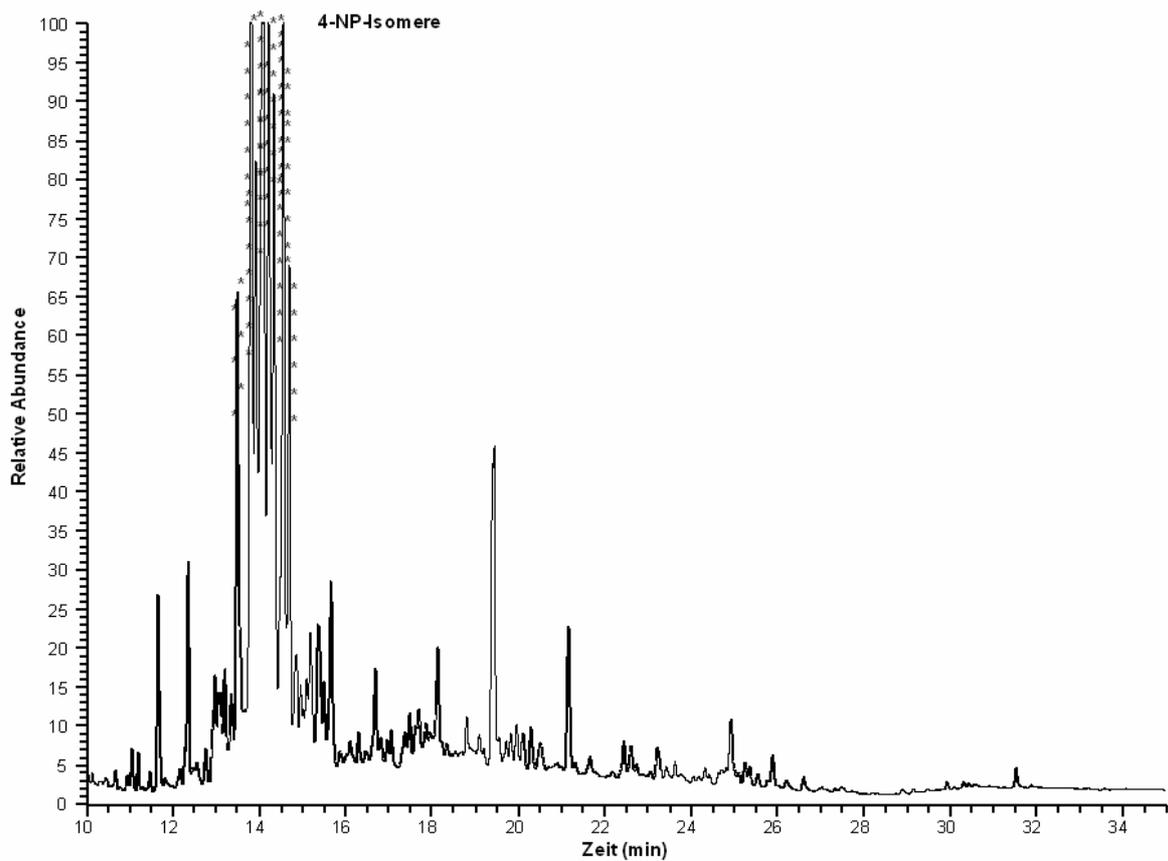


Abbildung 39: GC-Chromatogramm der Probe 'Biofilm 9'

Des Weiteren ließen sich mit Hilfe der in Kapitel 3.4.1. 'Koloniezahl-Bestimmung heterotropher Bakterien', Tabelle 51, angegebenen Werte die 4-AP-Gehalte der Biofilmproben von pro kg Nassgewicht auf $\mu\text{g/g}$ Trockenmasse (TM) bzw. ng/g TM umrechnen. Tabelle 46 zeigt die entsprechend umgerechneten Werte.

Tabelle 46: Übersicht über die umgerechneten 4-AP-Gehalte pro g Trockenmasse

Probe	Gehalt an 4-NP [$\mu\text{g/kg}$]	Gehalt an 4-NP [$\mu\text{g/g TM}$]	Gehalt an 4-tert.-OP [ng/kg]	Gehalt an 4-tert.-OP [ng/g TM]
Biofilm 1	0,25	n.z.b.	n. b.	n.z.b.
Biofilm 2	3,90	n.z.b.	156,8	n.z.b.
Biofilm 3	1,12	2,26	28,1	56,8
Biofilm 4	0,42	0,60	111,7	158,9
Biofilm 5	2,77	3,90	85,5	120,4
Biofilm 6	9,39	191,57	192,9	3935,6
Biofilm 7	1,73	3,12	55,4	99,9
Biofilm 8	5,69	30,11	1779,6	9416,6
Biofilm 9	>> 40	n.z.b.	855,4	1916,7
Biofilm 10	13,88	60,42	281,4	1224,9

TM: Trockenmasse

n. b.: nicht bestimmt

n.z.b.: nicht zu berechnen

Es zeigte sich, dass die 4-AP-Gehalte pro g TM maximal um Faktor 20 anstiegen, abhängig vom jeweiligen Wassergehalt der Biofilmprobe. Für 4-NP ergaben sich Werte von 0,60 – 191,57 µg/g TM und für 4-tert.-OP von 56,8 – 9416,6 ng/g TM.

Verhältnisse der 4-AP:

Zur Berechnung der prozentualen Verhältnisse zwischen 4-tert.-OP und 4-NP bei Proben, die mit einem Stern gekennzeichnet waren, ging man wie folgt vor:

- * Die Berechnung erfolgte mit Hilfe des Mittelwertes der Doppelbestimmung, aber der 4-NP-Gehalt lag über 40 µg/kg, da die maximale Detektorleistung überschritten war (halbquantitativer Wert).
- ** Da ein Wert der Doppelbestimmung unterhalb der BG lag, verwendete man den anderen Wert zur Berechnung des Verhältnisses.

Tabelle 47: Gehalte der 4-AP in Biofilm- und Flusswasser-Proben und die berechneten Verhältnisse von 4-tert.-OP / 4-NP

Probe	Datum	Gehalt an 4-NP [µg/kg]	Gehalt an 4-tert.-OP [ng/kg]	Verhältnis 4-tert.-OP / 4-NP [%]
Biofilm 1	29.10.01	0,25	n. b.	-
Biofilm 2	14.03.02	3,90	156,8	4,0
Flusswasser 1	14.03.02	< NG/BG	< NG/BG	-
Biofilm 3	12.06.02	1,12	28,1	2,5
Biofilm 4	12.06.02	0,42	111,7	26,6
Biofilm 5	01.08.02	2,77	85,5	3,1
Biofilm 6	01.08.02	9,39	192,9	2,1
Biofilm 7	01.08.02	1,73	55,4	3,2
Biofilm 8	03.12.02	5,69	1779,6	31,3
Flusswasser 2	03.12.02	0,05	13,4	26,8
Biofilm 9	03.12.02	>> 40 *	855,4	<< 2,0
Flusswasser 3	03.12.02	0,25	< NG/BG	-
Biofilm 10	03.12.02	13,88	281,4	2,0
Flusswasser 4	03.12.02	0,01 **	3,8	38,0
<i>Mittelwert</i>		(> 6,1)	(324,0)	12,4
n. b.: nicht bestimmt				

Wie der Tabelle 47 zu entnehmen ist, schwankten die Verhältnisse relativ stark. Die Prozentwerte lagen zwischen weniger als 2 % und 38 %. Deswegen war es unmöglich, vom 4-NP-Gehalt Rückschlüsse auf den Gehalt an 4-tert.-OP in ein und derselben Biofilm- bzw. Flusswasserprobe zu ziehen. Dies konnte mit Einleitungen von unterschiedlich stark belasteten Abwässern an verschiedenen Stellen des jeweiligen Flusses zusammenhängen. Auffällig sind die hohen Gehalte sowohl für 4-NP als auch für 4-tert.-OP in den Biofilmpollen 8, 9 und 10, die alle an der Niers gesammelt worden waren. Diese hohen Gehalte konnten wie folgt erklärt werden: bis zu 30 % der geklärten Abwässer, die in die Niers geleitet werden, stammen aus der Textilindustrie [Reichert, 2002], wo 4-APEO immer noch Verwendung finden. Blackburn et al., 1995, und Tanghe et al., 1999, berichteten von einer noch höheren Belastung von englischen bzw. belgischen Gewässern. Durch Abwässer aus der Textilindustrie

wiesen sie Gehalte an 4-NP von 180 µg/L in Flusswasser bzw. von 122 und 330 µg/L in einem Kläranlagenablauf nach.

Wenn man die gemessenen Gehalte in den Flusswasserproben der Ruhr und der Niers mit den LC50-Werten nach 96 h Exposition mit 4-NP vergleicht, besteht keine Gefahr für eine akute Vergiftung aquatischer Lebewesen. Nach Servos, 1999, lagen die LC50-Werte (96 h) für 22 verschiedene Fisch-Spezies zwischen 17 und 3000 µg/L, wobei die meisten zwischen 100 und 300 µg/L lagen. Für wirbellose Tiere schwankten die Werte zwischen 20 und 3000 µg/L und für Algen zwischen 27 und 2500 µg/L. Am empfindlichsten waren Regenbogenforellen im frühen Stadium; sie wiesen nach einer 90 Tage Exposition mit 4-NP einen LOEC-Wert von 10,3 µg/l und mit 4-tert.-OP von 11 µg/L auf.

Der Mittelwert von 12,4 % der prozentualen Verhältnisse von 4-tert.-OP zu 4-NP lag schon wesentlich näher am theoretischen Wert, der aus den dargestellten Mengen für die 4-APEO abgeleitet wurde (s. Kapitel 1.1.1.). Trotzdem wird es in Zukunft wichtig sein, sowohl den Gehalt an 4-NP, als auch den Gehalt an 4-tert.-OP bestimmen zu können. Zum einen müssen diese stichprobenartigen Ergebnisse abgesichert und die verschiedenen Eintragswege der 4-AP aufgezeigt werden können. Zum anderen muss aufgrund der Unterschiede in der estrogenen Aktivität und der letalen Konzentration für die verschiedensten Wasserlebewesen der genaue Gehalt der 4-AP in Biofilmen und Gewässern bekannt sein, um Aussagen über toxikologische Risiken treffen zu können. Da die Gehalte in den Biofilmen wesentlich höher lagen als in den Flusswasserproben, ist auch eine getrennte Quantifizierung von 4-NP und 4-tert.-OP zur Berechnung der jeweiligen Akkumulationsfaktoren (s. Kapitel 3.3.3.) nötig.

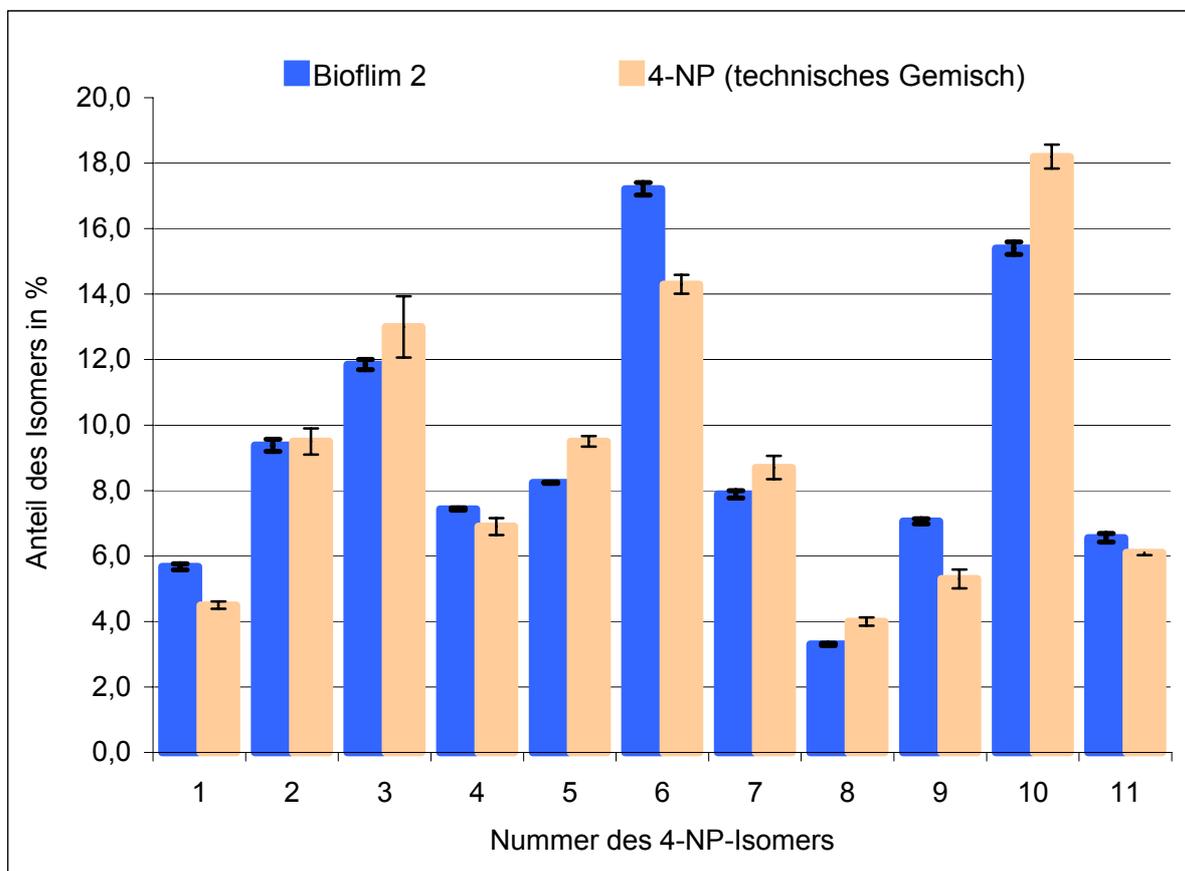


Abbildung 40: Isomerenverteilung für Biofilm 2 im Vergleich zum technischen 4-NP

Isomerenspezifische Auswertung:

Wie auch für die Lebensmittel (s. Kapitel 3.2.2.) so wurde auch für die Biofilm- und Flusswasserproben eine isomerenspezifische Auswertung vorgenommen. Abbildung 40 zeigt beispielhaft die Isomerenverteilung für den Biofilm 2. Die Berechnung und Darstellung entspricht der in Kapitel 3.2.1. bereits beschriebenen und gezeigten Art und Weise.

Weitere Diagramme der restlichen Proben und alle dazugehörigen Tabellen finden sich ab Tabelle 119 in 'Anhang 7.23.: Isomerenverteilung von 4-NP für die Biofilm- und Flusswasserproben im Vergleich zum technischen 4-NP'.

Eine komplette Übersicht über die 4-NP-Isomerenverteilungen aller Biofilm- und Flusswasserproben, die nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP analysiert wurden, gibt Tabelle 48. Die Berechnung und Darstellung erfolgte analog zu Kapitel 3.2.1.

Wenn man die Werte in der Spalte 'Summe über die Proben ...' der drei Biofilm- (BF 2, 8 und 9) mit denen der drei Flusswasserproben (FW 1, 2 und 3) verglich, fiel auf, dass die Werte bei den Flusswasserproben ein wenig größer waren. Dies bedeutet, dass die Unterschiede in der Isomerenverteilung zwischen der Probe und dem technischen 4-NP in den Flusswasserproben größer waren. Dies könnte damit zusammenhängen, dass durch die biologischen Abbauprozesse eine Angleichung der Isomerenverteilungen in den Biofilmen effektiver vollzogen wurde, als im Flusswasser, in das 4-NPEO-haltige Abwässer unterschiedlichster Herkunft mit wahrscheinlich verschiedenen 4-NP-Isomerenmuster eingeleitet worden waren.

Tabelle 48: Übersicht über die Differenzen der Verteilungen der einzelnen Isomere zwischen der jeweiligen Biofilm- bzw. Flusswasserprobe (Blindwert korrigiert) und dem technischen 4-NP bestimmt nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP. Ein negativer Wert bedeutet, dass der Anteil des Isomers in der Probe kleiner, ein positiver, dass der Anteil in der Probe größer als in dem technischen 4-NP war.

4-NP Peak	BF 1	BF 2	BF 3	BF 4	BF 5	BF 6	BF 7	BF 8	BF 9	BF 10	Summe über alle Proben
1	0,2	1,2	-1,8	1,1	2,0	0,6	-1,3	-0,2	1,5	0,7	4,0
2	3,5	-0,1	-4,1	-3,8	-2,2	-1,2	-2,9	0,3	-0,8	-2,0	-13,4
3	4,6	-1,2	-7,4	-6,3	-1,8	-4,9	8,9	-2,1	-3,8	-6,0	-19,9
4	-6,8	0,5	-2,7	2,3	2,2	0,7	5,6	0,1	-0,7	-2,0	-0,9
5	-2,9	-1,3	-3,1	-3,5	-1,7	-3,4	-2,1	-0,3	-1,8	-1,6	-21,6
6	4,4	2,9	2,3	4,9	7,7	5,3	-4,6	2,0	3,3	2,1	30,3
7	-1,5	-0,8	-0,8	-0,4	0,9	3,1	-4,9	0,8	1,3	0,5	-1,8
8	-1,7	-0,7	-0,9	-0,5	-0,3	-0,5	-0,7	-0,1	0,6	1,0	-3,9
9	2,1	1,8	6,6	6,2	3,2	3,9	-0,8	1,4	4,0	6,8	35,2
10	-2,9	-2,8	7,0	-2,5	-9,5	-4,9	4,0	-1,8	-4,6	-3,5	-21,6
11	1,0	0,5	4,9	2,5	-0,4	1,2	-1,2	-0,1	1,0	4,0	13,5
Summe über alle Isomere:	31,4	13,7	41,5	33,9	31,8	29,7	37,0	9,1	23,5	30,1	-

Fortsetzung Tabelle 48:

4-NP Peak	FW 1	FW 2	FW 3	FW 4	Summe über die Proben FW 1, 2 und 3	Summe über die Proben BF 2, 8 und 9
1	8,1	1,6	0,9	1,1	10,5	2,5
2	-0,4	0,2	-0,2	0,1	-0,4	-0,7
3	2,0	-2,1	-3,0	-9,5	-3,1	-7,0
4	-3,1	7,3	-0,1	12,5	4,1	-0,1
5	1,7	2,6	-0,8	-4,4	3,5	-3,3
6	0,9	-0,3	4,1	6,9	4,7	8,2
7	-4,1	-2,4	1,7	-0,3	-4,9	1,3
8	-0,6	-1,2	0,8	-0,5	-1,0	-0,2
9	-0,8	-0,5	3,6	6,5	2,3	7,2
10	-2,7	-3,7	-6,4	-12,5	-12,7	-9,3
11	-1,0	-1,5	-0,6	-0,1	-3,1	1,4
Summe über alle Isomere:	25,3	23,5	22,2	54,5	-	-

Proben die kleiner als NG/BG waren, sind farbig hinterlegt und wurden nicht mit in der Summenberechnung berücksichtigt.

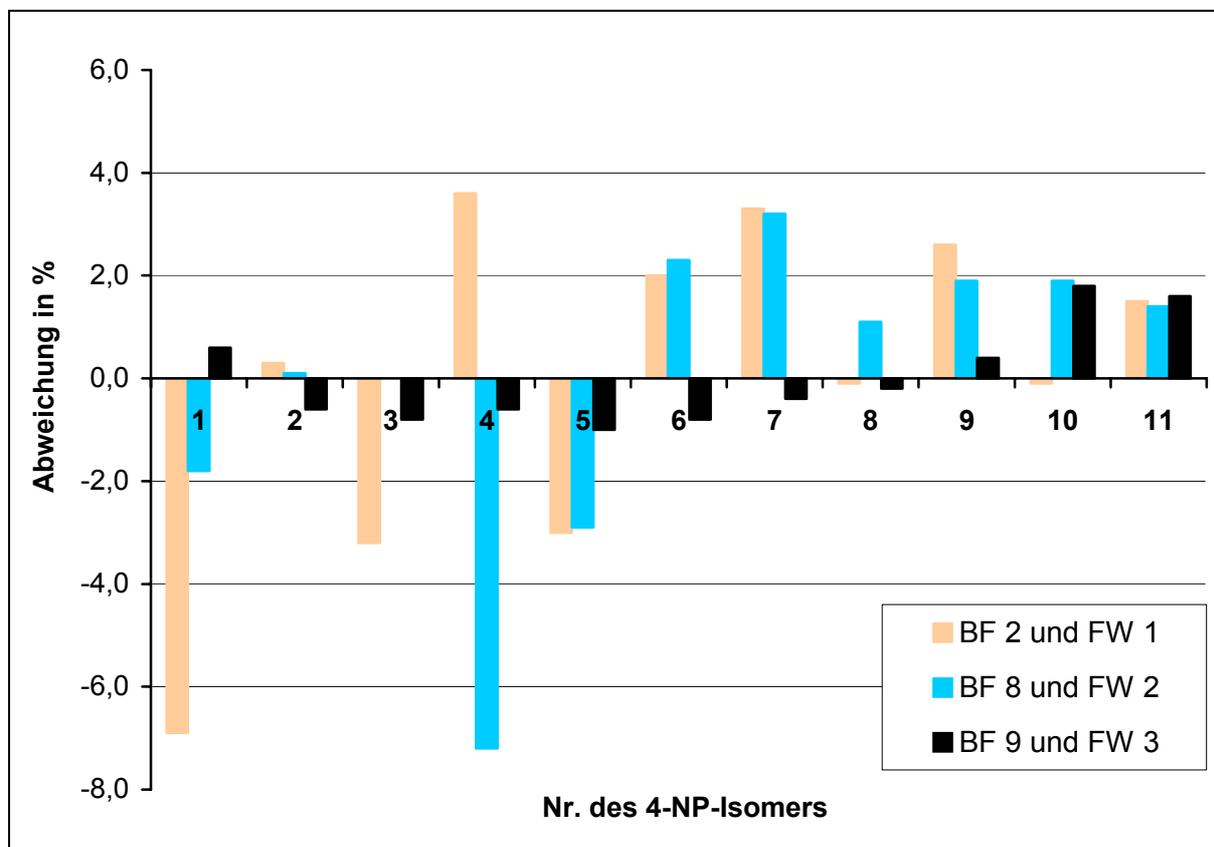


Abbildung 41: Vergleich der Differenzen in den Isomerenverteilungen zwischen Biofilm- (BF) und der entsprechenden Flusswasserprobe (FW)

Die Differenz der prozentualen Verteilungen eines jeden Isomers (s. ab Tabelle 119: Anhang 7.23.: Isomerenverteilung von 4-NP für die Biofilm- und Flusswasserproben im Vergleich zum technischen 4-NP) zwischen der Biofilm- und der entsprechenden Flusswasserprobe wurde gebildet und, wie in Abbildung 41 abgebildet, in einem Diagramm aufgetragen (s. Tabelle 133: Anhang 7.24.: Differenzen prozentualer 4-NP-Verteilungen zwischen der Biofilm- und der entsprechenden Flusswasserprobe). Dabei bedeutete ein negativer Wert, dass dieses Isomer im Verhältnis einen kleineren Anteil in der Biofilm- als in der Flusswasserprobe hatte. Im Gegensatz dazu, bedeutete ein positiver Wert, dass der Anteil des Isomers in der Biofilm- größer als in der Flusswasserprobe war.

Für Isomer 1, 3 und 5 war ein negativer Trend feststellbar, was vermuten ließ, dass bei diesen Isomeren entweder ein verstärkter, biologischer Abbau im Biofilm und/oder eine Diskriminierung bei der Akkumulation dieser Isomere stattgefunden haben musste. Im Gegensatz dazu zeigten die Isomere 6, 7, 9, 10 und 11 einen positiven Trend. Analog konnte man vermuten, dass diese Isomere entweder im Biofilm schwerer biologisch abbaubar sind und/oder bei der Akkumulation bevorzugt wurden. Bei den restlichen Isomeren war kein Trend feststellbar, da sowohl negative als auch positive vorlagen.

3.3.3. Akkumulation in Biofilmen

In der Literatur waren immer wieder Artikel zu finden, die sich mit der Bioakkumulation, der Biokonzentration, dem Sorptionsverhalten von Biofilmen oder der Verteilung zwischen wässriger Phase und Biofilm im Bezug auf Umweltkontaminanten befassten. Zum einen wurde die Sorption von verschiedenen Schwermetallen, wie z.B. Kupfer und Cadmium, die an den Carboxylgruppen der Polysaccharide adsorbieren oder auch von Zink und Nickel, die an den Oberflächen der Zellen adsorbieren, vor allem in Klärschlamm erwähnt [Flemming et al., 2001b und 2002]. Zum anderen führten Artikel auch immer wieder die Sorption von organischen Kontaminanten an. So beschrieben Wolfaardt et al., 1995, die Akkumulation des Herbizides Diclofop-methyl in der Biofilmmatrix, wobei es als einzige Kohlenstoffquelle vorliegend auch abgebaut wurde. Nach Brunk et al., 1997, war die Sorption von Phenanthren anhängig vom Salzgehalt des Wassers. Mit steigendem Salzgehalt stieg der Sorptionskoeffizient an, womit nach Brunk et al., 1997, zumindest teilweise eine verstärkte Akkumulation von organischen Umweltkontaminanten im Bereich von Flussmündungen erklärt werden konnte. Nach Wang et al., 2002, war die Adsorption von 4-Chlorphenol abhängig vom pH-Wert. Headley et al., 1998, wiesen für verschiedene organische Kontaminanten, wie z.B. DDT und Atrazin, Sorptionsraten von 8 bis 370 nach. Dabei stellten sie fest, dass die Sorptionsraten und die Verteilung in Biofilmen linear mit dem $\log K_{OW}$ -Wert (Spanne für die untersuchten Substanzen: 0,1 bis 1.000.000) anstiegen und linear mit der Wasserlöslichkeit (Spanne für die untersuchten Substanzen: 0,001 bis 50.000 mg/L) abnahmen.

Deswegen wurden, wie bereits erwähnt, an denselben Stellen, wo die Biofilme 2, 8, 9 und 10 gesammelt worden waren, zur selben Zeit auch Flusswasserproben entnommen (Flusswasser 1, 2, 3 und 4). Dadurch war die Berechnung eines Akkumulationsfaktors vom Flusswasser in den Biofilm für 4-NP und 4-tert.-OP möglich. Dies erfolgte mittels folgender Gleichung:

$$\text{Akkumulationsfaktor (4-AP)} = \frac{\text{Gehalt (4-AP) im Biofilm } n}{\text{Gehalt (4-AP) im Flusswasser } n} \quad \text{Gleichung 26}$$

Daraus ergaben sich entsprechende Akkumulationsfaktoren unter Berücksichtigung folgender Vorgehensweisen:

- * Die Berechnung erfolgte mit Hilfe des Mittelwertes der Doppelbestimmung, aber der 4-NP-Gehalt lag über 40 µg/kg, da die maximale Detektorleistung überschritten war (halbquantitativer Wert).
- ** Ein Wert der Doppelbestimmung lag unterhalb der BG. Man verwendete den anderen Wert zur Berechnung des Akkumulationsfaktors.

Tabelle 49: Akkumulationsfaktoren für 4-NP und 4-tert.-OP

Probe	Datum	Gehalt an 4-NP [µg/kg]	Akkumulationsfaktor für 4-NP	Gehalt an 4-tert.-OP [ng/kg]	Akkumulationsfaktor für 4-tert.-OP
Biofilm 2	14.03.02	3,90	n.z.b.	156,8	n.z.b.
Flusswasser 1	14.03.02	< NG/BG		< NG/BG	
Biofilm 8	03.12.02	5,69	114	1779,6	133
Flusswasser 2	03.12.02	0,05		13,4	
Biofilm 9	03.12.02	>> 40 *	>> 172	855,4	n. z. b.
Flusswasser 3	03.12.02	0,25		< NG/BG	
Biofilm 10	03.12.02	13,88	1388	281,4	74
Flusswasser 4	03.12.02	0,01 **		3,8	

n.z.b.: nicht zu berechnen

3.3.4. Interpretation der 4-NP- und 4-tert.-OP-Ergebnisse für die Biofilm- und Flusswasserproben

Der Tabelle 47 ist zu entnehmen, dass 4-NP in allen Biofilm- und Flussproben bestimmt werden konnte, wobei in einer Flusswasserprobe der Wert unter NG/BG lag. 4-tert.-OP wurde ebenfalls in allen Biofilmproben nachgewiesen. In den Flusswasserproben waren dagegen zwei Werte kleiner NG/BG. Die höheren Gehalte belegen, dass 4-NP (< NG - >> 40 µg/kg) als der wichtigere Kontaminant in der limnischen Umwelt im Vergleich zu 4-tert.-OP (< NG – 1779,6 ng/kg) anzusehen ist.

Im Vergleich zu anderen organischen Umweltkontaminanten (Pharmazeutika, Hormone, Phthalate u.a.) lag 4-NP an der 7. Stelle was die Häufigkeit bei Flusswasser-Untersuchungen in den USA zwischen 1999 und 2000 betraf [Kolpin et al., 2002]. 4-NP wurde in 50,6 % der Proben mit Gehalten zwischen 0,5 und 40 µg/L wieder gefunden. 4-NP1EO und 4-NP2EO wurden in 45,9 bzw. 36,5 % der Proben wieder gefunden. Derbalah et al., 2003, wies 4-NP mit einer Häufigkeit von 91,3 % in japanischen Flüssen nach. Dabei waren die 4-NP-Gehalte immer höher als die untersuchten Pestizide. Die schlechte Korrelation zwischen Pestizid- und 4-NP-Gehalten deutete nach Derbalah et al., 2003, auf unterschiedliche Kontaminationsquellen hin.

Für die Akkumulationsfaktoren wurden nach Tabelle 49 folgende Werte berechnet: für 4-NP von 114 bis 1388 und für 4-tert.-OP bei 74 und 133. Nach Servos, 1999, lagen die Biokon-

zentrationsfaktoren (Bio Concentration Factors, BCF) von 4-NP für mehrere Fisch-Spezies zwischen 0,9 und 741. Ferreira-Leach et al., 2000 und 2001, kamen für 4-tert.-OP auf BCF-Werte von 346 bis 1134 in Fischbrut von Plötzen (*Rutilus rutilus*) und für Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) auf 471 im ganzen Fisch, 1190 im Fett und 101 im Muskelgewebe. Für andere aquatische Lebewesen, wie z.B. Algen und wirbellose Tiere, lagen nach Servos, 1999, die Werte zwischen 1,4 und 3400. Damit zeigte sich, dass die berechneten Akkumulationsfaktoren gut mit den Biokonzentrationsfaktoren aus der Literatur übereinstimmten. Generell ist die Biokonzentration von 4-NP unter Laborbedingungen gering bis mäßig und der Abbau sehr schnell. Im Gegensatz dazu scheint es in der Dynamik zwischen Abbau und Akkumulation, zwischen Flusswasser und Biofilmen, keinen kompletten Abbau in der aquatischen Umwelt zu geben. Die Gehalte der Biofilmproben belegen dies.

Labare et al, 1997, kamen für ein anderes Xenoestrogen, Tributyl-Zinn (TBT), auf Biokonzentrationsfaktoren in Biofilme des Mikroorganismus *Shewanella colwelliana* von 380 bzw. 95,6, je nach TBT-Gehalt im Wasser. Auf die Austern-Larven hatten diese TBT-Gehalte im Wasser keine Effekte, aber durch die Biokonzentration ähnlich hoher Gehalte im Wasser war unter anderem eine Hemmung der Metamorphose der Versuchstiere beobachtbar. Dies zeigte, wie wichtig es sein kann, nicht nur die Konzentrationen von bestimmten Umweltkontaminanten im Wasser, sondern auch deren Gehalte in Biofilmen bzw. Akkumulationsfaktoren zu kennen. Dies ist vor allem für aquatische Kleinstlebewesen wichtig, da Biofilme nicht nur aus Bakterien und ihren EPS bestehen, sondern in der Regel aus Mischpopulationen unterschiedlichster Mikroorganismen-Arten. Meist dominieren die Bakterien, aber es können auch beträchtliche Anteile an Algen, Pilzen und Protozoen vorhanden sein. Aber auch mehrzellige Organismen, die am Beginn der Nahrungskette stehen, wie z.B. Fadenwürmer, Milben und Insektenlarven können vorkommen [Flemming et al., 2001a].

Tabelle 50 gibt einen Überblick über die niedrigsten Konzentrationen, die bei den angegebenen aquatischen Lebewesen noch eine estrogene Wirkung erzielen (LOEC = Low Observable Effect Concentration). Wenn man die Konzentrationen mit den ermittelten Gehalten in Flusswasser- und Biofilmproben (s. Tabelle 47) vergleicht, erkennt man, dass die Gehalte in den Flusswasserproben keinen estrogenen Effekt ausüben können. Durch die Bioakkumulation in Biofilmen, die als Lebensraum für einige der aufgeführten Lebewesen angesehen werden können, werden teilweise Konzentrationen erreicht, die für alle Lebewesen den LOEC-Wert überschreiten.

Neben der Bestimmung der Gehalte und der Ermittlung von LOEC-Werten ist aber auch eine Charakterisierung bzw. Untersuchung der Biofilme im Hinblick auf ihr Sorptionsverhalten wichtig. Die folgenden Literaturstellen belegen dies auf unterschiedlichste Art und Weise:

- Schmitt et al., 1995, fand heraus, dass Biofilme auf adsorbierte Stoffe physiologisch reagieren. Die Sorption von Toluol an einen Biofilm von *Pseudomonas putida* führte zu einer Zunahme der EPS-Produktion und anschließend zur Zunahme der sauren Gruppen.
- Späth et al., 1998 stellten fest, dass nach Zugabe zu einem Biofilm über 60 % einer Mischung von hydrophoben Substanzen (Benzen, Toulol und m-Xylen) in den hoch hydratisierten EPS akkumulieren können.

- Abadi et al., 2000 fanden heraus, dass es bei dem Ausmaß der Sorption und der Abbaubarkeit von Kohlenwasserstoffen (Öl) Unterschiede zwischen sesshafter und gelöster Biomasse gab. So adsorbierte sesshafte Biomasse mehr Öl als gelöste Biomasse.
- Lawrence et al., 2001 untersuchten die Sorption und den Abbau von zwei Herbiziden, Atrazin und Diclofop-methyl, in einem Fluss-Biofilm. Beide Herbizide wurden adsorbiert und metabolisiert. Dabei war die Mineralisierung beider Herbizide zu CO₂ kleiner als 1 %. Des Weiteren wurde Atrazin nur von einem einzigen Mikrokolonie-Typ adsorbiert, der 3,8 % des Biofilm-Volumens ausmachte.

Tabelle 50: Überblick über die LOEC-Werte von 4-AP im Bezug auf estrogene Wirkungen für aquatische Lebewesen

Niedrigste Konzentration mit Effekt	Lebewesen	Endpunkt	Literatur
4-NP: 10 µg/L	Regenbogenforelle (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Vitellogenin(VTG)-mRNA-Expression	Lech et al., 1996
4-NP: 27,1 µg/L	japanischer Reisfisch (<i>Oryzias latipes</i>)	Verschobenes Verhältnis von Männchen zu Weibchen und Intersex-Ausbildung bei Männchen	Gray et al., 1997
4-NP: 10 µg/L	Amphipode (<i>Corophium volutator</i>)	verzögertes Wachstum	Brown et al., 1999
4-NP: 0,5 µg/L	Mosquito-Fisch (<i>Gambusia holbrooki</i>)	nicht komplette Ausbildung einer Anal-Flosse (für Männchen charakteristisches Merkmal)	Drèze et al., 2000
4-NP: 44 µg/L	Schalentier (<i>Daphnia magna</i>)	Abnormalitäten bei der Entwicklung	LeBlanc et al., 2000
4-tert.-OP: 1 µg/L	Süßwasserschnecke (<i>Marisa cornuarietis</i>)	Super-Weibchen mit zusätzlichen weiblichen Sexualorganen	Oehlmann et al., 2000
"	Salzwasserschnecke (<i>Nucella lapillus</i>)	Verkleinerung des Penis und der Prostata-Drüse	
4-NP: 0,7 µg/L 4-NP: 8,3 µg/L	Regenbogenforelle (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Reduktion des Follikel stimulierenden Hormons (FSH) und die FSH-Gen-Expression während früher Ovarien-Entwicklung löst VTG-Synthese aus	Harris et al., 2001
4-NP: 0,1 µg/L	japanischer Reisfisch (<i>Oryzias latipes</i>)	Bildung von für Weibchen spezifische Proteine	Tabata et al., 2001
4-NP: 0,64 µg/L 4-NP: 5,4 µg/L	Edelsteinkärpfling (<i>Cyprinodon variegatus</i>)	Vitellogenin(VTG)-mRNA-Expression auf niedrigem Level starke Vitellogenin(VTG)-mRNA-Expression	Hemmer et al., 2001
4-NP: 0,2 µg/L 4-NP: 4 µg/L	Schwertisch (<i>Xiphophorus helleri</i>)	Wachstum gestört Vitellogenin(VTG)-mRNA-Expression	Kwak et al., 2001
4-NP: 3,4 µg/kg	Dickkopfritze (<i>Pimethales promelas</i>)	stark gestörte Eiproduktion	Giesy et al., 2001

Fortsetzung Tabelle 50:

4-tert.-OP: 25 µg/L	Zebrafisch (<i>Danio rerio</i>)	Reduktion der Eierstöcke bei nicht laichenden Weibchen	Van den Belt et al., 2001
4-NP: 6,1 – 6,4 µg/L 17β-Estradiol: 4,7 – 7,9 ng/L	Regenbogenforelle (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Vitellogenin(VTG)-mRNA- Expression	Thorpe et al., 2001

Es bleibt festzuhalten, dass allgemeingültige Aussagen im Bezug auf das Sorptionsverhalten von Biofilmen sehr problematisch sind. Entweder untersucht man Mischbiofilme, die in der Natur vorkommen und eine extremen Vielfalt an EPS-Molekülen besitzen, oder man führt Sorptionsstudien an definierten Reinkulturen durch, die jedoch recht artifizielle Systeme darstellen.

3.4. Biofilm- und Flusswasserproben: Ergebnisse der Charakterisierung

3.4.1. Koloniezahl-Bestimmung heterotropher Bakterien

Wie in Kapitel 2.4.1. beschrieben, erfolgte die Bestimmung der Koloniezahl heterotropher Bakterien nach dem Standardverfahren zur Quantifizierung der Koloniezahlen heterotropher Wasserbakterien (HPC-Bestimmung). In Tabelle 51 sind die Ergebnisse der HPC-Bestimmung für die einzelnen Biofilme aufgeführt.

Tabelle 51: Übersicht über die Koloniezahlen der Biofilmproben

Probe	HPC-Bestimmung [KbE / mL]	HPC-Bestimmung [KbE / g TM]
Biofilm 1	n.b.	n.b.
Biofilm 2	$2,12 \cdot 10^7$	n.b.
Biofilm 3	$9,80 \cdot 10^7$	$1,98 \cdot 10^8$
Biofilm 4	$7,03 \cdot 10^7$	$1,00 \cdot 10^8$
Biofilm 5	$1,79 \cdot 10^7$	$2,52 \cdot 10^7$
Biofilm 6	$9,95 \cdot 10^6$	$2,03 \cdot 10^8$
Biofilm 7	$2,28 \cdot 10^7$	$4,11 \cdot 10^7$
Biofilm 8	$1,75 \cdot 10^8$	$9,26 \cdot 10^8$
Biofilm 9	$7,23 \cdot 10^7$	$1,62 \cdot 10^8$
Biofilm 10	$5,33 \cdot 10^7$	$2,32 \cdot 10^8$
KbE: Kolonie bildende Einheiten TM: Trockenmasse n.b.: nicht bestimmt		

In der Regel ist es so, dass man in Proben von oligotrophen, aquatischen Standorten mit mikrobiologischen Kultivierungsverfahren maximal 0,1 % bis 1 % der insgesamt vorhandenen Mikroorganismen nachweisen kann. Deshalb war davon auszugehen, dass in den untersuchten Proben die Gesamtzellzahlen entsprechend zwei bis drei Zehnerpotenzen über den Koloniezahlwerten lagen. Wenn man die Werte der auf die Trockenmasse bezogenen Koloniezahlen verglich, so war festzuhalten, dass die Koloniezahlen etwa in der Größenordnung von 10^7 bis 10^8 KbE pro g TM schwankten; die Gesamtzellzahlen wären entsprechend höher

gewesen (s. Kapitel 3.2.4.). Es handelte sich hierbei um Größenordnungen, die für Schlämme und Gewässersedimente - soweit angegeben - auch in der Literatur zu finden waren [Wuertz et al., 2003].

3.4.2. Bestimmung wichtiger Inhaltsstoffe

Wie bereits erwähnt, gehören zu den wichtigsten Inhaltsstoffen von Biofilmen und den EPS die Kohlenhydrate, Uronsäuren, Proteine und Huminstoffe. Tabelle 52 gibt eine Übersicht über die Ergebnisse der biochemischen Verfahren.

Tabelle 52: Übersicht über die Ergebnisse der Bestimmung wichtiger Inhaltsstoffe in den Biofilmproben

Probe	Fraktion	Kohlenhydrate [mg / g TM]	Proteine [mg / g TM]	Huminstoffe [mg / g TM]	Uronsäuren [mg / g TM]
Biofilm 1	Biofilm	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
	EPS	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
Biofilm 2	Biofilm	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
	EPS	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
Biofilm 3	Biofilm	6,4	16,9	112,8	n. n.
	EPS	0,005	n. n.	0,13	n. n.
Biofilm 4	Biofilm	6,2	5,6	114,2	n. n.
	EPS	0,01	0,01	0,17	n. n.
Biofilm 5	Biofilm	4,08	n. a.	n. a.	n. n.
	EPS	0,01	n. a.	n. a.	n. n.
Biofilm 6	Biofilm	4,83	58,7	9,76	n. n.
	EPS	0,62	1,94	2,05	n. n.
Biofilm 7	Biofilm	1,30	6,75	12,64	n. n.
	EPS	0,02	0,01	0,17	n. n.
Biofilm 8	Biofilm	38,6	23,7	151,5	n. n.
	EPS	0,08	0,06	0,26	n. n.
Biofilm 9	Biofilm	16,7	3,0	54,4	n. n.
	EPS	0,05	0,02	0,1	n. n.
Biofilm 10	Biofilm	10,6	2,6	20,9	n. n.
	EPS	0,06	0,05	0,09	n. n.

TM: Trockenmasse
n. b.: nicht bestimmt
n. n.: nicht nachgewiesen
n. a.: nicht auswertbar; aus unbekanntem Gründen erfolgte eine Trübung der Ansätze während der Bestimmung der Inhaltsstoffe.

Bei den Ergebnissen fiel als erstes auf, dass die Uronsäuren weder in den Biofilm- noch in den EPS-Proben nachweisbar waren. Dabei handelte es sich bei der von Filisetti-Cozzi et al., 1991, beschriebenen Methode für den Nachweis von Uronsäuren um eine relativ empfindliche, die auch bei Anwesenheit von neutralen Zuckern funktioniert hatte. Des Weiteren zeigte sich, dass die Konzentrationen der Huminstoffe fast immer am größten waren. Wenn man bedenkt, dass Huminstoffe ubiquitär in Oberflächengewässern vorkommen, so kann vermutet werden, dass sie zu einem großen Teil an Biofilmen adsorbiert werden.

Bei der hier angewandten Methode zur Extraktion der EPS nach Frølund et al., 1996, wurden mit Hilfe eines Kationenaustauscher-Harzes die wasserlöslichen EPS aus den Biofilmen extrahiert. Dabei handelte es sich teilweise um eine chemische – Entfernung von divalenten Kationen (z.B. Ca²⁺), als auch um eine mechanische Extraktion, da im Anschluss eine Hoch-

geschwindigkeitszentrifugation (Scherkräfte) zur Abtrennung der EPS durchgeführt wurde. Nach der Abtrennung erfolgte die Bestimmung der wichtigsten Inhaltsstoffe der EPS, um sich einen Überblick über die mengenmäßige Zusammensetzung bzw. Verteilung machen zu können (s. Tabelle 52). Diese Verteilung kann von verschiedenen Faktoren abhängig sein:

- Art und Herkunft des Biofilms
- verwendete Extraktionsmethode für die EPS (mechanisch und/oder chemisch) mit variablen Parametern
- verwendete Analyseverfahren zur Bestimmung der biochemischen Zusammensetzung

In unserem Fall waren sowohl die Analyseverfahren zur Bestimmung der biochemischen Zusammensetzung und die Extraktionsmethode mit den variablen Parametern bei allen Biofilmen identisch. Zusätzlich war die Art der Biofilme 1, 2, 6 und 10 (oberste Sedimentschicht) und die der Biofilme 3 – 5 und 7 – 9 (epilithische Biofilme) gleich. Des Weiteren handelte es sich bei allen Biofilmproben um Flusswasser-Biofilme – teilweise aus denselben Flüssen, aber die einzelnen Probenahmestellen unterschieden sich (s. Anhang 7.7. 'Herkunft und Art der Biofilm- und Flusswasserproben'). Tabelle 53 zeigt in den ersten drei Spalten eine Übersicht über die gebildeten Verhältnisse der Konzentrationen der drei nachgewiesenen Inhaltsstoffe zueinander in den EPS. Zusätzlich sind in den letzten drei Spalten die Verhältnisse der Biofilm- zu den EPS-Konzentrationen des jeweiligen Inhaltsstoffes ausgerechnet worden.

Tabelle 53: Übersicht über die Verhältnisse der Konzentrationen der Inhaltsstoffe zueinander in den EPS und über die Verhältnisse der Biofilm- zu den EPS-Konzentrationen des jeweiligen Inhaltsstoffes

Probe	HS- : Pr-Wert	HS- : KH-Wert	Pr- : KH-Wert	BF- : EPS-KH-Wert	BF- : EPS-Pr.-Wert	BF- : EPS-HS-Wert
Biofilm 1	-	-	-	-	-	-
Biofilm 2	-	-	-	-	-	-
Biofilm 6	1,1	3,3	3,1	8	30	5
Biofilm 10	1,8	1,5	0,8	177	52	232
Biofilm 3	-	26,0	-	1280		868
Biofilm 4	17,0	17,0	1,0	620	560	672
Biofilm 5	-	-	-	408	-	-
Biofilm 7	17,0	8,5	0,5	65	675	74
Biofilm 8	4,3	3,3	0,8	483	395	583
Biofilm 9	5,0	2,0	0,4	334	150	544

HS-Wert: Konzentration der Huminstoffe
 KH-Wert: Konzentration der Kohlenhydrate
 Pr-Wert: Konzentration der Proteine
 BF: Biofilm

Trotz der identischen Extraktions- und Analysebedingungen sind sowohl bei den epilithischen als auch bei den Biofilmen, die aus der obersten Sedimentschicht bestanden, keinerlei Ähnlichkeiten oder Trends feststellbar gewesen. Dies galt sowohl für die Verhältnisse der Konzentrationen der drei nachgewiesenen Inhaltsstoffe in den EPS zueinander, als auch für die Verhältnisse der Biofilm- zu den EPS-Konzentrationen des jeweiligen Inhaltsstoffes.

Ein Vergleich der in Tabelle 53 aufgeführten Konzentrationen [mg/g Trockenmasse] mit Literaturwerten war relativ schwierig. Bisher sind nur wenige Untersuchungen zur biochemi-

schen Zusammensetzung der EPS, so wie sie hier durchgeführt worden waren, gemacht worden. Entsprechende Untersuchungen, bei denen die EPS ebenfalls mit einem Kationenaustauscher extrahiert worden waren, gab es bisher ausschließlich an Biofilmen und Belebtschlamm im Abwasserbereich. Tabelle 54 aus Wuertz et al., 2003, stellt die bisherigen Literaturdaten zusammen.

Tabelle 54: Überblick über die biochemische Zusammensetzung in den EPS verschiedener Biofilmpollen, mit einem Ionenaustauscher extrahiert [Wuertz et al., 2003]

Probe	KH-Konz.	Pr-Konz.	HS-Konz.	US-Konz.	HS- : Pr-Wert	HS- : KH-Wert	Pr- : KH-Wert
Kläranlagen-BF 1 ^A	12	154	293	6	1,9	24,4	12,8
Kläranlagen-BF 2 ^A	46	351	221	11	0,6	4,8	7,6
Belebtschlamm-BF 1 ^B	40 ± 3	212 ± 1	101 ± 2	12,1 ± 1,8	0,5	2,5	5,3
Belebtschlamm-BF 2 ^B	48	243	126	6,1	0,5	2,6	5,1
Belebtschlamm-BF 3 ^C	12,7	162	n. b.	4,5	-	-	12,8
Belebtschlamm-BF 4 ^B	21	51 ± 1	18	3,8 ± 0,1	0,4	0,9	2,4
BF aus Rotations-tauchkörper 1 ^B	40 ± 1	200 ± 2	24 ± 1	2,5 ± 0,01	0,1	0,6	5
BF aus Rotations-tauchkörper 2 ^B	38 ± 1	161 ± 1	45 ± 3	1,8 ± 0,2	0,3	1,2	4,2
BF aus Rotations-tauchkörper 3 ^B	53 ± 1	159 ± 5	50 ± 4	3,8 ± 0,02	0,3	0,9	3

HS-Wert: Konzentration der Huminstoffe
 KH-Wert: Konzentration der Kohlenhydrate
 Pr-Wert: Konzentration der Proteine
 US-Wert: Konzentration der Uronsäuren
 BF: Biofilm
^A: Konzentration in mg / g TOC, total organic carbon (gesamter organischer Kohlenstoff)
^B: Konzentration in mg / g VS, volatile solids (Glühverlust der Trockenmasse)
^C: Konzentration in mg / g VSS, volatile suspended solids (Glühverlust des Rückstands nach Filtration)

Die Konzentrationen der EPS-Inhaltsstoffe der von uns gesammelten Flusswasser-Biofilme (s. Tabelle 52) waren nicht direkt mit den Konzentrationen aus der Literatur für Biofilme und Belebtschlamm im Abwasserbereich (Tabelle 54) vergleichbar, da sich die Einheiten unterschieden. Deswegen wurden die Verhältnisse der Konzentrationen der drei nachgewiesenen Inhaltsstoffe zueinander in den EPS ausgerechnet und verglichen. Es zeigte sich, dass auch hier keine Trends feststellbar waren. Nur die Größenordnungen der Verhältnisse der von uns untersuchten Biofilme und denen aus der Literatur waren identisch.

Die in Tabelle 54 aufgeführten Konzentrationen für die Uronsäuren zeigen, dass die Uronsäuren auch bei Biofilmen aus dem Abwasserbereich mengenmäßig nur eine geringe Rolle spielten, wobei sie in den EPS von Flusswasser-Biofilmen überhaupt nicht nachgewiesen werden konnten.

3.4.3. Mikroskopische Bestimmung der Gesamtzellzahl

Die Anzahl der insgesamt vorhandenen Bakterien – kultivierbare und nicht-kultivierbare – sollte mittels eines mikroskopischen Verfahrens zur Bestimmung der Gesamtzellzahl ermit-

telt werden. Es stellte sich aber heraus, dass in den Biofilmproben offensichtlich nicht nur Bakterien, sondern auch andere Partikel, wie z.B. Fragmente von anderen Lebewesen und vor allem abiotische Partikel wie Sandkörner vorhanden waren. Diese Wechsel wirkten mit dem Fluoreszenzfarbstoff (4',6-Diamidino-2-phenylindol; DAPI), der für die Markierung der Bakterien und der anschließender Zählung im Mikroskop verwendet worden war. Somit war keine deutliche Unterscheidung zwischen Bakterien und anderen fluoreszierenden Partikeln im Mikroskop möglich.

Eine Klassifizierung der Bakterien war im Gegensatz zur Bestimmung der Gesamtkeimzahl nicht vorgesehen.

4. Ausblick

Lebensmittel:

Wie in Kapitel 3.1.3. dargestellt war die Untersuchung der 4-NP1EO- und 4-NP2EO-Gehalte mit Hilfe des modifizierten Analyseverfahrens nicht möglich. Diese Ethoxylate und die entsprechenden Carboxylate (4-NP1EC, 4-NP2EC) wurden wie die vergleichbaren Abbauprodukte der 4-OPEO ebenfalls in vielen Umweltproben nachgewiesen. Diese Tatsache lässt vermuten, dass auch Lebensmittel mit diesen Abbauprodukten der 4-APEO kontaminiert sind. Die Entwicklung eines Analyseverfahrens und die Bestimmung der Gehalte in Lebensmitteln würde eine Abschätzung des 'daily-intakes' dieser Stoffe mit Hilfe der Verzehrsstudien für Erwachsene bzw. Säuglinge und Kleinkinder möglich machen.

Im Sinne des Verbraucherschutzes stellt sich die Frage, auf welchem Wege und zu welchem Zeitpunkt die Abbauprodukte der 4-APEO in die unterschiedlichen Lebensmittel gelangen. Durch die Untersuchung von Proben aus der landwirtschaftlichen Erzeugung, den einzelnen Gewinnungs-, Verarbeitungs- und Verpackungsstufen, einzelnen Lagerungsversuchen bis hin zur Untersuchung von verzehrfertigen Lebensmittel könnte man Informationen gewinnen, um evt. die Belastung von Lebensmitteln mit den Abbauprodukten der 4-APEO zu reduzieren.

Um eine größere Anzahl an Proben analysieren zu können, wäre ein schnelleres, automatisierbares und empfindliches Analyseverfahren wünschenswert. Rolfes et al., 2001, berichten von solch einem Verfahren für Phenol und C₃-Alkylphenole mit guten Wiederfindungen von > 79 % in unpolaren Matrices, wie Rohöl. Es ist zu untersuchen, ob die Veresterung mit Ferrocencarboxylsäurechlorid mit anschließender GC-Atom-Emissions-Detektion für die Abbauprodukte der 4-APEO in der Routineanalytik geeignet wäre.

Biofilme:

Um Erkenntnisse zu erhalten, wie es in der Umwelt zur Akkumulation von 4-AP in Biofilme von limnischen und wahrscheinlich auch marinen Sedimenten kommen kann, sind Sorptionsstudien an definierten Reinkulturen unerlässlich. Obwohl es sich dabei um recht artifizielle Systeme handelt, lassen sich nur auf diese Weise Informationen über Akkumulationswege und -faktoren auf der einen Seite und Abbauprodukte und -raten auf der anderen Seite gewinnen. Mit Hilfe dieser Daten bestünde die Möglichkeit, solche Prozesse in der Umwelt nachzuvollziehen, zu erklären und zu modellieren. Des Weiteren ließen sich mit Hilfe solcher definierter Reinkulturen evt. Veränderungen in der Zusammensetzung der EPS bei 4-NP als Nahrungsquelle untersuchen. Dagegen ließen sich in Mischbiofilmen, die in der Natur vorkommen, evt. Veränderungen in der mikrobiellen Zusammensetzung der Biofilme untersuchen.

Für die Untersuchung von Wasserproben aller Art auf 4-AP ist die von Kuch et al., 2001, beschriebene Methode mit hochauflösender GC mit anschließender negativer, chemischer Ionisation und MS-Detektion besser geeignet. NG von 50 pg/L in Trinkwasser bzw. 200 pg/L im Kläranlagenablauf für 4-NP und für 4-tert.-OP von 20 pg/L bzw. 50 pg/L wurden erreicht.

Allgemein:

Um genauere Aussagen über die Toxizität von 4-NP machen zu können, müssen die Strukturen aller in Lebensmitteln und in der Umwelt gefundenen 4-NP-Isomere bekannt sein und isomeren- und enantiomeren-spezifisch quantifiziert werden. Daraufhin können exakte toxikologische 'In vivo'- und 'In vitro'-Studien mit relevanten 4-NP-Isomeren bzw. -Enantiomeren durchgeführt werden.

5. Zusammenfassung

Nonylphenole, Octylphenol, Nonylphenolmonoethoxylate und die Nonylphenoldiethoxylate sind die Hauptabbauprodukte der Alkylphenolpolyethoxylate. Diese gehören zu der Gruppe der nichtionischen Tenside und werden vor allem als Wasch- und Reinigungsmittel, als Emulgatoren und in Pestizidformulierungen eingesetzt. Dabei machen die Nonylphenoethoxylate ca. 80 – 90 % aller Alkylphenoethoxylate aus. Aufgrund des Darstellungsprozesses sind die Nonylphenole bzw. deren Ethoxylate komplexe Isomeregemische. Nach ihrem Gebrauch werden die Ethoxylate in den Kläranlagen biologisch abgebaut und es gelangen hauptsächlich die oben genannten Abbauprodukte über die Kläranlagenabläufe in die Umwelt. Die Hauptabbauprodukte gehören zu den mengenmäßig bedeutsamen Xenoestrogenen. Ihre Toxizität, vor allem für aquatische Lebewesen, und die estrogenen Aktivität wurden in den letzten 20 Jahren mehrfach nachgewiesen. Seit 1986 wurden unter anderem deswegen nationale und internationale Anstrengungen unternommen, um den Einsatz der persistenten Abbauprodukte zu reglementieren.

Es sollte ein Analyseverfahren entwickelt werden, indem die Bestimmung der vier Hauptabbauprodukte in Lebensmittel-, Biofilm- und Flusswasserproben unter gleichen Bedingungen möglich war. Nach der entsprechenden Probenvorbereitung und der Zugabe der entsprechenden internen Standards wurden die Analyten mit einer Wasserdampfdestillation mit gleichzeitiger Flüssig-Flüssig-Extraktion aus der Probe extrahiert. Dieser Extrakt wurde mittels Normalphasen-HPLC mit Fluoreszenz-Detektion aufgereinigt und anschließend mit MTBSTFA derivatisiert. Die Quantifizierung erfolgte mittels GC-MS unter Verwendung eines LV-Injektors. Die 4-NP-Isomere konnten in elf Peaks, die 4-NP1EO-Isomere und die 4-NP2EO-Isomere jeweils in neun Peaks aufgetrennt werden. 4-tert.-OP besteht dagegen nur aus einer einzigen Molekülart. Nach diesem Verfahren sollten die Verteilungsmuster der 4-NP-, 4-NP1EO- und 4-NP2EO-Isomere in den Proben untersucht werden, um evt. Unterschiede in den Isomerenverteilungen feststellen zu können. Dies war wichtig, da es Unterschiede in der estrogenen Aktivität verschiedener Isomere gibt.

Bei der Entwicklung des modifizierten Analyseverfahrens mussten vor allem die Derivatisierungsbedingungen und die Einstellungen des LV-Injektors im Vergleich zu dem von Heinke, 2000, verwendeten Verfahren verändert werden. Dadurch entstanden Probleme, die schließlich dazu führten, dass dieses modifizierte Analyseverfahren in Kombination mit dem vorhandenen GC-MS-System nicht für die isomerenspezifische Untersuchung von 4-NP1EO und 4-NP2EO in den verschiedenen Proben verwendet werden konnte. Demzufolge konnten nur noch 4-NP und 4-tert.-OP in den Lebensmittel-, Biofilm- und Flusswasserproben untersucht werden.

Lebensmittel:

Es wurden die Gehalte an 4-NP und 4-tert.-OP in Säuglings- und Kleinkinderernährung, inklusive Muttermilch, bestimmt, um daraus die jeweiligen 'daily-intakes' für Säuglinge und Kleinkinder abschätzen zu können. Säuglinge und Kleinkinder haben eine größere Empfind-

lichkeit im Bezug auf Störungen durch hormonell-aktive Substanzen. Sie befinden sich noch in der Entwicklungsphase und können unter anderem deswegen und aufgrund qualitativer und quantitativer Unterschiede in ihrem Ernährungsverhalten nicht als „kleine Erwachsene“ angesehen werden. Deswegen wurde die so genannte DONALD-Studie, eine spezielle Ernährungsstudie, in der ausschließlich die Ernährungsgewohnheiten von Säuglingen und Kleinkindern in Deutschland untersucht werden, herangezogen. Die Verzehrswerte aus dem berücksichtigten Untersuchungszeitraum von 1995 bis 2000 wurden in 24 verschiedenen Lebensmittel-Kategorien getrennt nach Säuglings- und Kleinkindernahrung unterteilt. Anhand dieser Werte konnte für jede der 24 Lebensmittel-Kategorien genau die Probe untersucht werden, die am häufigsten verzehrt worden war. Die Angabe der Verzehrswerte erfolgte exakt in $\text{g/Tag} \cdot \text{kg Körpergewicht}$ unterteilt nach Altersstufen, nach Geschlecht und jeweils nach Minimal- (Median) und Maximalverzehrer (95. Perzentil).

Die Lebensmittelproben wiesen 4-NP-Gehalte von bis zu $13,0 \mu\text{g/kg}$ und von bis zu $616,4 \text{ ng/kg}$ für 4-tert.-OP auf. Dabei schwankte das Verhältnis von 4-tert.-OP zu 4-NP so stark, dass aus dem Gehalt des einen 4-AP nicht auf den Gehalt des anderen geschlossen werden konnte.

Für 4-NP lagen die daraus berechneten 'daily-intakes' für Maximalverzehrer bei Säuglingen (bis zwölf Monate) je nach Alter und Geschlecht zwischen $0,23$ und $0,66 \mu\text{g/Tag} \cdot \text{kg Körpergewicht}$ und entsprechend bei Kleinkindern (ein bis drei Jahre) zwischen $0,15$ und $0,37 \mu\text{g/Tag} \cdot \text{kg Körpergewicht}$. Wenn man in Betracht zieht, dass Säuglinge und Kleinkinder empfindlicher als Erwachsene auf hormonelle Wirkungen von Umweltchemikalien reagieren können und die abgeschätzten 'daily-intakes' bezogen auf kg Körpergewicht ähnlich hohe Werte wie für einen Erwachsenen liefern, dann muss für Säuglinge ein wesentlich höheres Gefährdungspotential angenommen werden. Des Weiteren ist eine Aufnahme von Abbauprodukten der 4-APEO über den perkutanen und inhalativen Weg für Säuglinge und Kleinkinder aufgrund anderer Verhaltensweisen wahrscheinlicher und vergrößert das Gefährdungspotential zusätzlich.

Für 4-tert.-OP ergaben die entsprechenden Berechnungen der 'daily-intakes' Werte zwischen $11,9$ und $22,5 \text{ ng/Tag} \cdot \text{kg Körpergewicht}$ bei Säuglingen und bei Kleinkindern Werte zwischen $6,1$ und $11,9 \text{ ng/Tag} \cdot \text{kg Körpergewicht}$. Ein Vergleich des 'daily-intakes' für 4-tert.-OP zwischen Erwachsenen und Säuglingen bzw. Kleinkindern war nicht möglich, da für Erwachsene bisher kein Wert für den 'daily-intake' von 4-tert.-OP existiert.

Ebenso differierten die Isomerenverteilungen je nach Probe unterschiedlich stark von der 4-NP-Standardlösung. Ein Zusammenhang zwischen diesen Unterschieden und der Art bzw. der Zusammensetzung der Lebensmittelproben war nur bei den Proben, die nach dem Analyseverfahren für 4-NP untersucht worden waren, festzustellen. So waren z.B. die Differenzen zwischen vegetarischen Proben und der 4-NP-Standardlösung besonders hoch.

Biofilme:

Erstmalig sollten die Gehalte in Biofilmen bestimmt werden. Sie werden nicht nur als Lebensraum für Bakterien, Algen, Pilze, und Protozoen angesehen, sondern auch für mehrzellige

Organismen wie z.B. Fadenwürmer, Milben und Insektenlarven, die am Beginn der Nahrungskette stehen. Dafür wurden zehn Biofilmproben aus Flüssen in NRW gesammelt. Zusätzlich wurden vier Flusswasserproben an derselben Stelle und zur selben Zeit entnommen, um Akkumulationsfaktoren berechnen zu können. Bisher gab es nur Werte für limnische und marine Sedimente im Allgemeinen, aber nicht für Biofilme im speziellen.

In den Biofilmproben lagen die 4-NP-Gehalte zwischen 0,25 und $\gg 40$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ und für 4-tert.-OP zwischen 28,1 und 1779,6 ng/kg bezogen auf das Feuchtgewicht. Bezogen auf die Trockenmasse ergaben sich 4-NP-Gehalte von 0,6 bis 191,57 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TM und von 56,8 bis 9416,6 ng/kg TM für 4-tert.-OP. Die Flusswasserproben wiesen 4-NP-Gehalte von bis zu 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ und von bis zu 13,4 ng/kg für 4-tert.-OP auf. Dabei schwankte das Verhältnis von 4-tert.-OP zu 4-NP so stark, dass wie bei den Lebensmittelproben aus dem Gehalt des einen 4-AP nicht auf den Gehalt des anderen geschlossen werden konnte.

Wenn man die ermittelten Gehalte in Flusswasser- und Biofilmproben mit den LOEC-Werten für die verschiedensten aquatischen Lebewesen verglich, stellte sich heraus, dass die Gehalte in den Flusswasserproben keinen estrogenen Effekt ausüben können. Durch die Bioakkumulation in Biofilme, die als Lebensraum für die verschiedensten aquatischen Lebewesen angesehen werden können, werden teilweise Konzentrationen erreicht, die für viele den LOEC-Wert überschreiten.

Für vier Probenpaare wurden Akkumulationsfaktoren zwischen 114 und 1388 für 4-NP und 74 und 133 für 4-tert.-OP berechnet. Damit lagen sie im Bereich der üblicherweise in der Literatur zitierten Werte für aquatische Lebewesen.

Ebenfalls differierten wie bei den Lebensmitteln die Isomerenverteilungen je nach Probe unterschiedlich stark von der 4-NP-Standardlösung. Für einige Isomere wurde festgestellt, dass sie im Verhältnis mehr in den Biofilmproben vorkamen und andere Isomere dagegen höhere Werte in den Flusswasserproben aufwiesen. Dies zeigt, dass eine isomerenspezifische Analytik der 4-AP sehr wichtig für eine toxikologische Bewertung der Gehalte ist, da sich die estrogenen Aktivität der einzelnen Isomere stark unterscheidet.

6. Literaturverzeichnis

- Abadi Y, Galil N; 2000; Comparative study of oil accumulation characteristics in attached and suspended growth reactors; ; *Wat Sci Tech* 42, No. 1-2; 1-5
- Ahel M, Giger W; 1985; Determination of alkylphenols and alkylphenol mono- and diethoxylates in environmental samples by high-performance liquid chromatography; *Anal Chem* 57, 1577-1583
- Alexy U, Kersting M, Sichert-Hellert W, Manz F, Schöch G; 1998; Energy intake and growth of 3- to 36-month-old german infants and children; *Ann Nutr Metab* 42; 68-74
- Alexy U, Kersting M; 1999; Die DONALD-Studie und die Ernährungskonzepte des FKE (Forschungsinstitut für Kinderernährung), Optimierte Mischkost; Hans Marseille Verlag, München; ISBN 3-88616-095-5
- Andersen HR, Andersson AM, Arnold SF, Autrup H, Barfoed M, beresford NA, Bjerregaard P, Christiansen LB, Gissel B, Hummel R, Jørgensen EB, Korsgaard B, Le Guevel R, Leffers H, McLachlan J, Møller A, Nielsen JB, Olea N, Oles-Karasko A, Pakdel F, Pedersen KL, Perez P, Skakkebaek NE, Sonnenschein C, Soto AM, Sumpter JP, Thorpe SM, Grandjean P; 1999; Comparison of short-term estrogenicity tests for identification of hormone-disrupting chemicals; *Environ Health Perspect* 107, Supplement 1; 89-108
- Andersson AM, Skakkebaek NE; 1999; Exposure to exogenous estrogens in food: possible impact an human development and health; *Europ J Endocrinol* 140; 477-485
- Arnold SF, Klotz DM, Collins BM, Vonier PM, Guillette Jr. LJ, McLachlan JA; 1996; Synergistic activation of estrogen receptor with combinations of environmental chemicals; *Science* 272; 1489-1492
- Aruwke A, Thibaut R, Ingebrigtsen K, Celius T, Goksøyr A, Cravedi JP; 2000; In vivo and in vitro metabolism and organ distribution of nonylphenol in atlantic salmon (*Salmo salar*); *Aquat Toxicol* 49, No. 249; 289-304
- Azevedo DA, Lacorte S, Viana P, Barceló D; 2001; Occurrence of nonylphenol and bisphenol-A in surface waters from Portugal; *J Braz Chem Soc* 12, No. 4; 532-537
- Behl C, Moosmann B; 2001; Neuroprotektive Aktivitäten von Estrogen; *Nachrichten aus der Chemie* 49; 332-336
- Bennetau-Pelissero C, Latonnel K, Séqueire A, Lamothe V; 2000; Phytoestrogens, endocrine disruptors from food; *Analisis* 28, Nr. 9; 763-775
- Bester K, Theobald N, Schröder HF; 2001; Nonylphenols, nonylphenol-ethoxylates, linear alkylbenzenesulfonates (LAS) and bis(4-chlorophenyl)-sulfone in the German Bight of the North Sea; *Chemosphere* 45; 817-826
- bgvv (Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin); 1999; www.bgvv.de/fbs/chem/civs/2515452.htm (mittlerweile BfR - Bundesinsitut für Risikoforschung)
- Blackburn MA, Waldock MJ; 1995; Concentrations of alkylphenols in rivers and estuaries in England and Wales; *Water Res* 29; 1623-1629
- Blume B, Kietzmann M, Kränke P, Möder M, Schrader S, Wahren M; 2000; Deuterium labelled nonylphenols in an in-vitro model of percutaneous absorption of environmental xenoestrogens; *Isotopes Environ Health Stud* 36; 3-9

- Bøgh IB, Christensen P, Danntzer V, Groot M, Thøfner ICN, Rasmussen RK, Schmidt M, Greve T; 2001; Endocrine disrupting compounds: effect of Octylphenol on reproduction over three generations; *Theriogenology* 55; 131-150
- Bolt HM, Janning P, Michna H, Degen GH; 2001; Comparative assessment of endocrine modulators with oestrogenic activity: I. Definition of a hygiene-based margin of safety (HB MOS) for xeno-oestrogens against the background of European developments; *Arch Toxicol* 74; 649-662
- Brown RJ, Conradi M, Depledge; 1999; Long-term exposure to 4-nonylphenol affects sexual differentiation and growth of the amphipod *Corophium volutator* (Pallas, 1766); *Sci Total Environ* 233; 77-88
- Brunk BK, Jirka GH, Lion LW; 1997; Effects of salinity changes and the formation of dissolved organic matter coatings on the sorption of phenanthrene; implications for pollutant trapping in estuaries; *Environ Sci Technol* 31, No. 1; 119-125
- Brzozowski AM, Pike ACE, Dauter Z, Hubbard RE, Bonn T, Engström O, Öhman L, Greene GL, Gustafsson, Carlquist M; 1997; Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor; *Nature* 389; 753-758
- BUA (Beratergremium für umweltrelevante Altstoffe); 1988; Stoffbericht „Nonylphenol“; BUA-Stoffbericht 13; Gesellschaft Deutscher Chemiker; Wiley-VCH, Weinheim
- Buddecke E; 1989; Grundriss der Biochemie; 8. Auflage; Walter de Gruyter, Berlin; ISBN 3-11-012076-3
- Butte W, Hofmann W, Hostrup O, Schmidt A, Walker G; 2001; Endokrin wirksame Substanzen im Hausstaub: Ergebnisse eines repräsentativen Monitorings; *Gefahrstoffe – Reinhalt Luft* 61, Nr. 1/2; 19-23
- CBR (Center for Bioenvironmental Research); 2002; Milestones in environmental hormone research; New Orleans; www.som.tulane.edu/ecme/eehome/sources/milestones
- Certa H, Fedtke N, Wiegand HJ, Müller AMF, Bolt HM; 1996; Toxicokinetics of p-tert-octylphenol in male Wistar rats; *Arch Toxicol* 71; 112-122
- Chapin RE, Delaney J, Wang Y, Lanning L, Davis B, Collins B, Mintz N, Wolfe G; 1999; The effects of 4-nonylphenol in rats: a multigeneration reproduction study; *Toxicol Sci* 52; 80-91
- Clark LB, Rosen RT, Hartmann TG, Louis JB, Suffert IC, Lippincott RL, Rosen JD; 1992; Determination of alkylphenol ethoxylate and their acetic acid derivatives in drinking water by particle beam liquid chromatography/mass spectrometry; *Int J Environ Anal Chem* 47; 167-180
- Çok I, Görücü E, Şatiroğlu, Demircigil GÇ; 2003; Polychlorinated Biphenyl (PCB) levels in human milk samples from Turkish mothers; *Bull Environ Contam Toxicol* 70; 41-45
- Colborn T, Dumanoski D, Myers JP; 1996; Unsere bedrohte Zukunft (Our stolen future); Droemer Knauer; ISBN 3-426-26864-7
- Coldham NG, Sivapathasundaram S, Dave M, Ashfield LA, Pottinger TG, Goodall C, Sauer MJ; 1998; Biotransformation, tissue distribution, and persistence of 4-nonylphenol residues in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*); *Drug Metab Dispos* 26, No. 4; 347-354
- Colerangle JB, Roy D; 1996; Exposure of environmental estrogenic compound nonylphenol to Noble rats cell-cycle kinetics in the mammary gland; *Endocrine* 4, No. 2; 115-122

- Cornacoff JB, Lauer LD, House RV, Tucker AN, Thurmond LM, Vos JG, Working PK, Dean JH; 1988; Evaluation of the immunotoxicity of β -hexachlorocyclohexane (β -HCH); *Fundam Appl Toxicol* 11; 293-299
- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP; 1999; Bacterial Biofilms: a common cause of persistent infections; *Science* 284; 1318-1322
- Costerton JW, Stewart PS; 2001; Bekämpfung bakterieller Biofilme; *Spektrum der Wissenschaft*; November 01; 58-65
- Cressey PJ, Vannoort RW; 2003; Pesticide content of infant formulae and weaning foods available in New Zealand; *Food Addit Contam* 20, No. 1; 57-64
- Cutler Jr GB; 1997; The role of estrogen in bone growth and maturation during childhood and adolescence; *J Steroid Biochem Molec Biol* 61, No. 3-6; 141-144
- Czaja K, Ludwicki JK, Góralczyk K, Strucinski P; 1997; Organochlorine pesticides, HCB, and PCBs in human milk in Poland; *Bull Environ Contam Toxicol* 58; 769-775
- Dachs J, Van Ry DA, Eisenreich SJ; 1999; Occurrence of estrogenic nonylphenols in the urban and coastal atmosphere of the lower Hudson River estuary; *Environ Sci Technol* 33, No. 15; 2676-2679
- Damgaard IN, Main KM, Toppari J, Skakkebaek NE; 2002; Impact of exposure to endocrine disrupters in utero and in childhood on adult reproduction; *Best Prac Research Clin Endocrinol Metabol* 16, No. 2; 289-309
- Devlin TM; 1997; Textbook of biochemistry with clinical correlations; Wiley-Liss, New York; ISBN 0-471-15451-2
- DIN EN (DIN-Norm) 12880; 02.2001; Bestimmung des Trockenrückstandes und des Wassergehaltes; (Deutsche Fassung EN 12880:2000)
- Derbalah ASH, Nakatani N, Sakugawa H; 2003; Distribution, seasonal pattern, flux and contamination source of pesticides and nonylphenol residues in Kurose River water, Higashi-Hiroshima, Japan; *Geochem J* 37; 217-232
- De Voogt P, Kwast O, Hendriks R, Jonkers N; 2000; Alkylphenol ethoxylates and their degradation products in abiotic and biological samples from the environment; *Analisis* 28; 776-782
- DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft); 1984; Rückstände und Verunreinigungen in Frauenmilch; Verlag Chemie, Weinheim; ISBN 3-527-27333-6
- DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft); 1998; Hormonally Active Agents in Food - Symposium; Huggett et al.; Wiley-VCH, Weinheim; ISBN 3-527-27139-2
- Dickey P; 1997; Troubling bubbles - The case for replacing alkylphenol ethoxylate surfactants; Washington Toxics Coalition, Seattle
- Ding WH, Tzing SH; 1998; Analysis of nonylphenol polyethoxylates and their degradation products in river water and sewage effluent by gas chromatography-ion trap (tandem) mass spectrometry with electron impact and chemical ionization; *J. Chromatogr A* 824; 79-90
- Ding WH, Tzing SH, Lo JH; 1998; Occurrence and concentrations of aromatic surfactants and their degradation products in river waters of Taiwan; *Chemosphere* 38, No. 11; 2597-2606

- Ding WH, Chen CT; 1999; Analysis of nonylphenol polyethoxycarboxylates and their related metabolites by on-line derivatization and ion-trap gas chromatography-mass spectrometry; *J. Chromatogr A* 862; 113-120
- Ding WH, Wu CY; 2000; Determination of estrogenic nonylphenol and Bisphenol A in river water by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry; *J Chin Chem Soc* 47; 1155-1160
- Dodds EC, Lawson W; 1938; Molecular structure in relation to oestrogenic activity. Compounds without a phenantrene nucleus; *Proc Royal Soc Lon B* 125; 222-232
- Drèze V, Monod G, Cravedi JP, Biagianti-Risbourg; Le Gac F; 2000; Effects of 4-nonylphenol on sex differentiation and puberty in Mosquitofish (*Gambusia holbrooki*); *Ecotoxicology* 9; 93-103
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F; 1956; Colorimetric method for determination of sugars and related substances; *Anal Chem* 28, 350-356
- EC (European Commission); 2001a; Empfehlung der Kommission vom 7.November 2001 über die Ergebnisse der Risikobewertung und über die Risikobegrenzungsstrategien für die Stoffe: Acrylaldehyd; Dimethylsulfat; Nonylphenol; Phenol, 4-Nonyl-, verzeigt; tert-Butylmethylether; *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften* (2001/838/EG)
- EC (European Commission); 2001b; Bericht der Kommission über die Aufnahme von Lebensmittelzusatzstoffen in der Europäischen Union; KOM (2001) 542 endgültig; Brüssel
- EWG (Europäische Wirtschaftsgemeinschaft); 1991a; Richtlinie 91/414/EWG des Rates vom 15. Juli 1991 (EG-Amtsblatt Nr. L 230 S. 1) über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln
- EWG (Europäische Wirtschaftsgemeinschaft); 1991b; Richtlinie 91/321/EWG der Kommission vom 14. Mai 1991 über Säuglingsanfangsnahrung und Folgenahrung (ABl. Nr. L 175 S. 53) zuletzt geändert durch Art. 1 ÄndRL 2003/14/EG v. 10.2.2003 (ABl. Nr. L 41 S. 37)
- ECB (European Chemicals Bureau); 2003; Existing Chemicals: Priority-Lists; http://ecb.jrc.it/Priority-Setting/NOMAP/priority_lists_txt.htm
- EPA (Environmental Protection Agency); 1997; Special Report on environmental endocrine disruption: an effects assessment and analysis; EPA/630/R-96/012; www.epa.gov/ORD/WebPubs/endocrine/endocrine.pdf
- EPA (Environmental Protection Agency); 2001; National Toxicology Program's Report of the Endocrine Disruptors Low-Dose Peer Review; ntp-server.niehs.nih.gov/htdocs/liason/LowDoseWebPage.html
- EURACHEM; 1998; The fitness for purpose of analytical methods, A Laboratory guide to method validation and related topics; <http://eurachem.ul.pt/> oder <http://www.uni-stuttgart.de/eurachem/>; First Internet Version, December 1998
- Faustmann EM, Silbernagel SM, Fenske RA, Burbacher TM, Ponce RA; 2000; Mechanism underlying children's susceptibility to environmental toxicants; *Environ Health Perspect* 108, Supplement 1; 13-21
- Ferreira-Leach AMR, Hill EM; 2000; Bioconcentration and metabolism of 4 tert-octylphenol in roach (*Rutilus rutilus*) fry; *Analisis* 28, No. 9; 789-792

- Ferreira-Leach AMR, Hill EM; 2001; Bioconcentration and distribution of 4-tert-octylphenol residues in tissues of the rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*); *Marine Environ Research* 51; 75-89
- Filisetti-Cozzi TMCC, Carpita NC; 1991; Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars; *Anal Biochem* 197; 157-162
- Flemming HC, Wingender J; 2001a; Biofilme – die bevorzugte Lebensform der Bakterien; *Biologie in unserer Zeit* 3; 169-180
- Flemming HC, Wingender J; 2001b; Relevance of microbial extracellular polymeric substances (EPSs) – Part I: structural and ecological aspects; *Wat Sci Tech* 43, No. 6; 1-8
- Flemming HC, Wingender J; 2002; Was Biofilme zusammenhält; *Chemie in unserer Zeit* 1; 30-42
- Foster WG; 1998; Endocrine Disruptors and development of the reproductive system in the fetus and children: is there cause for concern?; *Can J Pub Health* 89, Supplement 1; 37-41
- Fritsche S, Steinhart H; 1999; Occurrence of hormonally active compounds in food: a review; *Eur Food Res Technol* 209; 153-179
- Fritsche W; 2002; *Mikrobiologie*; Spektrum Akademischer Verlag GmbH; ISBN 3-8274-1107-6
- Frølund B, Palmgren R, Keiding K, Nielsen PH; 1996; Extraction of extracellular polymers from activated sludge using cation exchange resin; *Wat Res* 30, No. 8; 1749-1758
- Gellert RJ; 1978; Kepone, Mirex, Dieldrin, and Aldrin: estrogenic activity and the induction of persistent vaginal estrus and anovulation in rats following neonatal treatment; *Environ Research* 16; 131-138
- Ferguson PL, Iden CR, Brownawell BJ; 2000; Analysis of alkylphenol ethoxylate metabolites in the aquatic environment using liquid chromatography-electrospray mass spectrometry; *Anal Chem* 72, No. 18; 4322-4330
- Funk W, Damann V, Vonderheid C, Oehlmann G; 1985; *Statistische Methoden in der Wasseranalytik*; VCH Verlagsgesellschaft; ISBN 3-52-726307-1
- Gianotti J, Stettler G, haggi E, Pajares A, Bertolotti SG, Garcia NA; 1998; Kinetics of the sensitized photodegradation of nonylphenol; *Toxicol Environ Chem* 67; 461-470
- Giesy JP, Pierens SL, Snyder EM, Miles-Richardson S, Kramer VJ, Snyder SA, Nichols KM, Villeneuve DA; 2001; Effects of 4-nonylphenol on fecundity and biomarkers of estrogenicity in fathead minnows (*Pimephales promelas*); *Environ Toxicol Chem* 19, No. 5; 1368-1377
- Gray MA, Metcalfe CD; 1997; Induction of testis-ova in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to p-nonylphenol; *Environ Toxicol Chem* 16, No. 5; 1082-1086
- Groer MW, Humenick S, Wilson J; 2002; Selection of subjects for human milk surveillance and research studies; *J Toxicol Environ Health, Part A*, 65; 1853-1865
- Gülden M, Turan A, Seibert H; 1997; Substanzen mit endokriner Wirkung in Oberflächengewässern; *Umweltbundesamt Texte* 46/97; UBA-FB 97-068; ISSN 0722-186X
- Günther K, Dürbeck HW, Kleist E, Thiele B, Prast H, Schwuger M; 2001; Endocrine-disrupting nonylphenols – ultra-trace analysis and time-dependent trend in mussels from the German Bight; *Fresenius J Anal Chem* 371; 782-786

- Günther K, Heinke V, Thiele B, Kleist E, Prast H, Räcker T; 2002a; Endocrine disrupting nonylphenols are ubiquitous in food; *Environ Sci Technol* 36; 1676 - 1680
- Günther K; 2002b; persönliche Mitteilung am Forschungszentrum Jülich
- Günther K, 2003; persönliche Mitteilung am Forschungszentrum Jülich
- Hansen PD, Dizer H, Hock B, Marx A, Sherry J, McMaster M, Blaise C; 1998; Vitellogenin – a biomarker for endocrine disruptors; *Trends Anal Chem* 17, No. 7; 448-451
- Harris CA, Santos EM, Janbakhsh A, Pottinger TG, Tyler CR, Sumpter JP; 2001; Nonylphenol affects gonatropin levels in the pituitary gland and plasma of female Rainbow trout; *Environ Sci Technol* 35, No. 14; 2909-2916
- Headley JV, Gandrass J, Kuballa J, Peru KM, Gong Y; 1998; Rates of sorption and partitioning of contaminants in river biofilm; *Environ Sci Technol* 32, No. 24; 3968-3973
- Heinke V; 2000; Bestimmung von 4-Nonylphenolen in Lebensmitteln aus dem bundesdeutschen Handel: Eine Studie zur Ermittlung der durchschnittlichen Tagesaufnahme; Dissertation an der Universität Bonn
- Hemmer MJ, Hemmer BL, Bowman CJ, Kroll KJ, Folmar LC, Marcovich D, Hoglund MD, Denslow ND; 2001; Effects of p-nonylphenol, methoxychlor, and endosulfan on vitellogenin induction and expression in Sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*); *Environ Toxicol Chem* 20; 336-343
- Heudorf U; 2001; Polychlorierte Biphenyle (PCB) im Blutplasma von Kindern und Jugendlichen; *Monatszeitschrift Kinderheilkunde* PP228, Supplement 2; 202
- Hock B, Rothe S, Seifert M; 2000; Hormone in der Umwelt – die Tests im Überblick; *Nachrichten aus der Chemie* 48; 918-924
- Howdeshell KL, Hotchkiss AK, Thayer KA, Vandenberg JG, Vom Saal FS; 1999; Exposure to Bisphenol A advances puberty; *Nature* 401; 763-764
- Inoue K, Kondo S, Yoshie Y, Kato K, Yoshimura Y, Horie M, Nakazawa H; 2001; Migration of 4-nonylphenol from polyvinyl chloride food packaging films into food simulants and foods; *Food Addit Contam* 18, No. 2; 157-164
- Isobe T, Nishiyama H, Nakashima A, Takada H; 2001; Distribution and behaviour of nonylphenol, octylphenol, and nonylphenol monoethoxylate in Tokyo metropolitan area: their association with aquatic particles and sedimentary distributions; *Environ Sci Technol* 35, 1041-1049
- JRC (Joint Research Center); 2002; 4-Nonylphenol (branched) and Nonylphenol – Summary Risk Assessment Report; United Kingdom; Special Publication I.02.69
- Kaiser J; 2000; Endocrine disrupters: Panel cautiously confirms low-dose effects; *Science* 290, No. 5492; 695-697
- Kannan N, Yamashita N, Petrick G, Diunker JC; 1998; Polychlorinated biphenyls and nonylphenols in the sea of Japan; *Environ Sci Technol* 32, No. 12; 1747-1753
- Kannan K, Keith TL, Naylor CG, Staples CA, Snyder SA, Giesy JP; 2003; Nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in fish, sediment, and water from the Kalamazoo River, Michigan; *Arch Environ Contam Toxicol* 44; 77-82
- Karlson P, 1989; *Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler*; 13. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart; ISBN 3-13-357813-8

- Karlsson H, Oehme M, Skopp S, Burkow IC; 2000; Enantiomer ratios of chlordane congeners are gender specific in cod (*Gadus morhua*) from the Barents Sea; *Environ Sci Technol* 34; 2126-2130
- Kavlock RJ, Daston GP, DeRosa C, Fenner-Crisp P, Gray LE, Kaattari S, Lucier G, Luster M, Mac MJ, Maczka C, Miller R, Moore J, Rolland R, Scott G, Sheehan DM, Sinks T, Tilson HA; 1996; Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the U.S. EPA-sponsored workshop; *Environ Health Perspect* 104, Supplement 4; 715-740
- Kawamura Y, Maehara T, Iijima H, Yamada T; 2000a; Nonylphenol in food contact plastics and toys; *J Food Hyg Soc Jpn* 41, No. 3; 212-218
- Kawamura Y, Maehara T, Wakui C, Yamada T; 2000b; Migration of plasticizers and nonylphenol from polyvinyl chloride gloves; *J Food Hyg Soc Jpn* 41, No. 5; 330-334
- Keevil CW, Godfree, Holt D, Dow C; 1999; *Biofilms in the aquatic environment*; The Royal Society of Chemistry; ISBN 0-85404-758-1
- Keith TL, Snyder SA, Naylor CG, Staples CA, Summer C, Kannan K, Giesy JP; 2001; Identification and quantification of nonylphenol ethoxylates and nonylphenol in fish tissues from Michigan; *Environ Sci Technol* 35, No. 1; 10-13
- Kersting M, Alexy U, Sichert-Hellert W, Manz F, Schöch G; 1998a; Measured consumption of commercial infant food products in German infants: results from the DONALD study; *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 27, No. 5; 547-552
- Kersting M, Sichert-Hellert W, Alexy U, Manz F, Schöch G; 1998b; Ernährung, Stoffwechsel, Wachstum und Entwicklung von Säuglingen, Kindern und Jugendlichen – die DONALD-Studie; *Verbraucherdienst* 43; 609-614
- Khim JS, Lee KT, Kannan K, Villeneuve DL, Giesy JP, Kohl CH; 2001; Trace organic contaminants in sediment and water from Ulsan Bay and its vicinity, Korea; *Arch Environ Contam Toxicol* 40; 141-150
- Khurana S, Ranmal S, Ben-Jonathan N; 2000; Exposure of newborn male and female rats to environmental estrogens: delayed and sustained Hyperprolactinemia and alterations in estrogen receptor expression; *Endocrinology* 141, No. 12; 4512-4517
- Kojima M, Tsunoi S, Tanaka M; 2003; Determination of alkylphenols by novel derivatization and gas chromatography-mass spectrometry; *J Chromatogr A* 984; 237-234
- Kolpin DW, Furlong ET, Meyer MT, Thurmann EM, Zaugg SD, Barber LB, Buxton HAT; 2002; Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999 – 2000: a national reconnaissance; *Environ Sci Technol* 36, No. 6; 1202-1211
- Krauss G; 1997; *Biochemie der Regulation und Signaltransduktion*; Wiley-VCH Weinheim; ISBN 3-527-29393-0
- Kuch HM, Ballschmitter KH; 2001; Determination of endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCI)-MS in the picogram per liter range; *Environ Sci Technol* 35, No. 15; 3201-3206
- Kübler W, Anders HJ, Heeschen W; 1995; *VERA-Schriftenreihe Band XI., Ergebnisse der Nationalen Verzehrsstudie (1985-1988) über die Lebensmittel- und Nährstoffaufnahme in der Bundesrepublik Deutschland*; Wissenschaftlicher Fachverlag Dr. Fleck

- Kuiper GGJM, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Häggblad J, Nilsson S, Gustafsson JA; 1997; Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of the estrogen receptors α and β ; *Endocrinology* 138, No. 3; 863-870
- Kwak HI, Bae MO, Lee MH, Lee MH, Lee YS, Lee BJ, Kang KS, Chae CH, Sung AJ, Shin JS, Kim JH, Mar WC; 2001; Effects of nonylphenol, bisphenol A, and their mixture on the viviparous swordtail fish (*Xiphophorus helleri*); *Environ Toxicol Chem* 20, No. 4; 787-795
- Labare ML, Coon SL, Matthias C, Weiner RM; 1997; Magnification of tributyl tin toxicity to Oyster larvae by bioconcentration in biofilms of *Shewanella colwelliana*; *App Environ Microbiol* 63, No. 10; 4107-4110
- Lackmann GM, Töllner U, Angerer J; 2001; Innere Belastung mit PCB und HCB – aktualisierte Referenzwerte für Neugeborene; *Monatszeitschrift Kinderheilkunde* PP215, Supplement 2; 202
- Latorre A, Lacorte S, Barceló D; 2003; Presence of nonylphenol, octylphenol and bisphenol A in two aquifers close to agricultural, industrial and urban areas; *Chromatographia* 57, No. 1/2; 111-116
- Lawrence JR, Kopf G, Headley JV, Neu TR; 2001; Sorption and metabolism of selected herbicides in river biofilm communities; *Can J Microbiol* 47; 634-641
- Le Blanc GA, Mu X, Rider CV; 2000; Embryotoxicity of the alkylphenol degradation product 4-nonylphenol to the crustacean *Daphnia magna*; *Environ Health Perspect* 108, No. 12; 1133-1138
- Lech JJ, Lewis SK, Ren L; 1996; In vivo estrogenic activity of nonylphenol in Rainbow trout; *Fundamen Appl Toxicol* 30; 229-232
- Lee HB, Peart TE; 1995; Determination of 4-nonylphenol in effluent and sludge from sewage treatment plants; *Anal Chem* 67; 1976-1980
- Lee PC, Lee W; 1996; In vivo estrogenic action of nonylphenol in immature female rats; *Bull Environ Contam Toxicol* 57; 341-348
- Lee OC, Marquardt M, Lech JJ; 1998; Metabolism of nonylphenol by rat and human microsomes; *Toxicol Letters*; 117-126
- Lee KT, Khim JS, Kannan K, Vielleneuve DL, Giesy JP, Koh CH; 2000; Instrumental analysis of dioxin-like compounds in environmental samples from Ulsan Bay, Korea; *Organohal Comp* 46; 455-458
- Lee PC, Ho P, Jelinek BH, Struve M; 2000; Modulation of rat epididymal γ -glutamyl transpeptidase by nonylphenol; *Xenobiotica* 30, No. 8; 771-779
- Lee Ferguson P, Iden CR, Brownawell BJ; 2001; Distribution and fate of neutral alkylphenol ethoxylate metabolites in a sewage-impacted urban estuary; *Environ Sci Technol* 35, No. 12; 2428-2435
- Leisewitz A, Schwarz W; 1997; Stoffströme wichtiger endokrin wirksamer Industriechemikalien (Bisphenol A; Dibutylphthalat/Benzylbutylphthalat; Nonylphenol/ Alkylphenolethoxylate); *Forschungsbericht* 106 01 076 des Umweltbundesamtes
- Lin JG, Arunkumar R, Liu CH; 1999; Efficiency of supercritical fluid extraction for determining 4-nonylphenol in municipal sewage sludge; *J. Chromatogr A* 840; 71-79
- LUA (Landesuntersuchungsamt) NRW; 2001; Konzentrationen von 2001 – 2002; LUA NRW, Willemsen HG, Fachbereich 54, Essen

- Lye CM, Frid CLJ, Gill ME, Cooper DW, Jones DM; 1999; Estrogenic alkylphenols in fish tissues, sediments, and waters from the U.K. Tyne and Tees estuaries; *Environ Sci Technol* 33, No. 7; 1009-1014
- Madigou T, Le Goff P, Salbert G, Cravedi JP, Segner H, Pakdel F, Valotaire Y; 2001; Effects of nonylphenol on estrogen receptor conformation, transcriptional activity and sexual reversion in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*); *Aquat Toxicol* 53; 173-186
- Manzano MA, Perales JA, Sales D, Quiroga JM; 1999; The effect of temperature on the biodegradation of a nonylphenol polyethoxylate in river water; *Wat Res* 11; 2593-2600
- McDowall RD; 1998; The next in line?; *LC·GC Int*; 298-302
- Mena MA, Arriaza CA, Tchernitchin AN; 1992; Early postnatal androgenization imprints selective changes in the action of estrogens in the rat uterus; *Biol Reprod* 46; 1080-1085
- Milligan SR, Khan O, Nash M; 1998; Competitive binding of xenobiotic oestrogens to rat alpha-Fetoprotein and to sex steroid binding proteins in human and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) plasma; *Gener Compar Endocrinol* 112; 89-95
- Mishra R, Johnson S, Vankar PS; 2002; Pesticide residue analysis of infant formula in India; *Bull Environ Contam Toxicol* 69; 667-673
- Moffat GF, Burns A, Van Miller J, Joiner R, Ashby J; 2001; Glucuronidation of nonylphenol and octylphenol eliminates their ability to activate transcription via the estrogen receptor; *Regular Toxicol Pharmacol* 34; 182-187
- Mol HGJ, Sunarto S, Steijger OM; 2000; Determination of endocrine disruptors in water after derivatization with N-methyl-N-(tert.-butyldimethyltrifluoroacetamide) using gas chromatography with mass spectrometric detection; *J Chromatogr A* 879; 97-112
- Monteiro-Riviere NA, Van Miller JP, Simon G, Joiner RL, Brooks JD, Riviere JE; 2000; Comparative in vitro percutaneous absorption of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates (NPE-4 and NPE-9) through human, porcine and rat skin; *Toxicol Industr Health* 16; 49-57
- Müller GC, Kim UH; 1978; Displacement of estradiol from estrogen receptors by simple alkylphenols; *Endocrin* 102; 1429-1435
- Müller S, Schmid P, Schlatter C; 1998a; Evaluation of the estrogen potency of nonylphenol in non-occupationally exposed humans; *Environ Toxicol Pharmacol* 6; 27-33
- Müller S, Schmid P, Schlatter C; 1998b; Pharmacokinetic behaviour of nonylphenol in humans; *Environ Toxicol Pharmacol* 5; 257-265
- Murono EP, Derk RC, de León JH; 1999; Biphasic effects of octylphenol on testosterone biosynthesis by cultured Leydig cells from neonatal rats; *Reprod Toxicol* 13; 451-462
- Nagao T, Fujikawa K, Ono H; 2000; Two-generation approach to evaluate the reproductive effects of the environmental estrogens, butyl benzyl phthalate and nonylphenol; *Congen Anomal* 40; 121-127
- Nagao T, Yoshimura S, Saito Y, Nakagomi M, Usumi K, Ono H; 2001; Reproductive effects in male and female rats of neonatal exposure to Genistein; *Reprod Toxicol* 15; 399-411
- Nemoto S, Takatsuki S, Sasaki K, Toyoda M; 2000; Determination of nonylphenol in fish on the market; *J Food Hyg Soc Jpn*; 377-380
- NRC (National Research Council); 1993; *Pesticides in the Diets of Infants and Children*; National Academy Press, Washington; ISBN 0-309-04875-3

- Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Tillmann M, Markert B; 2000; Effects of endocrine disruptors on prosobranch snails (Mollusca: Gastropoda) in the laboratory. Part I: Bisphenol A and Octylphenol as xeno-estrogens; *Ecotoxicology* 9; 383-397
- Paris F, Balaguer P, Térouanne B, Servant N, Lacoste C, Cravedi JP, Nicolas JC, Sultan C; 2002; Phenylphenols, biphenols, bisphenol-A, 4-tert-octylphenol exhibit α and β estrogen activities and antiandrogen activity in reporter cell lines; *Mol Cell Endocrinol* 193; 43-49
- Payne J, Rajapakse N, Wilkins M, Kortenkamp A; 2000; Prediction and Assessment of the effects of mixtures for four xenoestrogens; *Environ Health Perspect* 108, No. 10; 983-987
- Pedersen RT, Hill EM; 2000; Biotransformation of the xenoestrogen 4-tert-octylphenol in hepatocytes of rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*); *Xenobiotica* 30, No. 9; 867-879
- Petrick G, Schulz-Bull DE, Duinker JC; 1992; Analyse von polychlorierten Biphenylen und anderen organischen Spurenstoffen im Trinkwasser; *Z Wasser – Abwasser-Forsch* 25; 115-121
- Petrovic M, Barcelo D; 2000; Determination of anionic and nonionic surfactants, their degradation products, and endocrine-disrupting compounds in sewage sludge by liquid chromatography/mass spectrometry; *Anal Chem* 72; 4560-4567
- Petrovic M, Barcelo D; 2001; Determination of phenolic xenoestrogens in environmental samples by liquid chromatography with mass spectrometric detection; *J AOAC International* 84, No. 4; 1074-1085
- Pryor JL, Hughes C, Foster W, Hales BF, Robaire B; 2000; Critical windows of exposure for children's health: the reproductive system in animals and humans; *Environ Health Perspect* 108, Supplement 3; 491-503
- Rajapakse N, Silva E, Kortenkamp A; 2002; Combining xenoestrogens at levels below individual no-observed-effect concentrations dramatically enhances steroid hormone action; *Environ Health Perspect* 110, No.9; 917-921
- Reasoner DJ, Geldreich EE; 1985; A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water; *Appl Environ Microbiol* 49, No. 1; 1-7
- Reichert; 2002; persönliche Mitteilung von Dr. Reichert (Niersverband)
- Rippen; 2003; Handbuch Umwelt-Chemikalien; 62. Ergänzungslieferung; Stand: Februar 2003
- Rodgers-Gray TP, Jobling S, Kelly C, Morris S, Brighty G, Waldock MJ, Sumpter JP, Tyler CR; 2001; Exposure of juvenile roach (*Rutilus rutilus*) to treated sewage effluent induces dose-dependent and persistent disruption in gonadal duct development; *Environ Sci Technol* 35; No. 3; 462-470
- Rolfes J, Andersson; 2001; Determination of alkylphenols after derivatization to ferrocene-carboxylic acid esters with gas chromatography-atomic emission detection; *Anal Chem* 73, No. 13; 3073-3082
- Routledge EJ, Sumpter JP; 1996; Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen; *Environ Toxicol Chem* 15, No. 3; 241-248
- Routledge EJ, Sumpter JP; 1997; Structural Features of alkylphenolic chemicals associated with estrogenic activity; *J Bio Chem* 272, No. 6; 3280-3288

- Rudel RA, Melly SJ, Geno PW, Sun G, Brody JG; 1998; Identification of alkylphenols and other estrogenic phenolic compounds in wastewater, septage, and groundwater on Cape Cod, Massachusetts; *Environ Sci Technol* 32, No. 7; 861-869
- Rudel RA, Brody JG, Spengeler JD, Vallarino J, Geno PW, Sun G, Yau A; 2001; Identification of selected hormonally active agents and animal mammary carcinogens in commercial and residential air and dust samples; *J Air Waste Manage Assoc* 51; 499-513
- Rudel R, Swartz C, Brody, JG, Camann D, Yau A, Zunigfa M, Spengeler JD; 2002; Residential indoor air and dust measures for pesticides, alkylphenols, phthalates, and other endocrine disruptors; *Epidemiology* 13, No. 4 Supplement; 663; 198
- Sabik H, Gagné F, Blaise C, Marcogliese DJ, Jeannot R; 2003; Occurrence of alkylphenol polyethoxylates in the St. Lawrence River and their bioconcentration by mussels (*Elliptio complanata*); *Chemosphere* 51; 349-356
- Sasaki K, Takatsuki S, Nemotto S, Imanaka M, Eot S, Murakami E, Toyoda M; 1999; Determination of alkylphenols and 2,4-dichlorophenol in foods; *J Food Hyg Soc Jpn*; 460-472
- Satoh K, Nagai F, Aoki N; 2001; Several environmental pollutants have binding affinities for both androgen receptor and estrogen receptor α ; *J Health Sci* 47, No. 5; 495-501
- Servos MR; 1999; Review of the aquatic toxicity, estrogenic responses and bioaccumulation of the alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates; *Water Qual Res J Canada* 34; 123-177
- Schäfer WR, Zahradnik HP, Brückner B, Herrmann T; 1997; Chlororganische Umweltchemikalien und Xenoöstrogene im menschlichen Endometrium; *Umweltmed Forsch Prax* 2, No. 4; 281-288
- Scharf S, Sattelberger R, Lorbeer G; 1998; Potentiell hormonell aktive Substanzen in der aquatischen Umwelt – erste Untersuchungsergebnisse aus Österreich; *Wiener Mitteilungen Wasser · Abwasser · Gewässer Band 153*; 46 ff; ISBN 3-85234-044-6
- Schechter A, Wallace, Pavuk M, Piskac A, Pöpke O; 2002; Dioxins in commercial United States baby food; *J Toxicol Environ Health, Part A* 65; 1937-1943
- Schmitt J, Nivens D, White DC, Flemming HC; 1995; Changes of biofilm properties in response to sorbed substances – an FTIR-ATR-study; *Wat Sci Technol* 32; 149-155
- Sharpe RM, Fisher JS, Millar MM, Jobling S, Sumpter JP; 1995; Gestational and lactational exposure of rats to xenoestrogens results in reduced testicular size and sperm production; *Environ Health Perspect* 103, No. 12; 1136-1143
- Silva E, Rajapakse N, Kortenkamp A; 2002; Soemthing from “nothing” – eight weak estrogen chemicals combined at concentrations below NOECs produce significant mixture effects; *Environ Sci Technol* 36, No. 8; 1751-1756
- Snyder SA, Keith TL, Naylor CG, Staples CA, Giesy JP; 2001; Identification and quantification method for nonylphenol and lower oligomer nonylphenol ethoxylates in fish tissue; *Environ Toxicol Chem* 20, No. 9; 1870-1873
- Solé M, Castillo M, Lopez de Alda MJ, Porte C, Barceló D ; Estrogenicity determination in carp, *Cyprinus carpio*: a laboratory and field approach ; *Analisis* 28, No. 9; 783-788
- Solé M, Lopez de Alda MJ, Castillo M, Porte C, Ladegaard-Pedersen K, Barceló D; 2000; Estrogenicity determination in sewage treatment plants and surface waters from the Catalanian area (NE Spain); *Environ Sci Technol* 34, No. 24; 5076-5083

- Sonnenschein C, Soto AM; 1998; An Updated Review of Environmental Estrogen and Androgen Mimics and Antagonists; *J Steroid Biochem Molec Biol* 65, No. 1-6; 143-150
- Soto AM, Justicia H, Wray JW, Sonnenschein C; 1991; p-nonyl-phenol: an estrogenic xenobiotic released from „modified“ polystyrene; *Environ Health Perspect* 92; 167-173
- Souci SW, Fachmann W, Kraut H; 1994; Die Zusammensetzung der Lebensmittel, Nährwert-Tabellen; Medpharm Scientific Publ., Stuttgart; ISBN 3-88763-027-0
- Späth R, Flemming HC, Wuertz S; 1998; Sorption properties of biofilms; *Wat Sci Tech* 37, No. 4-5; 207-210
- Spearow JL, Doemeny P, Sera R, Leffler R, Barkley M; 1999; Genetic variation in susceptibility to endocrine disruption by estrogen in mice; *Science* 285, No. 5431; 1259-1261
- Spengler P, Körner W, Metzger JW; 1999; Schwer abbaubare Substanzen mit östrogenartiger Wirkung im Abwasser von kommunalen und industriellen Kläranlagenabläufen; *Vom Wasser* 93; 141-157
- Staples CA, Williams JB, Blessing RL, Varineau PT; 1999; Measuring the biodegradability of nonylphenol ether carboxylates, octylphenol ether carboxylate and nonylphenol; *Chemosphere* 38, No. 9; 2029-2039
- Stephanou E, Giger W; 1982; Persistent organic chemicals in sewage effluents. 2. Quantitative determinations of nonylphenols and nonylphenol ethoxylates by glass capillary gas chromatography; *Environ Sci Technol* 16, No. 11; 800-805
- Sun Y, Wada M, Kuroda N, Hirayama K, Nakazawa H, Nakashima K; 2001; Simultaneous determination of phenolic xenoestrogens by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection; *Analyt Sci* 17; 697-702
- Swan SH, Elkin EP, Fenster L; 2000; The question of declining sperm density revisited: an analysis of 101 studies published 1934-1996; *Environ Health Perspect* 108; 961-966
- Tabata A, Kashiwada S, Ohnishi Y, Ishikawa H, Miyamoto N, Itoh M, Magara Y; 2001; Estrogenic influences of estradiol-17 β , p-nonylphenol and bis-phenol-A on Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) at detected environmental concentrations; *Wat Sci Technol* 43, No. 2; 109-116
- Tanghe T, Devriese G, Verstraete W; 1999; Nonylphenol and estrogenic activity in aquatic environmental samples; *J Environ Qual* 28; 702-709
- Thiele B, Günther K, Schwuger MJ; 1997; Alkylphenols ethoxylates: trace analysis and environmental behaviour; *Chem. Rev.* 97; 3247-3272
- Thiele B, Heinke V, Kleist E, Günther K; im Druck; Contribution to the structural Elucidation of 10 Isomers of technical p-Nonylphenol
- Thorpe KL, Hutchinsons TH, Hetheridge MJ, Scholze M, Sumpter JP, Tyler CR; 2001; Assessing the biological potency of binary mixtures of environmental estrogens using Vitellogenin induction in juvenile rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*); *Environ Sci Technol* 35; 2476-2481
- Topp E, Starratt A; 1999; Rapid mineralization of the endocrine-disrupting chemical 4-nonylphenol in soil; *Environ Toxicol Chem* 19, 313-318
- Toppari J, Larsen JC, Christiansen P, Giwercman A, Grandjean P, Guillette Jr. LJ, Jégou B, Jensen TK, Jouannet P, Keiding N, Leffers H, McLachlan JA, Meyer O, Müller J, Rajpert-De Meyts E, Scheike T, Sharpe R, Sumpter J, Skakkebaek NE; 1996; Male repro-

- ductive health and environmental xenoestrogens; ; Environ Health Perspect 104, Supplement 4; 741-803
- Tsuda T, Suga K, Kaneda E, Ohsuga M; 2000; Determination of 4-nonylphenol, nonylphenol monoethoxylate, nonylphenol diethoxylate and other alkylphenols in fish and shellfish by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection; J Chromatogr B 746; 305-309
- Tsuda T, Suga K, Kaneda E, Ohsuga M; 2002; 4-nonylphenol, 4-nonylphenol mono- and diethoxylates, and other 4-alkylphenols in water and shellfish from rivers flowing into Lake Biwa; Bull Environ Contam Toxicol 68; 126-131
- UBA (Umweltbundesamt), Kubiak R; 2001; Alkylphenols in agrar ecosystems; Abstracts Second Status Seminar endocrine disrupters; Berlin; 85
- UBA (Umweltbundesamt), Stachel B; 2001; The occurrence of industrial chemicals in river waters; Abstracts Second Status Seminar endocrine disrupters; Berlin; 25
- Upmeier A, Degen GH, Schuhmacher US, Certa H, Bolt HM; 1999; Toxicokinetics of p-tert-octylphenol in female DA/Han rats after single i.v. and oral application; Arch Toxicol 73; 217-222
- Van den Belt K, Verheyen R, Witters H; 2001; Reproductive effects of ethinylestradiol and 4t-octylphenol an the zebrafish (*Danio rerio*); Arch Environ Contam Toxicol 41, No. 4; 458-467
- Van Ry DA, Dachs J, Gigliotti CL, Brunciak PA, Nelson ED, Eisenreich SJ; 2000; Atmospheric seasonal trends and environmental fate of alkylphenols in the lower Hudson River estuary; Environ Sci Technol 34, No. 12; 2410-2417
- Veith GD, Kiwus LM; 1977; An exhaustive steam-distillation and solvent-extraction unit for pesticides and industrial chemicals; Bull Environ Contam Toxicol 17; 631-636
- Vingaard AM, Körner W, Lund KH, Bolz U, Petersen JH; 2000; Identification and Quantification of estrogen compounds in recycled and virgin paper of household use as determined by an in vitro yeast estrogen screen and chemical analysis; Chem Res Toxicol 13; 1214-1222
- Vom Saal FS, Nagel SC, Palanza P, Boechler M, Parmigiani S, Welshons WV; 1995; Estrogenic pesticides: binding relative to estradiol in MCF-7 cells and effects of exposure during fetal life on subsequent territorial behaviour in male mice; Toxicol Letters 77; 343-350
- Vom Saal FS, Timms BG, Montano MM, Palanza P, Thayer KA, Nagel SC, Dhar MD, Ganjam VK, Parmigiani S, Welshons WV; 1997; Prostate enlargement in mice due to fetal exposure to low doses of estradiol or diethylstilbestrol and opposite effects at high doses; Proc Natl Acad Sci USA 94; 2056-2061
- Vom Saal FS, Cooke PS, Buchanan DL, Palanza P, Thayer KA, Nagel SC, Parmigiani S, Welshons WV; 1998; A physiologically approach to the study of bisphenol A and other estrogenic chemicals on the size of reproductive organs, daily sperm production, and behaviour; Toxicol Indust Health 14, No. 1/2; 239-260
- Walter H, Consolaro F, Gramatica P, Scholze M, Altenburger R; 2002; Mixture toxicity of priority pollutants at no observed effect concentrations (NOECs); Ecotoxicology 11; 299-310

- Wang W, Wang W, Zhang X, Wang D; 2002; Adsorption of p-chlorophenol by biofilm components; *Water Res* 36; 551-560
- White R, Jobling S, Hoare SA, Sumpter JP, Praker MG; 1994; Environmental persistent alkylphenolic compounds are estrogenic; *Endocrinology* 135; 175-182
- Wolfaardt GM, Lawrence JR, Robarts RD, Caldwell DE; 1995; Bioaccumulation of the herbicide Diclofop in extracellular polymers and its utilization by a biofilm community during starvation; *Appl Environ Microbiol*; 61;No. 1; 152-158
- Wong CS, Lau F, Clark M, Mabury SA, Muir DCG; 2002; Rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) can eliminate chiral organochlorine compounds enantioselectively; *Environ Sci Technol* 36, No. 6; 1257-1262
- Wright C, Evans ACO, Evans NP, Duffy P, Fox J, Boland MP, Roche JF, Sweeney T; 2002; Effect of maternal exposure to the environmental estrogen, octylphenol, during fetal and/or postnatal life on onset of puberty, endocrine status, and ovarian follicular dynamics in ewe lamb; *Biol Reprod* 67, no. 6; 1734-1740
- Wuertz S, Bishop P, Wilderer PA (eds.); 2003; Biofilms in wastewater treatment: an interdisciplinary approach, The crucial role of cellular polymeric substances in biofilms (Flemming HC, Wingender J); IWA Publishing, London; 178-210
- WWF (World Wide Fund For Nature), Jacobi H; 1999; Rückgang der Spermienqualität in Deutschland und Europa; *Chemikalienpolitik - Bericht des INTOX*; Umweltstiftung WWF-Deutschland; 1-28
- Yellayi S, Naaz A, Szewczykowski MA, Sato T, Woods JA, Chang J, Segre M, Allred CD, Helferich WG, Cooke PS; 2002; The phytoestrogen genistein induces thymic and immune changes: a human health concern ?; *PNAS* 99, No. 11; 7616-7621
- Yu H, Zhu Z, Zhao X, Zhang X, Wang D; 2003; Levels of organochlorine pesticides in Beijing human milk, 1998; *Bull Environ Contam Toxicol* 70; 193-197

7. Anhang

7.1. Übersicht über die Gehalte der Abbauprodukte der 4-APnEO in der Umwelt im Zeitraum von 1982 bis 2003

Tabelle 55: Anhang 7.1.: Übersicht über die Gehalte der Abbauprodukte der 4-APnEO in der Umwelt im Zeitraum von 1982 bis 2003

Gehalt [µg/kg bzw. µg/L]	Probenart	Herkunft der Werte	Literaturstelle
4-NP: < 10 – 35 4-NP1EO: < 10 – 133 4-NP2EO: < 10 – 70	Kläranlagenablauf (KAA)	Schweiz	Stephanou et al., 1982
4-NP: 3,9 4-NP1EO: 23,4 4-NP2EO: 9,4	Flusswasser	Schweiz	Ahel et al., 1985
4-NP: 1.600	Kläranlagenschlamm (KAS), trocken (tr.)		
4-NP1EO: 0,077 4-NP2EO: 0,147	Trinkwasser	USA	Clark et al., 1992
4-NP: 0,001 – 0,002	Trinkwasser	Deutschland	Petrick et al., 1992
4-NP: 1 – 30 4-tert.-OP: 0,12 – 2,5	KAA	Kanada	Lee et al., 1995
4-NP: 137 – 470 4-tert.-OP: < 0,005 – 0,4	KAS		
4-NP: 0,41 – 6,73 4-tert.-OP: 9,2 – 12,1	Sedimente		
4-NP: < 0,2 - 330	KAA (teilweise aus der Textilindustrie)	Großbritannien	Blackburn et al., 1995
4-NP: 0,2 - 180	Flusswasser (teilweise eingeleitete Abwässern aus der Textilindustrie)		
4-NP: < 0,08 – 5,2 4-tert.-OP: < 0,1 - 13	Wasser von Flussmün- dungen		
4-NP: < 0,08 – 0,923 4-tert.-OP: < 0,03 – 0,11 4-NP1EO: < 0,05 – 0,138 4-NP2EO: < 0,11 – 0,213 17β-Estradiol: < 0,05 – 1,5 Ethinylestradiol: < 0,2 - 3 Phthalate: 0,028 - 40	Flusswasser	Berlin, Deutsch- land	Hansen et al., 1998
4-NP: 3,2 – 19,8 4-tert.-OP: < NG – 0,17	Kläranlagenzulauf (KAZ)	Österreich	Scharf et al., 1998
4-NP: 0,9 – 4,7 4-tert.-OP: 0,06 – 0,31	KAA		

Fortsetzung Tabelle 55:

4-NP: 1,8 – 10 4-NPnEO: 2,8 – 25,7 4-NP1EC: 22,8 – 292	Flusswasser	Taiwan	Ding et al., 1998
4-NP: 1.000 – 1.500 4-tert.-OP: 35 – 42 4-OP1EO: 8 – 9,8 4-NP1EO: 440 – 580 4-NP2EO: 79 – 100 4-NP1EC: 37 - 57	Unbehandeltes Klär- tankwasser	USA	Rudel et al., 1998
4-NP: 25 - 33 4-tert.-OP: 0,2 – 0,74 4-OP1EO: 0,21 4-OP2EO: 0,067 4-NP1EO: 15 – 21 4-NP2EO: 6,4 – 8 4-NP1EC: 1,3 – 1,7	Unbehandeltes Abwas- ser		
4-NP: 16 4-tert.-OP: 0,15 4-NP1EO: 5,5 4-NP2EO: 0,8 4-NP1EC: 42	Behandeltes Klärtank- wasser und Abwasser		
4-NP: $2 \cdot 10^{-6} - 150 \cdot 10^{-6}$	Meerwasser	Pazifischer O- zean	Kannan et al., 1998
4-NP: 3 4-NP1EO: 45	KAA	Großbritannien	Lye et al., 1999
4-NP: 30 – 9.050 4-tert.-OP: 2 - 340 4-NP1EO: 125 – 3.970	Sedimente		
4-NP: 243.900	KAS	Taiwan	Lin et al., 1999
4-NP: 0,0116 – 0,0945 4-NP: 0,0026 – 0,0216	Wasser (in der gelösten Phase) Wasser (an Partikel gebunden)	USA, Hudson-Fluss	Dachs et al., 1999
4-NP: 1 – 42	Oberflächenwasser	Belgien	Tanghe et al., 1999
4-NP: 122	KAA aus der Textilin- dustrie		
4-NP: 0,757 4-NP1EC: 2,248 4-NP2EO: 1,116 Genistein: 0,0121 17β-Estradiol: 0,0042	KAA	Deutschland	Spengler et al., 1999
4-NP: 0,201 4-tert.-OP: 0,00327	Wasser	USA	Ferguson et al., 2000
4-NP: 846 4-tert.-OP: 8,11	Sedimente		
4-NP: < NG – 0,14	Oberflächenwasser	Niederlande	de Voogt et al., 2000
4-NP: 630.000 – 1.700.000	limnische Sedimente (tr.)		
4-NP: 100 – 17.000	marine Sedimente (tr.)		
4-NP: < NG - 400 4-tert.-OP: < NG - 100	KAZ		
4-NP: < NG – 1,2 4-tert.-OP: < NG – 0,2	KAA		

Fortsetzung Tabelle 55:

4-NP: < NG – 2.500 · 10 ⁶ 4-tert.-OP: < NG – 0,2 · 10 ⁶	KAS (tr.)		
4-NP: 25.500 – 601.000 4-tert.-OP: < 140	KAS (tr.)	Spanien	Petrovic et al., 2000
4-NP: < NG – 12.870	KAZ	Spanien	Solé et al., 2000
4-NP: 18 – 644	Flusswasser	Dänemark	Solé et al., 2000
4-NP: 40 – 343	KAZ		
4-NP: 6 - 289	KAA		
4-NP: < 1 - 1040 4-tert.-OP: < 1 - 120	Sedimente (tr.)	Korea	Lee et al., 2000
4-NP: 0,4 – 2,4	Flusswasser	Korea	Ding et al., 2000
4-NP: 1,2 – 2,7 4-NP1/2EO: < 0,2 – 8,9	KAA	Großbritannien	Rodgers-Gray et al., 2001
4-NP: 0,1 – 3	Flusswasser	Japan	Tabata et al., 2001
4-NP: 0,1 – 0,9	KAA		
4-AP: 0,01 – 0,221 4-APnEO: 0,018 – 0,302 NP1EC: 0,002 – 0,944	Flusswasser	Deutschland, Elbe	UBA, 2001 Stachel et al.
4-AP: 17 - 1378 4-APnEO: 3 - 1797 OP1EC: 8 - 50	limnische Sedimente (tr.)		
4-NP: 10,2 – 83,4 4-NP: ähnliche Gehalte	Bodenproben von Zuckerrübenfeld Kontrollböden (incl. Wald)	Deutschland	UBA, 2001 Kubiak
4-NP: 0,05 – 1,08 4-tert.-OP: 0,01 – 0,18 4-NP1EO: 0,04 – 0,81	Flusswasser	Japan	Isobe et al., 2001
4-NP: 0,08 – 21,2 4-tert.-OP: 0,02 – 1,82 4-NP1EO: 0,14 – 0,81	KAA		
4-NP: 30 – 13000 4-tert.-OP: 3 – 670 4-NP1EO: 10 – 3470	Sedimente (tr.)		
4-NP: 0,077 – 0,416 4-tert.-OP: 0,002 – 0,008	Wasser	USA	Lee Furguson et al., 2001
4-NP: 6,99 – 13.700 4-tert.-OP: 2,4 - 45	marine Sedimente		
4-NP: 1.000 – 1,04 · 10 ⁶ 4-tert.-OP: 1.000 – 0,12 · 10 ⁶	limnische und marine Sedimente (tr.)	Korea	Khim et al., 2001
4-NP: 0,003 – 0,016 4-tert.-OP: 0,0002 - 0,005	Trinkwasser	Deutschland	Kuch et al., 2001
4-NP: 0,007 – 0,134 4-tert.-OP: 0,001 – 0,054	Flusswasser		

Fortsetzung Tabelle 55:

4-NP: 0,025 – 0,77 4-tert.-OP: 0,002 – 0,073	KAA		
4-NP: 3.300	Wasser: Nordsee-Flussmündung	Deutschland	Bester et al., 2001
4-NP: < 1.000	zentrale Nordsee		
4-NP: < 10 - 153	Sedimente (tr.) Watten- meer und Flussmündung		
4-NP: < 0,01 - 30	Oberflächenwasser	Portugal	Azevedo et al., 2001
4-NP: 0,5 - 15 4-tert.-OP: < 0,1	marines Wasser	Spanien	Petrovic et al., 2001
4-NP: 22 - 355 4-tert.-OP: < 10 - 204	marine Sedimente		
4-NP: 0,002 – 0,778 4-tert.-OP: 0,001 – 0,035	Flusswasser in NRW	Deutschland	LUA NRW, 2001
4-NP: ND – 0,3 4-tert.-OP: ND – 0,09 4-NP1EO: 0,04 – 0,42 4-NP2EO: ND – 0,52	Flusswasser	Japan	Tsuda et al., 2002
4-NP: 0,5 - 40	Flusswasser	USA	Kolpin et al., 2002
4-NP: 0,472 – 2,82 4-tert.-OP: 0,048 – 0,313	Flusswasser	Japan	Kojima et al., 2003
4-NP: 0,3 – 1,3	Flusswasser	Spanien	Latorre et al., 2003
4-NP: 0,2 4-tert.-OP: 1,5	Grundwasser		
4-NP: < 2,6	Wasser	USA	Kannan et al., 2003
4-NP: < 5,5 – 15,3	Sedimente		
4-NP: < 0,014 – 2,17	Flusswasser	Japan	Derbalah et al., 2003
NG: Nachweisgrenze ND: not detected UBA: Umweltbundesamt NRW: Nordrhein-Westfalen LUA: Landesumweltamt			

7.2. Übersicht über die Gehalte der Abbauprodukte der 4-APnEO in Luft- und Staubproben im Zeitraum von 1999 bis 2002

Tabelle 56: Anhang 7.2.: Übersicht über die Gehalte der Abbauprodukte der 4-APnEO in Luft- und Staubproben im Zeitraum von 1999 bis 2002

Gehalt [$\mu\text{g}/\text{m}^3$ bzw. $\mu\text{g}/\text{kg}$]	Probenart	Herkunft der Werte	Literaturstelle
4-NP: 0,0002 – 0,0686	Luft Gasphase	USA	Dachs et al., 1999
4-NP: 0,0001 – 0,0514	Luft Aerosolphase		
4-NP: in 186 von 187 Proben 4-tert.-OP: in 110 von 115 Proben 4-NP: $c(\text{PCB}) \cdot 100$	Luft	USA	Van Ry et al., 2000
4-NP: 14.000 – 25.000 4-tert.-OP: 720 – 1.100	Hausstaub	Deutschland	Butte et al., 2001
4-NP: 2.300 – 7.820 4-NP1EO: 2.500 – 14.500 4-NP2EO: 820 – 1.450 4-NP1EC: 1.340 – 2.020 4-OP1EO: < NG – 3.640 4-OP2EO: 420 - 840	Staubproben aus öffentlichen und privaten Gebäuden	USA	Rudel et al., 2001
4-NP: < NG – 0,118 4-tert.-OP: 0,007 4-NP1EO: 0,021 – 0,022 4-NP1EC: < NG – 0,014	Luftproben aus öffentlichen und privaten Gebäuden		
4-NP: 0,048 – 0,416 4-AP1/2EO: häufig	Indoor-Luftproben	USA	Rudel et al., 2002
4-AP und APnEO allgemein detektierbar	Hausstaubproben		
NG: Nachweisgrenze			

7.3. Übersicht über die NOEC bzw. NOED für 4-AP und andere Xenoestrogene in Tierversuchen im Zeitraum von 1995 bis 2002

Tabelle 57: Anhang 7.3.: Übersicht über die NOEC bzw. NOED für 4-AP und andere Xenoestrogene in Tierversuchen im Zeitraum von 1995 bis 2002

Niedrigste Konzentration bzw. Dosis mit Effekt	Lebewesen	Endpunkt	Literatur
4-tert.-OP: 1 mg/L 4-tert.-OPnEO (n = 5 im Durchschnitt): 1 mg/L	männliche Ratten	Reduktion der Hodengröße und der täglichen Spermienproduktion Reduktion der Hodengröße	Sharpe et al., 1995
4-NP: 0,01 mg/Tag	weibliche Noble-Ratten (vier bis fünf Wochen alt)	Veränderung der Kinetik des Zellzyklusses und der Zellvermehrung in der Brustdrüse	Colerangle et al., 1996
4-NP um Faktor 1.000 bis 2.000 weniger estrogen als 17 β -Estradiol	weibliche, unreife Ratten	Zunahme des Uterusgewichtes	Lee et al., 1996
4-tert.-OP: 0,02 mg/kg Körpergewicht·Tag	trächtige Mäuse bzw. deren männliche Nachkommen	Rückgang der Spermienproduktion und deren Leistungsfähigkeit um 20 %	Vom Saal et al., 1998
4-NP: 30 – 100 mg/kg·Tag	Ratten	Reduktion der Körpergewichtszunahme und zur Erhöhung des Uterusgewichtes	Chapin et al., 1999
4-tert.-OP: geringe Konzentration 4-tert.-OP: geringe Konzentration	neonatale Ratten	Anstieg des Testosteronspiegels in den Leydig'schen Zellen Abnahme des Testosteronspiegels in den Leydig'schen Zellen	Murono et al., 1999
Bisphenol A: 0,0024 mg/kg	trächtige Mäuse (11. – 17. Tag) bzw. deren Nachkommen	Veränderung des postnatalen Wachstums und frühere Pubertät	Howdeshell et al., 1999
4-tert.-OP: 0,1 mg/Tag	neugeborene Ratten	Expression des Estrogen-Rezeptors	Khurana et al., 2000
4-NP: 10 mg/kg	SD-Ratten	No Effekt Dosis Level für zwei Generationen-Versuch	Nagao et al., 2000
4-NP: 6 mg/kg Körpergewicht·Tag	Ratten	Modulierung der Nebenhoden- Transpeptidase (Marker für Wachstum und Entwicklung des Hodens)	Lee et al., 2000
Genistein: 12,5 mg/kg·Tag 100 mg/kg·Tag	männliche und weibliche Ratten (1.-5. Tag) weibliche Ratten (1.-5. Tag)	Reduktion des Körpergewichts gestörte Fruchtbarkeit	Nagao et al., 2001

Fortsetzung Tabelle 57:

4-tert.-OP: 0,01 mg/kg Körpergewicht·Tag	Schweine	Verlängerung der Schwangerschaft	Bøgh et al., 2001
Genistein: 8 mg/kg·Tag	Mäusen	negative Effekte auf Schilddrüsen- und Immunsystem	Yellayi et al., 2002
4-tert.-OP: 1 mg/kg·Tag	trächtige Schafe bzw. deren Lämmer	früherer Beginn der Pubertät und des ersten Anstieges von Progesteron	Wright et al., 2002

7.4. Übersicht über Gehalte in Kosmetika und Bedarfsgegenständen und den Übergang in Lebensmittel im Zeitraum 1997 bis 2001

Tabelle 58: Anhang 7.4.: Übersicht über Gehalte in Kosmetika und Bedarfsgegenständen und den Übergang in Lebensmittel im Zeitraum 1997 bis 2001

Gehalt	Probenart	Herkunft der Werte	Literaturstelle
Kosmetika:			
4-NPnEO: bis zu 21 %	Haushaltsreinigern	USA	Dickey et al., 1997
Bedarfsgegenstände:			
4-NP: 80 – 1.480 4-tert.-OP: 40 - 666	Papier-Küchenrollen	Dänemark	Vinggaard et al., 2000
Übergang ins Lebensmittel:			
4-NP: < 0,4 - 931 ng/cm ²	Verpackung	Japan	Nemoto et al., 2000
4-NP: < 8 – 800 µg/kg	verpackter Fisch		
4-NP: < 500 – 3300 mg/kg	kommerzielle und Haushalts-Verpackungen	Japan	Inoue et al., 2001
4-NP: < 1 – 410 µg/kg	Reis: eine Minute Mikrowellenbehandlung		
4-NP: < 1 – 76,5 µg/kg	30 min Raumtemperatur		
Adsorption über die Haut:			
4-NP: schnelle Adsorption mit Maximum nach 2 - 3 h; Konzentrationsfaktor: 1500	Modellhaut: künstlich durchblutetes Euter	Deutschland	Blume et al., 2000
4-NP: minimale Adsorption; < 1% der applizierten Menge	menschliche Haut, Haut von Ratten und Schweinen	USA	Monteiro-Riviere et al., 2000
Plastik: Gehalte und Übergang			
4-NP: < 0,01 · 10 ⁶ – 2,6 · 10 ⁶ µg/kg	Plastik-Handschuhe, Folien, Spielzeug und Babyflasche	Japan	Kawaruma et al., 2000a
4-NP: Übergang in dest. Wasser, 4%-ige Essigsäure, 20 %-iges Ethanol und in n-Heptan	aus Handschuhen	Japan	Kawaruma et al., 2000b
4-NP: < 0,0014 · 10 ⁶ – 1,028 · 10 ⁶ µg/kg	Kunststoffe hauptsächlich PVC	Japan	Sun et al., 2001

7.5. Proben nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Tabelle 59: Anhang 7.5.: Proben nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Nr.	Probe	Herkunft	Verpackung	Probenvorbereitung
Säuglingsnahrung				
1	Hypoallergene Säuglingsanfangsnahrung 1	Deutschland	650 g Packung mit 2 Folienbeuteln	keine
2	Hypoallergene Säuglingsanfangsnahrung 2	Deutschland	600 g Packung mit 2 Folienbeuteln	keine
3	Hypoallergene Folgemilchnahrung 1	Deutschland	650 g Packung mit 2 Folienbeuteln	keine
4	Folgemilchnahrung 2 (Einzelbest.)	Deutschland	900 g Packung mit 2 Folienbeuteln	keine
5	Schinkennudeln in Tomatensauce	Deutschland	250 g Glas mit VSV	Homogenisierung mittels Ultra-Turrax
6	Rindfleischzubereitung mit Reis und Kartoffeln	Deutschland	125 g Glas mit VSV	gut mit Glasspatel umgerührt
7	Reis-Gemüsecreme mit Hühnchen	Deutschland	190 g Glas mit VSV	Homogenisierung mittels Ultra-Turrax
8	Broccoli, Kartoffeln und Putenfleisch	Deutschland	220 g Glas mit Vakuum-Sicherheitsverschluss (VSV)	Homogenisierung mittels Ultra-Turrax
9	Tomatengemüse, Spaghetti und Schweinefleisch	Deutschland	250 g Glas mit VSV	Homogenisierung mittels Ultra-Turrax
10	Frühkarotte	Deutschland	190 g Glas mit VSV	gut mit Glasspatel umgerührt
11	Reis mit Apfel	Deutschland	190 g Glas mit VSV	gut mit Glasspatel umgerührt
12	Mehrkornbrei	Deutschland	190 g Glas mit VSV	gut mit Glasspatel umgerührt
13	Grießbrei mit Vanille	Deutschland	190 g Glas mit VSV	gut mit Glasspatel umgerührt
14	Grießbrei Schoko	Deutschland	190 g Glas mit VSV	gut mit Glasspatel umgerührt
15	Butterkeks-Milchbrei	Deutschland	190 g Glas mit VSV	gut mit Glasspatel umgerührt
16	Milchbrei mit Banane	Deutschland	190 g Glas mit VSV	gut mit Glasspatel umgerührt
17	Pfirsich-Maracuja mit Joghurt	Deutschland	190 g Glas mit VSV	Homogenisierung mittels Ultra-Turrax
18	Pfirsich mit Honig	Deutschland	190 g Glas mit VSV	gut mit Glasspatel umgerührt
19	Südfrüchte in Apfelsaft	Deutschland	500 mL Einwegflasche mit VSV	gut geschüttelt
20	Melissentee mit Traubensaft	Deutschland	500 mL Flasche mit VSV	gut geschüttelt
Kleinkindernahrung				
21	Raffinade-Zucker	Deutschland	1000 g Packung (Papier)	keine

7.6. Weitere Einstellungen des Autosamplers

Tabelle 60: Anhang 7.6.: Weitere Einstellungen des Autosamplers

SYSTEM - PARAMETER:		
INJECTION SIDE	right	
CLEAN POSITION	home pos side	
NOOFINJPOINTS	2	
INJ POINT X-DIFF	645	
START SIG SOURCE	Remote	
GCSTARTDELAY	-	
GC READY BLOCKING	-	
TRAY SELECT MODE	Disabled	
TRAYSELECT	10 · 20	
VIAL DETECTION	Off	
SPLITR ACT STATE	High	
RDY ACTIVE STATE	Closed	
INJ ACTIVE STATE	Closed	
BCD ACTIVE STATE	High	
BCD ACTIVATED AT	Injection	
BUZZER STRT CYCL	On	
BUZZER MAN INJCT	On	
PLUNG STROKE CNT	Enabled	
PLGSPEEDFACTOR	01	
VIAL PRE PRESSURE	Disabled	
MOTOR - GESCHWINDIGKEIT:		
SYRINGEUP	1.200	
SYRINGE WASH DOWN	1.200	
SYRG SAMPLE DOWN	1.200	
SYRGINJECTDOWN	1.200	
SYRING INJECT UP	1.200	
PLUNG PULLSOLVT	1	
PLUNG EJCT SOLVT	3	
PLUNG EJCT SAMPL	3	
CROSS FAST	1.000	
CROSS SLOW	1.150	
SAMPLETRAY	1.000	
METHODEN - PARAMETER:		
VOLUME SAMPLE AIR	47	0
PREINJ CLEAN SLVI SLV2	1	
PREINJ CLEAN SAMPLE	0	0
FILLING VOL CNT	50	3
SYRPULLUPDELAY	25	
PLSPD FILL INJ	1	5
INJ POINT OUTER	Inner	
SPLITTER PRE PST	0	0
INJDELAYPREPST	10	10
PSTINJ CLEAN SLVI SLV2	2	

7.7. Herkunft und Art der Biofilm- und Flusswasserproben

Tabelle 61: Anhang 7.7.: Herkunft und Art der Biofilm- und Flusswasserproben

Nr.	Probe	Datum	Herkunft	Menge	Aussehen
1	Biofilm 1	29.10.01, 16:00	Ruhr, Mülheim-Styrum	130 mL	epilithischer, braun-grüner Biofilm
2	Biofilm 2	14.03.02, 12:00	Ruhr, Mülheim-Styrum	105 mL	epilithischer, braun-grüner Biofilm
3	Flusswasser 1	14.03.02, 11:45	Ruhr, Mülheim-Styrum	250 mL	klar, leicht gelb, mit Schwebstoffen
4	Biofilm 3	12.06.02, 11:00	Rhein, direkt oberhalb der Ruhr-Mündung	285 mL	oberste Sediment-Schicht, dunkel, schlammig, sandig
5	Biofilm 4	12.06.02, 11:15	Ruhr, nach Ablauf einer Kläranlage	275 mL	oberste Sediment-Schicht, dunkel, schlammig, sandig
6	Biofilm 5	01.08.02, 11:00	Ruhr, Mülheim, Mendener Brücke	125 mL	oberste Sediment-Schicht, feinsandig, bräunlich
7	Biofilm 6	01.08.02, 11:00	Ruhr, Mülheim, Mendener Brücke	80 mL	epilithischer Biofilm, grün
8	Biofilm 7	01.08.02, 12:00	Ruhr, Altarm, Mendener Brücke	125 mL	oberste Sediment-Schicht, schlammig, schwarz
9	Biofilm 8	03.12.02, 11:15	Niers, hinter Kläranlagen- auslauf Mönchengladbach- Neuwerk	225 mL	oberste Sediment-Schicht, schwarz, sandig
10	Flusswasser 2	03.12.02, 11:15	Niers, wie Biofilm 8	1000 mL	klar, leicht gelb, mit Schwebstoffen
11	Biofilm 9	03.12.02, 12:45	Niers, Betriebsstelle Langendonk bei Grefrath	175 mL	oberste Sediment-Schicht, dunkelbraun, sandig
12	Flusswasser 3	03.12.02, 12:45	Niers, wie Biofilm 9	1000 mL	klar, leicht gelb, mit Schwebstoffen
13	Biofilm 10	03.12.02, 15:00	Niers, vor der Klär- anlagen Wetten (Geldern)	140 mL	epilithischer Biofilm, braun
14	Flusswasser 4	03.12.02, 15:00	Niers, wie Biofilm 10	1000 mL	klar, leicht gelb, mit Schwebstoffen

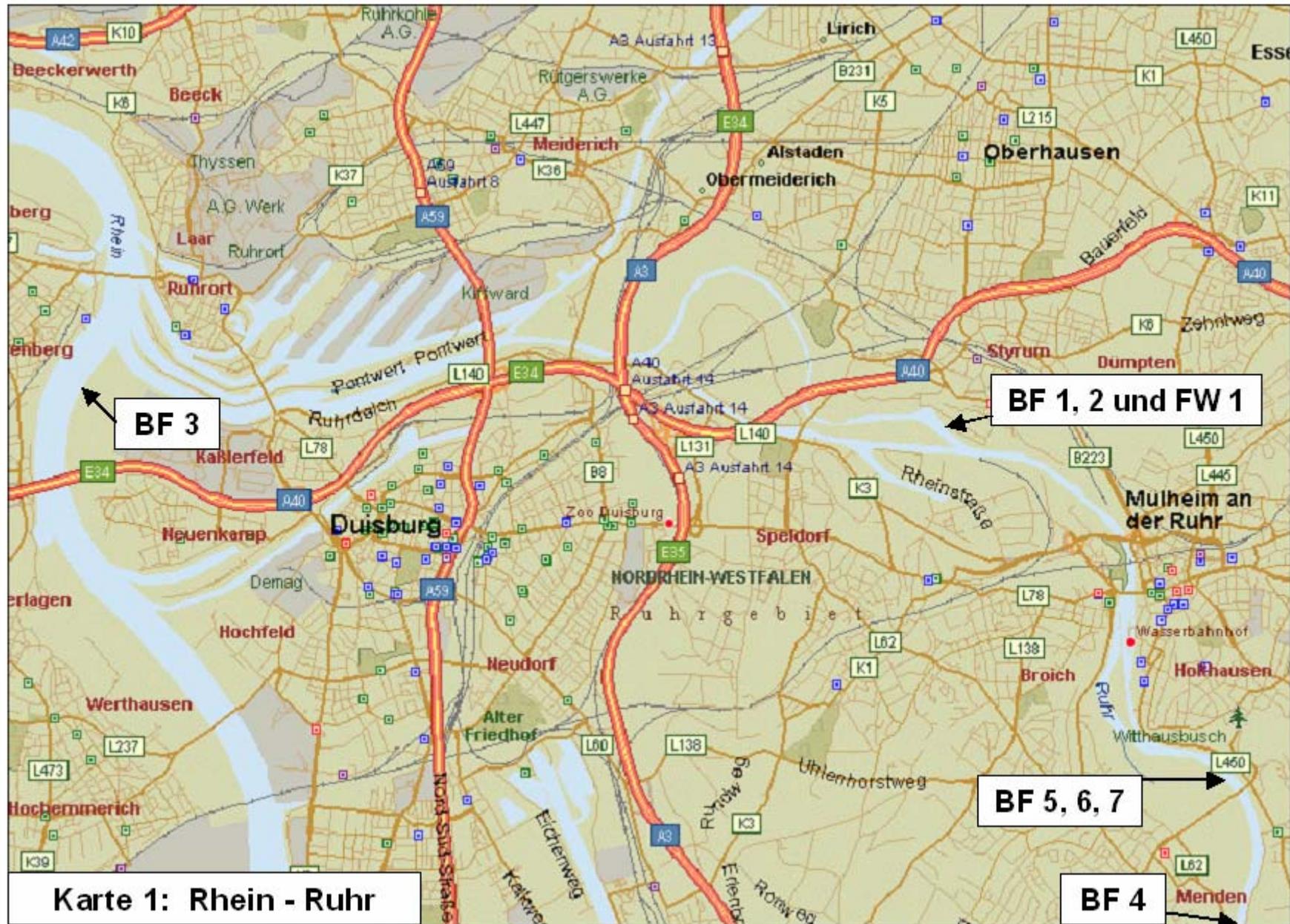


Abbildung 42: Anhang 7.7.: Herkunft und Art der Biofilm- und Flusswasserproben; Karte 1: Rhein-Ruhr

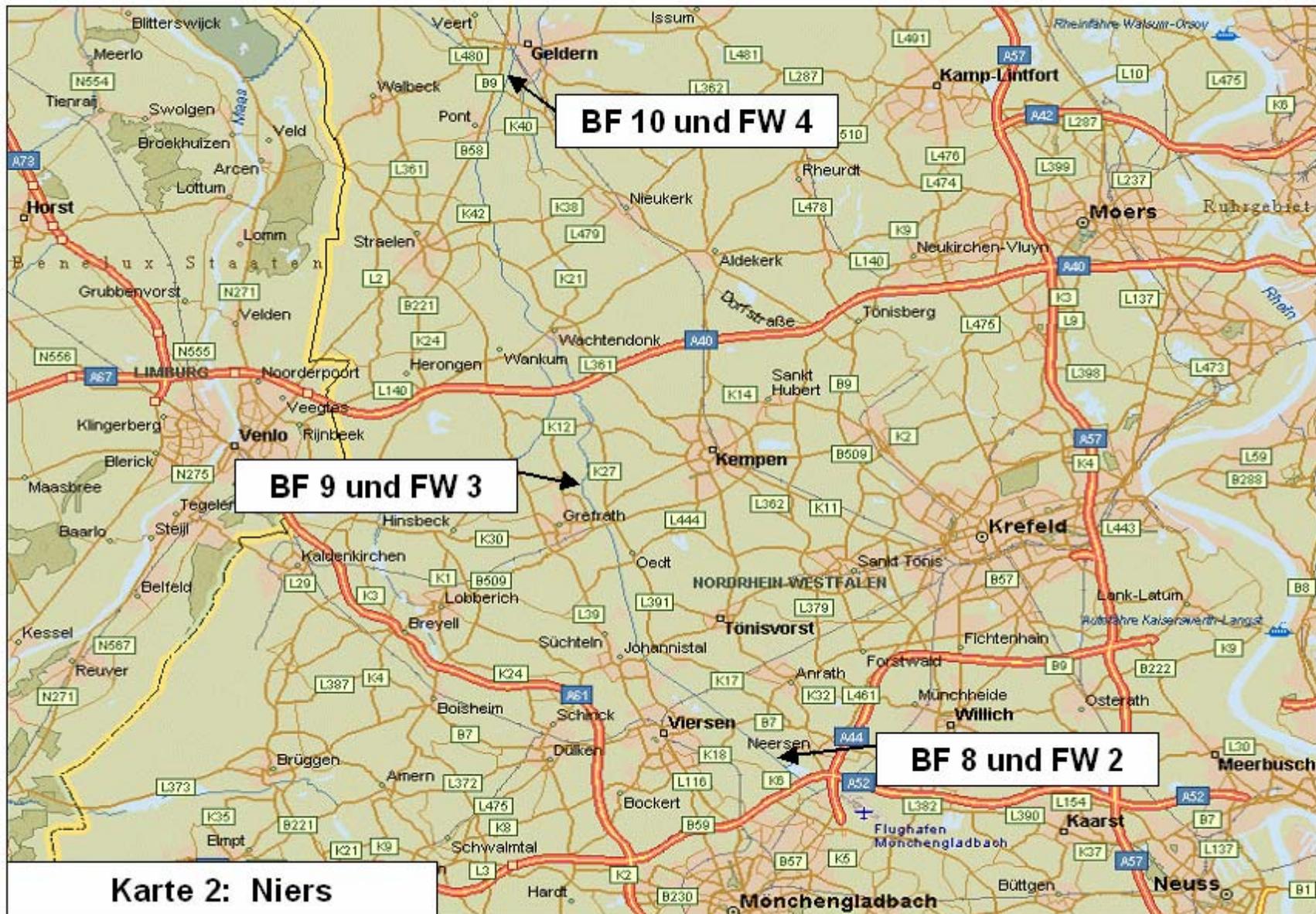


Abbildung 43: Anhang 7.7.: Herkunft und Art der Biofilm- und Flusswasserproben; Karte 2: Niers

7.8. Bestimmung der Isomerenverteilung von 4-NP

Tabelle 62: Anhang 7.8.: Bestimmung der Isomerenverteilung von 4-NP

Mittels GC-FID wurden folgende Peakflächen in counts (1 count = 0,125 $\mu\text{V} \cdot \text{s}$) bestimmt.

Es wurde jeweils 1 μL der derivatisierten 4-NP-Standardlösung zur Bestimmung der Isomerenverteilung injiziert.

Messung 1 - 6: $c(4\text{-n-NP}) = 2,325 \text{ mg/L}$ und $c(4\text{-NP}) = 19,68 \text{ mg/L}$

Messung 7 - 10: $c(4\text{-n-NP}) = 4,65 \text{ mg/L}$ und $c(4\text{-NP}) = 39,36 \text{ mg/L}$

4-NP Isomer-Nr.	Messung 1		Messung 2		Messung 3		Messung 4		Messung 5		Messung 6		Messung 7	
	Fläche [counts]	Gehalt mal 2 [mg/L]	Fläche [counts]	Gehalt [mg/L]										
1	3415	1,66	2192	1,56	2143	1,60	2464	1,69	2242	1,64	2146	1,60	5731	1,63
2	7213	3,51	5098	3,63	4728	3,53	5391	3,69	4864	3,57	4674	3,49	11681	3,33
3	9009	4,39	6191	4,41	6016	4,50	6369	4,36	5962	4,37	6048	4,51	17902	5,11
4	5075	2,47	3765	2,68	3476	2,60	3795	2,60	3514	2,58	3316	2,47	8567	2,44
5	6946	3,38	4812	3,42	4666	3,49	5091	3,48	4665	3,42	4634	3,46	11782	3,36
6	10474	5,10	7458	5,31	7088	5,30	7499	5,13	7152	5,25	6917	5,16	17781	5,07
7	6415	3,12	4560	3,24	4341	3,25	4994	3,42	4412	3,24	4103	3,06	10628	3,03
8	2909	1,42	2016	1,43	1952	1,46	2220	1,52	2023	1,48	1798	1,34	4921	1,40
9	3863	1,88	2865	2,04	2685	2,01	2882	1,97	2876	2,11	2298	1,71	6680	1,91
10	13592	6,62	9406	6,69	8955	6,69	9786	6,70	9045	6,64	8388	6,26	22968	6,55
11	4513	2,20	3092	2,20	2931	2,19	3182	2,18	2970	2,18	2916	2,18	7593	2,17
Summe:	-	35,74	-	36,61	-	36,62	-	36,74	-	36,48	-	35,24	-	36,00
4-n-NP	9552		6535		6220		6793		6338		6233		16303	

4-NP Isomer-Nr.	Messung 8		Messung 9		Messung 10		Messung 11		Messung 12		Mittelwert des Gehalts [mg/L]	Std.-Abweichung [mg/L]	Anteil d. Isomers an 4-NP-Einwaage [%]	Isomerenverteilung 4-NP-Einwaage gleich 100%	Std.-Abweichung [%]
	Fläche [counts]	Gehalt [mg/L]													
1	4982	1,62	5639	1,60	5242	1,59	6001	1,70	5825	1,64	1,63	0,04	4,1	4,5	2,5
2	10209	3,33	11643	3,30	10661	3,23	11738	3,33	11773	3,32	3,44	0,14	8,7	9,5	4,2
3	16184	5,28	17738	5,02	17004	5,16	16007	4,54	15794	4,45	4,67	0,34	11,9	13,0	7,2
4	7382	2,41	8307	2,35	7967	2,42	8688	2,46	8619	2,43	2,49	0,09	6,3	6,9	3,8
5	10206	3,33	11805	3,34	10922	3,31	12234	3,47	12062	3,40	3,41	0,06	8,7	9,5	1,7
6	15401	5,02	17660	5,00	16605	5,04	18401	5,22	18087	5,09	5,14	0,10	13,1	14,3	2,0
7	9175	2,99	10569	2,99	9924	3,01	10995	3,12	10763	3,03	3,13	0,13	7,9	8,7	4,1
8	4270	1,39	5006	1,42	4804	1,46	5261	1,49	5142	1,45	1,44	0,05	3,7	4,0	3,2
9	5661	1,85	6516	1,84	6050	1,83	6731	1,91	6530	1,84	1,91	0,10	4,8	5,3	5,4
10	19871	6,48	22889	6,48	21428	6,50	23737	6,73	23231	6,54	6,57	0,13	16,7	18,2	2,0
11	6626	2,16	7594	2,15	7098	2,15	7924	2,25	7728	2,18	2,18	0,03	5,5	6,1	1,2
Summe:	-	35,86	-	35,49	-	35,69	-	36,22	-	35,36	36,01	0,50	91,5	100	1,4
4-n-NP	14261		16425		15334		16396		16510						

7.9. Bestimmung der Isomerenverteilung von 4-NP1EO

Tabelle 63: Anhang 7.9.: Bestimmung der Isomerenverteilung von 4-NP1EO

Mittels GC-FID wurden folgende Peakflächen in counts (1 count = 0,125 $\mu\text{V} \cdot \text{s}$) bestimmt.

Es wurde jeweils 1 μL der derivatisierten 4-NP1EO-Standardlösung zur Bestimmung der Isomerenverteilung injiziert.

Messung 1 - 6: $c(4\text{-n-NP1EO}) = 1,764 \text{ mg/L}$ und $c(4\text{-NP1EO}) = 26,446 \text{ mg/L}$

Messung 7 - 10: $c(4\text{-n-NP1EO}) = 3,528 \text{ mg/L}$ und $c(4\text{-NP1EO}) = 52,892 \text{ mg/L}$

4-NP 1EO Isomer-Nr.	Messung 1		Messung 2		Messung 3		Messung 4		Messung 5		Messung 6		Messung 7	
	Fläche [counts]	Gehalt mal 2 [mg/L]	Fläche [counts]	Gehalt [mg/L]										
1	4104	2,35	2916	2,39	2696	2,27	3141	2,39	2759	2,27	2770	2,39	7394	2,40
2	21551	12,35	14741	12,07	14251	12,00	15849	12,07	14509	11,94	13993	12,10	37212	12,09
3	14404	8,25	9872	8,08	9556	8,05	10571	8,05	9714	7,99	9389	8,12	24983	8,12
4	8692	4,98	5914	4,84	5725	4,82	6338	4,83	5825	4,79	5618	4,86	14975	4,87
5	3454	1,98	2368	1,94	2294	1,93	2485	1,89	2328	1,92	2240	1,94	6044	1,96
6	9018	5,17	6172	5,05	5980	5,04	6613	5,04	6085	5,01	5874	5,08	15656	5,09
7	4526	2,59	3094	2,53	2987	2,52	3229	2,46	3031	2,49	2955	2,55	7870	2,56
8	15211	8,72	10352	8,47	10031	8,45	11005	8,38	10199	8,39	10613	9,17	27183	8,83
9	5265	3,02	3593	2,94	3492	2,94	3756	2,86	3533	2,91	3395	2,93	9071	2,95
Summe:	-	49,42	-	48,31	-	48,02	-	47,98	-	47,71	-	49,14	-	48,87
4-n-NP1EO	6156		4310		4189		4631		4288		4081		10856	

4-NP 1EO Isomer-Nr.	Messung 8		Messung 9		Messung 10		Messung 11		Messung 12		Mittelwert des Gehalts [mg/L]	Std.-Abweichung [mg/L]	Isomers an 4 NP1EO- Einwaage [%]	Isomerenverteilung 4-NP1EO- Einwaage gleich 100%	Std.-Abweichung [mg/L]
	Fläche [counts]	Gehalt [mg/L]													
1	6454	2,38	7455	2,44	6829	2,37	7161	2,62	7363	2,45	2,39	0,09	4,5	4,9	3,6
2	32617	12,03	37514	12,26	35338	12,28	35997	13,19	37154	12,37	12,23	0,32	23,1	24,8	2,6
3	21887	8,07	25187	8,23	23669	8,22	24125	8,84	24914	8,29	8,19	0,21	15,5	16,7	2,6
4	13130	4,84	15076	4,93	14144	4,91	14420	5,28	14909	4,96	4,91	0,13	9,3	10,0	2,6
5	5274	1,95	6048	1,98	5674	1,97	5767	2,11	5988	1,99	1,96	0,05	3,7	4,0	2,7
6	13722	5,06	15759	5,15	14735	5,12	15025	5,50	15564	5,18	5,12	0,13	9,7	10,4	2,5
7	6877	2,54	7901	2,58	7509	2,61	7508	2,75	7808	2,60	2,57	0,07	4,9	5,2	2,7
8	23833	8,79	27394	8,95	28439	9,88	25990	9,52	27030	9,00	8,88	0,45	16,8	18,0	5,0
9	7911	2,92	9132	2,99	8406	2,92	8671	3,18	8972	2,99	2,96	0,08	5,6	6,0	2,6
Summe:	-	48,57	-	49,51	-	50,28	-	52,99	-	49,83	49,22	1,37	93,1	100	2,8

7.10. Bestimmung der Isomerenverteilung von 4-NP2EO

Tabelle 64: Anhang 7.10.: Bestimmung der Isomerenverteilung von 4-NP2EO

Mittels GC-FID wurden folgende Peakflächen in counts (1 count = 0,125 µV · s) bestimmt.

Es wurde jeweils 1 µL der derivatisierten 4-NP2EO-Standardlösung zur Bestimmung der Isomerenverteilung injiziert.

Messung 1 - 6: $c(4\text{-}n\text{-NP2EO}) = 2,164 \text{ mg/L}$ und $c(4\text{-NP2EO}) = 23,838 \text{ mg/L}$

Messung 7 - 10: $c(4\text{-}n\text{-NP2EO}) = 4,328 \text{ mg/L}$ und $c(4\text{-NP2EO}) = 47,676 \text{ mg/L}$

4-NP 2EO Isomer-Nr.	Messung 1		Messung 2		Messung 3		Messung 4		Messung 5		Messung 6		Messung 7	
	Fläche [counts]	Gehalt mal 2 [mg/L]	Fläche [counts]	Gehalt [mg/L]										
1	3595	3,03	2516	3,40	2490	3,30	2441	3,38	2701	3,19	2503	3,33	6339	2,92
2	16429	13,85	11479	15,53	11273	14,93	11131	15,40	12354	14,57	11356	15,12	28944	13,35
3	10947	9,23	7667	10,37	7530	9,97	7435	10,29	8273	9,76	7565	10,07	19306	8,90
4	7039	5,93	4946	6,69	4856	6,43	4769	6,60	5326	6,28	4867	6,48	12424	5,73
5	2735	2,31	1943	2,63	1889	2,50	1834	2,54	2080	2,45	1881	2,50	4897	2,26
6	7017	5,91	4954	6,70	4828	6,39	4789	6,63	5394	6,36	4880	6,50	12493	5,76
7	3224	2,72	2276	3,08	2268	3,00	2108	2,92	2393	2,82	2161	2,88	5730	2,64
8	10286	8,67	7229	9,78	7100	9,40	6924	9,58	7806	9,21	7047	9,38	19693	9,08
9	3965	3,34	2833	3,83	2769	3,67	2600	3,60	3065	3,61	2669	3,55	7187	3,31
Summe:	-	54,98	-	62,02	-	59,60	-	60,92	-	58,25	-	59,83	-	53,97
4-n-NP2EO	5135		3199		3268		3128		3670		3250		9384	

4-NP 2EO Isomer-Nr.	Messung 8		Messung 9		Messung 10		Messung 11		Messung 12		Mittelwert des Gehalts [mg/L]	Std.-Ab- weichung [mg/L]	Anteil des Isomers an 4-NP2EO- Einwaage [%]	Isomeren- verteilung 4-NP2EO- Einwaage gleich 100%	Std.-Ab- weichung [mg/L]
	Fläche [counts]	Gehalt [mg/L]													
1	5555	3,05	6280	2,86	6135	2,86	5756	2,92	6008	3,06	3,11	0,20	6,5	5,5	6,3
2	25213	13,86	28487	12,96	27933	13,00	26301	13,34	27519	14,02	14,16	0,89	29,7	25,0	6,3
3	16848	9,26	18992	8,64	18662	8,69	17571	8,92	18347	9,34	9,45	0,59	19,8	16,6	6,3
4	10846	5,96	12224	5,56	12025	5,60	11264	5,72	11814	6,02	6,08	0,38	12,8	10,7	6,3
5	4251	2,34	4794	2,18	4724	2,20	4403	2,23	4607	2,35	2,37	0,14	5,0	4,2	5,9
6	10938	6,01	12367	5,63	12070	5,62	11365	5,77	11824	6,02	6,11	0,37	12,8	10,8	6,1
7	4942	2,72	5517	2,51	5583	2,60	5128	2,60	5416	2,76	2,77	0,17	5,8	4,9	6,0
8	17162	9,43	19302	8,78	19067	8,88	17795	9,03	18530	9,44	9,22	0,32	19,3	16,2	3,5
9	6239	3,43	7035	3,20	7002	3,26	6473	3,28	6754	3,44	3,46	0,18	7,3	6,1	5,3
Summe:	-	56,05	-	52,31	-	52,70	-	53,81	-	56,44	56,74	3,18	119,0	100	5,6
4-n-NP2EO	7875		9515		9296		8530		8498						

7.11. Übersicht über 4-NP-Mengen in Säuglings- und Kleinkindernahrung nach dem Verfahren für 4-NP

Tabelle 65: Anhang 7.11.: Übersicht über 4-NP-Mengen in Säuglings- und Kleinkindernahrung nach dem Verfahren für 4-NP

Probe	Einwaage [g]	Blindwert (BW) 4-NP [ng abs.]	Nachweisgrenze der entsprechenden Apparatur [ng abs.]	Bestimmungsgrenze der entsprechenden Apparatur [ng abs.]	4-NP in der Probe [ng abs.]	Gehalt an 4-NP in der Probe (BW subtrahiert) [µg/kg]	Wiederfindung von 4-n-NP [%]
Hypoallergene Säuglingsanfangsnahrung 1	16,17	27,5	28,5	29,6	273,5	15,21	28,2
Hypoallergene Säuglingsanfangsnahrung 1	12,01	21,2	22,0	22,7	204,1	15,23	31,9
Hypoallergene Säuglingsanfangsnahrung 2	23,27	3,8	4,2	4,6	310,3	13,17	22,1
Hypoallergene Säuglingsanfangsnahrung 2	24,59	5,0	5,0	5,1	296,5	11,86	20,7
Hypoallergene Folgemilchnahrung 1	11,87	9,2	9,4	9,6	73,7	5,43	56,4
Hypoallergene Folgemilchnahrung 1	13,44	9,0	9,1	9,1	76,0	4,98	48,2
Hypoallergene Folgemilchnahrung 2	9,78	5,8	5,9	6,0	106,3	10,27	46,2
Schinkennudeln mit Gemüse	42,50	28,5	29,2	30,0	186,7	3,72	78,3
Schinkennudeln mit Gemüse	55,05	16,6	16,9	17,3	249,5	4,23	74,7
Rindfleischzubereitung mit Reis und Kartoffeln	25,52	14,4	16,7	19,1	95,4	3,18	85,2
Rindfleischzubereitung mit Reis und Kartoffeln	23,60	14,5	14,9	15,3	87,7	3,10	85,1
Reis-Gemüsecreme mit Huhn	33,68	15,3	16,4	17,5	65,1	1,48	84,9
Reis-Gemüsecreme mit Huhn	43,60	12,9	13,4	13,8	74,3	1,41	94,6
Broccoli, Kartoffeln und Putenfleisch	42,65	3,9	4,3	4,8	68,8	1,52	92,3

Fortsetzung Tabelle 65:

Broccoli, Kartoffeln und Putenfleisch	45,50	4,2	4,5	4,8	63,9	1,31	78,8
Tomatengemüse, Spaghetti und Schweinefleisch	42,52	5,9	6,5	7,1	148,4	3,35	60,9
Tomatengemüse, Spaghetti und Schweinefleisch	45,11	6,3	7,3	8,4	135,8	2,87	61,2
Frühkarotte	60,87	15,0	15,1	15,1	67,6	0,86	64,3
Frühkarotte	61,89	12,9	13,4	14,0	57,1	0,72	96,2
Reis mit Apfel	50,36	9,2	9,5	9,8	59,8	1,01	70,9
Reis mit Apfel	51,67	8,2	9,3	10,4	57,0	0,94	70,7
Mehrkornbrei	45,61	6,4	6,6	6,7	51,8	1,00	77,1
Mehrkornbrei	54,62	8,5	9,3	10,0	81,2	1,33	64,8
Grießbrei mit Vanille	65,18	8,8	9,1	9,4	129,5	18,5	92,6
Grießbrei mit Vanille	63,83	9,4	11,3	13,2	119,0	1,72	77,6
Grießbrei Schoko	34,15	23,3	23,7	14,0	82,4	1,73	78,9
Grießbrei Schoko	38,52	24,7	27,8	30,9	82,0	1,49	79,4
Butterkeks-Milchbrei	29,63	4,9	4,9	4,9	31,4	0,90	68,4
Butterkeks-Milchbrei	41,60	12,8	13,7	14,6	56,1	1,04	67,0
Milchbrei Banane	59,76	8,8	8,8	8,8	21,9	0,18	117,0
Milchbrei Banane	63,65	9,2	9,5	9,9	21,3	0,19	103,5
Pfirsich-Maracuja mit Joghurt	53,95	6,9	7,4	7,9	34,5	0,51	87,2
Pfirsich-Maracuja mit Joghurt	50,06	4,0	4,6	5,2	40,0	0,72	85,8
Pfirsich mit Honig	61,90	3,9	3,9	4,0	31,5	0,45	115,7
Pfirsich mit Honig	65,86	3,2	3,3	3,5	23,1	0,30	103,3
Südfrüchte in Apfelsaft	81,97	15,9	16,2	16,5	69,0	0,65	104,4
Südfrüchte in Apfelsaft	86,26	14,1	15,8	17,5	76,2	0,72	106,4
Melissentee mit Traubensaft	86,56	14,0	15,3	16,5	24,5	0,12	109,8
Melissentee mit Traubensaft	87,03	13,6	14,9	16,3	29,4	0,18	113,8
Raffinade-Zucker	92,65	9,2	10,1	11,0	65,1	0,60	114,2
Raffinade-Zucker	101,58	11,4	11,5	11,7	79,6	0,67	109,5

7.12. Übersicht über 4-NP-Mengen in Säuglings- und Kleinkindernahrung nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Tabelle 66: Anahng 7.12.: Übersicht über 4-NP-Mengen in Säuglings- und Kleinkindernahrung nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Probe	Ein- waage [g]	Blindwert (BW) 4-NP [ng abs.]	Nachweis- grenze der ent- sprechenden Apparatur [ng abs.]	Bestimmungs- grenze der entspre- chenden Apparatur [ng abs.]	4-NP in der Probe [ng abs.]	Gehalt an 4-NP in der Probe (BW subtrahiert) [µg/kg]	Wiederfin- dung von 4-n-NP [%]
SÄUGLINGSNAHRUNG:							
Muttermilch 1	46,01	7,2	9,2	11,3	26,8	0,43	72,1
Muttermilch 1	61,00	6,1	7,8	9,6	24,6	0,30	99,4
Muttermilch 2	22,53	3,3	4,6	6,0	6,8	0,16	96,2
Muttermilch 2	28,33	2,0	2,5	2,9	8,8	0,24	122,1
Dauermilchnahrung	15,51	6,4	7,6	8,9	146,6	9,04	16,9
Dauermilchnahrung	19,46	7,4	8,5	9,6	214,2	10,63	16,4
Folgemilch	13,95	8,1	9,5	10,9	254,5	17,66	21,3
Folgemilch	11,73	8,6	9,1	9,7	201,8	16,47	18,1
Reis-Gemüsecreme mit Huhn	48,28	5,9	6,8	7,7	16,1	0,21	103,7
Reis-Gemüsecreme mit Huhn	46,35	3,6	3,8	4,0	14,8	0,24	98,1
Schinkennudeln mit Gemüse	42,50	28,5	29,2	30,0	186,7	3,72	78,3
Schinkennudeln mit Gemüse	55,05	16,6	16,9	17,3	249,5	4,23	74,7
Frühkarotte	147,76	5,3	5,6	5,9	7,7	0,02	171,3
Frühkarotte	139,91	4,4	5,9	7,4	7,1	< BG	126,7
Schmelzflocken	41,56	3,4	4,0	4,6	520,9	12,45	99,6
Schmelzflocken	47,61	3,5	3,8	4,1	483,4	10,08	81,3
Milchfertigbrei mit Grieß	22,70	13,0	18,0	22,9	122,7	4,83	61,9
Milchfertigbrei mit Grieß	23,13	9,9	10,7	11,5	109,5	4,31	76,9
Baby-Apfel	98,60	0,8	0,8	0,8	11,0	0,10	178,9
Baby-Apfel	111,92	4,3	4,7	5,2	17,0	0,11	107,9
Apfel-Banane mit Quark	77,27	3,4	3,8	4,2	51,7	0,63	110,9
Apfel-Banane mit Quark	69,68	3,3	3,6	4,0	37,9	0,50	122,9

Fortsetzung Tabelle 66:

Apfel-Getreide Brei	57,00	5,8	7,4	9,0	16,4	0,19	86,7
Apfel-Getreide Brei	58,16	5,1	5,9	6,6	17,4	0,21	80,2
Zwieback	30,01	7,6	10,9	14,3	434,9	14,24	48,7
Zwieback	39,21	8,7	8,8	8,9	469,7	11,76	67,0
Milder Apfelsaft	525,37	4,9	6,0	7,1	50,0	0,09	121,5
Milder Apfelsaft	527,02	4,6	1,9	5,2	55,9	0,10	114,5
Baby Tee	50,38	12,7	19,8	26,9	390,6	7,50	76,9
Baby Tee	52,24	7,0	9,7	12,4	312,7	5,85	92,4
KLEINKINDERNAHRUNG:							
Cornflakes	30,45	10,2	11,3	12,4	113,0	3,38	107,3
Cornflakes	29,84	9,8	10,3	10,7	129,2	4,00	113,1
gekochte Kartoffeln	232,51	2,6	3,7	4,7	7,5	0,02	144,7
gekochte Kartoffeln	247,41	2,4	2,9	3,3	7,6	0,02	142,4
Karotte	174,43	4,4	4,6	4,7	14,4	0,06	148,0
Karotte	175,41	4,7	5,1	5,5	12,5	0,04	131,7
Banane	108,23	4,5	5,0	5,5	25,9	0,20	114,9
Banane	115,65	2,5	2,5	2,5	27,0	0,21	114,3
H-Vollmilch	56,60	7,4	8,6	9,9	48,2	0,72	23,4
H-Vollmilch	49,23	5,6	8,6	11,6	49,6	0,89	28,2
Eier	67,56	2,7	4,2	5,7	57,6	0,81	18,1
Eier	69,37	2,6	3,9	5,2	50,4	0,69	18,7
Geflügel-Mortadella	16,79	7,3	7,8	8,3	18,7	0,68	90,5
Geflügel-Mortadella	21,21	8,5	8,7	8,9	18,8	0,49	103,0
Seelachs	24,74	6,7	7,3	8,0	4,0	< NG/BG	143,4
Seelachs	24,05	5,0	5,8	6,6	7,0	0,08	119,9
Butter, mild gesäuert	9,70	8,8	9,8	10,9	55,5	4,81	28,6
Butter, mild gesäuert	13,08	8,5	9,7	10,9	56,4	3,66	28,7
Leitungswasser	988,79	5,8	5,9	6,0	14,0	0,01	96,9
Leitungswasser	999,83	6,9	7,3	7,7	12,4	0,01	92,3
Leitungswasser	919,84	4,3	4,3	4,4	13,9	0,01	100,3

7.13. Spektren aller derivatisierten Analyten für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

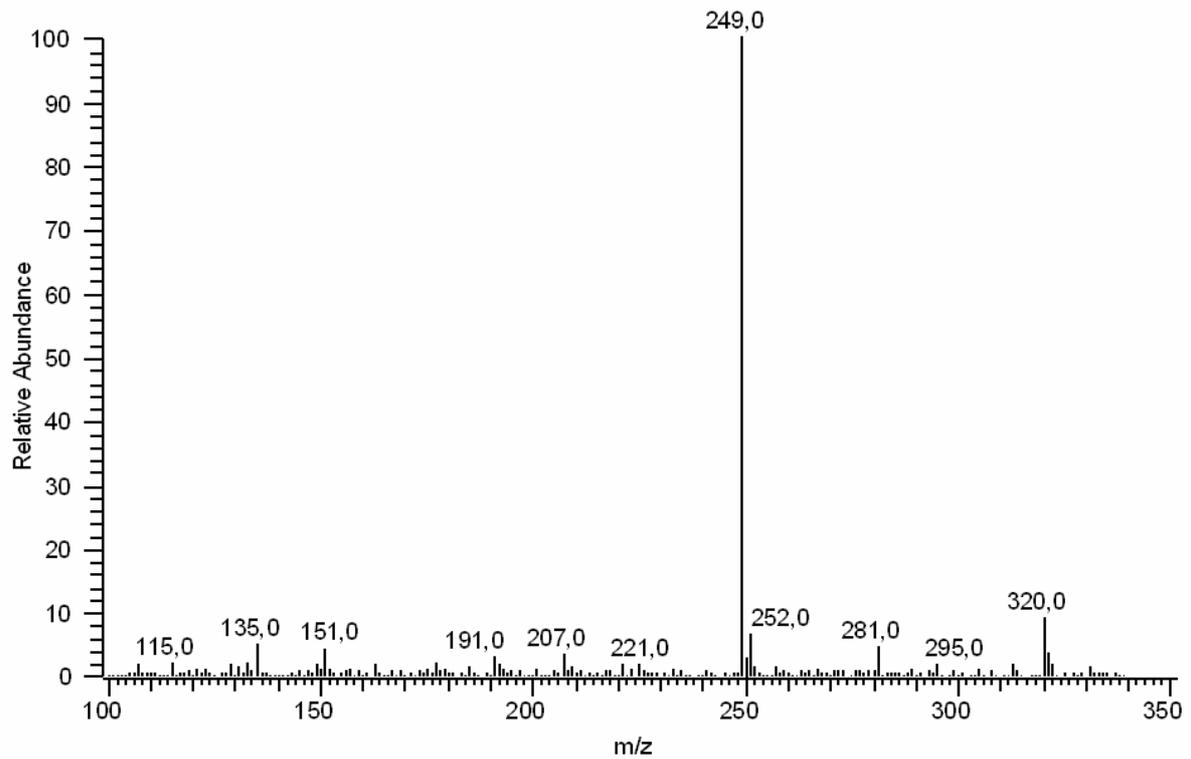


Abbildung 44: Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-tert.-OP für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

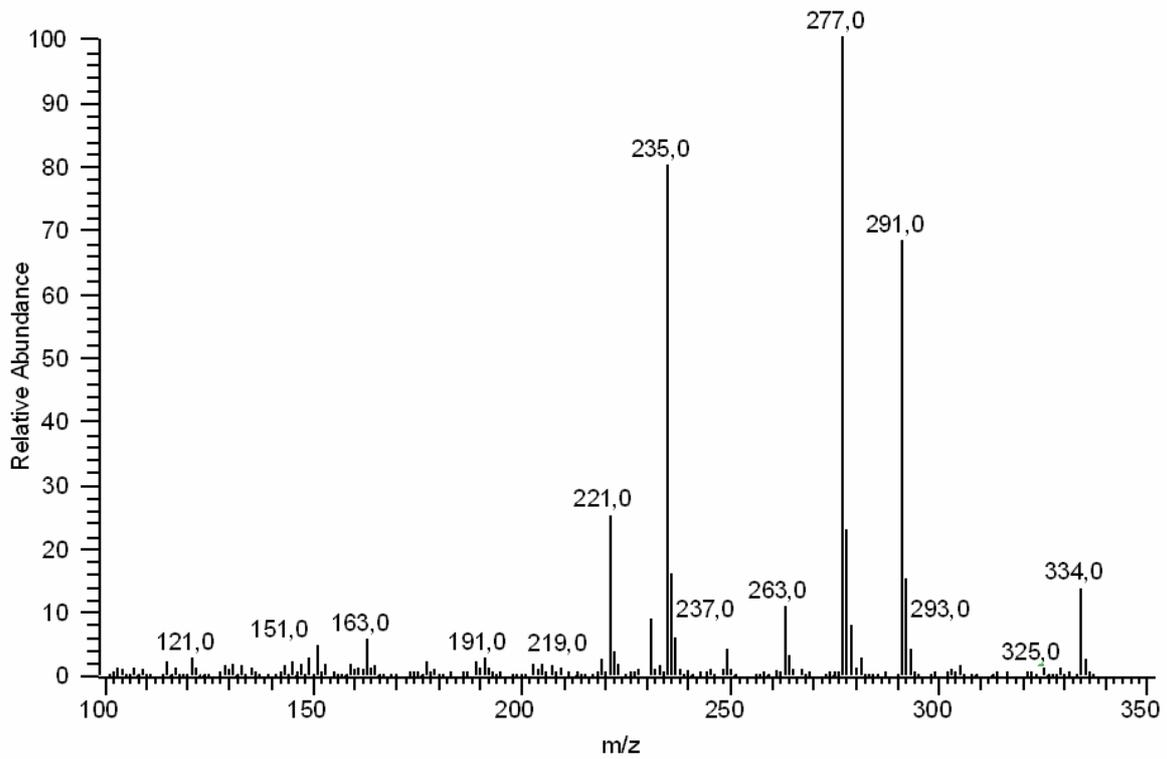


Abbildung 45: Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 1, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

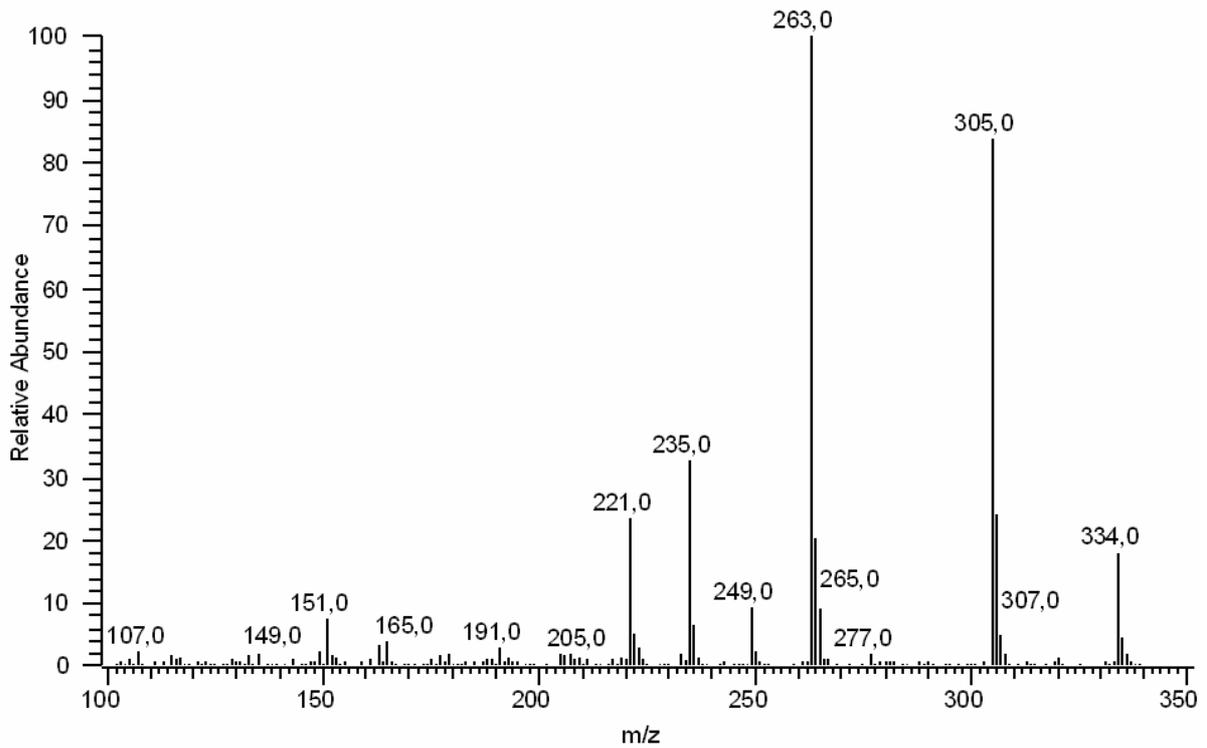


Abbildung 46: Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 2, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

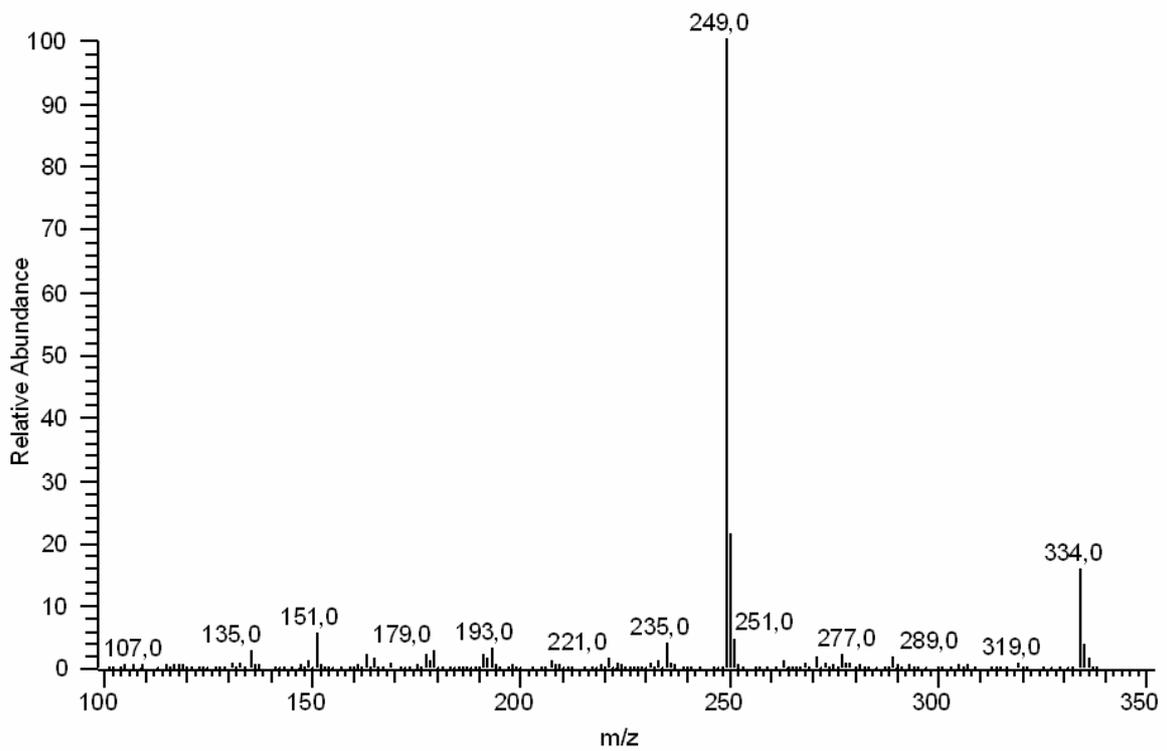


Abbildung 47: Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 3, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

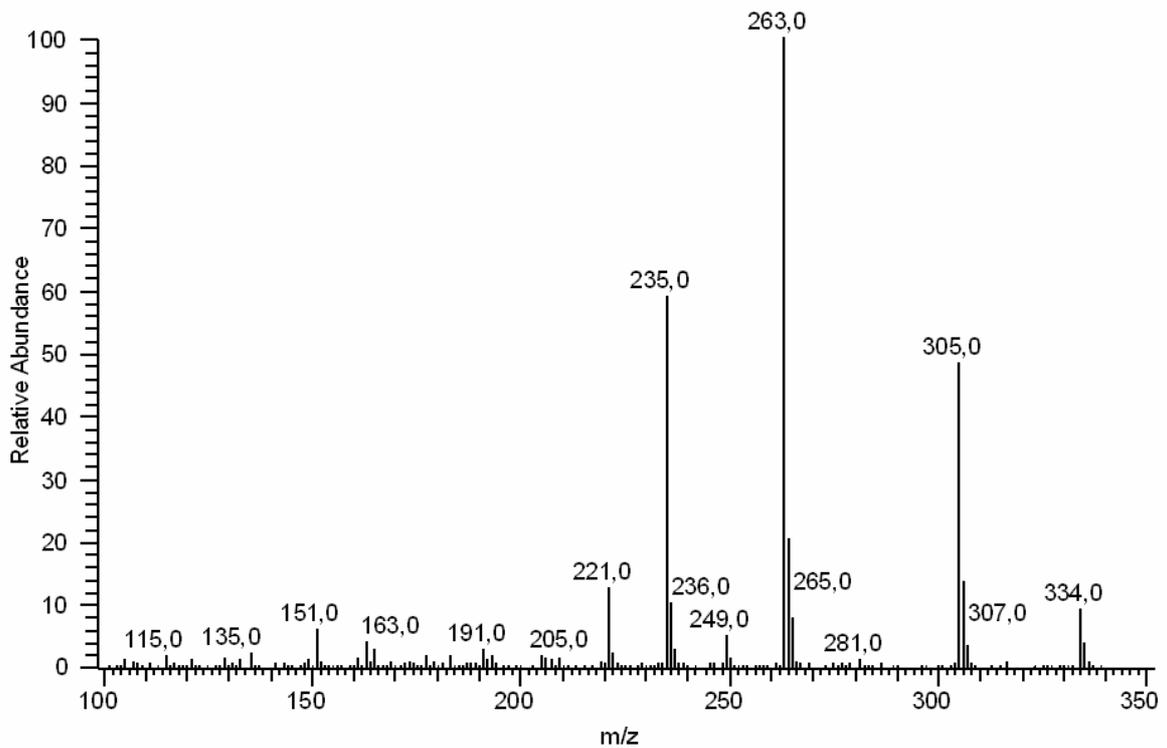


Abbildung 48: Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 4, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

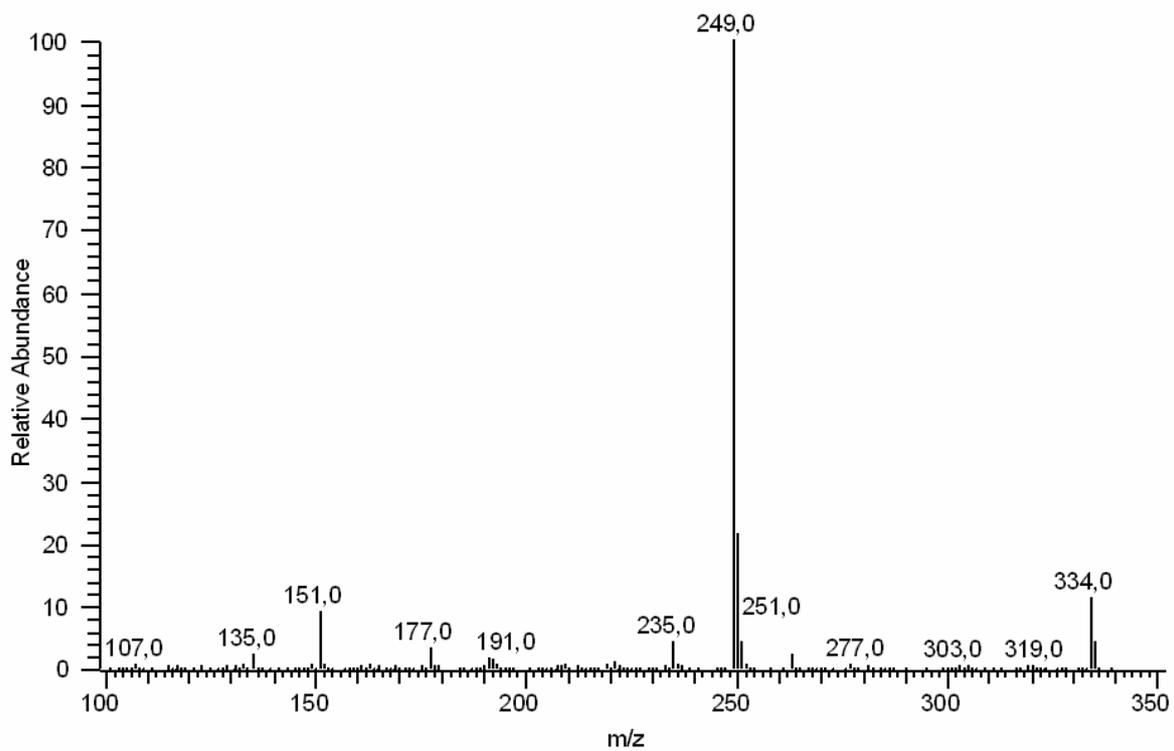


Abbildung 49: Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 5, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

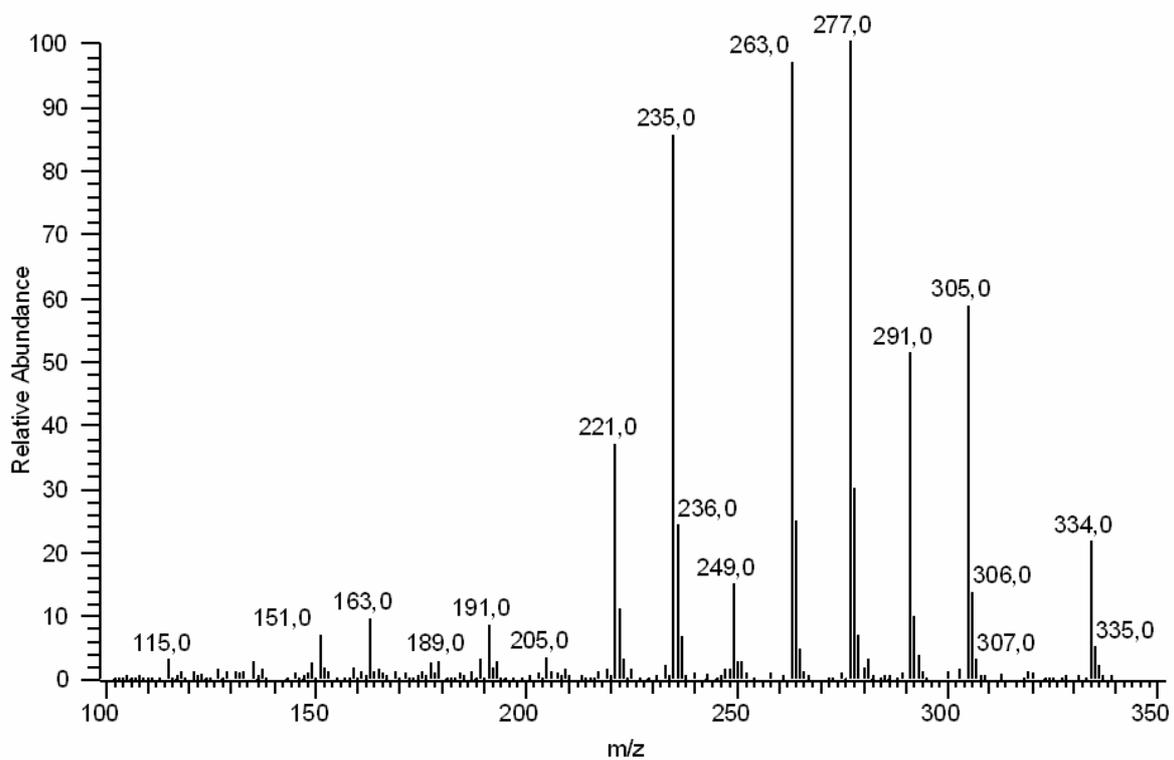


Abbildung 50: Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 6, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

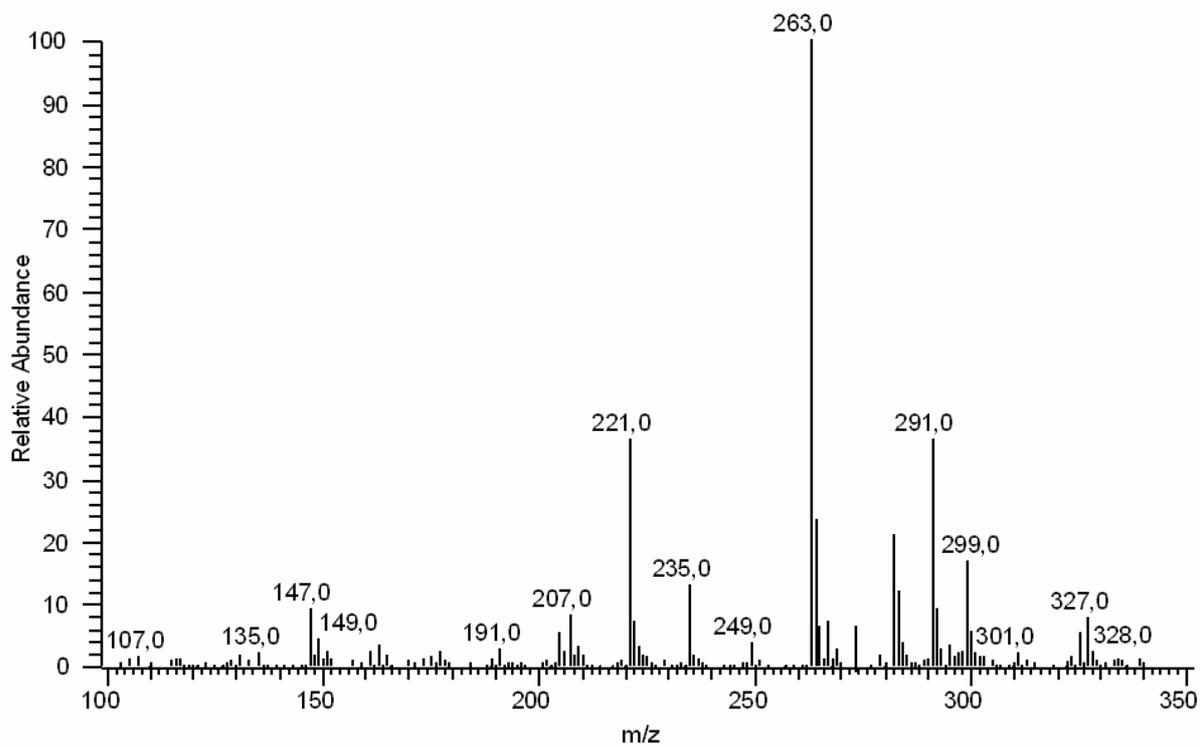


Abbildung 51: Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 7, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

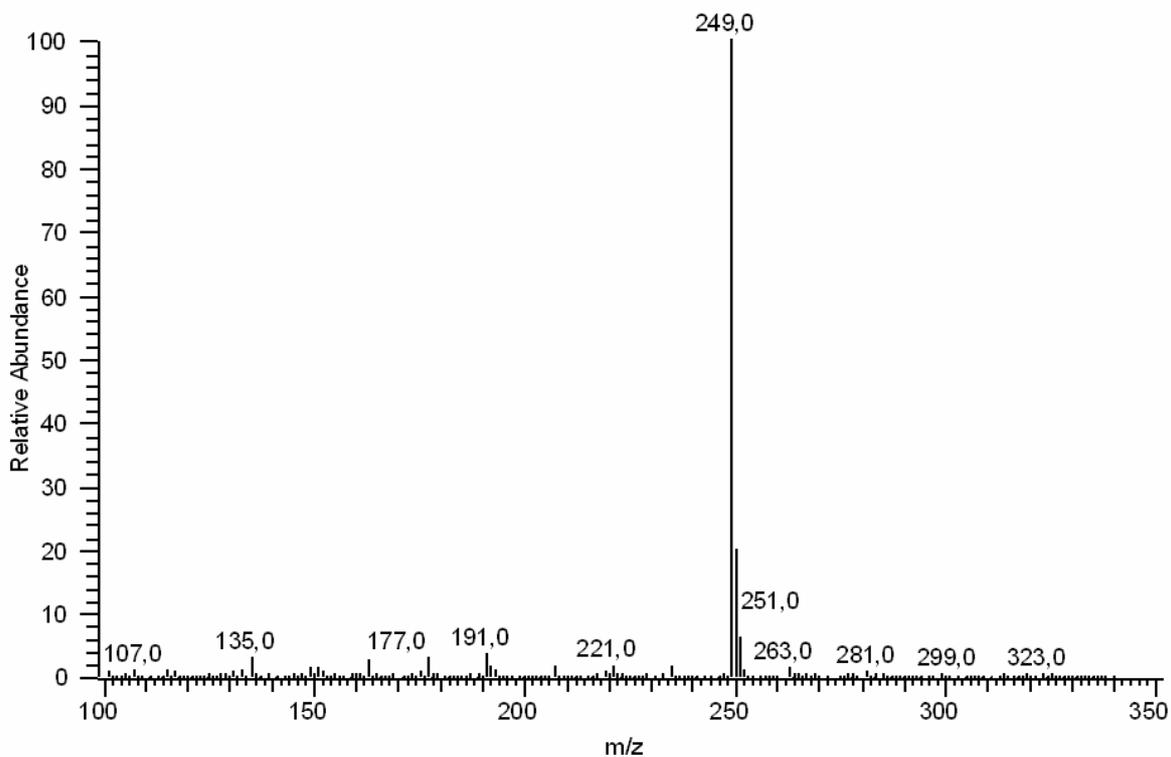


Abbildung 52: Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 8, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

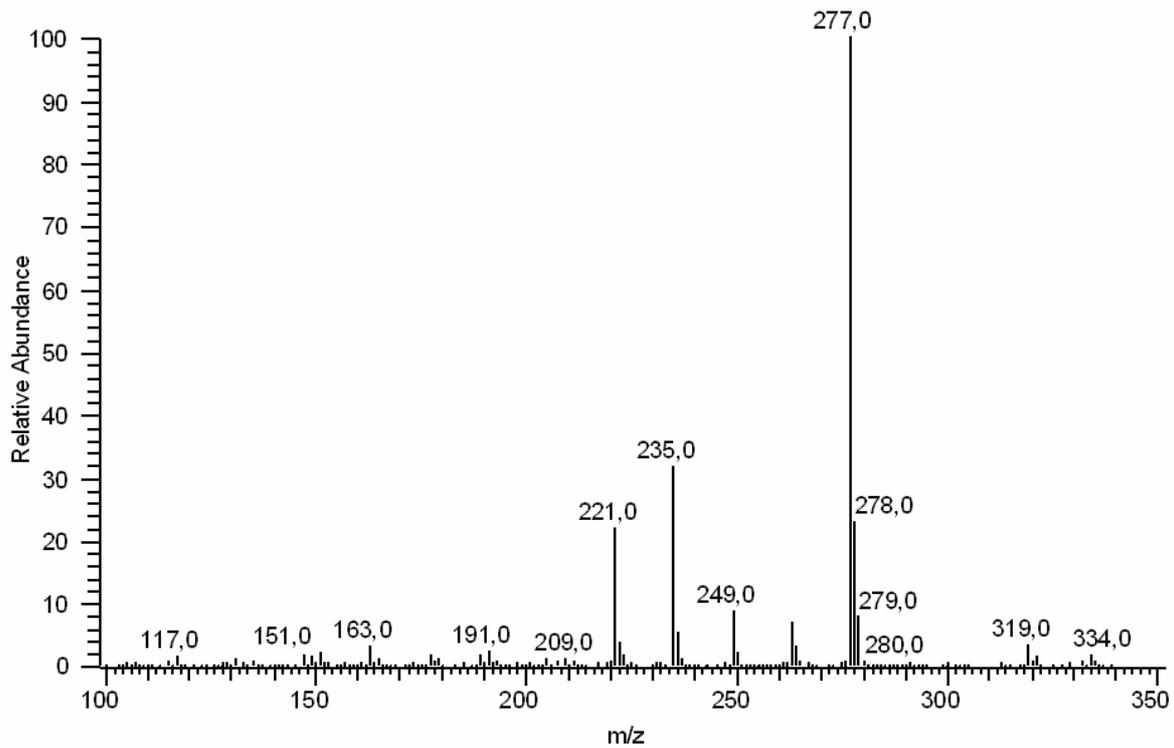


Abbildung 53: Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 9, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

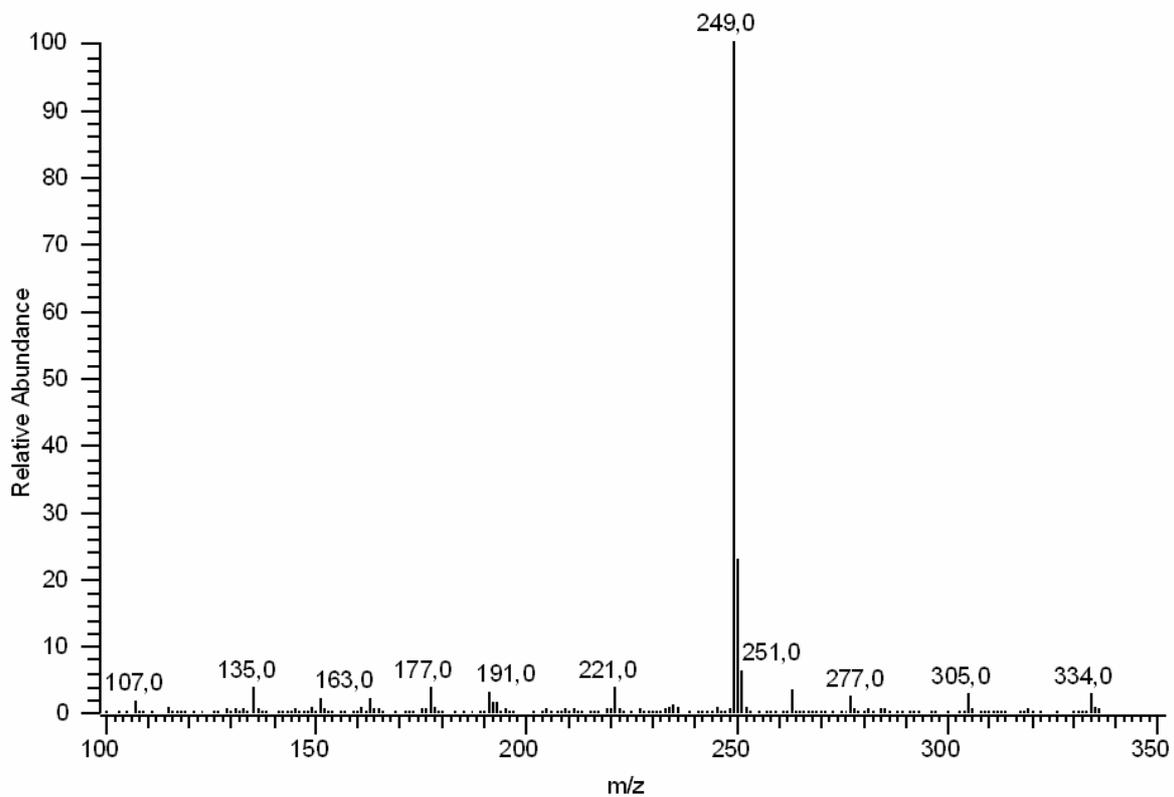


Abbildung 54: Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 10, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

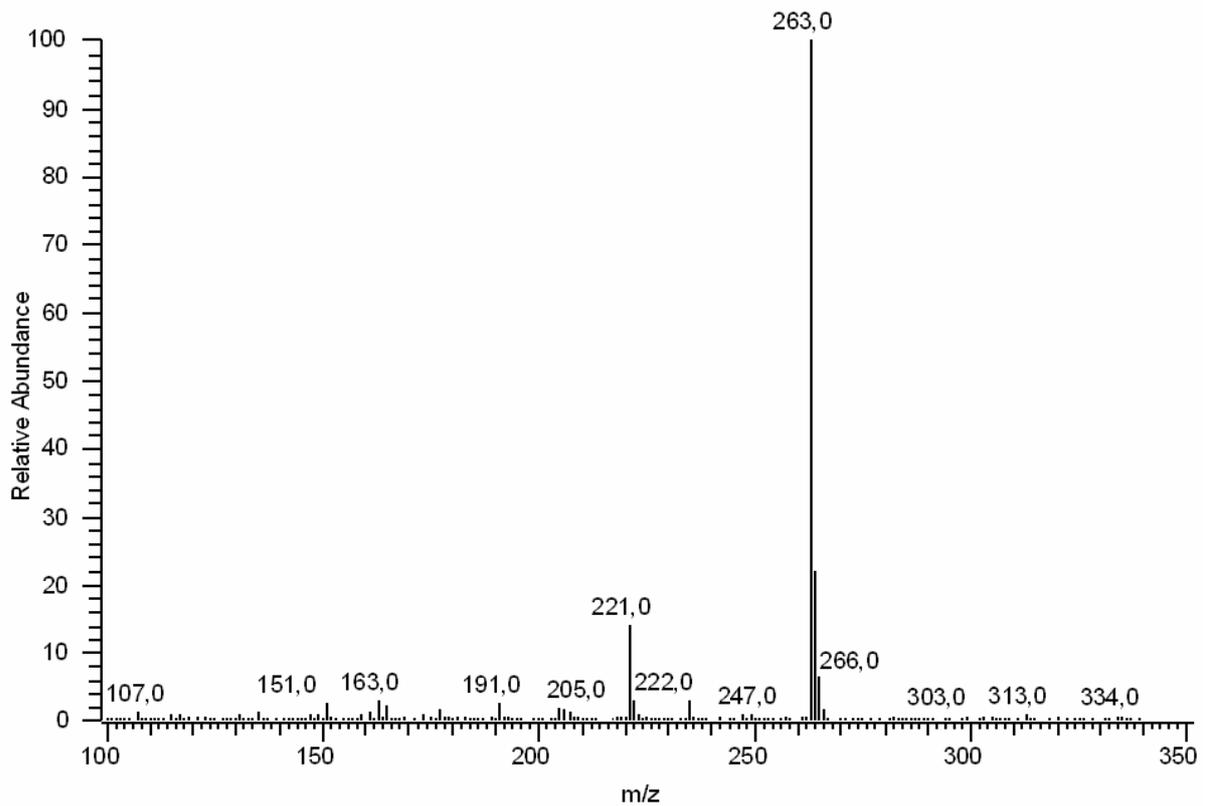


Abbildung 55: Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten 4-NP, Peak 11, für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

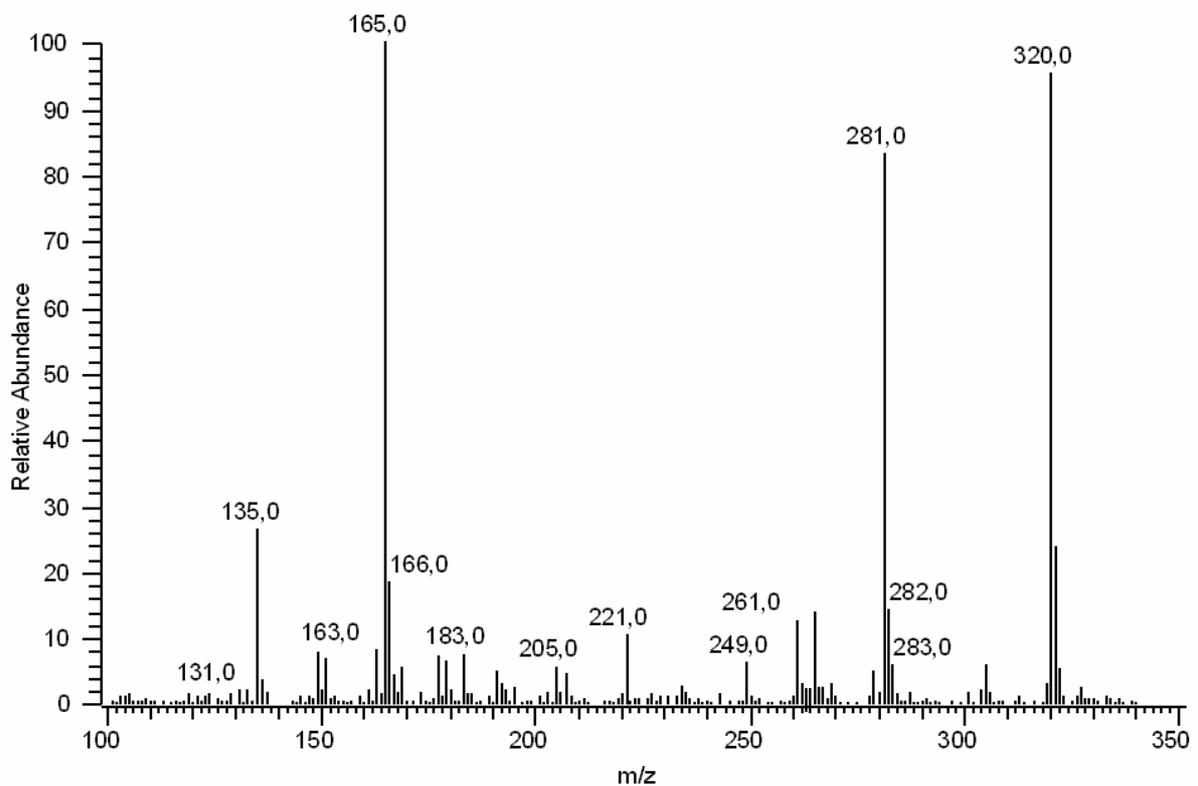


Abbildung 56: Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten ISTD 4-n-OP für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

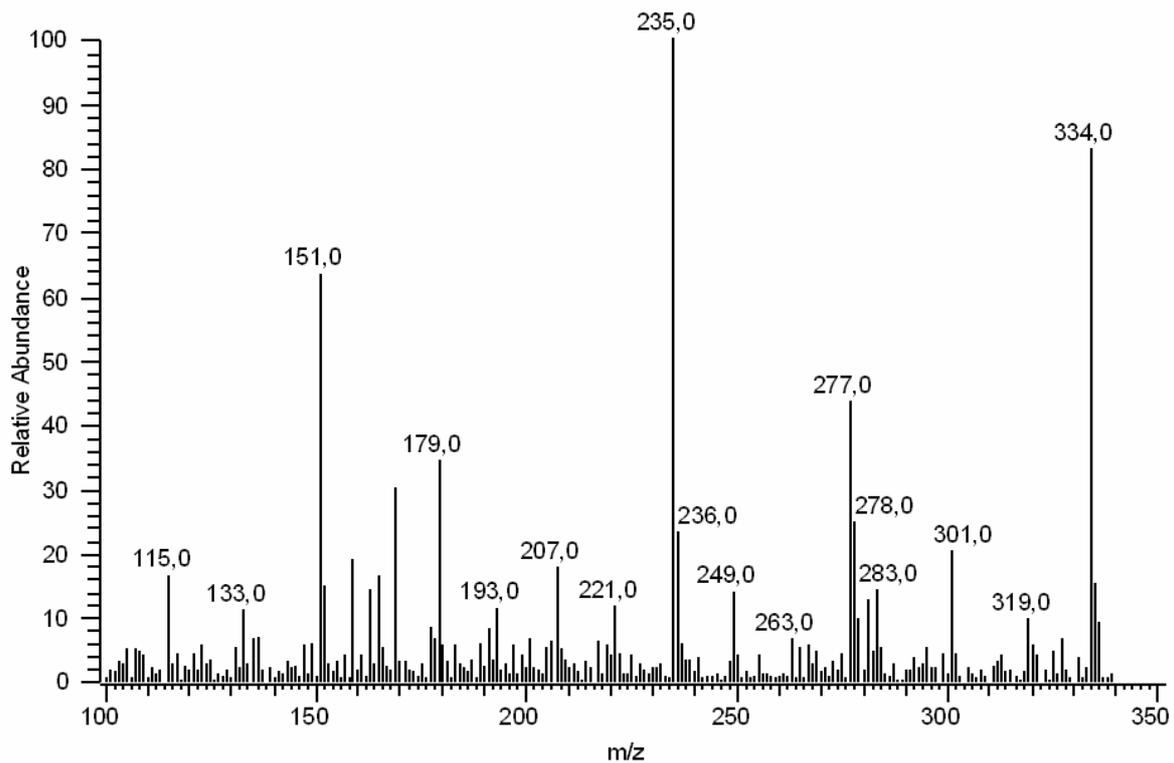


Abbildung 57: Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten GSTD 4-(2'-Nonyl)phenol für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

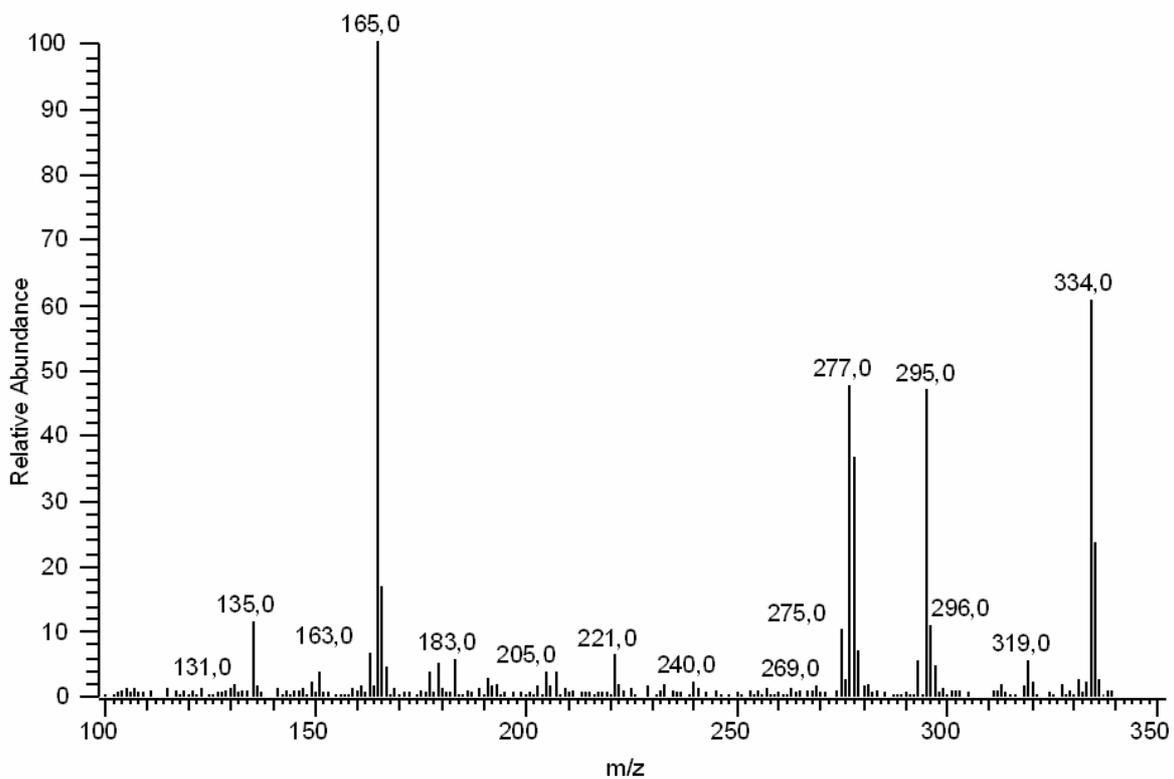


Abbildung 58: Anhang 7.13.: Spektrum des derivatisierten ISTD 4-n-NP für das Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

7.14. Spektren aller derivatisierten Analyten für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

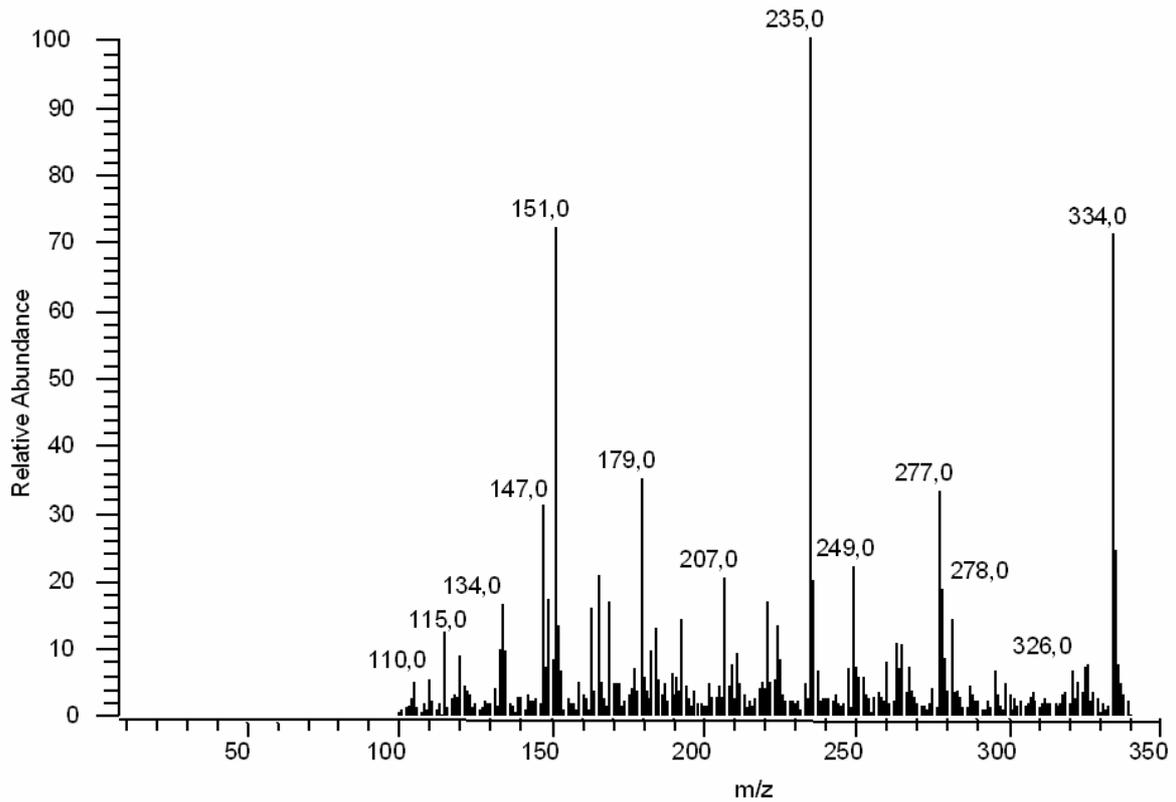


Abbildung 59: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten GSTD 4-(2'-Nonyl)phenol für das Analyseverfahren für für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

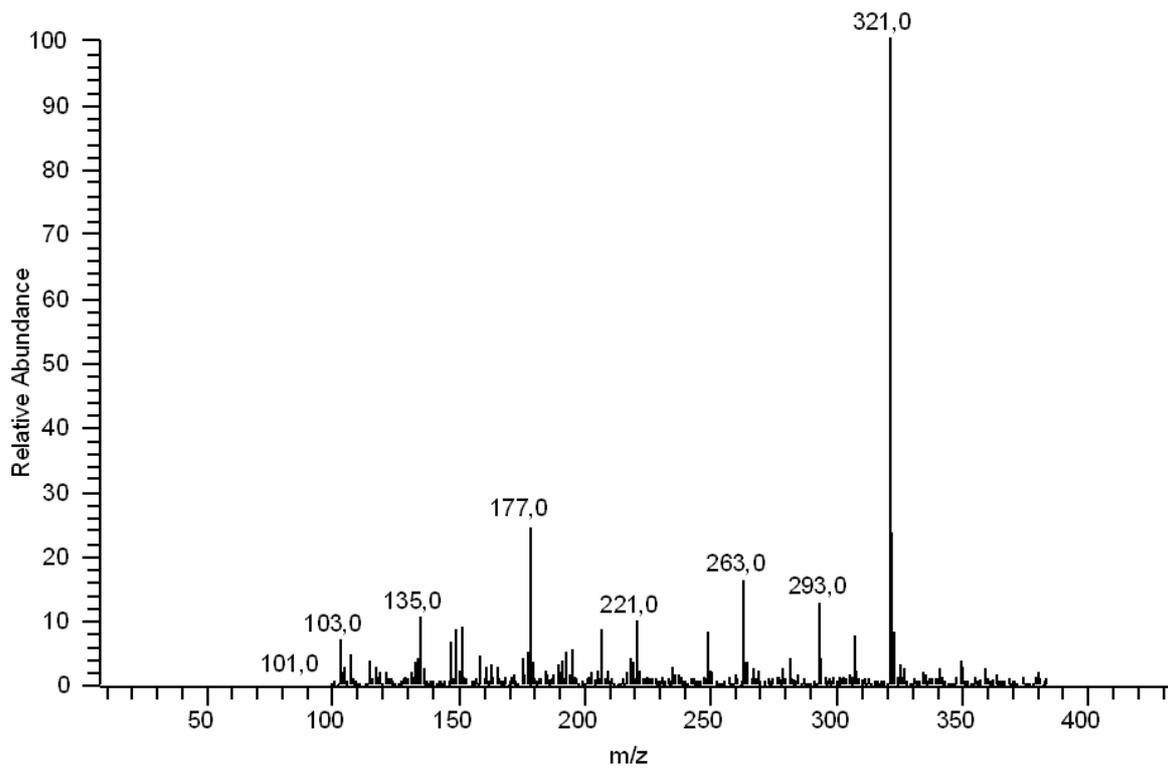


Abbildung 60: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP1EO, Peak 1, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

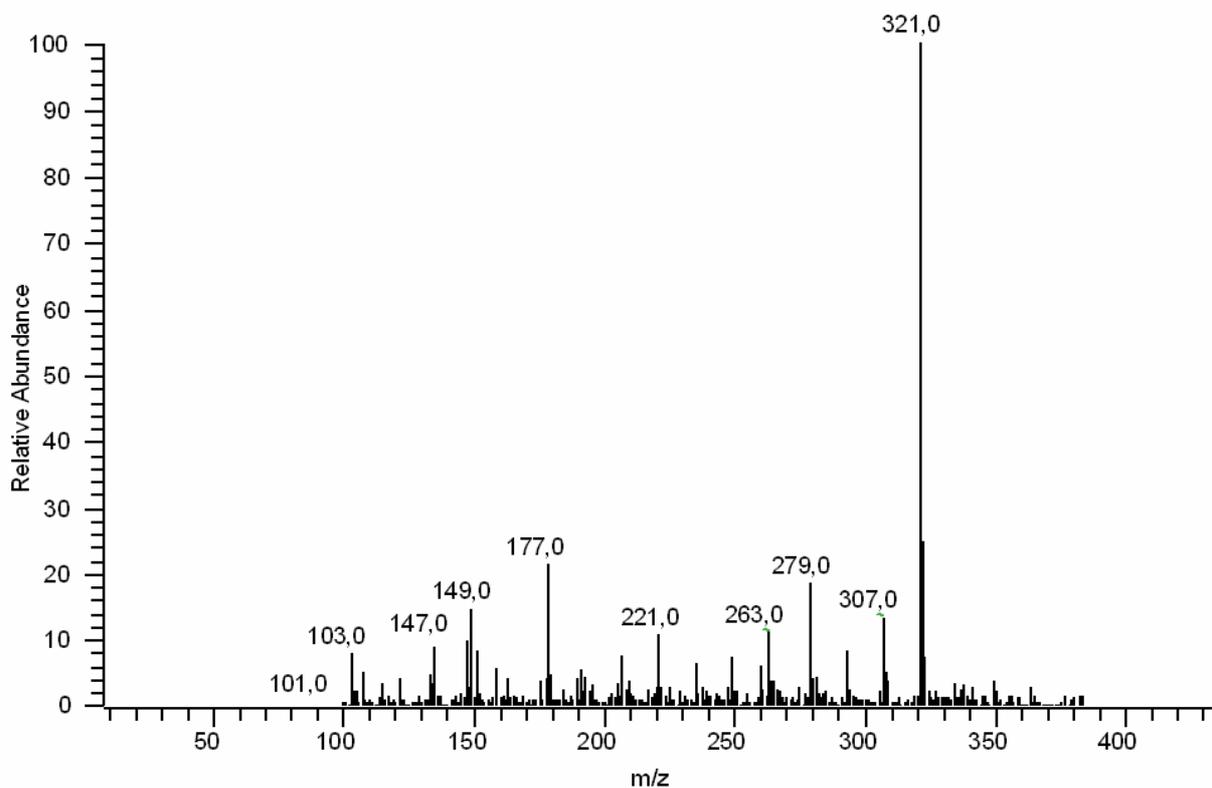


Abbildung 61: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP1EO, Peak 2, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

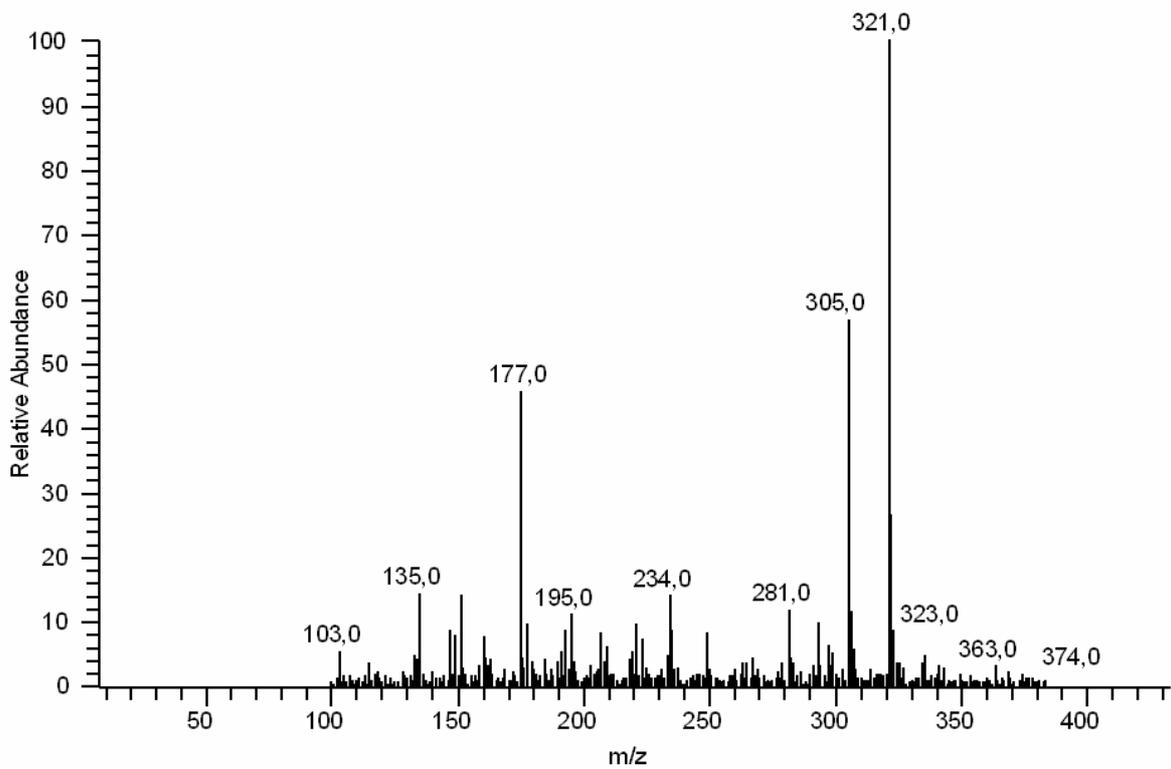


Abbildung 62: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP1EO, Peak 3, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

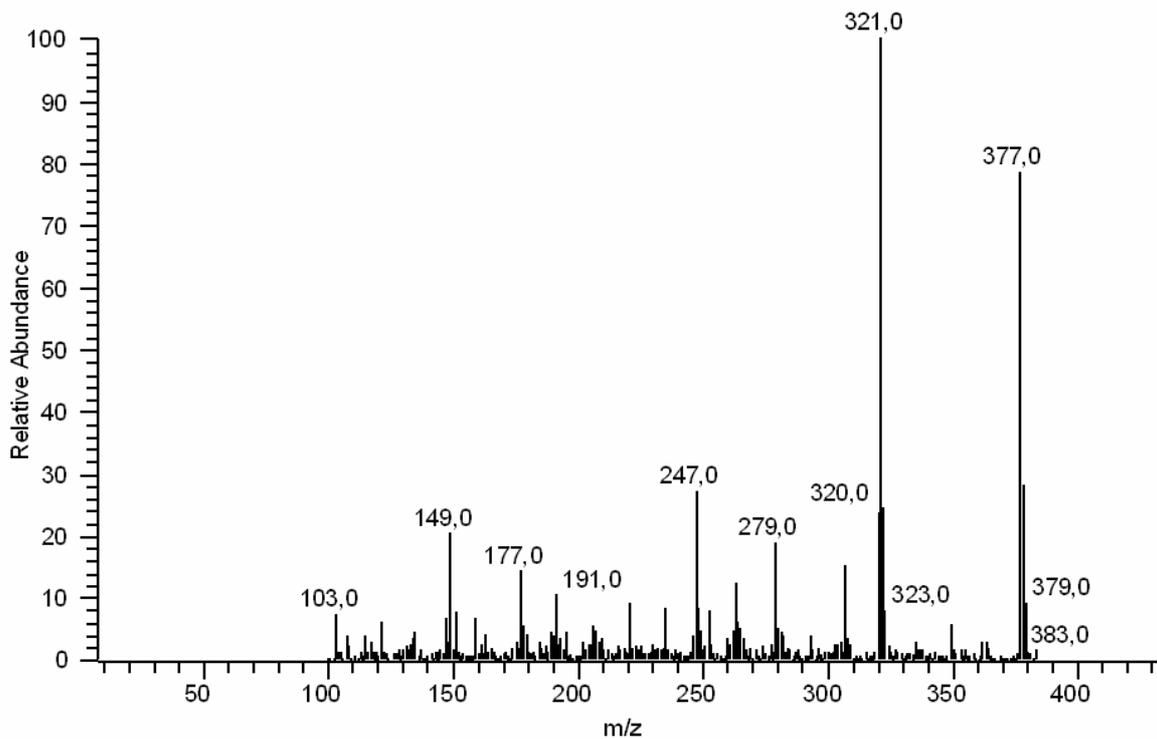


Abbildung 63: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP1EO, Peak 4, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

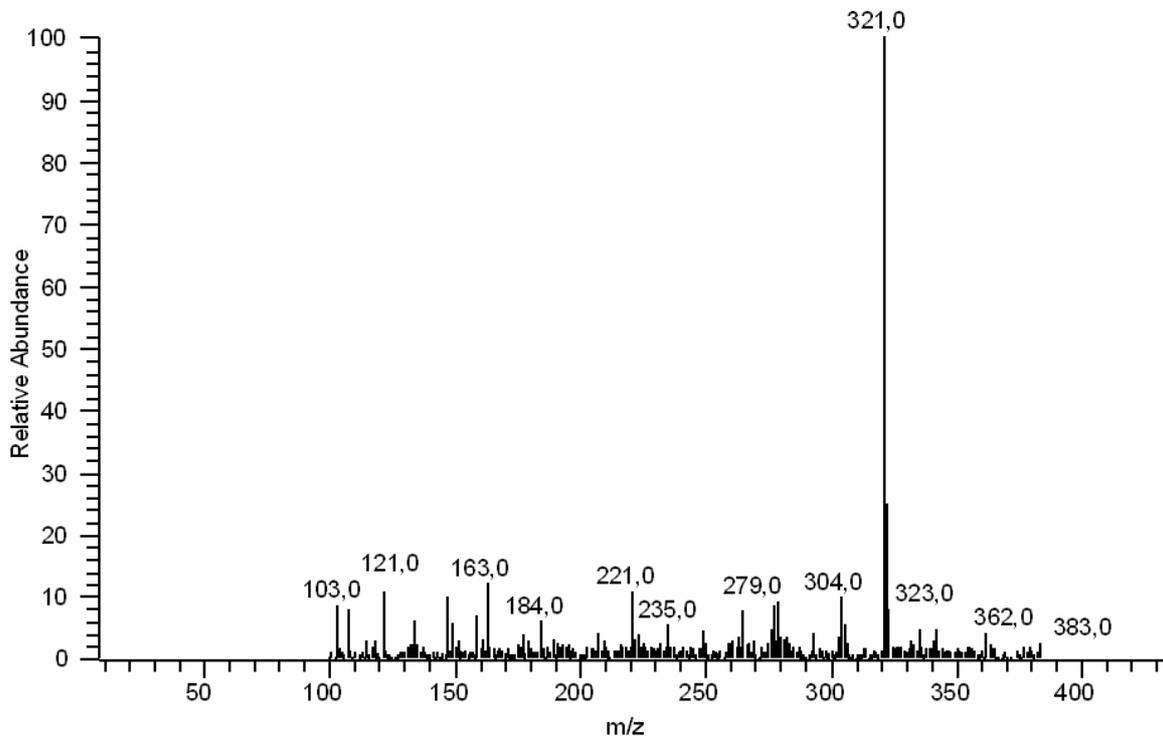


Abbildung 64: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP1EO, Peak 5, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

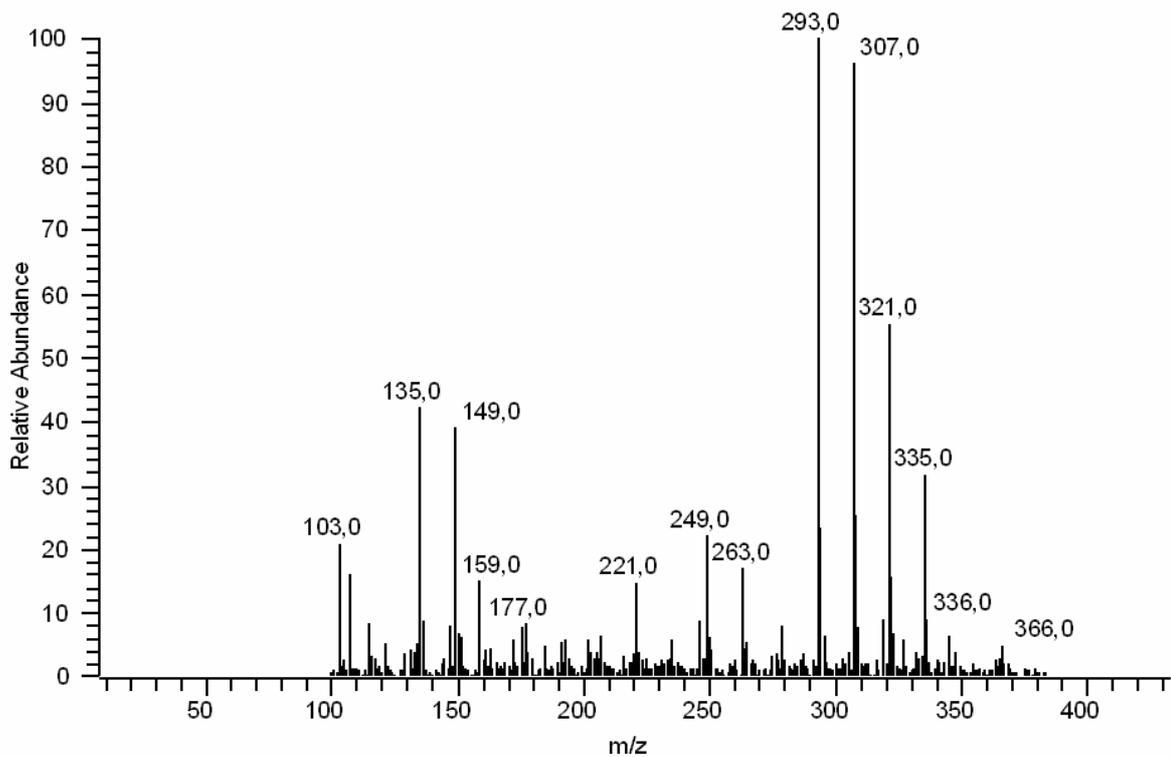


Abbildung 65: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP1EO, Peak 6, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

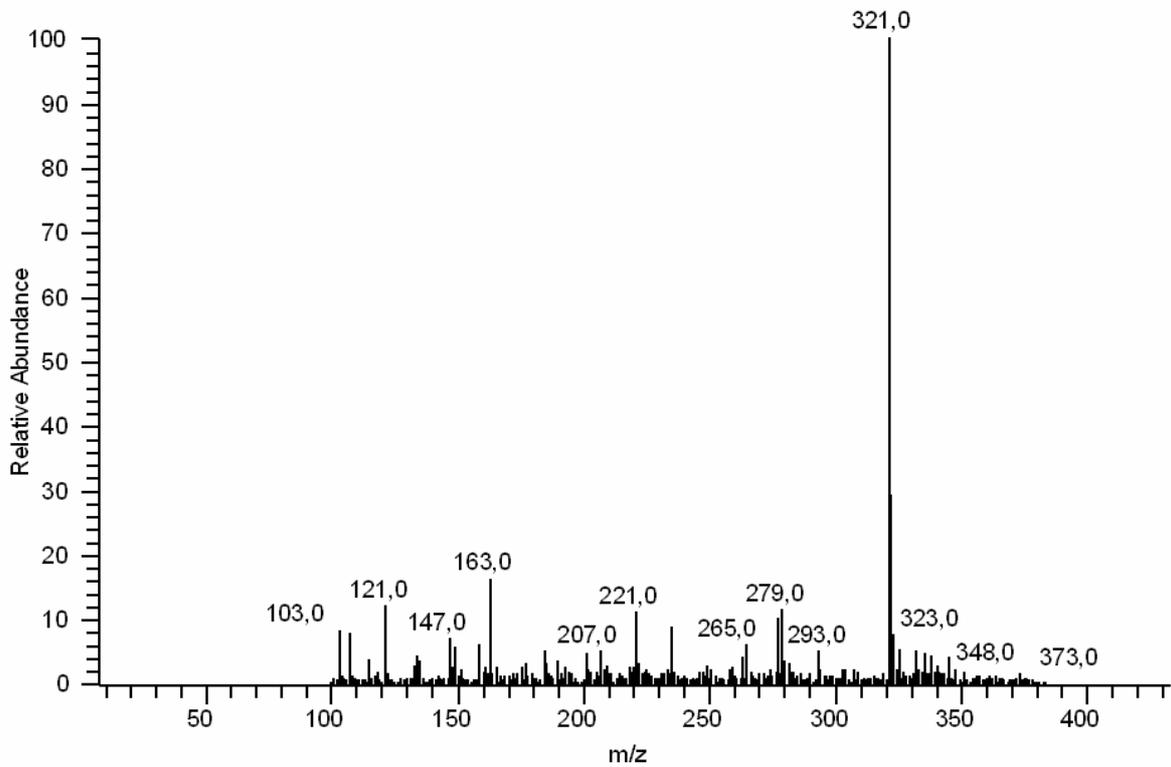


Abbildung 66: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP1EO, Peak 7, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

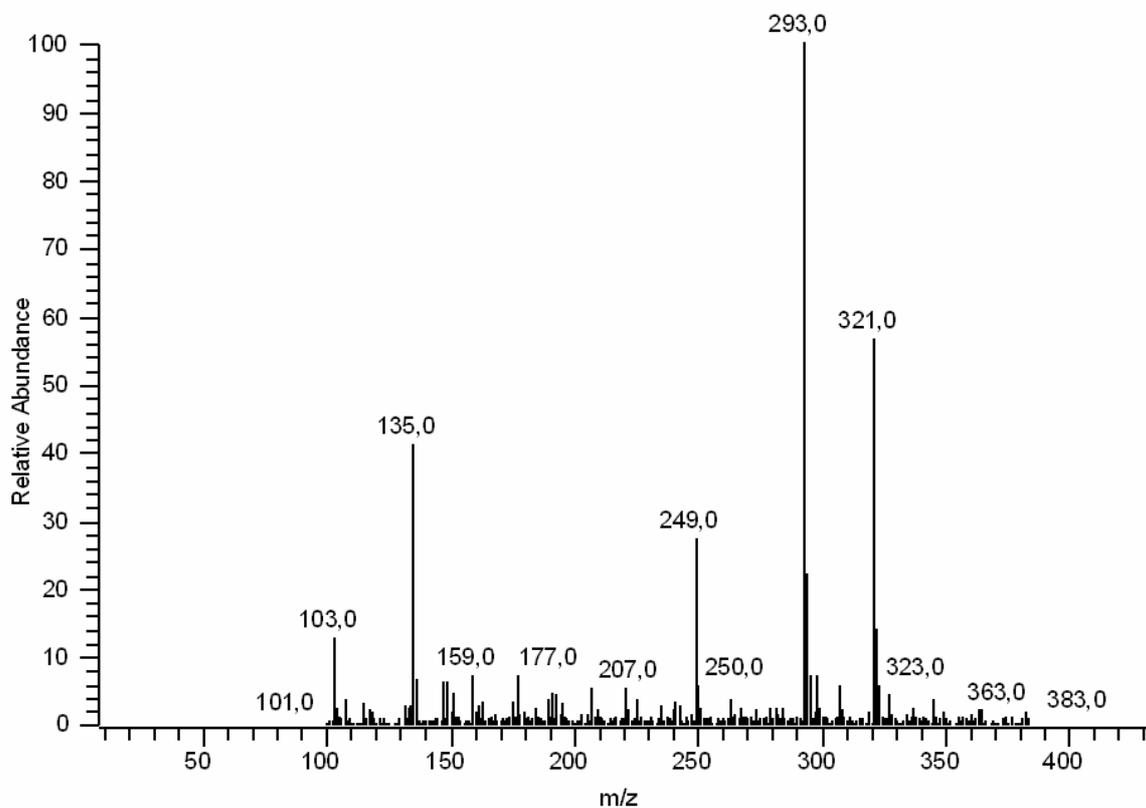


Abbildung 67: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP1EO, Peak 8, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

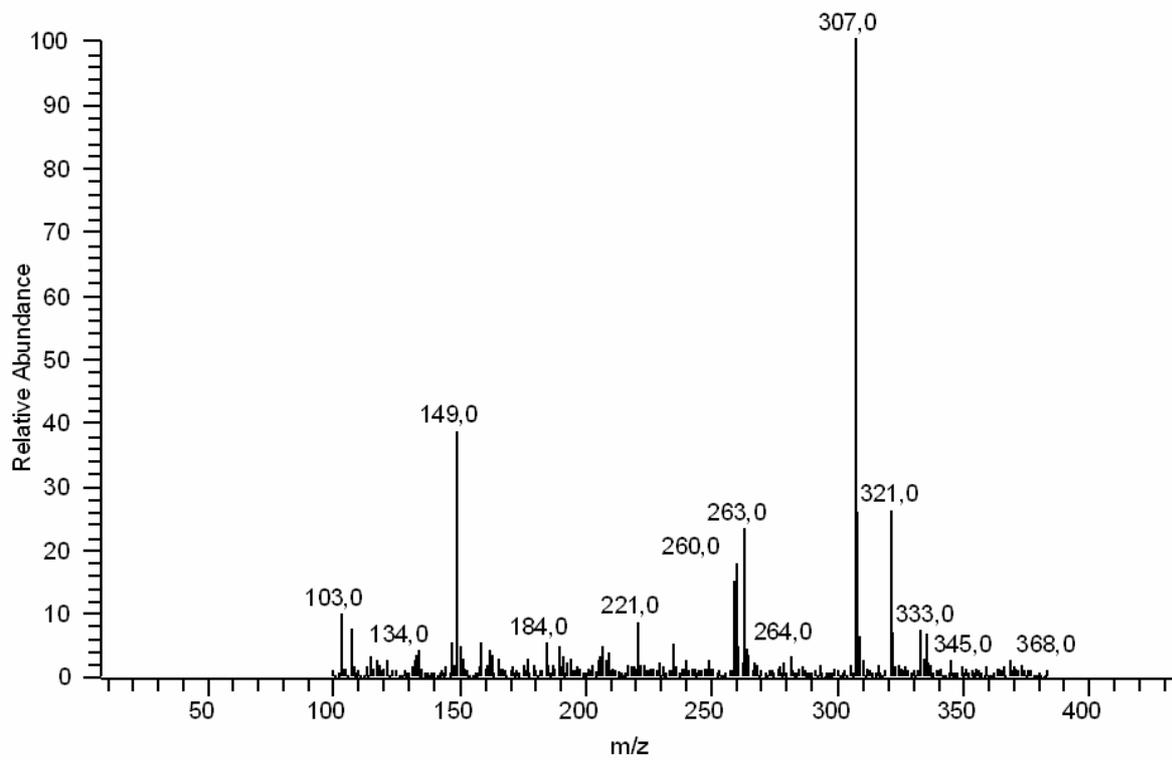


Abbildung 68: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP1EO, Peak 9, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

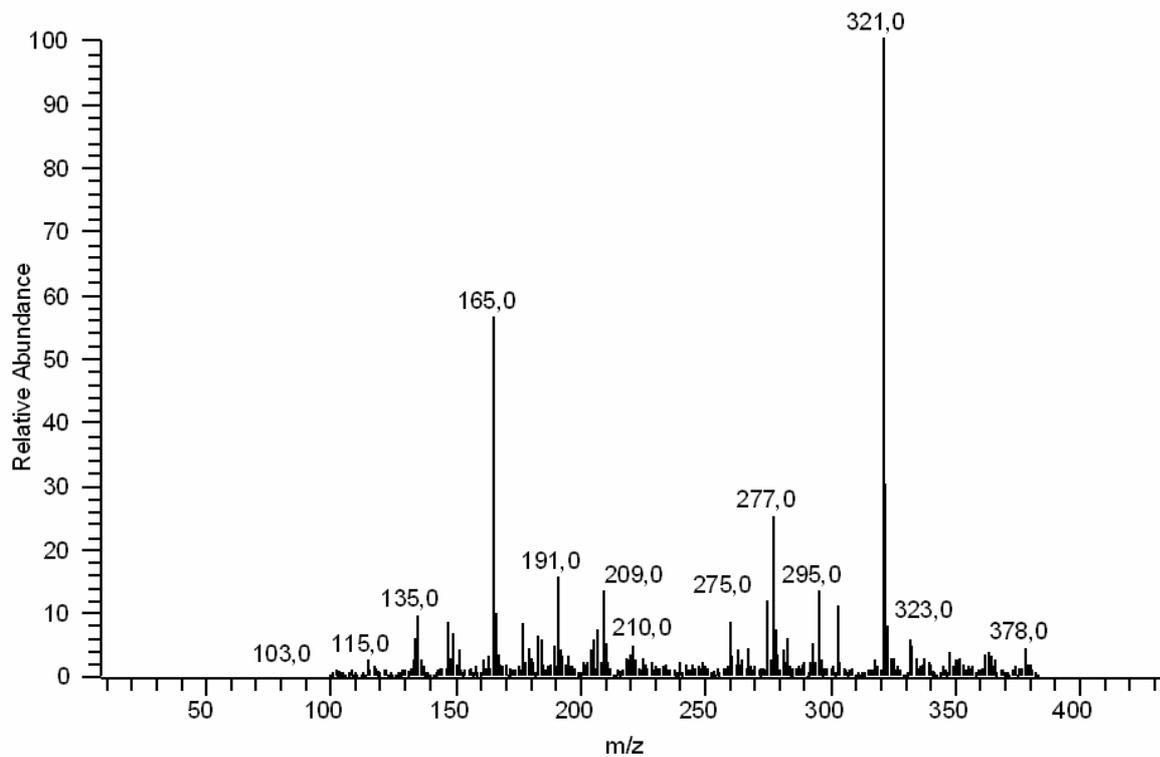


Abbildung 69: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten ISTD 4-n-NP1EO für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

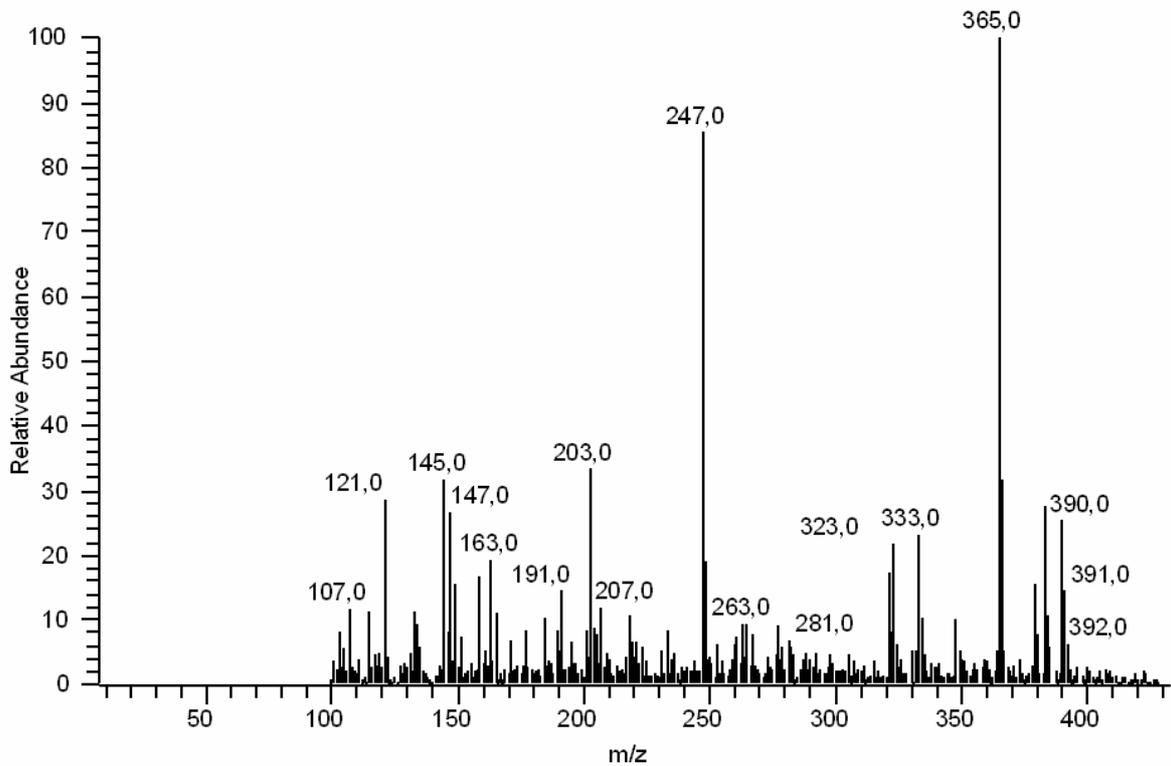


Abbildung 70: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP2EO, Peak 1, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

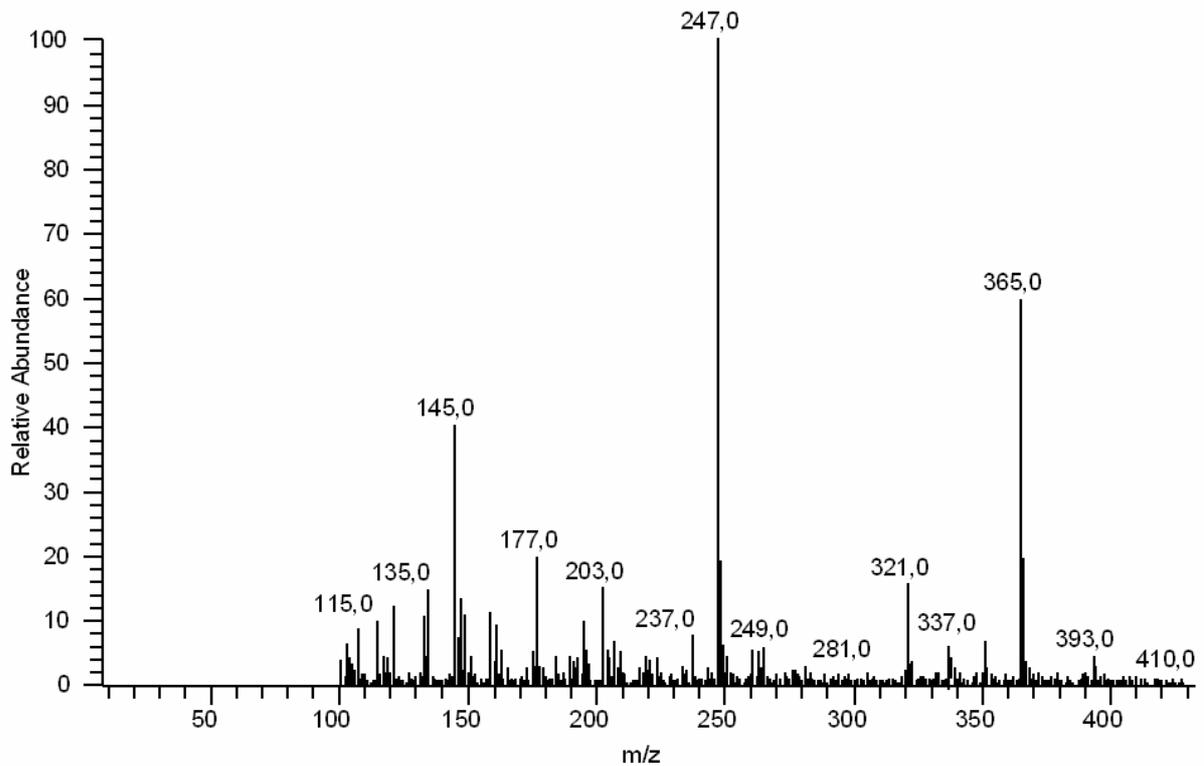


Abbildung 71: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP2EO, Peak 2, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

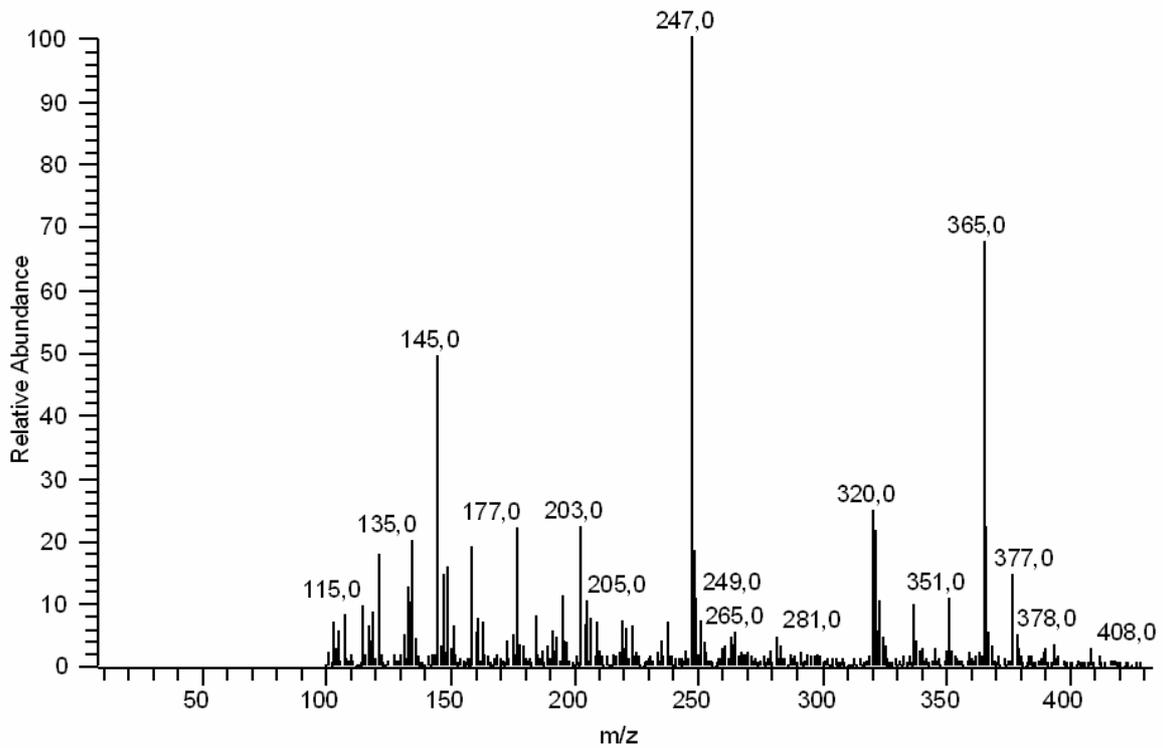


Abbildung 72: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP2EO, Peak 3, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

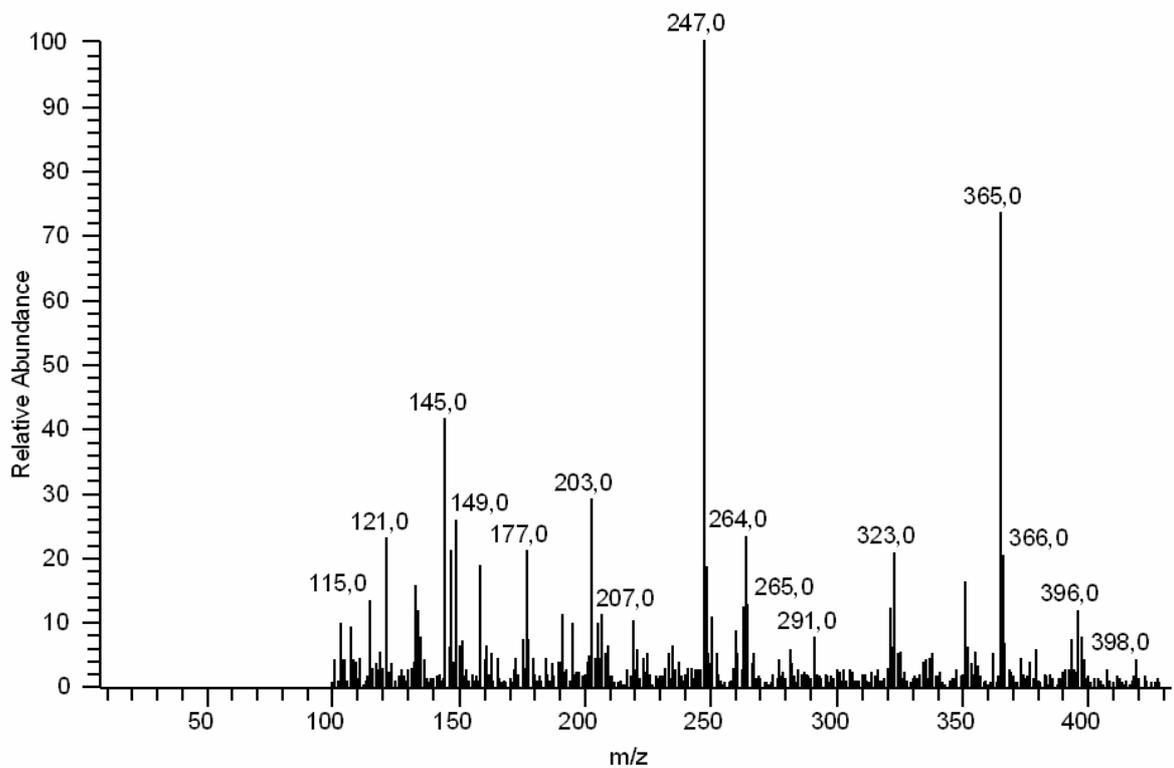


Abbildung 73: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP2EO, Peak 4, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

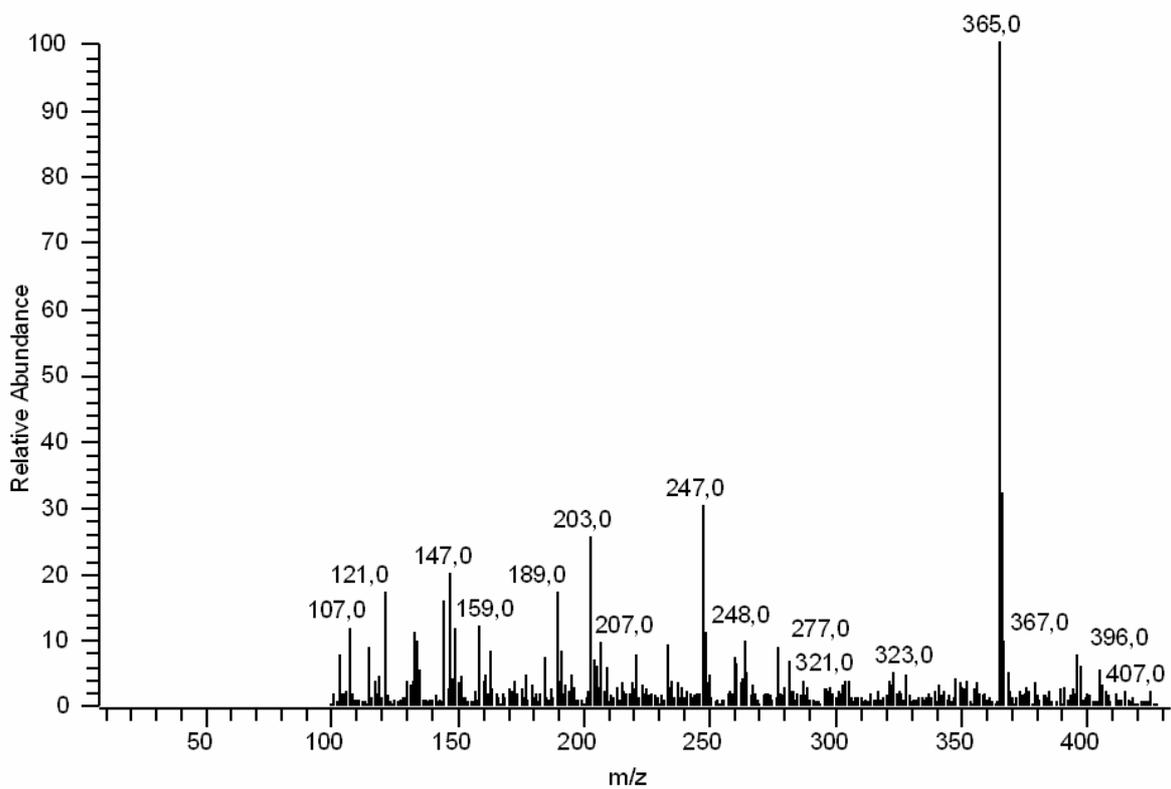


Abbildung 74: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP2EO, Peak 5, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

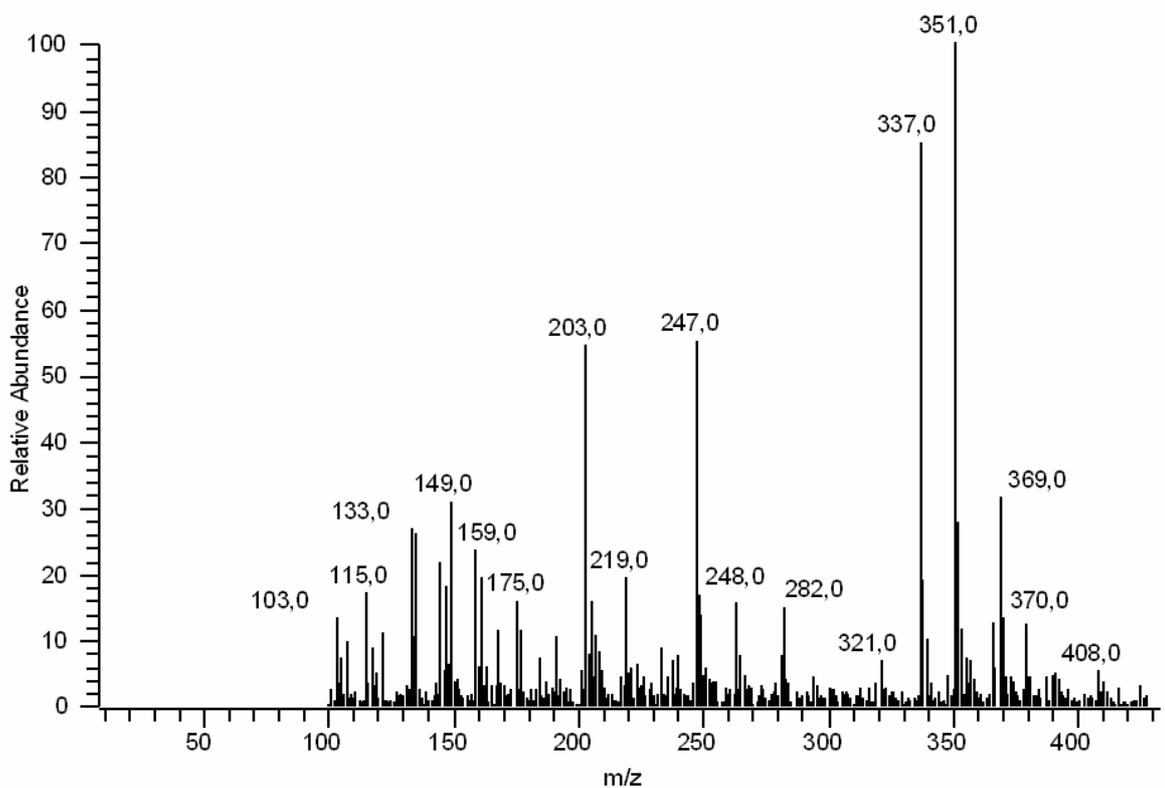


Abbildung 75: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP2EO, Peak 6, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

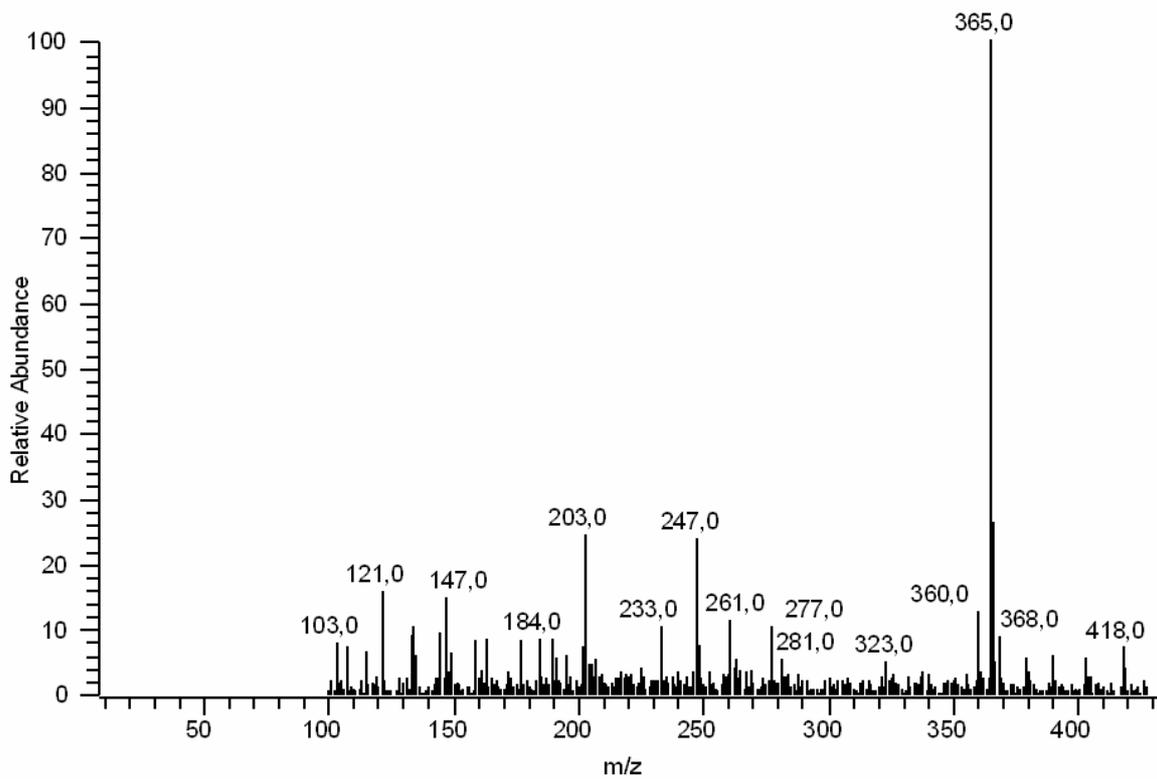


Abbildung 76: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP2EO, Peak 7, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

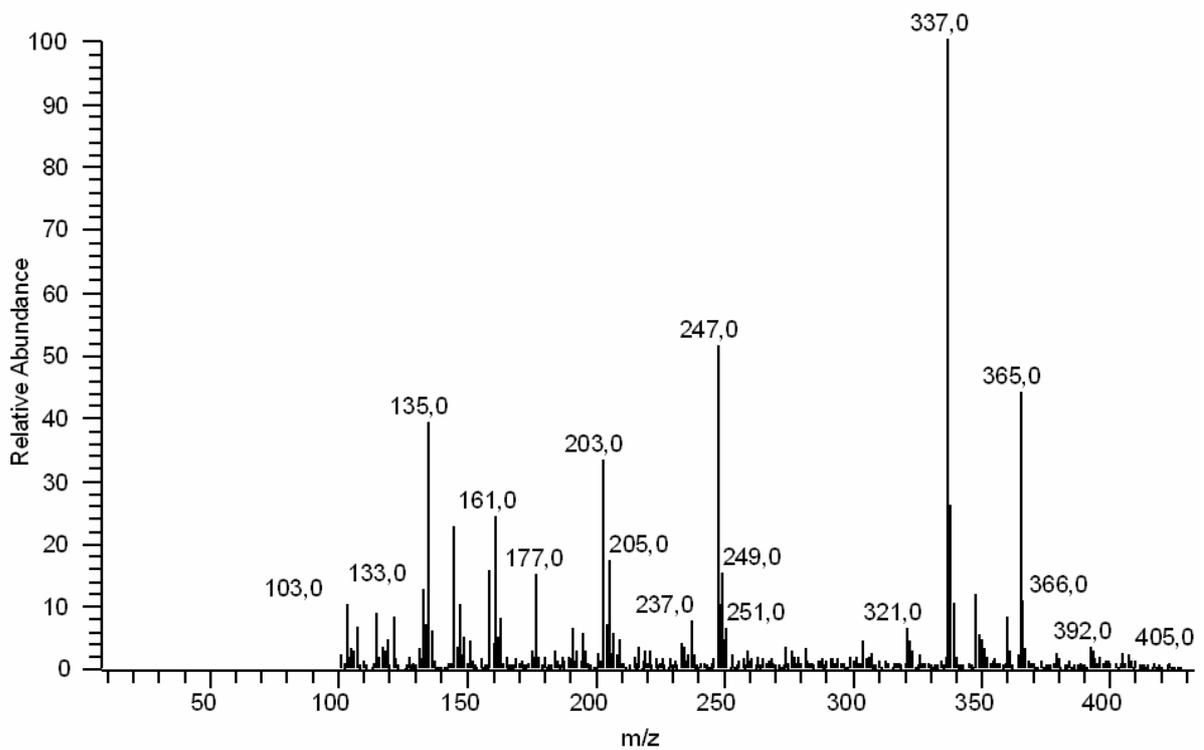


Abbildung 77: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP2EO, Peak 8, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

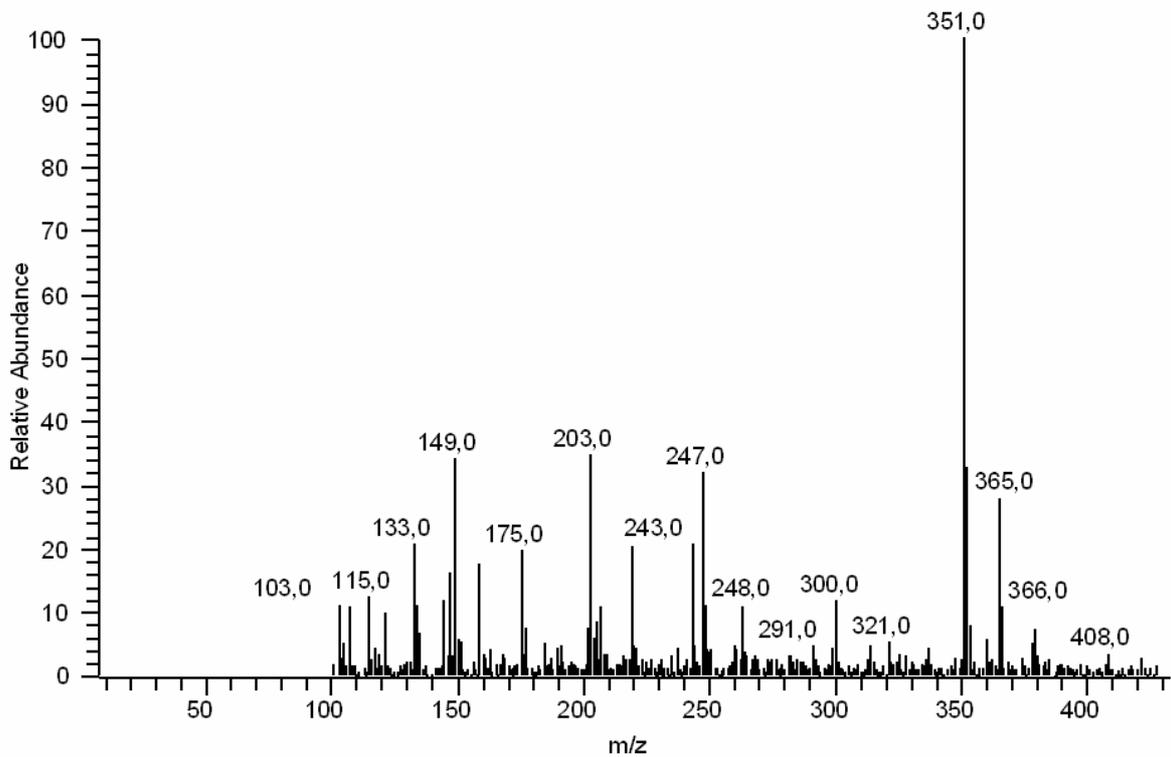


Abbildung 78: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten 4-NP2EO, Peak 9, für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

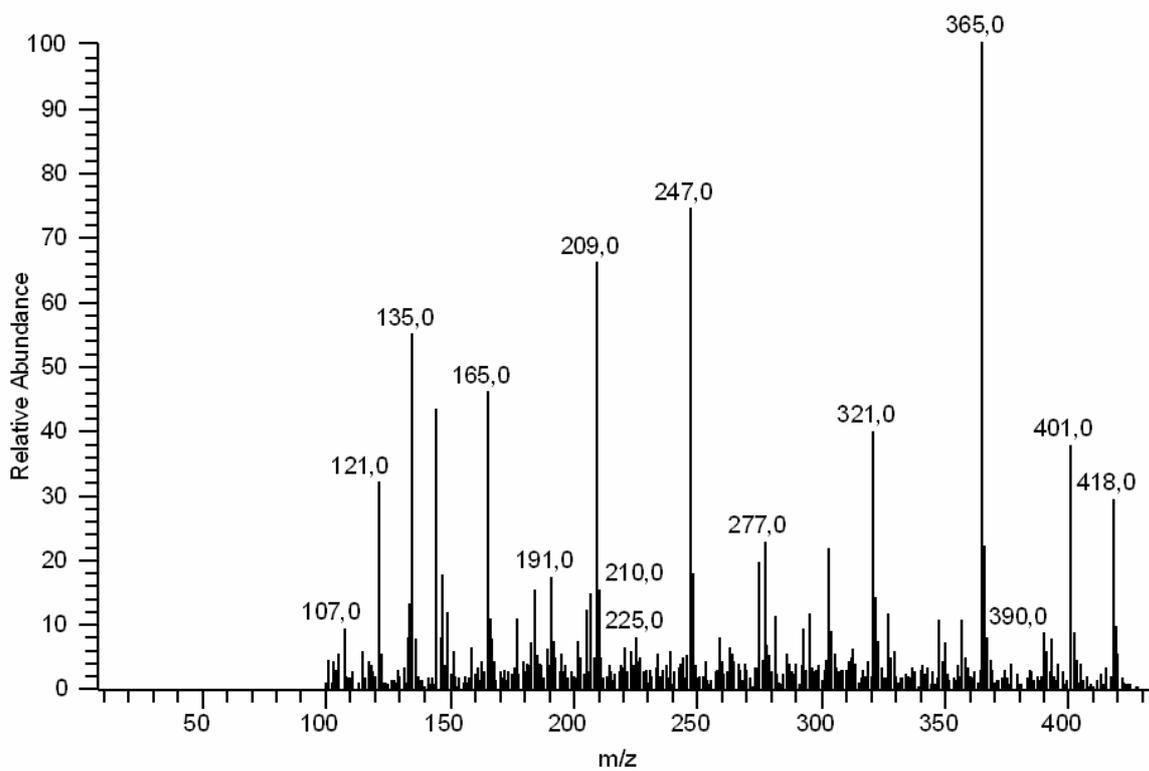


Abbildung 79: Anhang 7.14.: Spektrum des derivatisierten ISTD 4-n-NP2EO für das Analyseverfahren für 4-NP, 4-tert.-OP, 4-NP1EO und 4-NP2EO

7.15. Übersicht über 4-tert.-OP-Mengen in Säuglings- und Kleinkindernahrung nach dem Verfahren für 4-NP

Tabelle 67: Anhang 7.15.: Übersicht über 4-tert.-OP-Mengen in Säuglings- und Kleinkindernahrung nach dem Verfahren für 4-NP

Probe	Einwaage [g]	Blindwert (BW) 4-tert.-OP [ng abs.]	Nachweisgrenze der entsprechenden Apparatur [ng abs.]	Bestimmungsgrenze der entsprechenden Apparatur [ng abs.]	4-tert.-OP in der Probe [ng abs.]	Gehalt an 4-tert.-OP in der Probe (BW subtrahiert) [ng/kg]	Wiederfindung von 4-n-NP [%]
Hypoallergene Säuglingsanfangsnahrung 2	23,27	0,5	1,2	1,9	15,8	657,5	22,1
Hypoallergene Säuglingsanfangsnahrung 2	24,59	0,7	0,8	1,0	15,3	593,7	20,7
Broccoli, Kartoffeln und Putenfleisch	42,65	0,9	1,5	2,1	4,7	89,1	92,3
Broccoli, Kartoffeln und Putenfleisch	45,50	0,8	1,5	2,3	6,8	131,9	78,8

7.16. Isomerenverteilung von 4-NP für die Proben nach dem Analyseverfahren für 4-NP im Vergleich zum technischen 4-NP

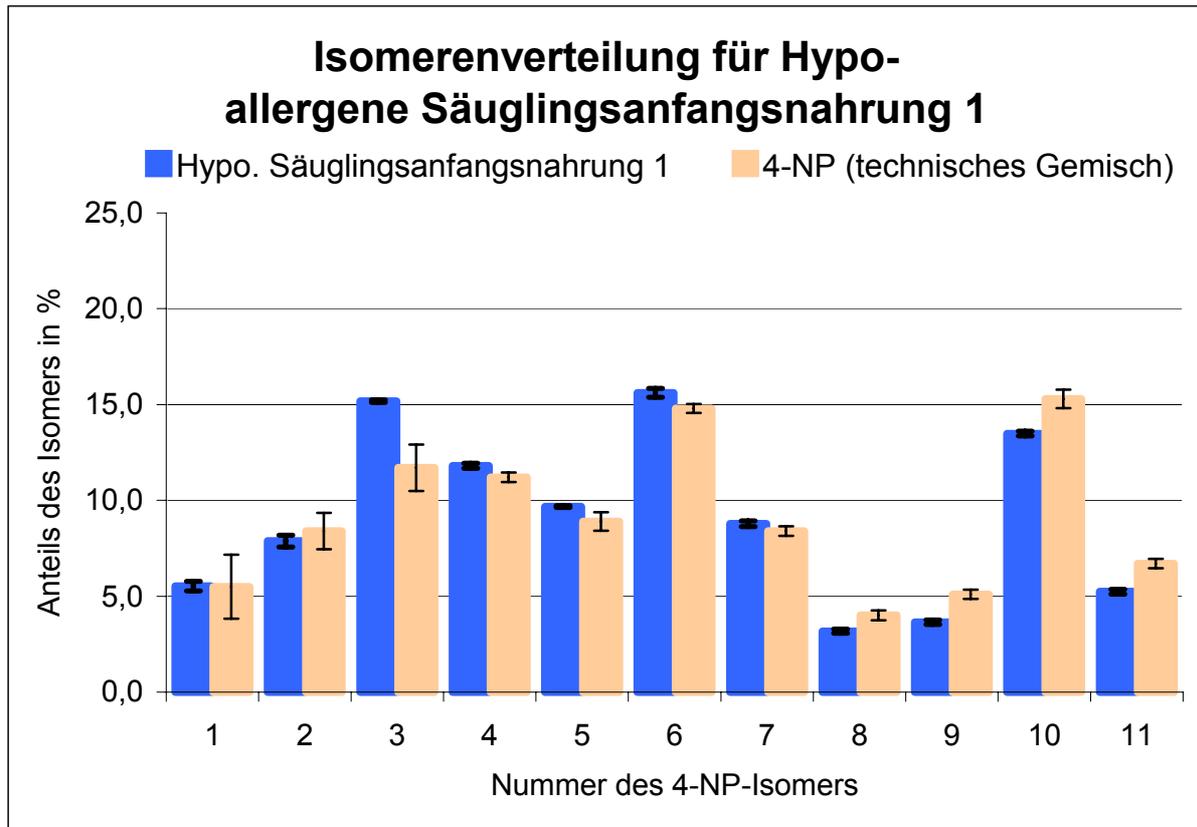


Abbildung 80: 4-NP-Isomerenverteilung für Hypoallergene Säuglingsanfangsnahrung 1 nach dem Analyseverfahren für 4-NP

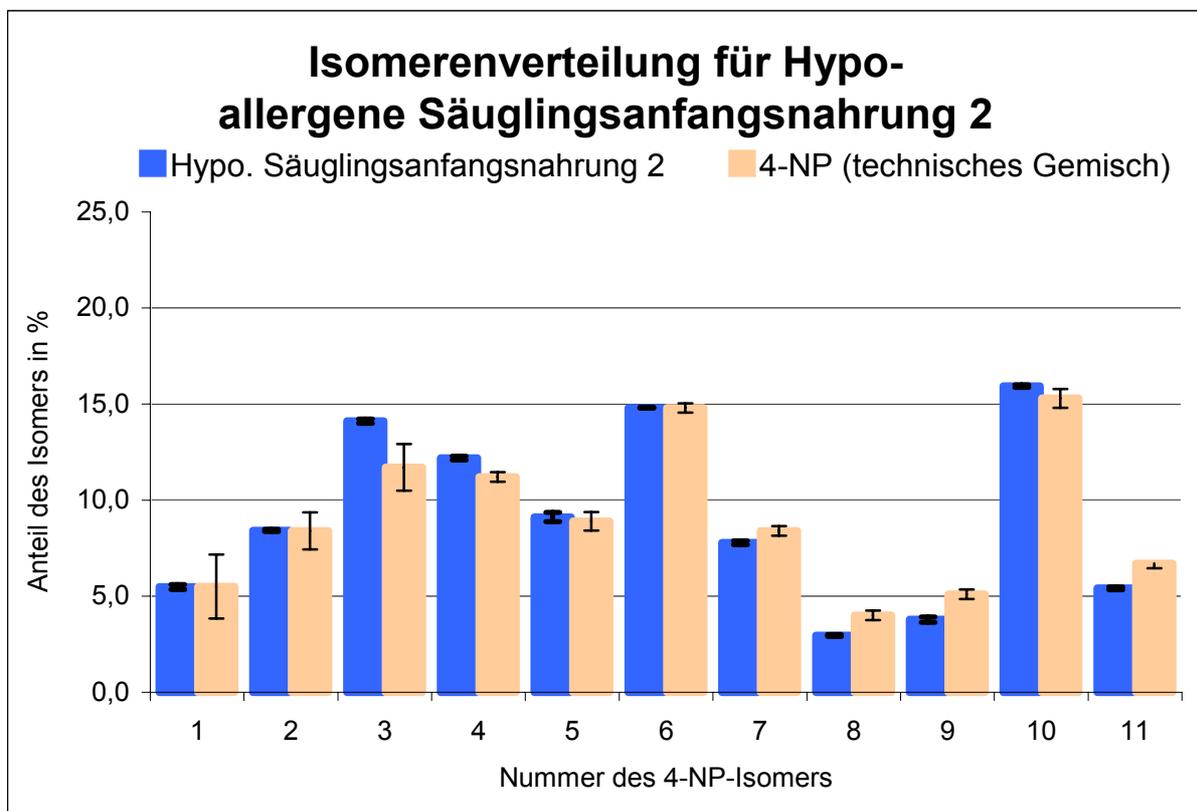


Abbildung 81: 4-NP-Isomerenverteilung für Hypoallergene Säuglingsanfangsnahrung 2 nach dem Analyseverfahren für 4-NP

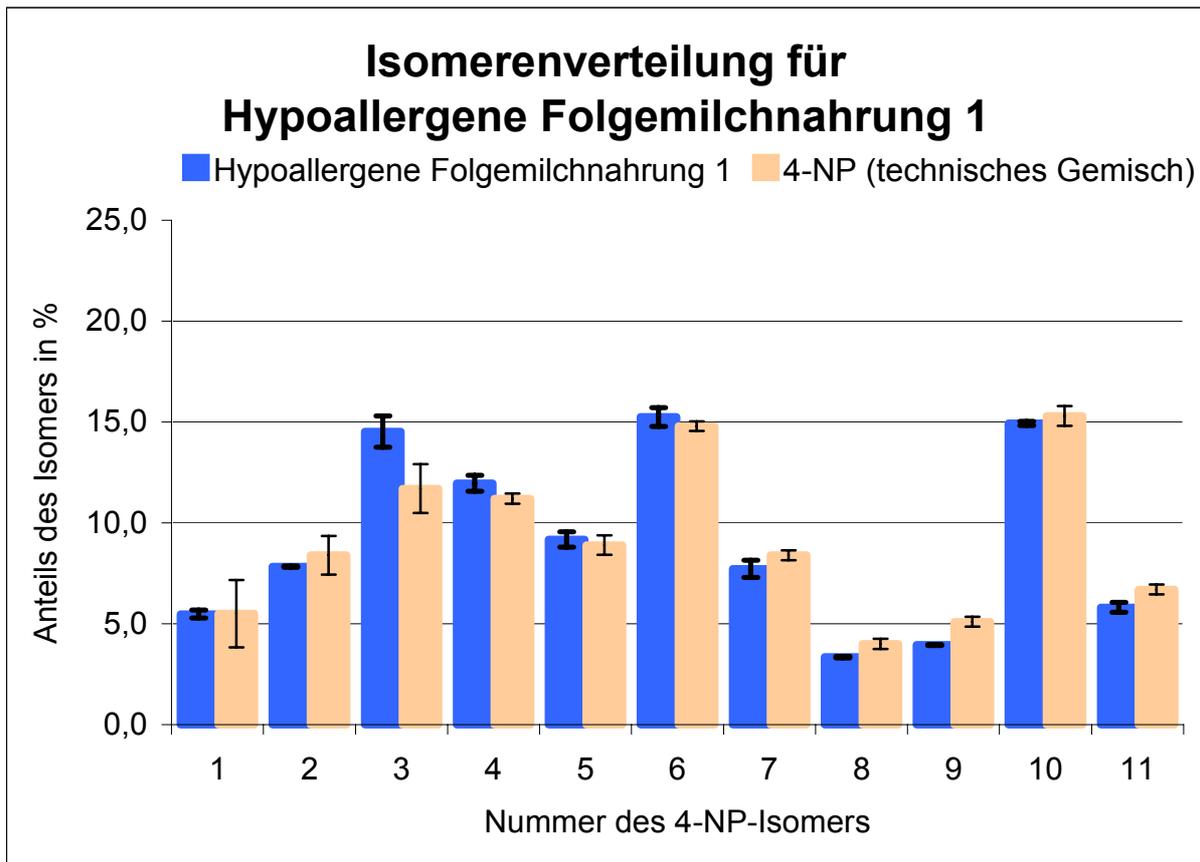


Abbildung 82: 4-NP-Isomerenverteilung für Hypoallergene Folgemilchnahrung 1 nach dem Analyseverfahren für 4-NP

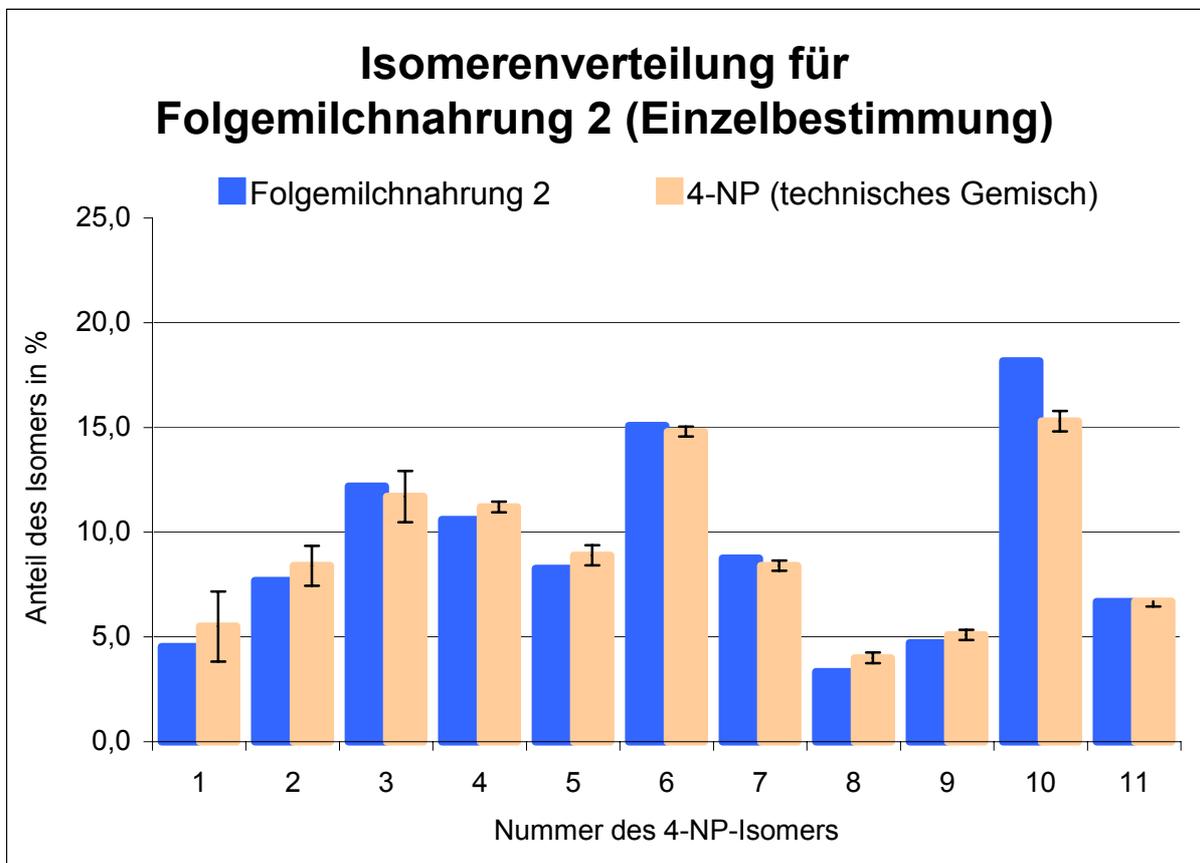


Abbildung 83: 4-NP-Isomerenverteilung für Hypoallergene Folgemilchnahrung 2 nach dem Analyseverfahren für 4-NP

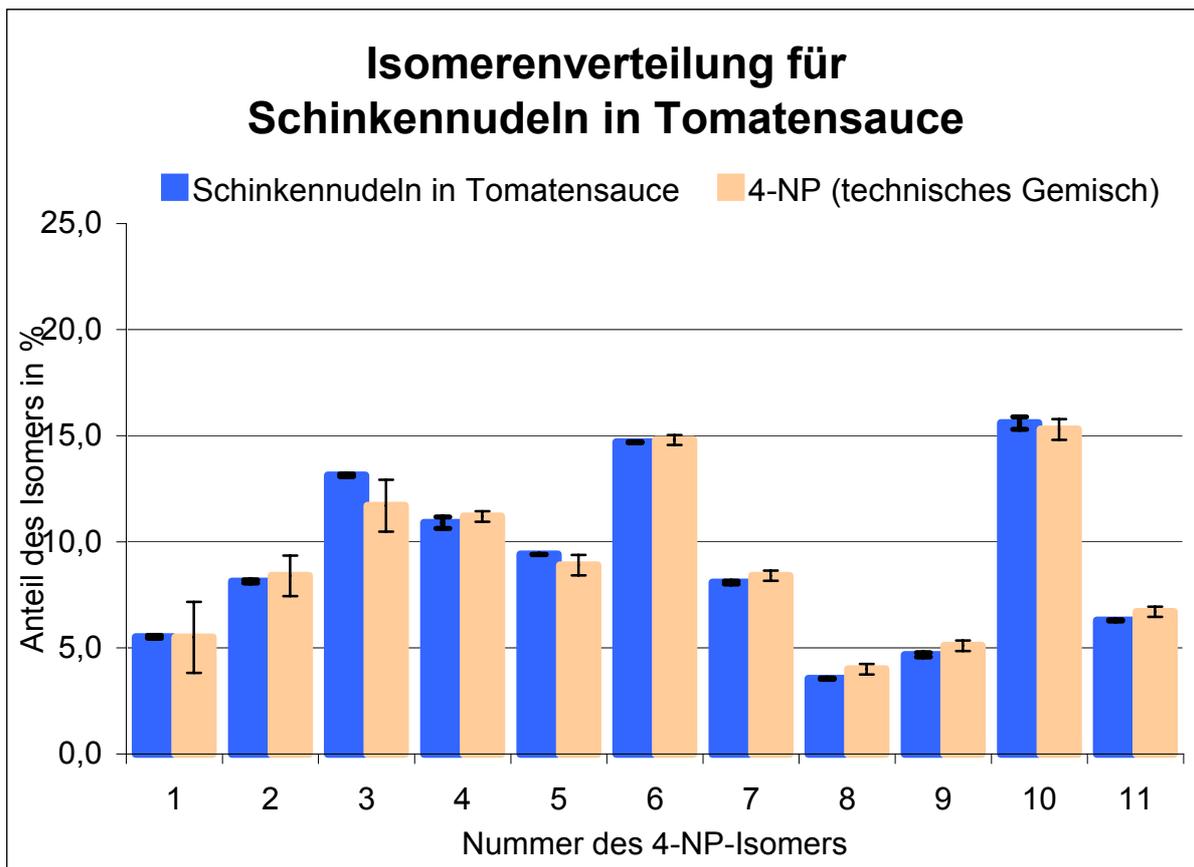


Abbildung 84: 4-NP-Isomerenverteilung für Schinkennudeln in Tomatensauce nach dem Analyseverfahren für 4-NP

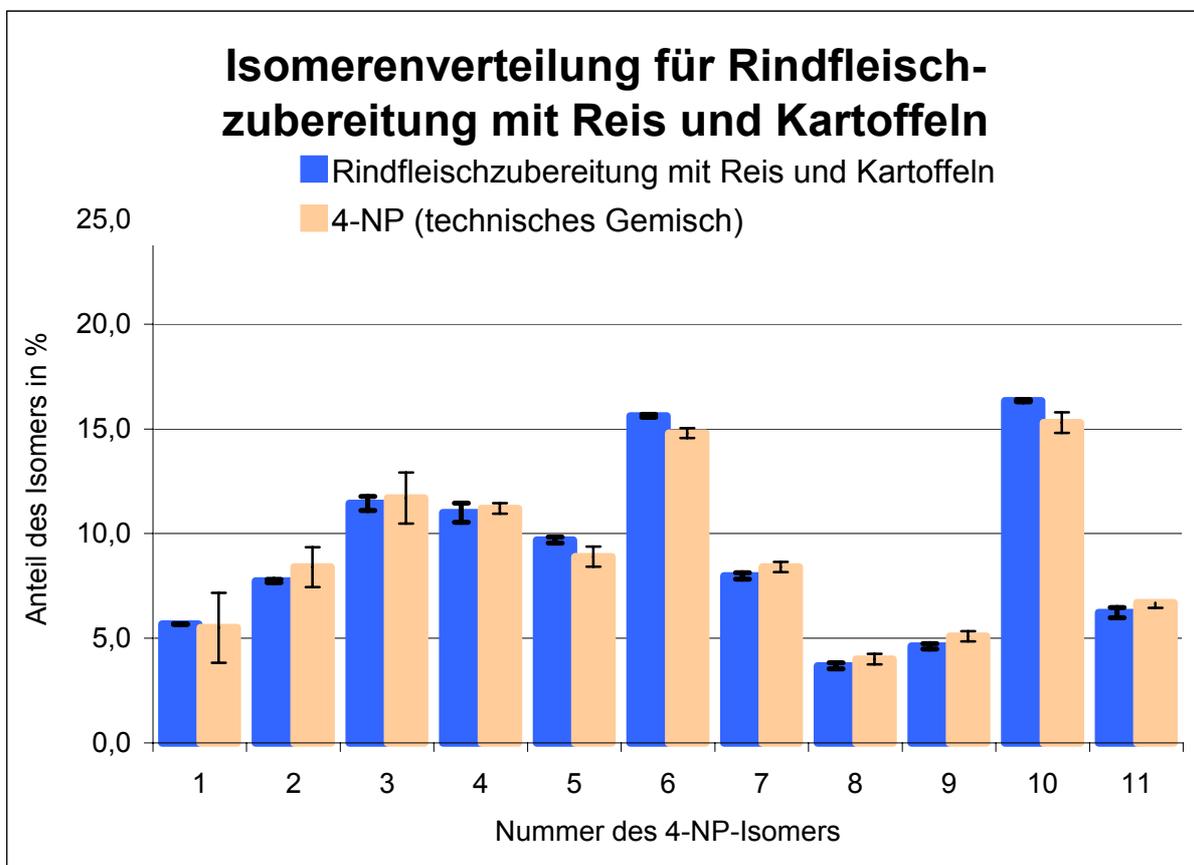


Abbildung 85: 4-NP-Isomerenverteilung für Rindfleischzubereitung mit Reis und Kartoffeln nach dem Analyseverfahren für 4-NP

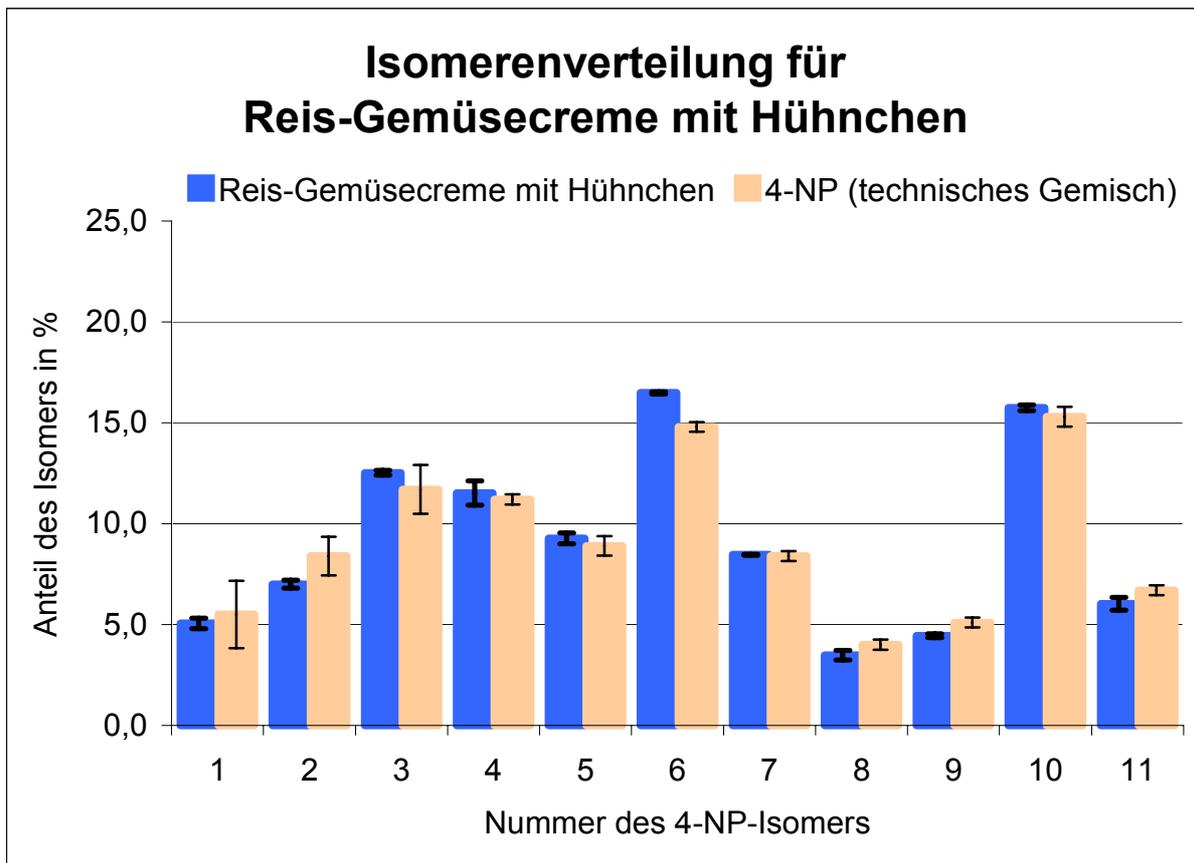


Abbildung 86: 4-NP-Isomerenverteilung für Reis-Gemüsecreme mit Hühnchen nach dem Analyseverfahren für 4-NP

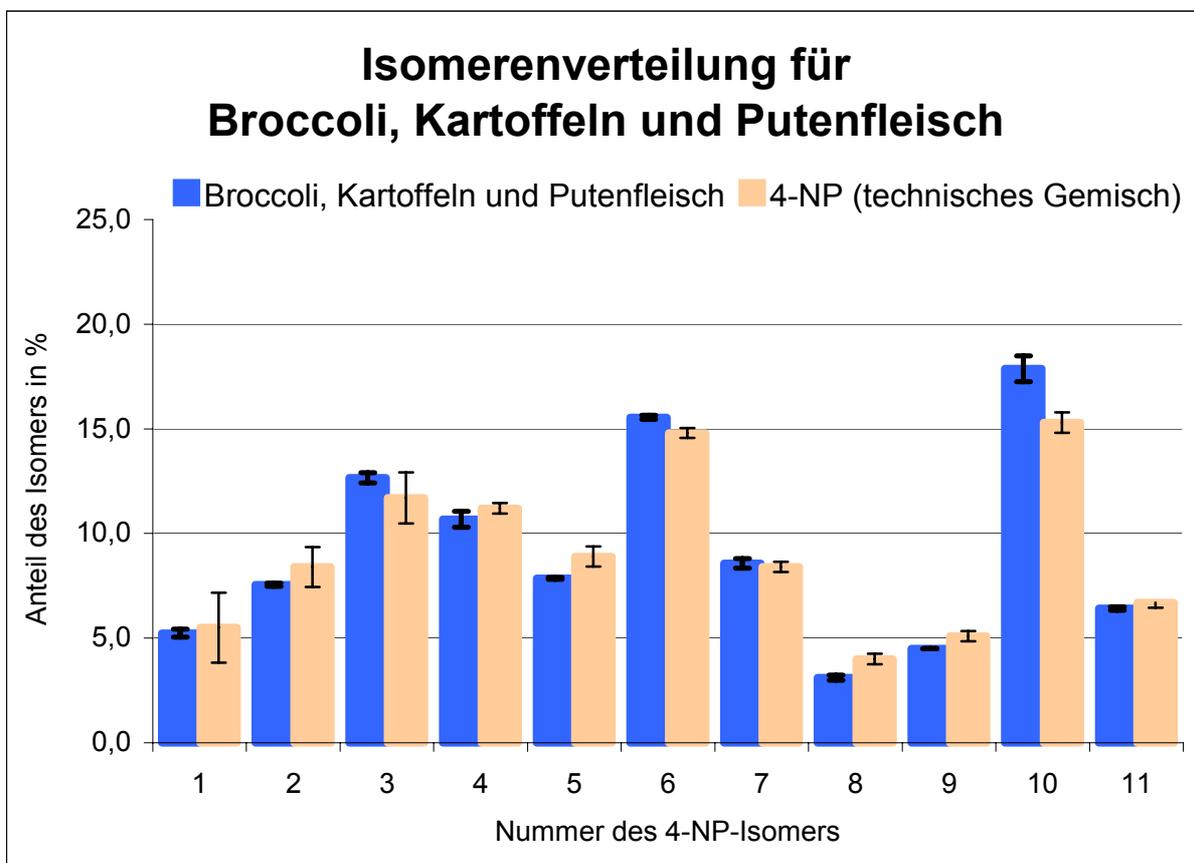


Abbildung 87: 4-NP-Isomerenverteilung für Broccoli, Kartoffeln und Putenfleisch nach dem Analyseverfahren für 4-NP

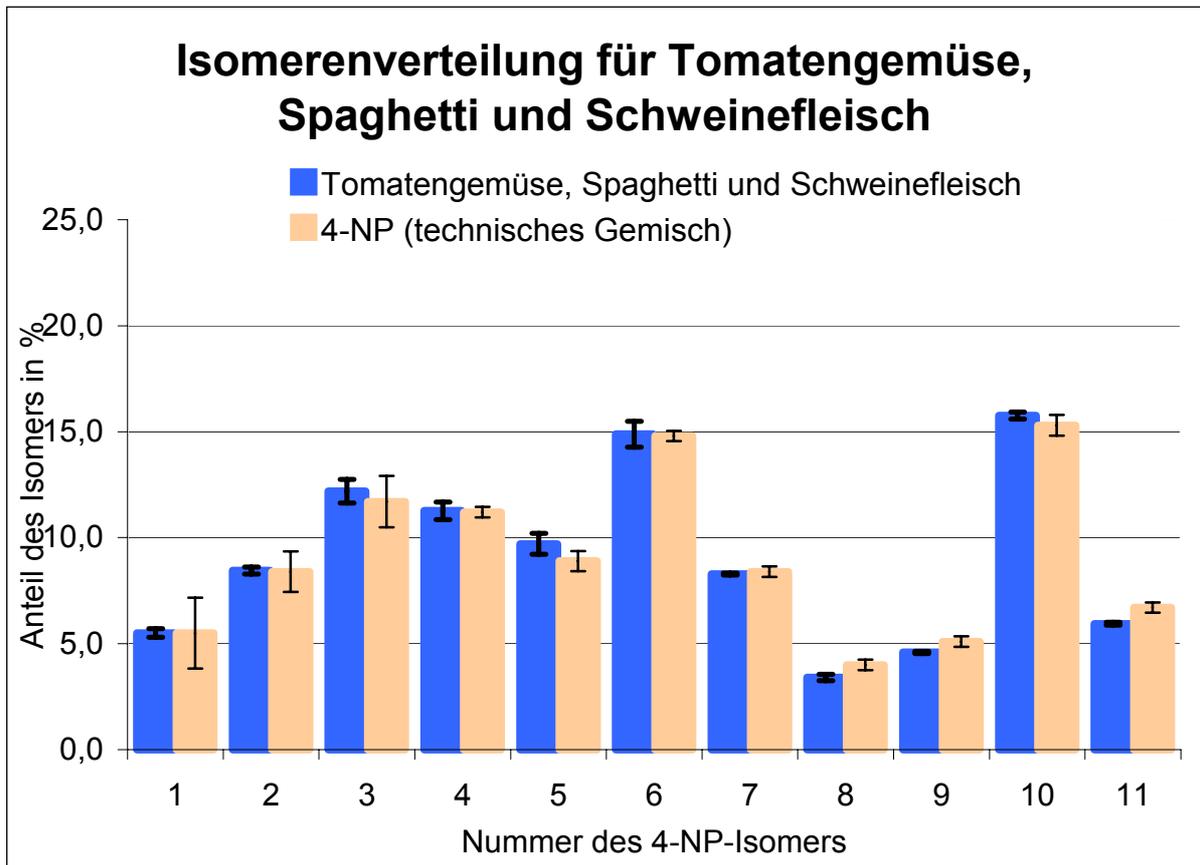


Abbildung 88: 4-NP-Isomerenverteilung für Tomatengemüse, Spaghetti und Schweinefleisch nach dem Analyseverfahren für 4-NP

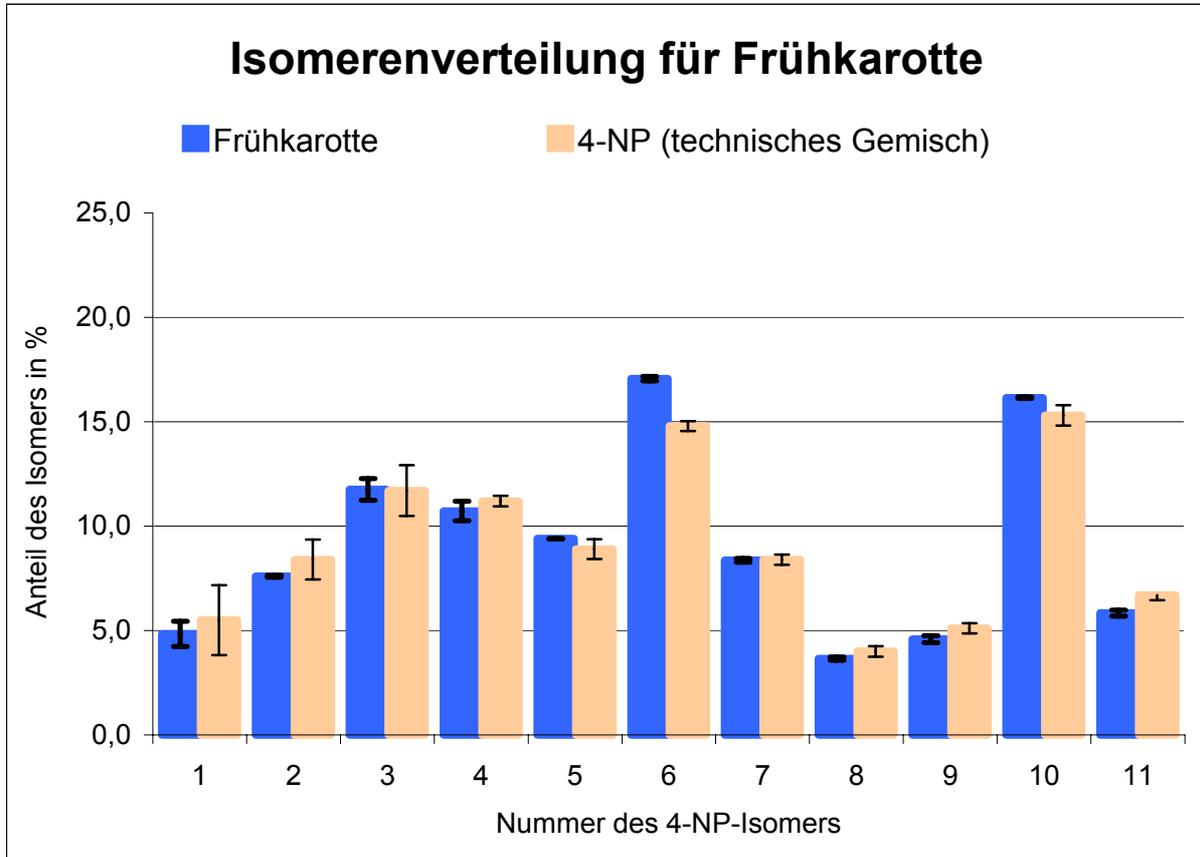


Abbildung 89: 4-NP-Isomerenverteilung für Frühkarotte nach dem Analyseverfahren für 4-NP

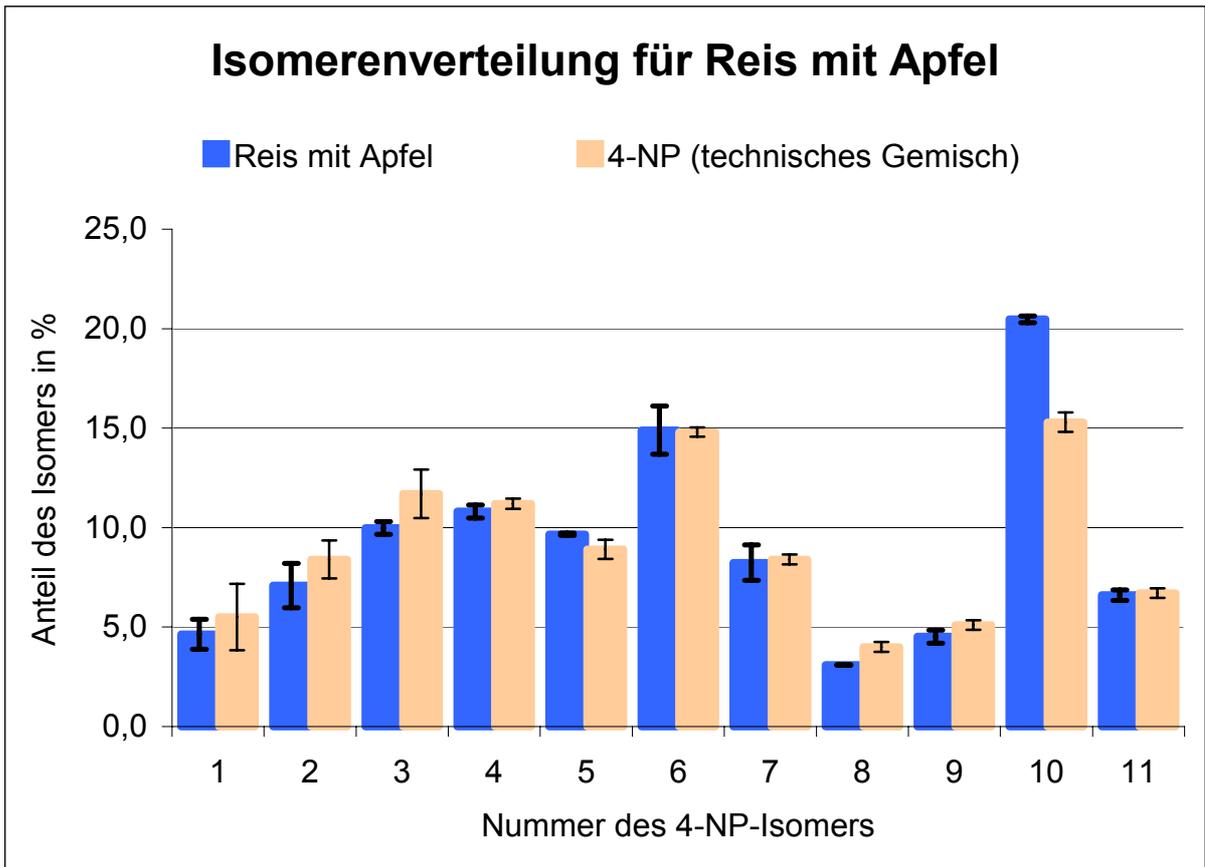


Abbildung 90: 4-NP-Isomerenverteilung für Reis mit Apfel nach dem Analyseverfahren für 4-NP

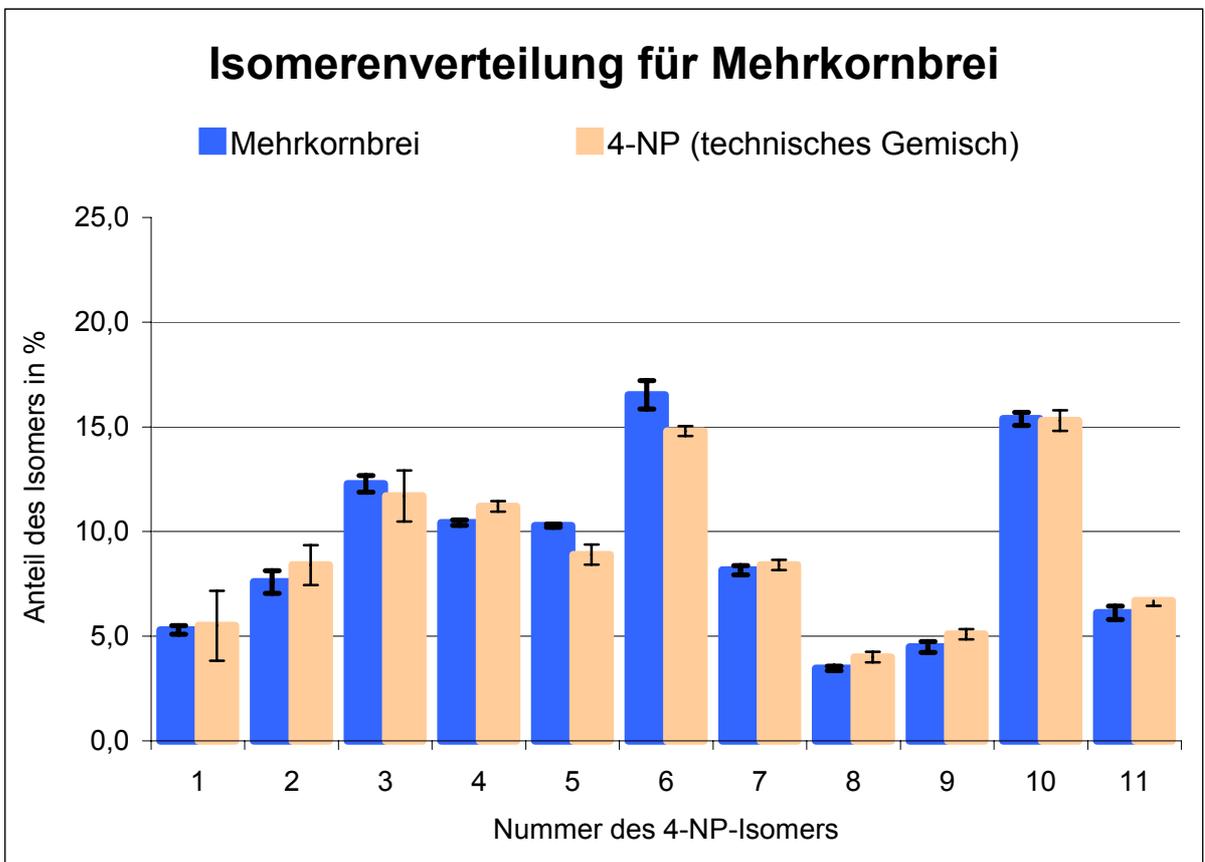


Abbildung 91: 4-NP-Isomerenverteilung für Mehrkornbrei nach dem Analyseverfahren für 4-NP

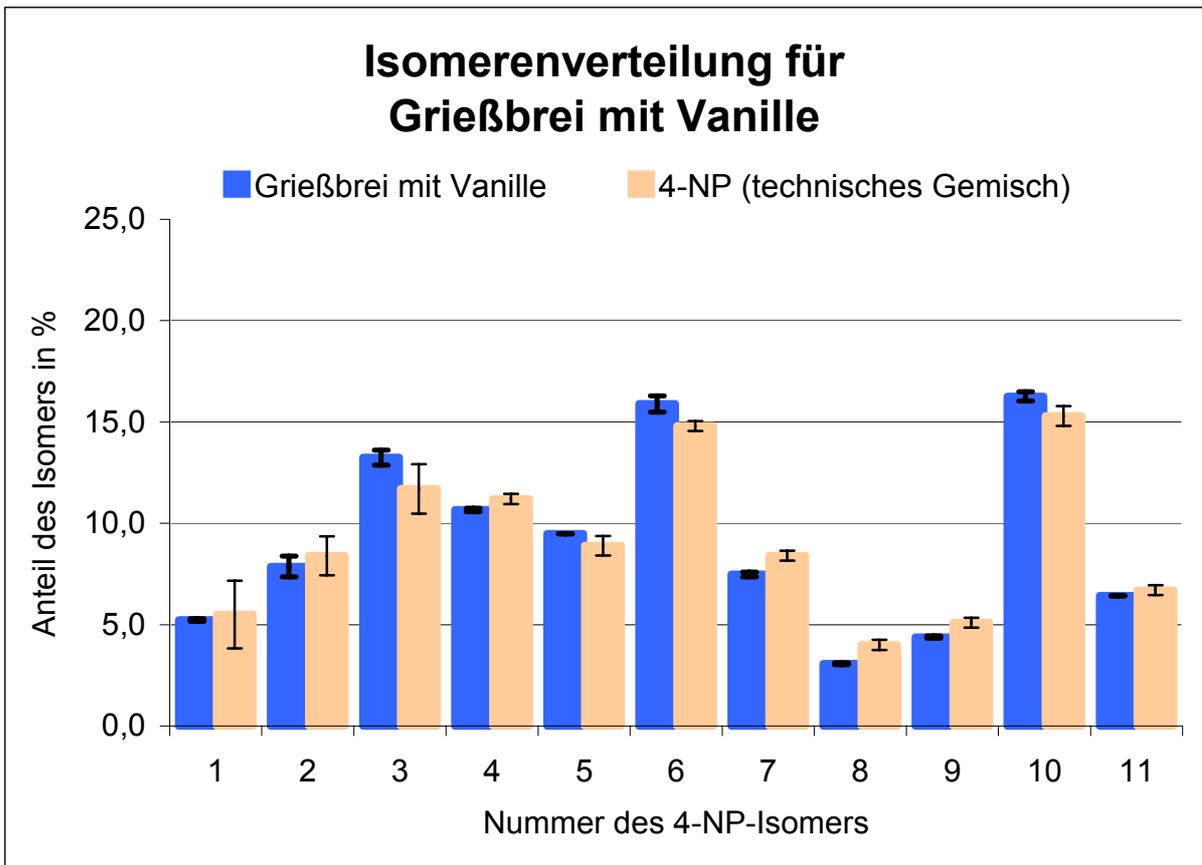


Abbildung 92: 4-NP-Isomerenverteilung für Grießbrei mit Vanille nach dem Analyseverfahren für 4-NP

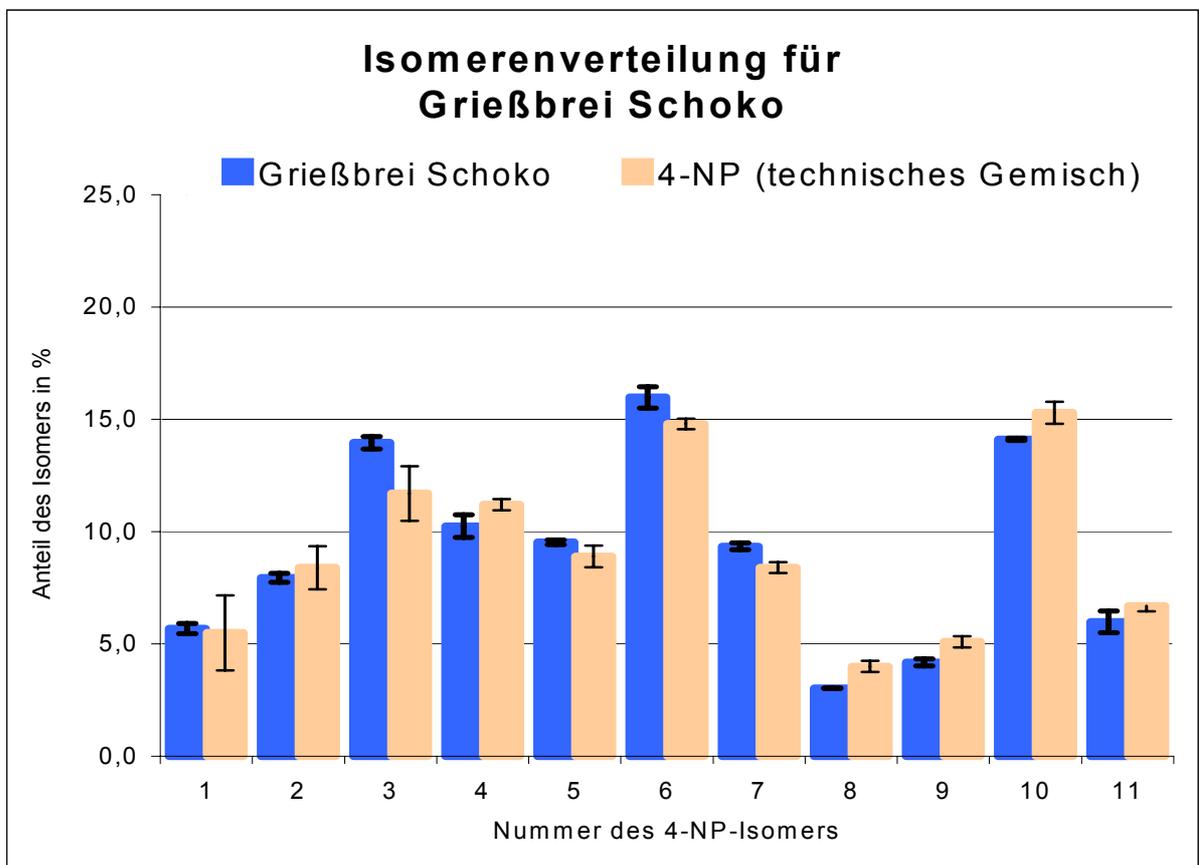


Abbildung 93: 4-NP-Isomerenverteilung für Grießbrei Schoko nach dem Analyseverfahren für 4-NP

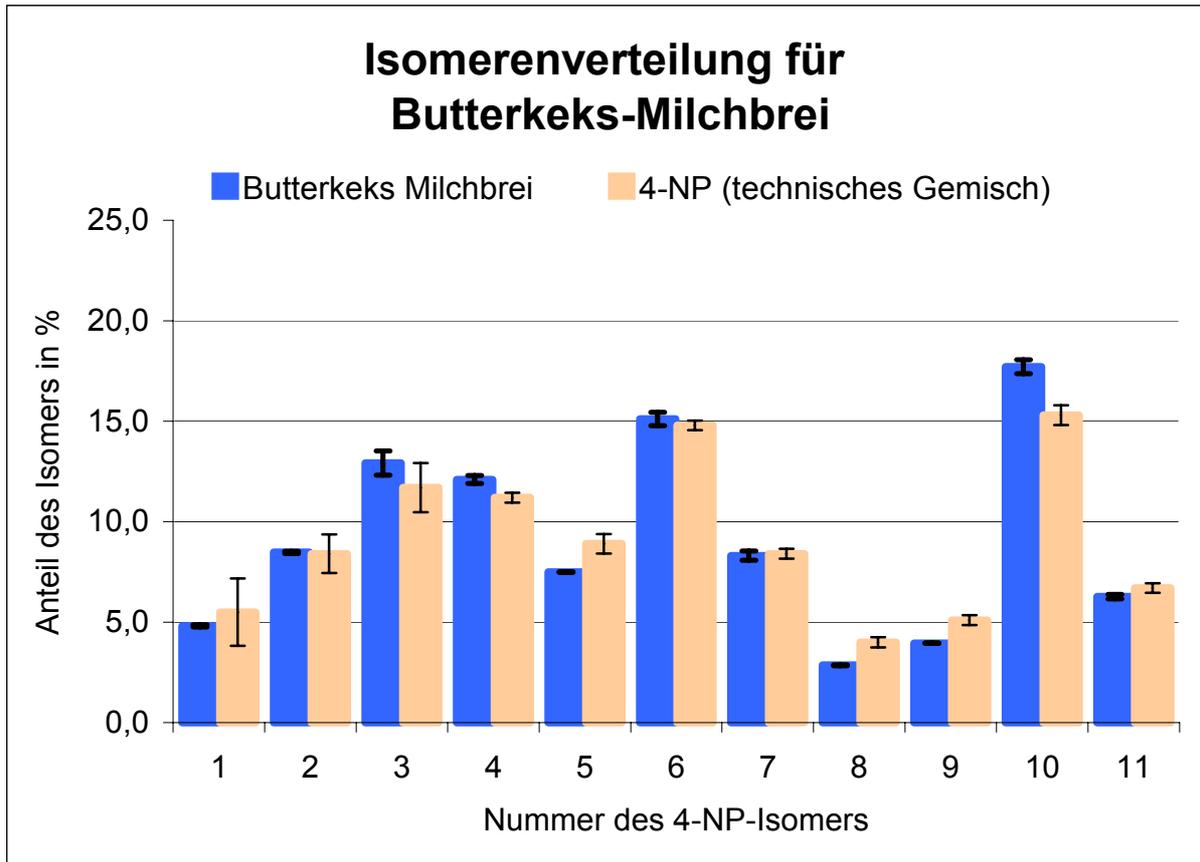


Abbildung 94: 4-NP-Isomerenverteilung für Butterkeks-Milchbrot nach dem Analyseverfahren für 4-NP

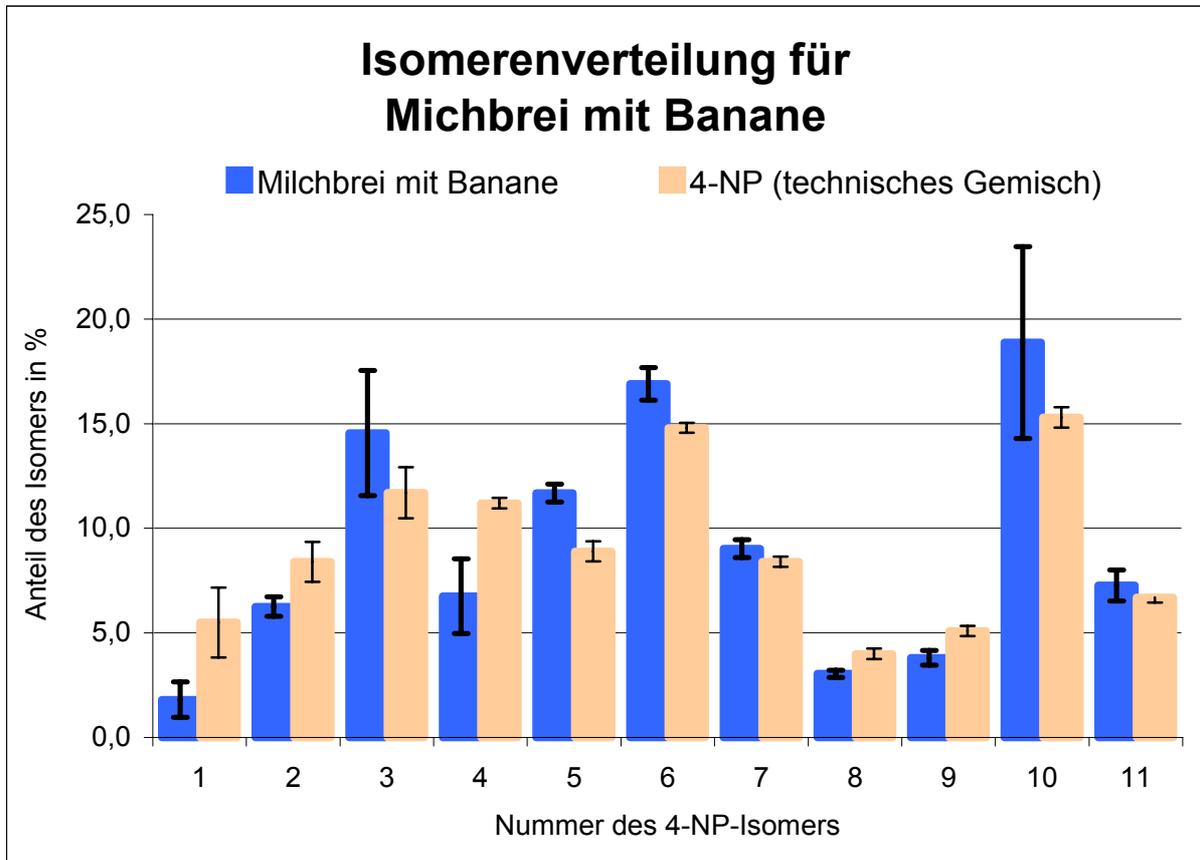


Abbildung 95: 4-NP-Isomerenverteilung für Milchbrot Banane nach dem Analyseverfahren für 4-NP

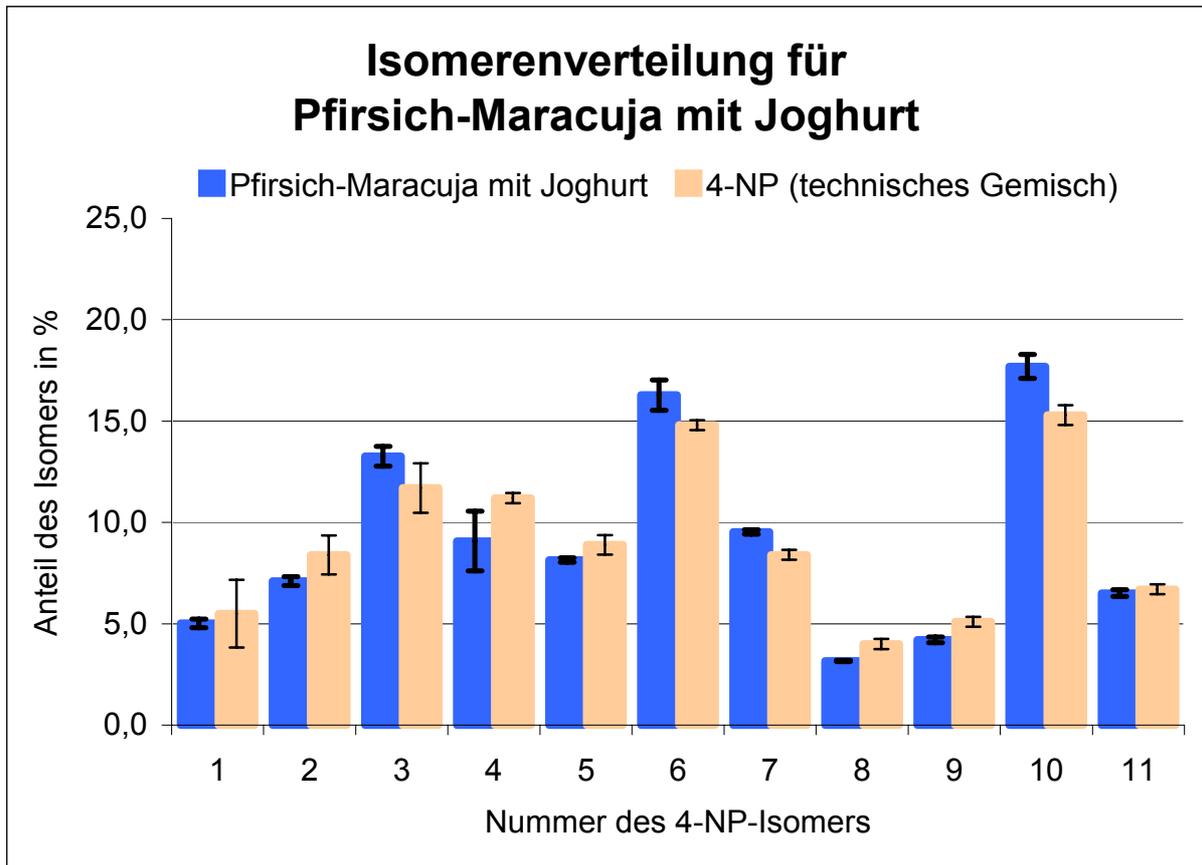


Abbildung 96: 4-NP-Isomerenverteilung für Pfirsich-Maracuja mit Joghurt nach dem Analyseverfahren für 4-NP

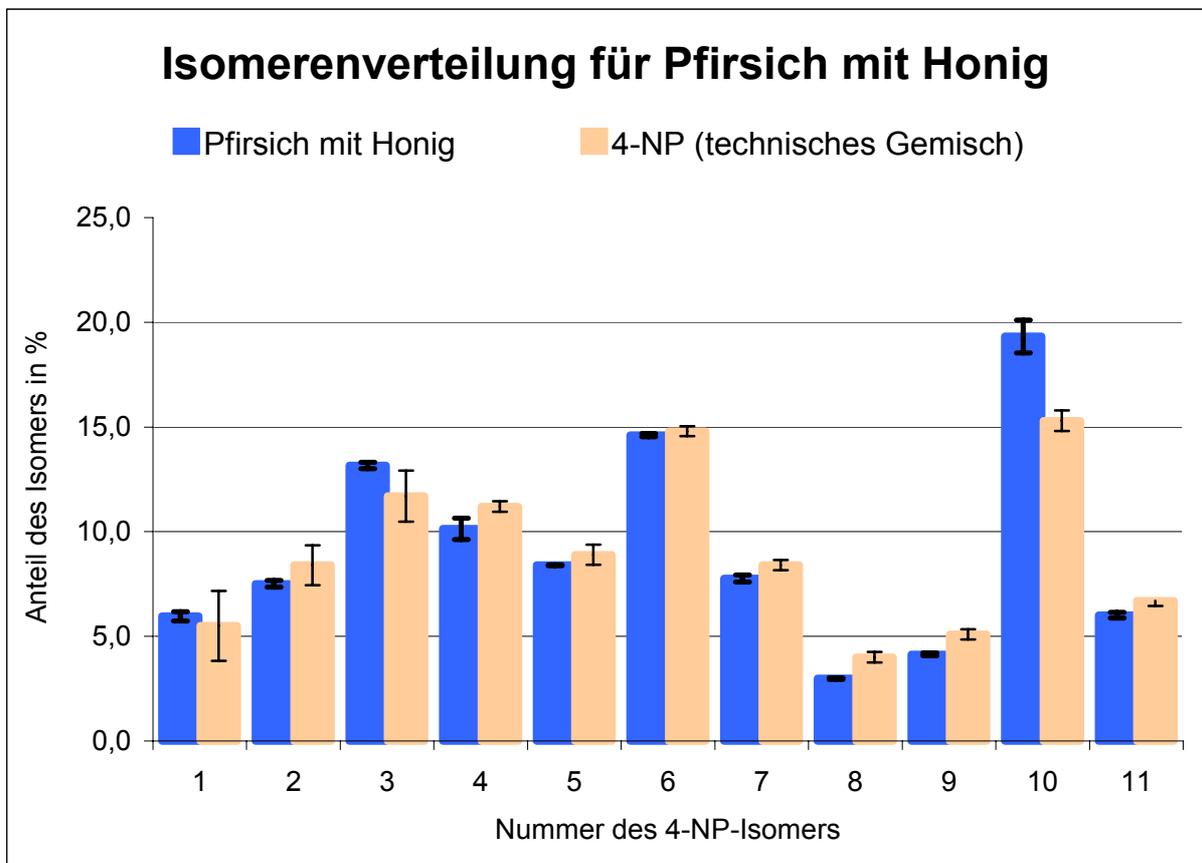


Abbildung 97: 4-NP-Isomerenverteilung für Pfirsich mit Honig nach dem Analyseverfahren für 4-NP

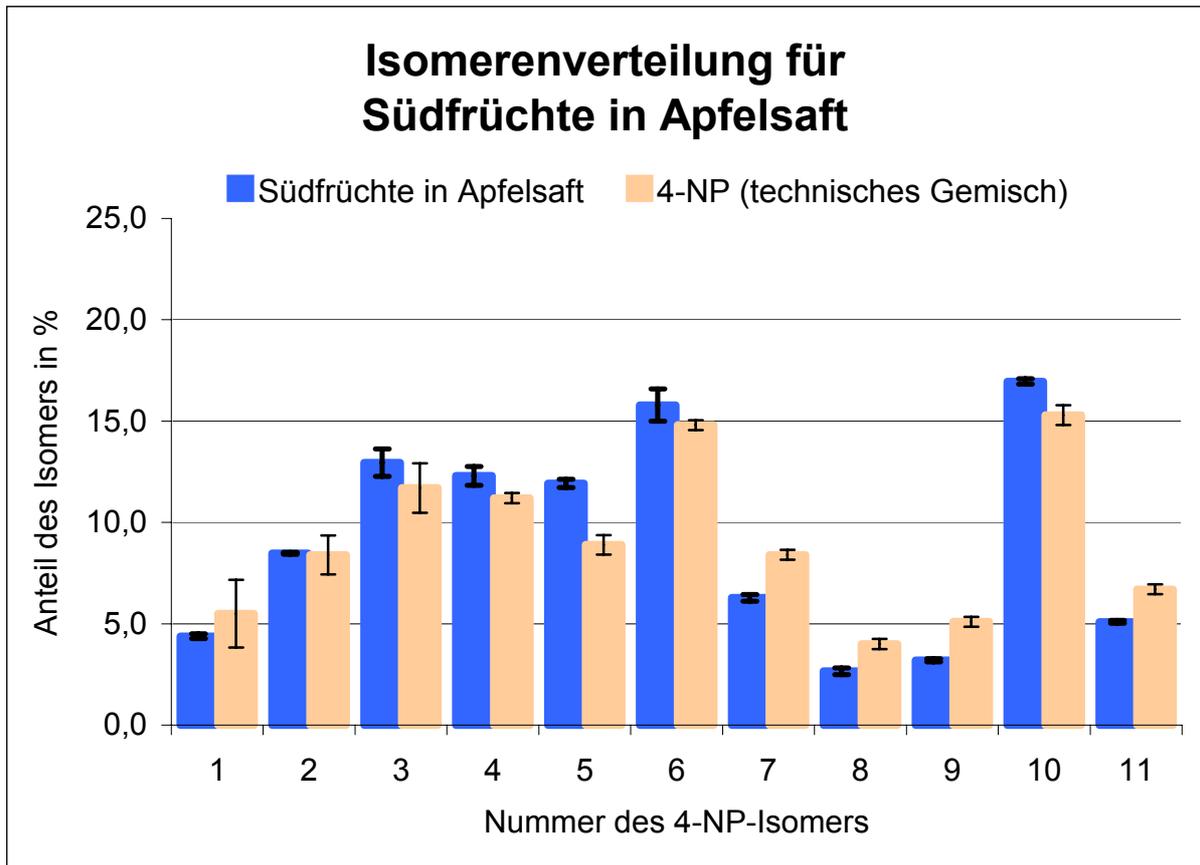


Abbildung 98: 4-NP-Isomerenverteilung für Südfrüchte in Apfelsaft nach dem Analyseverfahren für 4-NP

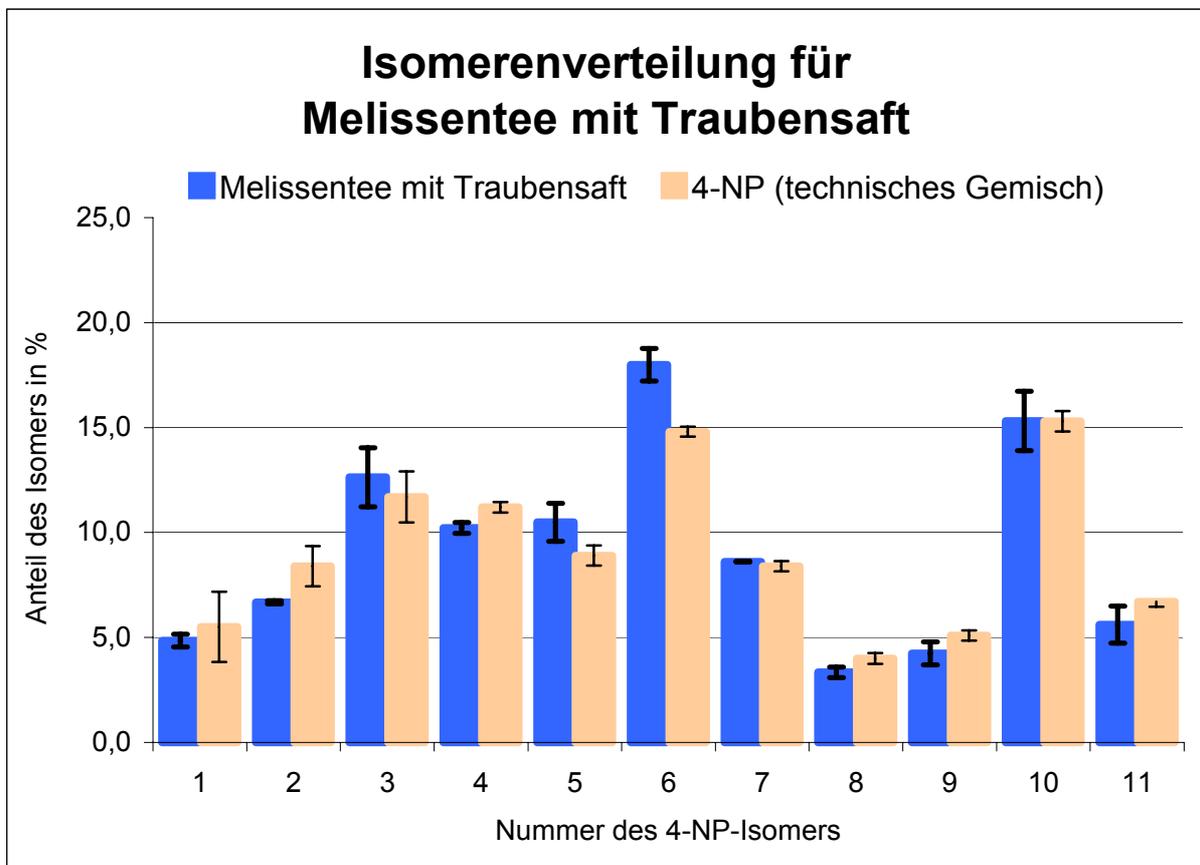


Abbildung 99: 4-NP-Isomerenverteilung für Melissentee mit Traubensaft nach dem Analyseverfahren für 4-NP

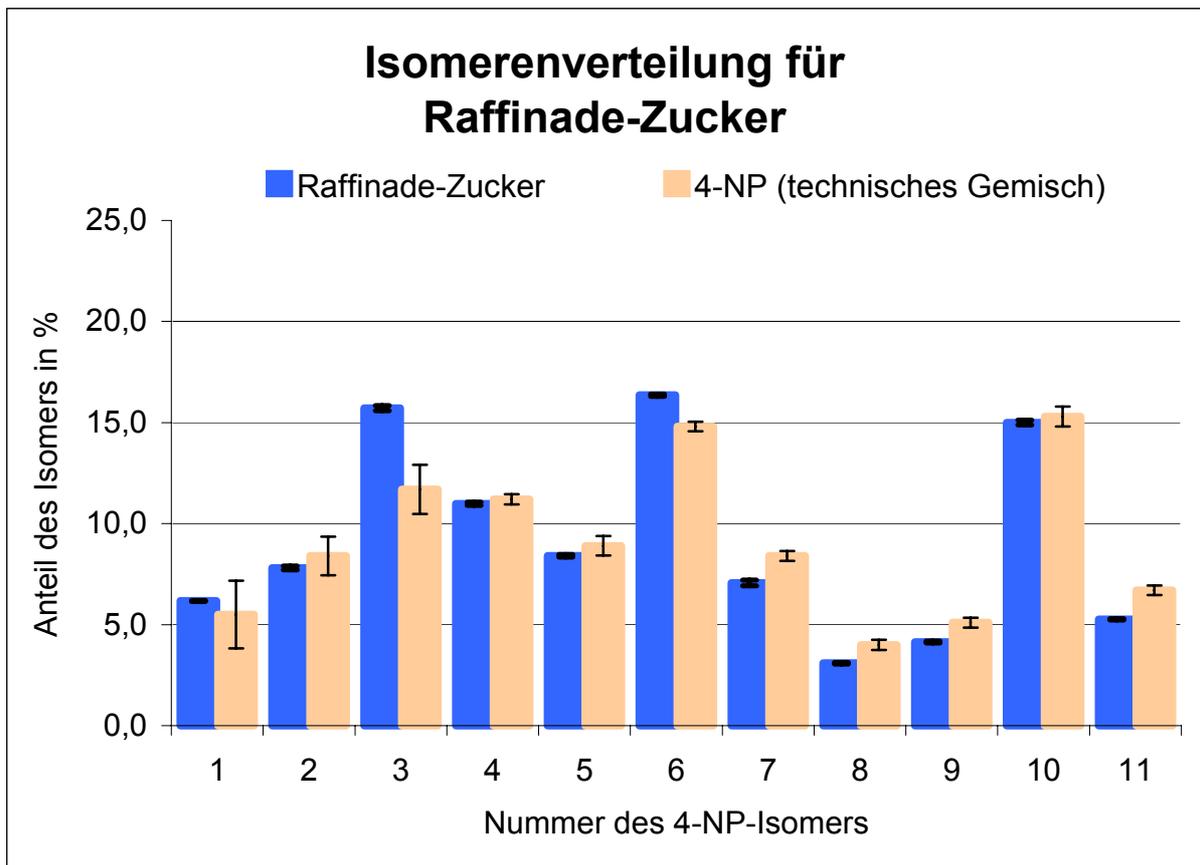


Abbildung 100: 4-NP-Isomerenverteilung für Raffinade-Zucker nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Tabelle 68: 4-NP-Isomerenverteilung für Hypoallergene Säuglingsanfangsnahrung 1 nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Hypoallergene Säuglingsanfangsnahrung 1

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	14,6	1,6	13,0	5,3	11,8	1,2	10,6	5,8	5,5	0,2	5,5	1,7	0,0	
2	22,4	2,3	20,1	8,2	15,7	1,9	13,8	7,6	7,9	0,3	8,4	1,0	0,5	
3	40,7	3,5	37,2	15,1	30,5	2,6	27,9	15,2	15,2	0,1	11,7	1,2	3,5	
4	32,0	2,6	29,4	11,9	23,2	1,9	21,3	11,7	11,8	0,1	11,2	0,3	0,6	
5	26,4	2,7	23,7	9,6	19,8	2,0	17,8	9,7	9,7	0,0	8,9	0,5	0,8	
6	42,0	4,2	37,8	15,4	32,1	3,1	29,0	15,8	15,6	0,2	14,8	0,2	0,8	
7	24,0	2,0	22,0	8,9	17,6	1,8	15,8	8,6	8,8	0,1	8,4	0,2	0,4	
8	8,6	1,0	7,5	3,1	6,7	0,7	6,0	3,3	3,2	0,1	4,0	0,3	0,8	
9	10,5	1,3	9,2	3,8	7,6	1,1	6,4	3,5	3,6	0,1	5,1	0,2	1,5	
10	38,1	4,6	33,5	13,6	27,8	3,4	24,4	13,4	13,5	0,1	15,3	0,5	1,8	
11	14,3	1,7	12,6	5,1	11,2	1,4	9,8	5,4	5,2	0,1	6,7	0,2	1,5	
Summe:	273,5	27,4	246,1	100,0	204,1	21,3	182,8	100,0	100,0		100,0		12,2	

Tabelle 69: 4-NP-Isomerenverteilung für Hypoallergene Säuglingsanfangsnahrung 2 nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Hypoallergene Säuglingsanfangsnahrung 2

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	16,6	0,2	16,4	5,3	16,7	0,3	16,4	5,6	5,5	0,1	5,5	1,7	0,0	
2	25,9	0,3	25,6	8,4	25,1	0,4	24,7	8,5	8,4	0,1	8,4	1,0	0,0	
3	43,4	0,5	42,9	14,0	42,1	0,6	41,5	14,2	14,1	0,1	11,7	1,2	2,4	
4	38,1	0,4	37,7	12,3	35,8	0,6	35,2	12,1	12,2	0,1	11,2	0,3	1,0	
5	27,6	0,4	27,2	8,9	27,7	0,5	27,3	9,4	9,1	0,2	8,9	0,5	0,2	
6	46,0	0,5	45,5	14,8	43,8	0,7	43,1	14,8	14,8	0,0	14,8	0,2	0,0	
7	24,5	0,3	24,1	7,9	22,9	0,4	22,4	7,7	7,8	0,1	8,4	0,2	0,6	
8	9,3	0,1	9,2	3,0	8,7	0,2	8,5	2,9	3,0	0,1	4,0	0,3	1,0	
9	12,2	0,2	12,0	3,9	10,8	0,2	10,6	3,6	3,8	0,1	5,1	0,2	1,3	
10	49,7	0,6	49,0	16,0	47,0	0,7	46,3	15,9	15,9	0,1	15,3	0,5	0,6	
11	17,0	0,2	16,8	5,5	15,8	0,3	15,5	5,3	5,4	0,1	6,7	0,2	1,3	
Summe:	310,3	3,8	306,5	100,0	296,5	5,0	291,5	100,0	100,0		100,0		8,6	

Tabelle 70: 4-NP-Isomerenverteilung für Hypoallergene Folgemilchnahrung 1 nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Hypoallergene Folgemilchnahrung 1

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	4,2	0,6	3,7	5,7	4,1	0,6	3,5	5,3	5,5	0,2	5,5	1,7	0,0	
2	5,9	0,8	5,0	7,8	6,1	0,8	5,3	7,9	7,8	0,0	8,4	1,0	0,6	
3	11,2	1,3	9,9	15,3	10,6	1,3	9,2	13,8	14,5	0,8	11,7	1,2	2,8	
4	8,4	1,0	7,5	11,6	9,3	1,0	8,3	12,4	12,0	0,4	11,2	0,3	0,8	
5	6,5	0,8	5,7	8,8	7,2	0,8	6,4	9,6	9,2	0,4	8,9	0,5	0,3	
6	11,5	1,3	10,1	15,7	11,1	1,2	9,9	14,8	15,2	0,5	14,8	0,2	0,4	
7	5,4	0,7	4,7	7,3	6,1	0,7	5,5	8,1	7,7	0,4	8,4	0,2	0,7	
8	2,4	0,3	2,1	3,3	2,6	0,3	2,3	3,4	3,4	0,0	4,0	0,3	0,6	
9	3,0	0,4	2,5	3,9	3,0	0,4	2,7	4,0	4,0	0,0	5,1	0,2	1,1	
10	11,2	1,5	9,7	15,0	11,3	1,4	9,9	14,8	14,9	0,1	15,3	0,5	0,4	
11	4,1	0,5	3,6	5,6	4,5	0,5	4,1	6,1	5,8	0,2	6,7	0,2	0,9	
Summe:	73,7	9,2	64,4	100,0	76,0	9,0	67,0	100,0	100,0		100,0		8,6	

Tabelle 71: 4-NP-Isomerenverteilung für Folgemilchnahrung 2 nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Folgemilchnahrung 2 (Einzelbestimmung)

Einwaage: 1									Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]					
1	4,9	0,3	4,6	4,5	4,9	0,3	4,6	4,5	4,5		5,5	1,7	1,0
2	8,2	0,5	7,7	7,7	8,2	0,5	7,7	7,7	7,7		8,4	1,0	0,7
3	13,0	0,7	12,2	12,2	13,0	0,7	12,2	12,2	12,2		11,7	1,2	0,5
4	11,2	0,6	10,6	10,6	11,2	0,6	10,6	10,6	10,6		11,2	0,3	0,6
5	8,8	0,5	8,3	8,3	8,8	0,5	8,3	8,3	8,3		8,9	0,5	0,6
6	16,0	0,8	15,2	15,1	16,0	0,8	15,2	15,1	15,1		14,8	0,2	0,3
7	9,3	0,5	8,8	8,8	9,3	0,5	8,8	8,8	8,8		8,4	0,2	0,4
8	3,6	0,2	3,3	3,3	3,6	0,2	3,3	3,3	3,3		4,0	0,3	0,7
9	5,0	0,3	4,7	4,7	5,0	0,3	4,7	4,7	4,7		5,1	0,2	0,4
10	19,3	1,1	18,3	18,2	19,3	1,1	18,3	18,2	18,2		15,3	0,5	2,9
11	7,1	0,4	6,7	6,7	7,1	0,4	6,7	6,7	6,7		6,7	0,2	0,0
Summe:	106,3	5,8	100,5	100,0	106,3	5,8	100,5	100,0	100,0		100,0		8,0

Tabelle 72: 4-NP-Isomerenverteilung für Schinkennudeln in Tomatensauce nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Schinkennudeln in Tomatensauce

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	10,3	1,7	8,6	5,4	14,1	1,0	13,0	5,6	5,5	0,1	5,5	1,7	0,0	
2	15,1	2,3	12,8	8,1	20,5	1,4	19,1	8,2	8,1	0,1	8,4	1,0	0,3	
3	24,2	3,3	20,9	13,2	32,5	2,1	30,5	13,1	13,1	0,1	11,7	1,2	1,4	
4	19,9	3,0	16,8	10,6	27,8	1,8	26,0	11,2	10,9	0,3	11,2	0,3	0,3	
5	17,4	2,5	14,9	9,4	23,5	1,6	21,9	9,4	9,4	0,0	8,9	0,5	0,5	
6	27,5	4,2	23,3	14,7	36,6	2,4	34,2	14,7	14,7	0,0	14,8	0,2	0,1	
7	15,1	2,4	12,7	8,0	20,4	1,4	19,0	8,1	8,1	0,1	8,4	0,2	0,3	
8	6,7	1,1	5,6	3,5	8,9	0,6	8,3	3,6	3,6	0,0	4,0	0,3	0,4	
9	9,0	1,4	7,6	4,8	11,4	0,8	10,7	4,6	4,7	0,1	5,1	0,2	0,4	
10	29,8	4,6	25,1	15,9	38,2	2,6	35,6	15,3	15,6	0,3	15,3	0,5	0,3	
11	12,0	1,9	10,0	6,3	15,7	1,0	14,6	6,3	6,3	0,0	6,7	0,2	0,4	
Summe:	186,7	28,5	158,2	100,0	249,5	16,6	233,0	100,0	100,0		100,0		4,5	

Tabelle 73: 4-NP-Isomerenverteilung für Rindfleischzubereitung mit Reis und Kartoffeln nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Rindfleischzubereitung mit Reis und Kartoffeln

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	5,6	1,0	4,6	5,7	5,0	0,8	4,1	5,7	5,7	0,0	5,5	1,7	0,2	
2	7,4	1,2	6,2	7,7	6,9	1,2	5,7	7,8	7,7	0,1	8,4	1,0	0,7	
3	10,9	1,9	9,0	11,1	10,3	1,6	8,6	11,8	11,4	0,3	11,7	1,2	0,3	
4	10,7	1,4	9,3	11,5	9,2	1,5	7,7	10,5	11,0	0,5	11,2	0,3	0,2	
5	9,4	1,4	8,0	9,8	8,5	1,5	7,0	9,5	9,7	0,2	8,9	0,5	0,8	
6	14,8	2,2	12,6	15,6	13,8	2,3	11,5	15,7	15,6	0,1	14,8	0,2	0,8	
7	7,5	1,2	6,3	7,8	7,1	1,1	6,0	8,1	8,0	0,2	8,4	0,2	0,4	
8	3,4	0,5	2,9	3,5	3,3	0,5	2,8	3,8	3,7	0,1	4,0	0,3	0,3	
9	4,3	0,6	3,6	4,5	4,1	0,6	3,5	4,8	4,6	0,1	5,1	0,2	0,5	
10	15,4	2,1	13,3	16,4	14,3	2,3	11,9	16,3	16,3	0,1	15,3	0,5	1,0	
11	6,1	0,9	5,2	6,5	5,3	0,9	4,4	6,0	6,2	0,2	6,7	0,2	0,5	
Summe:	95,4	14,3	81,0	100,0	87,7	14,5	73,2	100,0	100,0		100,0		5,7	

Tabelle 74: 4-NP-Isomerenverteilung für Reis-Gemüsecreme mit Hühnchen nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Reis-Gemüsecreme mit Hühnchen

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	3,4	1,0	2,4	4,8	4,1	0,8	3,3	5,3	5,1	0,3	5,5	1,7	0,4	
2	4,7	1,3	3,4	6,8	5,5	1,1	4,4	7,2	7,0	0,2	8,4	1,0	1,4	
3	8,1	1,8	6,3	12,6	9,1	1,5	7,6	12,4	12,5	0,1	11,7	1,2	0,8	
4	7,7	1,7	6,0	12,1	8,1	1,4	6,7	10,9	11,5	0,6	11,2	0,3	0,3	
5	6,1	1,4	4,8	9,5	6,8	1,3	5,5	9,0	9,3	0,3	8,9	0,5	0,4	
6	10,6	2,4	8,2	16,4	12,2	2,0	10,1	16,5	16,5	0,1	14,8	0,2	1,7	
7	5,5	1,2	4,2	8,5	6,2	1,0	5,2	8,4	8,5	0,0	8,4	0,2	0,1	
8	2,2	0,6	1,6	3,2	2,8	0,5	2,3	3,7	3,5	0,2	4,0	0,3	0,5	
9	2,9	0,8	2,2	4,3	3,4	0,6	2,8	4,5	4,4	0,1	5,1	0,2	0,7	
10	10,3	2,4	7,9	15,9	11,5	2,0	9,6	15,6	15,7	0,1	15,3	0,5	0,4	
11	3,7	0,9	2,8	5,7	4,6	0,7	3,9	6,3	6,0	0,3	6,7	0,2	0,7	
Summe:	65,1	15,3	49,8	100,0	74,3	12,9	61,4	100,0	100,0		100,0		7,4	

Tabelle 75: 4-NP-Isomerenverteilung für Broccoli, Kartoffeln und Putenfleisch nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Broccoli, Kartoffeln und Putenfleisch

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	3,7	0,2	3,5	5,4	3,3	0,3	3,0	5,0	5,2	0,2	5,5	1,7	0,3	
2	5,2	0,3	4,9	7,6	4,8	0,3	4,5	7,5	7,5	0,1	8,4	1,0	0,9	
3	8,9	0,5	8,4	12,9	8,0	0,6	7,4	12,4	12,7	0,2	11,7	1,2	1,0	
4	7,6	0,4	7,2	11,1	6,6	0,5	6,1	10,3	10,7	0,4	11,2	0,3	0,5	
5	5,5	0,3	5,1	7,9	5,0	0,3	4,7	7,8	7,9	0,0	8,9	0,5	1,0	
6	10,7	0,5	10,2	15,6	9,8	0,6	9,2	15,5	15,6	0,1	14,8	0,2	0,8	
7	5,7	0,3	5,4	8,3	5,6	0,4	5,3	8,8	8,6	0,2	8,4	0,2	0,2	
8	2,1	0,1	1,9	3,0	2,1	0,1	1,9	3,2	3,1	0,1	4,0	0,3	0,9	
9	3,1	0,2	2,9	4,5	2,8	0,2	2,7	4,5	4,5	0,0	5,1	0,2	0,6	
10	11,9	0,7	11,2	17,3	11,8	0,7	11,0	18,5	17,9	0,6	15,3	0,5	2,6	
11	4,4	0,3	4,1	6,3	4,1	0,3	3,9	6,5	6,4	0,1	6,7	0,2	0,3	
Summe:	68,8	3,9	65,0	100,0	63,9	4,2	59,7	100,0	100,0		100,0		8,9	

Tabelle 76: 4-NP-Isomerenverteilung für Tomatengemüse, Spaghetti und Schweinefleisch nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Tomatengemüse, Spaghetti und Schweinefleisch

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	8,5	0,4	8,1	5,7	7,3	0,4	6,9	5,3	5,5	0,2	5,5	1,7	0,0	
2	12,8	0,6	12,3	8,6	11,3	0,5	10,7	8,3	8,5	0,2	8,4	1,0	0,1	
3	17,4	0,8	16,6	11,6	17,3	0,8	16,5	12,7	12,2	0,6	11,7	1,2	0,5	
4	16,1	0,7	15,5	10,8	15,8	0,6	15,1	11,7	11,3	0,4	11,2	0,3	0,1	
5	13,8	0,7	13,1	9,2	13,9	0,7	13,2	10,2	9,7	0,5	8,9	0,5	0,8	
6	23,0	0,9	22,1	15,5	19,4	0,9	18,5	14,3	14,9	0,6	14,8	0,2	0,1	
7	12,3	0,4	11,9	8,3	11,1	0,5	10,7	8,2	8,3	0,0	8,4	0,2	0,1	
8	5,2	0,1	5,1	3,6	4,4	0,2	4,2	3,3	3,4	0,1	4,0	0,3	0,6	
9	6,9	0,2	6,6	4,6	6,1	0,3	5,9	4,5	4,6	0,1	5,1	0,2	0,5	
10	23,5	0,8	22,7	15,9	21,1	0,9	20,2	15,6	15,8	0,2	15,3	0,5	0,5	
11	8,8	0,3	8,6	6,0	8,0	0,4	7,6	5,9	5,9	0,1	6,7	0,2	0,8	
Summe:	148,4	5,9	142,5	100,0	135,7	6,3	129,5	100,0	100,0		100,0		3,9	

Tabelle 77: 4-NP-Isomerenverteilung für Frühkarotte nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Frühkarotte

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	3,3	1,1	2,2	4,2	3,3	0,9	2,4	5,4	4,8	0,6	5,5	1,7	0,7	
2	5,2	1,3	4,0	7,6	4,5	1,1	3,4	7,6	7,6	0,0	8,4	1,0	0,8	
3	8,2	1,8	6,4	12,3	6,4	1,4	5,0	11,2	11,8	0,5	11,7	1,2	0,1	
4	7,6	1,8	5,9	11,2	6,1	1,5	4,5	10,3	10,7	0,5	11,2	0,3	0,5	
5	6,4	1,4	4,9	9,4	5,4	1,3	4,2	9,4	9,4	0,0	8,9	0,5	0,5	
6	11,2	2,2	9,0	17,2	9,6	2,0	7,5	17,0	17,1	0,1	14,8	0,2	2,3	
7	5,6	1,2	4,3	8,3	4,7	1,0	3,7	8,5	8,4	0,1	8,4	0,2	0,0	
8	2,4	0,5	1,9	3,6	2,1	0,5	1,7	3,7	3,7	0,1	4,0	0,3	0,3	
9	3,0	0,7	2,3	4,4	2,7	0,6	2,1	4,8	4,6	0,2	5,1	0,2	0,5	
10	10,7	2,2	8,5	16,2	9,0	1,8	7,1	16,1	16,2	0,0	15,3	0,5	0,9	
11	3,9	0,9	3,0	5,7	3,4	0,8	2,6	6,0	5,8	0,1	6,7	0,2	0,9	
Summe:	67,6	15,0	52,5	100,0	57,1	12,9	44,3	100,0	100,0		100,0		7,4	

Tabelle 78: 4-NP-Isomerenverteilung Reis mit Apfel nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Reis mit Apfel

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	3,3	0,5	2,7	5,4	2,4	0,5	1,9	3,9	4,6	0,8	5,5	1,7	0,9	
2	3,9	0,8	3,0	6,0	4,7	0,7	4,0	8,2	7,1	1,1	8,4	1,0	1,3	
3	6,2	1,0	5,2	10,3	5,6	0,9	4,7	9,7	10,0	0,3	11,7	1,2	1,7	
4	6,2	0,9	5,3	10,5	6,2	0,8	5,4	11,1	10,8	0,3	11,2	0,3	0,4	
5	5,8	0,9	4,9	9,6	5,6	0,8	4,7	9,7	9,7	0,1	8,9	0,5	0,8	
6	8,3	1,4	6,9	13,7	9,1	1,3	7,9	16,1	14,9	1,2	14,8	0,2	0,1	
7	5,4	0,8	4,6	9,1	4,3	0,7	3,6	7,3	8,2	0,9	8,4	0,2	0,2	
8	1,9	0,3	1,6	3,1	1,8	0,3	1,5	3,1	3,1	0,0	4,0	0,3	0,9	
9	2,9	0,5	2,5	4,8	2,4	0,4	2,0	4,2	4,5	0,3	5,1	0,2	0,6	
10	11,9	1,5	10,4	20,6	11,2	1,3	9,9	20,3	20,5	0,2	15,3	0,5	5,2	
11	4,0	0,5	3,5	6,9	3,6	0,5	3,1	6,3	6,6	0,3	6,7	0,2	0,1	
Summe:	59,8	9,2	50,6	100,0	57,0	8,2	48,8	100,0	100,0		100,0		12,1	

Tabelle 79: 4-NP-Isomerenverteilung für Mehrkornbrei nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Mehrkornbrei

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	2,8	0,4	2,3	5,1	4,5	0,6	4,0	5,5	5,3	0,2	5,5	1,7	0,2	
2	4,2	0,5	3,7	8,1	5,8	0,6	5,1	7,1	7,6	0,5	8,4	1,0	0,8	
3	6,5	0,8	5,8	12,7	9,6	1,0	8,6	11,9	12,3	0,4	11,7	1,2	0,6	
4	5,4	0,7	4,7	10,3	8,6	1,0	7,7	10,5	10,4	0,1	11,2	0,3	0,8	
5	5,3	0,7	4,6	10,2	8,3	0,8	7,5	10,4	10,3	0,1	8,9	0,5	1,4	
6	8,9	1,1	7,8	17,2	13,1	1,6	11,5	15,8	16,5	0,7	14,8	0,2	1,7	
7	4,1	0,5	3,6	7,9	6,7	0,6	6,1	8,4	8,2	0,2	8,4	0,2	0,2	
8	1,8	0,2	1,5	3,4	2,9	0,3	2,6	3,6	3,5	0,1	4,0	0,3	0,5	
9	2,2	0,2	1,9	4,2	3,8	0,4	3,4	4,7	4,5	0,3	5,1	0,2	0,6	
10	7,7	0,9	6,9	15,1	12,6	1,2	11,4	15,7	15,4	0,3	15,3	0,5	0,1	
11	3,0	0,4	2,6	5,8	5,2	0,5	4,7	6,4	6,1	0,3	6,7	0,2	0,6	
Summe:	51,8	6,4	45,5	100,0	81,1	8,5	72,6	100,0	100,0		100,0		7,5	

Tabelle 80: 4-NP-Isomerenverteilung für Grießbrei mit Vanille nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Grießbrei mit Vanille

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	7,0	0,6	6,4	5,3	6,2	0,5	5,7	5,2	5,2	0,1	5,5	1,7	0,3	
2	9,8	0,9	8,9	7,4	9,9	0,8	9,2	8,4	7,9	0,5	8,4	1,0	0,5	
3	16,6	1,0	15,5	12,9	15,9	1,0	14,9	13,6	13,2	0,4	11,7	1,2	1,5	
4	13,9	0,9	13,0	10,8	12,6	1,0	11,6	10,6	10,7	0,1	11,2	0,3	0,5	
5	12,3	0,9	11,4	9,5	11,3	0,9	10,4	9,5	9,5	0,0	8,9	0,5	0,6	
6	21,0	1,3	19,7	16,3	18,6	1,6	17,0	15,5	15,9	0,4	14,8	0,2	1,1	
7	9,8	0,7	9,2	7,6	9,1	1,0	8,1	7,4	7,5	0,1	8,4	0,2	0,9	
8	4,1	0,3	3,8	3,1	3,6	0,3	3,3	3,0	3,1	0,1	4,0	0,3	0,9	
9	5,6	0,4	5,2	4,3	5,3	0,4	4,9	4,4	4,4	0,1	5,1	0,2	0,7	
10	21,2	1,3	19,9	16,5	18,9	1,4	17,6	16,0	16,3	0,2	15,3	0,5	1,0	
11	8,2	0,5	7,7	6,4	7,6	0,5	7,1	6,4	6,4	0,0	6,7	0,2	0,3	
Summe:	129,5	8,8	120,6	100,0	119,0	9,4	109,6	100,0	100,0		100,0		8,4	

200

Tabelle 81: 4-NP-Isomerenverteilung für Grießbrei Schoko nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Grießbrei Schoko

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	4,9	1,4	3,5	5,9	4,6	1,4	3,1	5,5	5,7	0,2	5,5	1,7	0,2	
2	6,6	2,0	4,6	7,7	6,8	2,2	4,7	8,1	7,9	0,2	8,4	1,0	0,5	
3	11,0	2,9	8,1	13,7	11,2	3,1	8,2	14,2	14,0	0,3	11,7	1,2	2,3	
4	8,5	2,1	6,4	10,8	8,1	2,5	5,6	9,7	10,2	0,5	11,2	0,3	1,0	
5	7,9	2,2	5,7	9,6	7,9	2,5	5,4	9,4	9,5	0,1	8,9	0,5	0,6	
6	13,2	3,5	9,7	16,5	12,6	3,7	8,9	15,5	16,0	0,5	14,8	0,2	1,2	
7	7,3	1,8	5,4	9,2	7,4	1,9	5,4	9,5	9,3	0,2	8,4	0,2	0,9	
8	2,6	0,8	1,8	3,0	2,8	1,0	1,7	3,0	3,0	0,0	4,0	0,3	1,0	
9	3,5	1,1	2,4	4,0	3,6	1,1	2,5	4,3	4,2	0,2	5,1	0,2	0,9	
10	12,1	3,8	8,3	14,1	12,0	3,8	8,1	14,2	14,1	0,0	15,3	0,5	1,2	
11	4,7	1,5	3,3	5,5	5,1	1,4	3,7	6,5	6,0	0,5	6,7	0,2	0,7	
Summe:	82,4	23,3	59,1	100,0	82,0	24,7	57,4	100,0	100,0		100,0		10,4	

Tabelle 82: 4-NP-Isomerenverteilung für Butterkeks-Milchbrei nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Butterkeks-Milchbrei

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	1,5	0,3	1,3	4,8	2,9	0,8	2,1	4,9	4,8	0,1	5,5	1,7	0,7	
2	2,6	0,4	2,2	8,4	4,6	0,9	3,7	8,5	8,5	0,1	8,4	1,0	0,1	
3	4,2	0,6	3,6	13,5	7,0	1,7	5,3	12,3	12,9	0,6	11,7	1,2	1,2	
4	3,7	0,6	3,2	11,9	6,6	1,3	5,3	12,3	12,1	0,2	11,2	0,3	0,9	
5	2,3	0,4	2,0	7,5	4,4	1,1	3,2	7,5	7,5	0,0	8,9	0,5	1,4	
6	4,7	0,8	3,9	14,8	8,5	1,8	6,7	15,4	15,1	0,3	14,8	0,2	0,3	
7	2,6	0,4	2,1	8,1	4,8	1,1	3,7	8,5	8,3	0,2	8,4	0,2	0,1	
8	0,9	0,2	0,8	2,9	1,7	0,5	1,2	2,8	2,9	0,0	4,0	0,3	1,1	
9	1,3	0,2	1,1	4,0	2,3	0,6	1,7	4,0	4,0	0,0	5,1	0,2	1,1	
10	5,6	0,8	4,8	18,1	9,8	2,2	7,5	17,4	17,7	0,3	15,3	0,5	2,4	
11	1,9	0,3	1,6	6,2	3,5	0,8	2,8	6,4	6,3	0,1	6,7	0,2	0,4	
Summe:	31,4	4,9	26,5	100,0	56,1	12,8	43,3	100,0	100,0		100,0		9,8	

Tabelle 83: 4-NP-Isomerenverteilung für Milchbrei mit Banane nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Milchbrei mit Banane

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	1,0	0,7	0,3	2,6	0,7	0,6	0,1	1,0	1,8	0,8	5,5	1,7	3,7	
2	1,5	0,9	0,6	5,8	1,6	0,8	0,8	6,7	6,3	0,5	8,4	1,0	2,1	
3	3,0	1,2	1,8	17,5	2,5	1,1	1,4	11,6	14,6	3,0	11,7	1,2	2,9	
4	2,1	1,2	0,9	8,5	1,7	1,1	0,6	5,0	6,8	1,8	11,2	0,3	4,4	
5	2,3	1,1	1,2	11,3	2,3	0,8	1,5	12,1	11,7	0,4	8,9	0,5	2,8	
6	3,5	1,8	1,7	16,1	3,5	1,4	2,1	17,7	16,9	0,8	14,8	0,2	2,1	
7	2,0	1,0	1,0	9,5	1,8	0,7	1,0	8,6	9,0	0,4	8,4	0,2	0,6	
8	0,7	0,4	0,3	2,9	0,7	0,3	0,4	3,2	3,0	0,2	4,0	0,3	1,0	
9	0,9	0,5	0,4	3,5	0,9	0,4	0,5	4,2	3,8	0,4	5,1	0,2	1,3	
10	3,4	1,9	1,5	14,3	4,2	1,3	2,8	23,5	18,9	4,6	15,3	0,5	3,6	
11	1,5	0,7	0,8	8,0	1,4	0,6	0,8	6,5	7,3	0,7	6,7	0,2	0,6	
Summe:	21,9	11,4	10,5	100,0	21,3	9,1	12,1	100,0	100,0		100,0		25,0	

Tabelle 84: 4-NP-Isomerenverteilung für Pfirsich-Maracuja mit Joghurt nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Pfirsich-Maracuja mit Joghurt

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	1,8	0,5	1,3	4,8	2,1	0,3	1,9	5,2	5,0	0,2	5,5	1,7	0,5	
2	2,5	0,6	1,9	6,9	3,0	0,3	2,6	7,3	7,1	0,2	8,4	1,0	1,3	
3	4,7	0,9	3,8	13,8	5,1	0,5	4,6	12,8	13,3	0,5	11,7	1,2	1,6	
4	3,0	0,9	2,1	7,6	4,2	0,4	3,8	10,5	9,1	1,5	11,2	0,3	2,1	
5	2,8	0,6	2,2	8,0	3,3	0,3	3,0	8,3	8,1	0,1	8,9	0,5	0,8	
6	5,7	1,0	4,7	17,0	6,2	0,7	5,6	15,5	16,3	0,8	14,8	0,2	1,5	
7	3,2	0,6	2,6	9,4	3,8	0,3	3,5	9,6	9,5	0,1	8,4	0,2	1,1	
8	1,1	0,2	0,9	3,1	1,3	0,1	1,2	3,2	3,2	0,0	4,0	0,3	0,8	
9	1,5	0,3	1,2	4,3	1,6	0,2	1,5	4,1	4,2	0,1	5,1	0,2	0,9	
10	6,0	1,0	5,0	18,3	6,7	0,6	6,2	17,1	17,7	0,6	15,3	0,5	2,4	
11	2,2	0,4	1,8	6,7	2,5	0,2	2,3	6,3	6,5	0,2	6,7	0,2	0,2	
Summe:	34,5	6,9	27,6	100,0	40,0	4,0	36,0	100,0	100,0		100,0		13,2	

Tabelle 85: 4-NP-Isomerenverteilung für Pfirsich mit Honig nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Pfirsich mit Honig

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	1,8	0,2	1,6	5,7	1,4	0,2	1,2	6,2	6,0	0,2	5,5	1,7	0,5	
2	2,4	0,3	2,1	7,7	1,7	0,2	1,5	7,4	7,5	0,2	8,4	1,0	0,9	
3	4,1	0,5	3,7	13,3	3,0	0,4	2,6	13,0	13,2	0,2	11,7	1,2	1,5	
4	3,3	0,4	2,9	10,7	2,3	0,3	1,9	9,6	10,1	0,5	11,2	0,3	1,1	
5	2,7	0,3	2,3	8,4	1,9	0,3	1,7	8,4	8,4	0,0	8,9	0,5	0,5	
6	4,6	0,6	4,0	14,7	3,3	0,5	2,9	14,5	14,6	0,1	14,8	0,2	0,2	
7	2,4	0,3	2,1	7,6	1,9	0,3	1,6	7,9	7,8	0,2	8,4	0,2	0,6	
8	1,0	0,1	0,8	3,0	0,7	0,1	0,6	2,9	3,0	0,0	4,0	0,3	1,0	
9	1,3	0,2	1,2	4,2	0,9	0,1	0,8	4,1	4,1	0,1	5,1	0,2	1,0	
10	5,8	0,7	5,1	18,5	4,6	0,6	4,0	20,1	19,3	0,8	15,3	0,5	4,0	
11	1,9	0,2	1,7	6,1	1,4	0,2	1,2	5,9	6,0	0,1	6,7	0,2	0,7	
Summe:	31,5	3,9	27,6	100,0	23,1	3,2	19,9	100,0	100,0		100,0		11,9	

Tabelle 86: 4-NP-Isomerenverteilung für Südfrüchte in Apfelsaft nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Südfrüchte in Apfelsaft

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	3,4	1,0	2,4	4,5	3,6	0,9	2,7	4,3	4,4	0,1	5,5	1,7	1,1	
2	5,9	1,4	4,5	8,5	6,5	1,2	5,2	8,4	8,5	0,1	8,4	1,0	0,1	
3	9,2	2,0	7,2	13,6	9,4	1,8	7,6	12,3	12,9	0,7	11,7	1,2	1,2	
4	8,7	1,9	6,8	12,8	8,9	1,6	7,3	11,8	12,3	0,5	11,2	0,3	1,1	
5	7,7	1,5	6,2	11,7	8,9	1,4	7,5	12,1	11,9	0,2	8,9	0,5	3,0	
6	10,5	2,6	8,0	15,0	12,4	2,1	10,3	16,6	15,8	0,8	14,8	0,2	1,0	
7	4,5	1,2	3,3	6,1	5,1	1,1	4,0	6,4	6,3	0,2	8,4	0,2	2,1	
8	1,9	0,6	1,3	2,5	2,2	0,5	1,7	2,8	2,7	0,2	4,0	0,3	1,3	
9	2,4	0,7	1,7	3,3	2,6	0,6	1,9	3,1	3,2	0,1	5,1	0,2	1,9	
10	11,2	2,2	8,9	16,8	12,6	2,0	10,6	17,1	17,0	0,1	15,3	0,5	1,7	
11	3,6	0,9	2,7	5,2	4,0	0,9	3,1	5,0	5,1	0,1	6,7	0,2	1,6	
Summe:	69,0	15,9	53,2	100,0	76,2	14,1	62,1	100,0	100,0		100,0		16,2	

Tabelle 87: 4-NP-Isomerenverteilung für Melissentee mit Traubensaft nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Melissentee mit Traubensaft

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	1,4	0,9	0,5	4,6	1,7	0,8	0,8	5,1	4,8	0,3	5,5	1,7	0,7	
2	1,8	1,1	0,7	6,8	2,2	1,1	1,0	6,6	6,7	0,1	8,4	1,0	1,7	
3	3,1	1,7	1,5	14,0	3,4	1,6	1,8	11,2	12,6	1,4	11,7	1,2	0,9	
4	2,6	1,5	1,1	10,5	3,1	1,5	1,6	10,0	10,2	0,3	11,2	0,3	1,0	
5	2,7	1,5	1,2	11,4	2,9	1,4	1,5	9,6	10,5	0,9	8,9	0,5	1,6	
6	4,1	2,1	2,0	18,8	4,8	2,1	2,7	17,2	18,0	0,8	14,8	0,2	3,2	
7	2,0	1,1	0,9	8,6	2,5	1,1	1,4	8,6	8,6	0,0	8,4	0,2	0,2	
8	0,8	0,5	0,3	3,1	1,0	0,5	0,6	3,6	3,3	0,3	4,0	0,3	0,7	
9	1,0	0,6	0,4	3,7	1,4	0,6	0,8	4,8	4,2	0,5	5,1	0,2	0,9	
10	3,6	2,1	1,5	13,9	4,6	2,0	2,7	16,7	15,3	1,4	15,3	0,5	0,0	
11	1,4	0,9	0,5	4,7	1,8	0,8	1,0	6,5	5,6	0,9	6,7	0,2	1,1	
Summe:	24,5	14,0	10,5	100,0	29,4	13,6	15,8	100,0	100,0		100,0		11,9	

Tabelle 88: 4-NP-Isomerenverteilung für Zucker nach dem Analyseverfahren für 4-NP

Zucker

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch; von Heinke) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	4,1	0,6	3,4	6,2	5,0	0,8	4,2	6,2	6,2	0,0	5,5	1,7	0,7	
2	5,2	0,9	4,3	7,7	6,3	1,0	5,4	7,9	7,8	0,1	8,4	1,0	0,6	
3	10,1	1,2	8,8	15,8	12,2	1,6	10,6	15,6	15,7	0,1	11,7	1,2	4,0	
4	7,2	1,0	6,2	11,1	8,7	1,3	7,4	10,9	11,0	0,1	11,2	0,3	0,2	
5	5,5	0,8	4,7	8,5	6,7	1,0	5,7	8,4	8,4	0,1	8,9	0,5	0,5	
6	10,6	1,5	9,1	16,3	12,9	1,7	11,2	16,4	16,4	0,1	14,8	0,2	1,6	
7	4,5	0,6	3,9	6,9	5,7	0,8	4,9	7,2	7,1	0,1	8,4	0,2	1,3	
8	2,0	0,3	1,7	3,1	2,6	0,4	2,1	3,1	3,1	0,0	4,0	0,3	0,9	
9	2,7	0,4	2,3	4,1	3,4	0,5	2,9	4,2	4,1	0,1	5,1	0,2	1,0	
10	9,8	1,3	8,5	15,1	11,8	1,6	10,1	14,9	15,0	0,1	15,3	0,5	0,3	
11	3,5	0,5	3,0	5,3	4,2	0,6	3,6	5,2	5,3	0,0	6,7	0,2	1,4	
Summe:	65,1	9,2	55,9	100,0	79,6	11,4	68,1	100,0	100,0		100,0		12,5	

7.17. Proben nach dem Analysenverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Tabelle 89: Anhang 7.17.: Proben nach dem Analysenverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Nr.	Kategorie	Probe	Herkunft	Verpackung	Probenvorbereitung
1	Muttermilch 1	3./4. Stillwoche	Deutschland	gereignete 100 mL Glasflasche	gut geschüttelt
	Muttermilch 2	19./20. Stillwoche	Deutschland	gereignete 250 mL Glasflasche	gut geschüttelt
Säuglingsnahrung:					
2	Säuglingsanfangs-nahrung	Dauermilchnahrung	Deutschland	900 g Packung mit 2 Folienbeuteln	keine
3	Folgenahrung	Folgemilch	Deutschland	900 g Packung mit 2 Folienbeuteln	keine
4	Komplettmenü 1	Reis-Gemüsecreme mit Huhn	Deutschland	190 g Glas mit Vakuum-Sicherheitsverschluss (VSV)	gut mit Glasspatel umgerührt
	Komplettmenü 2	Schinkennudeln mit Gemüse	Deutschland	220 g Glas mit VSV	Homogenisierung mittels Ultra-Turrax
5	vegetarisches Menü	Frühkarotte	Deutschland	190 g Glas mit VSV	gut mit Glasspatel umgerührt
6	Getreide (milchfrei)	Schmelzflocken	Deutschland	250 g Packung, Papierbeutel	keine
7	Milchbrei (verzehrfsfertig)	Milchfertigbrei mit Grieß	Deutschland	500 g Packung mit 2 Folienbeuteln	keine
8	Obstpüree	Baby-Apfel	Deutschland	2 x 190 g Gläser mit VSV	gut mit Glasspatel umgerührt
9	Obstpüree und Milcherzeugnis	Apfel-Banane mit Quark	Deutschland	190 g Glas mit VSV	Homogenisierung mittels Ultra-Turrax
10	Getreide-Obst-Brei	Apfel-Getreide Brei	Deutschland	190 g Glas mit VSV	gut mit Glasspatel umgerührt
11	Gebäck	Zwieback	Deutschland	225 g Packung, Folienbeutel	Homogenisierung mittels Mixer
12	Saft	milder Apfelsaft	Deutschland	500 mL Flasche mit VSV	gut geschüttelt
13	Tee	Baby Tee	Deutschland	100 g Glas mit Schraubverschluss	keine

Fortsetzung Tabelle 89:

Nr.	Kategorie	Probe	Herkunft	Verpackung	Probenvorbereitung
Kleinkindernahrung:					
14	Brot und Getreideflocken	Cornflakes	Deutschland	500 g Packung, Folienbeutel	Homogenisierung mittels Mixer
15	Beilagen (Kartoffeln, Nudeln, Reis, usw.)	gekochte Kartoffeln	Deutschland	2000 g Packung, Plastiknetz	geschält, 15 min gekocht, Homogenisierung mittels Ultra-Turrax
16	Gemüse einschließlich Saft	Karotten	Spanien	750 g Packung, Plastikbeutel	nach dem Schälen Homogenisierung mittels Mixer
17	Obst einschließlich Saft	Banane	Costa Rica	1000 g Packung, Plastikfolie	nach dem Schälen Homogenisierung mittels Ultra-Turrax
18	Milch und Milchprodukte	H-Vollmilch	Deutschland	1000 mL Packung, Tetrapack	gut geschüttelt
19	Ei und Eiprodukte	Eier	Deutschland	6 Stück, Karton, Bodenhaltung	nach dem Aufschlagen Homogenisierung mittels Ultra-Turrax
20	Fleisch und Wurstwaren	Geflügel-Mortadella	Deutschland	350 g Packung, Plastikfolie	Homogenisierung mittels Mixer
21	Fisch und Fischprodukte	Seelachs	Alaska	400 g Packung, Papier, tiefgefroren	nach dem Antauen Homogenisierung mittels Ultra-Turrax
22	Fette und Öle	Butter, mild gesäuert	Deutschland	250 g Packung	keine
23	Süßigkeiten und Gebäck	Raffinade-Zucker	Deutschland	1000 g Packung, Papier	keine
24	Getränke	Leitungswasser	FZ Jülich, Geb. 06.2	direkt aus der Leitung	5 min Wasser laufen gelassen

7.18. Übersicht über 4-tert.-OP-Mengen in Säuglings- und Kleinkindernahrung nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Tabelle 90: Anhang 7.18.: Übersicht über 4-tert.-OP-Mengen in Säuglings- und Kleinkindernahrung nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Probe	Einwaage [g]	Blindwert (BW) 4-tert.-OP [ng abs.]	Nachweisgrenze der entsprechenden Apparatur [ng abs.]	Bestimmungsgrenze der entsprechenden Apparatur [ng abs.]	4-tert.-OP in der Probe [ng abs.]	Gehalt an 4-tert.-OP in der Probe (BW subtrahiert) [µg/kg]	Wiederfindung von 4-n-OP [%]
SÄUGLINGSNAHRUNG:							
Muttermilch 1	46,01	0,6	0,6	0,6	0,8	4,35	67,3
Muttermilch 1	61,00	0,2	0,3	0,3	0,7	8,20	88,2
Muttermilch 2	22,53	0,8	1,2	1,6	1,2	< NG/BG	65,3
Muttermilch 2	28,33	0,4	0,5	0,7	1,6	42,36	81,1
Dauermilchnahrung	15,51	0,5	0,6	0,7	8,7	528,69	12,4
Dauermilchnahrung	19,46	1,4	1,5	1,7	15,1	704,01	20,6
Folgemilch	13,95	1,1	2,4	3,6	3,1	< BG	25,7
Folgemilch	11,73	1,8	2,3	2,7	2,0	< NG/BG	15,7
Reis-Gemüsecreme mit Huhn	48,28	0,5	0,7	0,9	3,2	55,92	27,1
Reis-Gemüsecreme mit Huhn	46,35	0,1	0,3	0,5	2,5	51,78	48,1
Schinkennudeln mit Gemüse	41,67	0,3	0,5	0,7	1,4	26,40	79,6
Schinkennudeln mit Gemüse	42,34	0,3	0,4	0,5	1,5	28,34	68,3
Frühkarotte	147,76	0,1	0,4	0,6	0,2	< NG/BG	81,5
Frühkarotte	139,91	0,7	0,7	0,7	0,2	< NG/BG	80,5
Schmelzflocken	41,56	0,3	0,5	0,7	4,7	105,87	82,4
Schmelzflocken	47,61	0,3	0,3	0,3	7,5	151,23	61,0
Milchfertigbrei mit Grieß	22,70	1,8	2,4	3,0	5,6	167,40	77,5
Milchfertigbrei mit Grieß	23,13	1,1	1,5	1,9	4,7	155,64	96,4
Baby-Apfel	34,27	0,3	0,4	0,4	0,6	8,75	74,9
Baby-Apfel	47,44	0,1	0,2	0,3	0,7	12,65	73,1
Apfel-Banane mit Quark	77,27	0,4	0,6	0,7	1,1	9,06	85,5
Apfel-Banane mit Quark	69,68	0,4	0,6	0,7	1,1	10,05	75,4
Apfel-Getreide Brei	57,00	0,5	0,7	0,9	1,7	21,05	97,0

Fortsetzung Tabelle 90:

Apfel-Getreide Brei	58,16	0,5	0,8	1,1	1,7	20,63	83,4
Zwieback	30,01	1,1	1,2	1,3	8,0	229,92	59,6
Zwieback	39,21	1,0	1,6	2,2	8,2	183,63	69,7
Milder Apfelsaft	525,37	0,2	0,3	0,3	0,4	0,38	104,3
Milder Apfelsaft	527,02	0,1	0,1	0,1	0,4	0,57	100,7
Baby Tee	50,38	0,2	0,6	1,1	1,3	21,83	44,0
Baby Tee	52,24	0,1	0,3	0,5	1,3	22,97	44,0
KLEINKINDERNAHRUNG:							
Cornflakes	30,45	1,7	2,1	2,5	0,5	< NG/BG	69,7
Cornflakes	29,84	0,7	0,9	1,1	0,4	< NG/BG	74,8
gekochte Kartoffeln	232,51	0,4	0,6	0,8	1,3	3,87	61,8
gekochte Kartoffeln	247,41	0,4	0,6	0,7	1,1	2,83	61,7
Karotte	174,43	0,2	0,4	0,5	0,4	< NG/BG	82,1
Karotte	175,41	0,1	0,1	0,1	0,5	2,28	71,7
Banane	108,23	0,5	0,5	0,6	1,7	11,09	63,5
Banane	115,65	0,4	0,5	0,5	1,3	7,78	63,1
H-Vollmilch	49,36	0,9	1,7	2,6	5,8	99,27	28,2
H-Vollmilch	46,57	1,0	1,3	1,6	7,7	143,87	31,6
Eier	40,66	0,7	0,9	1,2	2,4	41,81	21,2
Eier	46,70	0,4	0,6	0,9	1,7	27,84	32,1
Geflügel-Mortadella	16,79	0,9	1,0	1,1	0,5	< NG/BG	78,5
Geflügel-Mortadella	21,21	0,8	0,9	1,1	0,4	< NG/BG	87,4
Seelachs	24,74	0,2	0,2	0,3	0,2	< NG/BG	75,6
Seelachs	24,05	0,1	0,2	0,2	0,3	8,32	68,8
Butter, mild gesäuert	9,70	2,0	2,7	3,5	0,8	< NG/BG	20,3
Butter, mild gesäuert	13,08	1,7	2,0	2,3	0,7	< NG/BG	21,0
Raffinade-Zucker	163,24	0,4	0,5	0,7	3,6	19,60	77,3
Raffinade-Zucker	165,24	0,2	0,2	0,2	2,5	13,92	80,4
Leitungswasser	988,79	0,6	0,7	0,7	1,0	0,40	57,2
Leitungswasser	999,83	0,6	0,7	0,8	1,0	0,40	55,0
Leitungswasser	919,84	0,6	0,6	0,7	1,2	0,65	59,2

7.19. Isomerenverteilung von 4-NP für die Proben nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP im Vergleich zum technischen 4-NP

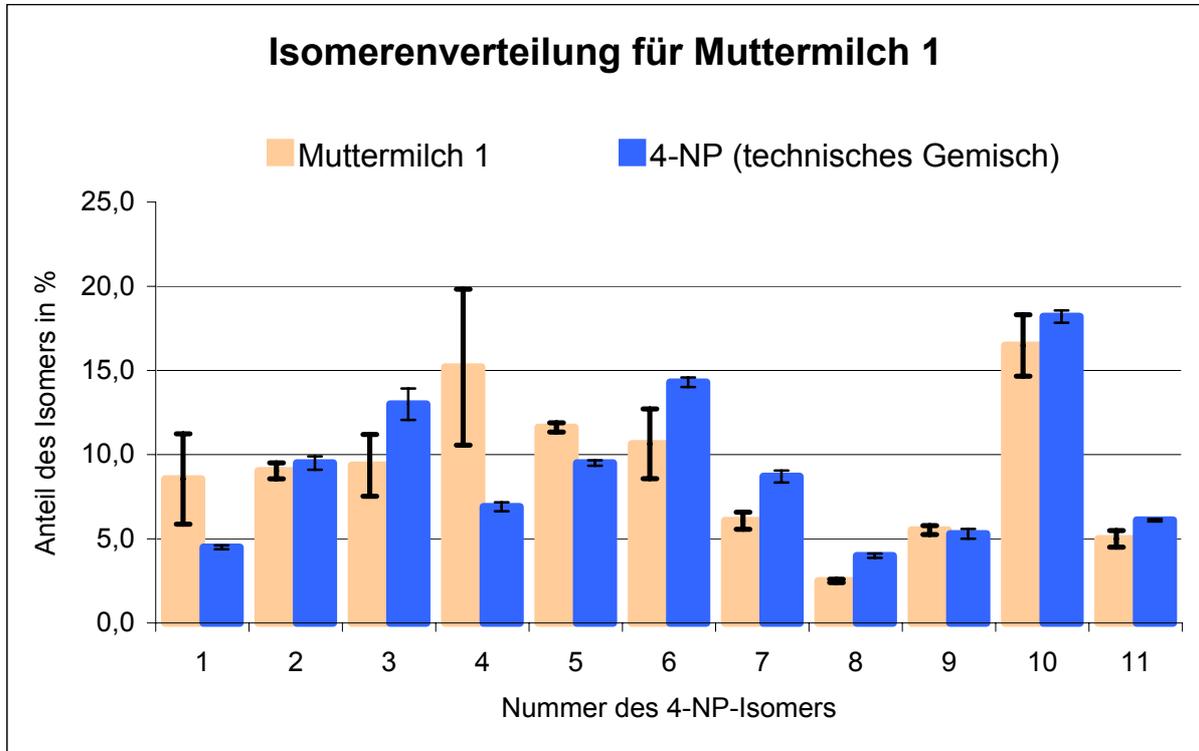


Abbildung 101: 4-NP-Isomerenverteilung für Muttermilch 1 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

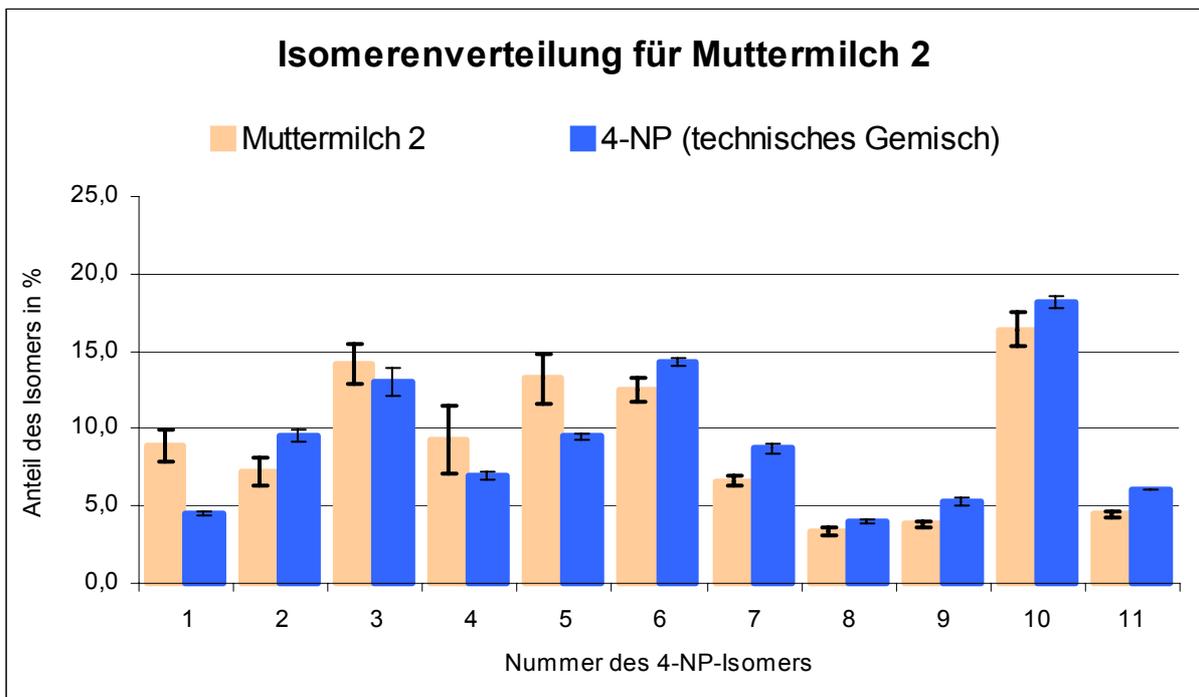


Abbildung 102: 4-NP-Isomerenverteilung für Muttermilch 2 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

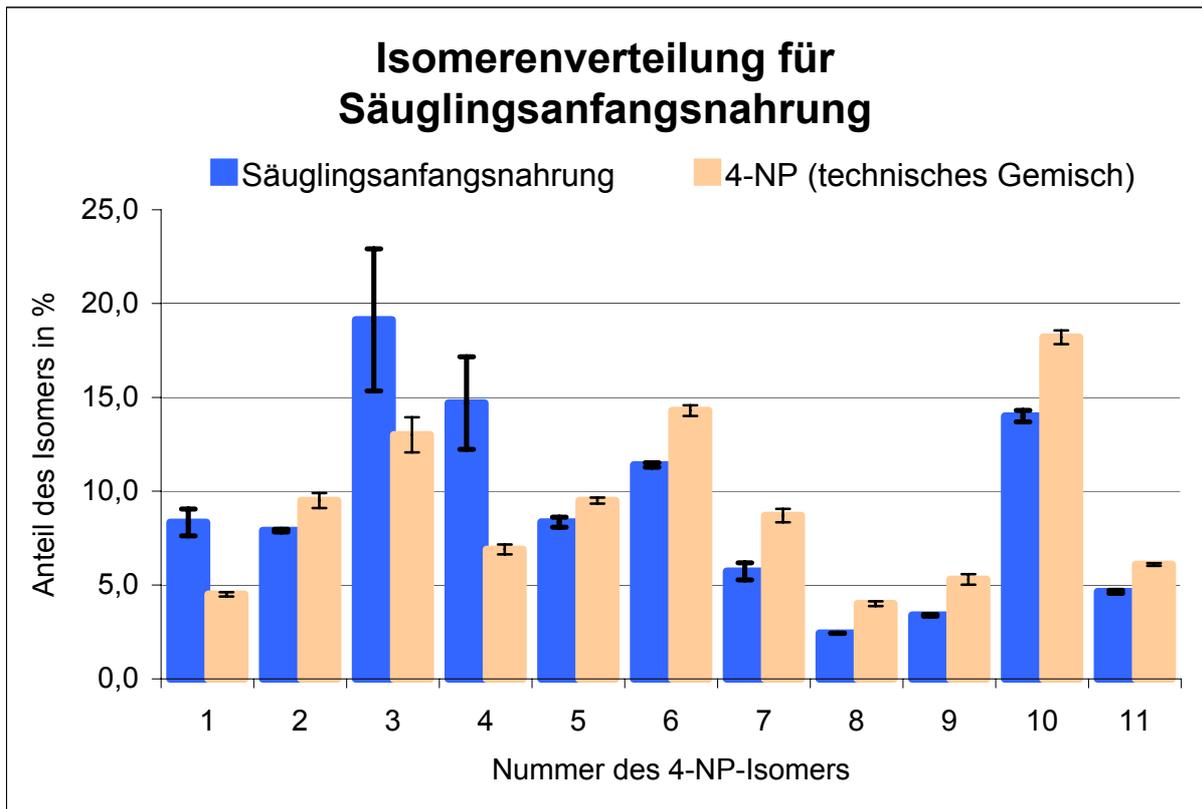


Abbildung 103: 4-NP-Isomerenverteilung für Säuglingsanfangsnahrung nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

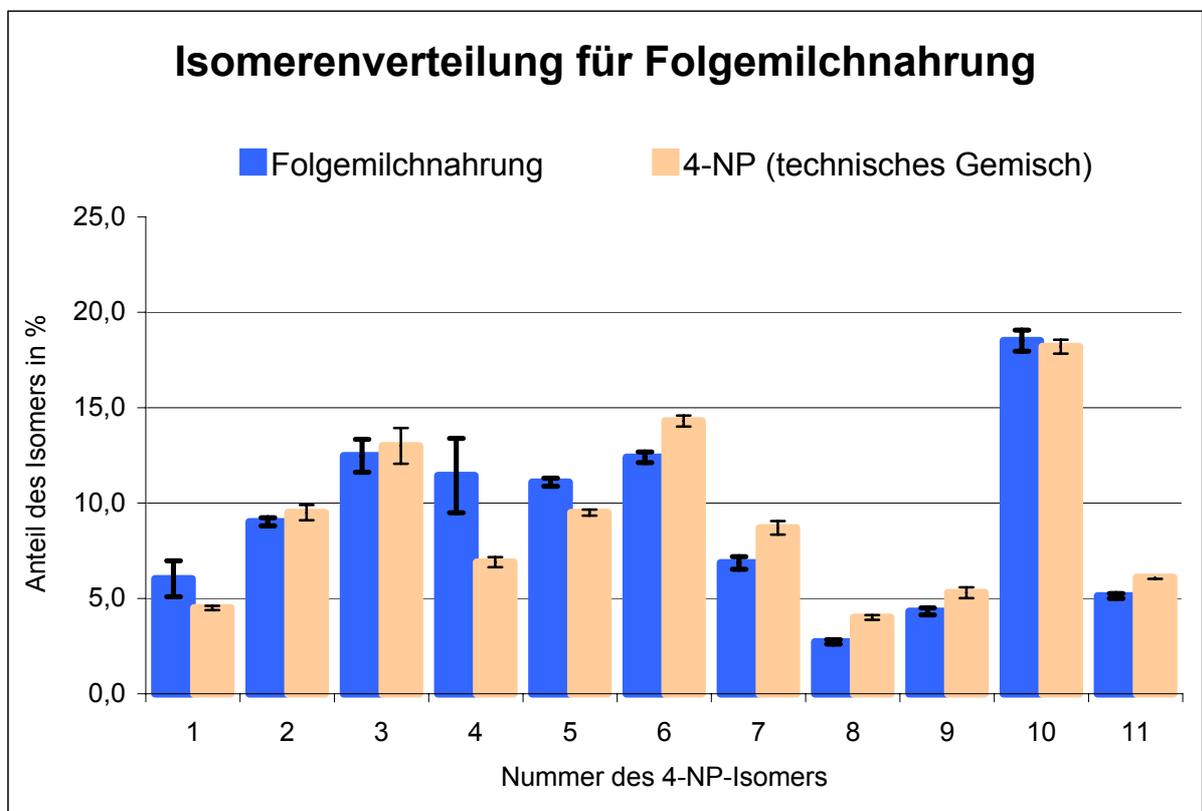


Abbildung 104: 4-NP-Isomerenverteilung für Folgemilchnahrung nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

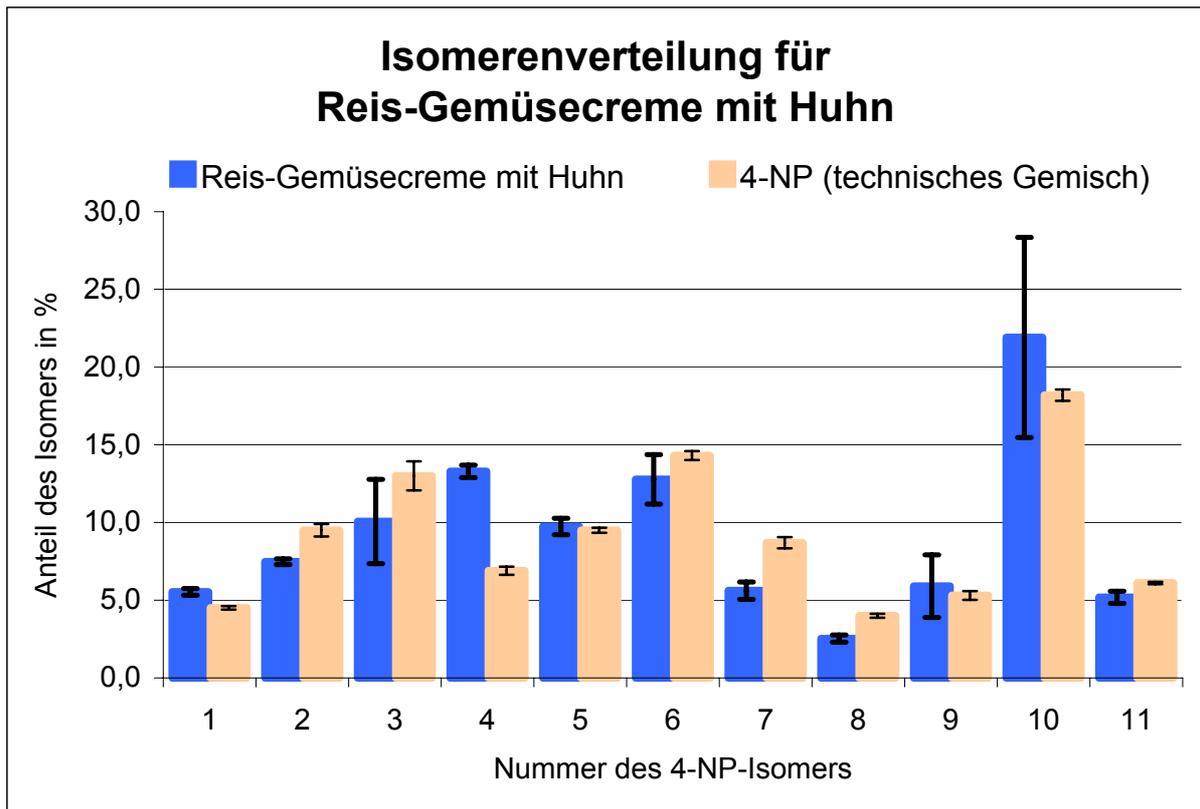


Abbildung 105: 4-NP-Isomerenverteilung für Reis-Gemüsecreme mit Huhn nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

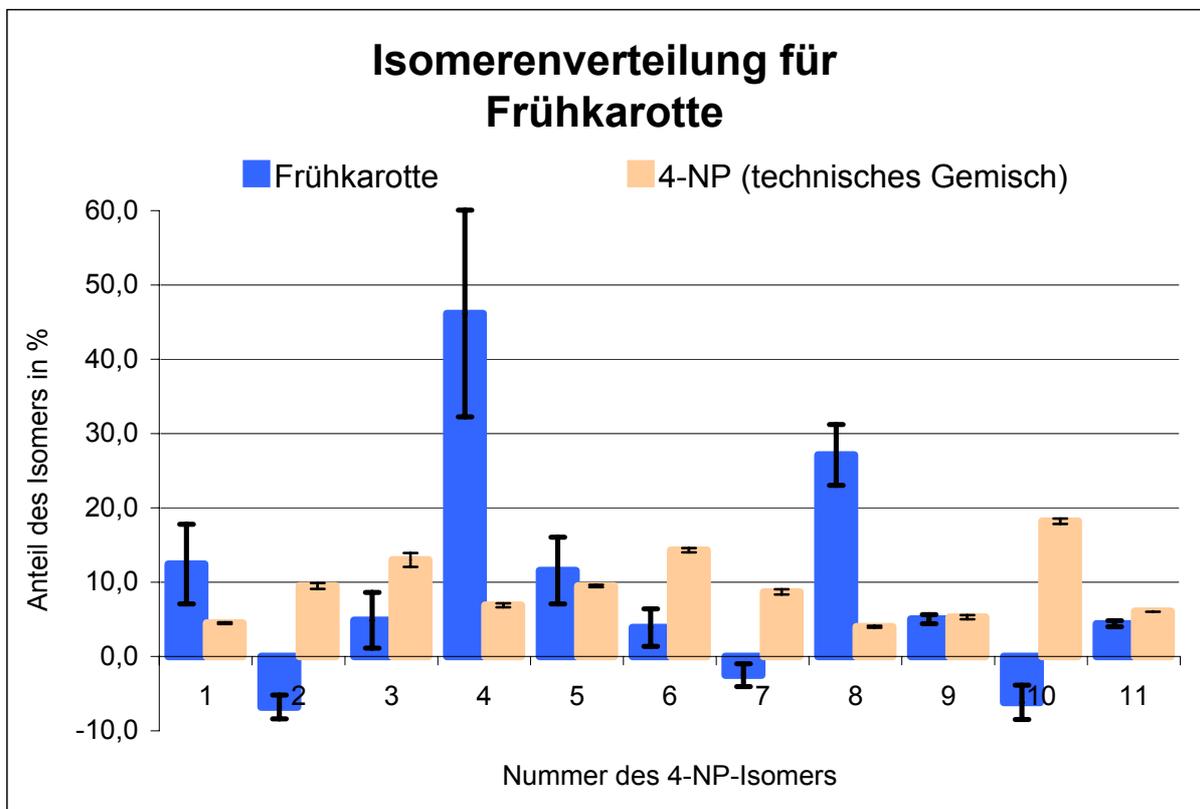


Abbildung 106: 4-NP-Isomerenverteilung für Frühkarotte nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

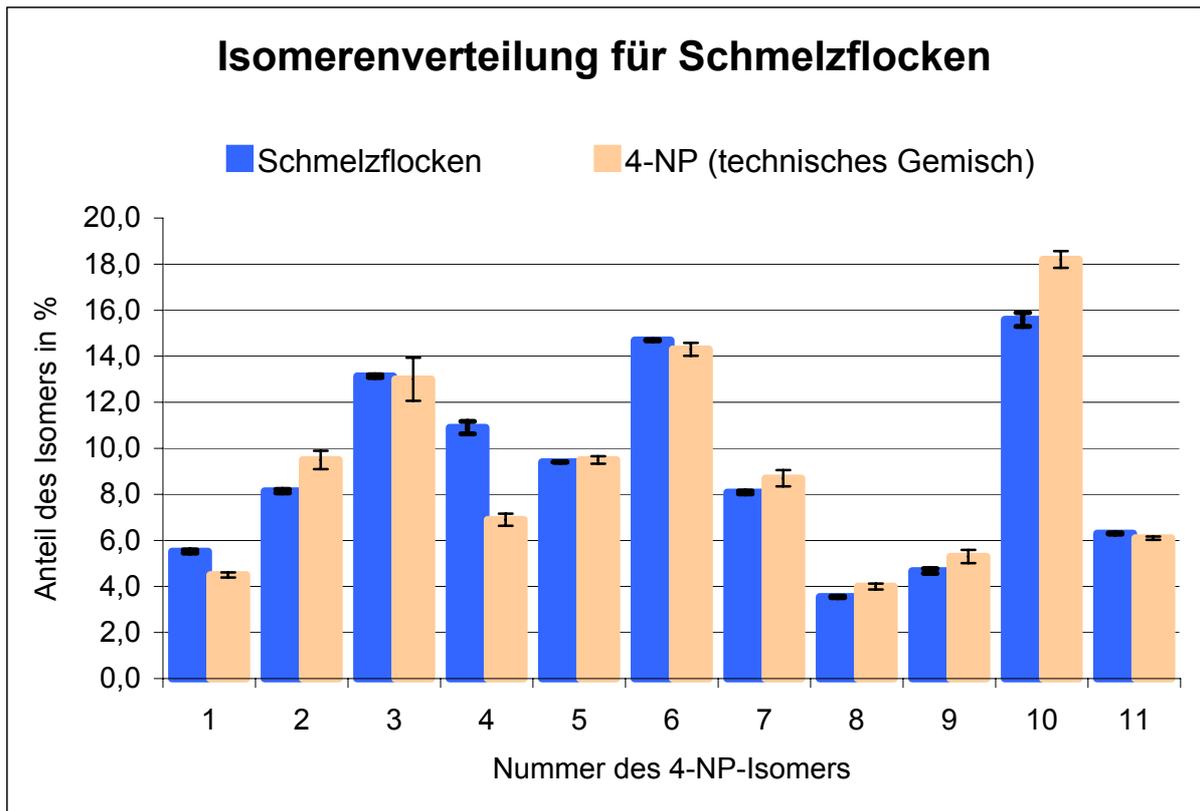


Abbildung 107: 4-NP-Isomerenverteilung für Schmelzflocken nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

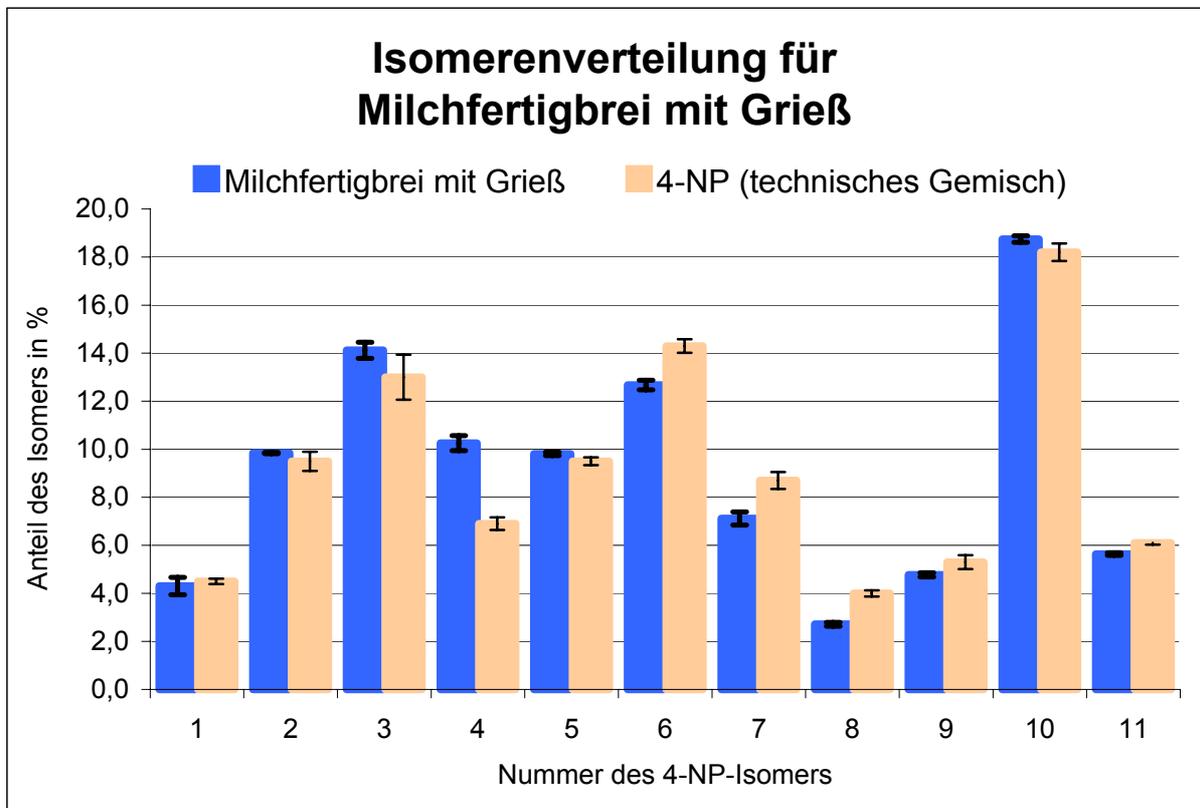


Abbildung 108: 4-NP-Isomerenverteilung für Milchfertigbrei mit Grieß nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

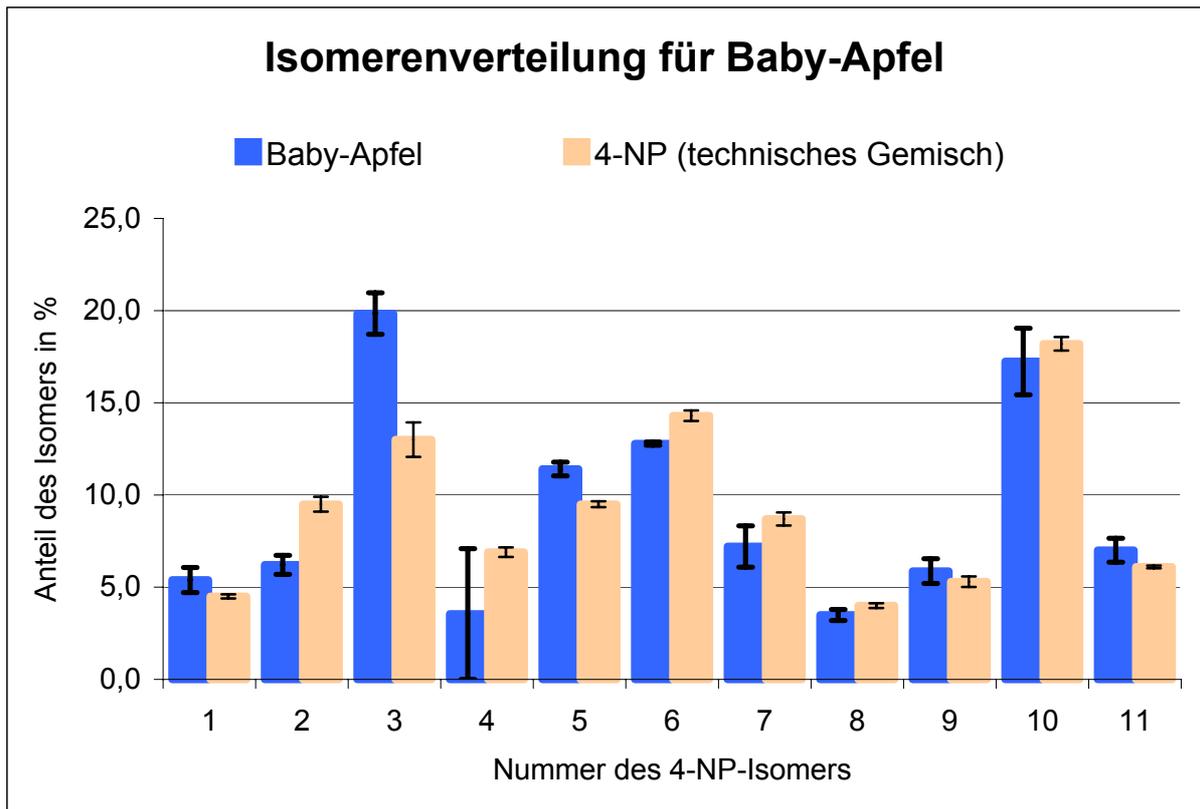


Abbildung 109: 4-NP-Isomerenverteilung für Baby-Apfel nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

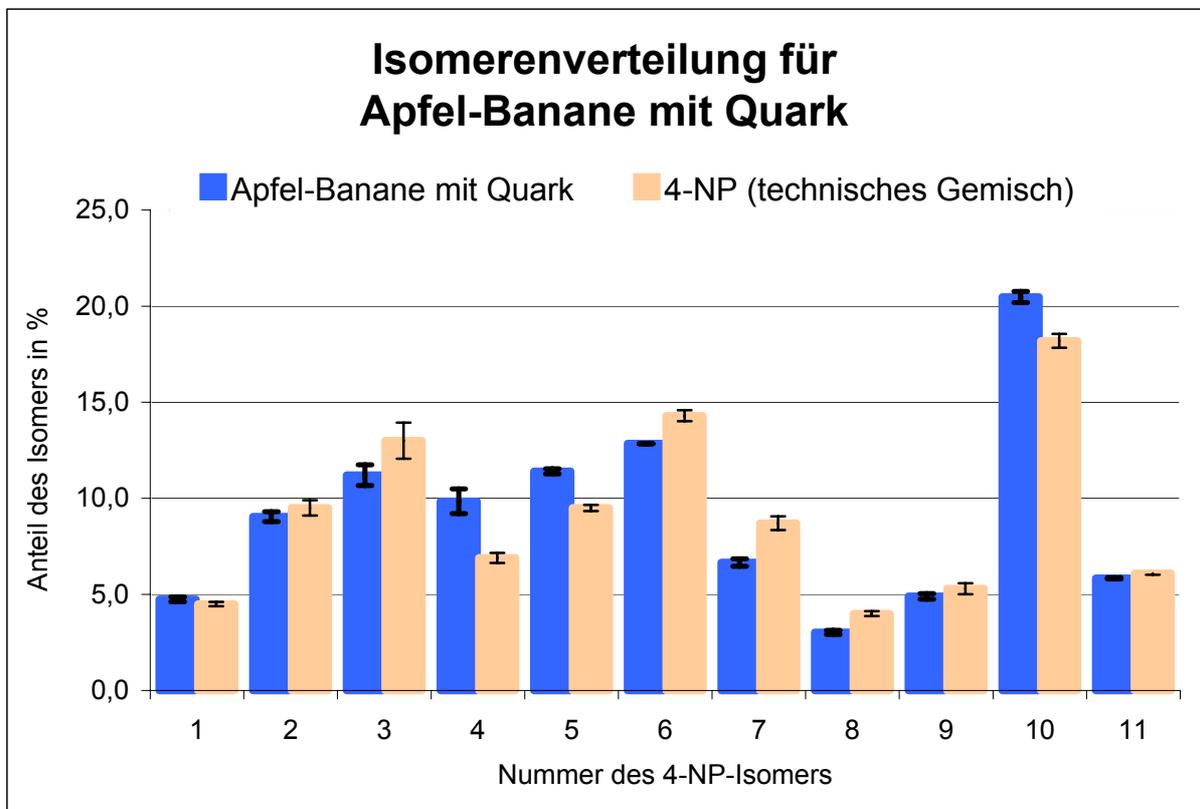


Abbildung 110: 4-NP-Isomerenverteilung für Apfel-Banane mit Quark nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

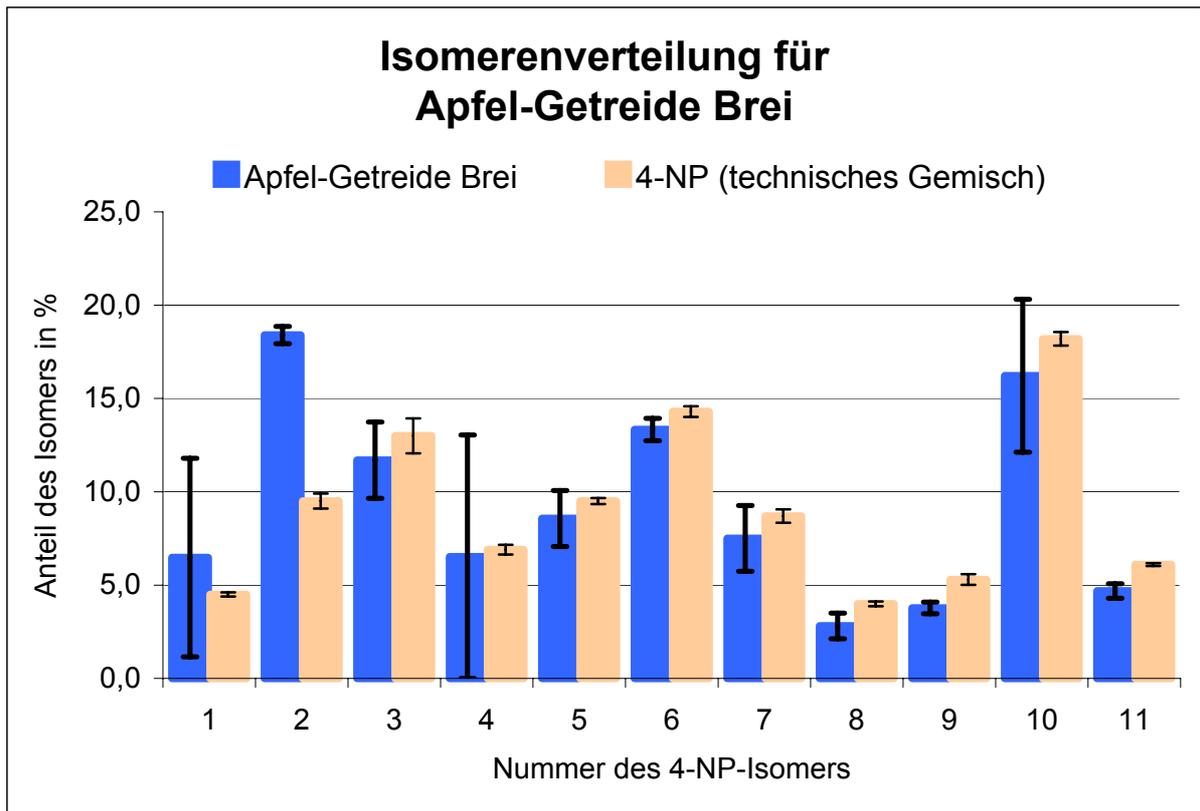


Abbildung 111: 4-NP-Isomerenverteilung für Apfel-Getreide Brei nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

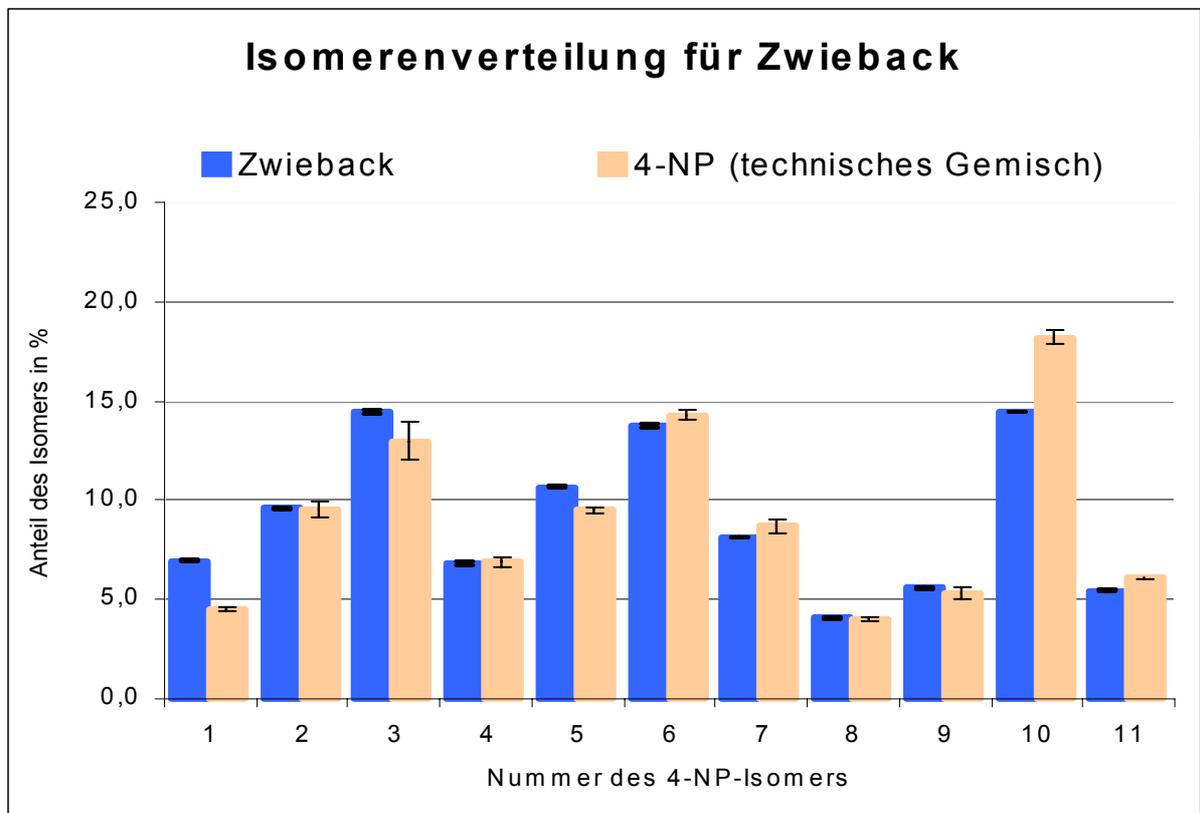


Abbildung 112: 4-NP-Isomerenverteilung für Zwieback nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

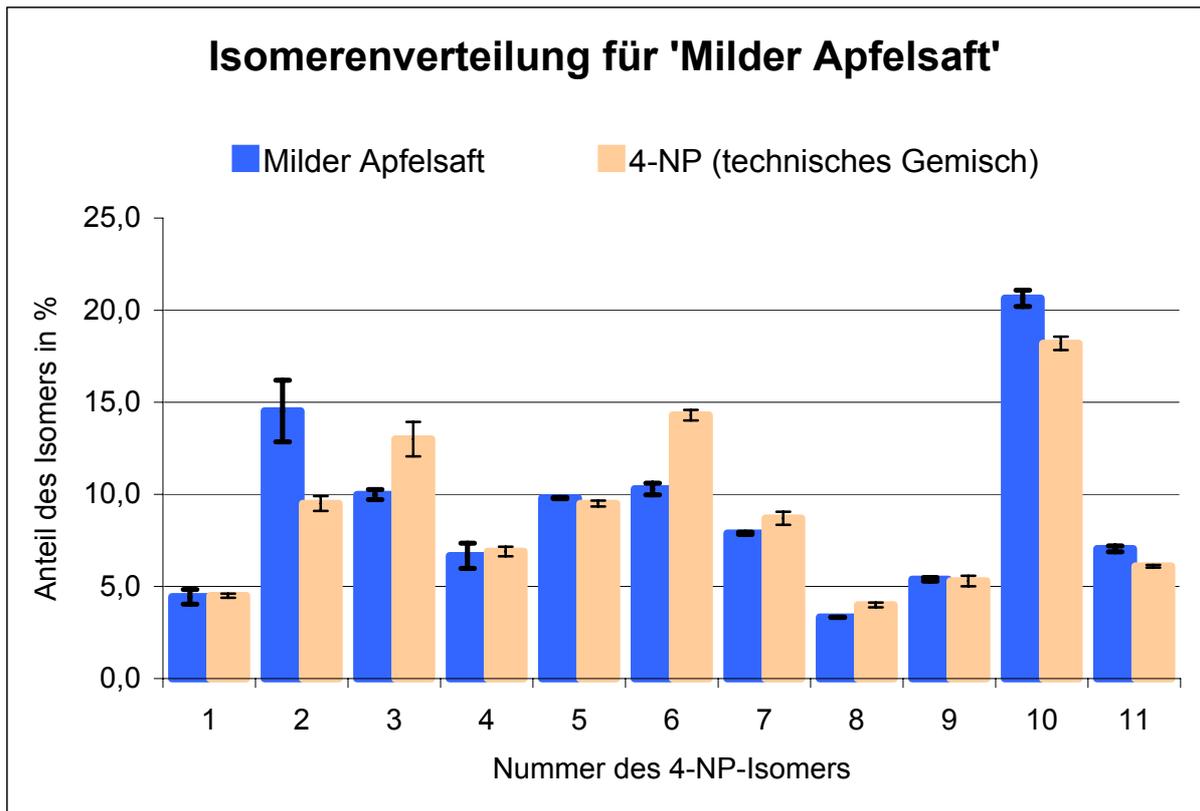


Abbildung 113: 4-NP-Isomerenverteilung für 'Milder Apfelsaft' nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

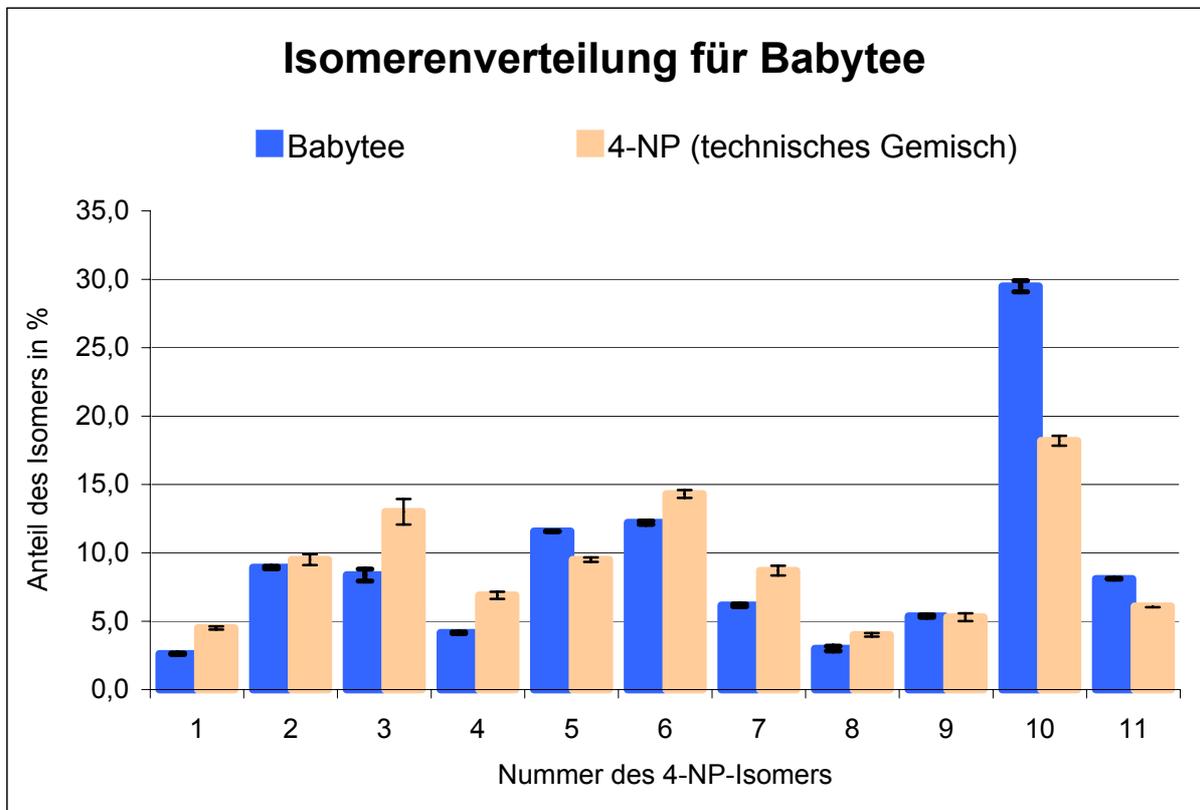


Abbildung 114: 4-NP-Isomerenverteilung für Babytee nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

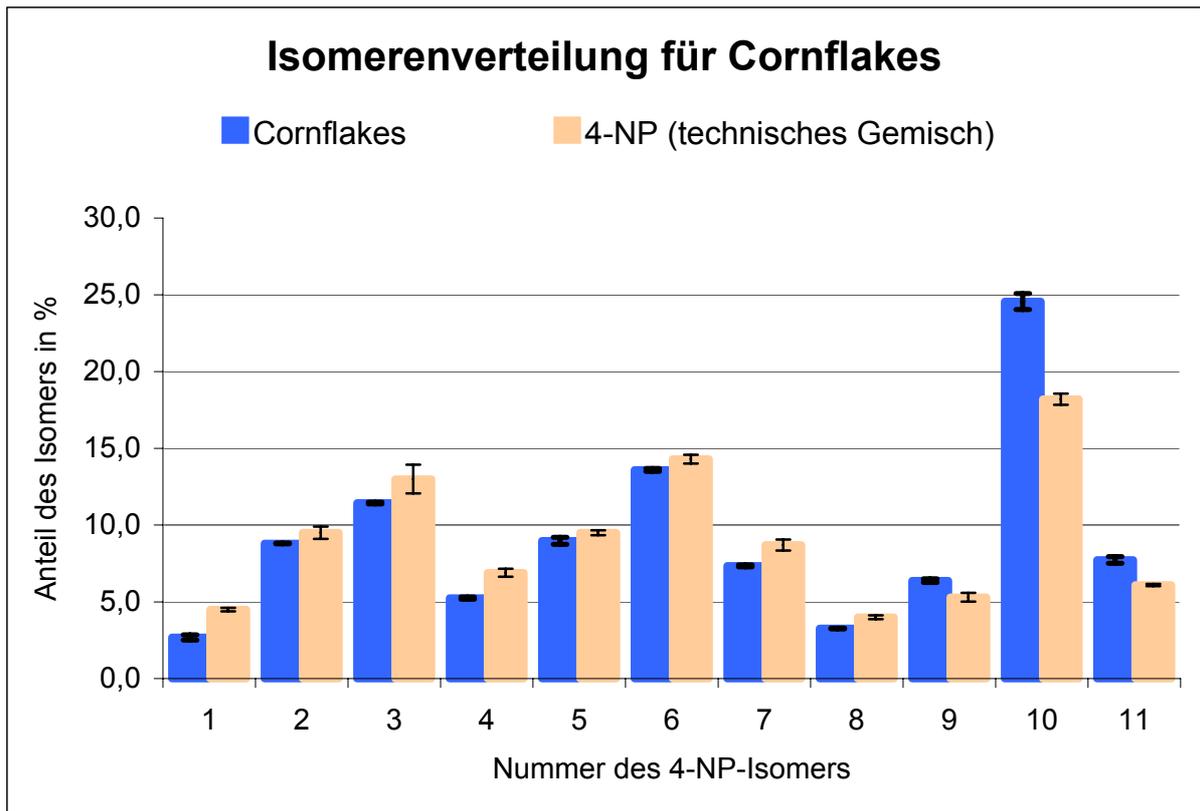


Abbildung 115: 4-NP-Isomerenverteilung für Cornflakes nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

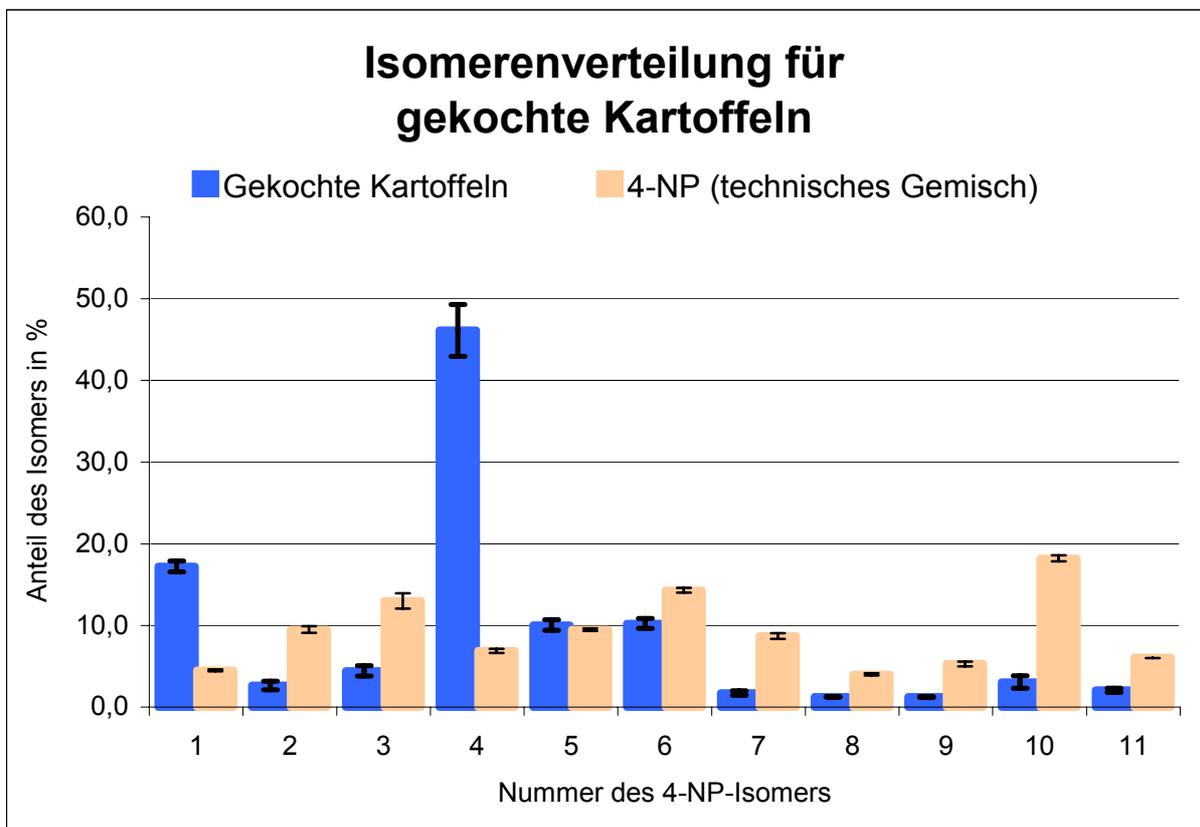


Abbildung 116: 4-NP-Isomerenverteilung für gekochte Kartoffeln nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

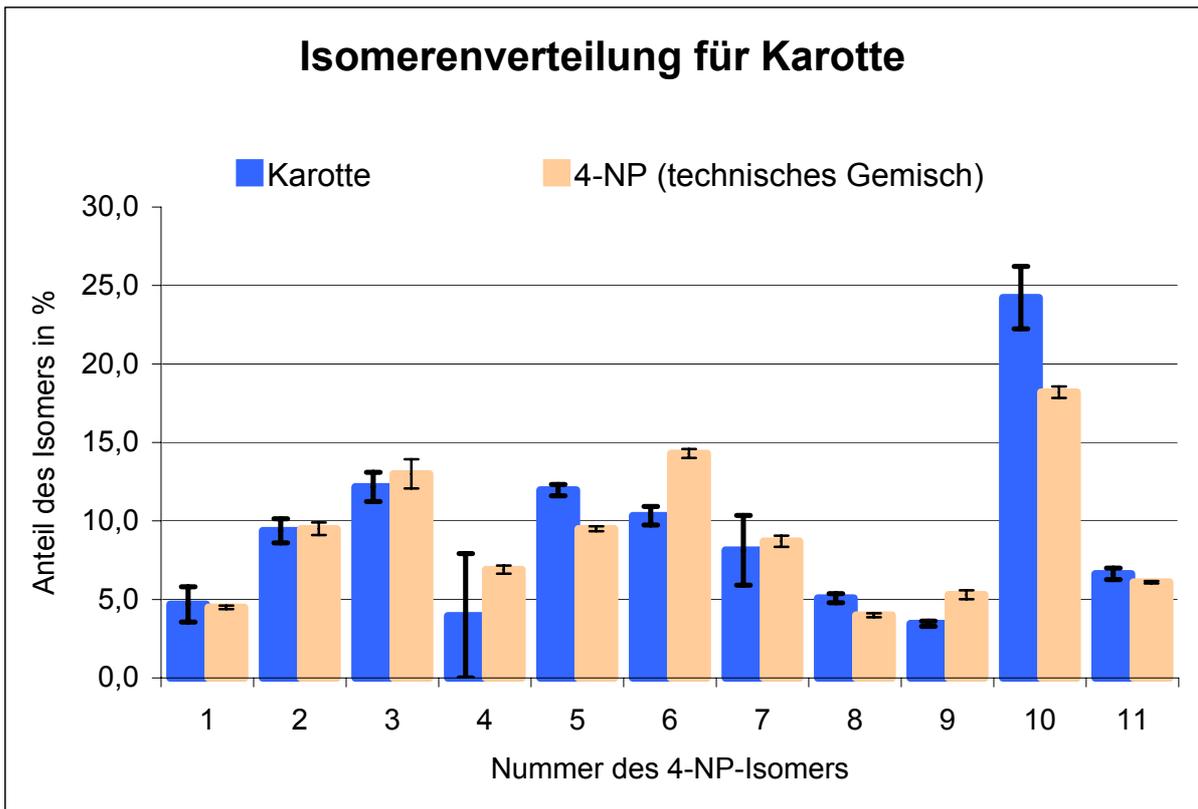


Abbildung 117: 4-NP-Isomerenverteilung für Karotte nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

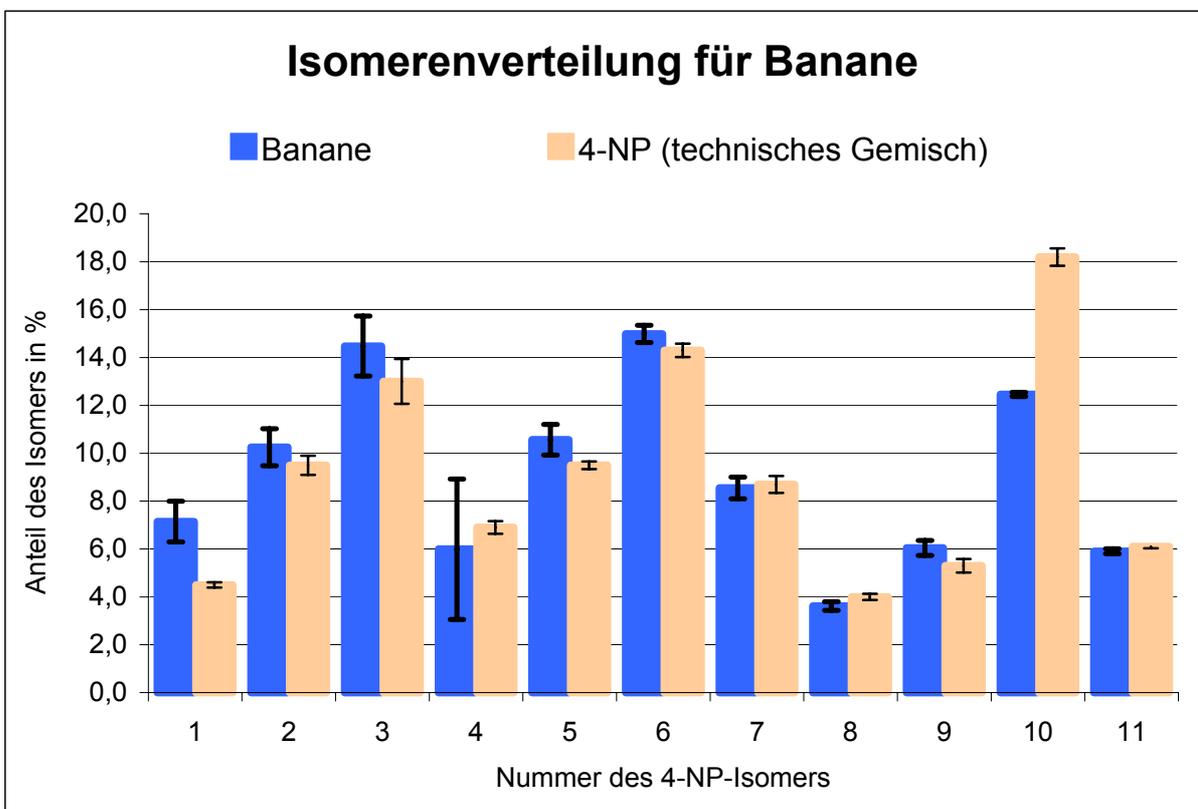


Abbildung 118: 4-NP-Isomerenverteilung für Banane nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

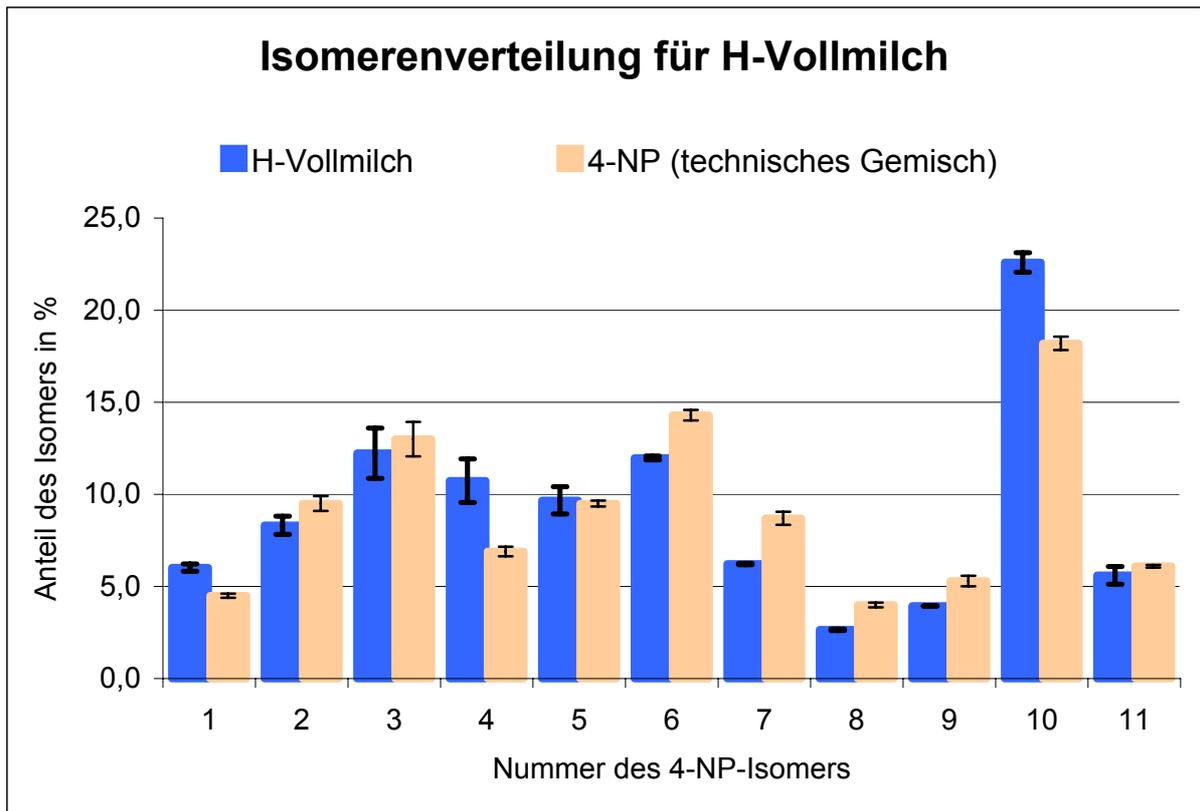


Abbildung 119: 4-NP-Isomerenverteilung für H-Vollmilch nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

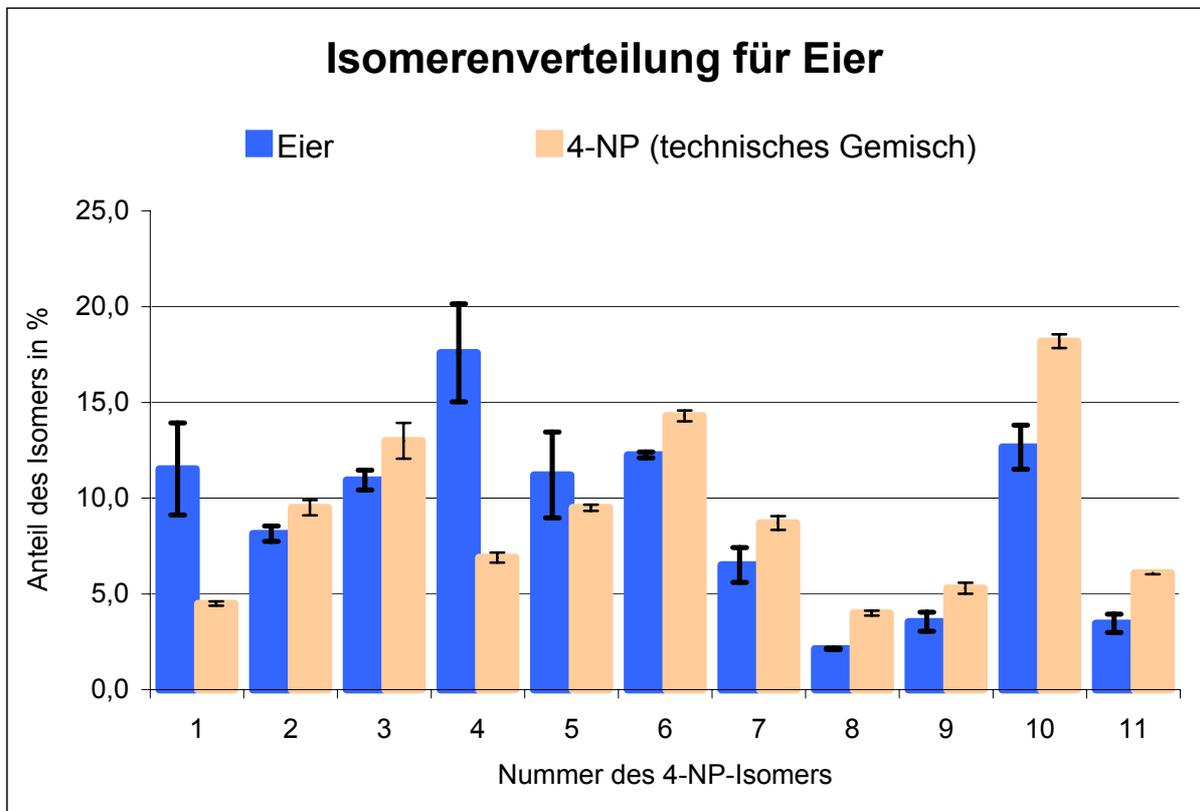


Abbildung 120: 4-NP-Isomerenverteilung für Eier nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

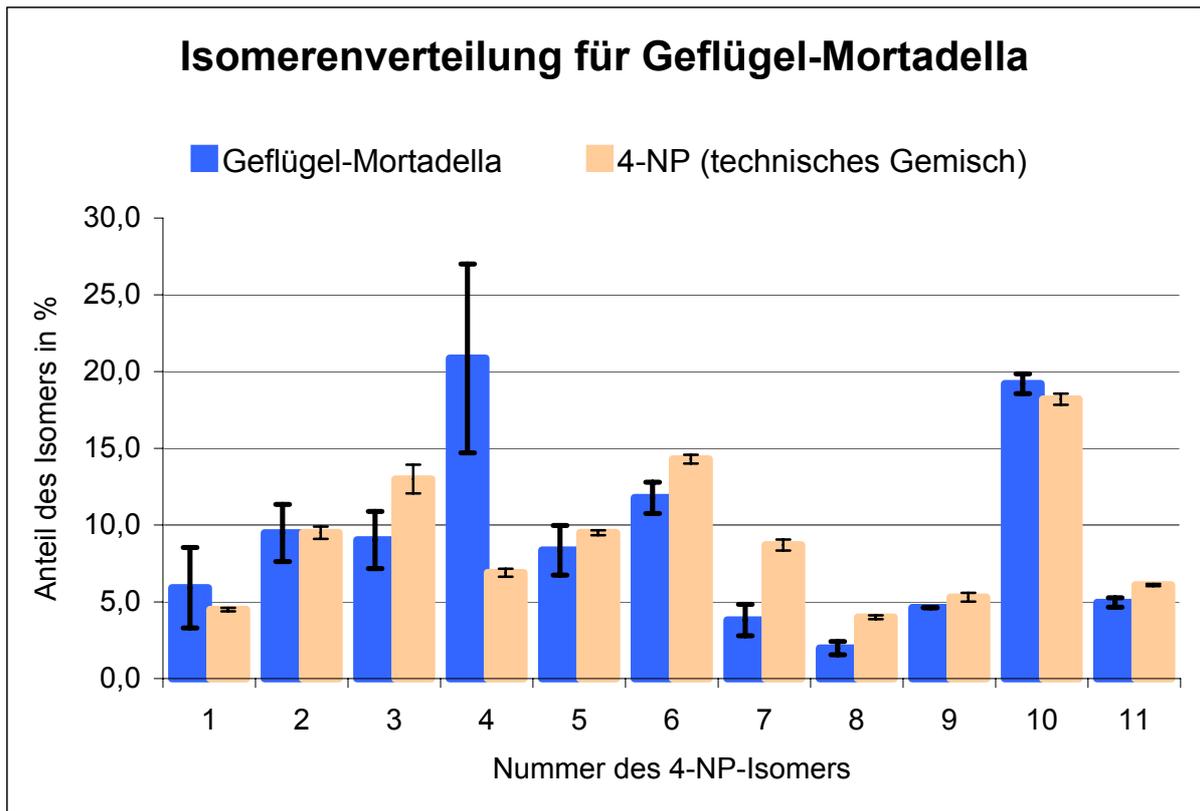


Abbildung 121: 4-NP-Isomerenverteilung für Geflügel-Mortadella nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

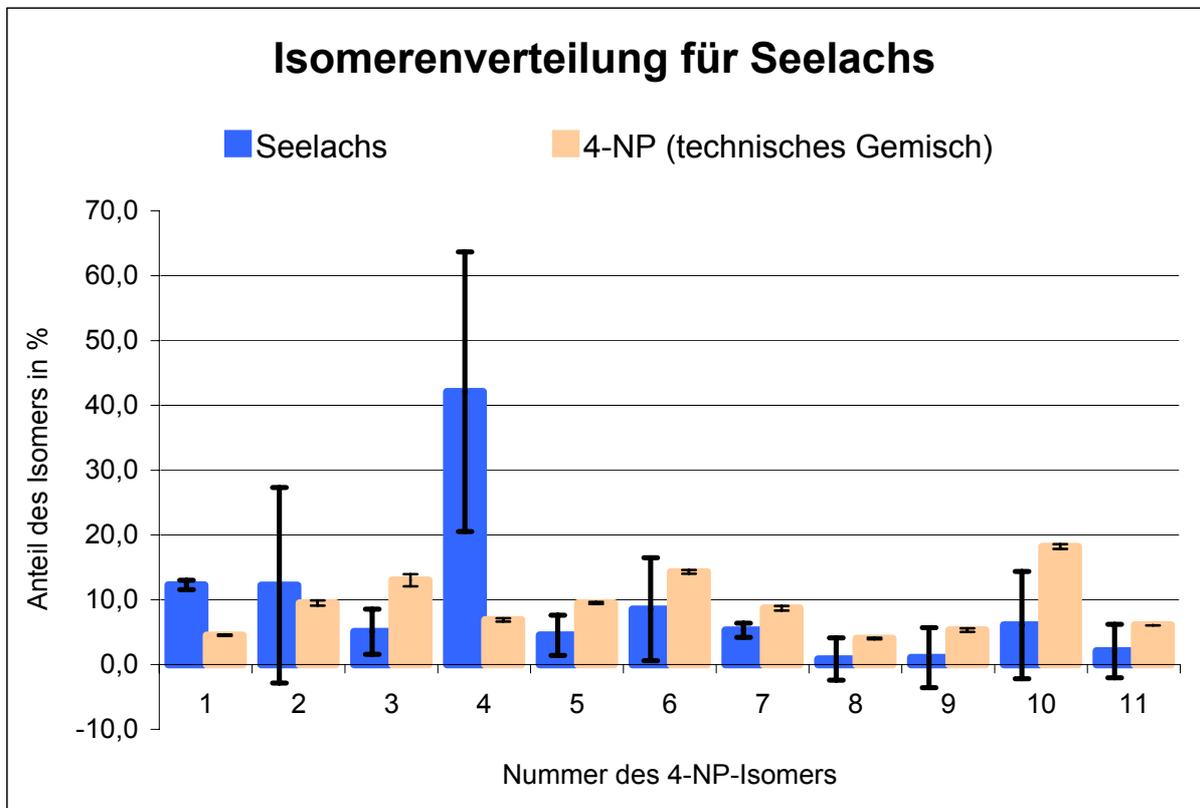


Abbildung 122: 4-NP-Isomerenverteilung für Seelachs nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

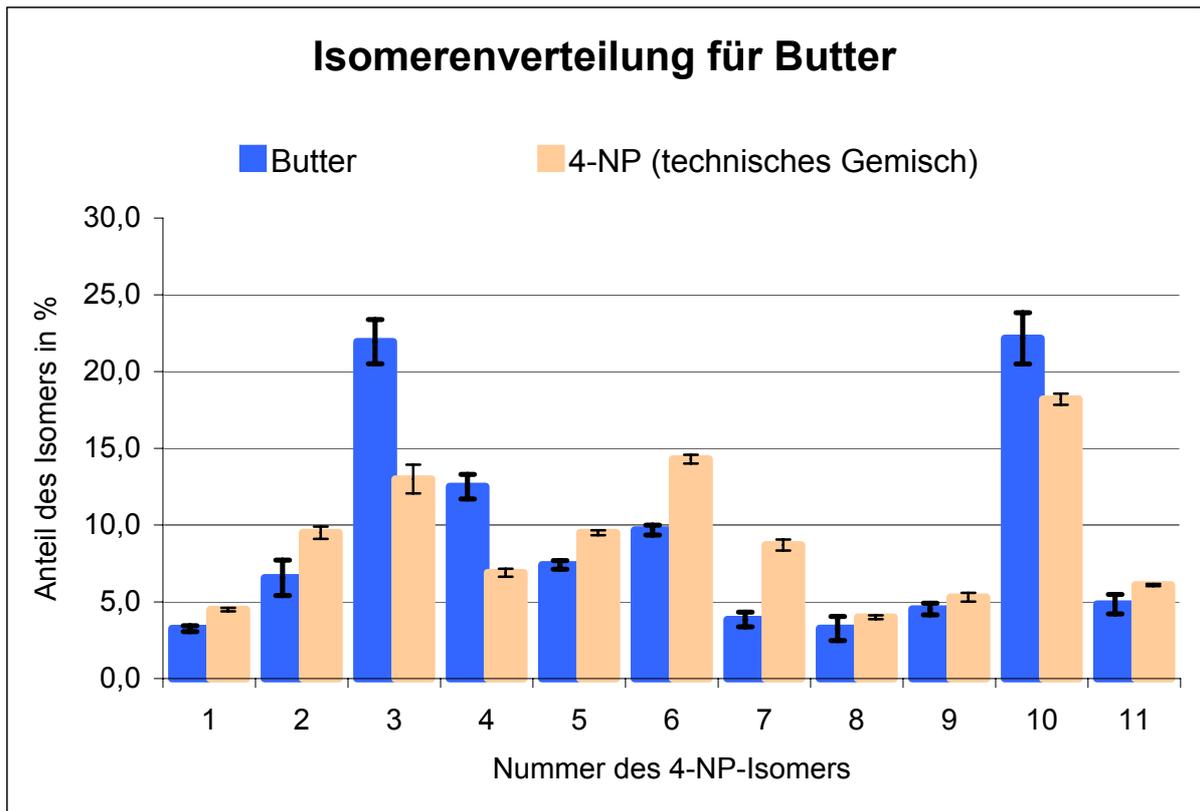


Abbildung 123: 4-NP-Isomerenverteilung für Butter nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

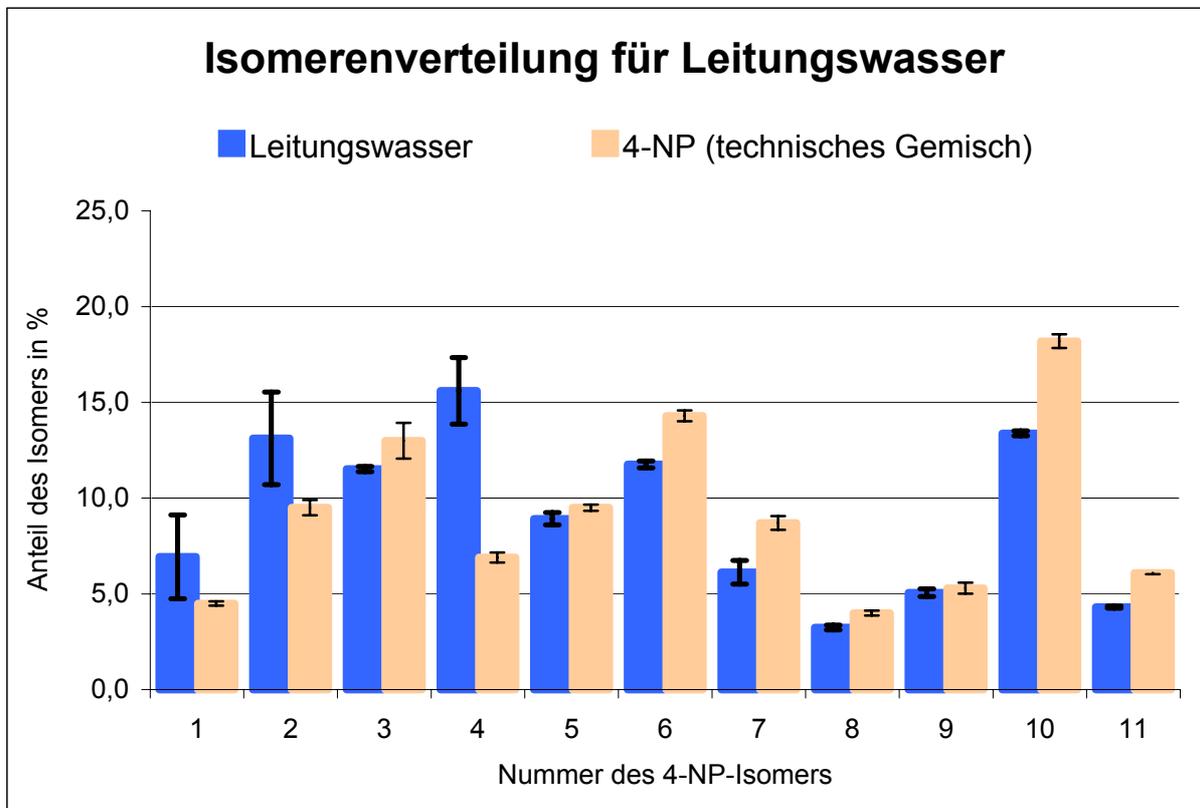


Abbildung 124: 4-NP-Isomerenverteilung für Leitungswasser nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Tabelle 91: 4-NP-Isomerenverteilung für Muttermilch 1 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Muttermilch 1

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	2,6	0,4	2,2	11,2	1,5	0,4	1,1	5,9	8,6	2,7	4,5	0,1	4,1	
2	2,4	0,7	1,7	8,6	2,3	0,5	1,8	9,5	9,0	0,5	9,5	0,4	0,5	
3	2,5	1,0	1,5	7,5	2,9	0,8	2,1	11,2	9,4	1,8	13,0	0,9	3,6	
4	4,5	0,6	3,9	19,8	2,5	0,5	2,0	10,6	15,2	4,6	6,9	0,3	8,3	
5	3,1	0,8	2,2	11,3	2,9	0,7	2,2	11,9	11,6	0,3	9,5	0,2	2,1	
6	2,6	0,9	1,7	8,6	3,1	0,7	2,4	12,7	10,6	2,1	14,3	0,3	3,7	
7	1,6	0,5	1,1	5,6	1,6	0,4	1,2	6,6	6,1	0,5	8,7	0,4	2,6	
8	0,7	0,3	0,5	2,4	0,7	0,2	0,5	2,6	2,5	0,1	4,0	0,1	1,5	
9	1,5	0,3	1,1	5,8	1,3	0,3	1,0	5,3	5,5	0,3	5,3	0,3	0,2	
10	4,1	1,2	2,9	14,7	4,6	1,2	3,4	18,3	16,5	1,8	18,2	0,4	1,7	
11	1,3	0,4	0,9	4,5	1,3	0,3	1,0	5,5	5,0	0,5	6,1	0,1	1,1	
Summe:	26,8	7,2	19,6	100,0	24,6	6,1	18,5	100,0	100,0		100,0		29,4	

Tabelle 92: 4-NP-Isomerenverteilung für Muttermilch 2 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Muttermilch 2

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	0,6	0,3	0,3	7,9	0,8	0,1	0,7	9,9	8,9	1,0	4,5	0,1	4,4	
2	0,5	0,3	0,2	6,3	0,7	0,2	0,6	8,2	7,2	0,9	9,5	0,4	2,3	
3	0,9	0,4	0,5	15,4	1,1	0,3	0,9	12,9	14,1	1,3	13,0	0,9	1,1	
4	0,6	0,3	0,2	7,1	0,9	0,2	0,8	11,4	9,2	2,2	6,9	0,3	2,3	
5	0,9	0,4	0,5	14,8	1,1	0,3	0,8	11,6	13,2	1,6	9,5	0,2	3,7	
6	0,9	0,5	0,4	11,8	1,2	0,3	0,9	13,3	12,5	0,8	14,3	0,3	1,8	
7	0,5	0,2	0,2	6,9	0,6	0,1	0,4	6,3	6,6	0,3	8,7	0,4	2,1	
8	0,2	0,1	0,1	3,7	0,3	0,1	0,2	3,1	3,4	0,3	4,0	0,1	0,6	
9	0,3	0,1	0,1	4,0	0,3	0,1	0,2	3,6	3,8	0,2	5,3	0,3	1,5	
10	1,1	0,5	0,6	17,5	1,4	0,3	1,0	15,3	16,4	1,1	18,2	0,4	1,8	
11	0,3	0,1	0,2	4,7	0,4	0,1	0,3	4,3	4,5	0,2	6,1	0,1	1,6	
Summe:	6,8	3,3	3,5	100,0	8,8	2,0	6,8	100,0	100,0		100,0		23,2	

Tabelle 93: 4-NP-Isomerenverteilung für Säuglingsanfangsnahrung nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Säuglingsanfangsnahrung

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	11,2	0,5	10,7	7,6	19,7	1,0	18,7	9,1	8,3	0,7	4,5	0,1	3,8	
2	11,8	0,6	11,2	8,0	16,7	0,5	16,2	7,8	7,9	0,1	9,5	0,4	1,6	
3	33,0	0,9	32,1	22,9	32,5	0,7	31,8	15,4	19,1	3,8	13,0	0,9	6,1	
4	17,9	0,7	17,2	12,2	36,9	1,4	35,5	17,2	14,7	2,5	6,9	0,3	7,8	
5	11,9	0,6	11,3	8,1	18,4	0,5	17,8	8,6	8,3	0,3	9,5	0,2	1,2	
6	16,7	0,9	15,8	11,3	24,6	0,8	23,8	11,5	11,4	0,1	14,3	0,3	2,9	
7	7,9	0,5	7,4	5,3	13,6	0,8	12,8	6,2	5,7	0,5	8,7	0,4	3,0	
8	3,6	0,2	3,4	2,4	5,2	0,2	5,1	2,4	2,4	0,0	4,0	0,1	1,6	
9	5,0	0,3	4,7	3,3	7,3	0,2	7,1	3,4	3,4	0,0	5,3	0,3	1,9	
10	21,1	1,0	20,1	14,3	29,3	1,0	28,3	13,7	14,0	0,3	18,2	0,4	4,2	
11	6,7	0,3	6,4	4,6	10,1	0,3	9,8	4,7	4,6	0,1	6,1	0,1	1,5	
Summe:	146,6	6,4	140,3	100,0	214,2	7,4	206,9	100,0	100,0		100,0		35,5	

Tabelle 94: 4-NP-Isomerenverteilung für Folgemilchnahrung nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Folgemilchnahrung

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	13,0	0,4	12,5	5,1	14,0	0,5	13,5	7,0	6,0	0,9	4,5	0,1	1,5	
2	23,6	0,9	22,8	9,2	17,9	0,9	17,0	8,8	9,0	0,2	9,5	0,4	0,5	
3	34,1	1,2	32,9	13,3	23,7	1,3	22,4	11,6	12,5	0,9	13,0	0,9	0,5	
4	23,9	0,5	23,4	9,5	26,6	0,7	25,9	13,4	11,4	1,9	6,9	0,3	4,5	
5	28,8	0,9	27,9	11,3	22,0	0,9	21,0	10,9	11,1	0,2	9,5	0,2	1,6	
6	32,2	1,0	31,3	12,7	24,5	1,1	23,4	12,1	12,4	0,3	14,3	0,3	1,9	
7	18,3	0,6	17,7	7,2	13,2	0,6	12,6	6,5	6,9	0,3	8,7	0,4	1,8	
8	7,3	0,3	7,0	2,8	5,3	0,3	5,0	2,6	2,7	0,1	4,0	0,1	1,3	
9	11,4	0,3	11,1	4,5	8,3	0,4	8,0	4,1	4,3	0,2	5,3	0,3	1,0	
10	48,5	1,5	47,0	19,1	36,2	1,5	34,7	18,0	18,5	0,6	18,2	0,4	0,3	
11	13,4	0,5	13,0	5,3	10,1	0,4	9,6	5,0	5,1	0,1	6,1	0,1	1,0	
Summe:	254,5	8,0	246,5	100,0	201,7	8,6	193,1	100,0	100,0		100,0		16,0	

Tabelle 95: 4-NP-Isomerenverteilung für Reis-Gemüsecreme mit Huhn nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Reis-Gemüsecreme mit Huhn

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	0,6	0,0	0,6	5,3	1,2	0,6	0,6	5,7	5,5	0,2	4,5	0,1	1,0	
2	1,0	0,2	0,8	7,3	1,2	0,4	0,8	7,7	7,5	0,2	9,5	0,4	2,0	
3	3,5	2,0	1,4	12,8	1,5	0,7	0,8	7,4	10,1	2,7	13,0	0,9	2,9	
4	1,5	0,1	1,4	12,9	2,1	0,7	1,4	13,7	13,3	0,4	6,9	0,3	6,4	
5	1,3	0,2	1,2	10,3	1,5	0,5	0,9	9,2	9,7	0,5	9,5	0,2	0,2	
6	1,8	0,2	1,6	14,4	2,0	0,9	1,1	11,2	12,8	1,6	14,3	0,3	1,5	
7	0,8	0,1	0,7	6,2	0,8	0,3	0,5	5,1	5,6	0,6	8,7	0,4	3,1	
8	0,4	0,1	0,3	2,8	0,4	0,1	0,2	2,3	2,5	0,2	4,0	0,1	1,5	
9	1,0	0,1	0,9	7,9	0,7	0,3	0,4	3,9	5,9	2,0	5,3	0,3	0,6	
10	2,2	0,5	1,7	15,5	3,8	0,9	2,9	28,3	21,9	6,4	18,2	0,4	3,7	
11	0,7	0,1	0,5	4,8	1,0	0,4	0,6	5,6	5,2	0,4	6,1	0,1	0,9	
Summe:	14,8	3,6	11,2	100,0	16,1	5,9	10,2	100,0	100,0		100,0		23,9	

Tabelle 96: 4-NP-Isomerenverteilung für Frühkarotte nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Frühkarotte

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	1,0	0,5	0,4	17,8	0,7	0,5	0,2	7,1	12,4	5,3	4,5	0,1	7,9	
2	0,2	0,4	-0,2	-8,4	0,1	0,3	-0,1	-5,2	-6,8	1,6	9,5	0,4	16,3	
3	0,6	0,6	0,0	1,1	0,6	0,4	0,2	8,6	4,9	3,8	13,0	0,9	8,1	
4	2,6	1,1	1,5	60,1	2,0	1,2	0,9	32,3	46,2	13,9	6,9	0,3	39,3	
5	0,6	0,5	0,2	7,1	0,8	0,3	0,4	16,0	11,6	4,5	9,5	0,2	2,1	
6	0,7	0,6	0,0	1,3	0,8	0,6	0,2	6,4	3,9	2,5	14,3	0,3	10,4	
7	0,2	0,3	-0,1	-4,0	0,2	0,2	0,0	-1,0	-2,5	1,5	8,7	0,4	11,2	
8	0,7	0,1	0,6	23,0	0,9	0,1	0,8	31,2	27,1	4,1	4,0	0,1	23,1	
9	0,3	0,2	0,1	5,6	0,3	0,2	0,1	4,4	5,0	0,6	5,3	0,3	0,3	
10	0,5	0,7	-0,2	-8,5	0,4	0,5	-0,1	-3,9	-6,2	2,3	18,2	0,4	24,4	
11	0,3	0,2	0,1	4,8	0,3	0,1	0,1	4,0	4,4	0,4	6,1	0,1	1,7	
Summe:	7,7	5,2	2,4	100,0	7,1	4,4	2,7	100,0	100,0		100,0		144,8	

Tabelle 97: 4-NP-Isomerenverteilung für Schmelzflocken nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Schmelzflocken

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	10,3	1,7	8,6	5,4	14,1	1,0	13,0	5,6	5,5	0,1	4,5	0,1	1,0	
2	15,1	2,3	12,8	8,1	20,5	1,4	19,1	8,2	8,1	0,1	9,5	0,4	1,4	
3	24,2	3,3	20,9	13,2	32,5	2,1	30,5	13,1	13,1	0,1	13,0	0,9	0,1	
4	19,9	3,0	16,8	10,6	27,8	1,8	26,0	11,2	10,9	0,3	6,9	0,3	4,0	
5	17,4	2,5	14,9	9,4	23,5	1,6	21,9	9,4	9,4	0,0	9,5	0,2	0,1	
6	27,5	4,2	23,3	14,7	36,6	2,4	34,2	14,7	14,7	0,0	14,3	0,3	0,4	
7	15,1	2,4	12,7	8,0	20,4	1,4	19,0	8,1	8,1	0,1	8,7	0,4	0,6	
8	6,7	1,1	5,6	3,5	8,9	0,6	8,3	3,6	3,6	0,0	4,0	0,1	0,4	
9	9,0	1,4	7,6	4,8	11,4	0,8	10,7	4,6	4,7	0,1	5,3	0,3	0,6	
10	29,8	4,6	25,1	15,9	38,2	2,6	35,6	15,3	15,6	0,3	18,2	0,4	2,6	
11	12,0	1,9	10,0	6,3	15,7	1,0	14,6	6,3	6,3	0,0	6,1	0,1	0,2	
Summe:	186,7	28,5	158,2	100,0	249,5	16,6	233,0	100,0	100,0		100,0		11,5	

Tabelle 98: 4-NP-Isomerenverteilung für Milchfertigbrei mit Grieß nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Milchfertigbrei mit Grieß

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	5,7	0,6	5,1	4,7	4,5	0,5	3,9	3,9	4,3	0,4	4,5	0,1	0,2	
2	12,1	1,3	10,8	9,8	10,8	1,0	9,8	9,9	9,8	0,0	9,5	0,4	0,3	
3	17,1	2,0	15,1	13,8	15,9	1,5	14,4	14,5	14,1	0,3	13,0	0,9	1,1	
4	12,6	1,0	11,6	10,6	10,8	0,9	9,9	9,9	10,3	0,3	6,9	0,3	3,4	
5	12,3	1,4	10,8	9,9	10,8	1,1	9,7	9,7	9,8	0,1	9,5	0,2	0,3	
6	15,5	1,8	13,7	12,5	14,1	1,3	12,8	12,9	12,7	0,2	14,3	0,3	1,6	
7	8,6	1,1	7,5	6,8	8,2	0,8	7,4	7,4	7,1	0,3	8,7	0,4	1,6	
8	3,4	0,4	3,1	2,8	2,9	0,3	2,6	2,6	2,7	0,1	4,0	0,1	1,3	
9	5,9	0,6	5,3	4,9	5,0	0,4	4,7	4,7	4,8	0,1	5,3	0,3	0,5	
10	22,6	2,2	20,4	18,6	20,4	1,6	18,8	18,9	18,7	0,1	18,2	0,4	0,5	
11	6,9	0,6	6,2	5,7	6,0	0,4	5,6	5,6	5,6	0,1	6,1	0,1	0,5	
Summe:	122,7	13,0	109,7	100,0	109,5	9,9	99,6	100,0	100,0		100,0		11,4	

Tabelle 99: 4-NP-Isomerenverteilung für Baby-Apfel nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Baby-Apfel

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	0,7	0,0	0,6	6,1	1,2	0,8	0,5	4,7	5,4	0,7	4,5	0,1	0,9	
2	0,6	0,1	0,6	5,7	0,7	0,1	0,7	6,7	6,2	0,5	9,5	0,4	3,3	
3	2,2	0,1	2,1	21,0	2,0	0,1	1,9	18,7	19,8	1,1	13,0	0,9	6,8	
4	0,9	0,1	0,7	7,1	1,6	2,5	0,0	0,0	3,5	3,5	6,9	0,3	3,4	
5	1,3	0,2	1,1	11,0	1,5	0,3	1,2	11,8	11,4	0,4	9,5	0,2	1,9	
6	1,4	0,1	1,3	12,9	1,7	0,3	1,3	12,7	12,8	0,1	14,3	0,3	1,5	
7	0,7	0,0	0,6	6,1	0,9	0,1	0,9	8,3	7,2	1,1	8,7	0,4	1,5	
8	0,3	0,0	0,3	3,2	0,4	0,0	0,4	3,8	3,5	0,3	4,0	0,1	0,5	
9	0,6	0,0	0,5	5,2	0,7	0,0	0,7	6,5	5,9	0,7	5,3	0,3	0,6	
10	1,7	0,1	1,6	15,4	2,1	0,1	2,0	19,0	17,2	1,8	18,2	0,4	1,0	
11	0,7	0,0	0,7	6,4	0,8	0,0	0,8	7,7	7,0	0,7	6,1	0,1	0,9	
Summe:	11,0	0,8	10,2	100,0	13,7	4,3	10,3	100,0	100,0		100,0		22,2	

Tabelle 100: 4-NP-Isomerenverteilung für Apfel-Banane mit Quark nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Apfel-Banane mit Quark

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	2,5	0,3	2,2	4,6	1,9	0,2	1,7	4,9	4,7	0,1	4,5	0,1	0,2	
2	4,8	0,3	4,5	9,3	3,4	0,3	3,0	8,8	9,0	0,3	9,5	0,4	0,5	
3	6,1	0,4	5,7	11,8	4,2	0,5	3,7	10,7	11,2	0,5	13,0	0,9	1,8	
4	4,9	0,5	4,4	9,2	4,0	0,4	3,6	10,5	9,8	0,6	6,9	0,3	2,9	
5	5,9	0,4	5,6	11,5	4,3	0,4	3,9	11,3	11,4	0,1	9,5	0,2	1,9	
6	6,6	0,4	6,2	12,8	4,9	0,5	4,4	12,9	12,8	0,0	14,3	0,3	1,5	
7	3,5	0,2	3,3	6,9	2,5	0,2	2,2	6,5	6,7	0,2	8,7	0,4	2,0	
8	1,6	0,1	1,5	3,1	1,1	0,1	1,0	2,9	3,0	0,1	4,0	0,1	1,0	
9	2,4	0,1	2,3	4,8	1,9	0,1	1,7	5,0	4,9	0,1	5,3	0,3	0,4	
10	10,3	0,5	9,8	20,2	7,7	0,5	7,2	20,8	20,5	0,3	18,2	0,4	2,3	
11	2,9	0,1	2,8	5,8	2,2	0,2	2,0	5,9	5,8	0,0	6,1	0,1	0,3	
Summe:	51,7	3,3	48,3	100,0	37,9	3,3	34,5	100,0	100,0		100,0		14,8	

Tabelle 101: 4-NP-Isomerenverteilung für Apfel-Getreide Brei nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Apfel-Getreide Brei

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	1,0	0,9	0,1	1,1	1,9	0,4	1,5	11,8	6,5	5,3	4,5	0,1	2,0	
2	2,4	0,4	2,1	18,9	2,7	0,5	2,2	17,9	18,4	0,5	9,5	0,4	8,9	
3	2,0	0,5	1,5	13,7	1,8	0,6	1,2	9,6	11,7	2,0	13,0	0,9	1,3	
4	1,4	1,7	0,0	0,0	2,3	0,7	1,6	13,0	6,5	6,5	6,9	0,3	0,4	
5	1,6	0,5	1,1	10,1	1,4	0,6	0,9	7,1	8,6	1,5	9,5	0,2	0,9	
6	2,1	0,6	1,5	13,9	2,2	0,6	1,6	12,7	13,3	0,6	14,3	0,3	1,0	
7	1,2	0,2	1,0	9,3	1,0	0,3	0,7	5,7	7,5	1,8	8,7	0,4	1,2	
8	0,5	0,1	0,4	3,5	0,4	0,2	0,3	2,1	2,8	0,7	4,0	0,1	1,2	
9	0,6	0,2	0,4	4,1	0,6	0,2	0,4	3,5	3,8	0,3	5,3	0,3	1,5	
10	2,9	0,7	2,2	20,3	2,4	0,9	1,5	12,1	16,2	4,1	18,2	0,4	2,0	
11	0,7	0,2	0,6	5,1	0,7	0,2	0,5	4,3	4,7	0,4	6,1	0,1	1,4	
Summe:	16,4	5,8	10,9	100,0	17,4	5,1	12,3	100,0	100,0		100,0		21,8	

Tabelle 102: 4-NP-Isomerenverteilung für Zwieback nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Zwieback

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	30,3	0,9	29,4	6,9	32,9	0,7	32,3	7,0	6,9	0,1	4,5	0,1	2,4	
2	41,8	0,5	41,3	9,7	44,7	0,8	43,9	9,5	9,6	0,1	9,5	0,4	0,1	
3	63,0	0,8	62,2	14,5	67,4	1,3	66,1	14,3	14,4	0,1	13,0	0,9	1,4	
4	30,5	1,6	28,9	6,8	32,9	1,0	32,0	6,9	6,9	0,1	6,9	0,3	0,0	
5	46,0	0,7	45,3	10,6	50,5	0,9	49,6	10,8	10,7	0,1	9,5	0,2	1,2	
6	59,9	0,9	59,0	13,8	63,9	1,2	62,8	13,6	13,7	0,1	14,3	0,3	0,6	
7	35,2	0,4	34,8	8,1	38,1	0,6	37,6	8,1	8,1	0,0	8,7	0,4	0,6	
8	17,5	0,2	17,3	4,1	19,4	0,2	19,2	4,2	4,1	0,1	4,0	0,1	0,1	
9	24,3	0,3	24,1	5,6	26,0	0,3	25,7	5,6	5,6	0,0	5,3	0,3	0,3	
10	62,9	1,2	61,7	14,4	68,0	1,3	66,7	14,5	14,5	0,0	18,2	0,4	3,7	
11	23,6	0,3	23,3	5,4	25,7	0,4	25,3	5,5	5,5	0,0	6,1	0,1	0,6	
Summe:	434,9	7,6	427,3	100,0	469,7	8,7	461,0	100,0	100,0		100,0		11,2	

Tabelle 103: 4-NP-Isomerenverteilung für 'Milder Apfelsaft' nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Milder Apfelsaft

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	2,2	0,3	1,8	4,0	2,9	0,4	2,5	4,8	4,4	0,4	4,5	0,1	0,1	
2	6,3	0,5	5,8	12,9	8,7	0,4	8,3	16,2	14,5	1,7	9,5	0,4	5,0	
3	5,2	0,6	4,6	10,3	5,5	0,5	5,0	9,7	10,0	0,3	13,0	0,9	3,0	
4	4,0	0,7	3,3	7,4	3,9	0,8	3,1	6,0	6,7	0,7	6,9	0,3	0,2	
5	4,9	0,5	4,4	9,8	5,4	0,4	5,0	9,8	9,8	0,0	9,5	0,2	0,3	
6	5,3	0,5	4,8	10,6	5,6	0,5	5,1	10,0	10,3	0,3	14,3	0,3	4,0	
7	4,0	0,4	3,6	7,9	4,3	0,3	4,0	7,8	7,9	0,1	8,7	0,4	0,8	
8	1,7	0,2	1,5	3,3	1,8	0,1	1,7	3,3	3,3	0,0	4,0	0,1	0,7	
9	2,7	0,2	2,5	5,5	2,9	0,2	2,7	5,3	5,4	0,1	5,3	0,3	0,1	
10	10,3	0,8	9,5	21,1	11,1	0,7	10,4	20,2	20,6	0,4	18,2	0,4	2,4	
11	3,5	0,2	3,2	7,2	3,7	0,2	3,5	6,9	7,0	0,2	6,1	0,1	0,9	
Summe:	50,0	4,9	45,1	100,0	55,9	4,6	51,3	100,0	100,0		100,0		17,6	

Tabelle 104: 4-NP-Isomerenverteilung für Babytee nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Babytee

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	9,7	0,1	9,7	2,6	8,4	0,2	8,2	2,7	2,6	0,1	4,5	0,1	1,9	
2	33,5	0,1	33,4	8,8	27,7	0,1	27,6	9,0	8,9	0,1	9,5	0,4	0,6	
3	38,5	8,5	30,0	7,9	31,4	4,5	27,0	8,8	8,4	0,4	13,0	0,9	4,6	
4	16,1	0,2	15,9	4,2	13,2	0,7	12,5	4,1	4,1	0,1	6,9	0,3	2,8	
5	44,1	0,3	43,8	11,6	35,6	0,2	35,3	11,6	11,6	0,0	9,5	0,2	2,1	
6	46,8	0,2	46,6	12,3	37,2	0,3	36,9	12,1	12,2	0,1	14,3	0,3	2,1	
7	23,1	0,2	23,0	6,1	19,2	0,1	19,1	6,3	6,2	0,1	8,7	0,4	2,5	
8	12,1	0,1	12,0	3,2	8,7	0,0	8,6	2,8	3,0	0,2	4,0	0,1	1,0	
9	20,3	0,3	20,0	5,3	16,8	0,1	16,7	5,5	5,4	0,1	5,3	0,3	0,1	
10	115,6	2,6	113,0	29,9	89,7	0,8	88,9	29,1	29,5	0,4	18,2	0,4	11,3	
11	30,7	0,2	30,5	8,1	24,9	0,1	24,9	8,1	8,1	0,0	6,1	0,1	2,0	
Summe:	390,5	12,7	377,8	100,0	312,7	7,0	305,7	100,0	100,0		100,0		30,9	

Tabelle 105: 4-NP-Isomerenverteilung für Cornflakes nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Cornflakes

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	3,2	0,6	2,6	2,5	4,0	0,6	3,4	2,9	2,7	0,2	4,5	0,1	1,8	
2	10,1	1,1	9,0	8,8	11,5	1,0	10,5	8,8	8,8	0,0	9,5	0,4	0,7	
3	13,1	1,4	11,7	11,4	15,2	1,4	13,7	11,5	11,4	0,1	13,0	0,9	1,6	
4	6,4	1,1	5,3	5,2	7,2	0,9	6,3	5,3	5,2	0,1	6,9	0,3	1,7	
5	10,0	1,0	9,0	8,7	12,0	1,0	11,0	9,2	9,0	0,2	9,5	0,2	0,5	
6	15,2	1,4	13,9	13,5	17,7	1,4	16,3	13,7	13,6	0,1	14,3	0,3	0,7	
7	8,4	0,8	7,6	7,4	9,4	0,7	8,7	7,3	7,3	0,1	8,7	0,4	1,4	
8	3,6	0,3	3,3	3,2	4,3	0,3	3,9	3,3	3,3	0,0	4,0	0,1	0,7	
9	6,8	0,4	6,4	6,3	8,2	0,4	7,8	6,5	6,4	0,1	5,3	0,3	1,1	
10	27,6	1,8	25,8	25,1	30,3	1,6	28,7	24,0	24,6	0,5	18,2	0,4	6,4	
11	8,6	0,4	8,2	7,9	9,4	0,5	9,0	7,5	7,7	0,2	6,1	0,1	1,6	
Summe:	113,0	10,2	102,8	100,0	129,2	9,8	119,4	100,0	100,0		100,0		18,1	

Tabelle 106: 4-NP-Isomerenverteilung für gekochte Kartoffeln nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

gekochte Kartoffeln

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	1,0	0,2	0,9	17,9	1,0	0,1	0,9	16,6	17,2	0,7	4,5	0,1	12,7	
2	0,4	0,2	0,2	3,2	0,4	0,2	0,1	2,1	2,6	0,5	9,5	0,4	6,9	
3	0,5	0,3	0,2	5,1	0,5	0,3	0,2	3,8	4,4	0,6	13,0	0,9	8,6	
4	2,4	0,3	2,1	42,9	2,8	0,3	2,5	49,3	46,1	3,2	6,9	0,3	39,2	
5	0,8	0,4	0,5	9,4	0,9	0,4	0,5	10,7	10,0	0,6	9,5	0,2	0,5	
6	0,9	0,4	0,5	10,8	0,8	0,3	0,5	9,6	10,2	0,6	14,3	0,3	4,1	
7	0,2	0,1	0,1	2,0	0,2	0,1	0,1	1,4	1,7	0,3	8,7	0,4	7,0	
8	0,1	0,1	0,1	1,3	0,1	0,1	0,1	1,2	1,3	0,0	4,0	0,1	2,7	
9	0,2	0,1	0,1	1,3	0,2	0,1	0,1	1,2	1,2	0,1	5,3	0,3	4,1	
10	0,6	0,4	0,2	3,8	0,5	0,4	0,1	2,3	3,1	0,8	18,2	0,4	15,1	
11	0,3	0,1	0,1	2,3	0,2	0,1	0,1	1,8	2,1	0,3	6,1	0,1	4,0	
Summe:	7,5	2,6	4,9	100,0	7,6	2,4	5,1	100,0	100,0		100,0		105,0	

Tabelle 107: 4-NP-Isomerenverteilung für Karotte nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Karotte

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	0,7	0,1	0,6	5,8	0,5	0,2	0,3	3,6	4,7	1,1	4,5	0,1	0,2	
2	1,3	0,3	1,0	10,1	1,1	0,4	0,7	8,6	9,4	0,8	9,5	0,4	0,1	
3	2,0	0,9	1,1	11,2	1,8	0,8	1,0	13,1	12,2	0,9	13,0	0,9	0,8	
4	1,0	0,3	0,8	7,9	0,8	0,9	0,0	0,0	4,0	4,0	6,9	0,3	2,9	
5	1,7	0,5	1,2	12,3	1,3	0,4	0,9	11,6	12,0	0,4	9,5	0,2	2,5	
6	1,6	0,7	1,0	9,7	1,5	0,7	0,9	10,9	10,3	0,6	14,3	0,3	4,0	
7	0,8	0,2	0,6	5,9	1,0	0,2	0,8	10,4	8,1	2,2	8,7	0,4	0,6	
8	0,6	0,1	0,5	4,8	0,5	0,1	0,4	5,4	5,1	0,3	4,0	0,1	1,1	
9	0,5	0,2	0,4	3,6	0,4	0,2	0,3	3,3	3,5	0,2	5,3	0,3	1,8	
10	3,1	1,0	2,2	22,2	2,7	0,7	2,0	26,2	24,2	2,0	18,2	0,4	6,0	
11	0,9	0,3	0,6	6,3	0,8	0,2	0,5	7,0	6,6	0,4	6,1	0,1	0,5	
Summe:	14,4	4,5	9,9	100,0	12,5	4,8	7,8	100,0	100,0		100,0		20,6	

Tabelle 108: 4-NP-Isomerenverteilung für Banane nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Banane

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	1,9	0,5	1,3	6,3	2,1	0,1	2,0	8,0	7,1	0,8	4,5	0,1	2,6	
2	2,6	0,3	2,4	11,0	2,6	0,2	2,3	9,5	10,3	0,8	9,5	0,4	0,8	
3	3,7	0,3	3,4	15,7	3,5	0,3	3,2	13,2	14,5	1,3	13,0	0,9	1,5	
4	2,2	1,5	0,7	3,1	2,5	0,3	2,2	8,9	6,0	2,9	6,9	0,3	0,9	
5	2,8	0,4	2,4	11,2	2,8	0,4	2,4	9,9	10,6	0,6	9,5	0,2	1,1	
6	3,8	0,5	3,3	15,3	3,9	0,3	3,6	14,6	15,0	0,4	14,3	0,3	0,7	
7	2,1	0,2	1,9	9,0	2,1	0,1	2,0	8,1	8,6	0,5	8,7	0,4	0,1	
8	0,9	0,1	0,8	3,8	0,9	0,1	0,8	3,4	3,6	0,2	4,0	0,1	0,4	
9	1,5	0,1	1,4	6,4	1,5	0,1	1,4	5,7	6,0	0,3	5,3	0,3	0,7	
10	3,1	0,4	2,6	12,4	3,4	0,4	3,1	12,5	12,5	0,1	18,2	0,4	5,7	
11	1,4	0,1	1,2	5,8	1,6	0,1	1,5	6,0	5,9	0,1	6,1	0,1	0,2	
Summe:	25,8	4,5	21,4	100,0	27,0	2,5	24,5	100,0	100,0		100,0		14,8	

Tabelle 109: 4-NP-Isomerenverteilung für H-Vollmilch nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

H-Vollmilch

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	2,7	0,3	2,4	5,8	3,4	0,7	2,7	6,2	6,0	0,2	4,5	0,1	1,5	
2	3,9	0,7	3,2	7,8	4,3	0,4	3,9	8,8	8,3	0,5	9,5	0,4	1,2	
3	6,5	1,0	5,6	13,6	5,3	0,6	4,8	10,9	12,2	1,4	13,0	0,9	0,8	
4	4,4	0,5	3,9	9,6	6,0	0,8	5,3	11,9	10,7	1,2	6,9	0,3	3,8	
5	5,2	0,9	4,3	10,4	4,4	0,5	3,9	8,9	9,7	0,7	9,5	0,2	0,2	
6	5,8	1,0	4,9	11,9	6,2	0,8	5,3	12,1	12,0	0,1	14,3	0,3	2,3	
7	3,1	0,5	2,5	6,2	3,1	0,3	2,8	6,3	6,2	0,0	8,7	0,4	2,5	
8	1,3	0,3	1,1	2,6	1,3	0,2	1,2	2,7	2,6	0,0	4,0	0,1	1,4	
9	2,0	0,4	1,6	4,0	2,0	0,2	1,7	3,9	4,0	0,0	5,3	0,3	1,3	
10	10,3	1,3	9,0	22,1	11,1	0,9	10,2	23,1	22,6	0,5	18,2	0,4	4,4	
11	2,9	0,4	2,5	6,1	2,5	0,2	2,3	5,1	5,6	0,5	6,1	0,1	0,5	
Summe:	48,2	7,4	40,9	100,0	49,6	5,6	44,0	100,0	100,0		100,0		19,9	

Tabelle 110: 4-NP-Isomerenverteilung für Eier nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Eier

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	7,9	0,2	7,7	13,9	4,6	0,2	4,4	9,1	11,5	2,4	4,5	0,1	7,0	
2	4,5	0,2	4,3	7,7	4,3	0,2	4,1	8,5	8,1	0,4	9,5	0,4	1,4	
3	6,6	0,3	6,3	11,5	5,3	0,3	5,0	10,4	10,9	0,5	13,0	0,9	2,1	
4	11,3	0,3	11,1	20,1	7,5	0,3	7,2	15,0	17,6	2,6	6,9	0,3	10,7	
5	5,3	0,3	4,9	9,0	6,7	0,3	6,4	13,5	11,2	2,2	9,5	0,2	1,7	
6	7,2	0,3	6,8	12,4	6,2	0,4	5,8	12,1	12,3	0,2	14,3	0,3	2,0	
7	3,2	0,2	3,1	5,6	3,7	0,1	3,5	7,4	6,5	0,9	8,7	0,4	2,2	
8	1,3	0,1	1,2	2,2	1,1	0,1	1,0	2,1	2,1	0,0	4,0	0,1	1,9	
9	1,8	0,1	1,7	3,0	2,0	0,1	1,9	4,0	3,5	0,5	5,3	0,3	1,8	
10	6,8	0,4	6,3	11,5	7,0	0,4	6,6	13,8	12,7	1,1	18,2	0,4	5,5	
11	1,8	0,1	1,6	3,0	2,0	0,1	1,9	3,9	3,5	0,5	6,1	0,1	2,6	
Summe:	57,6	2,7	54,9	100,0	50,4	2,6	47,8	100,0	100,0		100,0		38,9	

Tabelle 111: 4-NP-Isomerenverteilung für Geflügel-Mortadella nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Geflügel-Mortadella

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	1,3	0,9	0,4	3,3	1,5	0,6	0,9	8,5	5,9	2,6	4,5	0,1	1,4	
2	2,0	0,7	1,3	11,3	1,9	1,2	0,8	7,6	9,5	1,9	9,5	0,4	0,0	
3	2,1	0,8	1,2	10,9	1,9	1,1	0,7	7,2	9,0	1,9	13,0	0,9	4,0	
4	3,2	1,6	1,7	14,7	3,8	1,0	2,8	27,0	20,9	6,2	6,9	0,3	14,0	
5	1,7	0,6	1,1	10,0	1,4	0,8	0,7	6,7	8,4	1,6	9,5	0,2	1,1	
6	2,3	0,9	1,5	12,8	2,4	1,3	1,1	10,7	11,8	1,0	14,3	0,3	2,5	
7	1,0	0,4	0,6	4,8	0,8	0,5	0,3	2,8	3,8	1,0	8,7	0,4	4,9	
8	0,4	0,2	0,3	2,4	0,4	0,2	0,2	1,6	2,0	0,4	4,0	0,1	2,0	
9	0,7	0,2	0,5	4,6	0,8	0,3	0,5	4,6	4,6	0,0	5,3	0,3	0,7	
10	3,1	0,8	2,3	19,8	3,1	1,2	1,9	18,6	19,2	0,6	18,2	0,4	1,0	
11	0,8	0,2	0,6	5,3	0,8	0,3	0,5	4,7	5,0	0,3	6,1	0,1	1,1	
Summe:	18,7	7,3	11,5	100,0	18,8	8,5	10,2	100,0	100,0		100,0		32,8	

Tabelle 112: 4-NP-Isomerenverteilung für Seelachs nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Seelachs

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	0,3	0,6	-0,4	13,0	0,7	0,5	0,2	11,5	12,3	0,7	4,5	0,1	7,8	
2	0,7	0,6	0,1	-2,9	1,0	0,4	0,5	27,3	12,2	15,1	9,5	0,4	2,7	
3	0,4	0,7	-0,2	8,5	0,5	0,5	0,0	1,6	5,0	3,5	13,0	0,9	8,0	
4	0,8	1,4	-0,6	20,5	2,4	1,1	1,3	63,7	42,1	21,6	6,9	0,3	35,2	
5	0,3	0,5	-0,2	7,6	0,4	0,4	0,0	1,4	4,5	3,1	9,5	0,2	5,0	
6	0,3	0,8	-0,5	16,5	0,6	0,6	0,0	0,6	8,5	7,9	14,3	0,3	5,8	
7	0,3	0,4	-0,2	6,4	0,4	0,3	0,1	4,2	5,3	1,1	8,7	0,4	3,4	
8	0,1	0,2	-0,1	4,1	0,1	0,1	0,0	-2,4	0,8	3,3	4,0	0,1	3,2	
9	0,1	0,3	-0,2	5,7	0,2	0,2	-0,1	-3,6	1,1	4,6	5,3	0,3	4,2	
10	0,5	0,9	-0,4	14,4	0,6	0,7	0,0	-2,2	6,1	8,3	18,2	0,4	12,1	
11	0,1	0,3	-0,2	6,2	0,2	0,2	0,0	-2,0	2,1	4,1	6,1	0,1	4,0	
Summe:	4,0	6,7	-2,7	100,0	7,0	5,0	2,0	100,0	100,0		100,0		91,4	

Tabelle 113: 4-NP-Isomerenverteilung für Butter nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Butter

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	2,3	0,7	1,6	3,4	2,2	0,7	1,5	3,1	3,2	0,2	4,5	0,1	1,3	
2	4,3	0,7	3,6	7,7	3,4	0,8	2,6	5,4	6,6	1,2	9,5	0,4	2,9	
3	12,1	1,1	10,9	23,4	10,9	1,1	9,8	20,5	21,9	1,4	13,0	0,9	8,9	
4	7,7	1,4	6,2	13,3	7,1	1,5	5,6	11,7	12,5	0,8	6,9	0,3	5,6	
5	4,1	0,7	3,3	7,1	4,4	0,8	3,7	7,7	7,4	0,3	9,5	0,2	2,1	
6	5,6	1,2	4,4	9,3	5,8	1,1	4,8	10,0	9,7	0,3	14,3	0,3	4,6	
7	2,7	0,7	2,0	4,3	2,2	0,6	1,6	3,4	3,8	0,5	8,7	0,4	4,9	
8	1,4	0,2	1,2	2,5	2,1	0,2	1,9	4,1	3,3	0,8	4,0	0,1	0,7	
9	2,2	0,3	1,9	4,2	2,6	0,3	2,4	4,9	4,5	0,4	5,3	0,3	0,8	
10	10,9	1,3	9,6	20,5	12,7	1,3	11,4	23,8	22,2	1,7	18,2	0,4	4,0	
11	2,3	0,3	2,0	4,2	2,9	0,3	2,6	5,5	4,9	0,6	6,1	0,1	1,2	
Summe:	55,5	8,8	46,7	100,0	56,4	8,5	47,9	100,0	100,0		100,0		37,0	

Tabelle 114: 4-NP-Isomerenverteilung für Leitungswasser nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Leitungswasser

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	1,2	0,4	0,7	9,1	1,1	0,8	0,3	4,7	6,9	2,2	4,5	0,1	2,4	
2	1,6	0,7	0,9	10,7	1,6	0,7	0,8	15,5	13,1	2,4	9,5	0,4	3,6	
3	1,7	0,8	0,9	11,4	1,4	0,8	0,6	11,7	11,5	0,1	13,0	0,9	1,5	
4	2,0	0,6	1,4	17,3	2,0	1,3	0,8	13,9	15,6	1,7	6,9	0,3	8,7	
5	1,2	0,5	0,7	8,6	1,0	0,5	0,5	9,2	8,9	0,3	9,5	0,2	0,6	
6	1,7	0,8	0,9	11,6	1,5	0,8	0,7	11,9	11,8	0,2	14,3	0,3	2,5	
7	0,9	0,4	0,5	5,5	0,8	0,4	0,4	6,7	6,1	0,6	8,7	0,4	2,6	
8	0,4	0,2	0,3	3,1	0,4	0,2	0,2	3,4	3,2	0,1	4,0	0,1	0,8	
9	0,6	0,2	0,4	4,9	0,5	0,2	0,3	5,3	5,1	0,2	5,3	0,3	0,2	
10	2,0	0,9	1,1	13,5	1,6	0,9	0,7	13,3	13,4	0,1	18,2	0,4	4,8	
11	0,6	0,2	0,3	4,3	0,5	0,2	0,2	4,4	4,3	0,1	6,1	0,1	1,8	
Summe:	14,0	5,8	8,2	100,0	12,4	6,9	5,5	100,0	100,0		100,0		29,5	

7.20. Übersicht über die 'daily-intakes' von 4-NP in µg/Tag·kg Körpergewicht bzw. 4-tert.-OP in ng/Tag·kg Körpergewicht für Säuglinge und Kleinkinder

Tabelle 115: Anhang 7.20.: Übersicht über die 'daily-intakes' von 4-NP in µg/Tag·kg Körpergewicht für Säuglinge und Kleinkinder

Alter	Mittelwert x				Median (P50)				90. Perzentil (P90)			
	Gesamtkollektiv		Konsumenten		Gesamtkollektiv		Konsumenten		Gesamtkollektiv		Konsumenten	
	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen
3 Monate	0,10	0,07	0,24	0,19	0,04	0,04	0,22	0,21	0,22	0,21	0,23	0,23
6 Monate	0,12	0,09	0,41	0,39	0,01	0,02	0,43	0,38	0,37	0,28	0,60	0,64
9 Monate	0,16	0,16	0,36	0,40	0,08	0,07	0,32	0,37	0,39	0,42	0,55	0,57
12 Monate	0,13	0,13	0,34	0,35	0,07	0,05	0,31	0,32	0,34	0,33	0,53	0,53
18 Monate	0,08	0,07	0,25	0,23	0,05	0,05	0,21	0,21	0,16	0,12	0,34	0,31
24 Monate	0,05	0,05	0,11	0,21	0,04	0,04	0,12	0,13	0,10	0,11	0,17	0,20
36 Monate	0,05	0,05	0,12	0,12	0,04	0,04	0,09	0,10	0,07	0,07	0,12	0,18

Alter	95. Perzentil (P95)				100. Perzentil (P100)			
	Gesamtkollektiv		Konsumenten		Gesamtkollektiv		Konsumenten	
	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen
3 Monate	0,22	0,21	0,23	0,23	0,26	0,19	0,22	0,19
6 Monate	0,45	0,44	0,60	0,66	0,71	0,54	0,70	0,54
9 Monate	0,47	0,51	0,62	0,59	0,67	0,59	0,67	0,59
12 Monate	0,42	0,44	0,63	0,54	0,65	0,56	0,65	0,56
18 Monate	0,22	0,16	0,37	0,31	0,37	0,32	0,36	0,32
24 Monate	0,13	0,13	0,26	0,22	0,25	0,28	0,24	0,22
36 Monate	0,08	0,09	0,16	0,15	0,13	0,23	0,11	0,23

4-NP

Tabelle 116: Anhang 7.20.: Übersicht über die 'daily-intakes' von 4-tert.-OP in ng/Tag·kg Körpergewicht für Säuglinge und Kleinkinder

Alter	Mittelwert x				Median (P50)				90. Perzentil (P90)			
	Gesamtkollektiv		Konsumenten		Gesamtkollektiv		Konsumenten		Gesamtkollektiv		Konsumenten	
	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen
3 Monate	4,8	2,9	10,1	9,5	0,6	0,7	11,9	11,0	11,5	10,7	12,1	12,5
6 Monate	5,3	4,3	15,5	13,1	0,9	2,6	15,7	13,0	15,6	11,5	21,6	20,6
9 Monate	4,0	4,1	9,8	11,4	1,8	1,2	8,9	10,9	10,8	11,5	16,4	17,8
12 Monate	4,1	4,1	10,3	10,7	2,7	2,6	9,2	9,7	9,4	9,7	16,7	17,3
18 Monate	3,9	4,2	8,8	7,6	3,4	3,9	7,5	7,4	6,1	6,0	11,4	9,6
24 Monate	3,1	3,3	4,9	5,4	3,0	3,0	3,6	4,9	5,0	5,0	5,6	8,1
36 Monate	2,7	2,8	4,2	3,7	2,5	2,3	3,6	2,8	4,3	4,4	5,5	5,5

Alter	95. Perzentil (P95)				100. Perzentil (P100)			
	Gesamtkollektiv		Konsumenten		Gesamtkollektiv		Konsumenten	
	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen	Junge	Mädchen
3 Monate	11,4	10,8	11,9	12,4	11,8	9,8	11,8	9,8
6 Monate	17,3	16,5	21,3	22,5	24,3	18,7	24,3	18,6
9 Monate	13,2	15,4	17,7	18,5	19,2	18,2	19,2	18,2
12 Monate	12,4	13,7	19,0	17,4	19,3	18,1	19,3	18,1
18 Monate	7,2	7,4	11,9	10,4	13,4	11,0	12,9	11,0
24 Monate	5,5	6,9	6,4	9,4	7,4	10,6	6,5	10,5
36 Monate	5,0	5,2	6,1	6,1	5,7	11,0	5,7	11,0

4-tert.-OP

7.21. Übersicht über 4-NP-Mengen in Biofilm- und Flusswasserproben nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Tabelle 117: Anhang 7.21.: Übersicht über 4-NP-Mengen in Biofilm- und Flusswasserproben nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Probe	Einwaage [g]	Blindwert (BW) 4-NP [ng abs.]	Nachweisgrenze der entsprechenden Apparatur [ng abs.]	Bestimmungsgrenze der entsprechenden Apparatur [ng abs.]	4-NP in der Probe [ng abs.]	Gehalt an 4-NP in der Probe (BW subtrahiert) [µg/kg]	Wiederfindung von 4-n-NP [%]
Biofilm 1, 29.10.2001	52,83	1,9	2,8	3,7	16,6	0,28	186,0
Biofilm 1, 29.10.2001	75,82	12,9	15,0	17,1	29,8	0,22	126,3
Biofilm 2, 14.03.2002	54,07	6,6	6,8	7,0	179,0	3,19	98,6
Biofilm 2, 14.03.2002	54,31	7,3	7,6	7,9	257,4	4,61	96,7
Flusswasser 1, 14.03.2002	267,30	8,5	9,2	10,0	2,4	< NG/BG	151,9
Flusswasser 1, 14.03.2002	242,88	11,0	12,7	14,4	2,8	< NG/BG	128,7
Biofilm 3, 12.06.2002	149,10	7,0	7,1	7,1	172,8	1,11	130,3
Biofilm 3, 12.06.2002	149,58	5,0	6,7	8,4	174,7	1,13	120,4
Biofilm 4, 12.06.2002	142,93	6,8	7,6	8,5	76,9	0,49	142,1
Biofilm 4, 12.06.2002	142,80	6,6	8,6	10,5	56,6	0,35	162,2
Biofilm 5, 01.08.2002	63,32	1,3	2,7	4,1	174,1	2,73	41,8
Biofilm 5, 01.08.2002	122,27	4,7	7,5	10,4	349,4	2,82	77,8
Biofilm 6, 01.08.2002	43,59	3,0	3,1	3,2	401,0	9,13	64,0
Biofilm 6, 01.08.2002	37,21	1,8	1,9	2,1	360,8	9,65	57,2
Biofilm 7, 01.08.2002	89,68	2,8	3,1	3,4	137,0	1,50	20,3
Biofilm 7, 01.08.2002	89,02	3,3	3,4	3,6	177,6	1,96	34,3
Biofilm 8, 03.12.2002	170,65	7,5	7,8	8,2	1075,5	6,26	130,0
Biofilm 8, 03.12.2002	170,07	4,2	4,3	4,5	876,7	5,13	136,4
Flusswasser 2, 03.12.2002	504,59	2,5	2,6	2,8	28,4	0,05	127,5
Flusswasser 2, 03.12.2002	505,00	4,8	5,5	6,3	30,6	0,05	183,2
Biofilm 9, 03.12.2002	104,05	6,2	6,4	6,6	> 5113,1	> 49,08	24,5
Biofilm 9, 03.12.2002	104,32	5,6	5,9	6,2	> 3849,6	> 36,85	34,5
Flusswasser 3, 03.12.2002	487,37	23,2	33,3	43,4	152,3	0,26	150,7
Flusswasser 3, 03.12.2002	487,49	36,7	50,0	63,2	149,5	0,23	142,0

Fortsetzung Tabelle 117:

Biofilm 10, 03.12.2002	90,23	2,2	5,1	8,0	1363,2	15,08	37,9
Biofilm 10, 03.12.2002	92,52	2,4	2,6	2,8	1174,7	12,67	42,3
Flusswasser 4, 03.12.2002	489,96	8,4	8,7	9,0	8,8	< BG	266,3
Flusswasser 4, 03.12.2002	489,87	5,3	5,8	6,4	12,4	0,01	229,7

7.22. Übersicht über 4-tert.OP-Mengen in Biofilm- und Flusswasserproben nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Tabelle 118: Anhang 7.22.: Übersicht über 4-NP-Mengen in Biofilm- und Flusswasserproben nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Probe	Einwaage [g]	Blindwert (BW) 4-tert.-OP [ng abs.]	Nachweisgrenze der entsprechenden Apparatur [ng abs.]	Bestimmungsgrenze der entsprechenden Apparatur [ng abs.]	4-tert.OP in der Probe [ng abs.]	Gehalt an 4-tert.-OP in der Probe (BW subtrahiert) [ng/kg]	Wiederfindung von 4-n-OP [%]
Biofilm 1, 29.10.2001	52,83	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
Biofilm 1, 29.10.2001	75,82	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
Biofilm 2, 14.03.2002	54,07	0,5	0,5	0,5	6,6	112,8	81,3
Biofilm 2, 14.03.2002	54,31	0,8	1,3	1,7	11,7	200,7	83,3
Flusswasser 1, 14.03.2002	267,30	0,8	1,0	1,3	0,5	< NG/BG	37,8
Flusswasser 1, 14.03.2002	242,88	0,8	0,9	1,1	0,4	< NG/BG	43,8
Biofilm 3, 12.06.2002	149,10	1,4	2,4	3,4	5,4	26,8	57,6
Biofilm 3, 12.06.2002	149,58	0,8	1,3	1,8	5,2	29,4	58,3
Biofilm 4, 12.06.2002	142,93	1,0	1,9	2,8	14,8	96,6	44,0
Biofilm 4, 12.06.2002	142,80	0,9	1,4	2,0	19,0	126,8	34,7
Biofilm 5, 01.08.2002	63,32	0,1	0,2	0,3	4,5	69,5	23,8
Biofilm 5, 01.08.2002	122,27	0,6	0,9	1,2	13,0	101,4	66,6
Biofilm 6, 01.08.2002	43,59	0,1	0,1	0,1	7,9	178,9	32,8
Biofilm 6, 01.08.2002	37,21	0,3	0,3	0,3	8,0	206,9	29,4
Biofilm 7, 01.08.2002	89,68	0,	0,3	0,4	4,0	44,6	29,7
Biofilm 7, 01.08.2002	89,02	0,3	0,4	0,6	6,2	66,3	51,0
Biofilm 8, 03.12.2002	170,65	0,7	0,9	1,0	296,0	1730,4	33,4
Biofilm 8, 03.12.2002	170,07	0,6	0,6	0,7	311,6	1828,7	38,8
Flusswasser 2, 03.12.2002	504,59	0,4	0,7	0,9	5,9	10,9	64,0
Flusswasser 2, 03.12.2002	505,00	0,6	0,6	0,6	8,6	15,8	72,4
Biofilm 9, 03.12.2002	104,05	1,1	1,6	2,1	104,1	989,9	12,1
Biofilm 9, 03.12.2002	104,32	1,9	2,5	3,2	77,1	720,9	15,4
Flusswasser 3, 03.12.2002	487,37	9,3	12,2	15,0	13,5	< BG	102,1
Flusswasser 3, 03.12.2002	487,49	11,7	14,0	16,4	12,7	< NG/BG	97,5

Fortsetzung Tabelle 118:

Biofilm 10, 03.12.2002	90,23	0,3	0,5	0,8	27,0	295,9	17,4
Biofilm 10, 03.12.2002	92,52	0,3	0,4	0,4	25,0	267,0	18,0
Flusswasser 4, 03.12.2002	489,96	0,7	0,8	0,9	2,9	4,5	38,7
Flusswasser 4, 03.12.2002	489,87	0,7	0,8	0,8	2,2	3,1	37,5

7.23. Isomerenverteilung von 4-NP für die Biofilm- und Flusswasserproben im Vergleich zum technischen 4-NP

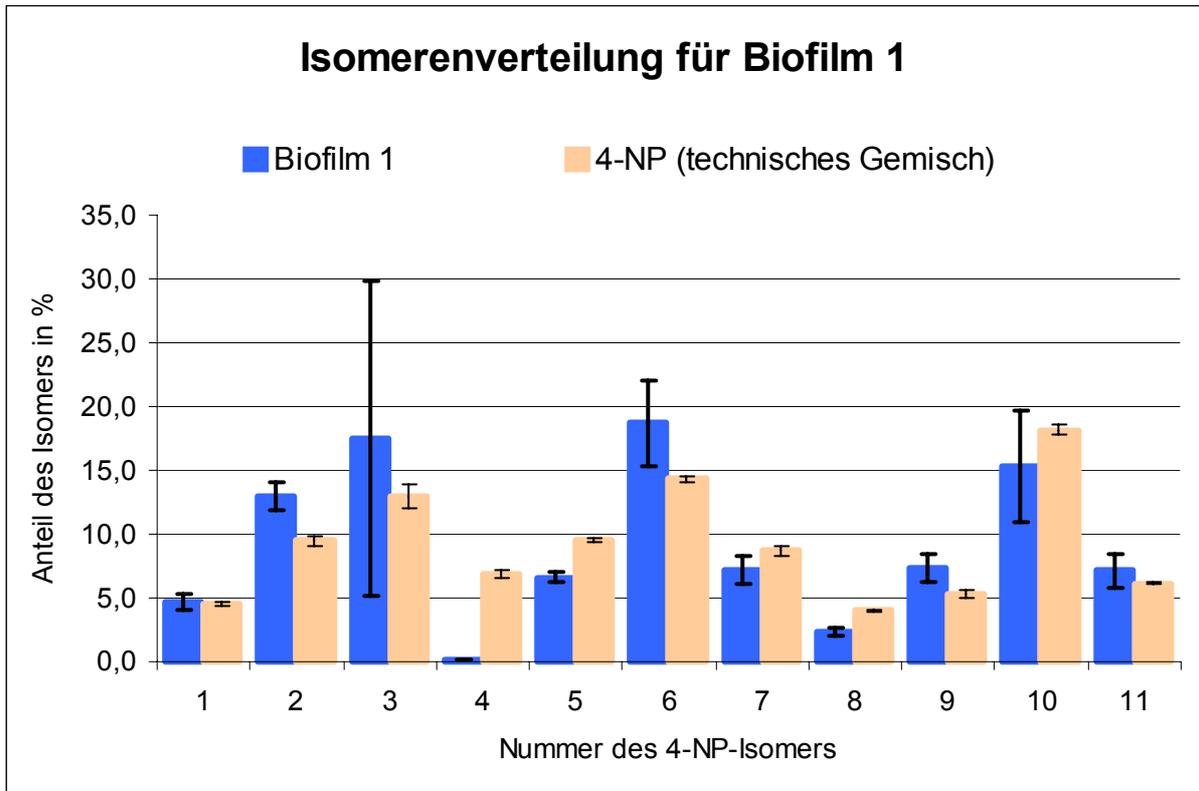


Abbildung 125: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 1 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

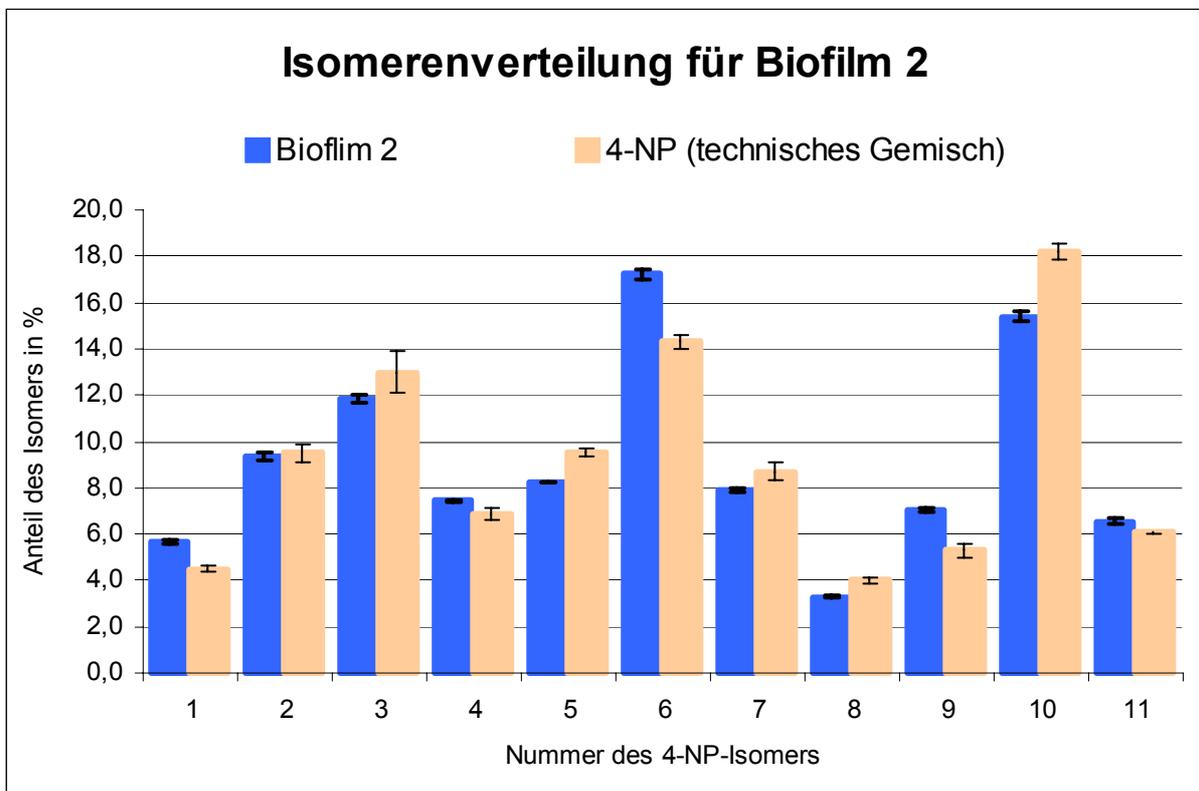


Abbildung 126: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 2 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

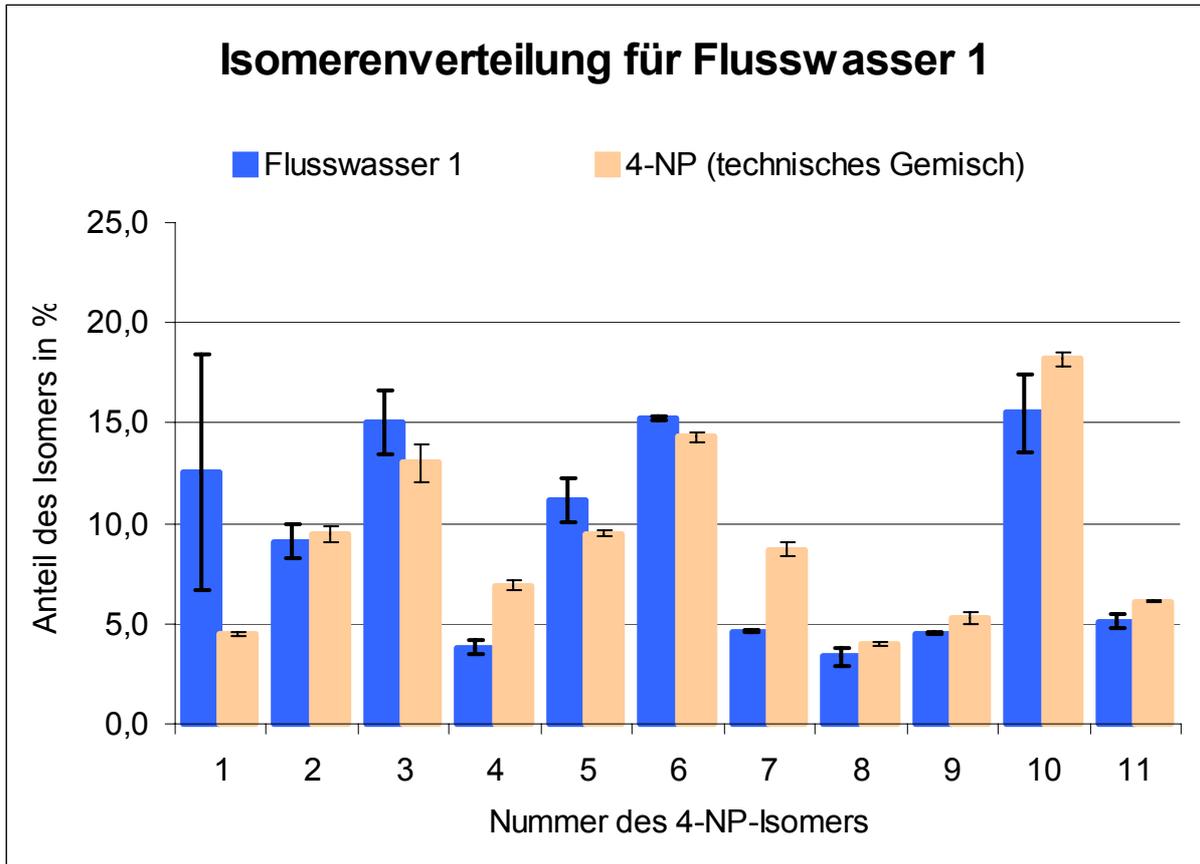


Abbildung 127: 4-NP-Isomerenverteilung für Flusswasser 1 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

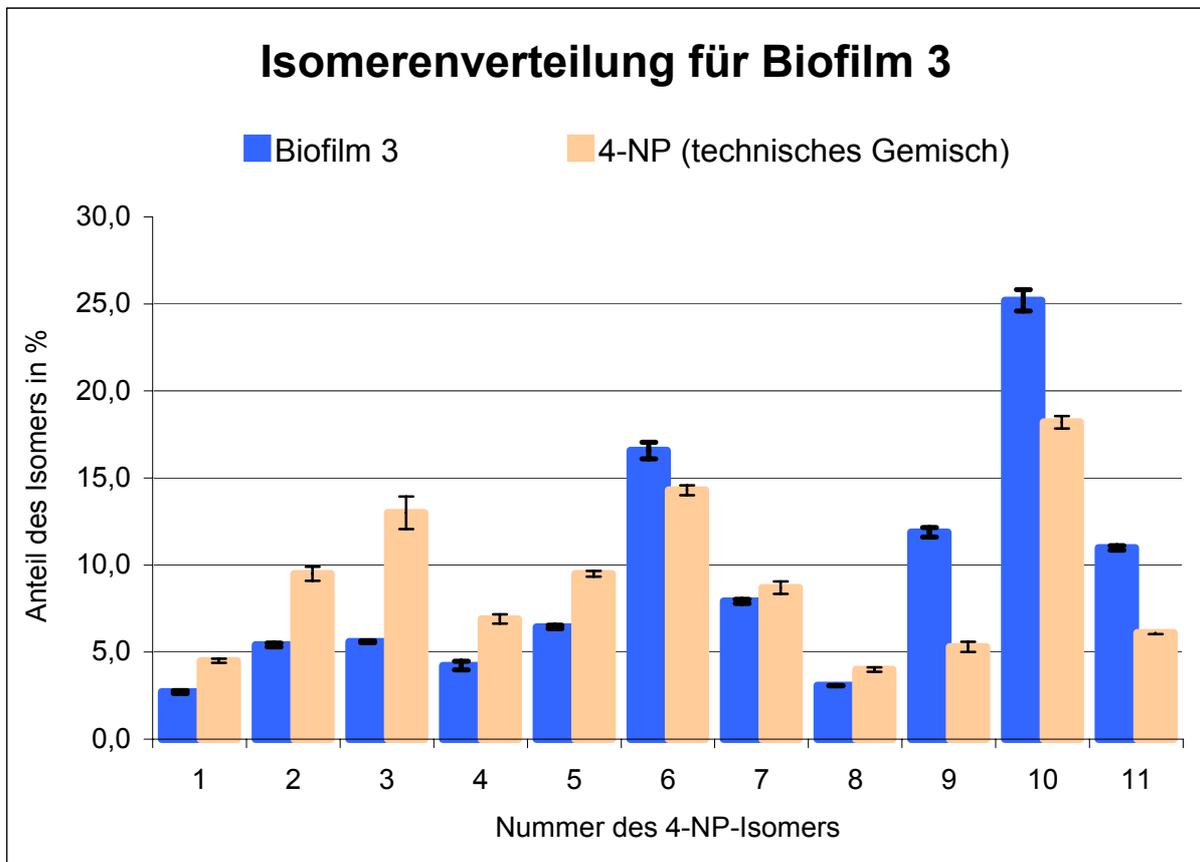


Abbildung 128: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 3 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

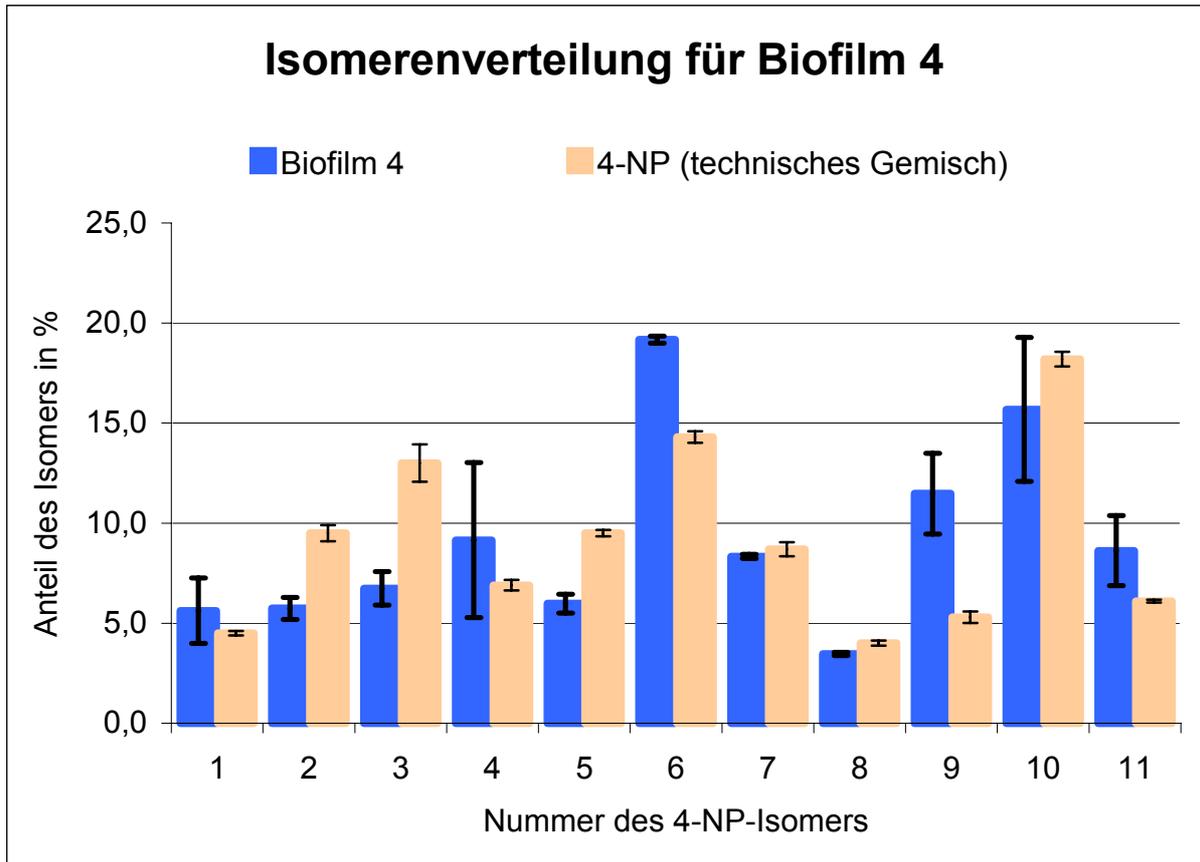


Abbildung 129: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 4 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

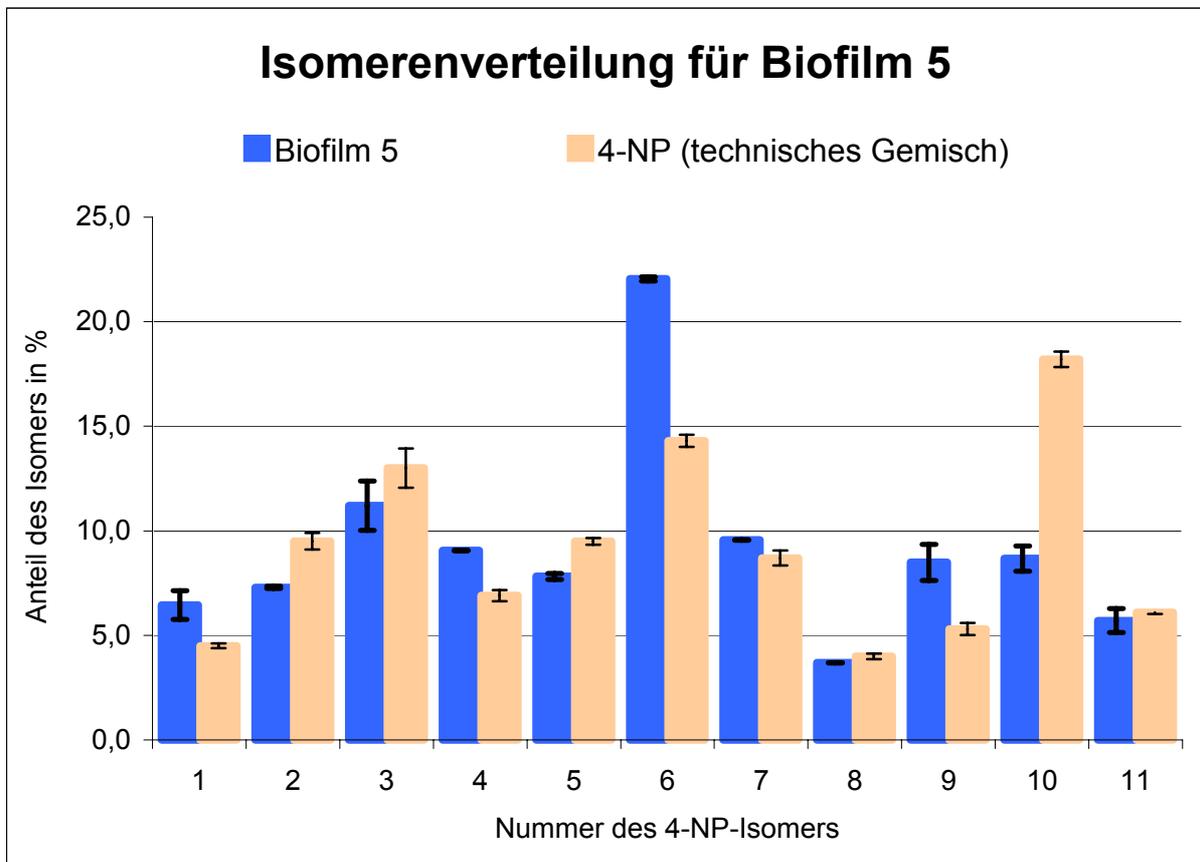


Abbildung 130: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 5 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

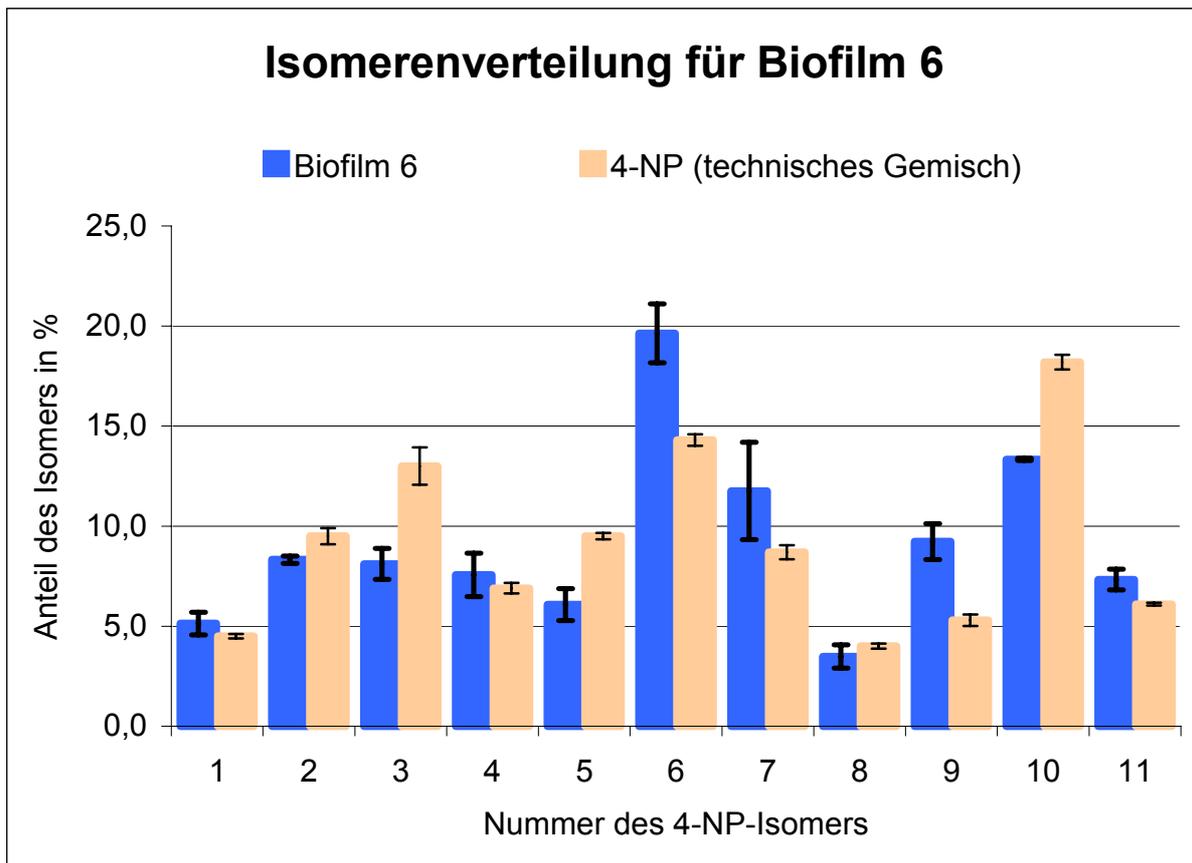


Abbildung 131: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 6 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

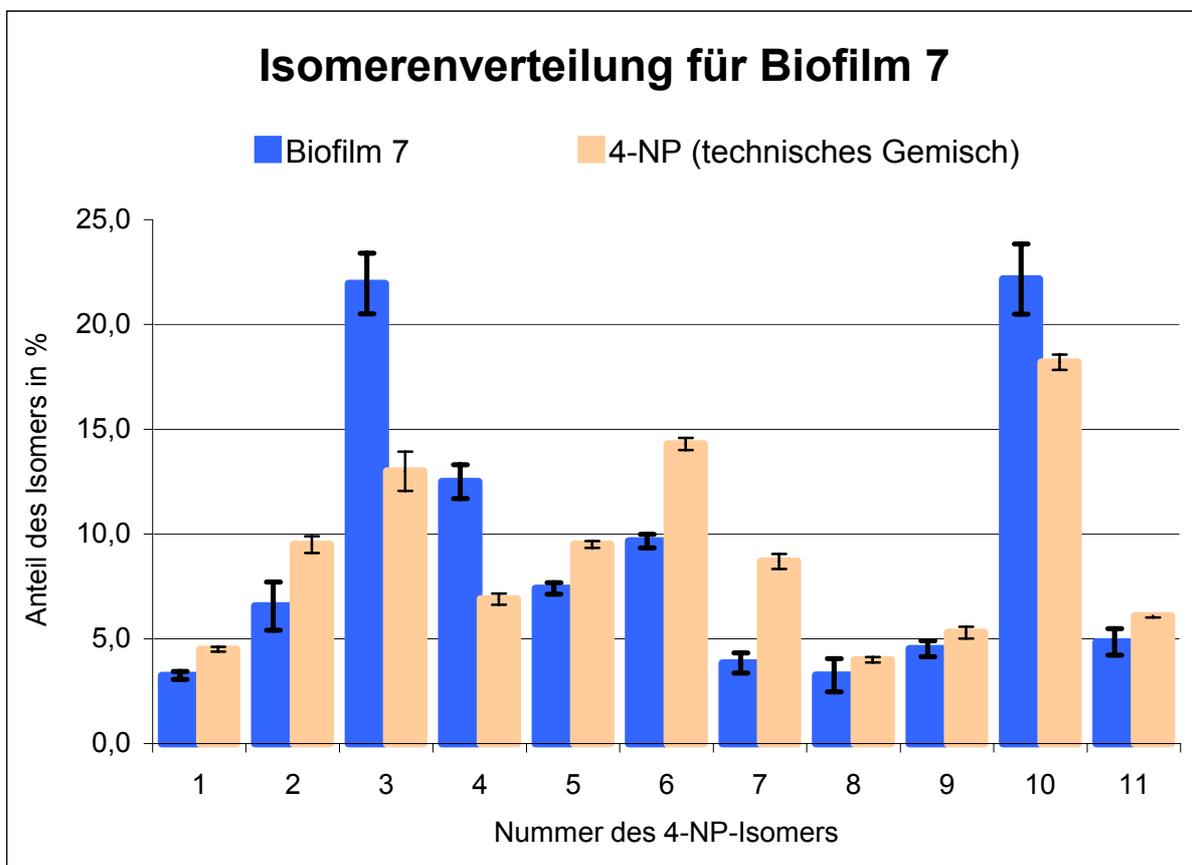


Abbildung 132: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 7 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

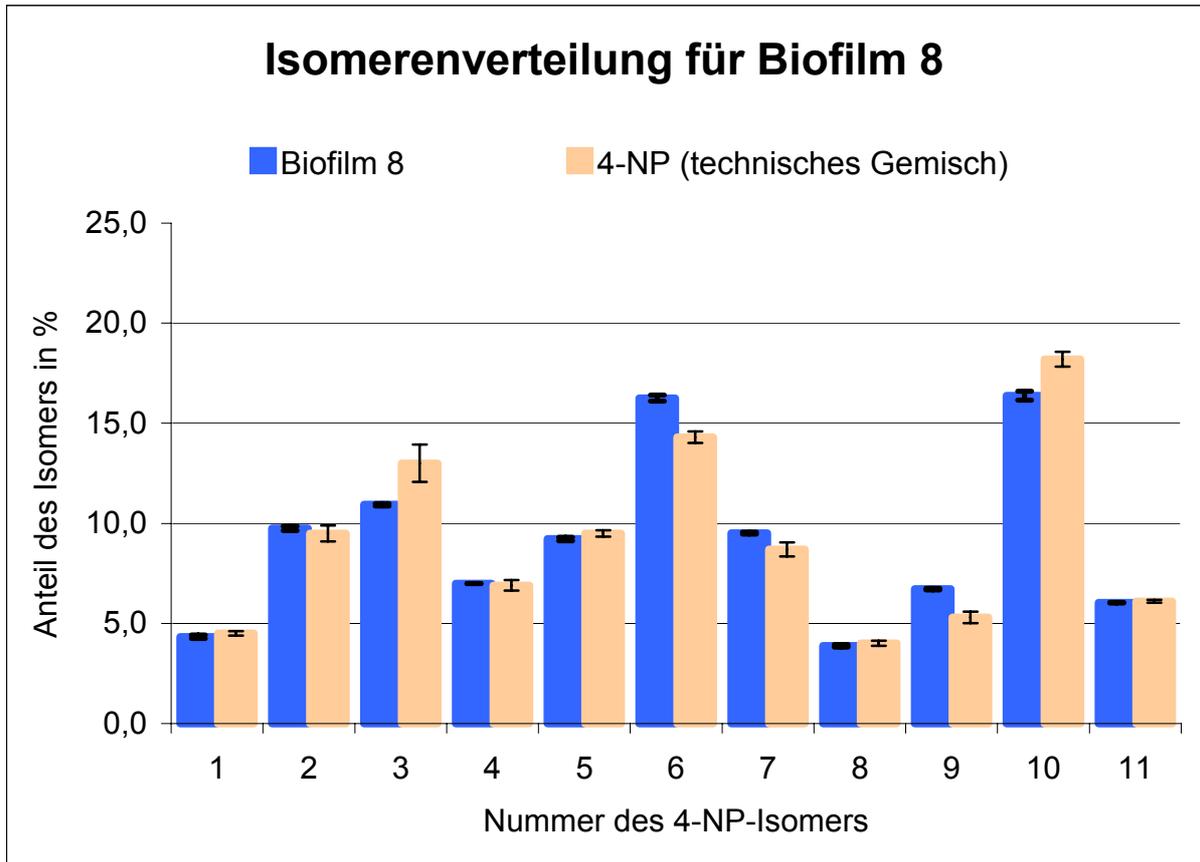


Abbildung 133: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 8 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

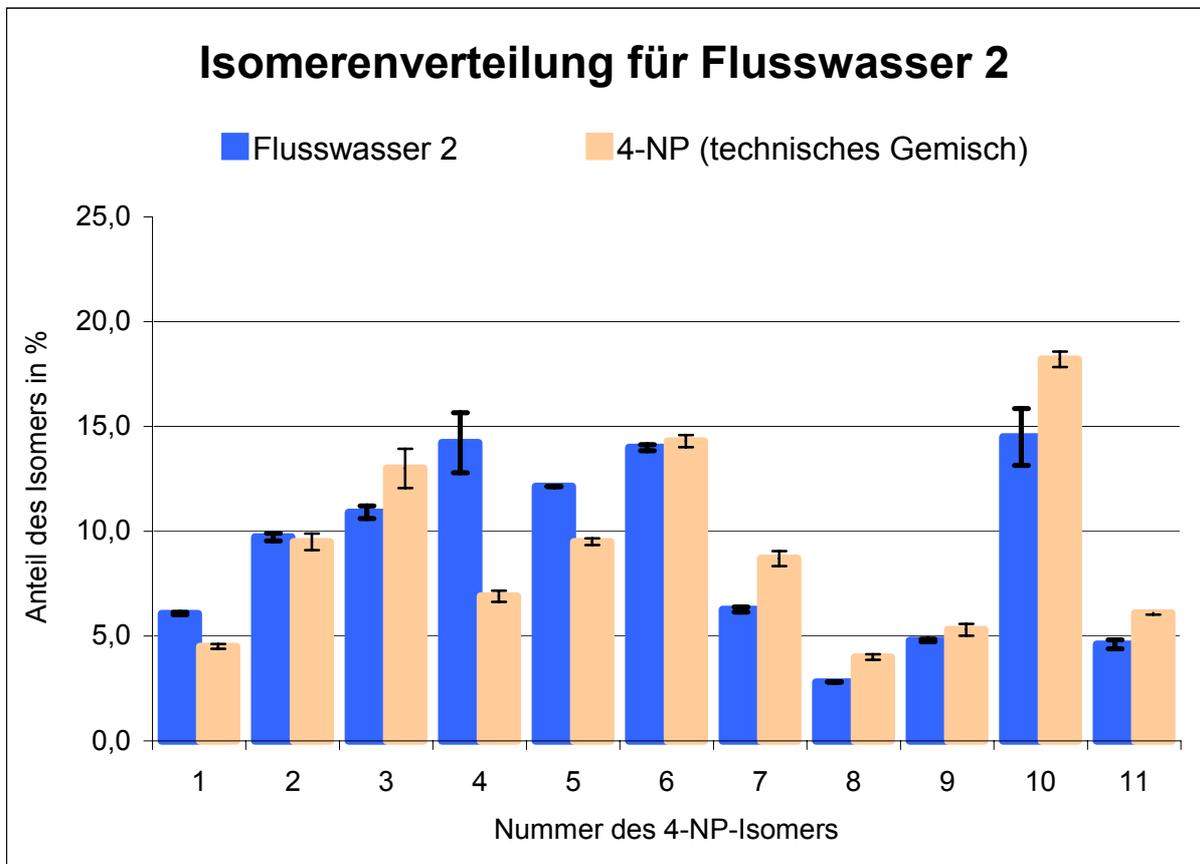


Abbildung 134: 4-NP-Isomerenverteilung für Flusswasser 2 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

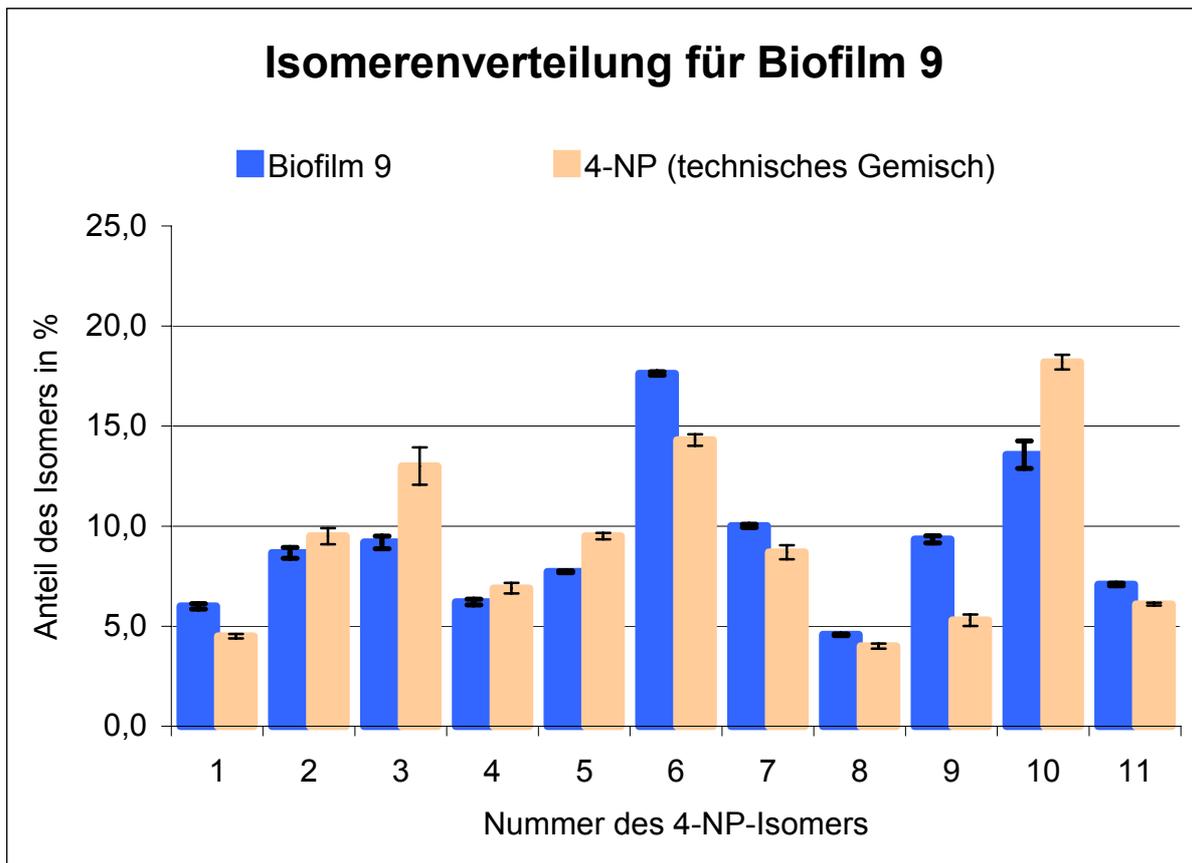


Abbildung 135: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 9 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

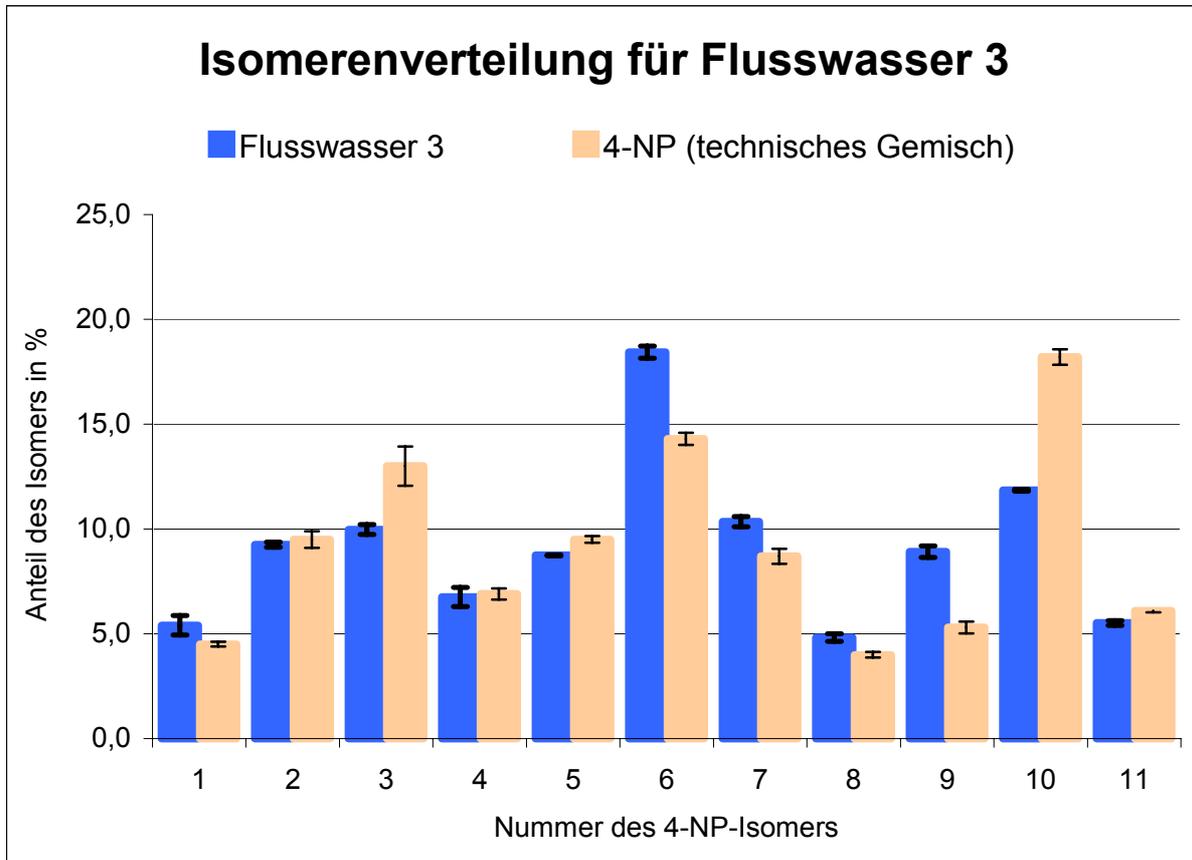


Abbildung 136: 4-NP-Isomerenverteilung für Flusswasser 3 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

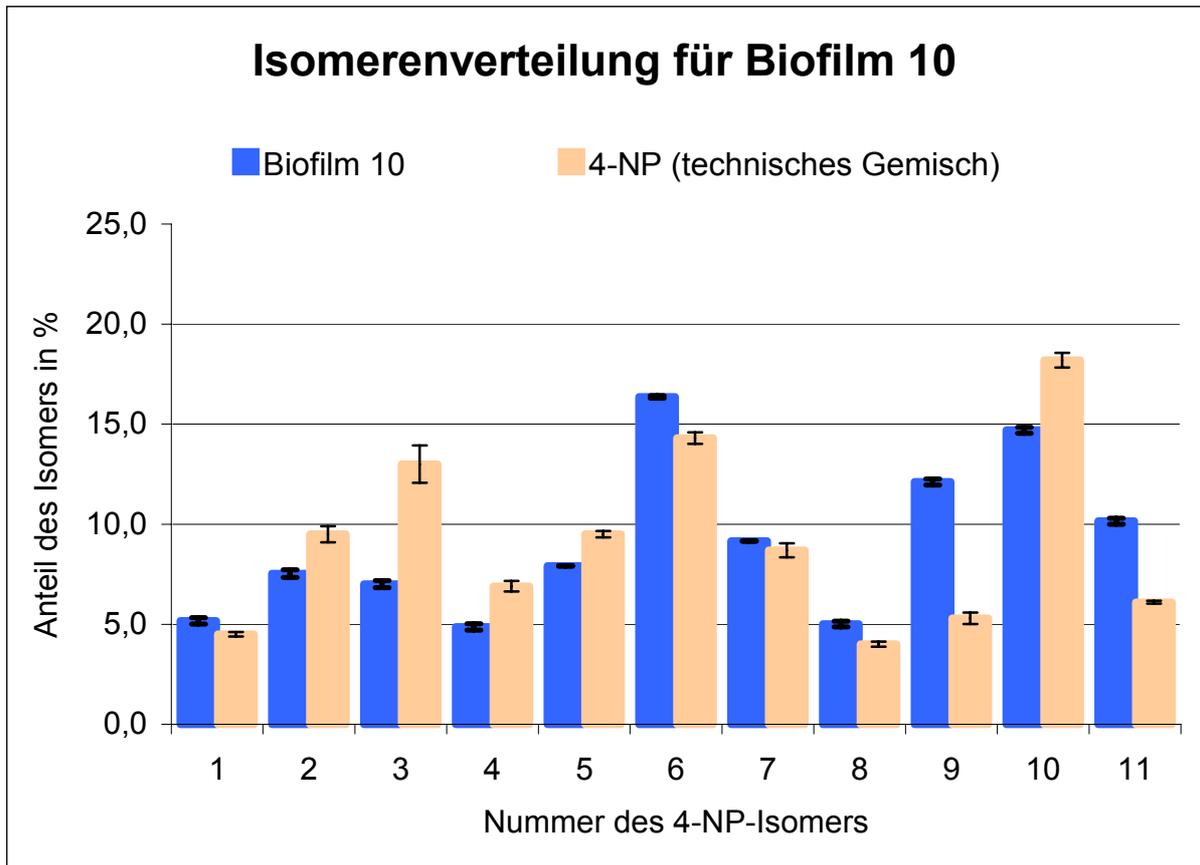


Abbildung 137: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 10 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

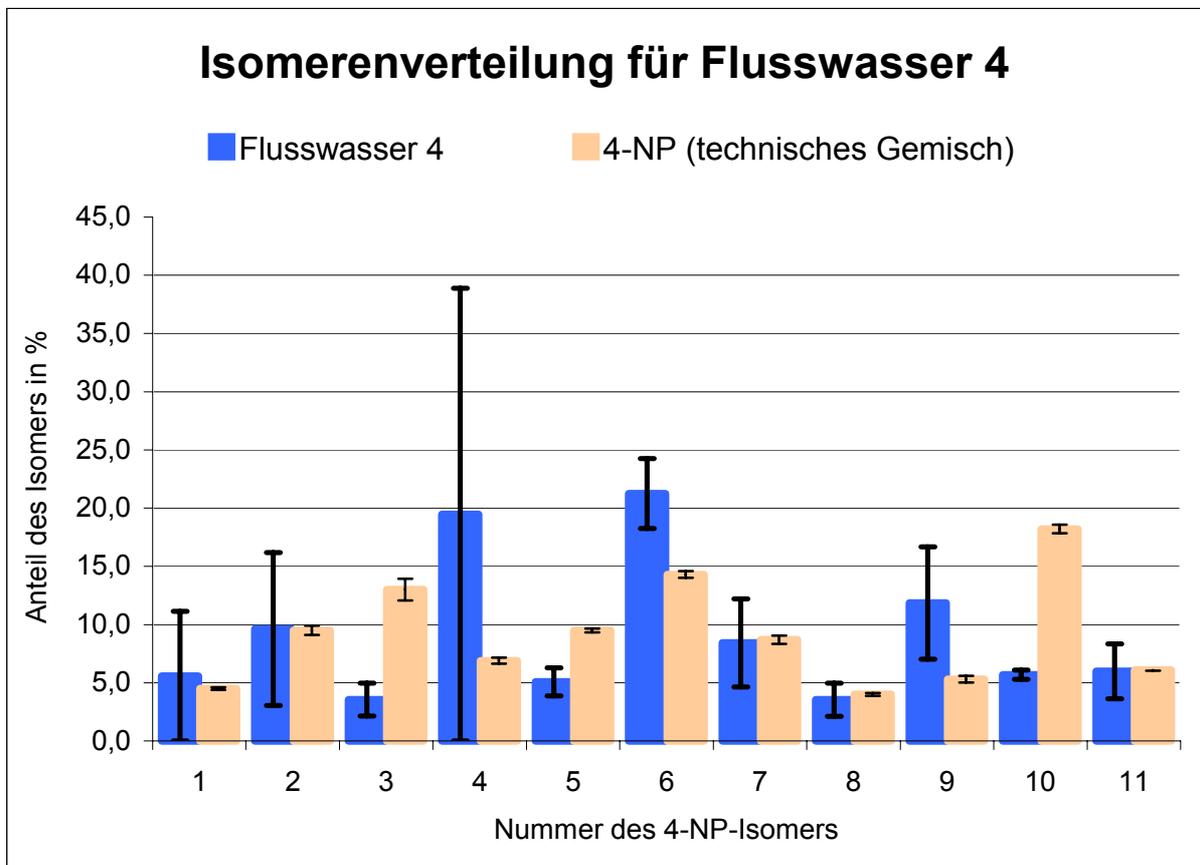


Abbildung 138: 4-NP-Isomerenverteilung für Flusswasser 4 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Tabelle 119: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 1 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Biofilm 1

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	0,8	0,0	0,8	5,3	1,2	0,4	0,8	4,1	4,7	0,6	4,5	0,1	0,2	
2	1,7	0,0	1,7	11,9	3,3	0,7	2,6	14,0	13,0	1,0	9,5	0,4	3,5	
3	4,4	0,0	4,4	29,9	8,4	7,4	1,0	5,2	17,6	12,3	13,0	0,9	4,6	
4	0,5	0,5	0,0	0,1	1,5	1,4	0,0	0,2	0,1	0,1	6,9	0,3	6,8	
5	0,9	0,0	0,9	6,3	1,9	0,6	1,3	7,0	6,6	0,4	9,5	0,2	2,9	
6	2,2	0,0	2,2	15,3	4,8	0,6	4,2	22,1	18,7	3,4	14,3	0,3	4,4	
7	1,1	0,2	0,9	6,2	2,0	0,4	1,6	8,3	7,2	1,1	8,7	0,4	1,5	
8	0,3	0,0	0,3	2,1	0,6	0,1	0,5	2,6	2,3	0,3	4,0	0,1	1,7	
9	1,1	0,2	0,9	6,3	2,1	0,4	1,6	8,5	7,4	1,1	5,3	0,3	2,1	
10	2,5	0,9	1,6	10,9	5,2	1,5	3,7	19,7	15,3	4,4	18,2	0,4	2,9	
11	1,0	0,2	0,9	5,8	2,1	0,5	1,6	8,5	7,1	1,3	6,1	0,1	1,0	
Summe:	16,6	1,9	14,7	100,0	33,0	14,0	18,9	100,0	100,0		100,0		31,4	

Tabelle 120: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 2 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Biofilm 2

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	10,0	0,4	9,6	5,6	14,8	0,4	14,4	5,8	5,7	0,1	4,5	0,1	1,2	
2	16,5	0,6	15,9	9,2	24,7	0,7	23,9	9,6	9,4	0,2	9,5	0,4	0,1	
3	21,1	0,9	20,1	11,7	31,0	1,0	30,0	12,0	11,8	0,2	13,0	0,9	1,2	
4	13,3	0,5	12,8	7,4	19,2	0,5	18,7	7,5	7,4	0,0	6,9	0,3	0,5	
5	15,0	0,8	14,2	8,3	21,3	0,8	20,6	8,2	8,2	0,0	9,5	0,2	1,3	
6	30,9	0,9	30,0	17,4	43,6	1,0	42,6	17,0	17,2	0,2	14,3	0,3	2,9	
7	13,9	0,5	13,4	7,8	20,5	0,5	20,0	8,0	7,9	0,1	8,7	0,4	0,8	
8	5,9	0,2	5,6	3,3	8,6	0,2	8,3	3,3	3,3	0,0	4,0	0,1	0,7	
9	12,6	0,3	12,3	7,1	17,8	0,4	17,5	7,0	7,1	0,1	5,3	0,3	1,8	
10	28,0	1,1	26,9	15,6	39,4	1,3	38,0	15,2	15,4	0,2	18,2	0,4	2,8	
11	11,9	0,3	11,5	6,7	16,4	0,4	16,1	6,4	6,6	0,1	6,1	0,1	0,5	
Summe:	179,0	6,6	172,3	100,0	257,4	7,3	250,1	100,0	100,0		100,0		13,7	

Tabelle 121: 4-NP-Isomerenverteilung für Flusswasser 1 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Flusswasser 1

Einwaage: 1					Einwaage: 2				Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]					
1	0,1	0,5	-0,4	6,7	0,3	1,8	-1,5	18,5	12,6	5,9	4,5	0,1	8,1
2	0,3	0,9	-0,6	9,9	0,3	1,0	-0,7	8,3	9,1	0,8	9,5	0,4	0,4
3	0,2	1,2	-1,0	16,7	0,3	1,4	-1,1	13,4	15,0	1,6	13,0	0,9	2,0
4	0,4	0,6	-0,2	3,5	0,4	0,7	-0,3	4,2	3,8	0,3	6,9	0,3	3,1
5	0,2	0,9	-0,7	12,3	0,3	1,1	-0,8	10,0	11,2	1,1	9,5	0,2	1,7
6	0,3	1,2	-0,9	15,1	0,3	1,6	-1,2	15,3	15,2	0,1	14,3	0,3	0,9
7	0,3	0,6	-0,3	4,5	0,3	0,7	-0,4	4,7	4,6	0,1	8,7	0,4	4,1
8	0,0	0,3	-0,2	3,8	0,1	0,3	-0,2	2,9	3,4	0,5	4,0	0,1	0,6
9	0,1	0,4	-0,3	4,6	0,1	0,5	-0,4	4,4	4,5	0,1	5,3	0,3	0,8
10	0,4	1,4	-1,1	17,5	0,4	1,5	-1,1	13,5	15,5	2,0	18,2	0,4	2,7
11	0,1	0,4	-0,3	5,5	0,1	0,5	-0,4	4,7	5,1	0,4	6,1	0,1	1,0
Summe:	2,4	8,4	-6,0	100,0	2,8	10,9	-8,2	100,0	100,0		100,0		25,3

Tabelle 122: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 3 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Biofilm 3

Einwaage: 1					Einwaage: 2				Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]					
1	5,0	0,4	4,6	2,8	4,7	0,3	4,4	2,6	2,7	0,1	4,5	0,1	1,8
2	9,6	0,8	8,8	5,3	9,9	0,6	9,4	5,5	5,4	0,1	9,5	0,4	4,1
3	10,4	1,0	9,4	5,6	10,1	0,7	9,4	5,5	5,6	0,1	13,0	0,9	7,4
4	7,9	0,5	7,4	4,5	7,1	0,3	6,8	4,0	4,2	0,2	6,9	0,3	2,7
5	11,6	0,7	10,8	6,5	11,3	0,5	10,8	6,3	6,4	0,1	9,5	0,2	3,1
6	27,6	0,9	26,7	16,1	29,6	0,7	28,9	17,1	16,6	0,5	14,3	0,3	2,3
7	13,4	0,5	12,9	7,8	14,0	0,4	13,6	8,0	7,9	0,1	8,7	0,4	0,8
8	5,4	0,2	5,1	3,1	5,4	0,2	5,2	3,1	3,1	0,0	4,0	0,1	0,9
9	19,6	0,3	19,2	11,6	20,8	0,2	20,6	12,2	11,9	0,3	5,3	0,3	6,6
10	44,1	1,2	42,8	25,8	42,6	0,9	41,7	24,6	25,2	0,6	18,2	0,4	7,0
11	18,3	0,3	18,0	10,9	19,1	0,2	18,8	11,1	11,0	0,1	6,1	0,1	4,9
Summe:	172,8	7,0	165,8	100,0	174,7	5,0	169,7	100,0	100,0		100,0		41,5

Tabelle 123: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 4 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Biofilm 4

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	3,2	0,4	2,8	4,0	4,0	0,4	3,6	7,3	5,6	1,6	4,5	0,1	1,1	
2	4,4	0,7	3,6	5,2	3,8	0,7	3,1	6,3	5,7	0,6	9,5	0,4	3,8	
3	5,1	1,0	4,1	5,9	4,8	1,0	3,8	7,6	6,7	0,8	13,0	0,9	6,3	
4	4,2	0,5	3,7	5,3	7,0	0,5	6,5	13,0	9,2	3,9	6,9	0,3	2,3	
5	4,6	0,7	3,9	5,5	3,9	0,7	3,2	6,5	6,0	0,5	9,5	0,2	3,5	
6	14,5	0,9	13,6	19,4	10,4	0,9	9,5	19,0	19,2	0,2	14,3	0,3	4,9	
7	6,3	0,5	5,8	8,2	4,7	0,5	4,2	8,4	8,3	0,1	8,7	0,4	0,4	
8	2,6	0,2	2,4	3,4	2,0	0,2	1,8	3,5	3,5	0,1	4,0	0,1	0,5	
9	9,8	0,3	9,5	13,5	5,0	0,3	4,7	9,5	11,5	2,0	5,3	0,3	6,2	
10	14,7	1,2	13,5	19,3	7,2	1,1	6,0	12,1	15,7	3,6	18,2	0,4	2,5	
11	7,6	0,3	7,3	10,4	3,8	0,3	3,4	6,9	8,6	1,8	6,1	0,1	2,5	
Summe:	76,9	6,8	70,1	100,0	56,6	6,6	50,0	100,0	100,0		100,0		33,9	

Tabelle 124: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 5 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Biofilm 5

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	10,1	0,1	10,0	5,8	25,4	0,8	24,6	7,1	6,5	0,7	4,5	0,1	2,0	
2	12,8	0,1	12,7	7,3	25,2	0,2	25,0	7,2	7,3	0,1	9,5	0,4	2,2	
3	17,5	0,2	17,3	10,0	43,0	0,3	42,7	12,4	11,2	1,2	13,0	0,9	1,8	
4	15,9	0,2	15,7	9,1	32,3	1,2	31,2	9,0	9,1	0,0	6,9	0,3	2,2	
5	13,4	0,2	13,3	7,7	28,0	0,6	27,4	8,0	7,8	0,1	9,5	0,2	1,7	
6	38,0	0,1	37,9	21,9	76,8	0,5	76,3	22,1	22,0	0,1	14,3	0,3	7,7	
7	16,6	0,1	16,5	9,6	33,4	0,3	33,0	9,6	9,6	0,0	8,7	0,4	0,9	
8	6,4	0,0	6,4	3,7	12,9	0,1	12,8	3,7	3,7	0,0	4,0	0,1	0,3	
9	16,2	0,1	16,2	9,4	26,4	0,1	26,3	7,6	8,5	0,9	5,3	0,3	3,2	
10	16,2	0,2	16,0	9,3	28,2	0,4	27,8	8,1	8,7	0,6	18,2	0,4	9,5	
11	10,9	0,1	10,9	6,3	17,9	0,2	17,7	5,1	5,7	0,6	6,1	0,1	0,4	
Summe:	174,1	1,3	172,8	100,0	349,4	4,7	344,7	100,0	100,0		100,0		31,8	

Tabelle 125: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 6 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Biofilm 6

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	23,2	0,5	22,7	5,7	16,5	0,1	16,4	4,6	5,1	0,6	4,5	0,1	0,6	
2	34,0	0,1	33,9	8,5	29,4	0,1	29,3	8,1	8,3	0,2	9,5	0,4	1,2	
3	35,6	0,2	35,4	8,9	26,6	0,2	26,3	7,3	8,1	0,8	13,0	0,9	4,9	
4	27,0	1,2	25,8	6,5	31,3	0,2	31,1	8,7	7,6	1,1	6,9	0,3	0,7	
5	27,6	0,2	27,4	6,9	19,3	0,4	19,0	5,3	6,1	0,8	9,5	0,2	3,4	
6	84,2	0,2	84,0	21,1	65,4	0,2	65,2	18,2	19,6	1,5	14,3	0,3	5,3	
7	37,2	0,1	37,1	9,3	51,0	0,1	50,9	14,2	11,8	2,4	8,7	0,4	3,1	
8	11,6	0,0	11,5	2,9	14,7	0,1	14,6	4,1	3,5	0,6	4,0	0,1	0,5	
9	40,3	0,1	40,3	10,1	30,0	0,1	29,9	8,3	9,2	0,9	5,3	0,3	3,9	
10	53,0	0,2	52,8	13,3	48,4	0,3	48,1	13,4	13,3	0,1	18,2	0,4	4,9	
11	27,2	0,1	27,1	6,8	28,3	0,1	28,2	7,9	7,3	0,5	6,1	0,1	1,2	
Summe:	401,0	3,0	398,0	100,0	360,8	1,8	359,0	100,0	100,0		100,0		29,7	

249

Tabelle 126: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 7 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Biofilm 7

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	2,3	0,7	1,6	3,4	2,2	0,7	1,5	3,1	3,2	0,2	4,5	0,1	1,3	
2	4,3	0,7	3,6	7,7	3,4	0,8	2,6	5,4	6,6	1,2	9,5	0,4	2,9	
3	12,1	1,1	10,9	23,4	10,9	1,1	9,8	20,5	21,9	1,4	13,0	0,9	8,9	
4	7,7	1,4	6,2	13,3	7,1	1,5	5,6	11,7	12,5	0,8	6,9	0,3	5,6	
5	4,1	0,7	3,3	7,1	4,4	0,8	3,7	7,7	7,4	0,3	9,5	0,2	2,1	
6	5,6	1,2	4,4	9,3	5,8	1,1	4,8	10,0	9,7	0,3	14,3	0,3	4,6	
7	2,7	0,7	2,0	4,3	2,2	0,6	1,6	3,4	3,8	0,5	8,7	0,4	4,9	
8	1,4	0,2	1,2	2,5	2,1	0,2	1,9	4,1	3,3	0,8	4,0	0,1	0,7	
9	2,2	0,3	1,9	4,2	2,6	0,3	2,4	4,9	4,5	0,4	5,3	0,3	0,8	
10	10,9	1,3	9,6	20,5	12,7	1,3	11,4	23,8	22,2	1,7	18,2	0,4	4,0	
11	2,3	0,3	2,0	4,2	2,9	0,3	2,6	5,5	4,9	0,6	6,1	0,1	1,2	
Summe:	55,5	8,8	46,7	100,0	56,4	8,5	47,9	100,0	100,0		100,0		37,0	

Tabelle 127: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 8 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Biofilm 8

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	46,7	1,4	45,3	4,2	39,0	0,5	38,5	4,4	4,3	0,1	4,5	0,1	0,2	
2	105,6	0,2	105,4	9,9	84,4	0,3	84,1	9,6	9,8	0,1	9,5	0,4	0,3	
3	116,4	0,2	116,1	10,9	96,2	0,4	95,8	11,0	10,9	0,1	13,0	0,9	2,1	
4	78,6	3,9	74,7	7,0	62,3	1,3	60,9	7,0	7,0	0,0	6,9	0,3	0,1	
5	97,8	0,3	97,5	9,1	81,7	0,4	81,2	9,3	9,2	0,1	9,5	0,2	0,3	
6	172,7	0,6	172,1	16,1	143,5	0,4	143,1	16,4	16,3	0,1	14,3	0,3	2,0	
7	101,3	0,1	101,2	9,5	83,6	0,1	83,4	9,6	9,5	0,0	8,7	0,4	0,8	
8	42,1	0,0	42,0	3,9	33,4	0,1	33,3	3,8	3,9	0,1	4,0	0,1	0,1	
9	72,2	0,1	72,1	6,8	58,4	0,1	58,2	6,7	6,7	0,0	5,3	0,3	1,4	
10	177,8	0,4	177,4	16,6	141,4	0,5	140,9	16,1	16,4	0,2	18,2	0,4	1,8	
11	64,3	0,1	64,2	6,0	52,9	0,1	52,8	6,1	6,0	0,0	6,1	0,1	0,1	
Summe:	1075,5	7,4	1068,1	100,0	876,7	4,2	872,5	100,0	100,0		100,0		9,1	

250

Tabelle 128: 4-NP-Isomerenverteilung für Flusswasser 2 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Flusswasser 2

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	1,7	0,2	1,6	6,0	2,2	0,7	1,6	6,1	6,1	0,1	4,5	0,1	1,6	
2	2,7	0,1	2,6	9,9	2,8	0,3	2,5	9,5	9,7	0,2	9,5	0,4	0,2	
3	3,0	0,3	2,8	10,6	3,1	0,2	2,9	11,2	10,9	0,3	13,0	0,9	2,1	
4	3,7	0,4	3,3	12,8	5,7	1,7	4,0	15,6	14,2	1,4	6,9	0,3	7,3	
5	3,5	0,3	3,1	12,1	3,5	0,4	3,1	12,1	12,1	0,0	9,5	0,2	2,6	
6	3,9	0,3	3,6	13,8	4,2	0,5	3,6	14,1	14,0	0,1	14,3	0,3	0,3	
7	1,8	0,1	1,7	6,4	1,7	0,2	1,6	6,1	6,3	0,1	8,7	0,4	2,4	
8	0,8	0,1	0,7	2,8	0,8	0,1	0,7	2,8	2,8	0,0	4,0	0,1	1,2	
9	1,4	0,1	1,3	4,8	1,3	0,1	1,2	4,7	4,8	0,1	5,3	0,3	0,5	
10	4,5	0,4	4,1	15,8	3,9	0,5	3,4	13,1	14,5	1,4	18,2	0,4	3,7	
11	1,4	0,1	1,2	4,8	1,3	0,2	1,1	4,4	4,6	0,2	6,1	0,1	1,5	
Summe:	28,4	2,5	25,9	100,0	30,6	4,8	25,8	100,0	100,0		100,0		23,5	

Tabelle 129: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 9 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Biofilm 9

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	313,7	0,3	313,4	6,1	225,8	0,3	225,5	5,9	6,0	0,1	4,5	0,1	1,5	
2	457,0	0,7	456,3	8,9	323,3	0,6	322,7	8,4	8,7	0,3	9,5	0,4	0,8	
3	486,1	0,8	485,4	9,5	342,0	0,8	341,2	8,9	9,2	0,3	13,0	0,9	3,8	
4	324,6	0,4	324,2	6,3	233,8	0,4	233,4	6,1	6,2	0,1	6,9	0,3	0,7	
5	397,7	0,7	397,0	7,8	296,0	0,6	295,4	7,7	7,7	0,0	9,5	0,2	1,8	
6	896,7	0,9	895,8	17,5	682,0	0,8	681,2	17,7	17,6	0,1	14,3	0,3	3,3	
7	515,6	0,5	515,1	10,1	381,8	0,4	381,5	9,9	10,0	0,1	8,7	0,4	1,3	
8	235,7	0,2	235,4	4,6	174,6	0,2	174,4	4,5	4,6	0,0	4,0	0,1	0,6	
9	468,5	0,3	468,2	9,2	365,7	0,2	365,5	9,5	9,3	0,2	5,3	0,3	4,0	
10	658,7	1,2	657,6	12,9	549,2	1,0	548,1	14,3	13,6	0,7	18,2	0,4	4,6	
11	358,7	0,3	358,4	7,0	275,4	0,3	275,1	7,2	7,1	0,1	6,1	0,1	1,0	
Summe:	5113,1	6,2	5106,9	100,0	3849,6	5,6	3844,1	100,0	100,0		100,0		23,5	

251

Tabelle 130: 4-NP-Isomerenverteilung für Flusswasser 3 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Flusswasser 3

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	9,0	1,4	7,6	5,9	8,7	3,1	5,6	4,9	5,4	0,5	4,5	0,1	0,9	
2	14,2	2,4	11,8	9,1	14,1	3,6	10,6	9,4	9,3	0,1	9,5	0,4	0,2	
3	17,0	3,8	13,2	10,2	16,6	5,6	11,0	9,7	10,0	0,2	13,0	0,9	3,0	
4	11,0	1,7	9,3	7,2	11,1	4,0	7,1	6,3	6,8	0,5	6,9	0,3	0,1	
5	13,8	2,5	11,3	8,8	13,8	4,0	9,8	8,7	8,7	0,0	9,5	0,2	0,8	
6	26,5	3,1	23,4	18,1	25,4	4,3	21,1	18,7	18,4	0,3	14,3	0,3	4,1	
7	14,6	1,6	13,1	10,1	14,2	2,2	12,0	10,6	10,4	0,2	8,7	0,4	1,7	
8	6,7	0,7	6,0	4,6	6,7	1,1	5,6	5,0	4,8	0,2	4,0	0,1	0,8	
9	12,2	1,0	11,2	8,6	11,8	1,4	10,4	9,2	8,9	0,3	5,3	0,3	3,6	
10	19,2	3,9	15,4	11,9	19,2	5,9	13,3	11,8	11,8	0,1	18,2	0,4	6,4	
11	8,0	1,0	7,0	5,4	7,9	1,5	6,4	5,6	5,5	0,1	6,1	0,1	0,6	
Summe:	152,3	23,2	129,1	100,0	149,5	36,7	112,8	100,0	100,0		100,0		22,2	

Tabelle 131: 4-NP-Isomerenverteilung für Biofilm 10 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Biofilm 10

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW der Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	72,6	0,1	72,5	5,3	59,0	0,1	58,8	5,0	5,2	0,2	4,5	0,1	0,7	
2	105,5	0,2	105,2	7,7	86,4	0,2	86,2	7,3	7,5	0,2	9,5	0,4	2,0	
3	98,0	0,3	97,8	7,2	80,5	0,3	80,2	6,8	7,0	0,2	13,0	0,9	6,0	
4	64,3	0,2	64,1	4,7	59,1	0,2	58,9	5,0	4,9	0,2	6,9	0,3	2,0	
5	107,8	0,3	107,6	7,9	93,2	0,3	92,9	7,9	7,9	0,0	9,5	0,2	1,6	
6	222,1	0,3	221,9	16,3	192,8	0,3	192,5	16,4	16,4	0,1	14,3	0,3	2,1	
7	125,1	0,1	125,0	9,2	107,4	0,1	107,2	9,1	9,2	0,0	8,7	0,4	0,5	
8	70,2	0,1	70,2	5,2	57,2	0,1	57,1	4,9	5,0	0,1	4,0	0,1	1,0	
9	162,9	0,1	162,8	12,0	143,8	0,1	143,7	12,3	12,1	0,1	5,3	0,3	6,8	
10	198,3	0,4	197,9	14,5	174,6	0,5	174,1	14,9	14,7	0,2	18,2	0,4	3,5	
11	136,2	0,1	136,1	10,0	120,8	0,1	120,6	10,3	10,1	0,1	6,1	0,1	4,0	
Summe:	1363,1	2,2	1360,9	100,0	1174,7	2,4	1172,3	100,0	100,0		100,0		30,1	

252

Tabelle 132: 4-NP-Isomerenverteilung für Flusswasser 4 nach dem Analyseverfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

Flusswasser 4

Einwaage: 1					Einwaage: 2					Mittelwert der Isomerenverteilungen [%]	STABW d. Isomerenverteilungen [%]	Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	STABW der Isomerenverteilung des 4-NPs (technisches Gemisch) [%]	Absolutwerte der Differenzen in den Isomerenverteilungen
4-NP-Peak	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]	4-NP-Gehalt [ng abs.]	Blindwert der jeweiligen Apparatur [ng abs.]	korrigierter Gehalt (Blindwert subtrahiert) [ng abs.]	Isomerenverteilung von 4-NP [%]						
1	0,6	1,2	0,0	0,0	1,1	0,3	0,8	11,1	5,6	5,6	4,5	0,1	1,1	
2	0,8	0,4	0,4	16,2	0,8	0,6	0,2	3,1	9,6	6,6	9,5	0,4	0,1	
3	0,8	0,7	0,1	5,0	0,8	0,7	0,2	2,1	3,5	1,4	13,0	0,9	9,5	
4	0,9	2,4	0,0	0,0	3,2	0,5	2,8	38,9	19,4	19,4	6,9	0,3	12,5	
5	0,8	0,7	0,2	6,3	0,9	0,6	0,3	3,9	5,1	1,2	9,5	0,2	4,4	
6	1,6	0,9	0,6	24,3	2,0	0,7	1,3	18,2	21,2	3,0	14,3	0,3	6,9	
7	0,7	0,4	0,3	12,2	0,6	0,3	0,3	4,6	8,4	3,8	8,7	0,4	0,3	
8	0,3	0,2	0,1	5,0	0,3	0,2	0,2	2,1	3,5	1,4	4,0	0,1	0,5	
9	0,7	0,3	0,4	16,7	0,7	0,2	0,5	7,0	11,8	4,8	5,3	0,3	6,5	
10	1,2	1,0	0,2	6,1	1,3	0,9	0,4	5,3	5,7	0,4	18,2	0,4	12,5	
11	0,5	0,2	0,2	8,3	0,5	0,2	0,3	3,6	6,0	2,4	6,1	0,1	0,1	
Summe:	8,8	8,4	2,6	100,0	12,4	5,3	7,1	100,0	100,0		100,0		54,5	

7.24. Differenzen prozentualer 4-NP-Verteilungen zwischen der Biofilm- und der entsprechenden Flusswasserprobe

Tabelle 133: Anhang 7.24.: Differenzen prozentualer 4-NP-Verteilungen zwischen der Biofilm- und der entsprechenden Flusswasserprobe

4-NP Peak	BF 2	FW 1	Differenz
1	5,7	12,6	-6,9
2	9,4	9,1	0,3
3	11,8	15,0	-3,2
4	7,4	3,8	3,6
5	8,2	11,2	-3,0
6	17,2	15,2	2,0
7	7,9	4,6	3,3
8	3,3	3,4	-0,1
9	7,1	4,5	2,6
10	15,4	15,5	-0,1
11	6,6	5,1	1,5
Summe:	100	100	

4-NP Peak	BF 8	FW 2	Differenz
1	4,3	6,1	-1,8
2	9,8	9,7	0,1
3	10,9	10,9	0,0
4	7,0	14,2	-7,2
5	9,2	12,1	-2,9
6	16,3	14,0	2,3
7	9,5	6,3	3,2
8	3,9	2,8	1,1
9	6,7	4,8	1,9
10	16,4	14,5	1,9
11	6,0	4,6	1,4
Summe:	100	100	

4-NP Peak	BF 9	FW 3	Differenz
1	6,0	5,4	0,6
2	8,7	9,3	-0,6
3	9,2	10,0	-0,8
4	6,2	6,8	-0,6
5	7,7	8,7	-1,0
6	17,6	18,4	-0,8
7	10,0	10,4	-0,4
8	4,6	4,8	-0,2
9	9,3	8,9	0,4
10	13,6	11,8	1,8
11	7,1	5,5	1,6
Summe:	100	100	

7.25. Übersicht über die MS/MS-Methode im SRM Scan MS/MS-Modus für alle Analyten

Tabelle 134: Anhang 7.25.: Übersicht über die MS/MS-Methode im SRM Scan MS/MS-Modus für alle Analyten

	Analyt	Startzeit	Scan Mode	Einzelheiten
FS	-	10,00 min	Full Scan	100 - 340 amu
S 1	4-tert.-OP	15,80 min	MS/MS	MI: 249 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 8 ms; A-Spannung: 0,8 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 135 - 135
FS	-	16,40 min	Full Scan	100 - 340 amu
S 2	4-NP Isomer 1	17,20 min	MS/MS	MI: 277 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 8 ms; A-Spannung: 1,0 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 121 - 121
S 3	4-NP Isomer 2 Isomer 3 Isomer 4	17,45 min	Dual MS/MS	MI 1: 249 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 8 ms; A-Spannung: 1,0 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 191 - 191 und 221 - 221 MI 2: 263 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 8 ms; A-Spannung: 1,0 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 191 - 191 und 221 - 221
S 4	4-NP Isomer 5 Isomer 6 Isomer 7 Isomer 8 Isomer 9	17,90 min	Dual MS/MS	MI 1: 249 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 8 ms; A-Spannung: 1,0 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 191 - 191 und 235 - 235 MI 2: 277 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 8 ms; A-Spannung: 1,0 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 191 - 191 und 235 - 235
S 5	4-NP Isomer 10 Isomer 11	18,50 min	Dual MS/MS	MI 1: 249 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 8 ms; A-Spannung: 1,0 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 191 - 191 und 221 - 221 MI 2: 263 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 8 ms; A-Spannung: 1,0 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 191 - 191 und 221 - 221
S 6	4-n-OP	19,00 min	MS/MS	MI: 165 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 8 ms; A-Spannung: 1,0 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 135 - 135
S 7	GSTD	19,55 min	MS/MS	MI: 235 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 8 ms; A-Spannung: 0,8 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 121 - 121
FS	-	19,90 min	Full Scan	100 - 340 amu
S 8	4-n-NP	21,25 in	MS/MS	MI: 165 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 8 ms; A-Spannung: 0,4 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 135 - 135
FS	-	19,90 min	Full Scan	100 - 384 amu
S 9	4-NP1EO Isomer 1 Isomer 2 Isomer 3 Isomer 4 Isomer 5	23,50 min	MS/MS	MI: 321 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 8 ms; A-Spannung: 0,6 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 177 - 177 und 278 - 278

Fortsetzung Tabelle 134:

S 10	4-NP1EO Isomer 6 Isomer 7	24,40 min	Dual MS/MS	MI 1: 293 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 8 ms; A-Spannung: 0,6 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 221 – 221 und 249 - 249 MI 2: 321 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 8 ms; A-Spannung: 0,6 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 221 – 221 und 249 – 249
S 11	4-NP1EO Isomer 8 Isomer 9	25,00 min	Dual MS/MS	MI 1: 293 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 8 ms; A-Spannung: 0,6 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 249 – 249 und 263 - 263 MI 2: 307 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 8 ms; A-Spannung: 0,6 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 249 – 249 und 263 – 263
FS	-	25,70 min	Full Scan	100 – 384 amu
S 12	4-n-NP1EO	27,50 min	MS/MS	MI: 321 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 8 ms; A-Spannung: 0,8 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 165 - 165
FS	-	28,20 min	Full Scan	100 – 428 amu
S 13	4-NP2EO Isomer 1 Isomer 2	29,20 min	Dual MS/MS	MI 1: 247 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 6 ms; A-Spannung: 0,5 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 173 – 173 und 191 - 191 MI 2: 365 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 6 ms; A-Spannung: 0,5 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 173 – 173 und 191 – 191
S 14	4-NP2EO Isomer 3 Isomer 4 Isomer 5	29,82 min	Dual MS/MS	MI 1: 247 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 6 ms; A-Spannung: 0,5 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 147 – 147 und 177 - 177 MI 2: 365 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 6 ms; A-Spannung: 0,5 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 147 – 147 und 177 - 177
S 15	4-NP2EO Isomer 6 Isomer 7	30,28 min	Dual MS/MS	MI 1: 351 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 6 ms; A-Spannung: 0,5 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 203 – 203 und 277 - 277 MI 2: 365 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 6 ms; A-Spannung: 0,5 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 203 – 203 und 277 - 277
S 16	4-NP2EO Isomer 8 Isomer 9	30,51 min	Dual MS/MS	MI 1: 337 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 6 ms; A-Spannung: 0,5 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 203 – 203 MI 2: 351 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 6 ms; A-Spannung: 0,5 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 203 – 203
FS	-	32,20 min	Full Scan	100 – 428 amu

Fortsetzung Tabelle 134:

S 17	4-n-NP2EO	32,90 min	MS/MS	MI: 365 +/- 0,5 amu; S-Zeit: 6 ms; A-Spannung: 0,5 V; q = 0.225; A-Zeit: 15 ms; TI: 247 – 247
FS	-	33,50 min	Full Scan	100 – 428 amu

Dabei bedeutet:

MI: Mutterion

S.-Zeit: Zeit, in der das MI gesammelt wurde

A-Spannung: Anregungsspannung

q: q - Wert

A-Zeit: Zeit, in der die Anregungsspannung eingeschaltet war

TI: Tochterion/en (Angabe: 'Erste - Letzte Masse')

7.26. Übersicht über die Verzehrswerte in g/Tag aus der DONALD-Studie nach den Angaben des Forschungsinstitutes für Kinderernährung in Dortmund

Tabelle 135:

Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Muttermilch [g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	544,6 ± 391,2	665,8	1000,0	1146,7	1186,7	573,0 ± 311,0	668,3	866,7	880,0
6 Monate	81	94	294,7 ± 344,6	153,3	870,0	946,7	990,0	401,1 ± 323,2	448,3	816,7	886,7
9 Monate	93	90	73,6 ± 152,1	0	286,7	400,0	706,7	57,5 ± 134,8	0	231,7	436,7
12 Monate	88	94	13,6 ± 59,9	0	0	96,7	383,3	15,0 ± 58,3	0	0	110,0
18 Monate	87	98	2,6 ± 24,1	0	0	0	225,0	0			
24 Monate	76	90	0					0			
36 Monate	75	79	0					0			

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	37	52	735,9 ± 252,3	776,7	1013,3	1163,3	1186,7	705,3 ± 156,2	720,0	873,3	890,0
6 Monate	44	69	542,5 ± 288,8	568,3	946,7	956,7	990,0	546,5 ± 249,6	581,7	856,7	980,0
9 Monate	29	20	236,0 ± 190,7	163,3	573,3	688,3	706,7	258,6 ± 174,2	178,3	480,8	536,7
12 Monate	6	8	199,7 ± 133,2	189,2	383,3	383,3	383,3	176,3 ± 112,3	113,3	390,0	390,0
18 Monate	1	0	225,0 ± 0					0			
24 Monate	0	0	0					0			
36 Monate	0	0	0					0			

Tabelle 136:

Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Säuglingsanfangsnahrungen [g Trockengewicht/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	46,4 ± 59,1	0	133,2	140,5	151,6	22,2 ± 41,3	0	105,3	113,2
6 Monate	81	94	27,3 ± 41,4	0	107,0	109,9	138,2	12,6 ± 27,9	0	58,9	85,0
9 Monate	93	90	13,2 ± 22,4	0	45,9	64,4	90,1	10,8 ± 20,0	0	42,6	52,6
12 Monate	88	94	6,6 ± 15,9	0	30,3	40,0	71,3	6,3 ± 16,6	0	35,0	58,2
18 Monate	87	98	1,6 ± 7,7	0	0	0	49,1	0,9 ± 4,9	0	0	0
24 Monate	76	90	0,3 ± 3,0	0	0	0	26,0	0,7 ± 4,5	0	0	0
36 Monate	75	79	0					0			

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	23	17	100,9 ± 45,0	119,4	140,5	145,7	151,6	83,6 ± 35,5	96,1	125,0	132,1
6 Monate	30	22	73,7 ± 34,4	67,9	115,1	128,9	138,2	53,6 ± 33,9	54,9	91,7	114,0
9 Monate	32	26	38,4 ± 22,1	31,8	77,7	87,7	90,1	37,4 ± 19,7	34,8	64,1	68,3
12 Monate	18	14	32,4 ± 20,0	29,4	69,6	71,3	71,3	42,1 ± 17,7	41,1	65,1	70,0
18 Monate	4	3	35,4 ± 10,5	34,4	49,1	49,1	49,1	28,1 ± 4,3	28,7	32,0	32,0
24 Monate	1	3	26,0 ± 0					22,0 ± 14,4	19,5	37,5	37,5
36 Monate	0	0	0					0			

Tabelle 137:

Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Folgemilchnahrungen [g Trockengewicht /Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	0,4 ± 2,8	0	0	0	20,1	0			
6 Monate	81	94	16,9 ± 34,5	0	71,4	86,7	162,9	11,4 ± 29,5	0	53,3	83,0
9 Monate	93	90	23,5 ± 31,7	0	65,4	86,8	130,8	24,8 ± 31,7	0	70,4	91,0
12 Monate	88	94	18,3 ± 28,5	0	65,4	75,2	135,4	17,2 ± 26,8	0	60,0	78,6
18 Monate	87	98	5,1 ± 14,0	0	29,7	38,3	71,7	1,3 ± 6,7	0	0	0
24 Monate	76	90	2,1 ± 9,7	0	0	20,7	70,7	0,6 ± 5,8	0	0	0
36 Monate	75	79	0					0,8 ± 4,8	0	0	0

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	1	0	20,1 ± 0					0			
6 Monate	21	17	65,2 ± 38,3	68,5	105,9	116,1	162,9	62,9 ± 39,9	60,6	124,6	124,6
9 Monate	43	40	50,8 ± 27,9	45,0	86,8	112,1	130,8	55,9 ± 22,7	48,5	92,1	100,9
12 Monate	35	34	45,9 ± 27,7	39,7	75,6	105,5	135,4	47,6 ± 23,2	42,2	80,1	84,9
18 Monate	13	4	33,8 ± 18,5	32,1	62,3	71,7	71,7	32,2 ± 10,3	30,8	45,5	45,5
24 Monate	5	1	31,4 ± 24,7	21,3	70,7	70,7	70,7	55,3 ± 0			
36 Monate	0	2	0					30,1 ± 6,9	30,1	35,0	35,0

Tabelle 138:

Anhang 7.26.: Verzehrswerte für kommerzielle Fleisch-Gemüse-Breie [g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	0					0			
6 Monate	81	94	56,5 ± 67,7	13,8	171,5	188,0	196,3	39,6 ± 65,9	0	162,3	180,7
9 Monate	93	90	98,6 ± 84,3	116,3	210,0	220,0	224,3	93,2 ± 79,5	84,0	200,3	206,7
12 Monate	88	94	80,5 ± 89,2	50,2	213,7	220,0	250,0	69,3 ± 78,7	35,0	188,7	212,3
18 Monate	87	98	26,4 ± 51,7	0	124,0	160,3	180,0	32,7 ± 62,6	0	116,0	187,0
24 Monate	76	90	13,9 ± 38,9	0	83,3	83,3	243,3	14,9 ± 49,7	0	31,8	134,0
36 Monate	75	79	4,2 ± 21,9	0	0	0	156,3	4,9 ± 26,2	0	0	39,0

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	0	0									
6 Monate	41	32	111,6 ± 53,5	117,0	188,0	190,0	196,3	116,2 ± 62,0	124,2	182,0	191,0
9 Monate	61	61	150,4 ± 54,7	146,7	216,0	220,0	224,3	137,5 ± 56,5	146,7	204,7	208,0
12 Monate	47	49	150,8 ± 64,9	163,3	220,0	239,3	250,0	132,9 ± 57,9	135,3	212,3	220,0
18 Monate	21	28	109,3 ± 44,3	83,3	166,7	178,7	180,0	114,8 ± 65,8	90,7	220,0	235,0
24 Monate	12	10	88,2 ± 56,5	83,3	115,7	243,3	243,3	134,2 ± 81,5	124,8	253,7	259,7
36 Monate	3	6	104,3 ± 45,3	83,3	156,3	156,3	156,3	64,0 ± 78,7	42,8	218,3	218,3

Tabelle 139:

Anhang 7.26.: Verzehrswerte für kommerzielle, vegetarische Menüs [g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	0					1,6 ± 8,5	0	0	0
6 Monate	81	94	44,5 ± 53,1	21,3	123,3	153,3	190,0	43,9 ± 51,0	26,2	120,0	143,2
9 Monate	93	90	34,5 ± 48,8	0	74,2	146,7	204,4	20,3 ± 44,6	0	67,3	121,7
12 Monate	88	94	9,0 ± 26,4	0	63,3	83,3	124,5	13,3 ± 32,3	0	60,0	73,3
18 Monate	87	98	3,3 ± 16,3	0	0	0	110,8	2,1 ± 15,7	0	0	0
24 Monate	76	90	1,6 ± 13,2	0	0	0	114,6	0	0		
36 Monate	75	79	0					0	0		

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	0	3	0					34,9 ± 23,0	23,3	61,3	61,3
6 Monate	43	50	83,9 ± 44,6	72,2	153,3	164,0	190,0	82,6 ± 41,0	75,6	134,6	160,0
9 Monate	41	24	78,3 ± 44,2	68,0	146,7	179,7	204,4	76,2 ± 57,1	57,2	171,5	190,0
12 Monate	10	17	79,4 ± 23,2	79,2	112,0	124,5	124,5	73,5 ± 36,6	63,3	137,1	165,6
18 Monate	4	2	71,3 ± 33,7	71,2	110,8	110,8	110,8	102,3 ± 59,4	102,3	144,3	144,3
24 Monate	2	0	59,4 ± 78,1	59,4	114,6	114,6	114,6	0			
36 Monate	0	0	0					0			

Tabelle 140:

Anhang 7.26.: Verzehrswerte für kommerzielle Säuglingsgetreideprodukte [Trockengewicht g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	0,0					0			
6 Monate	81	94	9,4 ± 14,4	0	29,4	37,2	76,0	4,9 ± 8,3	0	18,2	24,7
9 Monate	93	90	19,3 ± 16,5	19,8	40,3	50,8	73,2	17,5 ± 14,8	15,8	39,2	41,7
12 Monate	88	94	13,4 ± 14,9	10,6	31,7	47,4	61,0	10,2 ± 11,9	7,0	28,3	33,3
18 Monate	87	98	3,2 ± 7,8	0	10,9	27,8	34,6	3,4 ± 7,7	0	12,8	21,0
24 Monate	76	90	0,9 ± 4,5	0	0	5,9	34,1	1,1 ± 4,1	0	0,7	10,0
36 Monate	75	79	0,5 ± 4,4	0	0	0	38,3	1,6 ± 5,6	0	6,0	13,8

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	0	0	0					0			
6 Monate	33	30	23,0 ± 14,0	20,6	37,7	43,6	76,0	15,3 ± 7,6	15,0	25,8	28,8
9 Monate	71	69	25,2 ± 14,3	23,3	42,8	51,5	73,2	22,9 ± 12,8	20,6	40,0	43,9
12 Monate	57	56	20,6 ± 13,9	17,7	41,6	55,1	60,8	17,2 ± 10,9	15,8	29,5	42,1
18 Monate	20	24	13,8 ± 10,9	9,3	29,9	32,8	34,6	13,9 ± 9,9	11,8	26,2	30,7
24 Monate	4	9	16,6 ± 12,2	13,1	34,1	34,1	34,1	11,1 ± 7,8	10,0	25,7	25,7
36 Monate	1	8	38,3 ± 0					15,5 ± 9,9	13,1	36,7	36,7

Tabelle 141:

Anhang 7.26.: Verzehrswerte für kommerzielle Milchbreie [verzehrsmfertige Mengen g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	0					0			
6 Monate	81	94	11,7 ± 42,5	0	0	114,0	217,3	8,7 ± 34,3	0	0	108,3
9 Monate	93	90	27,2 ± 66,3	0	126,0	182,8	380,3	19,2 ± 51,5	0	115,8	159,3
12 Monate	88	94	22,1 ± 69,7	0	85,3	174,0	388,7	15,9 ± 51,6	0	33,0	145,6
18 Monate	87	98	6,4 ± 29,3	0	0	33,7	182,0	0,7 ± 6,4	0	0	0
24 Monate	76	90	0					0			
36 Monate	75	79	1,0 ± 8,7	0	0	0	75,3	0			

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	0	0	0					0			
6 Monate	7	8	135,0 ± 68,0	163,0	217,3	217,3	217,3	102,6 ± 68,2	109,0	229,7	229,7
9 Monate	21	13	120,7 ± 91,6	97,4	217,3	273,7	380,3	133,0 ± 57,1	145,2	194,0	195,0
12 Monate	11	10	176,4 ± 111,2	126,4	303,7	388,7	388,7	149,8 ± 72,4	145,6	256,2	257,7
18 Monate	5	1	111,9 ± 61,6	94,7	182,0	182,0	182,0	63,3 ± 0	63,3	63,3	63,3
24 Monate	0	0	0					0			
36 Monate	1	0	75,3 ± 0	75,3	75,3	75,3	75,3	0			

Tabelle 142:

Anhang 7.26.: Verzehrswerte für kommerzielles Obstpüree [g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl Jun. Mäd.		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
3 Monate	50	64	0					0			
6 Monate	81	94	28,2 ± 48,9	0	84,3	91,9	246,7	16,5 ± 29,3	0	66,5	89,0
9 Monate	93	90	54,0 ± 67,4	36,3	150,0	195,4	340,5	40,1 ± 52,0	9,2	100,3	135,0
12 Monate	88	94	34,4 ± 50,5	0	117,2	149,0	218,0	29,7 ± 42,3	0	82,3	126,7
18 Monate	87	98	12,7 ± 33,7	0	54,7	66,0	226,0	9,3 ± 25,2	0	36,7	60,0
24 Monate	76	90	1,2 ± 8,0	0	0	0	63,3	2,7 ± 14,7	0	0	0
36 Monate	75	79	1,7 ± 10,4	0	0	0	64,3	2,4 ± 20,3	0	0	0

Konsumenten

Alter	Anzahl Jun. Mäd.		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
3 Monate	0	0	0					0			
6 Monate	34	32	67,1 ± 55,6	56,7	153,7	211,0	246,7	48,6 ± 31,1	41,8	89,1	108,3
9 Monate	53	47	94,7 ± 64,2	74,5	194,8	219,6	340,5	76,7 ± 48,5	74,1	135,0	186,0
12 Monate	38	41	79,5 ± 47,9	65,2	154,1	170,0	218,0	68,0 ± 38,4	62,0	126,7	130,1
18 Monate	17	18	65,2 ± 49,6	54,7	126,7	226,0	226,0	50,4 ± 37,7	42,9	91,7	166,7
24 Monate	2	4	47,0 ± 23,1	47,0	63,3	63,3	63,3	61,3 ± 40,1	48,7	117,3	117,3
36 Monate	2	2	63,8 ± 0,7	63,8	64,3	64,3	64,3	95,3 ± 119,8	95,3	180,0	180,0

Tabelle 143:

Anhang 7.26.: Verzehrswerte für kommerzielles Obstpüree mit Milchprodukten [g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	0					0			
6 Monate	81	94	0					0,7 ± 6,5	0	0	0
9 Monate	93	90	1,9 ± 9,9	0	0	0	62,0	4,1 ± 17,7	0	0	55,0
12 Monate	88	94	2,9 ± 14,3	0	0	0	93,7	1,4 ± 9,2	0	0	0
18 Monate	87	98	0					2,4 ± 19,4	0	0	0
24 Monate	76	90	0					2,0 ± 19,3	0	0	0
36 Monate	75	79	0					0			

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	0	0	0					0			
6 Monate	0	1	0					63,0 ± 0			
9 Monate	4	5	44,3 ± 22,3	50,3	62,0	62,0	62,0	74,2 ± 21,6	63,3	109,3	109,3
12 Monate	4	2	64,1 ± 26,4	66,3	93,7	93,7	93,7	63,3 ± 0	63,3	63,3	63,3
18 Monate	0	2	0					119,2 ± 93,1	119,2	185,0	185,0
24 Monate	0	1	0					182,7 ± 0			
36 Monate	0	0	0					0			

Tabelle 144:

Anhang 7.26.: Verzehrswerte für kommerzielle Getreide-Obst-Breie [g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	0					0			
6 Monate	81	94	11,5 ± 37,9	0	26,3	63,7	190,0	8,9 ± 34,3	0	5,3	62,7
9 Monate	93	90	56,7 ± 73,2	0	180,3	190,0	316,7	51,9 ± 73,0	0	187,7	190,0
12 Monate	88	94	27,3 ± 46,6	0	107,7	126,7	190,0	38,9 ± 73,2	0	134,7	185,3
18 Monate	87	98	4,3 ± 17,9	0	0	31,7	26,7	8,9 ± 34,2	0	0	63,3
24 Monate	76	90	0					1,7 ± 11,3	0	0	0
36 Monate	75	79	0,3 ± 2,7	0	0	0	23,3	3,4 ± 30,0	0	0	0

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	0	0	0					0			
6 Monate	10	10	93,2 ± 65,5	63,5	189,2	190,0	190,0	83,9 ± 71,7	58,3	194,8	209,0
9 Monate	46	39	114,6 ± 64,6	108,8	190,0	201,7	316,7	119,8 ± 64,3	118,3	196,7	220,0
12 Monate	29	32	82,9 ± 44,4	63,3	152,4	186,7	190,0	114,2 ± 84,4	87,7	186,0	222,7
18 Monate	6	9	61,6 ± 35,7	60,7	126,7	126,7	126,7	96,9 ± 68,0	63,3	237,7	237,7
24 Monate	0	2	0					75,3 ± 17,0	75,3	87,3	87,3
36 Monate	1	1	23,3 ± 0					266,7 ± 0			

Tabelle 145:

Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Säuglings- und Kleinkinderkekse bzw. Zwieback [g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	0					0			
6 Monate	81	94	0					0,1 ± 0,6	0	0	0
9 Monate	93	90	0,6 ± 3,2	0	0	0	23,3	0,1 ± 0,8	0	0	0
12 Monate	88	94	1,1 ± 4,0	0	3,0	10,0	29,3	0,3 ± 1,0	0	0	2,7
18 Monate	87	98	0,5 ± 1,9	0	0	4,7	13,3	0,04 ± 0,4	0	0	0
24 Monate	76	90	0,1 ± 0,8	0	0	0	6,7	0,3 ± 1,4	0	0	3,0
36 Monate	75	79	0					0,1 ± 0,8	0	0	0

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	0	0									
6 Monate	0	1	0					5,7 ± 0			
9 Monate	4	2	13,4 ± 9,4	14,3	23,3	23,3	23,3	5,5 ± 1,6	5,5	6,7	6,7
12 Monate	10	7	9,7 ± 7,9	9,3	21,7	29,3	29,3	3,4 ± 1,9	2,7	7,3	7,3
18 Monate	6	1	6,6 ± 3,7	6,2	13,3	13,3	13,3	4,0 ± 0			
24 Monate	2	6	4,2 ± 3,5	4,2	6,7	6,7	6,7	5,0 ± 2,1	5,0	8,3	8,3
36 Monate	0	2	0					5,0 ± 0	5,0	5,0	5,0

Tabelle 146:

Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Säfte für Säuglinge und Kleinkinder [g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	0,0					1,0 ± 8,4	0	0	0
6 Monate	81	94	6,7 ± 17,4	0	20,0	36,7	87,8	2,4 ± 11,3	0	0,4	14,7
9 Monate	93	90	19,7 ± 41,8	0	63,9	100,0	243,1	10,3 ± 23,5	0	35,0	79,2
12 Monate	88	94	13,9 ± 29,2	0	56,7	79,8	143,3	11,6 ± 27,4	0	53,3	90,0
18 Monate	87	98	18,6 ± 61,4	0	66,7	138,7	465,9	6,0 ± 22,0	0	16,2	48,3
24 Monate	76	90	9,0 ± 36,9	0	0	70,0	221,7	6,1 ± 47,2	0	0	0
36 Monate	75	79	1,1 ± 9,6	0	0	0	83,3	1,5 ± 8,2	0	0	0

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	0	1	0					66,8 ± 0			
6 Monate	17	10	32,0 ± 25,5	20,0	82,5	87,8	87,8	22,7 ± 28,4	14,0	66,2	99,1
9 Monate	29	22	63,1 ± 53,7	44,4	150,5	183,3	243,1	42,0 ± 30,6	31,5	83,6	91,8
12 Monate	22	21	55,4 ± 33,5	50,3	100,0	121,0	143,3	52,0 ± 36,0	43,2	106,7	116,7
18 Monate	14	10	115,8 ± 113,2	82,8	173,3	465,9	465,9	58,8 ± 42,1	45,8	122,5	166,7
24 Monate	6	3	114,0 ± 77,9	98,1	221,7	221,7	221,7	182,1 ± 226,0	58,3	443,0	443,0
36 Monate	1	3	83,3 ± 0					38,6 ± 21,7	33,3	62,5	62,5

Tabelle 147:

Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Säuglings- und Kleinkindertee [g verzehrfertiger Tee /Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	2,4 ± 9,9	0	0	26,0	54,7	0,8 ± 4,5	0	0	0
6 Monate	81	94	7,7 ± 24,7	0	26,4	51,3	130,1	2,5 ± 14,5	0	0	3,3
9 Monate	93	90	5,4 ± 24,1	0	0	31,3	173,6	15,5 ± 55,3	0	15,8	127,5
12 Monate	88	94	9,1 ± 54,3	0	0	0	439,3	4,8 ± 46,9	0	0	0
18 Monate	87	98	2,6 ± 24,1	0	0	0	224,3	3,1 ± 27,2	0	0	0
24 Monate	76	90	2,8 ± 14,2	0	0	0	87,3	0			
36 Monate	75	79	0					0			

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	3	2	39,2 ± 14,5	37,0	54,7	54,7	54,7	25,5 ± 3,3	25,5	27,8	27,8
6 Monate	10	5	62,5 ± 40,3	50,0	115,1	130,1	130,1	46,1 ± 48,6	36,7	127,7	127,7
9 Monate	8	10	62,6 ± 59,6	31,7	173,6	173,6	173,6	139,3 ± 105,5	123,8	304,3	331,9
12 Monate	3	1	267,6 ± 156,4	230,2	439,3	439,3	439,3	454,7 ± 0			
18 Monate	1	2	224,3 ± 0					153,4 ± 160,2	153,4	266,7	266,7
24 Monate	3	0	71,5 ± 13,9	66,7	87,3	87,3	87,3	0			
36 Monate	0	0	0								

Tabelle 148:

Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Brot und Getreideflocken [g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	0					0			
6 Monate	81	94	0,5 ± 2,5	0	0	1,8	19,4	0,4 ± 2,0	0	0	2,6
9 Monate	93	90	10,5 ± 14,3	3,4	32,2	39,2	64,2	8,8 ± 16,7	2,9	26,8	35,1
12 Monate	88	94	39,7 ± 27,7	32,7	80,7	89,9	111,3	34,5 ± 25,9	30,3	64,9	85,2
18 Monate	87	98	54,2 ± 26,8	53,6	92,4	104,7	124,7	50,6 ± 25,5	46,0	85,8	97,5
24 Monate	76	90	59,5 ± 25,1	59,0	92,8	107,3	118,9	56,0 ± 23,7	55,4	88,7	96,6
36 Monate	75	79	75,2 ± 30,1	72,1	119,2	137,5	160,4	59,4 ± 26,6	54,6	89,6	106,0

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	0	0	0					0			
6 Monate	7	6	5,6 ± 7,0	2,3	19,4	19,4	19,4	5,9 ± 5,9	4,3	17,2	17,2
9 Monate	54	53	18,0 ± 14,7	13,5	39,0	51,6	64,2	15,0 ± 19,6	7,0	34,2	49,7
12 Monate	87	91	40,1 ± 27,6	32,8	80,7	89,9	111,3	35,7 ± 25,6	35,0	64,9	85,2
18 Monate	87	97	54,2 ± 26,8	53,6	92,4	104,7	124,7	51,1 ± 25,2	46,0	85,8	97,5
24 Monate	76	90	59,5 ± 25,1	59,0	92,8	107,3	118,9	56,0 ± 23,7	55,4	88,7	96,6
36 Monate	75	79	75,2 ± 30,1	72,1	119,2	137,5	160,4	59,4 ± 26,6	54,6	89,6	106,0

Tabelle 149:

Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Beilagen [g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	0					0			
6 Monate	81	94	10,5 ± 19,8	0	48,4	52,9	74,1	8,1 ± 16,3	0	36,4	50,0
9 Monate	93	90	21,2 ± 26,7	0	57,8	64,7	104,2	23,1 ± 28,6	11,2	61,5	85,7
12 Monate	88	94	42,8 ± 35,8	40,6	90,5	98,6	132,0	38,3 ± 32,8	37,2	78,3	87,6
18 Monate	87	98	55,2 ± 35,8	50,1	102,0	127,8	206,7	48,8 ± 31,2	48,0	101,0	105,4
24 Monate	76	90	57,3 ± 35,1	52,5	96,5	123,9	220,0	56,5 ± 31,2	52,4	100,0	113,6
36 Monate	75	79	66,1 ± 35,5	59,1	116,2	126,7	201,5	59,8 ± 31,7	54,3	100,5	110,0

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	0	0	0					0			
6 Monate	21	25	40,5 ± 17,2	42,7	60,6	69,6	74,1	30,4 ± 17,8	32,6	52,7	57,2
9 Monate	45	51	43,9 ± 21,9	45,7	64,7	82,3	104,2	40,8 ± 26,8	38,6	77,6	89,7
12 Monate	67	76	56,3 ± 30,4	56,5	92,6	102,0	132,0	47,4 ± 29,9	44,4	81,1	88,2
18 Monate	85	91	56,5 ± 35,2	50,7	102,0	127,8	206,7	52,6 ± 29,2	50,3	101,0	105,4
24 Monate	76	87	57,3 ± 35,1	52,5	96,5	123,9	220,0	58,5 ± 29,9	53,5	100,3	113,6
36 Monate	74	77	67,0 ± 34,9	59,6	116,2	126,7	201,5	61,4 ± 30,6	54,8	100,5	110,0

Tabelle 150:

Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Gemüse und Gemüseprodukte [g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	0					0			
6 Monate	81	94	13,4 ± 30,2	0	58,3	85,4	156,4	12,7 ± 29,1	0	71,4	92,2
9 Monate	93	90	30,8 ± 44,3	0	101,9	110,9	140,3	31,5 ± 43,1	0	99,4	118,3
12 Monate	88	94	55,4 ± 56,9	43,3	132,0	152,0	295,9	48,8 ± 47,2	43,0	114,3	135,3
18 Monate	87	98	59,7 ± 46,3	52,2	109,5	143,3	217,8	63,0 ± 58,7	53,1	115,0	153,0
24 Monate	76	90	64,4 ± 56,7	53,2	106,7	148,5	419,1	74,9 ± 51,3	63,8	139,0	179,6
36 Monate	75	79	68,9 ± 48,2	61,8	140,3	158,3	270,8	62,8 ± 38,5	58,5	120,7	133,9

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	0	0	0					0			
6 Monate	17	20	63,6 ± 33,9	58,3	98,1	156,4	156,4	59,5 ± 34,9	70,2	100	102,7
9 Monate	37	44	77,3 ± 36,2	83,4	117,7	138,3	140,3	64,4 ± 40,8	57,8	118,3	128,4
12 Monate	63	74	77,3 ± 53,1	68,9	133,7	160,3	295,9	62,0 ± 44,8	54,6	115,6	139,0
18 Monate	80	90	65,0 ± 44,6	61,0	115,9	150,0	217,8	68,6 ± 58,0	54,7	123,4	153,0
24 Monate	75	87	65,3 ± 56,6	53,3	106,7	148,5	419,1	77,4 ± 50,2	69,3	139,6	179,6
36 Monate	72	77	71,8 ± 47,1	65,1	140,3	158,3	270,8	64,4 ± 37,6	60,3	120,7	133,9

Tabelle 151:
Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Obst und Obstprodukte [g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	0					0			
6 Monate	81	94	23,7 ± 42,0	0	92,3	124,0	168,1	13,7 ± 28,7	0	42,7	81,7
9 Monate	93	90	91,1 ± 85,5	73,0	222,0	258,4	347,8	72,8 ± 71,9	49,5	194,5	216,2
12 Monate	88	94	139,1 ± 109,6	121,7	270	308,9	571,0	115,6 ± 93,3	101,6	233,5	264,8
18 Monate	87	98	249,3 ± 188,6	225,2	491,7	619,0	1053,0	165,2 ± 102,5	139,1	304,4	396,3
24 Monate	76	90	285,5 ± 155,8	260,9	442,0	666,1	805,7	223,9 ± 183,3	192,6	342,2	521,4
36 Monate	75	79	281,4 ± 153,6	273,6	476,2	561,2	670,0	242,0 ± 151,1	203,3	441,7	523,0

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	0	0	0					0			
6 Monate	32	36	60,1 ± 48,6	46,5	138,3	153,0	168,1	35,7 ± 37,1	22,3	92,0	131,4
9 Monate	75	76	113,0 ± 81,2	100,1	230,0	267,2	347,8	86,2 ± 70,4	61,5	199,6	219,7
12 Monate	82	87	149,3 ± 106,6	129,5	270,0	308,9	571,0	124,9 ± 90,7	110,0	241,7	264,8
18 Monate	87	97	249,3 ± 188,6	225,2	491,7	619,0	1053,0	166,9 ± 101,6	139,3	304,4	396,3
24 Monate	76	87	285,5 ± 155,8	260,9	442,0	666,1	805,7	231,7 ± 181,6	193,7	357,7	521,4
36 Monate	73	79	289,1 ± 148,3	274,6	476,2	561,2	670,0	242,0 ± 151,1	203,3	441,7	523,0

Tabelle 152:

Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Milch und Milchprodukte [g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl Jun. Mäd.		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
3 Monate	50	64	0					0			
6 Monate	81	94	48,3 ± 93,1	0	189,7	200,1	533,8	21,6 ± 50,1	0	110,8	158,3
9 Monate	93	90	86,9 ± 98,3	50,0	215,3	256,0	363,3	101,0 ± 131,9	21,6	243,9	397,9
12 Monate	88	94	200,2 ± 165,9	174,5	423,4	501,3	694,8	192,5 ± 161,8	161,8	419,0	497,5
18 Monate	87	98	313,3 ± 181,2	301,7	550,3	584,9	825,4	327,6 ± 164,5	328,6	525,0	617,2
24 Monate	76	90	283,8 ± 159,5	286,2	503,3	549,7	661,6	286,6 ± 182,2	267,7	517,9	665,9
36 Monate	75	79	310,0 ± 173,1	283,8	584,3	722,3	760,9	294,7 ± 197,0	243,3	530,0	627,4

Konsumenten

Alter	Anzahl Jun. Mäd.		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
3 Monate	0	0									
6 Monate	22	22	177,8 ± 94,2	177,8	233,7	236,5	533,8	92,4 ± 65,2	75,6	185,5	199,7
9 Monate	56	48	144,2 ± 87,9	163,8	253,3	267,5	363,3	189,3 ± 125,9	185,4	397,9	456,2
12 Monate	76	86	231,8 ± 156,5	220,5	426,3	530,1	694,8	210,4 ± 157,5	180,5	423,9	497,5
18 Monate	86	98	316,9 ± 179,0	304,5	550,3	584,9	825,4	327,6 ± 164,5	328,6	525,0	617,2
24 Monate	76	90	283,8 ± 159,5	286,2	503,3	549,7	661,6	286,6 ± 182,2	267,7	517,9	665,9
36 Monate	75	79	310,0 ± 173,1	283,8	584,3	722,3	760,9	294,7 ± 197,0	243,3	530,0	627,4

Tabelle 153:

Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Eier und Eiprodukte [g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	0					0			
6 Monate	81	94	0					0,1 ± 0,9	0	0	0
9 Monate	93	90	0,4 ± 1,9	0	0	3,0	13,0	0,2 ± 1,2	0	0	0,3
12 Monate	88	94	1,2 ± 4,0	0	5,7	9,4	26,0	1,7 ± 4,2	0	6,7	14,4
18 Monate	87	98	8,1 ± 12,6	1,9	19,9	23,3	92,3	6,7 ± 9,0	1,8	18,3	26,0
24 Monate	76	90	8,3 ± 10,6	3,5	23,2	34,5	41,3	7,7 ± 9,4	3,2	20,7	23,8
36 Monate	75	79	12,4 ± 22,2	5,7	26,8	44,9	163,7	10,4 ± 12,3	7,2	24,7	37,2

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	0	0	0					0			
6 Monate	0	1	0					8,3 ± 0	8,3	8,3	8,3
9 Monate	7	5	5,6 ± 4,3	5,4	13,0	13,0	13,0	3,7 ± 4,3	2,3	10,5	10,5
12 Monate	12	21	9,1 ± 6,8	7,7	17,3	26,0	26,0	7,5 ± 5,9	5,2	15,4	16,5
18 Monate	53	55	13,3 ± 13,8	12,2	23,3	27,5	92,3	11,9 ± 9,1	11,1	23,8	30,7
24 Monate	46	58	13,8 ± 10,6	11,7	30,0	34,7	41,3	12,0 ± 9,3	9,6	22,7	30,0
36 Monate	52	58	17,8 ± 24,8	10,8	31,3	61,3	163,7	14,2 ± 12,4	12,5	29,7	37,2

Tabelle 154:

Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Fleisch und Wurstwaren [g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	0					0			
6 Monate	81	94	2,2 ± 6,7	0	7,3	13,3	32,3	0,8 ± 3,3	0	0	5,3
9 Monate	93	90	4,6 ± 8,9	0	17,7	29,0	34,3	4,9 ± 9,2	0	22,2	26,7
12 Monate	88	94	12,3 ± 15,6	7,2	31,0	43,0	73,0	16,1 ± 19,4	10,7	36,6	45,3
18 Monate	87	98	28,9 ± 22,0	26,5	60,7	65,3	105,5	27,2 ± 21,3	21,6	56,3	62,4
24 Monate	76	90	35,5 ± 24,3	37,3	67,4	85,3	109,8	38,5 ± 24,9	33,0	72,9	82,1
36 Monate	75	79	45,0 ± 27,9	44,1	77,0	104,1	137,8	40,2 ± 24,5	38,5	76,8	88,0

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	0	0	0					0			
6 Monate	11	7	15,9 ± 10,9	11,5	29,1	32,3	32,3	10,5 ± 6,7	10,0	19,7	19,7
9 Monate	31	29	13,7 ± 10,6	11,5	30,0	32,4	34,3	15,3 ± 10,2	13,9	27,3	30,0
12 Monate	60	69	18,1 ± 15,9	15,6	38,2	54,3	73,0	21,9 ± 19,6	19,0	43,0	48,7
18 Monate	79	92	31,9 ± 21,0	28,6	64,6	69,1	105,5	28,9 ± 20,7	23,8	56,3	62,4
24 Monate	69	88	39,2 ± 22,5	39,0	69,3	85,3	109,8	39,4 ± 24,5	34,2	73,1	82,1
36 Monate	72	75	46,9 ± 26,9	44,7	77,0	104,1	137,8	42,4 ± 23,2	39,1	76,8	88,0

Tabelle 155:
Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Fisch und Fischprodukte [g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	0					0			
6 Monate	81	94	0					0			
9 Monate	93	90	0,1 ± 0,8	0	0	0	7,4	0			
12 Monate	88	94	1,1 ± 4,1	0	0	9,6	24,8	1,2 ± 4,0	0	1,7	12,4
18 Monate	87	98	2,6 ± 8,2	0	11,3	17,5	53,2	2,1 ± 5,1	0	10,9	16,2
24 Monate	76	90	6,1 ± 11,9	0	22,1	34,5	59,7	4,7 ± 10,0	0	19,6	30,1
36 Monate	75	79	3,5 ± 7,0	0	15,8	22,4	30,0	7,6 ± 12,5	0	29,7	40,0

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	0	0									
6 Monate	0	0									
9 Monate	1	0	7,4								
12 Monate	7	10	13,4 ± 6,7	11,0	24,8	24,8	24,8	11,4 ± 6,0	11,2	19,3	24,0
18 Monate	14	18	16,2 ± 14,3	13,6	36,3	53,2	53,2	11,2 ± 6,5	11,0	20,5	21,8
24 Monate	25	24	18,6 ± 14,1	15,4	38,0	44,7	59,7	17,6 ± 12,2	14,8	32,0	38,4
36 Monate	21	29	12,6 ± 7,9	9,7	23,3	23,7	30,0	20,6 ± 12,6	18,0	41,3	42,3

Tabelle 156:
Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Fette und Öle [g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	0					0			
6 Monate	81	94	2,3 ± 3,9	0	7,5	10,3	18,0	2,0 ± 3,9	0	8,0	10,0
9 Monate	93	90	5,5 ± 6,0	4,1	13,3	17,0	31,3	5,2 ± 5,7	3,7	12,9	16,2
12 Monate	88	94	7,0 ± 5,2	7,0	13,5	14,6	25,6	6,1 ± 5,5	4,9	14,1	17,1
18 Monate	87	98	7,6 ± 4,9	7,0	14,1	16,6	25,7	7,9 ± 4,7	7,6	15,7	17,4
24 Monate	76	90	8,0 ± 5,1	7,1	14,2	16,4	28,5	7,8 ± 5,0	7,0	14,3	18,9
36 Monate	75	79	9,8 ± 5,4	9,0	17,3	19,5	22,7	8,6 ± 5,9	7,2	17,0	24,0

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	0	0									
6 Monate	37	32	5,1 ± 4,4	4,0	11,6	14,3	18,0	5,9 ± 4,6	6,2	10,0	10,7
9 Monate	69	60	7,4 ± 5,8	5,8	14,4	17,4	31,3	7,8 ± 5,4	6,5	15,5	17,3
12 Monate	81	81	7,6 ± 5,0	8,1	13,5	14,6	25,6	7,1 ± 5,3	6,0	15,0	17,1
18 Monate	86	97	7,6 ± 4,9	7,1	14,1	16,6	25,7	8,0 ± 4,6	7,6	15,7	17,4
24 Monate	75	90	8,1 ± 5,1	7,2	14,2	16,4	28,5	7,8 ± 5,0	7,0	14,3	18,9
36 Monate	74	78	10,0 ± 5,3	9,1	17,3	19,5	22,7	8,7 ± 5,8	7,2	17,0	24,0

Tabelle 157:
Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Süßigkeiten und Gebäck [g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	0					0			
6 Monate	81	94	1,3 ± 3,8	0	3,3	10,0	25,6	0,8 ± 4,8	0	0	2,7
9 Monate	93	90	5,0 ± 7,9	1,7	15,0	21,3	39,5	2,8 ± 5,6	0	8,0	12,0
12 Monate	88	94	12,8 ± 13,1	10,0	24,0	45,5	60,6	8,0 ± 9,0	5,5	16,3	23,5
18 Monate	87	98	23,7 ± 19,4	18,3	53,5	57,7	83,3	21,9 ± 14,6	20,2	41,9	46,0
24 Monate	76	90	34,5 ± 19,9	32,4	63,7	71,7	78,5	31,4 ± 21,8	27,4	62,5	66,9
36 Monate	75	79	55,0 ± 32,1	49,0	99,0	122,5	139,3	50,9 ± 23,5	48,8	79,0	98,3

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	0	1						9,33			
6 Monate	15	9	7,0 ± 6,5	3,3	12,8	25,6	25,6	8,1 ± 14,1	2,7	44,8	44,8
9 Monate	53	43	8,8 ± 8,8	5,7	21,3	29,2	39,5	5,9 ± 6,9	4,3	12,0	16,4
12 Monate	78	73	14,4 ± 13,0	10,8	26,9	49,3	60,6	10,2 ± 9,0	7,5	18,3	26,0
18 Monate	83	92	24,9 ± 19,1	20,5	53,5	57,7	83,3	23,4 ± 14,0	21,9	41,9	46,0
24 Monate	76	89	34,5 ± 19,9	32,4	63,7	71,7	78,5	31,8 ± 21,6	27,6	63,3	66,9
36 Monate	74	79	55,8 ± 31,7	49,1	99,0	122,5	139,3	50,9 ± 23,5	48,8	79,0	98,3

Tabelle 158:
Anhang 7.26.: Verzehrswerte für Getränke [g/Tag]

Gesamtkollektiv

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	50	64	18,5 ± 106,4	0	16,8	38,3	751,8	12,3 ± 41,3	0	25,0	66,3
6 Monate	81	94	26,4 ± 51,4	0	100,0	130,0	250,0	34,0 ± 89,2	0	88,3	170,7
9 Monate	93	90	92,2 ± 143,1	29,8	232,3	438,3	830,0	118,1 ± 153,4	71,5	329,1	414,1
12 Monate	88	94	198,1 ± 171,8	157,9	450,0	543,3	660,8	192,7 ± 222,6	139,5	466,7	540,0
18 Monate	87	98	303,5 ± 210,5	277,8	583,3	705,8	933,3	314,1 ± 273,2	252,1	627,9	767,7
24 Monate	76	90	377,4 ± 288,7	285,7	692,3	1040,0	1425,2	373,9 ± 336,8	318,4	615,8	769,3
36 Monate	75	79	353,8 ± 214,3	286,3	729,3	790,0	970,0	387,3 ± 304,7	313,6	743,0	840,7

Konsumenten

Alter	Anzahl		Jungen x ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen x ± s	P50	P90	P95
	Jun.	Mäd.									
3 Monate	7	11	131,8 ± 273,8	29,2	751,8	751,8	751,8	71,4 ± 78,1	28,3	173,3	240,0
6 Monate	32	40	66,9 ± 63,4	45,8	133,3	240,0	250,0	79,9 ± 123,3	40,0	182,8	278,1
9 Monate	51	68	168,1 ± 157,1	127,0	416,7	483,3	830,0	156,3 ± 158,8	105,5	377,3	475,8
12 Monate	74	84	235,6 ± 162,0	187,5	481,6	556,7	660,8	215,7 ± 224,8	152,4	480,0	540,0
18 Monate	81	97	326,0 ± 200,6	298,6	583,3	705,8	933,3	317,4 ± 272,7	266,3	627,9	767,7
24 Monate	75	89	382,5 ± 287,3	307,0	692,3	1040,0	1425,2	378,1 ± 336,3	320,5	629,0	769,3
36 Monate	75	79	353,8 ± 214,3	286,3	729,3	790,0	970,0	387,3 ± 304,7	313,6	743,0	840,7

7.27. Übersicht über die Gewichte der Probanden in kg aus der DONALD-Studie nach den Angaben des Forschungsinstitutes für Kinderernährung in Dortmund

Tabelle 159:
Anhang 7.27.: Gewicht der Probanden[kg]

Gesamtkollektiv												
Alter	Anzahl		Jungen M ± s	P50	P90	P95	Maximum	Mädchen M ± s	P50	P90	P95	Maximum
	Jun.	Mäd.										
3 Monate	50	64	6,6 ± 0,9	6,6	7,7	8,2	8,6	5,9 ± 0,7	5,8	6,6	7,0	9,0
6 Monate	81	94	8,0 ± 0,9	8,0	9,1	9,8	10,6	7,4 ± 0,9	7,4	8,4	8,7	11,2
9 Monate	93	90	9,2 ± 1,0	9,1	10,4	11,0	12,2	8,4 ± 0,8	8,4	9,4	9,8	11,6
12 Monate	88	94	10,1 ± 1,1	9,9	11,5	11,9	13,0	9,3 ± 0,9	9,3	10,2	11,0	11,9
18 Monate	87	98	11,7 ± 1,3	11,5	13,5	13,8	15,4	10,9 ± 1,3	10,8	12,8	13,1	14,8
24 Monate	76	90	13,0 ± 1,4	12,8	14,6	15,1	17,4	12,2 ± 1,3	12,0	14,1	14,3	16,6
36 Monate	75	79	15,7 ± 2,1	15,4	18,5	19,6	23,9	14,4 ± 1,6	14,2	16,7	17,3	18,4

7.28. Übersicht über 4-tert.-OP-Gehalte [ng/kg] und die jeweiligen Fettgehalte [Gewichts-%] in Lebensmitteln nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP

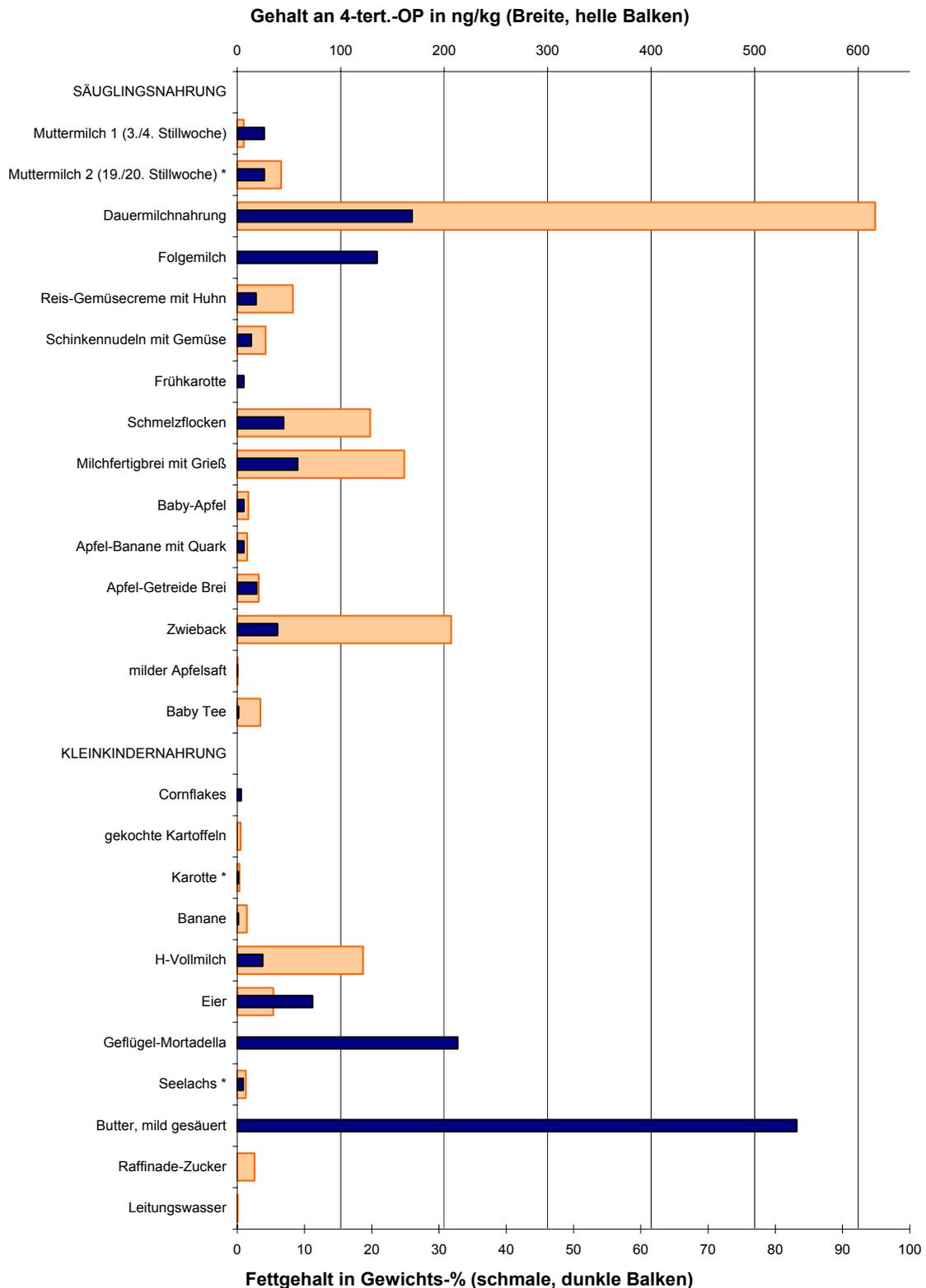


Abbildung 139: Übersicht über 4-tert.-OP-Gehalte (breite, helle Balken [ng/kg]) und die jeweiligen Fettgehalte (schmale, dunkle Balken [Gewichts-%]) in Lebensmitteln nach dem Verfahren für 4-NP und 4-tert.-OP. Der Fettgehalt war vom Hersteller angegeben oder wurde Souci et al., 1994, entnommen.

Danke ...

Bei meinem Doktorvater, Prof. Dr. K. Günther, bedanke ich mich ganz herzlich für die ansprechende Themenstellung und die große Unterstützung während meiner Zeit am Forschungszentrum Jülich. Durch die Bereitschaft zu wissenschaftlicher Diskussion hat er erheblich zum Gelingen der Arbeit beigetragen. Mein Dank gilt ebenfalls Professorin Dr. G. M. König für die Übernahme des Korreferates.

Für die Aufnahme am Institut für Angewandte Physikalische Chemie bzw. am Institut Phytosphäre im Forschungszentrum Jülich möchte ich mich bei Prof. Dr. Dr. M. J. Schwuger bzw. Prof. Dr. U. Schurr bedanken.

Für die gute Zusammenarbeit im Bereich der Biofilme möchte ich mich insbesondere bei Prof. Dr. H.-C. Flemming und Dr. J. Wingender und allen anderen beteiligten Mitarbeitern der Universität Duisburg-Essen, Fachgebiet Aquatische Mikrobiologie, bedanken.

Ebenfalls möchte ich mich bei Frau Dr. M. Kersting für die gute Zusammenarbeit und die prompte Beantwortung von so mancher Frage über die Daten der DONALD-Studie bedanken.

Dem Bischöflichen Cusanuswerk und seinen Mitarbeitern gilt mein ganz besonderer Dank, sowohl für die finanzielle als auch die ideelle Förderung in den drei Jahren der Graduiertenförderung. Gerne denke ich an die unterschiedlichsten Graduiertentagungen und Fachschaftstagungen zurück, auf denen ich viele neue Gesichter und Sachverhalte kennen lernen durfte.

Ein sehr großes Dankeschön gilt Dr. B. Thiele für seine praktischen und fachlichen Ratschläge und Hilfestellungen. Mit denen hast Du mir immer wieder über viele Probleme im Laboralltag hinweggeholfen. Es hat mir immer wieder Spaß gemacht, mit Dir zusammenzuarbeiten, nicht zuletzt wegen unseres guten, kollegialen Verhältnisses.

Für die sehr gute und akkurate Einarbeitung in die Methodik und die Gerätschaften und für die Beantwortung vieler Fragen, besonders zu Beginn meiner Dissertation, bedanke ich mich ganz herzlich bei meinem Vorgänger Dr. V. Heinke.

Mein großer Dank gilt auch R. Niehaus, der immer ein offenes Ohr für mich hatte. Bei Problemen im Bereich der Gaschromatographie und Massenspektrometrie und bei vielen anderen darüber hinaus gehenden Fragen habe ich seine Ratschläge in besonderer Weise schätzen gelernt.

Für die gute Zusammenarbeit im Labor und im Büro bedanke ich mich besonders bei Bernd Kastenholz, Budi Muktiono, Katja Vossen und Katrin Wieland. Ihr alle habt Euren Teil dazu

beigetragen, dass ich trotz mehrerer, langwieriger und frustrierender Durststrecken den Glauben an ein gutes Ende nicht aufgegeben habe. Einen ganz besonderen Anteil habt vor allem Ihr drei, Budi, Katja und Katrin, mit Eurer lustigen und aufmunternden Art beigesteuert, die ich auch auf der ein oder anderen „Exkursion“ in Köln erleben konnte.

Für viele gemeinsame Stunden, in denen wir gelacht, geflucht, beratschlagt, gewartet und uns den Frust von der Seele geredet haben, danke ich Christina Mack und dem Rest der Fahrgemeinschaft Köln – Jülich – Köln.

Ein Dankeschön gilt ebenfalls Fr. Kastenholz und Fr. Speetzen, die bereit waren, mir ganz besondere Proben zur Verfügung zu stellen. Dadurch konnten neben den vielen kommerziell-erhältlichen Lebensmittelproben auch die ungemein wichtigen Muttermilchproben analysiert werden.

Nicht zuletzt möchte ich mich ganz herzlich bei meiner Familie, meiner Freundin und bei meinen Freunden bedanken, wo jede/r für sich auf ihre/seine ganz besondere Art und Weise zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat !!!

... Ihnen und Euch allen !!!