

Untersuchung von Pestizidabbauprodukten während der Lebensmittelverarbeitung

Von der Fakultät für Mathematik und Naturwissenschaften der
Bergischen Universität Wuppertal genehmigte Dissertation zur

Erlangung der Doktorwürde

- Doktor der Naturwissenschaften -

(Dr. rer. nat.)



vorgelegt von

Bernd Gökener (M.Sc.)

aus Rhede

Wuppertal, Oktober 2019

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von Mai 2016 bis Oktober 2019

auf Anregung von

Herrn Prof. Dr. Mark Bücking und Herrn Dr. Matthias Kotthoff

und unter der Leitung von

Herrn Prof. Dr. Mark Bücking und Herrn Prof. Dr. Hans-Willi Kling

Die Dissertation kann wie folgt zitiert werden:

urn:nbn:de:hbz:468-20200113-112517-9

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=urn%3Anbn%3Ade%3Ahbz%3A468-20200113-112517-9>]

DOI: 10.25926/4azp-r210

[<https://doi.org/10.25926/4azp-r210>]

Gefördert im Rahmen der Internen Programme der Fraunhofer-Gesellschaft,
Fördernummer WISA 831 387.



Ich versichere, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst habe. Dabei habe ich nur die in der Dissertation angegebenen Hilfsmittel benutzt und alle wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen als solche gekennzeichnet. Des Weiteren erkläre ich, dass die Dissertation weder in der gegenwärtigen noch in einer anderen Fassung einem anderen Fachbereich einer wissenschaftlichen Hochschule vorgelegen hat.

Schmallenberg, den _____
(Datum)

(Bernd Gökener)

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Mark Bücking für die Möglichkeit, meine Promotion in der Abteilung Umwelt- und Lebensmittelanalytik am Fraunhofer Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie IME durchführen zu können. Weiterhin möchte ich mich für viele wertvolle Ratschläge und Anregungen sowie die zahlreichen Möglichkeiten bedanken, an nationalen und internationalen Konferenzen teilnehmen zu können.

Bei Herrn Prof. Dr. Hans-Willi Kling bedanke ich mich herzlich für die freundliche Betreuung und Unterstützung meiner externen Promotion.

Dr. Matthias Kotthoff möchte ich für die Unterstützung meiner Arbeit in Form von interessanten Diskussionen sowie wertvollen Anregungen und Ratschlägen innerhalb wie außerhalb seiner Tätigkeit am Fraunhofer IME danken.

Für die tolle und engagierte Unterstützung in Form von wissenschaftlichen Abschlussarbeiten gilt mein großer Dank Sina Voß und insbesondere Nina Weiss.

Meinen Kollegen Kerstin Bücking, Jan Bröckelmann, Elisabeth Hardebusch, Stephan Hennecke, Heinrich Jüring, Katharina Kraus, Claire MacKenzie, Josef Müller und ganz besonders Kevin Severin aus der Abteilung Umwelt- und Lebensmittelanalytik danke ich herzlich für jegliche Unterstützung im Labor, für die Beantwortung aller dummen Fragen und für das tolle Arbeitsklima, das auch lange Tage im Labor ertragbar gemacht hat.

Den Kollegen Peter Eisner, Ludwig Gruber, Katrin Hasenkopf, Martin Schlummer, Petra Schmid, Christoph Sonnert und Ute Weisz vom Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung IVV danke ich für die fachlichen Anregungen und Diskussionen bei den Telefonkonferenzen und Projekttreffen.

Mein großer Dank gilt zudem Steve Ayobahan, Cuyler Borrowman, Maria Eichhorn, Thomas Hennecke, Thomas Hentzel, Indra Hering, Lara Hermsen, Thu Trang Ho, Azora König, Sven Kroesen, René Lämmer, Patricia Leitner, Lisa Pepping, Georg

Radermacher, Johannes Raths, Mona Sargazi, Nicola Schröder, Linda Sensbach, Prasit Shrestha, Gavin Styles und Claus Wasmuth sowie allen weiteren Mitgliedern und Freunden der Bürogemeinschaft „Wilzenberg GmbH“ dafür, dass sie das Leben im Sauerland deutlich besser gemacht haben.

Für die tatkräftige Unterstützung bei der Planung und Durchführung radioaktiver Versuche danke ich ganz herzlich Svenja Becker, Joana Bräutigam, Theo Görtz, Mike Kruse und Thomas Ludemann. Barbara Hengesbach und Christian Gärtner möchte ich ausdrücklich für die Hilfe bei der Aufnahme und Auswertung der NMR-Spektren danken.

Zuletzt gilt mein Dank meiner Familie, die mir auf dem Weg zur Promotion immer unterstützend zur Seite gestanden hat.

Abkürzungsverzeichnis

3-CA	3-Chloranilin
3-PBA	3-Phenoxybenzaldehyd
ACN	Acetonitril
ADI	Erlaubte Tagesdosis, engl. <i>acceptable daily intake</i>
AGC	automatische Verstärkungsregelung, engl. <i>automatic gain control</i>
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ARfD	Akute Referenzdosis
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
Bis-MSB	1,4-Bis(2-methylstyryl)benzol
Bq	Becquerel
Br ₂ CA	(1R,3R)-3-(2,2-Dibromvinyl)- 2,2-dimethyl-cyclopropansäure
BTS 40348	<i>N</i> -Propyl- <i>N</i> -2-(2,4,6-trichlorphenoxy)-ethylamin
BTS 44595	1-Propyl-1-[2-(2,4,6 trichlorphenoxy)-ethyl]harnstoff
BTS 44596	3-Formyl-1-propyl-1-[2-(2,4,6-trichlorphenoxy)ethyl]harnstoff
BTS 45186	2,4,6-Trichlorphenol
BTS 9608	2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure
BVL	Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
CE	Kollisionsenergie; engl. <i>collision energy</i>
Ci	Curie
CID	Kollisionsinduzierte Fragmentierung; engl. <i>collision induced dissociation</i>
CIPC	Chlorpropham (Chlorisopropyl phenylcarbamat)
COSY	engl. <i>correlation spectroscopy</i>
CPM	Zählungen pro Minute; engl. <i>counts per minute</i>
CXP	engl. <i>cell exit potential</i>
ddMS ²	Datenabhängige Tandem-Massenspektrometrie; engl. <i>data dependent tandem mass spectrometry</i>
DEPT	engl. <i>distortionless enhancement by polarization transfer</i>
DP	engl. <i>declustering potential</i>
DPM	Zerfälle pro Minute; engl. <i>desintegrations per minute</i>
dSPE	dispersive Festphasenextraktion; engl. <i>dispersive solid phase extraction</i>

EFSA	Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit; engl. <i>European Food Safety Agency</i>
EG	Europäische Gemeinschaft
EN	Europäische Norm
ESI	Elektrospray-Ionisation
EU	Europäische Union
FA	Ameisensäure; engl. <i>formic acid</i>
FWHM	Halbwertspeakbreite, engl. <i>full width at half maximum</i>
GAP	Gute landwirtschaftliche Praxis; engl. <i>good agricultural practice</i>
HEPIC	<i>N</i> -(2-Hydroxyethyl)- <i>N</i> -propyl-1 <i>H</i> -imidazol-1-carboxamid
HMBC	engl. <i>heteronuclear multiple bond correlation</i>
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie, engl. <i>high performance liquid chromatography</i>
HRMS	Hochauflösende Massenspektrometrie; engl. <i>high-resolution mass spectrometry</i>
HSQC	engl. <i>heteronuclear single quantum coherence</i>
Icpame	2-[(1- <i>H</i> -Imidazol-1-carbonyl)(propyl)amino]ethyl-Gruppe
IME	Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie; engl. <i>Institute for Molecular Biology and Applied Ecology</i>
IS	Interner Standard
k.A.	keine Angabe
KG	Körpergewicht
LC	Flüssigchromatographie, engl. <i>liquid chromatography</i>
LOQ	Bestimmungsgrenze; engl. <i>limit of quantification</i>
LSC	Flüssigszintillationszählung; eng. <i>liquid scintillation counting</i>
m/z	Masse-zu-Ladungsverhältnis
MeOH	Methanol
MRL	Rückstandshöchstmengengehalt; engl. <i>maximum residue level</i>
MS	Massenspektrometrie
MS/MS	Tandem-Massenspektrometrie
n.b.	nicht bestimmt
NaAc	Natriumacetat
NCE	Normalisierte Kollisionsenergie; engl. <i>normalised collision energy</i>
NER	Nicht-extrahierbare Rückstände

NH ₄ Ac	Ammoniumacetat
NMR	Kernspinresonanz(-spektroskopie); engl. <i>nuclear magnetic resonance (spectroscopy)</i>
OECD	Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung; engl. <i>Organisation for Economic Co-operation and Development</i>
P.-Äq.	Prochloraz-Äquivalente
PBD	2-Phenyl-5-biphenyl-1,3,4-oxadiazol
PBT	Persistent, bioakkumulierend und toxisch
PF	Verarbeitungsfaktor; engl. <i>processing factor</i>
PflSchG	Pflanzenschutzgesetz; Gesetz zum Schutz der Kulturpflanzen
PMT	Photomultiplier Röhre; engl. <i>photomultiplier tube</i>
PO143	Abbauprodukt von Prochloraz in Öl mit m/z 143,0808
PO153	Abbauprodukt von Prochloraz in Öl mit m/z 153,0651
PO157	Abbauprodukt von Prochloraz in Öl mit m/z 157,0964
PO336	Abbauprodukt von Prochloraz in Öl mit m/z 336,0325
POP	Persistenter organischer Schadstoff; engl. <i>persistent organic pollutant</i>
POPOP	1,4-Bis(5-phenyloxazol-2-yl)benzol
PP	Polypropylen
PPO	2,5-Diphenyloxazol
PRIMo	Modell zur Abschätzung von Aufnahmemengen von Pestizidrückständen; engl. <i>pesticide residue intake model</i>
PSA	Primäre und sekundäre Amine
QC	Qualitätskontrolle; engl. <i>quality control</i>
QuEChERS	<i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe</i> -Extraktionsmethode
RC	rekonstituierte Zellulose; engl. <i>reconstituted cellulose</i>
RSD	Relative Standardabweichung; engl. <i>relative standard deviation</i>
SANCO	Generaldirektion Gesundheit und Lebensmittelsicherheit; frz. <i>Santé et Consommateurs</i>
SPE	Festphasenextraktion; engl. <i>solid phase extraction</i>
TCP	2,4,6-Trichlorphenol
TDCR	engl. <i>triple-double coincidence ratio</i>
TOCSY	engl. <i>total correlation spectroscopy</i>
TRR	engl. <i>total radioactive residues</i>

t-SIM	gezielte Einzelionenmessung; engl. <i>target single ion monitoring</i>
U(H)PLC	Ultra(hoch)leistungsflüssigchromatography; engl. <i>ultra (high) performance liquid chromatography</i>
U/min	Umdrehungen pro Minute
UHQ	Reinstwasser; engl. <i>ultra high quality water</i>
UV	Ultraviolett-Detektor
VELS	Verzehrsstudie zur Ermittlung der Lebensmittelaufnahme von Säuglingen und Kleinkindern für die Abschätzung eines akuten Toxizitätsrisikos durch Rückstände von Pflanzenschutzmitteln
vPvB	Sehr persistent und sehr bioakkumulierend; engl. <i>very persistent and very bioaccumulative</i>
WDF	Wiederfindung
YG	Yttriumglas

Inhaltsverzeichnis

Danksagung.....	V
Abkürzungsverzeichnis	VII
Abstract.....	XIV
Kurzzusammenfassung	XV
1 Einleitung und Zielstellung.....	1
2 Theoretische Grundlagen	4
2.1 Pflanzenschutzmittel.....	4
2.1.1 Zulassung von Pflanzenschutzmitteln	5
2.1.2 Ausgewählte Pflanzenschutzmittel.....	9
2.2 Chemische Reaktionen während der Lebensmittelverarbeitung.....	19
2.3 Pflanzenschutzmittel während der Lebensmittelverarbeitung.....	21
2.4 Radioaktiv-Analytik	22
2.4.1 Aktivitätsbestimmung in Flüssigkeiten und Feststoffen	25
2.4.2 Radio-Flüssigchromatographie	27
3 Material und Methoden	30
3.1 Prochloraz in Rapsöl.....	30
3.1.1 Radioaktiv-Versuche	30
3.1.2 Gewinnung und Strukturaufklärung von Icpame-Oleat.....	38
3.1.3 Nichtradioaktive Quantifizierungsversuche	41
3.1.4 Chemikalien und Geräte.....	45
3.2 Deltamethrin in Tomatenprodukten.....	47
3.2.1 Herstellung und Dotierung von Tomatenpüree.....	47
3.2.2 Verarbeitungsprozesse	48
3.2.3 Probenaufarbeitung und -messung	49
3.2.4 Chemikalien und Geräte.....	56
3.3 Chlorpropham in Kartoffeln	58
3.3.1 Chlorpropham-Applikation.....	58
3.3.2 Lagerungsversuch.....	59

3.3.3	Verarbeitungsversuche	59
3.3.4	Radioaktivitätsmessungen	61
3.3.5	Qualitative Versuche	62
3.3.6	Quantitative Versuche.....	64
3.3.7	Chemikalien und Geräte	70
4	Ergebnisse	72
4.1	Prochloraz in Rapsöl	72
4.1.1	Verbleib der Aktivität	72
4.1.2	Identifizierung von Abbauprodukten mittels radio-UPLC®-HRMS	74
4.1.3	Strukturaufklärung von Icpame-Oleat mittels NMR-Spektroskopie	82
4.1.4	Quantifizierung.....	85
4.2	Deltamethrin in Tomatenprodukten	91
4.2.1	Verbleib der Aktivität nach Verarbeitung	91
4.2.2	Radio-UPLC®-HRMS-Messungen.....	95
4.3	Chlorpropham in Kartoffeln.....	98
4.3.1	Beobachtungen während der Lagerung.....	98
4.3.2	Verteilung der Rückstände während der Lagerung.....	98
4.3.3	Identifizierung von Abbauprodukten.....	100
4.3.4	Quantifizierung und Methodenvergleich.....	101
5	Diskussion	112
5.1	Prochloraz in Rapsöl	112
5.2	Deltamethrin in Tomatenprodukten	118
5.3	Chlorpropham in Kartoffeln.....	120
5.4	Versuchsübergreifende Diskussion	128
6	Ausblick	133
7	Literaturverzeichnis	135
8	Anhang.....	146
8.1	Publikationsliste.....	146
8.1.1	Veröffentlichungen in Fachzeitschriften	146
8.1.2	Vorträge	146
8.1.3	Posterbeiträge.....	147

8.2	Ergänzende Abbildungen.....	148
8.3	Ergänzende Tabellen.....	164
8.4	Abbildungsverzeichnis	174
8.5	Tabellenverzeichnis	179

Abstract

Investigating the fate of substances in complex processes like food processing poses a major challenge in analytical chemistry. To simulate complex chemical reactions during food processing, current regulatory procedures for plant protection products include a high temperature hydrolysis of active substances at maximum temperatures of 120 °C in water. In the present study the fate of three exemplary active substances for plant protection products was investigated during realistic food processing steps and the findings were compared to results of current hydrolysis procedures.

Major differences between simulative and realistic processing trials were observed in this study. When heating the fungicide prochloraz in rapeseed oil, chemical reactions between an active substance and food ingredients were demonstrated for the first time. The degradation process of prochloraz led to a spectrum of eleven degradation products and was shown to be dependent on temperature, heating duration and the used type of oil. In contradiction to simulative hydrolysis studies the insecticide deltamethrin was found to be stable at temperatures up to 250 °C applied during high-temperature heating of tomato products. Additionally, potatoes were treated with the sprouting inhibitor chlorpropham and were stored for up to six months. After boiling, frying and baking processes of potatoes chlorpropham residues in edible products were reduced by 73% to 83% depending on the process. In contrast to the assumption of the European Food Safety Authority, no formation of the critical 3-chloroaniline was observed during potato processing.

The comparison between realistic processing trials conducted in this study and simulative conditions questions the suitability of the current regulatory procedure. Furthermore, the first-time identification of processing-induced degradation products raises concerns towards risk assessment of pesticide residues in food. The implementation of fate studies during realistic food processing steps into regulatory guidelines for plant protection products will further increase food safety and consumer protection.

Kurzzusammenfassung

Die Aufklärung des Verbleibs von Substanzen in komplexen Prozessen wie der Lebensmittelverarbeitung stellt eine große Herausforderung der analytischen Chemie dar. Um komplexe chemische Reaktionen während der Lebensmittelverarbeitung zu simulieren, sieht das derzeitige Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittelwirkstoffe eine Hochtemperaturhydrolyse bei maximal 120 °C in Wasser vor. In der vorliegenden Arbeit wurde der Verbleib dreier exemplarischer Pflanzenschutzmittelwirkstoffe während realitätsnaher Verarbeitungsprozesse untersucht und mit den Ergebnissen derzeitiger Hydrolyseverfahren verglichen.

Zwischen den simulativen Bedingungen und den realitätsnahen Verarbeitungsversuchen konnten deutliche Unterschiede beobachtet werden. Bei der Erhitzung des Fungizids Prochloraz in Rapsöl wurden erstmals chemische Reaktionen zwischen einem Pflanzenschutzmittelwirkstoff und Lebensmittelinhaltsstoffen nachgewiesen. Unter Bildung von insgesamt elf Abbauprodukten konnte ein starker Abbau von Prochloraz beobachtet werden, der abhängig von Temperatur, Erhitzungsdauer und Ölsorte war. Entgegen der Ergebnisse von Hydrolysestudien zeigte sich das Insektizid Deltamethrin bei der Herstellung von hochehitzten Tomatenprodukten trotz Temperaturen von bis zu 250 °C stabil. Weiterhin wurden Kartoffeln mit dem Keimungshemmer Chlorpropham behandelt und für bis zu sechs Monate gelagert. Durch das Kochen, Frittieren und Backen der Kartoffeln wurden die Chlorpropham-Gehalte in den verzehrbaren Produkten um 73% bis 83% reduziert. Entgegen der Annahme der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit konnte gezeigt werden, dass während der Verarbeitungsschritte keine Bildung des bedenklichen 3-Chloranilins auftrat.

Der Vergleich der in dieser Arbeit untersuchten realitätsnahen Versuche und den simulativen Bedingungen stellt die Eignung des derzeitigen Zulassungsverfahrens in Frage. Weiterhin wirft die erstmalige Beschreibung verarbeitungsbedingter Abbauprodukte Fragen hinsichtlich der Risikobewertung von Pflanzenschutzmittelrückständen in verarbeiteten Lebensmitteln auf. Die Implementierung von Verbleibsuntersuchungen während realitätsnaher Verarbeitungsprozesse in die Zulassung von Pflanzenschutzmitteln wird die langfristige Erhöhung der Lebensmittelsicherheit und des Verbraucherschutzes gewährleisten.

1 Einleitung und Zielstellung

Eine der wichtigsten Aufgaben der Lebensmittelchemie ist die Gewährleistung der Lebensmittelsicherheit für die Verbraucher. Ein besonderer Schwerpunkt liegt dabei auf der Vermeidung toxikologisch bedenklicher Verbindungen in verzehrten Endprodukten [1]. Nahezu alle konventionell angebauten Agrarprodukte werden im Laufe ihres Anbaus oder während der Lagerung mit Pflanzenschutzmitteln behandelt. Pflanzenschutzmittel stellen heutzutage einen essentiellen Bestandteil einer modernen Landwirtschaft dar [2-4] und sollen Pflanzen oder Pflanzenerzeugnisse vor Schadorganismen schützen [5-7]. Auch bei korrekter Anwendung sind Rückstände der Pflanzenschutzmittel auf und in landwirtschaftlichen Rohprodukten nicht zu vermeiden [8]. Lebensmittel stellen folglich einen zentralen Expositionspfad für Verbraucher gegenüber den Agrochemikalien dar [9].

Zur Gewährleistung der Produktsicherheit durchlaufen die Wirkstoffe und Präparate der Pflanzenschutzmittel ein langwieriges Zulassungsverfahren, um potentielle Risiken der Substanzen und ihrer Abbauprodukte für Mensch, Tier und Umwelt vor dem Inverkehrbringen zu bewerten. Dieses Verfahren umfasst komplexe Studien, die unter anderem den Verbleib und die Wirkung der Substanzen in Pflanzen, im Boden und in der Umwelt aufklären sollen [5, 7]. Da ein bedeutender Teil der landwirtschaftlichen Rohprodukte vor dem Verzehr verarbeitet wird, ist das Verhalten von Pflanzenschutzmittelrückständen von großem Interesse für die Lebensmittelsicherheit [10]. Um dieses Verhalten während der Lebensmittelverarbeitung zu untersuchen, werden nach dem derzeitigen Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittelwirkstoffe in der Europäischen Union (EU) zwei Methoden angewendet. Diese lassen jedoch offensichtliche Schwachstellen vermuten. Nach den Testverfahren der Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (OECD, engl. *Organisation for Economic Co-operation and Development*) werden die Wirkstoffe einer Hochtemperaturhydrolyse bei maximal 120 °C in Wasser unterzogen, um chemische Reaktionen während der Lebensmittelverarbeitung repräsentativ zu simulieren (OECD 507 Richtlinie) [11]. Höhere Temperaturen, wie sie beispielsweise beim Backen oder Frittieren angewendet werden [12], oder der Einfluss von Matrixeffekten

durch reaktive chemische Gruppen werden im Rahmen dieser Standardmethode außer Acht gelassen.

Realitätsnahe Verarbeitungsprozesse werden im Rahmen der OECD 508 Richtlinie durchgeführt und dienen dazu, die Gehalte eines Wirkstoffes und seiner bekannten Metaboliten vor und nach der Verarbeitung von Lebensmitteln zu untersuchen. Aus dem Verhältnis werden Verarbeitungsfaktoren (PF, engl. *processing factor*) abgeleitet, die Minderungs- oder Konzentrationseffekte beschreiben [13]. Die Identifizierung neuer verarbeitungsbedingter Abbauprodukte ist in dieser zweiten Standardmethode nicht vorgesehen. Die Bildung unbekannter und analytisch nicht erfasster Substanzen während der Verarbeitung wird folglich als Minimierung der Wirkstoffgehalte interpretiert. Da nicht zwingend Daten hinsichtlich der toxikologischen Relevanz dieser potentiellen Abbauprodukte vorliegen, können Risiken durch verarbeitungsbedingte Substanzen nach dem derzeitigen Verfahren nicht eingeschätzt werden. Diese Wissenslücke wird als Widerspruch zum Vorsorgeprinzip der Europäischen Union [7, 14] angesehen und dient als Anstoß dieser Arbeit.

Studien der letzten Jahrzehnte, die den Verbleib von Pflanzenschutzmitteln während der Lebensmittelverarbeitung untersuchen, sind – ähnlich wie die Untersuchungen im Rahmen der OECD 508 Richtlinie – überwiegend auf die Analytik der Wirkstoffe selbst in den Produkten begrenzt [15-20]. In wenigen Studien wird das Analytenspektrum um bereits bekannte Metaboliten und Abbauprodukte erweitert [21-23]. Untersuchungen zur Aufklärung unbekannter verarbeitungsbedingter Abbauprodukte von Pflanzenschutzmitteln gibt es nach derzeitiger Studienlage nicht.

Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung des Verbleibs von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen während der realitätsnahen Verarbeitung von Lebensmitteln. Dazu werden drei Pflanzenschutzmittelwirkstoffe und Lebensmittel, die anwendungsbedingt mit den Wirkstoffen in Kontakt kommen, exemplarisch ausgewählt und in typischen Lebensmittelzubereitungsprozessen verarbeitet. Zur Verfolgung der Wirkstoffe und potentieller Abbauprodukte werden ^{14}C -radioaktiv markierte Substanzen eingesetzt. Durch die vollständige Bilanzierung der Radioaktivität erlaubt dieser analytische Ansatz fundierte Aussagen über den Abbau,

den Transfer und die Verflüchtigung der Substanzen sowie über die Bildung nicht-extrahierbarer Rückstände (NER) [24].

Im Hinblick auf die tatsächliche Verbraucherexposition gegenüber Pflanzenschutzmittelrückständen sollen auf Basis der abgeleiteten Erkenntnisse potentielle Gefahren und Chancen der Lebensmittelverarbeitung erkannt werden. Durch dieses Wissen soll langfristig eine erhöhte Lebensmittelsicherheit gewährleistet werden.

2 Theoretische Grundlagen

Im Folgenden werden grundlegende Informationen zu Pflanzenschutzmitteln und deren derzeitigen Zulassungsverfahren sowie Details zu den in dieser Arbeit untersuchten Wirkstoffen beschrieben. Weiterhin wird ein Überblick über chemische Reaktionen und das Verhalten von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen während der Lebensmittelverarbeitung sowie über die Analytik mit radioaktiv markierten Substanzen gegeben.

2.1 Pflanzenschutzmittel

Unter dem Begriff Pflanzenschutzmittel werden Mittel bezeichnet, die Pflanzen und Pflanzenerzeugnisse vor Schadorganismen schützen oder das unerwünschte Wachstum von Pflanzen und Pflanzenteilen verhindern [5-7]. Der Begriff Pestizid hingegen beschreibt allgemein chemische Mittel, die Organismen abtöten sollen [25]. Entsprechend der EU-Richtlinie 2009/128/EG werden Pestizide in die Gruppe der Pflanzenschutzmittel und die Gruppe der Biozid-Produkte unterteilt und umfassen demnach auch Produkte für den nichtlandwirtschaftlichen Bereich wie beispielsweise Rodentizide [26, 27].

Die Wirkstoffe der Pflanzenschutzmittel werden abhängig von ihrem Einsatzzweck in verschiedene Gruppen eingeteilt. Die wichtigste Gruppe stellen Herbizide zur Bekämpfung von ungewünschten Pflanzenwachstum dar. Fungizide sollen einen Pilzbefall protektiv verhindern oder heilen. Während Insektizide der Bekämpfung von Insektenbefall dienen, werden Wachstumsregler eingesetzt um beispielsweise ein ungewolltes Keimen von Kartoffeln zu verhindern oder die Reifung von Bananen zu kontrollieren [28, 29]. Ohne Berücksichtigung von Inertgasen wie Kohlenstoffdioxid im Vorratsschutz betrug der Absatz an Pflanzenschutzmittelwirkstoffen in der Bundesrepublik Deutschland im Jahr 2017 insgesamt etwa 34.600 Tonnen. Die größte Gruppe darunter repräsentierten die Herbizide mit 48%, gefolgt von Fungiziden mit 38% und Wachstumsreglern mit etwa 10%. Die restlichen Mengen entfallen auf Insektizide (2%) und sonstige Wirkstoffe [30].

Die meisten Pflanzenschutzmittel entfalten ihre Wirkung, indem sie die Energieversorgung, Biosyntheseprozesse, Wachstumsprozesse oder das Nervensystem des jeweiligen Zielorganismus negativ beeinflussen [31]. Der Einsatz von Pflanzenschutzmitteln erfolgt je nach Anwendungsgebiet und –ziel vor oder nach der Ernte. Auch bei korrekter Anwendung nach guter landwirtschaftlicher Praxis (GAP, engl. *good agricultural practice*) können Rückstände der Wirkstoffe in landwirtschaftlichen Rohprodukten nicht vermieden werden [8, 32]. Durch die direkte Nutzung als Lebensmittel oder indirekt als Futtermittel für Nutztiere stellen pflanzliche und tierische Lebensmittel einen wichtigen Expositionspfad der Verbraucher gegenüber Pflanzenschutzmittelrückständen dar [9].

Trotz zahlreicher Kontroversen und öffentlicher Diskussionen bezüglich der Sicherheit von Pflanzenschutzmitteln für Mensch, Tier und Umwelt [8, 33-37] gilt der Einsatz von Pflanzenschutzmitteln in der konventionellen Landwirtschaft als unerlässlich. Unter Berücksichtigung des weltweiten Bevölkerungswachstums spielen Pflanzenschutzmittel eine wichtige Rolle dabei, die Qualität und Quantität von Lebensmitteln für die Weltbevölkerung zu gewährleisten [2-4]. Um die Sicherheit von Verbrauchern, Anwendern, Umwelt und Tieren sicherzustellen, durchlaufen die Wirkstoffe und die letztlich angewendeten Pflanzenschutzmittelprodukte in der EU ausgiebige Zulassungsverfahren auf europäischer und nationaler Ebene [5, 7]. Auf die Hintergründe und den Umfang dieser Verfahren soll im Folgenden näher eingegangen werden.

2.1.1 Zulassung von Pflanzenschutzmitteln

In den Mitgliedsstaaten der Europäischen Union wird die Zulassung der Wirkstoffe und der letztlich angewendeten Produkte voneinander getrennt. Während die Zulassung der Wirkstoffe auf EU-Ebene erfolgt, liegt die Zulassung der Pflanzenschutzmittelpräparate in der Zuständigkeit der einzelnen Mitgliedsstaaten [7]. In der Bundesrepublik Deutschland ist nach dem Pflanzenschutzgesetz (PflSchG) das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) verantwortlich für die Zulassungsentscheidungen auf nationaler Ebene [5]. Da sich die vorliegende Arbeit primär auf mögliche Schwachstellen in den derzeitigen

Zulassungsverfahren der Wirkstoffe bezieht, wird diese im Folgenden im Detail in den Fokus gestellt.

Auf EU-Ebene stellt die Verordnung (EG) Nr. 1107/2009 des Europäischen Parlamentes und des Rates über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln den rechtlichen Rahmen dar [7]. Die Entscheidung über die Zulassung von Wirkstoffen erfolgt durch die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA, engl. *European Food Safety Authority*). Auf dieser rechtlichen Grundlage werden Zulassungen für Wirkstoffe nur erteilt, wenn sie auf Basis toxikologischer Versuche nachweislich weder mutagen, karzinogen, reproduktionstoxisch noch endokrinschädigend sind. In Bezug auf den Verbleib und das Verhalten in der Umwelt muss nachgewiesen sein, dass die Wirkstoffe nicht als persistenter organischer Schadstoff (engl. *persistent organic pollutant*, POP), als persistent, bioakkumulierend und toxisch (PBT), als sehr persistent und sehr bioakkumulierend (engl. *very persistent and very bioaccumulative*, vPvB) oder als endokrinschädigend für Nichtzielorganismen eingestuft werden. Im Rahmen der Zulassung müssen ausdrücklich auch relevante Metaboliten und Abbauprodukte der Wirkstoffe auf ihre toxikologischen, ökotoxikologischen und ökologischen Eigenschaften geprüft werden [7].

Für die Prüfung der Sicherheit von Pflanzenschutzmitteln-Wirkstoffen werden international vereinheitlichte und anerkannte Richtlinien der OECD angewendet. Unter den Vorgaben dieser OECD Richtlinien werden unter anderem komplexe und aufwändige Studien zum Verhalten jedes Wirkstoffes in pflanzlichen und tierischen Organismen sowie in der Umwelt durchgeführt. Neben (öko-)toxikologischen Tests wird auch der Abbau im Boden (OECD 307) und der Metabolismus in Nutzpflanzen (OECD 501) sowie in Nutztieren (OECD 503) untersucht. Somit wird der Weg eines Wirkstoffes von der Applikation bis zum landwirtschaftlichen Rohprodukt qualitativ und quantitativ umfassend abgedeckt [38-41].

Der Verbleib während der Lebensmittelverarbeitung und die zu erwartenden Rückstandsmengen in Lebensmitteln werden derzeit im Rahmen der OECD 507 (*Nature of the Pesticide Residues in Processed Commodities - High Temperature Hydrolysis*) und der OECD 508 Richtlinie (*Magnitude of the Pesticide Residues in Processed Commodities*) abgedeckt [11, 13].

Um mögliche Abbauprozesse während der Verarbeitung von Lebensmitteln zu untersuchen, sieht die OECD 507 Richtlinie eine Hochtemperaturhydrolyse in Wasser vor. Tabelle 1 zeigt die Parameter der drei Versuchsansätze, die die hydrolytischen Bedingungen während der angegebenen Verarbeitungsprozesse repräsentativ vertreten sollen.

Tabelle 1. Repräsentative hydrolytische Bedingungen entsprechend der OECD 507 Richtlinie zur Simulation des Verbleibs von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen während der Lebensmittelverarbeitung [11]

Temperatur [°C]	Dauer [min]	pH	Repräsentierte Verarbeitungsprozesse
90	20	4	Pasteurisierung
100	60	5	Backen, Brauen, Kochen/Sieden
120*	20	6	Sterilisierung

* in geschlossenem System unter Druck (z.B. Autoklav)

Aus den Ergebnissen der Verbleibsstudien und der toxikologischen Beurteilung des Wirkstoffes sowie relevanter Abbauprodukte werden schließlich sogenannte Rückstandsdefinitionen für die Risikobewertung und für die Überwachung festgelegt [11]. Dabei handelt es sich um den Wirkstoff selbst und gegebenenfalls ein Spektrum an Abbauprodukten und Metaboliten, die von quantitativer Relevanz sind.

Im Gegensatz zu den simulierenden, hydrolytischen Bedingungen der OECD 507 Studien werden im Rahmen der OECD 508 Richtlinie komplexere und realistische Verarbeitungsprozesse durchgeführt, um den Einfluss der Lebensmittelverarbeitung auf die Höhe der Rückstandsmengen zu untersuchen. Studien nach dieser Richtlinie besitzen demnach rein quantitativen Charakter und dienen nicht zur Identifizierung von verarbeitungsbedingten Abbauprodukten. Dazu werden dotierte Rohwaren verarbeitet und vor sowie nach der Verarbeitung auf die jeweilige Rückstandsdefinition analysiert. Durch den Vergleich der Rückstandsmengen vor und nach der Verarbeitung werden sogenannte Verarbeitungsfaktoren abgeleitet. Mithilfe dieser Studien können folglich Ankonzentrierungs- oder Verdünnungsschritte sowie eine mögliche Verlagerung in umgebende Medien quantitativ beschrieben werden. Die Auswahl der für die einzelnen Wirkstoffe zu testenden Verarbeitungsschritte erfolgt je nach Anwendungsgebiet des Wirkstoffes und Relevanz des Lebensmittels für die Ernährung. Diese Schritte können beispielsweise Fermentations-,

Extraktions-, Koch- oder Backversuche umfassen. Die gewonnenen Daten dienen unter anderem der Abschätzung der ernährungsbedingten Exposition von Verbrauchern und Nutztieren gegenüber einzelnen Wirkstoffen und deren Rückständen [13].

Die Sicherstellung eines hohen Verbraucherschutzniveaus und die Harmonisierung von Höchstgehalten von Pflanzenschutzmitteln in Lebens- und Futtermitteln wird in der EU durch die Verordnung (EG) Nr. 396/2005 geregelt. Dazu werden auf europäischer Ebene Rückstandshöchstgehalte (MRL, engl. *maximum residue level*) etabliert. Die Ableitung der höchsten zulässigen Werte erfolgt unter Berücksichtigung der guten landwirtschaftlichen Praxis und der geringsten Exposition, die zum Schutz gefährdeter Verbraucher notwendig ist [42]. Demnach dürfen die erlaubte Tagesdosis (ADI, engl. *acceptable daily intake*) und die akute Referenzdosis (ARfD) einer Substanz nicht überschritten werden. Die prozentuale Ausschöpfung der toxikologischen Grenzwerte erfolgt auf Basis von Verzehrdaten für Kinder, da diese als besonders gefährdet gelten. Für Deutschland wurden die Daten im Rahmen der VELS-Studie (Verzehrsstudie zur Ermittlung der Lebensmittelaufnahme von Säuglingen und Kleinkindern für die Abschätzung eines akuten Toxizitätsrisikos durch Rückstände von Pflanzenschutzmitteln) erhoben [43]. Lebens- und Futtermittel, die die Rückstandshöchstgehalte überschreiten, dürfen nicht in Verkehr gebracht werden. Die Kontrolle der Einhaltung festgelegter Grenzwerte erfolgt in Deutschland durch die amtliche Lebensmittelüberwachung der Bundesländer [44].

In der Europäischen Union sind derzeit fast 500 Wirkstoffe für die Verwendung in Pflanzenschutzmitteln zugelassen, davon 266 Wirkstoffe in Deutschland [45]. Im Jahr 2017 waren in Deutschland 818 Pflanzenschutzmittelprodukte zugelassen [30].

2.1.2 Ausgewählte Pflanzenschutzmittel

Im Rahmen dieser Arbeit wurden nach ausgiebiger Literaturrecherche drei Pflanzenschutzmittelwirkstoffe ausgewählt, die in verschiedenen Verarbeitungsprozessen von Lebensmitteln auf ihren Verbleib untersucht wurden. Die Auswahl erfolgte dabei aus unterschiedlichen wirkstoffspezifischen Gesichtspunkten der Risikobewertung:

Das Fungizid Prochloraz wurde ausgewählt, da die Substanz als Vertreter der Azolfungizide in Verdacht steht endokrindisruptive Eigenschaften zu besitzen [46, 47]. Da die für diese Wirkung verantwortliche Imidazolgruppe als thermisch stabil gilt [48], liegt der Verdacht nahe, dass auch verarbeitungsbedingte Abbauprodukte von toxikologischer Relevanz sein können, wenn diese die intakte Imidazolgruppe enthalten.

Das Insektizid Deltamethrin nimmt eine besondere Rolle ein, da das Pyrethroid nicht nur für die professionelle Anwendung zugelassen ist, sondern auch für die private Nutzung im Haus- und Kleingartenbereich [49, 50]. Die Verwendung durch ungeschulte Anwender stellt somit ein potentiell Risiko dar, wenn mit Deltamethrin behandeltes Gemüse im Haushalt verarbeitet und verzehrt wird.

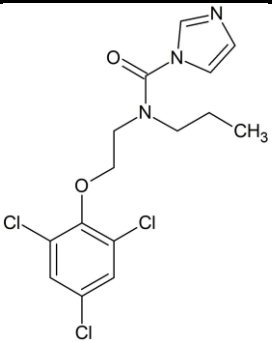
Der Wirkstoff Chlorpropham ist aufgrund seiner häufigen Verwendung als Keimungshemmer während der Lagerung von Kartoffeln von hoher wirtschaftlicher Relevanz [30, 51, 52]. Seitens der EFSA besteht jedoch der Verdacht, dass die Umsetzung zum möglicherweise krebserregenden 3-Chloranilin während der Lagerung und der Lebensmittelverarbeitung eine Gefahr für den Verbraucherschutz darstellt [53, 54]. Im Vergleich zu den meisten anderen Pflanzenschutzmitteln liegen die üblichen Applikationsmengen von Chlorpropham (mehrere Gramm je Tonne Kartoffeln) sehr hoch, sodass auch ein prozentual geringer Abbau des Wirkstoffes zu relevanten Absolutmengen an 3-Chloranilin führen kann [54].

In den folgenden Abschnitten werden grundlegende Eigenschaften sowie Aspekte der Risikobewertung detailliert für die einzelnen Wirkstoffe zusammengefasst.

2.1.2.1 Prochloraz

Der Wirkstoff Prochloraz wird als präventives und kuratives Fungizid für die Behandlung von Getreidepflanzen und -saatgut, Raps und anderen Pflanzen angewendet. Als Vertreter der Azolfungizide wirkt Prochloraz durch die Hemmung der Lanosterin-Demethylase während der Ergosterin-Biosynthese in Pilzen. Der Wirkmechanismus beruht auf der Wechselwirkung zwischen der Imidazolgruppe des Prochloraz mit dem Eisenion des aktiven Zentrums des Cytochrom P450 Systems. Dies führt zur Hemmung des Schlüsselenzyms und verhindert die Membranbildung und somit das Wachstum von Pilzen [55-57]. Die Strukturformel sowie grundlegende Daten zu Prochloraz sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2. Eigenschaften und Basisdaten des Wirkstoffes Prochloraz

Name	Prochloraz
Strukturformel	
Summenformel	C ₁₅ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₂
Chemische Bezeichnung	N-Propyl-N-(2-(2,4,6-trichlorphenoxy)ethyl)-1H-imidazol-1-carboxamid
CAS-Nummer	67747-09-5
Pestizid-Klasse	Fungizid [58]
Wirkung	Hemmung der Ergosterolsynthese [55-57]
Zulassung in Deutschland	Ja [58]
Einsatz in Deutschland	Raps, Weizen, Roggen, Gerste, Wintergerste [59]
Siedepunkt	zersetzt sich bei Erhitzung [60]
Zersetzungspunkt	222 °C [61]

Fungizide der Imidazolgruppe stehen unter Verdacht als endokrine Disruptoren zu wirken [46]. Es ist bekannt, dass die Wechselwirkung zwischen der Imidazolgruppe und dem Eisenatom des Cytochrom P450-Komplexes nicht auf die Lanosterin-Demethylase beschränkt ist. Aufgrund dieser unspezifischen Interaktion hemmen

Imidazolfungizide auch andere Enzyme vom Cytochrom P450-Typ. Als Beispiel ist die Aromatase zu nennen, die als wichtiges Enzym bei der Biosynthese von Steroidhormonen gilt und somit den Hormonhaushalt verschiedener Organismen signifikant beeinflusst [47].

In den letzten Jahrzehnten wurden zahlreiche Studien zum Verbleib von Prochloraz in verschiedenen Organismen und in Boden veröffentlicht [62-68]. Wie in Abbildung 1 vereinfacht und schematisch dargestellt, umfassen sowohl der Metabolismus als auch der Abbau im Boden eine initiale Ringöffnung der Imidazolgruppe bei der zunächst der Metabolit BTS 44596 (3-Formyl-1-propyl-1-[2-(2,4,6-trichlorphenoxy)-ethyl]harnstoff) gebildet wird.

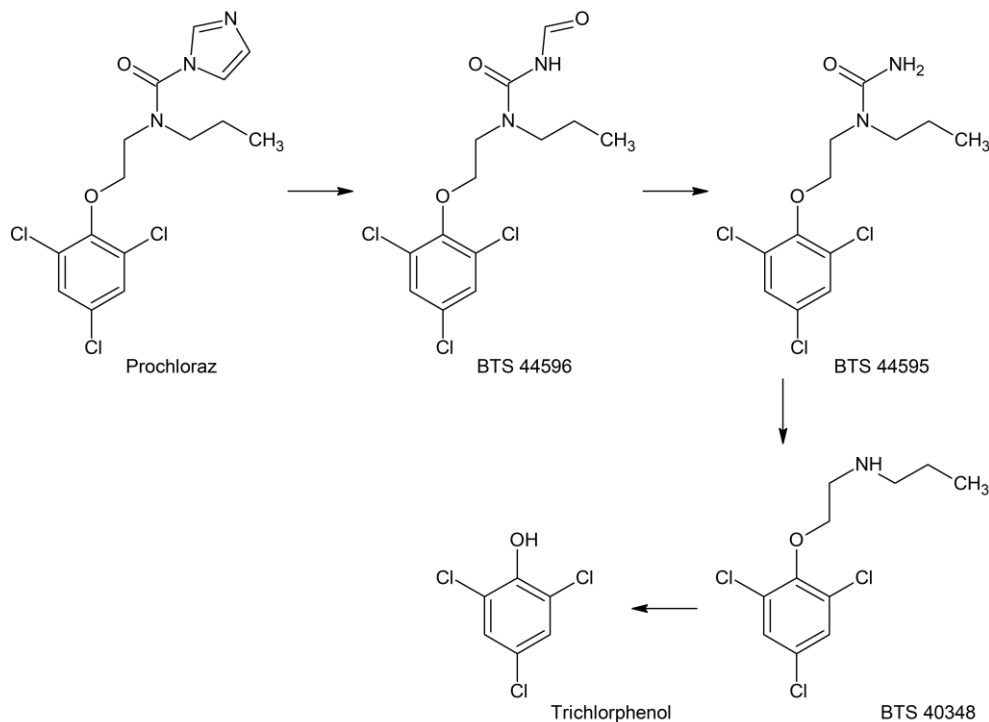


Abbildung 1. Vereinfachtes Schema der Metabolismus- bzw. Abbauege von Prochloraz in Organismen und in Boden. BTS 44596: 3-Formyl-1-propyl-1-[2-(2,4,6-trichlorphenoxy)ethyl]harnstoff, BTS 44595: 1-Propyl-1-[2-(2,4,6-trichlorphenoxy)-ethyl]harnstoff, BTS 40348: N-Propyl-N-2-(2,4,6-trichlorphenoxy)-ethylamin [62-70]

Unter Abspaltung der Formylgruppe entsteht der Metabolit BTS 44595 (1-Propyl-1-[2-(2,4,6-trichlorphenoxy)-ethyl]harnstoff), der wiederum zu BTS 40348 (N-Propyl-N-2-(2,4,6-trichlorphenoxy)-ethylamin) umgesetzt wird. Als ein finales Abbauprodukt entsteht 2,4,6-Trichlorphenol. Aufgrund der initialen Ringöffnung ist anzunehmen,

dass die fungizide und möglicherweise endokrindisruptive Wirkung der Imidazolgruppe durch den Metabolismus aufgehoben wird.

Im Rahmen von Zulassungsstudien wurde der Verbleib von Prochloraz unter hydrolytischen Bedingungen der Lebensmittelverarbeitung simulativ untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt und zeigen, dass der Wirkstoff unter den Pasteurisierungs-sowie Back-, Brau- und Kochbedingungen stabil ist. Lediglich unter den Bedingungen, die den Sterilisierungsprozess repräsentieren, wird ein geringer Abbau von 5% zu dem aus Metabolismus- und Abbaustudien bekannten Metaboliten BTS 40348 (vergleiche Abbildung 1) beschrieben [69].

Tabelle 3. Ergebnisse der Verbleibsuntersuchungen des Wirkstoffes Prochloraz nach OECD 507 Richtlinie [69]

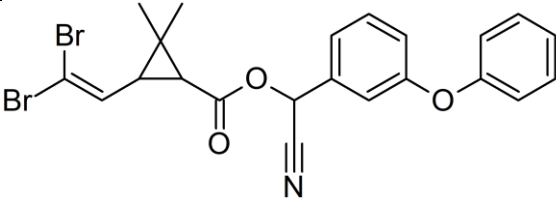
Repräsentierte Verarbeitungsschritte	Ergebnis
Pasteurisierung (90 °C, 20 min, pH 4)	Stabil, kein Abbau
Backen, Brauen, Sieden (100 °C, 60 min, pH 5)	Stabil, kein Abbau
Sterilisierung (120 °C, 20 min, pH 6)	Geringer Abbau zu BTS 40348 (ca. 5%)

Die Rückstandsdefinitionen von Prochloraz werden für die Risikobewertung und für die Überwachung getrennt voneinander betrachtet. Im Bereich der Risikobewertung (d.h. Studien, die vor der Zulassung durchgeführt werden) werden Prochloraz-Rückstände als die Summe von Prochloraz und allen Metaboliten und Abbauprodukten (als Prochloraz-Äquivalente) definiert, die die 2,4,6-Trichlorphenolgruppe tragen [46, 71]. Zur simultanen Bestimmung dieser Wirkstoffrückstände wird ein Summenparameter angewendet, der einen Hydrolyseschritt zu Trichlorphenol und eine anschließende Analytik von Trichlorphenol vorsieht [72]. Da die Trichlorphenol-Gruppe auch in anderen Pflanzenschutzmittelwirkstoffen enthalten ist, ist diese Methode für reale Umwelt- und Lebensmittelproben im Monitoringbereich zu unspezifisch [46]. Für die Überwachung ist deshalb die Summe von Prochloraz und dessen Metaboliten BTS 44595 und BTS 44596 (vergleiche Abbildung 1) als Rückstandsdefinition festgesetzt [46]. Der Rückstandshöchstgehalt (MRL, engl. *maximum residue level*) für Prochloraz in Raps (-saat) liegt bei 0,5 mg/kg.

2.1.2.2 Deltamethrin

Der Wirkstoff Deltamethrin wird als Insektizid auf verschiedenen Nutz- und Zierpflanzen eingesetzt. Als Vertreter der synthetischen Pyrethroide beruht der Wirkmechanismus von Deltamethrin darauf, dass die Schließung der Natriumkanäle von Nervenzellen der Insekten verhindert wird. Dadurch kommt es zur Lähmung, dem sogenannten *knockdown*, und folglich zum Tod der Tiere [73, 74]. Neben der Anwendung durch professionelle Anwender beispielsweise im Ackerbau, ist Deltamethrin auch für nicht geschulte Anwender im Haus- und Kleingartenbereich zugelassen [49, 50]. Aufgrund von drei chiralen Kohlenstoffen sind sieben verschiedene Stereoisomere des Deltamethrins möglich. Als Deltamethrin wird im Folgenden stets das Hauptisomer (1R, cis, α -S) bezeichnet [75]. Die Strukturformel sowie grundlegende Daten zu Deltamethrin sind in Tabelle 4 aufgeführt.

Tabelle 4. Eigenschaften und Basisdaten des Wirkstoffes Deltamethrin

Name	Deltamethrin
Strukturformel	
Summenformel	C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃
Chemische Bezeichnung	(1R,3R)-[(S)- α -Cyano-3-phenoxybenzyl-3-(2,2-dibromvinyl)]-2,2-dimethylcyclopropanocarboxylat
CAS-Nummer	52918-63-5
Pestizid-Klasse	Insektizid [58]
Wirkung	Verhinderung der Schließung der Na-Kanäle von Nervenzellen [76]
Zulassung in Deutschland	Ja [58]
Einsatz in Deutschland	Diverse Nutzpflanzen (Blumenkohle, Salate, Zucchini Gurke, Kartoffeln) und diverse Zierpflanzen [49, 50]
Siedepunkt	Zersetzt sich bei Erhitzung [77]
Zersetzungspunkt	> 270 °C [77]

Der Metabolismus bzw. Abbau von Deltamethrin wurde im Rahmen von Zulassungsstudien in verschiedenen Pflanzen (Baumwolle, Mais, Äpfel, Tomaten) untersucht. Dabei zeigten sich zwischen den einzelnen Pflanzen nur geringe Unterschiede [78]. Abbildung 2 zeigt schematisch den abgeleiteten Metabolismus- bzw. Abbauweg von Deltamethrin in Pflanzen.

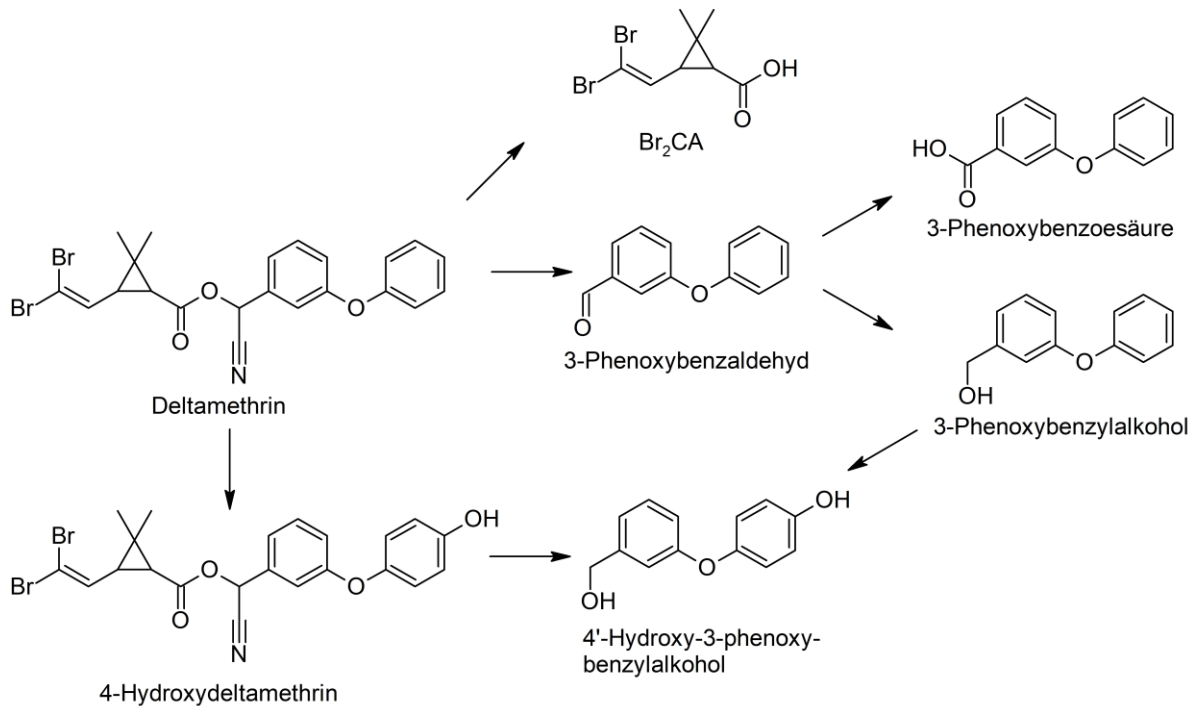


Abbildung 2. Schematischer Metabolismus von Deltamethrin in Pflanzen [78]. Zur Übersicht werden keine Stereoisomere berücksichtigt (Br_2CA : (1R,3R)-3-(2,2-Dibromvinyl)-2,2-dimethyl-cyclopropansäure)

Neben dem Bindungsbruch der zentralen Estergruppe zu Br_2CA ((1R,3R)-3-(2,2-Dibromvinyl)-2,2-dimethyl-cyclopropansäure) und 3-Phenoxybenzaldehyd (3-PBA) wird letzteres Abbauprodukt zusätzlich oxidiert und reduziert. Des Weiteren treten Hydroxylierungsreaktionen am Deltamethrin- sowie am 3-PBA-Molekül auf. Die Umlagerung an chiralen Zentren von Deltamethrin und dessen Abbauprodukten finden ebenfalls statt. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind diese in Abbildung 2 nicht dargestellt. Im Rahmen der Hydrolyse-Studien zur Untersuchung hydrolytischer Einflüsse der Lebensmittelverarbeitung nach OECD 507 Richtlinie zeigt Deltamethrin ähnliche Abbauwege. Diese sind in Tabelle 5 aufgelistet. Unter den beiden Bedingungen, die die Pasteurisierung und Back-, Brau- und Kochprozesse

repräsentieren, wird ein geringer Abbau unter Bildung von 3-PBA beschrieben. Unter den Sterilisierungsbedingungen hingegen tritt ein Abbau unter Bildung von 3-PBA und Br₂CA auf. Die Abbauraten liegen im Bereich von bis zu 75% [75].

Tabelle 5. Ergebnisse der Verbleibsuntersuchungen des Wirkstoffes Deltamethrin nach OECD 507 Richtlinie (Br₂CA: (1R,3R)-3-(2,2-Dibromvinyl)-2,2-dimethyl-cyclopropansäure) [75]

Repräsentierte Verarbeitungsschritte	Ergebnis
Pasteurisierung (90 °C, 20 min, pH 4)	Geringer Abbau zu 3-Phenoxybenzylaldehyd (0,9% - 5,2%)
Backen, Brauen, Sieden (100 °C, 60 min, pH 5)	Geringer Abbau zu 3-Phenoxybenzylaldehyd (0,9% - 5,2%)
Sterilisierung (120 °C, 20 min, pH 6)	Abbau zu 3-Phenoxybenzylaldehyd (59% - 75%) und Br ₂ CA (39% - 47%)

Die Rückstandsdefinition für die Risikobewertung von Deltamethrin umfasst die Summe von Deltamethrin sowie dessen trans-Isomer und dessen α -S-Isomer. Im Überwachungsbereich begrenzt sich die Rückstandsdefinition auf Deltamethrin selbst [75]. Der Rückstandshöchstmengegehalt beispielsweise für Tomaten liegt bei 0,07 mg/kg [45].

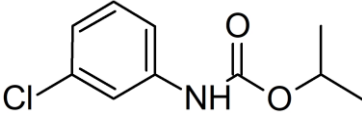
2.1.2.3 Chlorpropham

Der Wirkstoff Chlorpropham wird weltweit als Herbizid und Wachstumsregler angewendet. Das Hauptanwendungsgebiet liegt in der Nutzung als Keimungshemmer für Kartoffeln. Chlorpropham wird nach der Ernte auf die Kartoffeln appliziert, um deren Langzeitlagerung ohne Qualitätsverlust zu ermöglichen [17, 19, 53]. Der Wirkungsmechanismus beruht auf der Störung der Spindelbildung während der Mitose. Chlorpropham wirkt somit als Mitosehemmer und verhindert die Keimung behandelter Kartoffeln während der Lagerung [79, 80]. Die Strukturformel sowie grundlegende Daten zu Chlorpropham sind in Tabelle 6 aufgeführt.

Um eine ausreichende Keimhemmung zu erreichen, liegen die nach GAP-Standards typischerweise applizierten Mengen im Bereich mehrerer Gramm Chlorpropham je Tonne Kartoffeln [54]. Die Applikation erfolgt in der Regel durch Heißvernebelung des Wirkstoffes in Lagerhallen. Smith et al. zeigten, dass durch die hohen Temperaturen

während der Vernebelung ein partieller Abbau von Chlorpropham unter Bildung von 3-Chloranilin stattfindet [81, 82]. Alternative Techniken wie das Besprühen der Kartoffeln mit einem Spray oder die Applikation eines Chlorpropham-haltigen Puders sind jedoch weniger effizient und führen im Vergleich zur Heißvernebelung zu höheren Applikationsmengen und somit höheren Rückständen auf den Kartoffeln [52].

Tabelle 6. Eigenschaften und Basisdaten des Wirkstoffes Chlorpropham

Name	Chlorpropham
Strukturformel	
Summenformel	C ₁₀ H ₁₂ ClNO ₂
Chemische Bezeichnung	Isopropyl-(3-chlorphenyl)carbamate
CAS-Nummer	101-21-3
Pestizid-Klasse	Herbizid, Keimungshemmer
Wirkung	Mitosehemmung durch Verhinderung der Spindelbildung
Zulassung in Deutschland	Ausgesetzt (Stand Mitte 2019) [34]
Einsatz in Deutschland	Bis Mitte 2019: Kartoffeln [83, 84]
Siedepunkt	149 °C [85]
Zersetzungspunkt	247 °C [81]

Die Bildung von 3-Chloranilin wurde ebenfalls in Metabolismusstudien von Chlorpropham beschrieben. Abbildung 3 liefert eine Übersicht über den Metabolismus des Wirkstoffes in Kartoffeln. Neben der Carbamatspaltung unter Bildung von 3-Chloranilin tritt im Rahmen des Fremdstoffmetabolismus eine Hydroxylierung des Chlorprophams auf. Das entstandene 4-Hydroxychlorpropham wird einerseits unter Bildung von 4-Methoxychlorpropham methyliert. Andererseits kann durch Hydrolyse auch das hydroxylierte Derivat des 3-Chloranilins entstehen. Im Falle der beiden hydroxylierten Abbauprodukte wird in der Literatur neben der Methylierung die Bildung entsprechender Phase 2-Konjugate (Glykoside und Aminosäuren) beschrieben [86, 87].

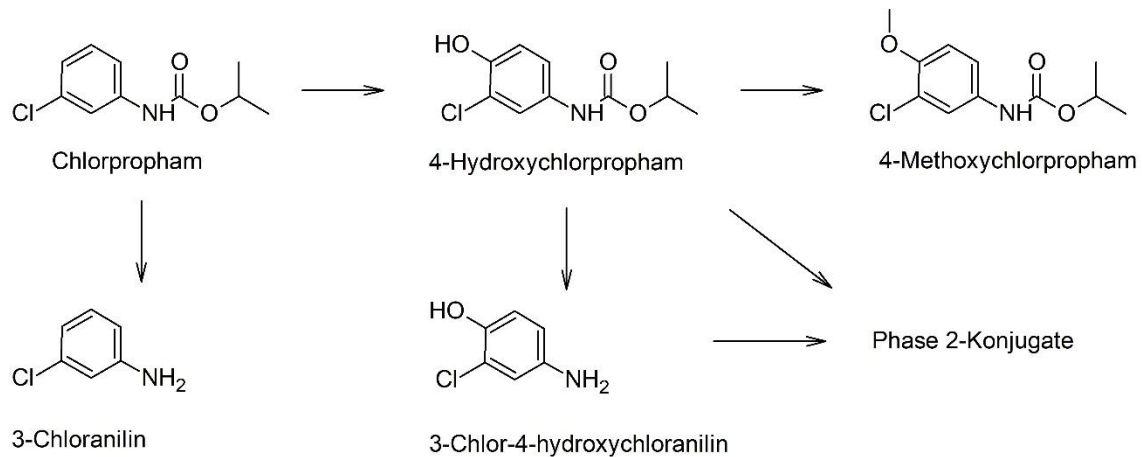


Abbildung 3. Vereinfachtes Schema des Metabolismus von Chlorpropham in gelagerten Kartoffeln [86, 87]

Nachdem das toxikologische Potential von 3-Chloranilin in der Vergangenheit ausgiebig diskutiert wurde [51, 54, 81, 88-92], stuft die EFSA eine genotoxische Wirkung des Metaboliten im Jahr 2017 als unwahrscheinlich ein [53]. Auf Grundlage toxikologischer Studien mit Hunden und Ratten legte die EFSA jedoch akute und chronische Expositionsgrenzen für Chlorpropham und den als relevant eingestuftem Metaboliten 3-Chloranilin fest. Die akute Referenzdosis beträgt 0,5 mg/kg Körpergewicht (KG) für Chlorpropham und 0,03 mg/kg KG für 3-Chloranilin. Für die erlaubte Tagesdosis wurde für Chlorpropham ein indikativer Wert von 0,05 mg/kg KG je Tag festgelegt. Im Falle von 3-Chloranilin liegt der von der EFSA festgelegte Wert bei 0,007 mg/kg KG je Tag. Eine vorläufige Risikobewertung mithilfe des PRIMo Tools (engl. *pesticide residue intake model* [93]) ergab Überschreitungen der ARfD-Werte von 797% für Chlorpropham und 2360% für 3-Chloranilin. Die ADI-Werte werden laut EFSA derzeit um 180% (Chlorpropham) beziehungsweise 195% (3-Chlorpropham) überschritten [53].

Da Kartoffeln in weiten Teilen der Welt in großen Mengen verzehrt [94] und mit Chlorpropham behandelt werden [95-97], ist anzunehmen, dass Kartoffeln eine Führungsrolle bei der Exposition von Verbrauchern gegenüber Chlorpropham-Rückständen spielen. Um die Verdaulichkeit der Stärke zu erhöhen, werden Kartoffeln in der Regel vor dem Verzehr verarbeitet [98]. Die typischen Verarbeitungsschritte umfassen beispielsweise Kochen, Frittieren, Braten oder Backen sowie andere grundlegende Schritte wie beispielsweise das Waschen oder

Schälen der Knollen. Die Exposition gegenüber hohen Temperaturen und gegenüber einer Vielzahl von Lebensmittelinhaltsstoffen (Stärke, Protein, Wasser, Öl) während der Verarbeitung kann potentiell eine zentrale Rolle bei der Minderung von Pflanzenschutzmittelrückständen in den verzehrten Produkten einnehmen. Zum einen können Verluste des Wirkstoffes durch hitzebedingte Verflüchtigung oder durch einen Transfer in umgebende Medien (beispielsweise Kochwasser oder Frittieröl) auftreten [17, 19]. Zum anderen wird von Seiten der EFSA der Abbau von Chlorpropham unter Bildung von 3-Chloranilin durch hohe Temperaturen angenommen. Dies könnte die beschriebene Überschreitung von akuten und chronischen Expositionsgrenzen für 3-Chloranilin weiter erhöhen. Grundlage für die Annahme der EFSA sind die Ergebnisse der Zulassungsstudien nach OECD 507 Richtlinie. Wie Tabelle 7 zum Überblick zeigt, steigt die prozentuale Bildungsrate von 3-Chloranilin mit steigender Temperatur.

Tabelle 7. Ergebnisse der Verbleibsuntersuchungen des Wirkstoffes Chlorpropham nach OECD 507 Richtlinie [53]

Repräsentierte Verarbeitungsschritte	Ergebnis
Pasteurisierung (90 °C, 20 min, pH 4)	Geringer Abbau zu 3-Chloranilin (0,4%)
Backen, Brauen, Sieden (100 °C, 60 min, pH 5)	Geringer Abbau zu 3-Chloranilin (0,6%)
Sterilisierung (120 °C, 20 min, pH 6)	Geringer Abbau zu 3-Chloranilin (1,3%)

Nach der Erhitzung auf 120 °C für 20 min bei pH 6 (Sterilisierungsparameter) wird ein Abbau von Chlorpropham zu 3-Chloranilin im Bereich von 1,3% berichtet. Es ist weiter anzunehmen, dass erhöhte Temperaturen, wie beispielsweise beim Frittieren oder Backen von Kartoffelprodukten, zu einer verstärkten Bildung des kritischen 3-Chloranilins führen [53]. Unter Berücksichtigung der im Vergleich zum Chlorpropham deutlich geringeren toxikologischen Grenzwerte für 3-Chloranilin ist folglich auch ein prozentual geringer Abbau zu 3-Chloranilin von großer Bedeutung für die Risikobewertung des Wirkstoffes.

Die derzeitige EU Rückstandsdefinition für Chlorpropham in der Risikobewertung umfasst neben dem Wirkstoff selbst auch 4-Hydroxychlorpropham (frei und konjugiert) und 3-Chloranilin (frei und konjugiert). Im Bereich der Überwachung

umfasst die Rückstandsdefinition lediglich Chlorpropham selbst [53]. Der Rückstandshöchstgehalt für Chlorpropham in Kartoffeln liegt bei 10 mg/kg [45].

Im Frühjahr 2019 wurde die Zulassung von Chlorpropham auf europäischer Ebene nicht erneuert, da der Antrag von den Antragstellern zurückgezogen wurde. Entsprechend der Durchführungsverordnung (EU) 2019/989 der Kommission lief die Zulassung im Juli 2019 aus, da die Hersteller die von der EFSA beschriebenen Bedenken nicht widerlegen konnten. Die Aufbrauchsfrist für Chlorpropham-Präparate wurde auf Oktober 2020 festgelegt [34]. Da die bisher genutzten Lager (Wände, Böden, Lagerungsboxen) in der Regel mit Chlorpropham kontaminiert sind, können auch nach Ablauf der Aufbrauchsfrist darin gelagerte Kartoffeln mit dem Keimungshemmer kontaminiert werden [91]. Zur Berücksichtigung dieser Kreuzkontamination wird seitens der Europäischen Kommission ein temporärer Rückstandshöchstgehalt für Chlorpropham in Kartoffeln angestrebt [99].

2.2 Chemische Reaktionen während der Lebensmittelverarbeitung

Die Verarbeitung von Lebensmitteln umfasst zahllose Prozesse, die sich auf den physischen und chemischen Zustand eines Lebensmittels auswirken. Dazu gehören einfache Prozesse wie das Waschen, Schneiden, Schälen, Mahlen oder Zerkleinern von landwirtschaftlichen Rohprodukten. Weitere Verarbeitungsprozesse umfassen die Behandlung der Roh- oder Zwischenprodukte unter harscheren Bedingungen. Dies betrifft beispielsweise die Verarbeitung bei hohen Temperaturen (z.B. Kochen, Backen, Braten, Rösten, Frittieren) oder in Gegenwart von Prozesschemikalien (z.B. Speiseölraffination) oder Mikroorganismen (z.B. Fermentationsprozesse). Diese gehen in der Regel mit ausgeprägten Veränderungen der chemischen Beschaffenheit der Lebensmittel einher. Neben der Abtötung von Mikroorganismen und der Haltbarmachung sind die Gründe für die Verarbeitung von Lebensmitteln divers [100].

Aus ernährungsphysiologischer Sicht ist bekannt, dass das Garen von Rohprodukten die Verdaulichkeit von Nährstoffen, beispielsweise der Proteine in Fleisch oder der Stärke in Kartoffeln, deutlich erhöht. Folglich stellte die Verarbeitung von Lebensmitteln einen evolutiven Vorteil der Menschen dar [98, 101]. Ein weiterer Effekt

der Lebensmittelverarbeitung ist in vielen Fällen die Bildung von Aromastoffen, die die Auswahl der Lebensmittel maßgeblich beeinflusst [102, 103]. Ein bekanntes Beispiel ist die Bildung des typischen Röstaromas von Kaffee. 2-Furfurylthiol ist einer der Schlüsselaromastoffe des Kaffees und wird während des Röstvorgangs im Rahmen der Maillard-Reaktion gebildet [104, 105]. Die Maillard-Reaktion gilt als prominentes Beispiel für chemische Reaktionen während der Lebensmittelverarbeitung und umfasst ein breites Spektrum zahlreicher Reaktionen. Diese nicht-enzymatische Bräunung tritt bei der Erhitzung von kohlenhydrat- und proteinhaltigen Lebensmitteln bei Temperaturen über 120 °C auf und beschreibt die Reaktion zwischen reduzierenden Verbindungen (reduzierende Zucker) und Aminverbindungen (Aminosäuren). Neben Aromastoffen werden im Rahmen der Maillard-Reaktion auch Melanoidine gebildet, die die Bräunung beispielsweise von gebratenem Fleisch oder gebackenem Brot verursachen [100, 106].

Spätestens durch die zufällige Entdeckung der Bildung des krebserregenden Acrylamids Anfang der 2000er Jahre sind auch negative Aspekte chemischer Reaktionen während der Lebensmittelverarbeitung bekannt [107, 108]. Der Hauptbildungsweg von Acrylamid liegt in der Reaktion der Aminosäure Asparagin mit reduzierenden Zuckern bzw. deren Abbauprodukten. Die Bildung wird durch die trockene Erhitzung bei hohen Temperaturen begünstigt und tritt unter anderem während des Frittiervorgangs von Pommes frites oder Chips auf [100, 106]. Aufgrund der krebserregenden Eigenschaften von Acrylamid wurden innerhalb der Verordnung (EU) 2017/2158 auf EU-Ebene Maßnahmen zur Minderung der Acrylamidbelastung von Verbrauchern vereinbart. Dies umfasst unter anderem die Selektion asparaginarmer Kartoffelsorten und die Vermeidung von hohen Temperaturen während der Verarbeitung [109]. Beinahe zwei Jahrzehnte nach der Entdeckung der Acrylamid-Problematik befassen sich immer noch zahlreiche Studien mit dem Ziel, zusätzliche Bildungswege von Acrylamid aufzuklären und die Bildung weiter zu reduzieren [110-115]. Dies unterstreicht die hohe Komplexität chemischer Reaktionen während der Lebensmittelverarbeitung. Weitere Beispiele für verarbeitungsbedingte Lebensmittelkontaminanten ist die Bildung polyzyklischer aromatischer Kohlenwasserstoffe während des Räucherns, die Bildung von Nitrosaminen in gepökelten Produkten oder die Bildung von Monochlorpropandiol-Fettsäureestern während der Speiseölraffination [116-119].

2.3 Pflanzenschutzmittel während der Lebensmittelverarbeitung

Der Verbleib von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen während der Verarbeitung von Lebensmitteln wurde in zahlreichen Studien untersucht. Zu den Prozessen, die den Verbleib eines Wirkstoffes während der Verarbeitung beeinflussen, gehören unter anderem das Herauslösen aus dem Lebensmittel, Thermolyse, Hydrolyse, enzymatischer Metabolismus, Oxidation, Photolyse (z.B. bei der Sontrocknung) oder Verdampfen [120]. Allgemein wird in der Literatur eine deutliche Reduktion der Pestizidrückstände durch die Verarbeitung von Lebensmitteln beschrieben. Dies gilt beispielsweise für das Waschen, Schälen, Kochen oder Backen von Rohprodukten [21, 121-124]. Im Falle von Trocknungsschritten hingegen wird eine Erhöhung der Rückstandsgehalte durch Ankonzentrierungseffekte beschrieben [16, 18, 22, 125]. Die Minderung beziehungsweise Erhöhung eines Rückstandsgehalts während der Lebensmittelverarbeitung ist stark abhängig von diversen Parametern. Dazu gehören die Bedingungen während des Verarbeitungsprozesses (z.B. Matrix, Temperatur oder Dauer) sowie physikochemische Eigenschaften des individuellen Wirkstoffes (z.B. Flüchtigkeit, Thermo- oder pH-Stabilität) [21, 121, 122].

Auf Basis von Zulassungsstudien nach der OECD 508 Richtlinie [13] können Verarbeitungsfaktoren abgeleitet werden. Diese beschreiben das Verhältnis der Rückstände einer Substanz im Endprodukt zu den Rückständen im Rohprodukt und geben an, ob die Rückstände durch die Verarbeitung erhöht ($PF > 1$) oder reduziert ($PF < 1$) werden. Im Gegensatz zu den Studien selbst werden diese Faktoren auf nationaler Ebene durch das Bundesinstitut für Risikobewertung in Form einer Datenbank online und öffentlich zugänglich gemacht [126, 127]. Auf EU-Ebene wird eine analoge Datenbank durch die EFSA frei zur Verfügung gestellt [128-131]. Unter Berücksichtigung der PF können die Expositionsschätzungen von Verbrauchern und Nutztieren im Rahmen der Zulassung angepasst werden, wenn diese von der EFSA als ausreichend robust und verlässlich eingestuft werden [126].

Bei der kritischen Betrachtung der Aussagen hinsichtlich einer Verminderung von Pestizidrückständen muss jedoch darauf hingewiesen werden, dass in einem Großteil der Studien lediglich die Gehalte des Wirkstoffes beziehungsweise dessen Rückstandsdefinition selbst untersucht wurden. Im Hinblick auf die Bildung möglicher Abbauprodukte infolge der Lebensmittelverarbeitung ist die Studienlage deutlich

begrenzter [21]. Die Relevanz solcher Untersuchungen zeigten Amvrazi und Albani, die die Auswirkung der Extraktion von Olivenöl auf die Rückstände verschiedener Pflanzenschutzmittel analysierten. Es wurde gezeigt, dass die thermische Belastung während der Olivenölgewinnung zur Bildung von Fenthionsulfoxid aus Fenthion und Endosulfansulfat aus Endosulfan führt. Zu betonen ist die erhöhte Toxizität der beiden Abbauprodukte im Vergleich zu ihren Ausgangssubstanzen [22]. Ähnlich wird beschrieben, dass Fungizide der Ethylenbisdithiocarbamat-Gruppe durch hohe pH-Werte und Temperaturen während der Lebensmittelverarbeitung in Ethylenthioharnstoff abgebaut werden können, der aufgrund der karzinogenen und mutagenen Wirkung als deutlich toxischer eingestuft wird als die Ausgangssubstanzen [23, 132]. Folglich können aus dem alleinigen Abbau eines Wirkstoffes keine zwingenden Schlussfolgerungen über die Höhe der gesamten Rückstände eines Wirkstoffes gezogen werden. Im Rahmen des derzeitigen Zulassungsverfahrens nach der OECD 508 Richtlinie würde der Abbau eines Wirkstoffes zu unbekanntem, potentiell gefährlichen Stoffen einerseits nicht detektiert und andererseits als positiv-assoziierte Minderung der Rückstände fehlinterpretiert werden. Eine adäquate Risikobewertung erfordert demnach eine entsprechende Verbleibsuntersuchung eines jeden Wirkstoffes während verschiedener Verarbeitungsprozesse sowie die toxikologische Einschätzung der verarbeitungsbedingten Abbauprodukte.

2.4 Radioaktiv-Analytik

Die Nutzung von radioaktiv markierten Substanzen bietet einzigartige Vorteile bei der Rückstandsanalytik in komplexen Systemen. Diese Technik ist beispielsweise bei der Untersuchung des Verbleibs und der Verteilung von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen in Pflanzen oder in der Umwelt unverzichtbar. Oftmals wird das radioaktive ^{14}C -Isotop des Kohlenstoffs eingesetzt, um Testsubstanzen radioaktiv zu markieren [133].

^{14}C kommt mit einer Häufigkeit von etwa 1 zu 10^{12} Kohlenstoffatomen in der Natur lediglich in äußerst geringen Mengen vor. Natürliches ^{14}C hat auf die Radioaktiv-Analytik folglich praktisch keinen Einfluss. Das $^{12}\text{C}/^{14}\text{C}$ -Verhältnis wird jedoch im Rahmen der Radiokarbonmethode beispielsweise für die Datierung archäologischer

Funde untersucht. Wie Gleichung 1 zeigt, zerfällt ^{14}C unter Bildung von ^{14}N -Stickstoff, einem Antineutrino $\bar{\nu}$ und einem Elektron e^- [134]. Die Halbwertszeit von ^{14}C beträgt etwa 5730 Jahre [135].



Der Zerfall unter Freisetzung eines Elektrons wird als β^- -Strahlung bezeichnet. Diese Strahlung kann beispielsweise durch eine Glaswand abgeschirmt werden und stellt somit nur eine geringe Gefahr für Mitarbeiter dar. Des Weiteren bietet der Einsatz von ^{14}C den Vorteil, dass aufgrund der Halbwertszeit von 5730 Jahren keine signifikante Änderung der Aktivitätsmenge und nur wenige radiolytische Prozesse während mehrjähriger Studien auftreten. Die vergleichsweise niedrige spezifische Aktivität des ^{14}C -Isotops von etwa 2310 kBq/mmol (62,5 mCi/mmol) und die abschirmbare β^- -Strahlung erlauben einen relativ sicheren Umgang mit der Radioaktivität [24].

Die Gewinnung des ^{14}C -Isotops erfolgt durch Bestrahlung von Stickstoffverbindungen wie beispielsweise Calciumnitrat oder Aluminiumnitrid (AlN) und anschließende Isolation des entstandenen ^{14}C -Kohlenstoffs [136]. Der so gewonnene radioaktive Kohlenstoff wird für die Synthese von Zielmolekülen bzw. Zwischenprodukten verwendet. Die radioaktiv markierten Substanzen, die für die radioaktiven Versuche dieser Arbeit verwendet wurden, sind in Abbildung 4 dargestellt und zeigen die Positionen der radioaktiv markierten Kohlenstoffe in jedem Molekül.

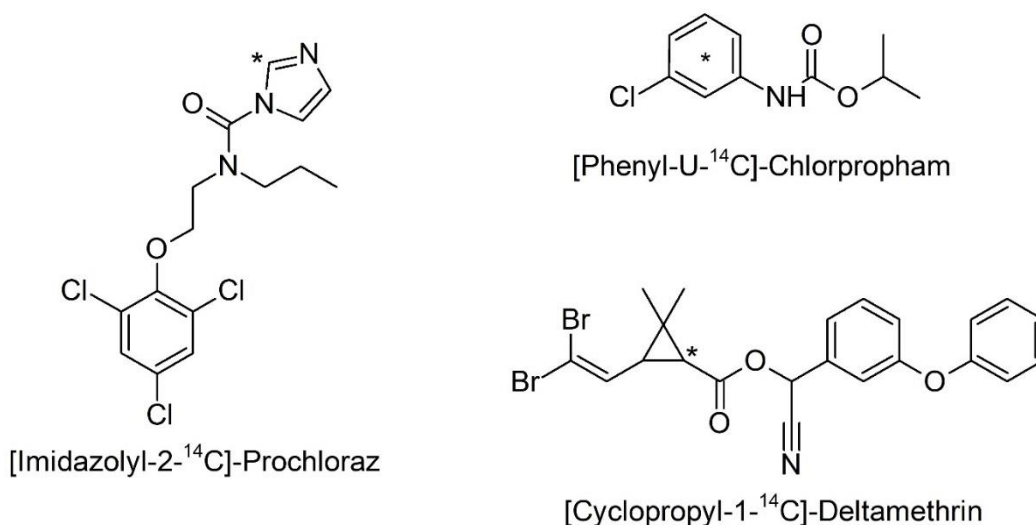


Abbildung 4. Strukturformeln der in dieser Arbeit verwendeten radioaktiv markierten Substanzen mit Angabe der Position der radioaktiven Markierung durch ^{14}C (*)

Alle eingesetzten Substanzen sind jeweils einfach markiert. Die Position der radioaktiven Markierung ist von hoher Relevanz für Verbleibsstudien, da nur die Abbauprodukte und Metaboliten mittels radioanalytischer Verfahren detektiert werden können, die das radioaktive Label tragen. In komplexen Zulassungsstudien werden aus diesem Grund oftmals mehrfach-markierte Substanzen oder Substanzen mit unterschiedlichen Markierungspositionen eingesetzt. Das in dieser Arbeit eingesetzte radioaktiv markierte Chlorpropham trägt ein einzelnes ^{14}C -Isotop, das uniform innerhalb des Phenylrings verteilt auftritt („Phenyl-U“).

Der Einsatz von radioaktiv markierten Substanzen bringt zahlreiche Vorteile für die Aufklärung des Verbleibs von Substanzen. Da die Radioaktivität nicht nur in flüssigen Proben, sondern auch direkt in Feststoffen gemessen werden kann (vgl. Kapitel 0), ermöglicht diese Technik die vollständige und matrixunabhängige Bilanzierung der Aktivität in komplexen Systemen. Somit ist es ebenfalls möglich, extrahierbare und nicht-extrahierbare Rückstände zu quantifizieren. Des Weiteren ermöglicht und vereinfacht die Nutzung von Radioaktivsubstanzen die Identifizierung von Abbauprodukten. Dies erfolgt durch die Detektion radioaktiv markierter Abbauprodukte nach chromatographischer Trennung (vgl. 2.4.2). Das Vorliegen spezifischer Isotopen-Verhältnisse zwischen nicht markierten und markierten Molekülen vereinfacht zusätzlich die Identifizierung relevanter Massen in der hochauflösenden Massenspektrometrie (HRMS, engl. *high-resolution mass spectrometry*) [24].

Ein Nachteil des Einsatzes von radioaktiv markierten Substanzen ist der hohe administrative Aufwand beispielsweise für Umgangsgenehmigungen und Dokumentation [137]. Neben den Kosten für spezielle analytische Instrumente stellen auch die hohen Kosten für radioaktiv markierte Substanzen eine entscheidende Rolle. Wenige Milligramm einer Substanz können abhängig vom Synthesaufwand mehrere Hunderttausend Euro kosten.

2.4.1 Aktivitätsbestimmung in Flüssigkeiten und Feststoffen

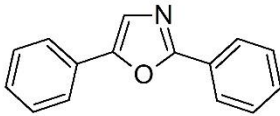
Im Folgenden werden grundlegende Techniken beschrieben, die bei der Bestimmung von Radioaktivität in unterschiedlichen Proben zum Einsatz kommen. Eine zentrale Rolle nimmt dabei die Flüssigszintillationszählung (LSC, engl. *liquid scintillation counting*) ein, bei der die radioaktive Strahlung in messbare Lichtimpulse umgewandelt wird [138].

Für die Messung von flüssigen Proben wird ein Aliquot der Probe in einem LSC-Vial mit einem sogenannten Cocktail versetzt. Dabei handelt es sich um ein flüssiges Gemisch aus Lösemitteln, einem oder mehreren Szintillatoren und Lösungsvermittlern. Die Lösemittel und der Lösungsvermittler dienen dazu, die Probe mit dem Cocktail ohne Phasentrennung oder Trübung zu mischen. Die Lösemittel dienen zusätzlich dazu, die Energie der Strahlung in Form von Anregungsenergie aufzunehmen und an die Szintillatoren zu übertragen. Dazu eignen sich insbesondere aromatische Lösemittel wie Benzol, Toluol, Xylol oder andere methylierte Benzole. Aus Sicherheitsgründen enthalten moderne Cocktails Lösemittel mit einem höheren Flammpunkt wie beispielsweise Diisopropylnaphthaline [138].

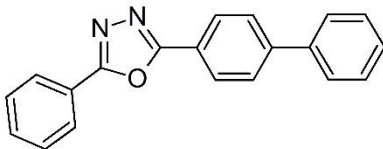
Die Szintillatoren werden durch Anregungsenergie des Lösemittels in einen angeregten Zustand versetzt. Bei der Rückkehr in den Grundzustand werden Lichtimpulse emittiert, die wiederum von einer Photomultiplier-Röhre (PMT, engl. *photo multiplier tube*) detektiert werden. In Abhängigkeit von der Struktur des Szintillators liegen die Wellenlängen des emittierten Lichts im Bereich von unter 400 nm. Da die meisten Photomultiplier bei etwa 420 nm die höchste Sensitivität aufweisen, werden in Cocktails häufig sekundäre Szintillatoren eingesetzt. Dabei handelt es sich um elektronenreiche, aromatische Systeme, die den Wellenlängenbereich des emittierten Lichtes in den Bereich um 420 nm verschieben [138]. Abbildung 5 zeigt beispielhaft die Strukturen häufig eingesetzter Szintillatoren.

Primäre Szintillatoren

PPO: 2,5-Diphenyloxazol

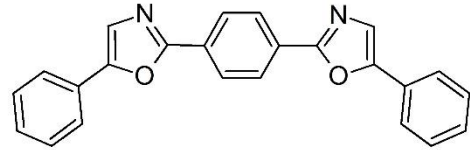


PBD: 2-Phenyl-5-biphenyl-1,3,4-oxdiazol



Sekundäre Szintillatoren

POPOP: 1,4-Bis(5-phenyloxazol-2-yl)benzol



Bis-MSB: 1,4-Bis(2-methylstyryl)benzol

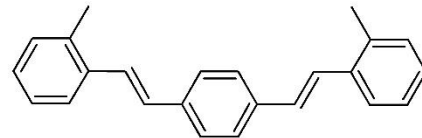


Abbildung 5. Strukturformeln häufig eingesetzter primärer und sekundärer Szintillatoren für die Flüssigszintillationszählung [138]

Die Messung der Proben erfolgt in einer mit Blei abgeschirmten Kammer. Im Falle des in dieser Arbeit verwendeten LSC-Systems (Hidex 600 SL) befinden sich in der Kammer drei Photomultiplier, die im Dreieck um das LSC-Gefäß angeordnet und über eine Koinzidenzschaltung verbunden sind. Dadurch können einerseits zufällige Lichtimpulse (z.B. Hintergrundstrahlung) detektiert und herausgefiltert werden. Andererseits kann über das Verhältnis der Lichtimpulse, die doppelt beziehungsweise dreifach gemessen wurden, ein Korrekturfaktor bestimmt werden. Dieser TDCR-Faktor (engl. *triple-double coincidence ratio*) gibt an, wie stark die Lichtimpulse in der Probe beispielsweise durch Farbstoffe abgeschwächt werden. Man spricht in diesem Zusammenhang von einem Quenching der Probe [139, 140]. Unter Berücksichtigung des TDCR-Faktors und der gezählten Lichtimpulse (CPM, engl. *counts per minute*) werden die Zerfälle pro Minute (DPM, engl. *desintegrations per minute*) berechnet. Dieser Wert wiederum kann schließlich in die Zerfälle pro Sekunde umgerechnet werden und entspricht der SI-Einheit Becquerel ($1 \text{ Bq} = 1 \text{ Zerfall/Sekunde}$) für die Aktivität. Oftmals wird die Aktivität auch in Curie (Ci) angegeben. Ein mCi entspricht dabei 37 MBq [141].

Mithilfe der LSC-Technik können somit flüssige Proben bei vorhandener Mischbarkeit mit ausgewählten Cocktails direkt gemessen werden. Für die Aktivitätsmessung in Feststoffproben gibt es zwei Probenvorbereitungsmethoden. Eine Möglichkeit stellt

die vollständige Verbrennung von Probenaliquots dar. Dazu wird ein sogenannter Oxidizer genutzt. Die Probe wird dazu in Zellulose-Konus eingewogen und in einer Sauerstoffatmosphäre unter einer Glasglocke verbrannt. Dabei entstehendes CO₂ wird inklusive des ¹⁴CO₂ in einer Gasphasenreaktion von einem Amin unter Bildung eines Carbamats fixiert [142]. Dazu wird beispielsweise 3-Methoxypropylamin eingesetzt. Das entstandene Carbamat wird mit einem LSC-Cocktail versetzt und kann per LSC vermessen werden. Da sowohl die Verbrennung als auch die CO₂-Fixierung quantitativ sind, kann über die Probeneinwaage auf die Aktivität im Feststoff geschlossen werden [143, 144].

Alternativ zur Verbrennungsmethode können organische Feststoffproben chemisch aufgeschlossen werden. Man spricht von einer Solubilisierung der Probe. Dazu werden Proben in einem Glasvial eingewogen und mit dem Aufschlussmittel versetzt. Neben dem Einsatz von Säuren eignen sich vor allem quartäre Ammoniumverbindungen wie Dodecyldimethyltetradecylammoniumhydroxid als starke Basen für die Zersetzung von biologischem Material. Die Behandlung in einem Ultraschallbad oder die Erhitzung beschleunigen den Aufschluss. Starke Färbungen der Proben nach der Solubilisierung können durch den Einsatz von Wasserstoffperoxid entfernt beziehungsweise abgeschwächt werden. Die solubilisierete Probenlösung kann dann mit einem geeigneten LSC-Cocktail gemischt und mittels LSC gemessen werden [143, 145-147].

2.4.2 Radio-Flüssigchromatographie

Die Detektion potentieller Abbauprodukte erfolgt im Rahmen dieser Arbeit durch Kopplung eines UPLC®-Systems mit einem Radiodetektor und einem hochauflösenden Massenspektrometer. Der Radiodetektor fungiert als Durchflussdetektor zwischen dem chromatographischen und dem massenspektrometrischen System. Im Folgenden soll im Detail auf die Funktionsweise und die Gründe eines Radiodetektor-Einsatzes eingegangen werden.

Das Grundprinzip des Radiodetektors gleicht dem zuvor beschriebenen Prinzip der Flüssigszintillationszählung. Der Unterschied besteht darin, dass die Umwandlung radioaktiver Strahlung bei dem in dieser Arbeit verwendeten Detektionsverfahren

nicht über einen flüssigen Szintillator, sondern über einen Feststoffsintillator erfolgt. Das Funktionsprinzip basiert wie zuvor für Flüssigszintillatoren beschrieben auf der Anregung des Feststoffsintillators durch radioaktive Strahlung und Emission von Lichtimpulsen bei Rückkehr in den Grundzustand [148, 149]. Der Szintillator liegt auf der Innenseite eines spiralförmigen Teflonschlauchs stationär gebunden vor und ist mit einer hydrophoben molekularen Schicht überzogen. Die Oberflächenbehandlung dient der Reduktion beziehungsweise Elimination der Absorption von Molekülen an dem Szintillatormaterial und verhindert somit Verschleppungen und Kontaminationen innerhalb des Schlauches. Als Feststoffsintillator wird in dieser Arbeit anorganisches Yttriumglas (YG) verwendet, das innerhalb des Teflonschlauchs mit einer Granularität von 50 bis 70 μm vorliegt. An beiden Enden ist der Schlauch mit Nylonfritten gegen das Ausschwemmen des Szintillatormaterials gesichert [150]. Wie Abbildung 6 zeigt, liegt der Schlauch spiralförmig in der Messzelle angeordnet vor und wird von dem LC-Eluat auf dem Weg in Richtung Massenspektrometer durchflossen.

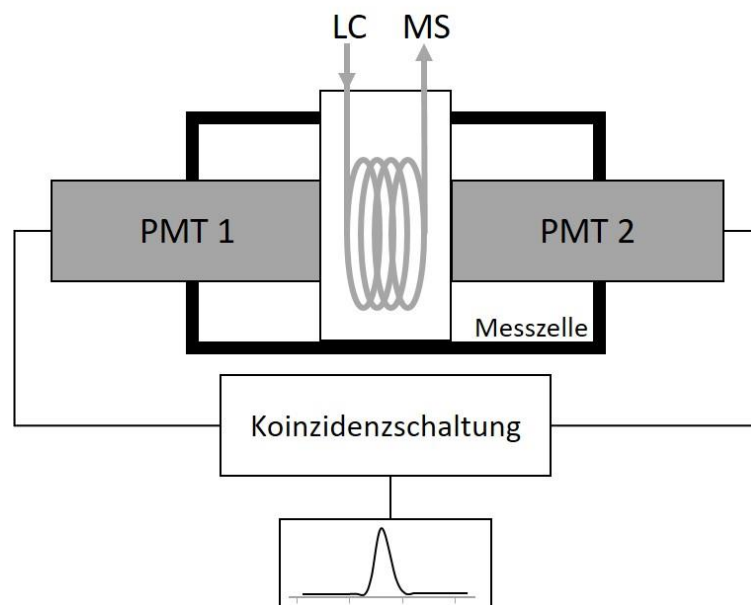


Abbildung 6. Schematischer Aufbau eines Radiodetektors (PMT: engl. photomultiplier tube) [150]

Die Messzelle ist dabei von zwei Photomultipliern umgeben. Diese detektieren radioaktive Zerfälle, die durch den Feststoffsintillator in Lichtimpulse umgewandelt werden. Wie zuvor für die Flüssigszintillationszählung beschrieben, sind die beiden Photomultiplier über eine Koinzidenzschaltung verbunden, sodass

Lumineszenzeffekte und das Rauschen der Photomultiplier weitgehend komprimiert werden [150].

Die Verwendung des Radiodetektors ermöglicht, dass alle Abbauprodukte, die die radioaktive Markierung einer radioaktiv markierten Ausgangssubstanz tragen, auch in komplexen Extrakten mit hoher Selektivität detektiert werden können. Über die Retentionszeit erfolgt die Zuordnung hochaufgelöster Massen- und Fragmentspektren zu potentiellen Peaks von Abbauprodukten im Radiochromatogramm. Die Kombination des Radiodetektors mit einem hochauflösenden Massenspektrometer dient folglich als zentrales Instrument zur Identifizierung unbekannter Abbauprodukte von beispielsweise Pflanzenschutzmittelwirkstoffen.

3 Material und Methoden

3.1 Prochloraz in Rapsöl

Zur Untersuchung des Verbleibs von Prochloraz während der Erhitzung in Rapsöl wurden zunächst Versuche mit radioaktiv markiertem Prochloraz durchgeführt, um potentielle Abbauprodukte identifizieren zu können. Eines der identifizierten Abbauprodukte wurde nachfolgend synthetisiert und als analytischer Standard charakterisiert. Es folgte die Quantifizierung von vier als relevant eingestuften Abbauprodukten in nichtradioaktiven Erhitzungsversuchen. Dabei wurde der Einfluss der Parameter Erhitzungstemperatur, Erhitzungsdauer und Ölsorte untersucht.

3.1.1 Radioaktiv-Versuche

Zur Untersuchung des Verbleibs von Prochloraz während der Erhitzung von Rapsöl wurde zunächst ^{14}C -Prochloraz-dotiertes Rapsöl hergestellt. Als Konzentration wurde ein Wert von 1,85 MBq/kg anvisiert, der bei einer spezifischen Aktivität von 38,0 mCi/mmol (entspricht 1405 MBq/mmol bzw. 3,72 MBq/mg) dem MRL von 0,5 mg/kg Prochloraz in Rapssaat entspricht [58]. Aus einer ^{14}C -Stammlösung (Konzentration = 3,7 MBq/mL) wurden dazu 250 μL entnommen und in eine Glasflasche gefüllt. Die Flasche wurde für circa 120 Minuten offen im Abzug stehen gelassen, sodass jegliche Lösemittelrückstände verdampfen konnten. Anschließend wurden 500 g eines nativen, kaltgepressten Biorapsöls (*dennree*) eingewogen und der Inhalt für circa 30 Minuten mittels eines Magnetrührers homogenisiert. Das verwendete Rapsöl wurde zuvor mittels UPLC[®]-HRMS analysiert und wies keine detektierbaren Spuren von Prochloraz oder bekannten Abbauprodukten auf.

Um zu testen, ob die dotierte ^{14}C -Prochloraz-Menge vollständig und homogen gelöst ist, wurde das Öl in einer Dreifachbestimmung mittels LSC analysiert. Dazu wurden in einem 6 mL-LSC-Vial 900 μL Aceton vorgelegt und mit 108 μL (entspricht 100 mg) des dotierten Öls versetzt. Der Ansatz wurde mit 4 mL Ultima Gold[™] als Szintillationscocktail versetzt, verschlossen und geschüttelt. Nach einer Ruhezeit von circa 60 Minuten im Dunkeln wurden die Proben per LSC vermessen.

3.1.1.1 Erhitzungsversuche

Um den Einfluss der Temperatur auf den Verbleib von Prochloraz während der Erhitzung zu untersuchen, wurde das dotierte Öl in geschlossenen Systemen erhitzt. Dies erlaubte das Aufstellen einer vollständigen Massenbilanz des eingesetzten Wirkstoffs. Dazu wurden jeweils 3 g Öl in 10 mL-Headspace-Vials eingewogen und nach dem Verschließen der Vials in einem haushaltsüblichen Umluftbackofen für jeweils 45 Minuten erhitzt. Die Temperaturen betragen 180, 200, 220 und 240 °C. Die Höchsttemperatur wurde in Anlehnung an die Verordnung (EU) 1334/2008 ausgewählt, in der Verarbeitungsprozesse bis zu maximal 240 °C als „traditionell“ definiert werden [12]. Um ausreichende Mengen jedes erhitzten Öls zu erhalten, wurden für jede Temperaturstufe insgesamt fünf Replikate angesetzt. Zusätzlich wurden für jede Temperaturstufe entsprechende Leerwertproben mit dem nicht-dotierten Öl angesetzt und erhitzt.

Nach dem Abkühlen der Vials auf Raumtemperatur wurde das erhitzte Öl in 15 mL-PP-Zentrifugenröhrchen umgefüllt und wie nachfolgend beschrieben aufgearbeitet. Zusätzlich erfolgte die Kontrolle der Gesamtaktivität der auf verschiedene Temperaturen erhitzten Öle, um eine mögliche Verflüchtigung von ^{14}C -markierten Abbauprodukten (beispielsweise $^{14}\text{CO}_2$) in die Gasphase nachweisen zu können. Die LSC-Messung der erhitzten Proben erfolgte analog zum nicht-erhitzten Öl wie in Absatz 3.1.1 beschrieben.

3.1.1.2 Probenaufarbeitung

Die Extraktion von Prochloraz-Rückständen und -Abbauprodukten erfolgte zunächst mittels einer wässrigen Extraktion und wurde um eine modifizierte QuEChERS-Extraktion (engl. *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*) ergänzt.

Zur Abtrennung von polaren Substanzen wurde circa 1 g der jeweiligen Ölproben in ein 15 mL-Zentrifugenröhrchen eingewogen und mit 1 mL UHQ-Wasser versetzt. Nach 10-minütigem Schütteln der Vials auf einem Vortex-Mixer wurden die Röhrchen für 5 Minuten bei 4700 U/min zentrifugiert. Die untere, wässrige Phase wurde mittels einer Glas-Pasteurpipette abgenommen und die Extraktion wiederholt. Beide

wässrigen Extrakte wurden jeweils vereint und per radio-UPLC[®]-HRMS vermessen (siehe Absatz 3.1.1.3). Zusätzlich erfolgte die LSC-Messung der vereinigten, wässrigen Extrakte zur Bestimmung der Aktivitätsmenge polarer Substanzen. Dazu wurden 100 µL der Extrakte in ein 6 mL-LSC-Vial pipettiert und mit 4 mL Ultima Gold[™] LLT als Szintillations-Cocktail versetzt. Die LSC-Messung erfolgte unmittelbar nach dem Verschließen und Schütteln der Vials an einem Hidex 600 SL.

Die Extraktion der lipophilen Prochloraz-Rückstände beziehungsweise dessen Abbauprodukte erfolgte auf Basis der AOAC-QuEChERS-Methode [151-153], die aufgrund der Eigenschaften der öligen Matrix modifiziert wurde. Dazu wurden die wässrig-extrahierten Ölrückstände mit 2 mL einer essigsauren (1 Vol%) Acetonitril (ACN)-Lösung und 1 mL Wasser versetzt. Nach kurzem Schütteln wurde 1 g eines Magnesiumsulfat/Natriumacetat-Gemisches (800 mg MgSO₄, 200 mg NaAc) zur Phasentrennung hinzugefügt und für 30 Minuten intensiv auf einem Vortex-Mixer geschüttelt. Es folgte eine Zentrifugation (4000 U/min, 5 Minuten, 20 °C) und das Ausfrieren der Proben für mindestens 2,5 Stunden bei -25 °C in einem Gefrierschrank. Anschließend erfolgte eine erneute Zentrifugation bei -5 °C (2800 U/min, 1 Minute) und die Abnahme des organischen Überstandes mittels Pasteurpipette. Durch diesen Ausfrierschritt konnten ölige Rückstände aus den organischen Überständen entfernt werden, um eine starke Verschmutzung des LC-MS-Systems durch Ölrückstände zu vermeiden. Die QuEChERS-Extraktion wurde inklusive des Ausfrierschrittes zweifach wiederholt und die drei Extrakte wurden vereint. 100 µL der vereinigten Extrakte wurden in LSC-Vials mit 4 mL Ultima Gold[™] versetzt, verschlossen und geschüttelt. Nach einer einstündigen Ruhephase der Vials im Dunkeln erfolgte die LSC-Messung zur Bestimmung der organisch-extrahierbaren Aktivitätsmenge. Für die Messungen der Extrakte mittels radio-UPLC[®]-HRMS wurden die vereinigten Überstände im Stickstoffstrom bei 40 °C bis zur Trockene eingeeengt und wieder in 1 mL essigsaurem Acetonitril aufgenommen. Nach einer Zentrifugation der Proben (4000 U/min, 5 min) wurden die klaren Extrakte in Autosampler-Vials überführt und mittels einer radio-UPLC[®]-HRMS-Methode vermessen. Um den Anteil an radioaktiv markierten, nicht-extrahierbaren Rückständen im Öl zu bestimmen, wurden die öligen Extraktionsrückstände per LSC vermessen. Diese Messung erfolgte analog zur Messung der Aktivität im nichterhitzten Öl wie in Absatz 3.1.1 beschrieben.

Zur qualitativen Untersuchung der Proben auf potentielle Abbauprodukte von Prochloraz wurde die Extraktionsmethode mit einem stark erhöhten Ankonzentrierungsfaktor weiter modifiziert. Dazu wurde die Probeneinwaage auf 5 g erhöht und die ausgefrorenen, organischen Extrakte nach dem Einengen in lediglich 100 µL essigsauerm Acetonitril aufgenommen, sodass sich folglich ein Ankonzentrierungsfaktor von 50 ergab.

3.1.1.3 Radio-UPLC®-HRMS-Messungen

Die Messung der Rapsöl-Extrakte erfolgte mittels flüssigchromatographischer Trennung und anschließender Detektion durch einen Radiodetektor sowie ein hochauflösendes Massenspektrometer. Die chromatographischen Parameter für die Messungen im ESI-positiv- und im ESI-negativ-Modus sind in Tabelle 8 zusammengefasst.

Tabelle 8: Chromatographische Parameter zur Bestimmung von ¹⁴C-Prochloraz und potentiellen Abbauprodukten in erhitztem Rapsöl

UPLC® System	Acquity Ultra Performance LC, Waters - Acquity Binary Solvent Manager - Acquity Sample Manager - Acquity Column Heater		
Trennsäule	Acquity UPLC® BEH C18, 1.7 µm, 2.1 x 100 mm, Waters		
Säulentemperatur	55 °C		
Injektionsvolumen	10 µL		
Flussrate	0,35 mL/min		
Mobile Phasen (ESI positiv)	A	0,1% Ameisensäure in Wasser/Methanol (95/5, v/v)	
	B	0,1% Ameisensäure in Methanol	
Mobile Phasen (ESI negativ)	A	2 mM NH ₄ Ac + 0,01% NH ₃ in Wasser/Methanol (95/5, v/v)	
	B	2 mM NH ₄ Ac + 0,01% NH ₃ in Methanol	
Gradient (ESI positiv und negativ)	Zeit [min]	Mobile Phase A [%]	Mobile Phase B [%]
	0	100	0
	10	0	100
	12	0	100
	12,1	100	0
	15	100	0

Die gerätespezifischen Einstellungen des Radiodetektors, der als Durchflussdetektor zwischen LC- und MS-Einheit integriert war, sind im Folgenden in Tabelle 9 zusammengefasst:

Tabelle 9: Spezifikation und Parameter des Radiodetektors zur Detektion von ¹⁴C-Prochloraz und möglichen Abbauprodukten in erhitztem Rapsöl

Radiodetektor	Berthold LB 509
Detektorzelle	YG-75-U6M Durchflusszelle
Nuclid	¹⁴ C
Cell Model	YG
Ratem.-Units	Min
Efficiency Correction	No
H-Range (cpm)	50K
Peak-FWHM	8 sec
H-Time-C (FWHM)	0,5

Tabelle 10 zeigt die entsprechenden FullMS-AIF-Messparameter (Fullscan-Massenspektrometrie in Kopplung mit Gesamtionen-Fragmentierung) zur massenspektrometrischen Detektion im ESI-positiv-Modus. Analog wurden zusätzlich Messungen im ESI-negativ-Modus vorgenommen. Die Parameter entsprachen denen im ESI-positiv Modus. Neben dem Polaritätswechsel bestand die einzige Abweichung von den in Tabelle 10 aufgelisteten Daten darin, dass der Scanbereich im negativen Modus auf m/z 60 - 800 variiert wurde, um das Acetat-Signal (m/z 59,0139) des Puffers auszublenden.

Tabelle 10: HRMS-Parameter zur Bestimmung und Identifizierung von ¹⁴C-Prochloraz und möglichen Abbauprodukten in erhitztem Rapsöl im FullMS-AIF-Modus

Massenspektrometer	Q Exactive Plus, Thermo Fisher Scientific	
Ionisationsquelle	Electrospray Ionisation (ESI)	
Software	Thermo Xcalibur 4.0.27.19	
Allg. Quellenparameter	Sheath gas flow rate	35
	Aux gas flow rate	10
	Sweep gas flow rate	0
	Spray voltage	3 kV
	Capillary temperature	320 °C
	S-lens RF level	55
	Aux gas heater temperature	350 °C
	MS-Experimente	Allgemein
Polarity		Positiv
In-source-CID		0,0 eV
FullMS		
m/z-range		m/z 50 – 750
Resolution		70.000
AGC target		3 * 10 ⁶
Max. injection time		200 ms
Number of scans		1
AIF		
m/z-range		m/z 50 – 750
Resolution		70.000
AGC target		3 * 10 ⁶
Max. injection time		200 ms
Collision energy		Stepped NCE: 20, 35, 50

Für die Strukturaufklärung identifizierter Abbauprodukte (siehe 3.1.1.4) von ¹⁴C-Prochloraz wurden zusätzlich spezifische Fragmentspektren der identifizierten m/z-Verhältnisse aufgenommen. Dazu wurden analog zu den zuvor beschriebenen radio-UPLC®-HRMS-Methoden Messungen ohne den Radiodetektor durchgeführt. Als weitere Abweichung wurden in diesem Zusammenhang target-SIM/dd-MS²-Experimente anstelle der FullMS-AIF-Experimente durchgeführt, bei denen aufgrund der Isolation der Zielionen hintergrundarme Fragmentspektren aufgenommen werden können. Die entsprechenden MS-Parameter sind in Tabelle 11 aufgelistet. Da alle

identifizierten Abbauprodukte als $[M+H]^+$ -Ionen detektiert wurden, wurden diese Folgeexperimente folglich ausschließlich im ESI-positiv-Modus durchgeführt.

Tabelle 11. HRMS-Parameter für die Strukturaufklärung von Prochloraz-Abbauprodukten nach Erhitzung in Rapsöl mittels t-SIM/dd-MS²

MS-Experimente	Allgemein	
	Polarity	Positiv
In-source-CID	0,0 eV	
Target Single Ion Monitoring (t-SIM)		
m/z-range	m/z (target mass) ± m/z 0,5	
Resolution	70.000	
AGC target	5 * 10 ⁴	
Max. injection time	100 ms	
Number of scans	1	
Data Dependent Tandem MS (dd-MS ²)		
m/z-range	m/z 50 - 490	
resolution	35.000	
AGC target	2 * 10 ⁵	
Max. injection time	100 ms	
AGC target trigger	8,00 * 10 ³	
Isolation window	m/z 0,4	
Collision energy	Stepped NCE: 15, 35, 50	

Mithilfe der hochaufgelösten Fragmentspektren konnten Rückschlüsse auf strukturelle Gruppen und Bindungen zur Strukturaufklärung gezogen werden.

3.1.1.4 Identifizierung potentieller Abbauprodukte

Die Auswertung der radio-UPLC[®]-Chromatogramme auf mögliche zusätzliche Peaks neben dem Wirkstoff ¹⁴C-Prochloraz erfolgte mittels der Software Xcalibur (Thermo Fisher Scientific). Für die Suche nach dem spezifischen Cl₃- sowie insbesondere dem ¹²C/¹⁴C-Isotopenmuster wurde die Software Networks (Version 1.3 SP4.200, Thermo Fisher Scientific) genutzt. Bei einer spezifischen Aktivität von 1405 MBq/mmol (der Maximalwert bei einem einzelnen ¹⁴C-Label liegt bei 2310 MBq/mmol [24]) ergibt sich zwischen dem nichtmarkierten und dem ¹⁴C-markiertem Prochloraz somit ein sehr

spezifisches Isotopenverhältnis von 39:61 bei einem Massenunterschied von 2,00324 Da. Dieses Verhältnis konnte in den Massenspektren der Applikationslösung bestätigt werden.

Die entsprechenden Suchparameter für beide Isotopenmusterfilter sind in Tabelle 12 aufgelistet. Auf diesem Wege ermittelte Suspect-Massen wurden wiederum mittels Xcalibur auf Plausibilität (Präsenz bzw. Fehlen der Signale in entsprechenden Leerwertproben, korrekte relative Intensitäten zwischen den Isotopen, klare Peakbildung bzw. Absetzen vom Rauschen) geprüft.

Tabelle 12: Auflistung der Networks-Parameter zur Bestimmung möglicher ¹⁴C-Prochloraz-Abbauprodukte in erhitztem Rapsöl

Parameter	Wert
Massenabweichung	5 ppm
Zeitfenster	0 - 15 min
Toleranz	0,1%
Schwellenwert (Threshold)	10000
m/z-Bereich	keine Eingabe
TopN (most intense)	50
Kohlenstoff-Isotopenmuster	Relative Häufigkeiten: Δ0: 0,6 Δ2,00324: 1,0
Chlor-Isotopenmuster	Cl ₃

Des Weiteren wurde ein Suspect-Screening durchgeführt, indem die Messdaten auf m/z-Verhältnisse von aus der Literatur [154] bekannten Abbauprodukten und Metaboliten ([M+H]⁺ bzw. [M-H]⁻) gescannt wurden. Eine Liste der im Rahmen des Suspect-Screenings überprüften m/z-Verhältnisse ist in Tabelle 35 im Anhang zu finden.

3.1.2 Gewinnung und Strukturaufklärung von Icpame-Oleat

Um die identifizierten Fettsäure-Addukte in Ölproben quantifizieren zu können, wurde wie im Folgenden beschrieben stellvertretend das Ölsäure-Addukt Icpame-Oleat als analytischer Standard gewonnen. Dessen Reinheit wurde mittels HPLC-UV ermittelt. Zusätzlich zur Auswertung der spezifischen Fragmentspektren wurden NMR-Spektren der isolierten Substanz aufgenommen, um die postulierte Struktur zu bestätigen.

3.1.2.1 Synthese und Aufreinigung von Icpame-Oleat

Um ausreichende Mengen der Zielsubstanz Icpame-Oleat zu erhalten, wurde der Ansatz zur Herstellung und Gewinnung des Fettsäure-Addukts leicht abgewandelt. Dazu wurden jeweils ungefähr 10 mg nicht markiertes Prochloraz in analytischer Qualität in ein Braunglas-Autosampler-Vial eingewogen und mit 500 µL reinem Triolein versetzt. Dieser Ansatz wurde insgesamt in 20 Chargen wiederholt. Die Vials wurden offen in größere 10 mL-Headspace-Vials gestellt. Nach dem Verschließen des umgebenen Vials folgte die Erhitzung bei 240 °C für drei Stunden in einem vorgeheizten Umluftbackofen. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurden die äußeren Headspace-Vials geöffnet und der ölige Inhalt aller Chargen in einem 15 mL-Zentrifugenröhrchen vereinigt. Es folgte die dreifache Extraktion der Zielsubstanz nach der in Absatz 3.1.1.2 beschriebenen QuEChERS-Methode. Abweichend wurde auf die wässrige Extraktion verzichtet. Die in insgesamt vier Ansätzen vereinigten Extrakte wurden im Stickstoffstrom bei 40 °C zur Trockene eingengt und anschließend in 4,5 mL eines Acetonitril/Wasser-Gemisches (50/50, v/v) aufgenommen. Nach fünfminütiger Behandlung im Ultraschallbad erfolgte die erste Aufreinigung der Zielsubstanz mittels eines SPE-Cleanup-Schrittes. Dazu wurden Umkehrphasen-Kartuschen (Phenomenex Strata X, 33 µm, Polymeric Reverse Phase, 200 mg, 6 mL) zunächst mit jeweils 5 mL Acetonitril und Wasser gewaschen und anschließend mit einem Acetonitril/Wasser-Gemisch (60/40, v/v) konditioniert. Die Proben wurden aufgegeben und die Gefäße mit 500 µL Acetonitril gespült. Die Spüllösungen wurden ebenfalls in die gefüllten Kartuschen aufgegeben, sodass sich ein Acetonitril-Anteil von 60% ergab. Die Proben wurden anschließend mit einer

Geschwindigkeit von etwa einem Tropfen pro Sekunde durch das Phasenmaterial geleitet. Es folgte ein fünffacher Waschschrift mit je 1 mL einer 75%igen Acetonitril-Lösung in Wasser, um Rückstände von Prochloraz abzutrennen. Im Anschluss wurde die Zielsubstanz je fünfmal mit einem Volumen von 1 mL einer 80%igen sowie einer 90%igen Acetonitril-Lösung in Wasser eluiert.

Da die Proben nach UPLC[®]-HRMS-Messungen im ESI-negativ-Modus noch erhebliche Anteile an Ölsäure aufwiesen, wurde ein zweiter Cleanup-Schritt durchgeführt. Dazu wurden die Eluate zunächst bei 40 °C im Stickstoffstrom bis zur Trockene eingeeengt und anschließend in 1 mL essigsäuren (4 Vol%) Acetonitril aufgenommen. Nach fünfminütiger Ultraschallbehandlung wurde 1 mL Hexan hinzugefügt und die Ansätze wurden für 10 min auf einem Vortex-Schüttler geschüttelt. Die Probengefäße wurden für 5 min bei 4000 U/min zentrifugiert und die obere Ölsäure-haltige Hexanphase wurde verworfen. Der Extraktionsschritt wurde ein weiteres Mal wiederholt und die essigsäure Acetonitrilphase anschließend bei 40 °C im Stickstoffstrom bis zur Trockene eingeeengt. Die Gesamtmenge an Icpame-Oleat wurde anschließend exakt gewogen und bis zur weiteren Verwendung tiefgefroren.

3.1.2.2 NMR-Strukturaufklärung von Icpame-Oleat

Zur Aufnahme von NMR-Spektren der isolierten Zielsubstanz wurde das (wie in Absatz 3.1.2.1 beschrieben) gewonnene Isolat in 50 µL deuteriertem d₃-Acetonitril aufgenommen und in ein NMR-Messröhrchen überführt. An einem 700 MHz-NMR-Spektroskop wurden folgende eindimensionale Experimente durchgeführt: ¹H, ¹³C und DEPT-135 (distortionless enhancement by polarization transfer 135 in ¹³C NMR). Zusätzlich wurden die im Folgenden aufgelisteten zweidimensionalen NMR-Techniken eingesetzt, um Korrelationen zwischen ¹H und ¹³C-Signalen zuweisen zu können: COSY (correlation spectroscopy), TOCSY (total correlation spectroscopy), HSQC (heteronuclear single quantum coherence) und HMBC (heteronuclear multiple bond correlation). Die entsprechenden Messparameter der einzelnen Aufnahmen sind neben den im Anhang aufgeführten Spektren dargestellt (Abbildung 28 bis Abbildung 34).

Nach Abschluss der NMR-Aufnahmen wurde der Inhalt des NMR-Röhrchens mittels einer Spritze abgenommen und im Stickstoffstrom bei 40 °C wieder zur Trockene eingengt. Nach einem erneuten Auswiegen wurde das Isolat bis zur weiteren Verwendung für die Reinheitsbestimmung tiefgefroren.

3.1.2.3 Reinheitsbestimmung von Icpame-Oleat mittels HPLC-UV

Um die Reinheit des isolierten Icpame-Oleats zu bestimmen wurde eine Standard-HPLC-UV-Methode genutzt. Dazu wurde das Isolat zunächst in einen 1 mL-Messkolben überführt und dieser bis zur Marke aufgefüllt. Aus dieser Stammlösung (6,5 g Isolat/L) wurde eine Lösung mit einer Konzentration von 100 mg Isolat/L hergestellt. Es folgte die HPLC-UV-Messung mit den in Tabelle 13 angegebenen Parametern.

Tabelle 13. Messparameter der HPLC-UV-Messung zur Reinheitsbestimmung des Prochloraz-Abbauproduktes Icpame-Oleat

HPLC-UV System	Dionex HPLC 3000 System (Thermo Fisher Scientific)		
	<ul style="list-style-type: none"> - Dionex Ultimate 3000 RS Pump - Dionex Ultimate 3000 RS Autosampler - Dionex Ultimate 3000 RS Column Compartment - Dionex Ultimate 3000 RS Diode Array Detector 		
Trennsäule	Phenomenex Luna 3u C18 (2) 100A, 150 x 2.00 mm 3 micron		
Säulentemperatur	40 °C		
Injektionsvolumen	100 µL		
Flussrate	0,5 mL/min		
Mobile Phasen	A	0,1% Ameisensäure in Wasser/Methanol (95/5, v/v)	
	B	0,1% Ameisensäure in Methanol	
Gradient	Zeit [min]	Mobile Phase A [%]	Mobile Phase B [%]
	0	100	0
	15	0	100
	17	0	100
	17,5	100	0
	20,5	100	0
Wellenlänge	190 – 400 nm; Auswertung bei 196 nm		

Diese Stammlösung wurde unter Berücksichtigung der ermittelten Reinheit weiter für die Quantifizierungsversuche (siehe Absatz 3.1.3) verwendet.

3.1.3 Nichtradioaktive Quantifizierungsversuche

Bei dem in den Radioaktiv-Versuchen beobachteten Abbau von Prochloraz konnte bereits eine hohe Temperaturabhängigkeit der Abbauprozesse beobachtet werden. Um diese Prozesse weiter zu charakterisieren wurden zusätzliche Experimente durchgeführt, in denen sowohl die Temperatur und die Erhitzungsdauer als auch die Ölsorte variiert wurden, um deren individuelle Einflüsse aufzuzeigen.

3.1.3.1 Erhitzungsversuche

In einer ersten Messreihe wurde der Einfluss der Erhitzungstemperatur und -dauer auf den Abbau von Prochloraz zu Icpame-Oleat, Imidazol und 2,4,6-Trichlorphenol untersucht. Dazu wurde – ähnlich wie zuvor in Kapitel 3.1.1 für das ^{14}C -markierte Prochloraz beschrieben – das identische native Rapsöl mit nicht-markierten Prochloraz dotiert. Dazu wurde ein 10 mL-Headspace-Vial mit 100 μL einer Prochloraz-Spikelösung dotiert und anschließend für circa 60 min zum Abdampfen des Lösemittels offen im Abzug stehen gelassen. 5 g des Öls wurden hinzugefügt und je ein Vial wurde nach dem Verschließen auf Temperaturen von 180, 200, 220 und 240 °C erhitzt. Für jedes Temperaturlevel wurden sechs Erhitzungsdauer-Level von 30, 60, 90, 120, 180 sowie 240 min untersucht.

Des Weiteren wurden neben dem bereits in den Radioaktiv-Versuchen genutzten nativen, kaltgepressten Rapsöl (*dennree*) drei weitere Öle auf ihren Einfluss auf den Prochloraz-Abbau untersucht. In Tabelle 14 sind Informationen zu den insgesamt vier Ölen bezüglich Ölsorte, Hersteller und Marke sowie Raffinationsstatus aufgelistet.

Tabelle 14. Informationen zu den in der Ölvergleichs-Messreihe untersuchten Ölen

Ölsorte	Hersteller, Marke	Raffinationsstatus
Rapsöl	dennree	Nativ, kaltgepresst
Rapsöl	Brökelmann + Co, <i>Butella</i>	Raffiniert
Sonnenblumenöl	Teutoburger Margarinewerke, <i>ja</i>	Keine Angabe
Oliveöl	Oleificio R.M., <i>Casa Morando</i>	Nativ extra

Analog zu den Proben in der Temperatur/Dauer-Messreihe wurden die drei zusätzlichen Öle ebenfalls wie beschrieben mit Prochloraz dotiert und erhitzt. Die Erhitzung erfolgte einheitlich für 90 min bei 220 °C.

Für eine erhitzte Leerwertprobe wurden analog fünf Ansätze des nativen Rapsöls ohne Prochloraz-Dotierung für 90 min auf 220 °C erhitzt.

3.1.3.2 Extraktion und UPLC[®]-HRMS-Messungen

Die Extraktion der Analyten erfolgte mittels der in Kapitel 3.1.1.2 beschriebenen modifizierten QuEChERS-Methode. Abweichend wurde die wässrige Extraktion nur einmalig durchgeführt, um eine Verdünnung der Analyten zu vermeiden.

Die Messung aller Proben erfolgte mittels UPLC[®]-HRMS-Methoden, die für die Quantifizierung optimiert wurden. Für die Quantifizierung von Prochloraz und Icpame-Oleat wurden die organischen QuEChERS-Extrakte mit der in Kapitel 3.1.1.3 beschriebenen UPLC[®]-HRMS-Methode im ESI-positiv-Modus analysiert. Die Quantifizierung von Trichlorphenol in den organischen Extrakten hingegen erfolgte im ESI-negativ-Modus unter den zuvor in Tabelle 8 (siehe Kapitel 3.1.1.3) beschriebenen UPLC[®]-Bedingungen. Abweichend wurde für die Quantifizierung von Trichlorphenol und Imidazol jeweils ein verkürzter Gradient angewendet, der in Tabelle 15 beschrieben wird.

Tabelle 15. Abgeänderter UPLC[®]-Gradient für die Quantifizierung von Trichlorphenol und Imidazol in erhitzten Ölproben. Die übrigen chromatographischen Parameter waren identisch zur Bestimmung von Prochloraz (vgl. Tabelle 8 in Absatz 3.1.1.3)

	Zeit [min]	Mobile Phase A [%]	Mobile Phase B [%]
Gradient	0	100	0
(ESI positiv	1	100	0
und negativ)	7	0	100
	8	0	100
	8,1	100	0
	10	100	0

Zur Erhöhung der Sensitivität wurde für die Quantifizierung von Trichlorphenol und Imidazol jeweils eine t-SIM-Methode aufgesetzt, deren Parameter Tabelle 16 zu entnehmen sind.

Tabelle 16: HRMS-Parameter für die Quantifizierung von Trichlorphenol und Imidazol mittels t-SIM-Methode

Massenspektrometer	Q Exactive Plus, Thermo Fisher Scientific	
Ionisationsquelle	Electrospray Ionisation	
Software	Thermo Xcalibur 4.0.27.19	
MS-Experimente	Allgemein	
	Polarity	Trichlorphenol: ESI negativ Imidazol: ESI positiv
	In-source-CID	0,0 eV
	Target Single Ion Monitoring (t-SIM)	
	m/z-range	Inclusion list: Trichlorphenol: m/z 194,9171 ([M-H ⁻]) Imidazol: m/z 69,0447 ([M+H ⁺] ⁺)
	Resolution	70.000
	AGC target	5 * 10 ⁴
	Max. injection time	200 ms
	Isolation window	m/z 2,0

3.1.3.3 Quantifizierung und Validierung

Für die Quantifizierung wurden zunächst Spikelösungen für alle vier zu quantifizierenden Analyten in Acetonitril angesetzt. Diese entsprachen in ihren Konzentrationen jeweils der zehnfachen Konzentration der Kalibrierlösungen (1 bis 500 µg/L). Zum Ansetzen der Kalibrierlösungen wurden im Falle der Analyten Prochloraz, Icpame-Oleat und Trichlorphenol je 100 µL der gemeinsamen Spikelösungen in 900 µL Acetonitril verdünnt. Die Kalibrierung für Imidazol erfolgt analog in Wasser als finales Lösemittel in den Kalibrierlösungen.

Um Substanzverluste während der Aufarbeitung oder substanzspezifische Suppressionseffekte während der Ionisation zu berücksichtigen, wurde zusätzlich auf eine Matrixkalibrierung zurückgegriffen. Dazu wurden je 100 µL der jeweiligen

gemeinsamen Spikelösung (je 10 bis 5000 µg/L Prochloraz, Icpame-Oleat, Trichlorphenol und Imidazol in Acetonitril) in ein 15 mL-Zentrifugenröhrchen pipettiert. Das Lösemittel wurde im Stickstoffstrom bei 40 °C bis zur Trockene eingengt. Anschließend erfolgte das Einwiegen von circa 1 g des erhitzten Leerwert-Öls (nicht-dotiert, erhitzt auf 220 °C für 90 min). Die insgesamt zehn Matrixkalibrier-Ansätze wurden entsprechend der in Absatz 3.1.1.2 beschriebenen Extraktionsmethode aufgearbeitet und anschließend mittels UPLC®-HRMS analysiert. Eine graphische Darstellung der vier Matrixkalibriergeraden erfolgt in Abbildung 36 im Anhang.

Die Validierung der Analysenmethode erfolgte in Anlehnung an die SANCO/3029/99-Richtlinie [155]. Analog zum Ansetzen der Matrixkalibrierung wurden je fünf Ansätze auf ein LOQ-Level (Bestimmungsgrenze, engl. *limit of quantification*) von 5 µg/kg Öl mit allen vier Analyten dotiert. Dazu wurden je 100 µL einer Spikelösung (je Analyt 50 µg/L) in 15 mL-Zentrifugenröhrchen pipettiert und bis zur Trockene eingengt. Nach Zugabe von 1 g des Leerwert-Öls erfolgte die Aufarbeitung. Parallel wurden weitere fünf Ansätze mit zehnfachem LOQ-Level (d.h. je 50 µg/kg Öl) sowie zwei Ansätze ohne Dotierung der Analyten angesetzt und aufgearbeitet. Die Proben wurden per UPLC®-HRMS analysiert und gegen die Matrixkalibrierung hinsichtlich ihrer Erfüllung der Validierungskriterien ausgewertet. Entsprechend der SANCO/3029/99-Richtlinie gilt die Methode als validiert, wenn sowohl auf LOQ- als auch auf zehnfachem LOQ-Level eine durchschnittliche Wiederfindung von 70 – 110% mit einer maximalen relativen Standardabweichung (RSD, engl. *relative standard deviation*) von 20% ermittelt wird. Zusätzlich darf die Hintergrundbelastung der Leerwertproben maximal 30% der Bestimmungsgrenze betragen.

3.1.4 Chemikalien und Geräte

Die in diesem Versuchsteil verwendeten Chemikalien sind im Folgenden in Tabelle 17 aufgelistet:

Tabelle 17. Liste der zur Untersuchung des Verbleibs von Prochloraz während der Erhitzung von Öl verwendeten Chemikalien

Chemikalie	Hersteller	Spezifikation
[Imidazolyl-2- ¹⁴ C]-Prochloraz	Selcia	Radiochem. Reinheit: 97,1% Chem. Reinheit: 98,1% Spezif. Aktivität: 38,0 mCi/mmol
2,4,6-Trichlorphenol	Sigma Aldrich	98,0%
3-(1H-Imidazol-1-yl)propan-1,2-diol	Ark Pharm	95%
Aceton, z. Rückstandsanalyse	Th. Geyer, Chemsolute®	> 99,8%
Acetonitril, LC-MS	Th. Geyer, Chemsolute®	> 99,95%
Acetonitril-d3	Deutero GmbH	99,96%
Ameisensäure, LC-MS	Fisher Scientific	k.A.
Ammoniumacetat, LC-MS	Sigma Aldrich	> 99,0%
BTS 40348	Sigma Aldrich	99%
Eisessig	Th. Geyer, Chemsolute®	> 99,5%
Imidazol	Sigma Aldrich	99%
Methanol, LC-MS	Th. Geyer, Chemsolute®	> 99,95%
Olivenöl, nativ extra	Oleificio R.M., <i>Casa Morando</i>	k.A.
Prochloraz, Pestanal	Sigma Aldrich	98,7%
Rapsöl, nativ, kaltgepresst	dennree	k.A.
Rapsöl, raffiniert	Brökelmann + Co, <i>Butella</i>	k.A.
roQ QuEChERS Extraction Kit (AOAC 2007 0 Methode)	Phenomenex	k.A.
Sonnenblumenöl	„ja“, Teutoburger Margarinewerke	k.A.
Triolein	Sigma Aldrich	≥ 97%
UHQ Wasser	Purelab Ultra system (ELGA)	≥ 18,2 MΩ/cm ²
Ultima Gold™	Perkin Elmer	k.A.
Ultima Gold™ LLT	Perkin Elmer	k.A.

Des Weiteren listet Tabelle 18 alle Geräte auf, die in diesem Versuchsteil verwendet wurden.

Tabelle 18. Auflistung der zur Untersuchung des Verbleibs von Prochloraz während der Erhitzung von Rapsöl verwendeten Geräte

Gerät	Hersteller, Modell
Autosampler-Vials, 1,5 mL	Chromatographie Zubehör Trott
Backofen/Herd-Kombi	Siemens, Model: HC854280
Headspace-Vial-Deckel	WICOM, Silikon/PTFE-Deckel
Headspace-Vials, 10 mL	Gerstel, crimp neck
HPLC-UV-System	Siehe Tabelle 13
Kolbenhubpipette	Eppendorf, Research plus
Liquid Scintillation Counter	Hidex 300 SL
NMR Spektrometer	Bruker Ascend™ 700 (700 MHz)
Pipettenspitzen 100 µL	Starlab Tip One®
Pipettenspitzen 1000 µL	Greiner bio-one ultratip
Pipettenspitzen 5000 µL	Gilson® D5000 Diamond Easy Pack
PP-Zentrifugenröhrchen, 15 mL	Greiner Bio-One
Radio-UPLC®-HRMS-System/Trennsäulen	Siehe Tabelle 8 bis Tabelle 10
Schüttler	IKA® Vibrax VXR basic
SPE-Kartuschen	Phenomenex Strata X, 33 µm, Polymeric Reverse Phase, 200 mg, 6 mL
Stickstoffverdampfer	Zymark, TurboVap® LV Evaporator
Trockenschrank	Heraeus kelvitron® t
Ultraschallbad	Bandelin Sonorex RK 514 Transistor
Zentrifuge	Heraeus Megafuge 1.OR

3.2 Deltamethrin in Tomatenprodukten

Die Verarbeitung von hochehitzten Tomatenprodukten (Mark, Fond auf Tomatenbasis, gebackenes Tomatenmark) erfolgte jeweils auf Basis von Tomatenpüree, das zunächst hergestellt und anschließend mit ^{14}C -Deltamethrin dotiert wurde.

3.2.1 Herstellung und Dotierung von Tomatenpüree

Für die Herstellung von Tomatenpüree (entspricht passierten Tomaten) wurden circa 3,5 kg frische Biotomaten von ihren Blättern und Stielen befreit und geviertelt. Anschließend wurden die Viertel mit etwa 3 L Leitungswasser aufgekocht und für weitere 10 min gekocht. Die Tomatenviertel wurden dann mit einem Löffel durch ein Sieb gepresst und so von Schalen und Samen befreit. Das aufgefangene Tomatenpüree wurde abgefüllt und mittels eines Halogentrockners auf den Trockenmassegehalt kontrolliert.

Das ^{14}C -radioaktiv markierte Deltamethrin besaß nach Herstellerangaben eine chemische Reinheit 99,6% bzw. eine radiochemische Reinheit von 98,7%. Die spezifische Aktivität wurde mit 58,92 mCi/mmol (entspricht 2180 MBq/mmol bzw. 4,30 MBq/mg) angegeben. Zur Herstellung der radioaktiven ^{14}C -Deltamethrin-Applikationslösung wurde eine Stammlösung auf eine Konzentration von 112,6 MBq/L (entspricht circa 26 mg/L) in 10 mL Acetonitril verdünnt. In einem Becherglas wurden 450,0 g des Tomatenpürees eingewogen und tropfenweise und unter Rühren mit der gesamten Applikationslösung versetzt. Der Messkolben wurde zweifach mit 2,5 mL Acetonitril nachgespült. Die Zielkonzentration lag folglich bei 2,5 MBq/kg bzw. 0,58 mg/kg und somit deutlich oberhalb des MRL für Deltamethrin in Tomaten von 0,07 mg/kg [45].

3.2.2 Verarbeitungsprozesse

Alle im folgenden beschriebenen Verarbeitungsprozesse wurden sowohl mit dem ^{14}C -Deltamethrin-dotierten Tomatenpüree beziehungsweise -mark als auch mit den Deltamethrin-freien Varianten als entsprechende Leerwerte durchgeführt.

3.2.2.1 Herstellung von Tomatenmark

Als erstes Produkt und als Basis für weitere Verarbeitungsprozesse wurde aus dem Tomatenpüree zunächst Tomatenmark hergestellt. Dazu wurden circa 440 g des Pürees in einem handelsüblichen Kochtopf eingewogen und bis zum Sieden erhitzt. Der Siedeprozess wurde unter stetigem Rühren mit einem Löffel für weitere 45 Minuten fortgesetzt bis eine typische Markkonsistenz entstand. Das Mark wurde anschließend abgekühlt und mittels eines Halogentrockners auf den Trockenmassegehalt kontrolliert.

3.2.2.2 Herstellung von hochehitztem Tomatenmark

Um typische Hochtemperatur-Erhitzungsprozesse von Tomatenmark nachzustellen, wie sie beispielsweise beim Backen von Pizza mit Tomatensauce angewendet werden, wurden in einer Doppelbestimmung jeweils circa 3 g des hergestellten Tomatenmarks auf einem Stück Backpapier gleichmäßig ausgestrichen, sodass eine Filmdicke von etwa 1 bis 2 mm entstand. Die Proben wurden anschließend bei 250 °C in einem handelsüblichen, vorgeheizten Umluftbackofen erhitzt. Nach 5 min zeigten die Proben stark verkohlte Ränder, sodass die Erhitzung abgebrochen wurde. Die Proben wurden nach dem Abkühlen rückgewogen und für die weitere Probenaufarbeitung in 15 mL-Zentrifugenröhrchen überführt. Bilder des ausgestrichenen Tomatenmarks und der erhitzten Probe sind zur optischen Bewertung der Hitzeeinwirkung im Anhang in Abbildung 38 dargestellt.

3.2.2.3 Herstellung von Tomatenfond

Als alternativer Verarbeitungsprozess wurde die Herstellung eines Tomatenbasierten Saucenfonds durchgeführt, da in diesem Fall eine starke Temperatureinwirkung in Anwesenheit von heißem Öl als potentielltem Reaktionspartner stattfindet. Dazu wurden circa 12,5 g Sonnenblumenöl in einem Kochtopf stark erhitzt und mit circa 12 g des Tomatenmarks versetzt. Unter ständigem Rühren mit einem Löffel wurde das Mark für 6 Minuten angebraten bis zum Teil starke Verfärbungen der Proben in Folge der Hitze einwirkung auftraten. Nach dem Abkühlen wurden die Proben ausgewogen und in Zentrifugenröhrchen zentrifugiert, sodass die Ölphase mit einer Pasteurpipette abgenommen werden konnte.

3.2.3 Probenaufarbeitung und -messung

Alle Proben wurden zunächst auf ihre Gesamtaktivität überprüft, um mögliche Verluste durch Verflüchtigung des Deltamethrins bzw. dessen potentieller Abbauprodukte während der Erhitzungsprozesse zu detektieren. Anschließend wurden die Proben mittels einer angepassten QuEChERS-Extraktionsmethode aufgearbeitet und alle Extrakte a) per LSC auf ihre Aktivität überprüft sowie b) mittels einer radio-UPLC[®]-HRMS-Methode vermessen, um Aussagen über die Präsenz potentieller Abbauprodukte treffen zu können.

3.2.3.1 Bestimmung der Aktivität in Feststoffproben

Zur Bestimmung der Gesamtaktivität in den Feststoffproben wurde eine modifizierte Aufschlussmethode in Dreifachbestimmung angewendet. In einem 20 ml Glas-Szintillationsvial wurden etwa 100 mg der Probe genau eingewogen und mit 3 mL Soluene[®] 350 versetzt. Die Vials wurden kurz per Hand geschwenkt und anschließend für 8 h im Ultraschallbad aufgeschlossen. Anschließend wurden die stark orange gefärbten Lösungen mit insgesamt 500 µL Wasserstoffperoxid versetzt. Um eine starke Schaumbildung zu vermeiden, erfolgte die Zugabe in Schritten von 100 µL in 10 min-Abständen. Die geschlossenen Vials wurden für 2 h im Trockenschrank auf 60 °C erhitzt, um den Entfärbungsprozess zu beschleunigen.

Nach dem Abkühlen der Proben wurden die Vials mit 14 mL des LSC-Cocktails Hionic Fluor versetzt und per Hand geschüttelt. Die Proben wurden über Nacht abgedunkelt in einem Schrank aufbewahrt und am nächsten Tag per LSC vermessen. Die Zählzeit in der LSC-Messzelle betrug je Probenvial 5 min. Als Background wurde ein analoger Ansatz mit der jeweiligen undotierten Probe verwendet, um eventuelle Einflüsse von Farbstoffen auf die Zähleffizienz auszugleichen.

Zur Bestimmung von nicht-extrahierbaren Rückständen wurden die Extraktionsrückstände im Falle des gebackenen Tomatenmarks und des Tomatenfonds-Feststoffes zunächst ausgewogen und anschließend ebenfalls mittels der oben beschriebenen Aufschluss-Methode aufgearbeitet und per LSC vermessen.

3.2.3.2 Extraktionsmethoden

Die Extraktion des ^{14}C -Deltamethrin und möglicher Abbauprodukte erfolgte mit einer angepassten QuEChERS-Extraktion [151-153, 156]. Dazu wurde in einem 15 mL-Zentrifugenröhrchen etwa 1 g der jeweiligen Probe eingewogen und mit 1 mL Acetonitril versetzt. Es folgte die Zugabe von etwa 0,65 g eines fertigen Citratgepufferten QuEChERS-Mixes (4 g Magnesiumsulfat, 1 g Natriumchlorid, 0,5 g Natriumhydrogencitrat * 1,5 H₂O, 1 g Natriumcitrat * 2 H₂O). Die Proben wurden für 20 min geschüttelt und anschließend bei 4700 U/min für 10 min zentrifugiert. Der organische Überstand wurde abgenommen und die Extraktion mehrfach wiederholt. Im Falle des Tomatenpürees und des Tomatenmarks erfolgte die Extraktion insgesamt dreimal, im Falle des gebackenen Tomatenmarks und des Tomatenfond-Feststoffes wurde die Extraktion jeweils siebenfach durchgeführt, um verfügbare radioaktiv markierte Analyten quantitativ zu extrahieren. Die vereinigten Extrakte wurden anschließend im Stickstoffstrom bei 40 °C bis zur Trockene eingeeengt und in 1 mL Acetonitril aufgenommen. Nach fünfminütiger Behandlung im Ultraschallbad wurden die Proben erneut zentrifugiert (5 min, 4700 U/min) und in Autosampler-Vials überführt.

Um auch geringe Mengen möglicher Abbau- und eventuelle Nebenprodukte im Radiodetektor detektieren zu können, wurde die Extraktion des Tomatenpürees und des Marks mit einer starken Ankonzentrierung wiederholt. Dazu wurden 5 g der

Proben in einem 50 mL-Zentrifugenröhrchen eingewogen und die zuvor beschriebene Extraktion im fünffachen Maßstab durchgeführt. Im Falle der gebackenen Tomatenmark-Probe wurde die gesamte vorhandene Probenmenge (2x etwa 1,25 g) in einer Doppelbestimmung eingewogen und nach Zugabe des Acetonitrils mit einem Ultra-Turrax® homogenisiert. Nach dem Einengen der vereinigten Extrakte erfolgte die Aufnahme in 100 µL Acetonitril sowie eine fünfminütige Behandlung im Ultraschallbad. Es folgte die Zentrifugation wie oben beschrieben und die anschließende Überführung in Autosampler-Vials mit einem 300 µL-Insert.

Die Ölphase sowie der noch ölige Feststoff des Tomatenfonds wurden nach der Zentrifugation mit einer modifizierten Version der zuvor beschriebenen QuEChERS-Methode extrahiert. Um eine Belastung des Messsystems mit öligen Rückständen zu vermeiden, wurde der Extraktionsansatz vor der Extraktabnahme für mindestens 2,5 h bei -25 °C ausgefroren und anschließend in tiefgefrorenen Zentrifugeneinsätzen zentrifugiert (1 min, 4700 U/min).

Die jeweiligen Extraktionsrückstände des gebackenen Tomatenmarks und des Tomatenfonds wurden nach Abschluss der Extraktionsverfahren gewogen und anschließend wie in Abschnitt 3.2.3.1 (für Feststoffrückstände) bzw. Abschnitt 3.2.3.3 (für Ölrückstände) auf die verbleibende, nicht-extrahierbare Aktivität überprüft, um vollständige Bilanzen der Aktivität aufstellen zu können.

3.2.3.3 Bestimmung von Aktivität in Flüssigproben und Extrakten

Die Bestimmung der extrahierbaren Radioaktivität erfolgte mittels Flüssigszintillationszählung. Dazu wurde ein Aliquot von 50 – 200 µL der vereinigten, nicht ankonzentrierten QuEChERS-Extrakte in ein 6 mL-LSC-Vial pipettiert und mit 4 mL Ultima Gold™ versetzt. Die Messung erfolgte an einem Hidex 600 SL mit einer Zählzeit von 5 min.

Für die Bestimmung der Aktivität in der abgetrennten Ölphase des Tomatenfonds sowie in den öligen Extraktionsrückständen wurden zunächst 800 µL Aceton in einem 6 mL-LSC-Vial vorgelegt und anschließend mit 108 µL (entspricht 100 mg) des Öls

versetzt. Nach Zugabe von 4 mL Ultima Gold™ als LSC-Cocktail wurden die verschlossenen Vials geschüttelt und nach einer Ruhephase von mindestens 15 min wie oben beschrieben per LSC vermessen.

3.2.3.4 Radio-UPLC®-HRMS-Messungen und Datenauswertung

Die Messung der Proben erfolgte mittels flüssigchromatographischer Trennung und anschließender Detektion mittels eines Radiodetektors sowie eines hochauflösenden Massenspektrometers. Die chromatographischen Parameter sind in Tabelle 19 aufgelistet.

Tabelle 19: Chromatographische Parameter zur Bestimmung von Deltamethrin und potentiellen Abbauprodukten in Tomatenprodukten

UPLC®-System	Acquity Ultra Performance LC, Waters - Acquity Binary Solvent Manager - Acquity Sample Manager - Acquity Column Heater		
Trennsäule	Acquity UPLC® BEH C18, 1.7 µm, 2.1 x 100 mm, Waters		
Säulentemperatur	55 °C		
Injektionsvolumen	10 µL		
Mobile Phasen	A	2 mM NH ₄ Ac in Wasser/Methanol (95/5, v/v)	
	B	2 mM NH ₄ Ac in Methanol	
Flussrate	0.35 mL/min		
Gradient	Zeit [min]	Mobile Phase A [%]	Mobile Phase B [%]
	0	100	0
	10	0	100
	12	0	100
	12,1	100	0
	15	100	0

Die gerätespezifischen Einstellungen des Radiodetektors, der als Durchflussdetektor zwischen LC- und MS-Einheit integriert war, sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Tabelle 20: Spezifikation und Parameter des Radiodetektors zur Detektion von ¹⁴C-Deltamethrin und möglichen Abbauprodukten in Tomatenprodukten

Radiodetektor	Berthold LB 509
Detektorzelle	YG-50-S6M Durchflusszelle
Nuclid	¹⁴ C
Cell Model	YG
Ratem.-Units	Min
Efficiency Correction	No
H-Range (cpm)	50K
Peak-FWHM	8 sec
H-Time-C (FWHM)	0,5

Tabelle 21 zeigt die entsprechenden Messparameter zur massenspektrometrischen Detektion im ESI-positiv-Modus. Analog wurden zusätzliche Messungen im ESI-negativ-Modus durchgeführt. Die Parameter entsprachen denen im ESI-positiv-Modus. Neben dem Polaritätswechsel bestand die einzige Abweichung von den in Tabelle 21 aufgelisteten Daten darin, dass der Scanbereich im negativen Modus auf m/z 60 - 800 variiert wurde, um das Acetat-Signal (m/z 59,0139) des Puffers auszublenden.

Tabelle 21: Massenspektrometer-Parameter zur Bestimmung von ¹⁴C-Deltamethrin und möglichen Abbauprodukten in Tomatenprodukten

Massenspektrometer	Q Exactive Plus, Thermo Fisher Scientific	
Ionisationsquelle	Electrospray Ionisation	
Software	Thermo Xcalibur 4.0.27.19	
MS-Experimente	Allgemein	
	Polarität	Positive
	In-source-CID	0,0 eV
	FullMS	
	m/z-Bereich	m/z 50 – 750
	Auflösung	70.000
	AGC target	3 * 10 ⁶
	Max. Injektionszeit	200 ms
	Number of scans	1
	AIF	
	m/z-Bereich	m/z 50 – 750
	Auflösung	70.000
	AGC target	3 * 10 ⁶
	Max. Injektionszeit	200 ms
	Kollisionsenergie	Stepped NCE: 20, 35, 50

Die Auswertung der radio-UPLC[®]-Chromatogramme auf mögliche zusätzliche Peaks neben dem Wirkstoff Deltamethrin erfolgte mittels der Software Xcalibur. Für die Suche nach spezifischen Br₂-Isotopenmustern wurde die Software Networks (Version 1.3 SP4.200, Thermo Fisher Scientific) genutzt. Da die hohe spezifische Aktivität von 2180 MBq/mmol (der maximale Wert bei einem ¹⁴C-Label liegt bei 2310 MBq/mmol [24]) bedeutet, dass etwa 95% aller Deltamethrin-Moleküle das ¹⁴C-Label aufweisen, wurde auf die zusätzliche Auswertung mit einem spezifischen ¹²C/¹⁴C-Isotopenmuster verzichtet. Die entsprechenden Suchparameter sind in Tabelle 22 aufgelistet. Auf diesem Wege ermittelte Suspect-Massen wurden wiederum mittels der Xcalibur-Software auf Plausibilität (Präsenz bzw. Fehlen der Signale in entsprechenden Leerwertproben, korrekte relative Intensitäten zwischen den Br₂-Isotopen, klare Peakbildung bzw. Absetzen vom Rauschen) geprüft.

Tabelle 22: Auflistung der Networks-Parameter zur Bestimmung möglicher Deltamethrin-Abbauprodukte in Tomatenprodukten

Parameter	Wert
Massenabweichung	5 ppm
Zeitfenster	0 - 15 min
Toleranz	1%
Schwellenwert (Threshold)	10.000
m/z-Bereich	Keine Angabe
TopN (most intense)	50
Isotopenmuster	Br ₂

Des Weiteren wurde ein Suspect-Screening durchgeführt, indem die Messdaten auf m/z-Verhältnisse von aus der Literatur [75, 157] bekannten Abbauprodukten und Metaboliten ($[M+H]^+$, $[M+NH_4]^+$ und $[M-H]^+$) gescannt wurden. Eine Liste der im Rahmen des Suspect-Screening gescannten m/z-Verhältnisse ist in Tabelle 39 im Anhang zu finden.

3.2.4 Chemikalien und Geräte

Die in diesem Versuchsteil verwendeten Chemikalien sind in der folgenden Tabelle aufgelistet:

Tabelle 23: Liste der zur Untersuchung des Verbleibs von Deltamethrin in der Herstellung von Tomatenprodukten verwendeten Chemikalien

Chemikalie	Hersteller	Spezifikation
[Cyclopropyl-1- ¹⁴ C]- Deltamethrin	Selcia	Radiochem. Reinheit: 99,6% Chem. Reinheit: 98,7% Spezif. Aktivität: 58,92 mCi/mmol
Aceton, z. Rückstandsanal.	Th. Geyer, Chemsolute®	> 99,8%
Acetonitril, LC-MS	Th. Geyer, Chemsolute®	> 99,95%
Ammoniumacetat, LC-MS	Sigma Aldrich	> 99,0%
Deltamethrin	Sigma Aldrich	99,9%
Hionic Fluor	Perkin Elmer	k.A.
Methanol, LC-MS	Th. Geyer, Chemsolute®	> 99,95%
QuEChERS (Supel™ QuE Citrate (EN) Tube)	Supelco	k.A.
Soluene® 350	Perkin Elmer	k.A.
Sonnenblumenöl	“ja”, Teutoburger Margarinewerke	k.A.
UHQ Wasser	Purelab Ultra system (ELGA)	≥ 18,2 MΩ/cm ²
Ultima Gold™	Perkin Elmer	k.A.
Wasserstoffperoxid (stab.) reinst	Th. Geyer, Chemsolute®	30%

Die Hersteller der verwendeten Geräte und Gefäße für die Probenaufarbeitungen zeigt nachfolgend Tabelle 24.

Tabelle 24: Liste der zur Untersuchung des Verbleibs von Deltamethrin während der Herstellung von Tomatenprodukten verwendeten Geräte und Gefäße

Gerät	Hersteller, Modell
Backofen/Herd-Kombi	Siemens, Model: HC854280
Glasvials, 20 mL	Perkin Elmer, High Performance GLASS VIAL™ for LSC
Liquid Scintillation Counter	Hidex 600 SL
Kolbenhubpipette	Eppendorf, Research plus
Radio-UPLC®-HRMS-Systeme/Trennsäulen	Siehe Tabelle 19 bis Tabelle 21
Pipettenspitzen 100 µL	Starlab Tip One®
Pipettenspitzen 1000 µL	Greiner bio-one ultratip
Pipettenspitzen 5000 µL	Gilson® D5000 Diamond Easy Pack
Autosampler-Vials, 1,5 mL	Chromatographie Zubehör Trott
PP-Zentrifugenröhrchen, 15 mL	Greiner Bio-One
PP-Zentrifugenröhrchen, 50 mL	Sarstedt
Schüttler	IKA® Vibrax VXR basic
Stickstoffverdampfer	Zymark, TurboVap® LV Evaporator
Trockenschrank	Heraeus kelvitron® t
Ultraschallbad	Bandelin Sonorex RK 514 Transistor
Zentrifuge	Heraeus Megafuge 1.OR

3.3 Chlorpropham in Kartoffeln

Um den Verbleib des Keimungshemmers Chlorpropham in Kartoffeln während der Lagerung und insbesondere während typischer Verarbeitungsschritte von Kartoffeln zu untersuchen, wurden zunächst Bio-Kartoffeln mit radioaktiv markiertem Chlorpropham behandelt und gelagert. Die Verarbeitung erfolgte zu verschiedenen Zeitpunkten der Lagerung und umfasste das Kochen, Frittieren und Backen der Kartoffeln.

3.3.1 Chlorpropham-Applikation

Die Kartoffeln der Marke „Gutbio“ mit Bio-Siegel wurden zunächst in einem lokalen Supermarkt gekauft. Entsprechend des Etiketts handelte es sich bei der Sorte „Princess“ um vorwiegend festkochende Kartoffeln. Vor der Applikation wurde die ausgewählte Charge mittels initialer UPLC[®]-HRMS-Messungen auf Rückstände von Chlorpropham, Hydroxychlorpropham, Methoxychlorpropham, 3-Chloranilin, 3-Chlor-4-hydroxyanilin und 3-Chlor-4-methoxyanilin überprüft. Es konnten keine Signale der genannten Analyten detektiert werden.

Insgesamt 16 Knollen mit einem Gewicht zwischen 60 und 80 g wurden ausgewählt. Es wurde darauf geachtet, dass die ausgewählten Knollen keine physischen Beschädigungen (Schnitte, Dellen, Löcher) oder Beläge aufwiesen. Für die Herstellung der Applikationslösung wurde neben ¹⁴C-markiertem Chlorpropham auch der nicht markierte Wirkstoff verwendet. Unter Berücksichtigung des maximal notwendigen Einsatzes von Radioaktivität konnte so eine ausreichend hohe Menge an Gesamt-Chlorpropham appliziert werden, um a) die Detektion radioaktiver Strahlung auch in gering konzentrierten Proben noch gewährleisten zu können und b) eine ausreichend keimhemmende Wirkung auf die Kartoffeln zu erreichen. Zum Ansetzen der Applikationslösung wurden 360 µL einer ¹⁴C-Chlorpropham-Stammlösung (15,87 MBq/mL) mit 638 µL einer Lösung von nicht markiertem Chlorpropham (27,3 mg/L) in einen 25 mL-Messkolben pipettiert und dieser mit Aceton bis zur Marke aufgefüllt.

Vor der Applikation wurden die einzelnen Kartoffeln gewogen, um so das Applikationsvolumen an das Gewicht jeder Knolle anzupassen. Die Applikation erfolgte durch das gleichmäßige Tropfen des berechneten Applikationsvolumens mit einer totvolumenfreien Pipette jeweils auf die Ober- und Unterseite jeder Kartoffel. Im Falle einer 70 g schweren Kartoffel beispielsweise lag das Applikationsvolumen auf jeder Seite der Knolle bei 725 µL. Die sich daraus ergebende Applikationsmenge lag demnach bei 4,67 MBq/kg bzw. 15,0 mg Wirkstoff je kg. Um die Gleichmäßigkeit der Applikationsmethode zu testen, wurden Vorversuche mit einem Farbstoff durchgeführt. Dazu wurde eine Lösung von Patentblau V in Aceton hergestellt und wie zuvor beschrieben auf die Kartoffeln getropft. Eine gleichmäßige Verteilung der blauen Farbe auf den Testkartoffeln belegte die Eignung der Applikationsmethode.

3.3.2 Lagerungsversuch

Nach der Verflüchtigung des Lösemittels aus der Applikationslösung von den applizierten Kartoffeln (etwa 90 min nach Applikation) wurde willkürlich eine der Kartoffeln entnommen und als t₀-Probe bis zur weiteren Analyse eingefroren. Die übrigen 15 Kartoffeln wurden in einem 18 L-Polypropylen-Eimer gelegt. Dieser wurde mit einem durchstochenen Deckel bedeckt. Der Eimer wurde in einem Abzug platziert und leicht geneigt, um möglicherweise austretendes Zellwasser der Kartoffeln auffangen zu können. Bei regelmäßigen Kontrollen konnte jedoch keine Ansammlung von Wasser im Eimer beobachtet werden. Insgesamt wurden die Kartoffeln für sechs Monate gelagert. Die Probenahme von jeweils drei zufällig ausgewählten Knollen zur weiteren Verarbeitung erfolgte nach 12 Tagen sowie nach 1, 2, 4 und 6 Monaten.

3.3.3 Verarbeitungsversuche

Zu jedem der jeweiligen Probenahmezeitpunkte wurden jeweils drei Kartoffeln zufällig entnommen und anschließend gekocht, frittiert und gebacken (*Boil, Fry* bzw. *Wedg*). Dazu wurde für jeden Verarbeitungsprozess eine Kartoffel mit einem Küchenmesser längs in Viertel geschnitten. Zwei gegenüberliegende Viertel wurden gewogen und

unmittelbar als unverarbeitete Probe (*nBoil*, *nFry* bzw. *nWedg*) in Polypropylen-Boxen eingefroren. Die beiden verbleibenden Viertel wurden ebenfalls gewogen und ungeschält nach einheitlichen Verfahren, die im Folgenden beschrieben werden, verarbeitet.

Für den Kochversuch wurden 600 mL Leitungswasser in einem Edelstahltopf mit 5 g Kochsalz versetzt und auf einem Herd zum Sieden erhitzt. Die beiden ungeschälten Viertel wurden in das siedende Wasser gegeben und für 20 min mit einem angewinkelten Deckel auf dem Topf gekocht. Anschließend wurden die Viertel mit einer Zange entnommen, sodass Wasserreste abtropfen konnten. Die gekochte Probe (*Boil*) wurde gewogen und bis zur Homogenisierung eingefroren. Das Kochwasser (*BoilH₂O*) wurde zum Abkühlen mit einem Deckel bedeckt, im Anschluss gewogen und in eine PP-Flasche überführt.

Die für den Frittierversuch verwendeten Viertel wurden vor der Verarbeitung längs halbiert. Etwa 200 g Sonnenblumenöl wurden in ein Becherglas gefüllt und auf einer Magnetrührplatte erhitzt. Die Solltemperatur von 170 °C wurde mittels eines verbundenen Kontaktthermometers gemessen und geregelt. Die halbierten Viertel wurden an dünnen Metallhaken aufgehängt und so in das Becherglas gehängt, dass sie gänzlich mit dem heißen Öl bedeckt waren. Die Metallhaken dienten dabei dem sicheren Handling der radioaktiven Proben über dem heißen Frittieröl. Nach einer Frittierzeit von 10 min wiesen die Proben eine deutliche Braunfärbung auf und wurden aus dem Öl genommen. Die Proben wurden mit einer Zange so über das Ölbad gehalten, dass grobe Ölreste abtropfen konnten. Die frittierten Kartoffeln (*Fry*) wurden nach dem Abkühlen von den Metallhaken gezogen und in PP-Boxen eingefroren. Das Frittieröl (*FryOil*) wurde zunächst zum Abkühlen im Becherglas stehen gelassen und anschließend in PP-Flaschen umgefüllt und bis zur weiteren Analyse eingefroren.

Für das Backen der Kartoffeln wurde ein Konvektomat im Heißluft-Betrieb auf 200 °C vorgeheizt. Die jeweiligen Viertel wurden längs in je zwei Hälften geschnitten und in eine Metallschale gelegt. Die Keile wurden dabei mit der Schale nach unten platziert und mithilfe eines Backpinsels mit einer dünnen Schicht Sonnenblumenöl bestrichen. Die Proben wurden mit der Metallschale auf den mittleren Rost des Konvektomaten gestellt und für 15 min bei 200 °C gebacken bis sie eine starke Braunfärbung aufwiesen. Anschließend wurden die Proben herausgenommen und zum Abkühlen

stehen gelassen. Die gebackenen Kartoffelecken (*Wedg*) wurden dann in PP-Boxen überführt und bis zur Homogenisierung eingefroren.

Die Homogenisierung erfolgte mit Trockeneis, um chemische Reaktionen und die potentielle Verflüchtigung von Analyten weitestgehend einzuschränken. Dazu wurde ein Küchenmixer (*Thermomix*) zunächst mit Trockeneis vorgekühlt und die Proben unter Trockeneiszugabe anschließend zu einem feinen Pulver homogenisiert. Nach dem Abdampfen der Trockeneis-Rückstände in einer Kühltruhe wurden die Probengefäße verschlossen und die Proben bis zur weiteren Analyse bei -25 °C tiefgefroren.

3.3.4 Radioaktivitätsmessungen

Alle anfallenden Proben wurden zunächst mittels Oxidizer-LSC (Feststoffproben) und mittels direkter LSC-Messungen (Flüssigproben) auf die verbliebene Radioaktivität untersucht. Die Extrakte der quantitativen Aufarbeitung wurden ebenfalls mittels LSC vermessen, um Rückschlüsse auf die gesamte Menge an extrahierbaren Chlorpropham-Rückständen ziehen zu können. Die Flüssigszintillations-Messungen wurden an einem Hidex 600 SL in Doppelbestimmung bei einer Zählzeit von 5 min je Probe durchgeführt.

Die Bestimmung der Radioaktivität im Kochwasser erfolgte, indem 5 mL Probe in 20 mL-LSC-Vials pipettiert und mit 15 mL Ultima Gold™ LLT als LSC-Cocktail versetzt wurden. Im Falle des Frittieröls wurden 600 µL Aceton in einem 6 mL-LSC-Vial vorgelegt und mit 432 µL (entspricht 400 mg) Frittieröl versetzt. Nach Zugabe von 4 mL Ultima Gold™ und Schütteln wurden die Proben für etwa 1 h in einem dunklen Schrank aufbewahrt, um Chemolumineszenz-Effekte der im Öl enthaltenen Farbstoffe zu reduzieren. Für die LSC-Messungen der finalen Messextrakte zur Quantifizierung wurden jeweils 100 µL des Extraktes in einem 6 mL-LSC-Vial mit 4 mL Ultima Gold™ versetzt und per LSC vermessen.

Die Bestimmung der verbliebenen Aktivität in allen Feststoffproben erfolgte mittels eines Oxidizers und anschließender LSC-Messung. Dazu wurden im Triplikate je etwa 40 bis 70 mg Probe in einen Zellulose-Konus eingewogen und mit einem Zellulose-

Pad bedeckt. Die eingewogenen Proben wurden mit einer Verbrennungszeit von 2 min in einem Oxidizer verbrannt. Entstandenes Kohlenstoffdioxid wurde in 10 mL Carbo-Sorb E aufgefangen und automatisch mit 10 mL Permafluor E+ in ein 20 mL-LSC-Vial überführt. Die Wiederfindung des Oxidizers wurde am Anfang und am Ende jedes Messtages sowie im Abstand von etwa 10 bis 20 Verbrennungen kontrolliert. Dazu wurde jeweils in einer Doppelbestimmung eine bekannte Menge Aktivität in ein Zellulose-Pad dotiert und verbrannt. Akzeptanzkriterium für die Bewertung vorangegangener und anschließender Messungen war eine Wiederfindung im Bereich von $100\% \pm 5\%$.

3.3.5 Qualitative Versuche

Die Extraktion von Chlorpropham und möglichen Abbauprodukten erfolgte in ersten Versuchen auf Basis einer modifizierten QuEChERS-Methode [151-153, 156], die um einen Aufkonzentrierungsschritt ergänzt wurde. Diese Extrakte wurden initial zur Identifizierung von potentiellen Abbauprodukten mittels radio-UPLC[®]-HRMS genutzt. In den folgenden Kapiteln werden die Details zur Aufnahme der hochaufgelösten MS-Daten und zu deren Auswertung ausführlich erläutert.

3.3.5.1 Probenaufarbeitung

Für die qualitativen Versuche wurden circa 5 g jeder homogenisierten Probe in ein 50 mL-Zentrifugenröhrchen genau eingewogen und mit 5 mL Acetonitril versetzt. Im Falle der gebackenen und frittierten Proben wurden aufgrund des geringen Wasseranteils zusätzlich 3 mL UHQ Wasser hinzugefügt, um eine Verklumpung der Proben zu verhindern. Die Proben wurden kurz per Hand geschüttelt und anschließend mit etwa 3,3 g eines vorgefertigten QuEChERS-Salzmixes (EN-Methode [156]: 4 g MgSO₄, 1 g NaCl, 1 g Natriumcitrat * 2 H₂O und 0,5 g Natriumhydrogencitrat * 1,5 H₂O) versetzt. Die Ansätze wurden für 5 min auf einem Vortex-Schüttler geschüttelt und anschließend für 5 min bei 4000 U/min zentrifugiert. Die Überstände wurden mittels einer Pasteurpipette abgenommen und in ein 15 mL-Zentrifugenröhrchen überführt. Die Extraktion wurde zweifach wiederholt. Die

vereinigten Überstände wurden bei 40 °C im Stickstoffstrom bis zur Trockene eingengt und anschließend in 200 µL Acetonitril aufgenommen.

Im Falle der öligen Proben wurden die Ansätze jeweils vor Abnahme der Überstände für mindestens 3 h ausgefroren und für 1 min bei -4 °C und 4000 U/min zentrifugiert. Durch diesen Ausfrierschritt wurde die Verschleppung von Ölresten und die damit verbundene Verschmutzung des LC-MS-Systems minimiert. Es folgte die Messung der ankonzentrierten Extrakte mittels radio-UPLC[®]-HRMS-Messungen, die im folgenden Kapitel beschrieben werden. Aufgrund stark beschränkter Probenmengen konnten die Proben nach einer Lagerungszeit von sechs Monaten nicht mittels dieser Methode extrahiert und untersucht werden.

3.3.5.2 Radio-UPLC[®]-HRMS-Messungen

Die Messung der Proben erfolgte mittels flüssigchromatographischer Trennung und anschließender Detektion potentieller Abbauprodukte mittels eines Radiodetektors sowie eines hochauflösenden Massenspektrometers. Die Parameter der einzelnen Geräte entsprachen denen, die bereits in Kapitel 3.1.1.3 für die Bestimmung von Prochloraz-Abbauprodukten beschrieben wurden.

3.3.5.3 Auswertung der HRMS-Daten

Die Identifizierung von potentiellen Chlorpropham-Abbauprodukten erfolgte durch Auswertung der radio-UPLC[®]-Chromatogramme sowie durch Auswertung der aufgenommenen FullMS-AIF-Daten. Die Auswertung der massenspektrometrischen Datensätze fand zunächst auf Basis eines Suspect-Screenings statt, bei dem nach aus der Literatur bekannten Abbauprodukten gesucht wurde [53, 54]. Eine Auflistung der gescannten exakten m/z-Verhältnisse ist Tabelle 41 im Anhang zu entnehmen.

Zusätzlich erfolgte die Identifizierung von Abbauprodukten mittels eines Isotopenfilters, der spezifisch auf das Cl₁-Isotopenmuster eingestellt wurde. Die entsprechenden Parameter für das genutzte Programm (Networks 1.3 SP4.200) sind in Tabelle 25 aufgeführt.

Tabelle 25. Auflistung der Networks-Parameter zur Bestimmung möglicher Chlorpropham-Abbauprodukte in rohen und verarbeiteten Kartoffeln

Parameter	Wert
Massenabweichung	5 ppm
Zeitfenster	0 - 15 min
Toleranz	0,1%
Schwellenwert (Threshold)	10.000
m/z-Bereich	Keine Angabe
TopN (most intense)	100
Isotopenmuster	Cl ₁

Alle vom Programm als potentiell relevant ausgegebenen m/z-Verhältnisse wurden auf ihre Präsenz in analog behandelten Leerwert-Proben (verarbeitete Biokartoffeln aus Vorversuchen) überprüft, um eine eindeutige Zuordnung von m/z-Verhältnissen als Abbauprodukte gewährleisten zu können. Da der Wirkstoff Chlorpropham in der Applikationslösung stark dominierend als nicht-markiertes Molekül vorlag, musste auf die Auswertung der HRMS-Datensätze mit einem ¹²C/¹⁴C-Isotopenfilter verzichtet werden.

3.3.6 Quantitative Versuche

Für die finale Quantifizierung von Chlorpropham-Rückständen mittels LC-MS/MS wurde die zuvor beschriebene Extraktionsmethode stark abgeändert. Dadurch konnten einerseits gebundene Rückstände [89] berücksichtigt und andererseits Verschmutzungen des Massenspektrometers durch den hohen Probendurchsatz verhindert werden. Basierend auf den qualitativen Vorversuchen wurden Chlorpropham und 3-Chloranilin jeweils als frei und als gebunden vorliegende Analyten quantifiziert. Dazu wurden die Extrakte vor (freie Analyten) und nach einer Säurehydrolyse (gebundene Analyten) mittels flüssigchromatographischer Trennung in Kopplung mit einem Triple-Quadrupol-Massenspektrometer analysiert. Um mögliche Extraktionsverluste und Matrixeffekte zu berücksichtigen, erfolgte die Quantifizierung mithilfe von internen Standards. Die Methode wurde entsprechend der SANCO/3029/99-Richtlinie [155] validiert.

3.3.6.1 Probenaufarbeitung

Um Chlorpropham und 3-Chloranilin in allen Proben als freie und als gebundene Analyten quantitativ erfassen zu können, wurde die zuvor beschriebene Extraktionsmethode weitgehend abgeändert.

In einer Doppelbestimmung wurden circa 3 g der homogenisierten und gefrorenen Probe in ein 15 mL-Zentrifugenröhrchen genau eingewogen und mit 30 µL einer Lösung der internen Standards (IS, 100 mg/L d7-Chlorpropham, 10 mg/L 3-Bromanilin) versetzt. Es folgte die Zugabe von 3 mL Acetonitril und das Schütteln der Proben auf einem Vortex-Schüttler für 15 min. Die Zentrifugenröhrchen wurden für 5 min bei 4000 U/min zentrifugiert und der flüssige Überstand mittels einer Pasteurpipette in ein weiteres 15 mL-Zentrifugenröhrchen überführt. Die Extraktion mit 3 mL Acetonitril wurde einmalig wiederholt. Die vereinigten Überstände, die die freien Analyten enthielten, wurden anschließend wie unten beschrieben aufgereinigt.

Die Extraktion von gebundenen Analyten erfolgte in Anlehnung an Mohammed et al. [89] nach saurer Hydrolyse der Extraktionsrückstände. Dazu wurden die Rückstände erneut mit 30 µL der IS-Lösung versetzt. Nach Zugabe von 3 mL 1 M Schwefelsäure folgte der Säureaufschluss der Proben für 16 h im Trockenschrank bei 55 °C. Anschließend wurden die auf Raumtemperatur abgekühlten Proben für 5 min bei 4000 U/min zentrifugiert und der saure Überstand mittels einer Pasteurpipette in ein separates 15 mL-Zentrifugenröhrchen überführt. Der feste Rückstand wurde mit 3 mL Acetonitril versetzt und für 15 min auf einem Vortex-Schüttler behandelt. Nach Zentrifugation der Proben (5 min, 4000 U/min) wurde der organische Überstand mit dem zuvor abgenommenen Säureüberstand vereinigt. Das Gemisch, das die gebundenen Analyten enthielt, wurde mit Natronlauge auf einen pH-Bereich von pH 5 – 6 eingestellt. Die pH-Kontrolle erfolgte mit pH-Messstäbchen. Das neutralisierte Extrakt wurde analog zum Extrakt der freien Analyten wie im Folgenden beschrieben aufgereinigt:

Zu jedem der beiden Extrakte wurden zunächst etwa 1,9 g ($\pm 0,2$ g) eines vorgefertigten, Citrat-gepufferten QuEChERS-Mixes (EN-Methode [156]) hinzugefügt. Die Proben wurden für 15 min geschüttelt und für 5 min bei 4000 U/min zentrifugiert. Von der abgetrennten organischen Phase wurden 1,5 mL in ein 2 mL-

dSPE-Kit (dispersive Festphasenextraktion, engl. *dispersive solid phase extraction*) pipettiert, das 150 mg MgSO₄ und 50 mg PSA (primäre und sekundäre Amine) enthielt. Nach dem kurzzeitigen Schütteln per Hand wurden die dSPE-Röhrchen zentrifugiert (5 min bei 4000 U/min). 700 µL des klaren Überstands wurden in ein 1,5 mL-Zentrifugenröhrchen überführt und mit 700 µL UHQ Wasser versetzt. Die Ansätze wurden kurz per Hand geschüttelt und für 60 min im Kühlschrank gelagert. Die trüben Lösungen wurden durch einen 0,45 µm RC-Filter (rekonstituierte Zellulose, engl. *reconstituted cellulose*) in ein 1,5 mL-Autosampler-Vial filtriert und mittels UHPLC-MS/MS (siehe Kapitel 3.3.6.2) vermessen.

Die Aufarbeitung der fettigen Proben (frittierte und gebackene Kartoffeln, Frittieröl) wurde leicht modifiziert, um die Verschleppung öligter Rückstände in das LC-MS-System zu vermeiden. Dazu wurden die Proben vor Abnahme jedes Extraktes für mindestens 3 h im Tiefkühlschrank (-25 °C) ausgefroren und für 1 min in einer auf -10 °C vorgekühlten Zentrifuge bei 4000 U/min zentrifugiert. Das Abnehmen der Überstände erfolgte jeweils innerhalb weniger Minuten, um ein Auftauen der Proben zu verhindern. Dieser Ausfrierschritt wurde auch bei der Abnahme der QuEChERS-Extrakte beziehungsweise deren Transfer in die dSPE-Röhrchen durchgeführt.

Die Extraktion der freien und der gebundenen Analyten im Kochwasser wurde auf separate Einwaagen aufgeteilt, da nach dem ersten Extraktionsschritt keine Feststoffrückstände zu erwarten waren. Dabei wurde die Extraktion der freien Analyten wie zuvor für die Feststoffproben und das Frittieröl beschrieben durchgeführt. Für die Extraktion der gebundenen Analyten wurden separate Einwaagen von 3 mL des Kochwassers direkt der Säurehydrolyse unterzogen und wie zuvor beschrieben aufgearbeitet. Über eine Differenzbildung der beiden Ansätze konnte so auf mögliche Gehalte an gebundenen Analyten geschlossen werden.

3.3.6.2 UHPLC-MS/MS-Messungen

Die Quantifizierung von Chlorpropham und 3-Chloranilin in Form freier und gebundener Analyten erfolgte nach flüssigchromatographischer Trennung und massenspektrometrischer Detektion an einem Triple-Quadrupol-System. Die Parameter des UHPLC-Systems sind in Tabelle 26 aufgeführt.

Tabelle 26. Chromatographische Parameter zur Bestimmung von Chlorpropham und 3-Chloranilin als freie und als gebundene Analyten in rohen und verarbeiteten Kartoffelprodukten sowie Kochwasser und Frittieröl

UHPLC System	1290 Infinity II UHPLC system, Agilent - 1290 Infinity II High Speed Pump - 1290 Infinity II Multisampler G7167B - 1290 Infinity II Multicolumn Thermostat		
Trennsäule	Acquity UPLC® BEH C18, 1.7 µm, 2.1 x 100 mm, Waters		
Säulentemperatur	55 °C		
Injektionsvolumen	10 µL		
Flussrate	0,35 mL/min		
Mobile Phasen	A	0,1% Ameisensäure in Wasser/Acetonitril (95/5, v/v)	
	B	0,1% Ameisensäure in Acetonitril	
Gradient	Zeit [min]	Mobile Phase A [%]	Mobile Phase B [%]
	0	100	0
	10	0	100
	12	0	100
	12,1	100	0
	15	100	0

Über ein Schaltventil wurde der Fluss in das gekoppelte Massenspektrometer so gesteuert, dass das Eluat der ersten drei und der letzten sieben Minuten des Laufes in ein Abfallgefäß geleitet wurden. Während der Retention der Analyten und der IS wurde der Fluss des LC-Systems zur Detektion in das Massenspektrometer geleitet. Die Steuerungseinstellungen dieses Ventils sowie die substanzunabhängigen Einstellungen des Triple-Quadrupol-Massenspektrometers sind in Tabelle 27 aufgeführt.

Tabelle 27. MS/MS-Parameter zur Quantifizierung von Chlorpropham und 3-Chloranilin als freie und gebundene Analyten in rohen und verarbeiteten Kartoffelprodukten sowie Kochwasser und Frittieröl

Massenspektrometer	QTRAP 5500, Sciex	
Ventilsteuerung	Zeitfenster [min]	Einstellung
	0 - 3	Waste
	3 - 8	MS
	8 - 15	Waste
MS-Parameter	Quellentyp	Electrospray Ionisation (ESI)
	Polarität	Positiv
	Tuningparameter	Einstellung
	Curtain gas (CUR)	20.00
	Ionic spray voltage (IS)	3500.00
	Temperature (TEM)	650.00
	Ion source gas 1 (GS1)	70.00
	Ion source gas 2 (GS2)	50.00
	Collision gas (CAD)	Medium
	Entrance Potential (EP)	10.00

Für die beiden Analyten Chlorpropham und 3-Chloranilin sowie die internen Standards d7-Chlorpropham und 3-Bromanilin wurden die Tuningparameter für einzelne Massenübergänge substanzspezifisch optimiert. Diese sind inklusive der zu erwartenden Retentionszeiten in Tabelle 28 aufgelistet.

Tabelle 28. Substanzspezifische MS-Parameter inklusive der Retentionszeiten der Analyten und internen Standards (DP: declustering potential, CE: collision energy, CXP: cell exit potential)

Analyt	t _r [min]	Typ	Massenübergang	Dwell-Zeit [ms]	DP [V]	CE [eV]	CXP [V]
Chlorpropham	6,67	Quantifier	213.93 > 172.10	50	21	13	14
	6,67	Qualifier	213.93 > 154.10	50	21	25	12
3-Chloroaniline	3,72	Quantifier	127.96 > 93.00	50	76	25	12
	3,72	Qualifier	129.96 > 93.00	50	41	25	12
d7-Chlorpropham	6,64	IS	220.99 > 173.00	50	31	15	16
3-Bromoaniline	4,13	IS	171.89 > 93.00	50	51	29	12

3.3.6.3 Quantifizierung und Validierung

Für die Quantifizierung wurde eine gemeinsame Kalibrierreihe für Chlorpropham und 3-Chloranilin angesetzt. Der Konzentrationsbereich umfasste 0,7 bis 1000 µg/L (Chlorpropham) bzw. 0,3 bis 100 µg/L (3-Chloranilin). Die Konzentration von d7-Chlorpropham und 3-Bromanilin als interne Standards lag bei jeweils 100 µg/L. Gemäß den Vorgaben der SANCO/3029/99-Richtlinie [155] wurden für beide Substanzen Bestimmungsgrenzen festgelegt und validiert. Für diese Validierung wurden die jeweiligen Leerwertmatrices (rohe, gekochte, frittierte (repräsentativ für fettige Kartoffelmatrices) sowie Kochwasser und Frittieröl) auf die einfache und auf die zehnfache Konzentration der Bestimmungsgrenze dotiert. Je Konzentrationslevel erfolgte eine Fünffachbestimmung sowie eine Doppelbestimmung der nicht dotierten Leerwertprobe. Die Validierung der gebundenen Analyten erfolgte aus denselben Ansätzen, indem die extrahierten Proben vor Zugabe der Schwefelsäure erneut auf die einfache beziehungsweise zehnfache Bestimmungsgrenze dotiert wurden. Im Falle von leichten Kontaminationen der Leerwertmatrix wurde ein Blankabzug vorgenommen. Die Bestimmungsgrenze für Chlorpropham lag bei jeweils 10 µg/kg. 3-Chloranilin konnte jeweils mit einer Bestimmungsgrenze von 5 µg/kg quantifiziert werden.

Um die Gültigkeit der Messungen auch während probenreicher Messsequenzen zu kontrollieren, wurden vor und nach jeder Sequenz (circa 50 Proben) QC-Proben (Qualitätskontrolle, engl. *quality control*) auf einfachem LOQ- und auf zehnfachem LOQ-Level gemessen. In Anlehnung an die Validierungsparameter der SANCO/3029/99-Richtlinie [155] mussten die Wiederfindungen zwischen 70 und 110% liegen.

3.3.7 Chemikalien und Geräte

Die in diesem Versuchsteil verwendeten Chemikalien sind in Tabelle 29 aufgelistet:

Tabelle 29: Chemikalien, die zur Untersuchung des Verbleibs von Chlorpropham während der Lagerung und Verarbeitung von Kartoffeln verwendet wurden

Chemikalie	Hersteller	Spezifikation
[Phenyl-U- ¹⁴ C]- Chlorpropham	Selcia Ltd	Radiochem. Reinheit: 99,8% Chem. Reinheit: 99,8% Spezif. Aktivität: 1840 MBq/mmol
3-Bromanilin	Sigma Aldrich	> 99%
3-Chlor-4-methoxyanilin	Dr. Ehrenstorfer	98,0%
3-Chloranilin	Sigma Aldrich	99,8%
4-Hydroxychlorpropham	EPP Ltd	99,5%
Aceton, z. Rückstandsanal.	Th. Geyer, Chemsolute®	> 99,8%
Acetonitril, LC-MS	Th. Geyer, Chemsolute®	> 99,95%
Ameisensäure, LC-MS	Thermo Fisher Scientific	LC-MS grade
Carbo-Sorb E	Perkin Elmer	k.A.
Chlorpropham	Sigma Aldrich	99,4%
d7-Chlorpropham	Sigma Aldrich	> 98,0%
Methanol, LC-MS	Th. Geyer, Chemsolute®	> 99,95%
Natriumhydroxid	Th. Geyer, Chemsolute®	> 98,9% p.a.
Patentblau V	Sigma Aldrich	> 97,0%
Permafluor E+	Perkin Elmer	k.A.
roQ QuEChERS dSPE kit (MgSO ₄ , PSA)	Phenomenex	k.A.
roQ QuEChERS extraction kit (EN method)	Phenomenex	k.A.
Schwefelsäure, konz.	Th. Geyer, Chemsolute®	95% p.a.
Sonnenblumenöl	„ja“, Teutoburger Margarinewerke	k.A.
Trockeneis, ICEBITZZZ®	Linde AG	k.A.
UHQ Wasser	Purelab Ultra system (ELGA)	≥ 18,2 MΩ/cm ²
Ultima Gold™	Perkin Elmer	k.A.
Ultima Gold™ LLT	Perkin Elmer	k.A.
Kartoffeln, Bio	Gutbio	Princess: vorw. festkochend
Kochsalz	esco GmbH	k.A.

Die Hersteller der verwendeten Geräte und Gefäße für die Probenaufarbeitung zeigt nachfolgend Tabelle 30.

Tabelle 30: Geräte und Gefäße, die zur Untersuchung des Verbleibs von Chlorpropham während der Lagerung und Verarbeitung von Kartoffeln verwendet wurden

Gerät	Hersteller, Modell
Autosampler-Vials, 1,5 mL	Chromatographie Zubehör Trott
Becherglas, 600 mL	JENAer Glas, Rasotherm
Heizplatte mit Magnetrührer	IKA, C-MAG HS7
Herd	Küppersbusch, OEH 500
Kochtopf	BB
Kolbenhubpipetten	Eppendorf, Research plus
Kontaktthermometer	IKA, ETS-D5
Konvektomat	Convotherm, Mini OES 6.06 CCS
Küchenmaschine	Vorwerk, Thermomix 3300
Liquid Scintillation Counter	Hidex 600 SL
Oxidizer	Packard, Sample Oxidizer 307
pH-Teststäbchen, pH 0 - 14	Merck, MColorpHast™
Pipettenspitzen 100 µL	Starlab Tip One®
Pipettenspitzen 1000 µL	Greiner bio-one ultratip
Pipettenspitzen 5000 µL	Gilson® D5000 Diamond Easy Pack
Pipettenspitzen, totvolumenfrei, 25 µL (CP 25)	Gilson®
Pipettenspitzen, totvolumenfrei, 250 µL (CP250)	Gilson®
Pipettenspitzen, totvolumenfrei, 50 µL (CP 50)	Gilson®
Pipettieraufsatz für Multipipette	Eppendorf, Combitips advanced®
Polypropylen-Eimer, 18 L	Jokey Plastic, JETO
PP-Zentrifugenröhrchen, 15 mL	Greiner Bio-One
PP-Zentrifugenröhrchen, 50 mL	Sarstedt
Radio-UPLC®-HRMS-Systeme/Trennsäulen	Siehe Tabelle 8 bis Tabelle 10 (S.33 bis 35)
RC-Filter	Phenomenex, 0.45 µm
SafeSeal Gefäß, 1,5 mL	Sarstedt
Schüttler	IKA® Vibrax VXR basic
Szintillations-Vials, 20 mL	Sarstedt
Szintillations-Vials, 6 mL	Sarstedt
Spritzen mit Kanülen, 2 mL	Braun, Injekt Duo
Stickstoffverdampfer	Zymark, TurboVap® LV Evaporator
Trockenschrank	Heraeus kelvitron® t
Ultraschallbad	Bandelin Sonorex RK 514 Transistor
Zellulose-Cone	Perkin Elmer, Combusto-Cone
Zellulose-Pad	Perkin Elmer, Combusto-Pad
Zentrifuge	Heraeus Megafuge 1.OR

4 Ergebnisse

In den folgenden Abschnitten werden die Ergebnisse der einzelnen Versuchsteile aufgeteilt nach den drei Substanzen in verschiedenen Lebensmitteln (Prochloraz in Rapsöl, Deltamethrin in Tomatenprodukten und Chlorpropham in Kartoffeln) detailliert beschrieben.

4.1 Prochloraz in Rapsöl

Nach dem Erhitzen der Ölproben konnte bereits ab einer Erhitzungstemperatur von 180 °C eine leichte Entfärbung des Öls beobachtet werden. Dieser Entfärbungsprozess nahm mit steigender Temperatur sichtbar zu. Abbildung 27 im Anhang zeigt die Ölproben aus dem initialen Radioaktiv-Versuch vor und nach dem Erhitzen der Proben auf die jeweilige Temperatur (180 °C bis 240 °C für je 45 min) und zeigt die temperaturabhängige Entfärbung.

4.1.1 Verbleib der Aktivität

Für die Aktivität des nicht-erhitzten Öls nach dem Dotieren mit ^{14}C -Prochloraz wurde mittels LSC-Messung ein Gehalt von $1,83 \pm 0,08 \text{ MBq/kg}$ ermittelt und als 100%-Referenzwert festgelegt. Wie Abbildung 7 zeigt, konnten in den Ölproben nach der Erhitzung auf Temperaturen zwischen 180 und 240 °C für je 45 min Wiederfindungen zwischen $98,7 \pm 0,4\%$ und $99,7 \pm 0,7\%$ bestimmt werden. Demnach wird eine Verflüchtigung von ^{14}C -markierten Analyten aus den verschlossenen Headspace-Vials als vernachlässigbar gering angesehen.

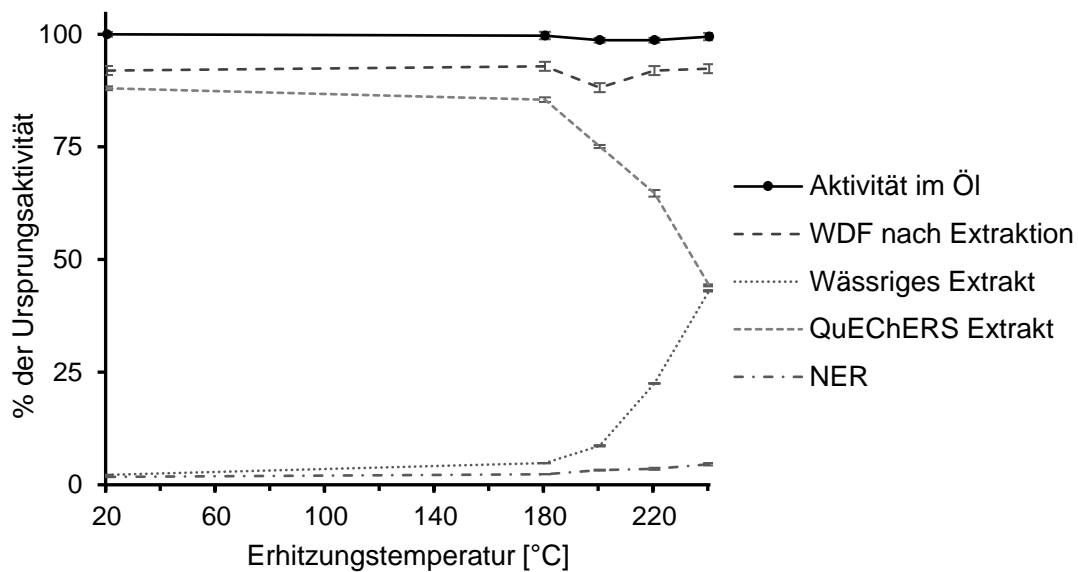


Abbildung 7. Einfluss der Erhitzungstemperatur auf die Verteilung der Radioaktivität in verschiedenen Extrakten sowie Extraktionsrückständen (Erhitzungszeit: 45 min; 100% = 1,83 MBq/kg). Die Wiederfindung (WDF) beschreibt die Summe der Aktivitätsmengen in den Extrakten und Extraktionsrückständen (nicht-extrahierbare Rückstände: NER)

Abbildung 7 zeigt weiterhin, dass die zunehmende Temperatur zu einer deutlichen Verlagerung der Aktivitätsverteilung in den beiden Extrakten führt. Es ist zu erkennen, dass die wässrige Extraktion nicht geeignet ist, bedeutende Mengen an Aktivität bzw. ^{14}C -Prochloraz aus dem nicht-erhitzten Öl (als maximale Temperaturbelastung wird ein Wert von 20 °C angenommen) zu gewinnen. Mit steigender Temperatur zeigten die erhitzten Öle einen zunehmenden Anteil ^{14}C -markierter, polarer Metaboliten, die mittels wässriger Extraktion abgetrennt werden konnten. Nach der 45-minütigen Erhitzung auf 240 °C im Ofen waren mehr als 40% der Ursprungsaktivität mit Wasser extrahierbar. Im Gegenzug sank die Menge der organisch-extrahierbaren Aktivität mit steigender Erhitzungstemperatur deutlich ab. Während in der nicht-erhitzten Probe etwa 90% der Ursprungsaktivität (in Form von Prochloraz) mittels der QuEChERS-Methode extrahierbar waren, sank dieser Anteil in der am stärksten erhitzten Ölprobe auf einen Wert von $44,3 \pm 0,2\%$ ab.

Weiterhin wurde aus den extrahierten Ölen der jeweilige Anteil an nicht-extrahierbaren Rückständen mittels Flüssigszintillationszählung ermittelt. Im unbehandelten Öl konnte ein Wert von $1,7 \pm 0,0\%$ bestimmt werden. Dieser NER-

Anteil zeigte mit steigender Temperatur einen stetigen Anstieg auf einen maximalen Wert von $4,6 \pm 0,3\%$ nach Erhitzung auf 240 °C .

Abbildung 7 zeigt ebenfalls die für jede Probe summierte Aktivität in den Extrakten und dem extrahierten Ölrückstand als individuelle Bilanzierung. Die mittlere Wiederfindung je Probe liegt bei $92,3 \pm 0,4\%$. Eine Ausnahme bildet hier der Wert der 200 °C -Probe mit $88,2 \pm 0,6\%$, der als signifikanter Ausreißer identifiziert wurde (Ausreißertest nach Grubbs, $\alpha = 0,05$, $Z = 1,749$).

Eine detaillierte Auflistung der prozentualen Verteilung der Aktivität in den verschiedenen Ölen ist Tabelle 36 im Anhang zu entnehmen.

4.1.2 Identifizierung von Abbauprodukten mittels radio-UPLC[®]-HRMS

Die in Abbildung 8 dargestellten repräsentativen radio-UPLC[®]-Chromatogramme des wässrigen sowie des organischen QuEChERS-Extraktes der auf 240 °C erhitzten Ölprobe zeigte mehrere Peaks, die auf die Bildung von Abbauprodukten hinweisen. Der zweite Peak im organischen Extrakt (O2) kann aufgrund seiner Retentionszeit mit Rückständen von ^{14}C -Prochloraz assoziiert werden. Der erste Peak im Chromatogramm des organischen Extraktes (O1) konnte auf eine Syntheseverunreinigung des ^{14}C -Prochloraz zurückgeführt werden. Aufgrund der zugeordneten exakten m/z-Verhältnisse von 342,0752 (^{12}C -Isotop) bzw. 344,0791 (^{14}C -Isotop) wird angenommen, dass es sich bei der Verunreinigung um *N*-Propyl-*N*-(2-(2,4,6-dichlorphenoxy)ethyl)-1H-imidazol-1-carboxamid (Prochloraz-Molekül mit einer Dichlor- anstelle einer Trichlorphenol-Gruppe) handelt.

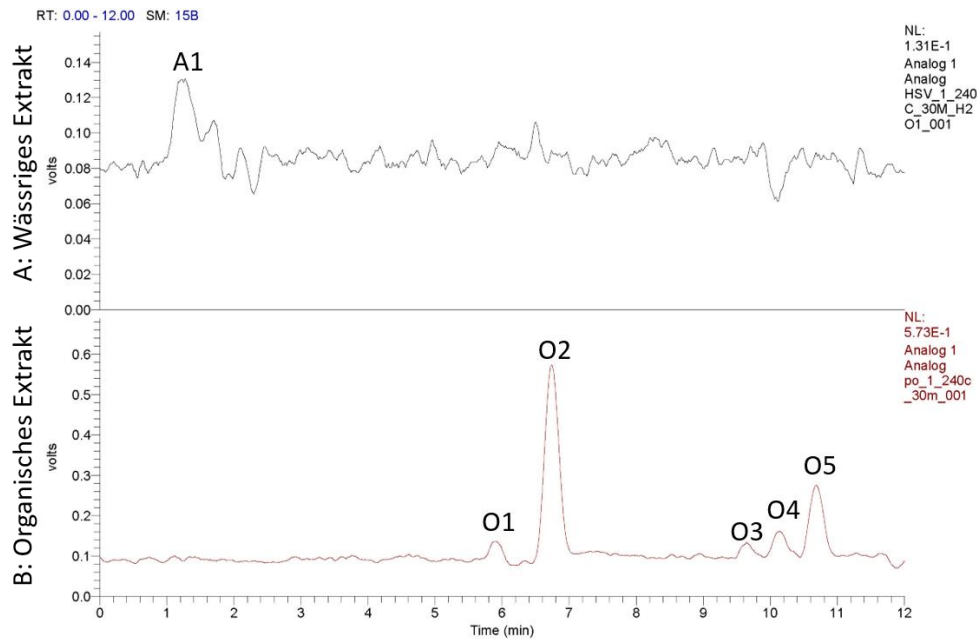


Abbildung 8. Repräsentative radio-UPLC[®]-Chromatogramme des wässrigen (A) und des organischen QuEChERS-Extraktes (B) der Ölprobe nach Erhitzung auf 240 °C für 45 min

Um die Identität der Abbauprodukte aufzuklären, die mit dem Peak A1 im Chromatogramm des wässrigen Extraktes assoziiert werden können, erfolgte eine Analyse der im ESI-positiv-Modus aufgenommenen HRMS-Daten mittels des spezifischen $^{12}\text{C}/^{14}\text{C}$ -Isotopenmuster-Filters. Insgesamt konnten in dem entsprechenden Retentionszeitfenster folgende vier m/z-Verhältnisse als relevant identifiziert werden: m/z 69,0453, 143,0808, 153,0651 und 157,0964.

Das m/z-Verhältnis 69,0453 sowie dessen ^{14}C -Isotop m/z 71,0485 konnten durch Abgleich mit der Retentionszeit eines Standards als Imidazol identifiziert werden.

Für die drei weiteren m/z-Werte 143,0808, 153,0651 und 157,0964 (im Folgenden als PO143, PO153 und PO157 bezeichnet) wurden gezielte MS/MS-Experimente (t-SIM/dd-MS²) zur Strukturaufklärung durchgeführt. Aufgrund hoher Hintergrundsignale konnten für die entsprechenden ^{14}C -Isotop-Signale (m/z 145,0841, 155,0684 und 159,0996) keine aussagekräftigen MS/MS-Daten aufgenommen werden.

Ergebnisse

Unter Berücksichtigung der exakten Masse konnte dem Abbauprodukt PO143 die Strukturformel $[C_6H_{11}N_2O_2]^+$ zugeordnet werden. Das entsprechende MS/MS-Spektrum ist in Abbildung 9 dargestellt.

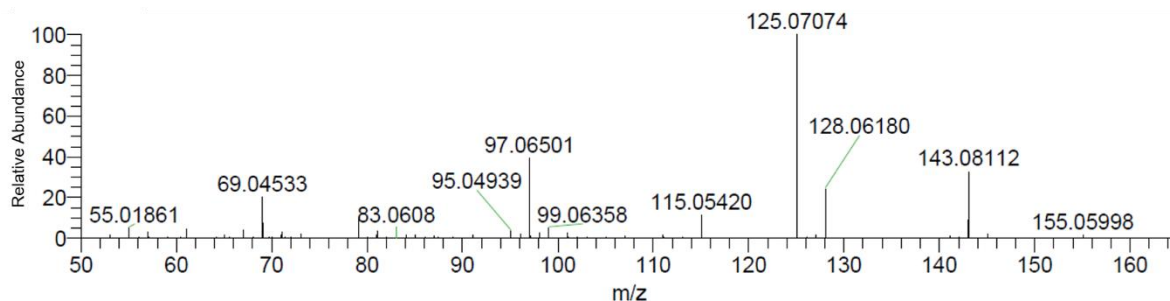


Abbildung 9. MS/MS-Fragmentspektrum des Prochloraz-Abbauprodukts PO143

Das intensivste Fragmentsignal bei m/z 125,0707 entspricht der Abspaltung eines H_2O -Moleküls aus dem Parent-Ion PO143. Die Bildung des Fragments m/z 83,0608 konnte durch eine Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindungsspaltung erklärt werden, wie das vorgeschlagene Fragmentierungsschema in Abbildung 10 zeigt. Wie im Fragmentspektrum zu sehen, führte die MS/MS-Fragmentierung zusätzlich zu einem Signal bei m/z 69,0453. Dies entspricht der exakten Masse des Imidazolium-Ions und belegt den Erhalt der aktiven fungiziden Gruppe des Prochloraz-Moleküls im Abbauprodukt PO143. Aufgrund des Fragmentspektrums und der ermittelten Strukturformel wurde zunächst 3-(1*H*-Imidazol-1-yl)propan-1,2-diol als Addukt von Imidazol und Glycerin aus dem Rapsöl vermutet. Der Vergleich mit einer erwerblichen Standardsubstanz zeigte jedoch unterschiedliche Retentionszeiten von PO143 und dem Standard. Aus diesem Grund wird angenommen, dass es sich bei PO143 um 2-(1*H*-Imidazol-1-yl)propan-1,3-diol, also um ein Konstitutionsisomer des erworbenen Standards, handelte. Die postulierte Struktur und der entsprechende Fragmentierungsmechanismus sind in Abbildung 10 dargestellt. Da die Substanz jedoch als Standardsubstanz nicht erwerblich war und die Gehalte von PO143 aufgrund der schwachen MS-Signale als gering eingestuft wurden, wurde auf die Bestätigung der postulierten Struktur verzichtet.

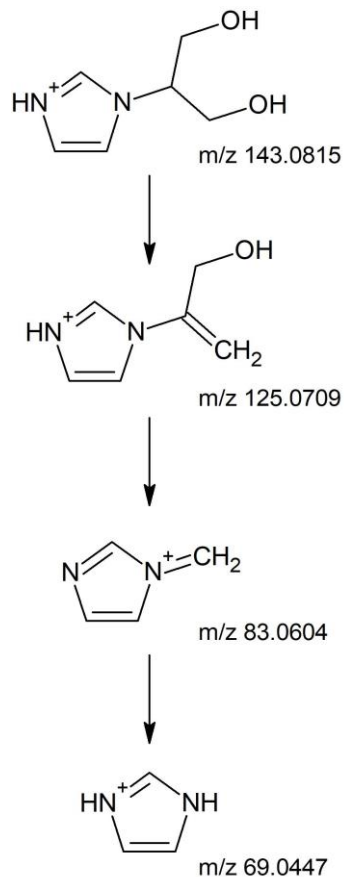


Abbildung 10. Postulierte Struktur des Abbauproduktes PO143 und der entsprechende vermutete MS/MS-Fragmentierungsmechanismus

Des Weiteren wurden die beiden weiteren m/z -Verhältnisse, die mit dem Peak A1 assoziiert wurden, hinsichtlich ihrer Identität untersucht. Für beide Signale konnten Summenformeln ermittelt (PO153: $[C_7H_9O_2N_2]^+$ und PO157: $[C_7H_{13}O_2N_2]^+$) und MS-Fragmentspektren aufgenommen werden. Das einzige Fragment, das eindeutig beiden Abbauprodukten zugeordnet werden konnte, entsprach der Bildung des Imidazolium-Ions und zeigte abermals den Erhalt der fungiziden Gruppe in den Abbauprodukten. Abbildung 11 zeigt die partiellen Strukturvorschläge, die den jeweiligen m/z -Verhältnissen zugeordnet werden konnten. Da die MS-Signale von PO153 und PO157 als relativ schwach eingeschätzt wurden und Imidazol im Rahmen der Quantifizierung als repräsentativ für den radio-UPLC®-Peak A1 bewertet wurde (siehe Kapitel 0), wurde auf eine weitere Strukturaufklärung der beiden Abbauprodukte verzichtet. Dennoch bleibt zu betonen, dass die (partiellen) Strukturformeln nicht durch einfache, hydrolytische Bindungsbrüche innerhalb des

Prochloraz-Moleküls erklärt werden können. Sie dienen somit als Beweis für chemische Reaktionen zwischen dem Wirkstoff Prochloraz und Matrixbestandteilen des Öls.

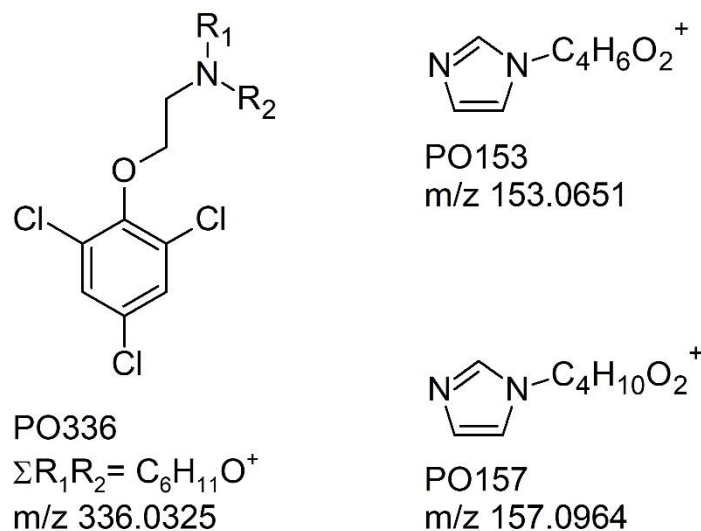


Abbildung 11. Partielle Strukturvorschläge für die identifizierten Abbauprodukte PO153, PO157 und PO336

Im Falle der drei Peaks O3, O4 und O5 im radio-UPLC[®]-Chromatogramm (siehe Abbildung 8) des organischen Extraktes konnten insgesamt vier unterschiedliche Moleküle assoziiert werden, die die ¹⁴C-Markierung enthielten. Durch die Anwendung des spezifischen ¹²C/¹⁴C-Isotopenmuster-Filters konnten den Peaks im ESI-positiv-Modus m/z-Paare (¹²C/¹⁴C) zugeordnet werden, die in Tabelle 31 aufgelistet sind. Die jeweiligen Isotopenmuster zeigten, dass keine der Substanzen die initiale Trichlorphenol-Gruppe des Prochloraz-Moleküls enthielt. Weiterhin wiesen die aufgelisteten m/z-Verhältnisse höhere Werte als Prochloraz (m/z 376,0386) auf. Aus diesen Erkenntnissen ließ sich ableiten, dass a) eine Spaltung innerhalb des Prochloraz-Moleküls und b) eine Adduktbildung mit einer externen Gruppe stattgefunden haben mussten.

Die MS-Fragmentspektren aller vier Abbauprodukte deuteten auf eine Reaktion eines Prochloraz-Abbauintermediats mit den vier am häufigsten in Rapsöl vertretenen Fettsäuren hin [28]. Die Zuordnung der identifizierten m/z-Verhältnisse zu den jeweiligen Fettsäure-Addukten ist Tabelle 31 zu entnehmen.

Tabelle 31. Zuordnung der radio-UPLC®-Peaks zu den identifizierten m/z-Paaren sowie zu den jeweils assoziierten Fettsäureresten

Radio-UPLC®	m/z (¹² C-Isotop)	m/z (¹⁴ C-Isotop)	Assoziierter Fettsäurerest
O3	458,3383	460,3415	Linolensäure (C18:3)
O4	460,3539	462,3572	Linolsäure (C18:2)
O5	436,3539	438,3572	Palmitinsäure (C16:0)
O5	462,3696	464,3728	Ölsäure (C18:1)

Im Folgenden wird die Strukturaufklärung anhand der MS-Fragmentspektren exemplarisch für das signalintensivste Abbauprodukt mit den [M+H⁺]-Ionen m/z 462,3696 und m/z 464,3728 erklärt. Die entsprechenden Fragmentspektren sind in Abbildung 12 dargestellt.

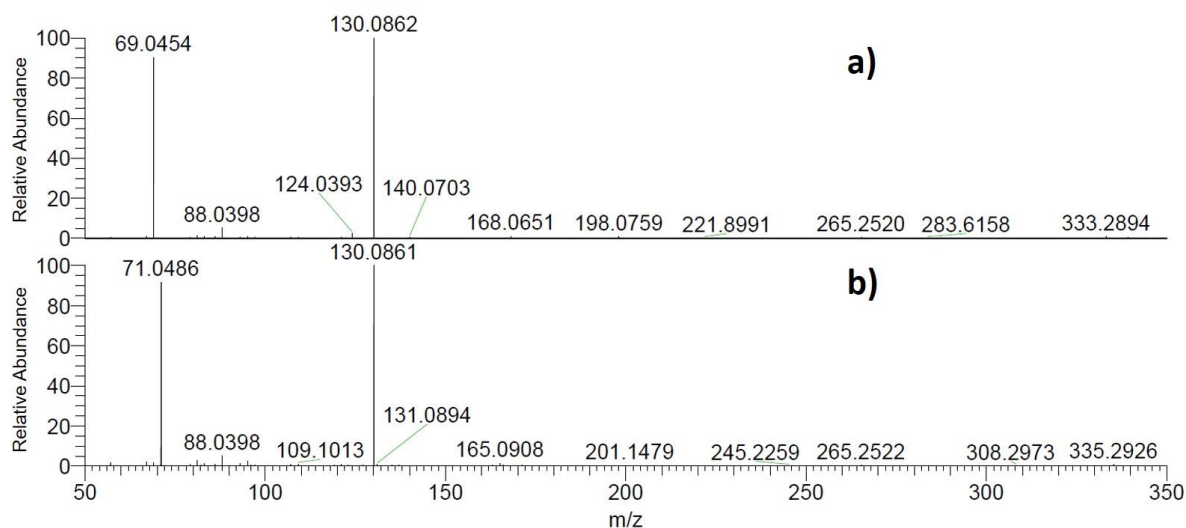


Abbildung 12. MS-Fragmentspektren des Prochloraz-Abbauproduktes (radio-UPLC®-Peak O5) mit dem m/z-Paar 462,3696 (a) und m/z 464,3728 (b)

Weiterhin zeigt Abbildung 13 das postulierte MS/MS-Fragmentierungsschema des Abbauproduktes sowie die daraus abgeleitete Struktur von 2-[(1-*H*-Imidazol-1-carbonyl)(propyl)amino]ethyl oleat (im weiteren Verlauf als „Icpane-Oleat“ bezeichnet).

Die beiden signalintensiven m/z Verhältnisse 69,0454 und dessen ¹⁴C-Analogon 71,0486 entsprechen der exakten Masse des Imidazolium-Kations. Dies belegte den Erhalt der fungiziden Gruppe des Prochlorazmoleküls im Abbauprodukt. Das

Ergebnisse

Fragmentation m/z 265,2520 wiederum entspricht einer Oleoylgruppe. Das Fragmentenpaar m/z 198,1237 / 200,1269 kann ebenfalls dem Strukturvorschlag zugeordnet werden und entspricht dem Verlust der Oleoylgruppe aus dem Icpame-Oleat-Molekül (beide Massen zeigten schwache Signale und konnten deshalb im Massenspektrum in Abbildung 12 skalierungsbedingt nicht dargestellt werden). Das signalintensivste Fragment m/z 130,0863 konnte durch einen Bruch der Amidbindung in den Fragmenten m/z 198,1237 / 200,1269 erklärt werden (vgl. Abbildung 13). Weiterhin konnte das Fragment m/z 88,0393 dem Icpame-Oleat Strukturvorschlag zugeordnet werden. Dieses entstand durch den Verlust der Propylgruppe aus dem Fragment mit m/z 130,0863.

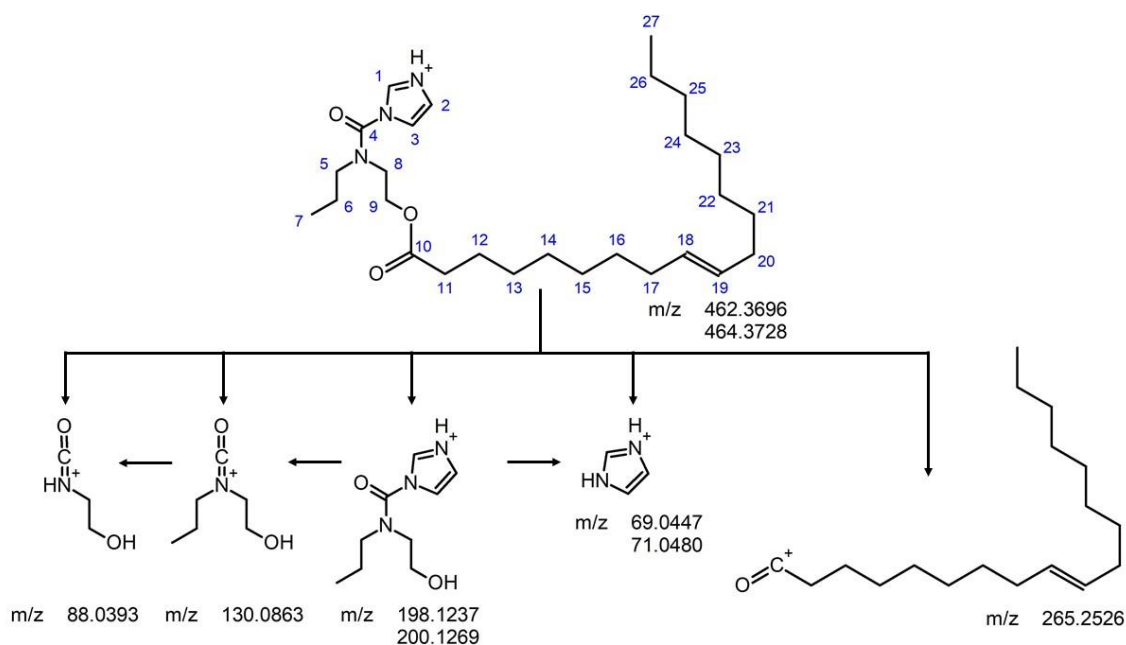


Abbildung 13. Postulierter Mechanismus für die MS/MS-Fragmentierung der m/z -Verhältnisse m/z 462,3696 bzw. m/z 464,3728. Die aufgelisteten m/z -Verhältnisse entsprechen den nicht- ^{14}C -markierten sowie den (falls vorhanden) ^{14}C -markierten Fragmenten

Die Bestätigung der vorgeschlagenen Icpame-Oleat-Struktur erfolgte mittels zusätzlicher NMR-Experimente (siehe Abschnitt 4.1.3). Insgesamt wurden drei weitere Abbauprodukte von Prochloraz anhand ihrer exakten Massen identifiziert, die die Icpame-Struktur sowie weitere Rapsöl-typische Fettsäuren [28] enthielten. Das Linolsäure-Analogon entsprach Peak O4 im Chromatogramm des Radiodetektors

(Abbildung 8). Peak O3 konnte auf ein entsprechendes Linolensäure-Addukt zurückgeführt werden. Die vierte Variante, ein Palmitinsäure-Addukt coeluierte im Radio-Chromatogramm mit Icpame-Oleat und wurde folglich mit Peak O5 assoziiert. Alle vier Fettsäure-Addukte wiesen identische bzw. analoge m/z-Verhältnisse in ihren jeweiligen Fragmentspektren auf. Im Fall von Icpame-linoleat wurde das Fragment m/z 263,2375 detektiert, das der Linoleoylgruppe entsprach. Icpame-linolenat bildete das Fragment m/z 261,2218. Vermutlich aufgrund der schwachen Signalintensität konnte das analoge Fragment (m/z 239,2375) des Icpame-palmitats in den MS²-Spektren nicht detektiert werden. Dies deckt sich mit dem in der Literatur beschriebenen Fettsäuremuster des Rapsöls, da Palmitinsäure die am wenigsten häufig vorkommende der vier Fettsäuren darstellt [28].

In Ergänzung zur Identifizierung von Abbauprodukten, die das radioaktive Label aufwiesen, wurden die massenspektrometrischen Daten mittels eines Cl₃-Isotopenfilters hinsichtlich weiterer Abbauprodukte ausgewertet. Im negativen ESI-Modus wurde 2,4,6-Trichlorphenol als erhitzungsbedingtes Abbauprodukt ermittelt. Die Identität des Hydrolyseproduktes wurde durch den Vergleich der Retentionszeit mit einem analytischen Standard bestätigt. In den Blindwert-Proben wurden keine Spuren von Trichlorphenol detektiert. Im ESI-positiv-Modus lieferte die Anwendung des Isotopenfilters Hinweise zum Vorliegen zweier weiterer Abbauprodukte, die die Trichlorphenol-Einheit enthielten. Zum einen konnte N-[2-(2,4,6-Trichlorphenoxy)ethyl]propylamin (m/z 282,0214) identifiziert werden, das aus anderen Metabolismus- und Abbaustudien als Metabolit „BTS 40348“ bekannt ist [46, 69]. Die Identität wurde durch Vergleich der Retentionszeit mit der eines analytischen Standards bestätigt. Da schwache Signale auch in den nicht-erhitzten Ölproben detektiert wurden, wird BTS 40348 als Abbauprodukt eingestuft, das in geringfügigen Mengen auch während der Lagerung entstanden ist.

Als weiteres Abbauprodukt konnte dem m/z-Verhältnis 336,0325 („PO336“) bei einer Retentionszeit von 8,5 min die Summenformel [C₁₄H₁₇Cl₃NO₂]⁺ zugeordnet werden. Aufgrund der Summenformel und dem Isotopenmuster wurde geschlussfolgert, dass PO336 nicht durch einen einfachen, hydrolytischen Bindungsbruch innerhalb des Prochloraz-Moleküls entstanden sein konnte, sondern durch chemische Reaktion(en) von Prochloraz mit Bestandteilen des Rapsöls entstanden sein musste. Die

aufgenommenen Fragmentspektren ließen aufgrund der schwachen Signalintensität jedoch keine vollständige Strukturaufklärung zu. Ein partieller Strukturvorschlag für PO336 ist in Abbildung 11 dargestellt. Da die Intensität der PO336-Peaks in allen Proben im direkten Vergleich zu Prochloraz relativ gering ausfiel (maximal circa 1% der ursprünglichen Prochloraz-Peakfläche), wurde auf weitere Versuche zur Strukturaufklärung des Abbauproduktes verzichtet.

Alle massenspektrometrischen Datensätze der wässrigen Extrakte wurden ebenfalls mithilfe des Cl₃-Isotopenfilters untersucht. Es wurden keine Hinweise auf mögliche weitere Abbauprodukte von Prochloraz gefunden.

4.1.3 Strukturaufklärung von Icpame-Oleat mittels NMR-Spektroskopie

Für das isolierte Ölsäure-Addukt wurden erfolgreich NMR-Daten zur Strukturaufklärung aufgenommen, die im Folgenden erläutert werden. Tabelle 32 zeigt die Zuordnung der Signale in den ¹H- und in den ¹³C-NMR-Spektren zu den nummerierten Positionen im Icpame-Oleat-Molekül. Diese Nummerierung ist in Abbildung 13 (siehe Seite 80) dargestellt. Zusätzlich gaben die interpretierten DEPT-Daten Auskunft über die Zahl der Wasserstoffe, die an jeden Kohlenstoff gebunden sind.

Durch Vergleich der aufgenommenen ¹H- und ¹³C-Spektren mit Datenbankspektren [158] von Prochloraz und Ölsäure wurden die chemischen Verschiebungen den Positionen des Prochloraz-Rückgrats *N*-(2-Hydroxyethyl)-*N*-propyl-1*H*-imidazol-1-carboxamid (HEPIC, C1 - C9) und der Ölsäuregruppe (C10 - C27) zugeordnet. Es wurden keine Signale aufgenommen, die auf das Vorhandensein einer freien Hydroxylgruppe der HEPIC-Einheit oder einer freien Carboxylgruppe der Ölsäure hinwiesen. Dies diente als erster Hinweis für die Esterbindung in der vorgeschlagenen Icpame-Oleat-Struktur.

Tabelle 32. Zuordnung der ^1H und ^{13}C Verschiebungen und die Interpretation der DEPT-Daten des isolierten Icpame-Oleats. Die genannten DEPT-Interpretationen wurden aus den DEPT-Signalen und den Integrationswerten interpretiert

Position ^a	^1H δ (ppm), theoretische Multiplizität ^b , Integration	^{13}C δ (ppm)	DEPT Interpretation
1	7.95, s, 1H	137.99	CH
2	7.05, d, 1H	129.68	CH
3	7.35, d, 1H	119.42	CH
4	-	152.92	-
5	3.35, t, 2H	51.31	CH ₂
6	1.75, sex, 4H	21.79	CH ₂
7	0.85, t, 6H	11.37	CH ₃
8	3.65, t, 2H	47.91	CH ₂
9	4.25, t, 2H	61.70	CH ₂
10	-	174.14	-
11	2.30, t, 2H	34.69	CH ₂
12	1.60, quin, 4H	25.64	CH ₂
13	1.25, quin, 20H	29.82-30.57	CH ₂
14	1.25, quin, 20H	29.82-30.57	CH ₂
15	1.25, quin, 20H	29.82-30.57	CH ₂
16	1.25, quin, 20H	29.82-30.57	CH ₂
17	2.00, q, 4H	27.89	CH ₂
18	5.35, q, 2H	130.81	CH
19	5.35, q, 2H	130.73	CH
20	2.00, q, 4H	27.89	CH ₂
21	1.25, quin, 20H	29.82-30.57	CH ₂
22	1.25, quin, 20H	29.82-30.57	CH ₂
23	1.25, quin, 20H	29.82-30.57	CH ₂
24	1.25, quin, 20H	29.82-30.57	CH ₂
25	1.25, quin, 20H	32.73	CH ₂
26	1.25, sex, 20H	23.48	CH ₂
27	0.85, t, 6H	14.55	CH ₃

^a Bezugnehmend auf die Nummerierung in Abbildung 13

^b s: Singulett; d: Dublett; t: Triplet; q: Quartett; quin: Quintett; sex: Sextett

Diese Esterbindung wurde durch die Daten des aufgenommenen HMBC-Spektrums bestätigt. Dieses stellt Korrelationen zwischen Wasserstoff- und Kohlenstoffkernen dar, die über zwei oder drei Bindungen getrennt voneinander vorliegen. Das aufgenommene HMBC-Spektrum des Icpame-Oleats ist in Abbildung 14 dargestellt. Es zeigte, dass das Kohlenstoffatom der Carboxylgruppe (C10, ^{13}C - δ = 174,14 ppm) nicht nur mit den Wasserstoffatomen an den Positionen C11 (^1H - δ : 2.30 ppm) und

Ergebnisse

C12 (^1H - δ : 1.60 ppm) wechselwirkt, sondern auch mit den Wasserstoffatomen in Position C9 (^1H - δ : 4.25 ppm). Letztere konnten der Ethoxygruppe des Prochloraz-Rückgrats zugeordnet werden. Die Korrelation belegt die Esterbindung zwischen dem HEPIC-Grundgerüst und der Ölsäure und somit die vorgeschlagene Icpame-Oleat-Struktur.

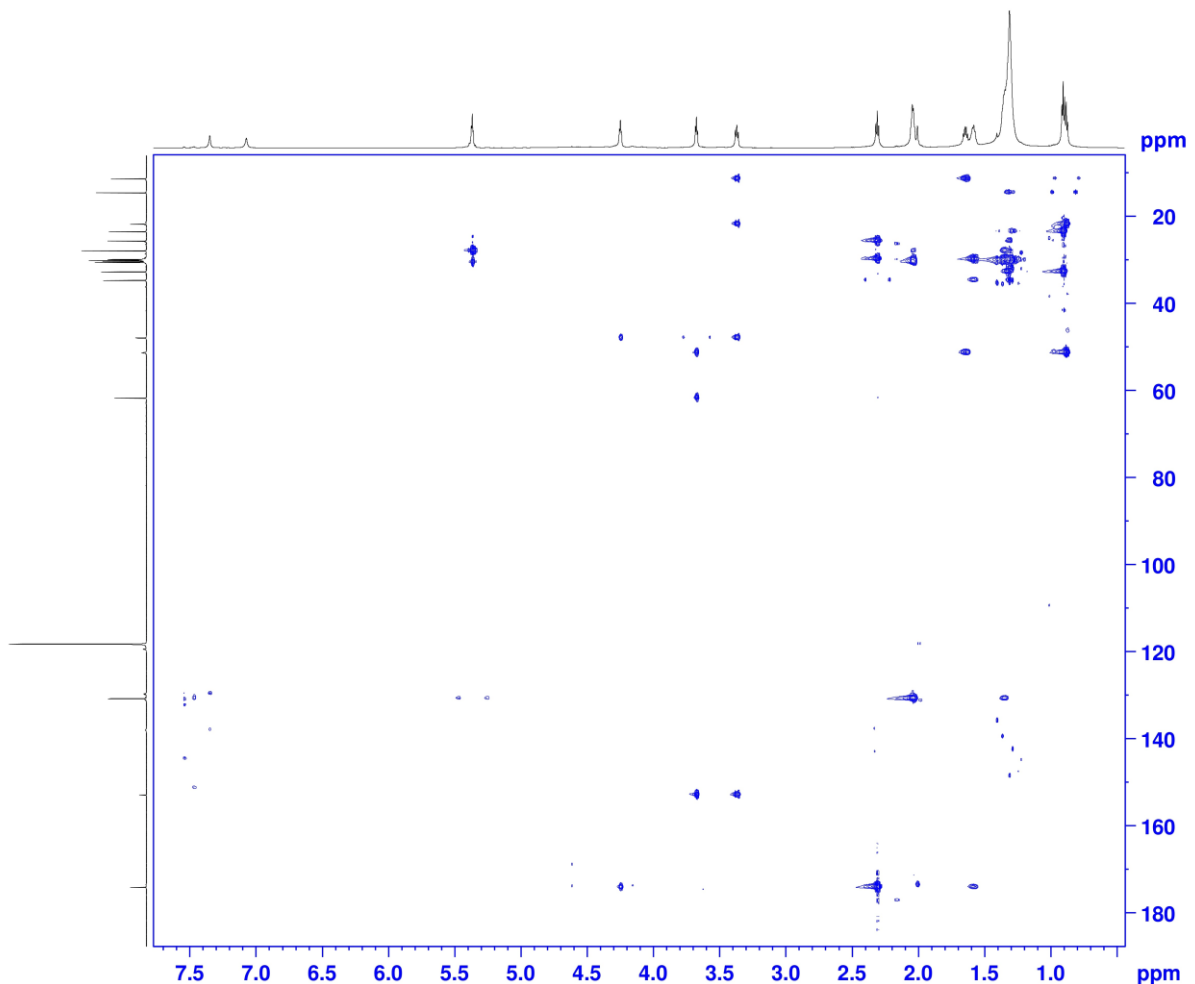


Abbildung 14. HMBC-NMR-Spektrum des isolierten Icpame-Oleats (Messparameter sind Abbildung 34 im Anhang zu entnehmen)

Die aufgenommenen ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren sowie die DEPT-, COSY-, TOCSY-, HSQC- und HMBC-Spektren mitsamt ihren Aufnahmeparametern sind im Anhang in Abbildung 28 bis Abbildung 34 dargestellt.

4.1.4 Quantifizierung

Das für die Aufnahme von NMR-Spektren isolierte Icpame-Oleat wurde im weiteren Verlauf als analytischer Standard für die Quantifizierung genutzt und stand als das am häufigsten vertretene Fettsäure-Addukt repräsentativ für diese Gruppe an Prochloraz-Abbauprodukten. Mittels einer Standard-HPLC-UV-Methode wurde für das Isolat eine Reinheit von 86,7% (relative Fläche) bestimmt. Das entsprechende HPLC-UV-Chromatogramm ist im Anhang in Abbildung 35 dargestellt.

Die Quantifizierungsmethoden für Prochloraz, Icpame-Oleat, Imidazol und 2,4,6-Trichlorphenol konnten mit einer Bestimmungsgrenze von jeweils 5 µg/kg Öl erfolgreich validiert werden. Um zum Teil erhebliche Matrixeffekte zu kompensieren, wurde für alle Substanzen auf eine Matrixkalibrierung zurückgegriffen. Abbildung 36 im Anhang zeigt die verwendeten Matrixkalibriergeraden. Die Validierungsergebnisse sind nachfolgend in Tabelle 33 dargestellt. Die mittleren Wiederfindungen lagen mit 84,7 – 89,8% innerhalb der Akzeptanzkriterien von 70% – 110%. Die relativen Standardabweichungen lagen zwischen 4,7% und 16,4% und entsprechend der SANCO/3029/99-Richtlinie [155] somit unterhalb der Grenze von maximal 20%.

Tabelle 33. Validierungsergebnisse der Quantifizierung von Prochloraz, Icpame-Oleat, Imidazol und 2,4,6-Trichlorphenol. Die mittleren Wiederfindungen und relative Standardabweichungen (RSD) wurden aus einer Fünffachbestimmung auf LOQ-Level (5 µg/kg) ermittelt

Analyt	Mittlere Wiederfindung [%]	RSD [%]
Prochloraz	89,8%	4,7%
Icpame-Oleat	85,5%	8,1%
Imidazol	84,7%	16,4%
2,4,6-Trichlorphenol	87,8%	14,6%

Repräsentative Chromatogramme der Validierungsproben auf LOQ-Level sind im Anhang in Abbildung 37 dargestellt. In den für die Validierung und für die Versuche genutzten Ölen konnten keine Gehalte der Analyten oberhalb der Bestimmungsgrenze ermittelt werden, sodass diese als frei von Prochloraz-Rückständen angesehen wurden.

Um den Einfluss von Temperatur und Erhitzungsdauer auf den Abbau von Prochloraz bzw. die Bildung von Icpame-Oleat, Trichlorphenol und Imidazol zu untersuchen, wurde natives Rapsöl auf eine Konzentration von 500 µg Prochloraz je kg Öl dotiert und unter Variation von Temperatur und Dauer erhitzt. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Abbildung 15 dargestellt. Die Quantifizierung von Prochloraz zeigte einen minimalen Abbau bereits bei den schwächsten Erhitzungsbedingungen von 180 °C für 30 min. Das Ausmaß dieses Abbaus nahm mit steigender Temperatur und steigender Erhitzungsdauer stetig zu. Nach 4 h bei 240 °C konnten keine Gehalte des Fungizids oberhalb der Bestimmungsgrenze festgestellt werden, sodass bei einer Abbaurate von über 99% ein vollständiger Abbau angenommen wurde.

Die Bildung des Fettsäure-Addukts Icpame-Oleat zeigte eine starke Abhängigkeit von beiden untersuchten Faktoren. Nach Erhitzung des Öls auf 180 °C konnten unabhängig von der Erhitzungsdauer keine quantifizierbaren Gehalte ermittelt werden. Die Erhöhung der Temperatur auf 200 °C jedoch bewirkte die Entstehung von Icpame-Oleat ab einer Erhitzungsdauer von 90 min und länger. Im untersuchten Erhitzungsdauer-Bereich bis 240 min war ein stetiger Anstieg mit steigender Dauer erkennbar. Der bei einer Temperatur von 200 °C ermittelte Maximalgehalt an Icpame-Oleat lag nach 4 h bei 23,7 µg/kg. Dies entsprach circa 4% der ursprünglich dotierten Prochloraz-Menge. Bei höheren Temperaturen von 220 °C und 240 °C war jedoch ein abweichender Trend erkennbar. Wie Abbildung 15 zeigt, wurde das Fettsäure-Addukt bei Temperaturen von 220 °C und 240 °C bereits nach 30 min Erhitzungsdauer in quantifizierbaren Mengen gebildet. Die erhitzungsdauerabhängigen Bildungskurven zeigten zunächst einen Anstieg der Icpame-Oleat-Gehalte bis zu einem Maximalwert und eine anschließende Minderung der Gehalte bei weiter ansteigender Erhitzungsdauer. Bei einer Temperatur von 220 °C wurde das Maximum von 46,0 µg/kg nach 120 min erreicht. Dies entsprach 37,6 µg/kg an Prochloraz-Äquivalenten (P.-Äq.) und somit einer Umwandlung von 7,5% der ursprünglich eingesetzten Prochloraz-Menge in Icpame-Oleat. Der in diesem gesamten Versuch höchste quantifizierte Gehalt wurde nach 60-minütiger Erhitzung bei der Maximaltemperatur von 240 °C ermittelt. Dieser Wert von 79,5 µg/kg entsprach einer Umwandlungsrate von 13% des ursprünglich dotierten Prochloraz. Mit zunehmender Erhitzungsdauer sank der Gehalt an Icpame-Oleat stetig ab und erreichte nach 240 min bei 240 °C einen Gehalt, der bei weniger als der

Hälfte des ursprünglichen Maximums lag. Ähnliche Effekte wurden bei den Erhitzungsversuchen bei 220 °C beobachtet.

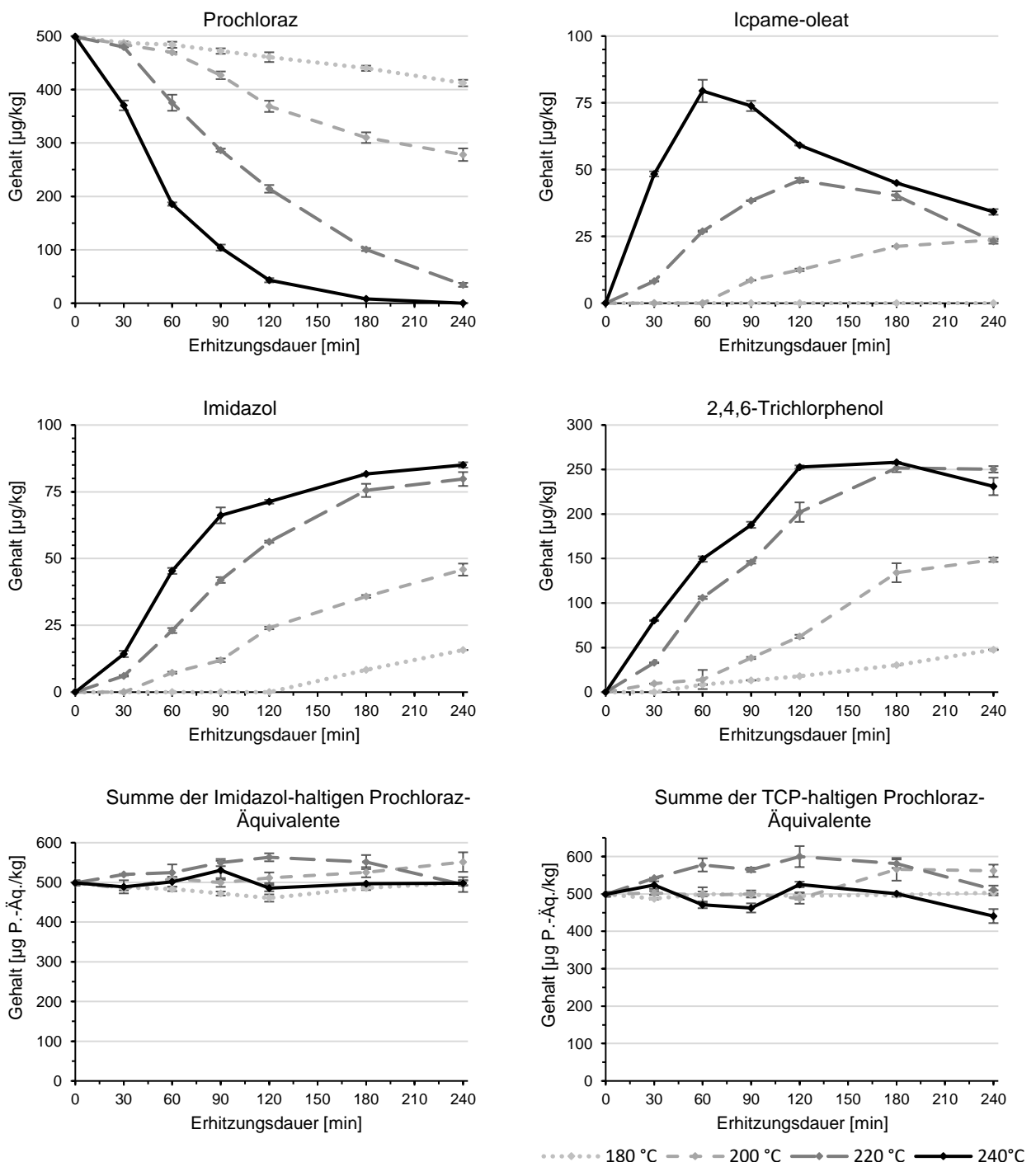


Abbildung 15. Ergebnisse der Quantifizierung von Prochloraz-dotiertem Öl nach Erhitzung unter Variation von Temperatur und Erhitzungsdauer. Ergebnisse für Prochloraz, Icpame-Oleat, Imidazol und 2,4,6-Trichlorphenol (TCP) sowie die Summen aller Imidazol-haltigen Prochloraz-Äquivalente (P.-Äq., Prochloraz, Icpame-Oleat und Imidazol) und die Summen aller TCP-haltigen Prochloraz-Äquivalente (Prochloraz und Trichlorphenol). Alle gezeigten Werte stellen Mittelwerte einer Doppelbestimmung mit Standardabweichungen als Fehler dar. Ergebnisse unter der Bestimmungsgrenze wurden als Null berücksichtigt

Im Falle von Imidazol und Trichlorphenol konnten ebenfalls starke Temperatur- und Erhitzungsdauer-Abhängigkeiten beobachtet werden. Abbildung 15 zeigt, dass die Bildung beider Abbauprodukte sowohl mit steigender Temperatur als auch mit steigender Erhitzungsdauer zunahm. Bei den beiden niedrigsten untersuchten Temperaturen von 180 °C und 200 °C wurden Imidazol und Trichlorphenol erst zeitverzögert nach einer Initialphase gebildet. Die Bildung von Imidazol lief mit dem Anstieg von Erhitzungstemperatur und -dauer augenscheinlich auf ein Plateau von etwa 85 – 90 µg/kg hinaus. Der höchste gemessene Imidazol-Gehalt von 85,0 µg/kg wurde nach den extremsten Erhitzungsbedingungen (240 °C, 240 min) ermittelt und entsprach 470,5 µg/kg ausgedrückt als Prochloraz-Äquivalente. Bei einer ursprünglich dotierten Menge an Prochloraz von 500 µg/kg war nach Erhitzung des Öls auf 240 °C für 240 min folglich ein fast vollständiger Abbau von Prochloraz zu Imidazol anzunehmen.

Für Trichlorphenol zeigte der Graph ähnliche Trends mit Gehalten, die auf ein Plateau von etwa 260 µg/kg hinausliefen. Dies entsprach etwa 500 µg/kg an Prochloraz-Äquivalenten. Bei der maximalen Erhitzungstemperatur von 240 °C zeigte der Graph jedoch einen Abfall von circa 10% der Trichlorphenol-Gehalte zwischen dem nach 180 min quantifizierten Maximalwert (258,1 µg/kg) und dem Gehalt nach 240 min (231,0 µg/kg).

Die Betrachtung sämtlicher quantifizierter Prochloraz-Rückstände erfolgte auf Basis zweier Summenmethoden und diente der Bewertung, wie repräsentativ die Quantifizierung von Prochloraz, Icpame-Oleat, Imidazol und Trichlorphenol für die Gesamtmenge an Prochloraz-Rückständen in Rapsöl war. Dazu wurde einerseits die Summe der quantifizierten Abbauprodukte, die die Imidazol-Gruppe enthielten, berechnet und andererseits die Summe aller Abbauprodukte gebildet, die die 2,4,6-Trichlorphenol-Einheit trugen. Die Summierung erfolgte jeweils auf Basis der ermittelten, als Prochloraz-Äquivalente ausgedrückten Gehalte. Bei beiden Ansätzen streuten die Summen der Prochloraz-Äquivalente jeweils um die ursprünglich eingesetzte Prochloraz-Menge (500 µg/kg), wie die Graphen in Abbildung 15 zeigen. Die Summe aller Imidazol-haltigen Prochloraz-Äquivalente lag gemittelt über alle Proben bei $506,1 \pm 24,7$ µg/kg. Dies entsprach etwa $101\% \pm 5\%$ der dotierten Ausgangsmenge. Die mittlere absolute Wiederfindung aller Trichlorphenol-haltigen

Abbauprodukte lag bei $513,9 \pm 37,2 \mu\text{g/kg}$ und entsprach etwa $103 \pm 7\%$ relativer Wiederfindung. Auf Basis dieser Wiederfindungen war davon auszugehen, dass die entwickelte Quantifizierungsmethode die Gesamtrückstandsmengen von Prochloraz in erhitztem Rapsöl ausreichend und repräsentativ widerspiegelte.

Abbildung 16 zeigt die Quantifizierungsergebnisse nach Erhitzung verschiedener Ölsorten für 90 min bei $220 \text{ }^\circ\text{C}$ und zeigte deutliche Unterschiede hinsichtlich des Prochloraz-Abbaus. Die gemessenen Prochloraz-Gehalte im erhitzten nativen Rapsöl fielen um den Faktor 2,4 bis 3,3 höher aus als im raffinierten Rapsöl, im Sonnenblumenöl und im nativen Olivenöl.

Die Quantifizierung des Fettsäure-Addukts Icpame-Oleat wies ebenfalls Unterschiede zwischen den einzelnen Ölen auf. Während die Erhitzung von Prochloraz in nativem Rapsöl zu Icpame-Gehalten von $38,4 \mu\text{g/kg}$ führte, lagen die Bildungsraten des Fettsäure-Addukts im raffinierten Rapsöl ($57,7 \mu\text{g/kg}$) und im Sonnenblumenöl ($56,8 \mu\text{g/kg}$) deutlich höher. Im nativen Olivenöl hingegen wurde nach der Erhitzung der niedrigste Gehalt von $21,8 \mu\text{g/kg}$ bestimmt.

Die Gehalte an Imidazol lagen im raffinierten Rapsöl und im Sonnenblumenöl etwa 15% beziehungsweise 42% niedriger als im nativen Rapsöl ($42,0 \mu\text{g/kg}$). Im Falle des erhitzten Olivenöls konnten keine Gehalte von Imidazol oberhalb der Bestimmungsgrenze von $5 \mu\text{g/kg}$ bestimmt werden. Die ermittelten Trichlorphenol-Gehalte lagen in beiden Rapsölsorten und im nativen Olivenöl in einer vergleichbaren Größenordnung von $129,9$ bis $172,9 \mu\text{g/kg}$. Im Sonnenblumenöl wurden mit $58,2 \mu\text{g/kg}$ wesentlich niedrigere Gehalte an Trichlorphenol bestimmt.

Ergebnisse

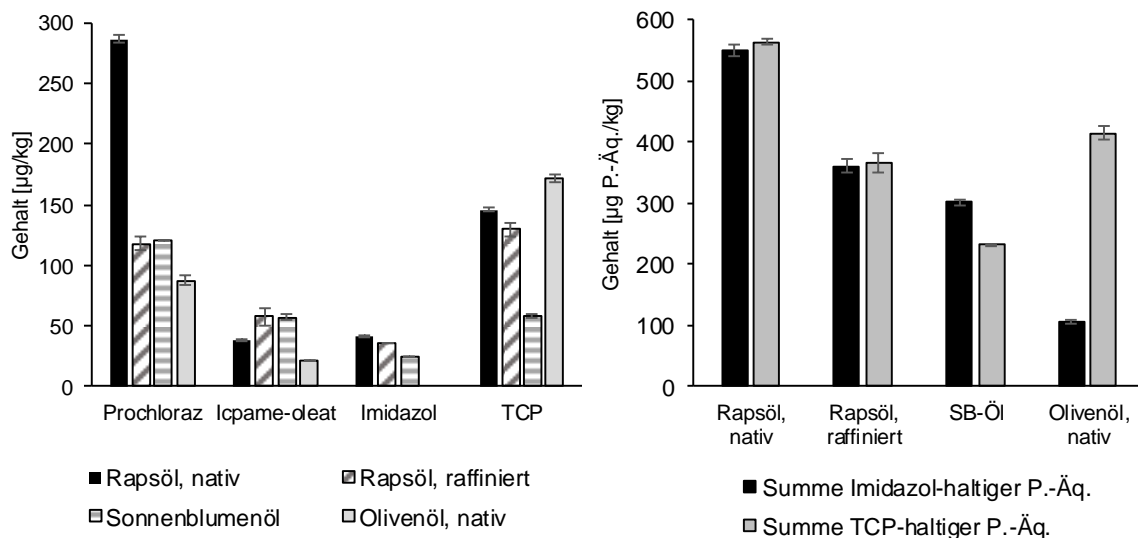


Abbildung 16. Ergebnisse der Quantifizierung der Prochloraz-Abbauprodukte in unterschiedlichen Ölen nach Erhitzung für 90 min bei 220 °C. Alle Werte stellen Mittelwerte einer Doppelbestimmung mit der Standardabweichung als Fehler dar (P.-Äq.: Prochloraz-Äquivalente, SB-Öl: Sonnenblumenöl)

Die Unterschiede zwischen den einzelnen Ölen zeigten sich auch bei der Bilanzierung der Prochloraz-Äquivalente. Wie Abbildung 16 zeigt, lieferten beide Bilanzierungsmethoden für die Prochloraz-Abbauprodukte (d.h. Summe aller Imidazole- beziehungsweise aller Trichlorphenol-haltigen Abbauprodukte ausgedrückt als Prochloraz-Äquivalente) im Falle des nativen Rapsöls Bilanzierungswerte im Bereich von circa 111%. In den übrigen Ölen wurden deutlich niedrigere Wiederfindungen bestimmt. Im raffinierten Rapsöl lagen beide Summen der Prochloraz-Äquivalente in einer vergleichbaren Größenordnung, aber deutlich unterhalb des Erwartungswerts von 500 µg/kg. Im Sonnenblumenöl lagen diese Summen ebenfalls deutlich unterhalb des Erwartungswertes. Die Summe der Trichlorphenol-haltigen Prochloraz-Äquivalente lag etwa 24% niedriger als die Summe der Imidazole-haltigen Abbauprodukte. Im Olivenöl wurde zwischen den beiden Summenparametern eine höhere Differenz beobachtet. Während die Summe der Trichlorphenol-haltigen Prochloraz-Äquivalente einen Wert von 83% des Erwartungswertes aufzeigte, lag die Summe der Imidazole-haltigen Analyten bei etwa 21% des Erwartungswertes von 500 µg/kg. Es ist folglich davon auszugehen, dass die Rückstände der Imidazolegruppe im Olivenöl in Form weiterer unbekannter Abbauprodukte vorlagen. Eine detaillierte Auflistung aller Quantifizierungsergebnisse ist Tabelle 37 und Tabelle 38 im Anhang zu entnehmen.

4.2 Deltamethrin in Tomatenprodukten

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Verbleib des Insektizids Deltamethrin während der Verarbeitung von Tomatenprodukten untersucht. Dazu wurde auf Basis der Trockenmassegehalte beziehungsweise auf Basis des Verhältnisses von Ein- und Auswaagen für jedes Produkt die theoretische Gesamtaktivität pro Kilogramm ermittelt. Der Vergleich mit den tatsächlich bestimmten und den extrahierbaren Gehalten an Aktivität gab Aufschluss über Verflüchtigung von Deltamethrin-Rückständen und die Bildung von nicht-extrahierbaren Rückständen. Die Aufnahme von radio-UPLC[®]-HRMS-Daten erlaubte Rückschlüsse auf die potentielle Bildung von Abbauprodukten während der Verarbeitungsprozesse.

4.2.1 Verbleib der Aktivität nach Verarbeitung

Für das als Basis für weitere Produkte genutzte Tomatenpüree wurde ein Trockenmassegehalt von $6,95 \pm 0,08\%$ ermittelt. Der Trockenmassegehalt des daraus hergestellten Tomatenmarks lag bei $25,50 \pm 0,10\%$. Aus dem daraus gefolgerten Ankonzentrierungsfaktor von circa 3,7 und der ursprünglichen eingesetzten Aktivität von 2,5 MBq/kg ergab sich somit eine theoretische Gesamtaktivität von 9,2 MBq/kg im Tomatenmark. Mittels eines alkalischen Aufschlusses sowie einer Teilentfärbung mittels Wasserstoffperoxid und anschließender LSC-Messung wurde für das Mark ein tatsächlicher Wert von $9,24 \pm 0,05$ MBq/kg bestimmt. Dies entsprach einer Wiederfindung der Gesamtaktivität von circa 101% und belegte, dass während des Erhitzungsprozesses keine bis vernachlässigbar geringe Verluste durch Verflüchtigung des ¹⁴C-Deltamethrins oder potentieller Abbauprodukte auftraten. Neben der theoretischen (aus der Trockenmasse errechneten) und der tatsächlich bestimmten Aktivität ist in Abbildung 17 zusätzlich die mittels der QuEChERS-Methode extrahierbare Aktivität je Kilogramm Tomatenmark graphisch dargestellt.

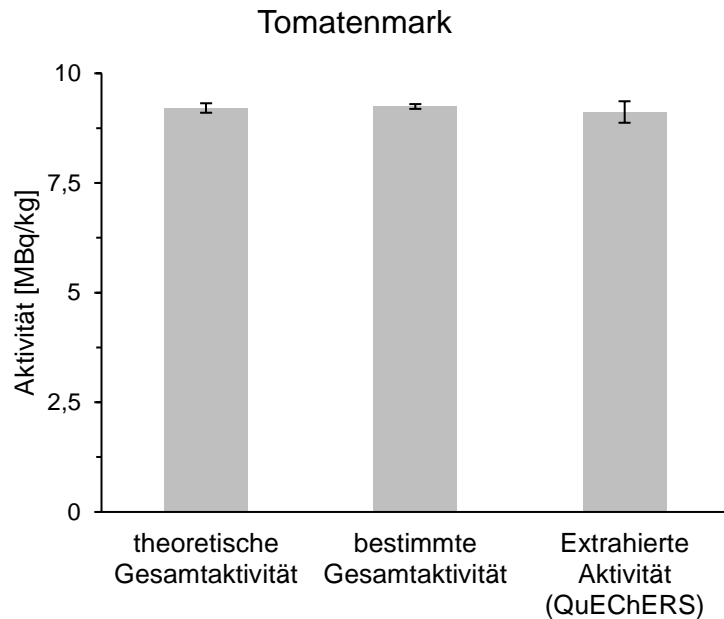


Abbildung 17: Verbleib der Aktivität nach Herstellung des Tomatenmarks. Dargestellt sind die aus der Änderung der Trockenmasse abgeleitete theoretische Gesamtaktivität, die mittels Aufschluss-LSC ermittelte, tatsächliche Gesamtaktivität und die mittels der QuEChERS-Methode extrahierbare Aktivität je Kilogramm Tomatenmark

Der Vergleich zeigt, dass etwa 99% der Gesamtaktivität je Gramm mittels der Extraktion zugänglich waren. Demnach ist davon auszugehen, dass der Anteil von nicht-extrahierbaren Analyten vernachlässigbar gering ausfiel.

Bei der Herstellung des gebackenen Tomatenmarks wurde die theoretische Gesamtaktivität je Kilogramm über das Verhältnis zwischen Einwaage an Tomatenmark (3,22 g bzw. 3,26 g) und Auswaage an Endprodukt (1,21 g bzw. 1,35 g) berechnet. Folglich ergab sich ein theoretischer Durchschnittswert von 23,5 MBq/kg im gebackenen Produkt. Aufgrund der ungleichmäßigen Hitzeeinwirkung an den äußeren und inneren Teilen des Produkts (siehe Foto in Abbildung 38 im Anhang) wurde auf eine Bestimmung der tatsächlichen Aktivität mittels Aufschlussverfahren verzichtet. Die gesamten Proben wurden entsprechend der Versuchsbeschreibung in Absatz 3.1.1.2 extrahiert. Die Summe der in den einzelnen Extrakten enthaltenen Aktivitäten betrug $21,4 \pm 0,3$ kBq/g und entsprach circa 91% der theoretischen Gesamtaktivität. Eine entsprechende graphische

Gegenüberstellung von theoretischer und extrahierbarer Aktivität ist in Abbildung 18 dargestellt.

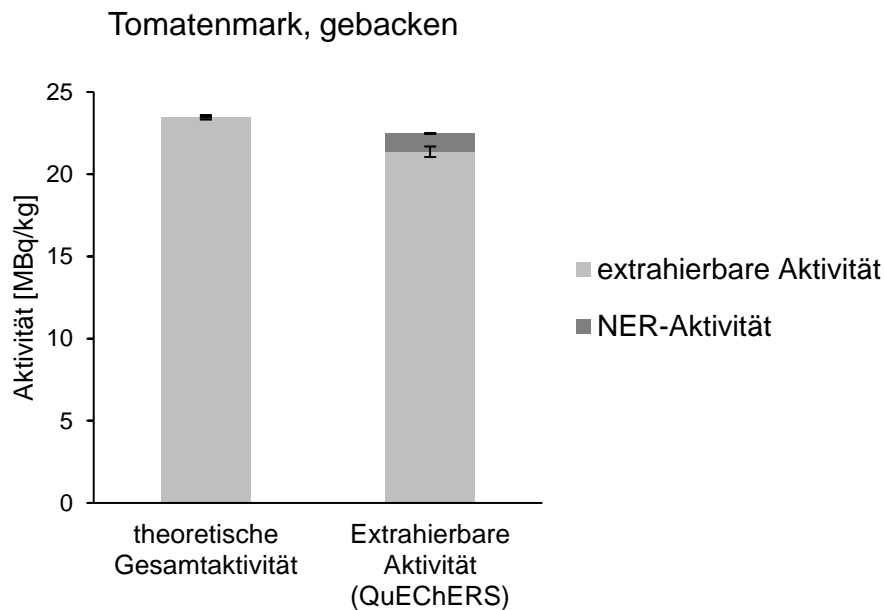


Abbildung 18. Verbleib der Aktivität nach dem Backprozess des ^{14}C -Deltamethrin-haltigen Tomatenmarks. Dargestellt ist die aus dem Verhältnis aus Ein- und Auswaagen bestimmte theoretische Gesamtaktivität sowie die mittels der QuEChERS-Extraktion zugängliche Aktivität und die nicht-extrahierbare Aktivität

Des Weiteren wurde die verbleibende Aktivität in den Extraktionsrückständen mittels des beschriebenen Aufschluss-Verfahrens (siehe Absatz 3.2.3.1) bestimmt, um Aussagen über mögliche nicht-extrahierbare Rückstände zu erhalten. Für diesen NER-Anteil wurde ein Wert von $1,11 \pm 0,02$ MBq/kg im gebackenen Tomatenmark ermittelt. Bezugnehmend auf die theoretische Gesamtaktivität entsprach dieser Wert etwa 5% der eingesetzten Aktivität, sodass in Summe etwa 96% bilanziert werden konnten.

Im Falle des dritten Verarbeitungsprozesses, der Herstellung eines Tomatenfonds, wurde die absolute Gesamtaktivität des eingesetzten Tomatenmarks von insgesamt 110,0 kBq als 100%-Wert festgelegt. Für die Aktivität im abgenommenen Öl wurde mittels direkter LSC-Messung ein Wert von insgesamt 50% ($54,6 \pm 0,4$ kBq) der ursprünglich eingesetzten Gesamtaktivität ermittelt. Die LSC-Messung nach Aufschluss des Feststoffanteils im Fond ergab einen Wert von $56,9 \pm 0,8$ kBq. Dies entsprach wiederum circa 52% der ursprünglichen Gesamtaktivität, sodass in Summe

circa 101% der eingesetzten Aktivität in den beiden Phasen bilanziert werden konnten. Demnach wurde ein Verlust an Deltamethrin bzw. dessen potentiellen Abbauprodukten durch Verflüchtigung als vernachlässigbar bzw. nicht existent eingestuft. Zusätzlich zu diesen Werten ist in Abbildung 19 die Verteilung der Aktivität auf extrahierbare sowie nicht-extrahierbare Bestandteile im Feststoff sowie im Öl des Tomatenfonds dargestellt.

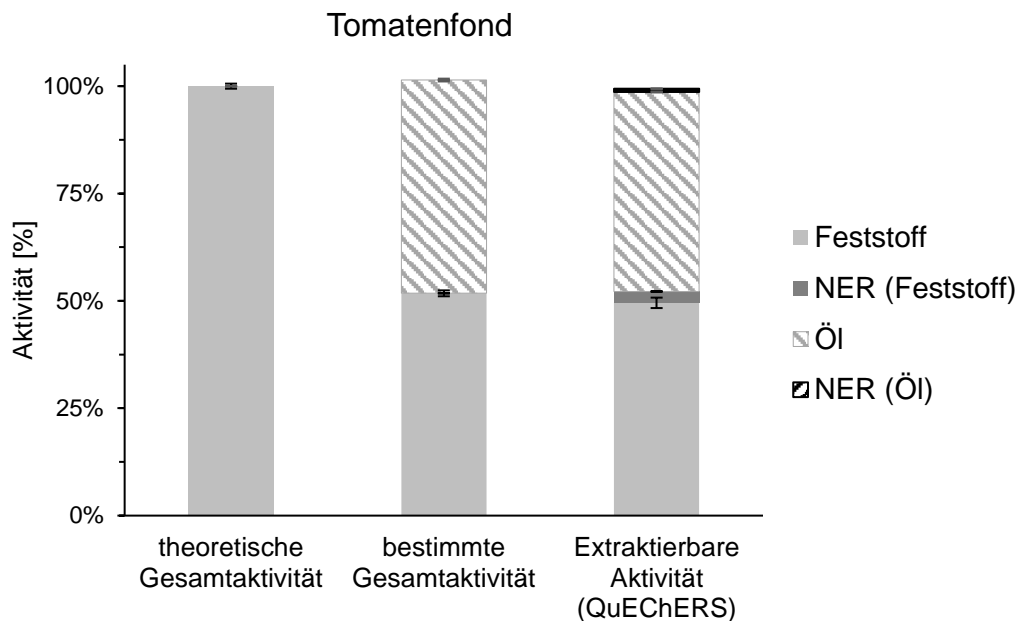


Abbildung 19. Verbleib der eingesetzten, theoretischen Gesamtaktivität nach der Tomatenfond-Herstellung durch Anbraten von mit ^{14}C -Deltamethrin-dotiertem Tomatenmark in Speiseöl. Darstellung zeigt neben der theoretischen Gesamtaktivität die Verteilung der gemessenen Aktivität in Feststoff und Ölphase sowie die Extrahierbarkeit der Aktivität in beiden Phasen

Die vergleichende Darstellung zeigt, dass im Falle der Feststoffphase circa 95% der Aktivität mittels der QuEChERS-Methode extrahierbar waren während etwa 5% dem NER-Anteil im Feststoff zuzuordnen waren. Im Öl hingegen fiel der Anteil an nicht-extrahierbaren Rückständen mit etwa 2% der im Öl vorhandenen Aktivität geringer aus. Etwa 94% der im Öl vorhandenen Aktivität waren mittels der Extraktionsmethode extrahierbar. In beiden Fällen wurde der Gesamtanteil an nicht-extrahierbaren Analyten jedoch als gering angesehen, sodass keine weiteren Untersuchungen zu Charakterisierung bzw. Identifizierung der NER durchgeführt wurden. Eine detaillierte Zusammenstellung der einzelnen Ergebnisse in Zahlenform ist Tabelle 40 im Anhang zu entnehmen.

4.2.2 Radio-UPLC®-HRMS-Messungen

Alle Probenextrakte wurden mittels einer flüssigchromatographischen Methode in Kopplung mit einem Durchflusszellen-Radiodetektor und einem hochauflösenden Massenspektrometer analysiert. Dabei wurden die HRMS-Daten sowohl im ESI-positiv- als auch im ESI-negativ-Modus aufgenommen, um potentielle Abbauprodukte mit möglicherweise anderen Ionisationseigenschaften als Deltamethrin detektieren zu können. Abbildung 20 zeigt zur Zuordnung der Retentionszeit die Massenspur des $[M+H]^+$ -Ions des ^{14}C - $^{79}\text{Br}^{81}\text{Br}$ -Deltamethrins als häufigstes Isotop mit einem deutlichen Peak bei 10,1 min (1a). Im Falle des Tomatenpürees (1b) und des Marks (2) sind die Signalspuren des Radiodetektors in den Chromatogrammen der ankonzentrierten Extrakte dargestellt. In beiden radio-UPLC®-Chromatogrammen trat dominant ein übersättigter Peak bei etwa 10,1 min auf, der entsprechend der Retentionszeit jeweils durch ^{14}C -Deltamethrin zu erklären war. Zusätzlich war in beiden Chromatogrammen ein jeweils sehr schwacher Peak bei circa 6,4 min zu erkennen. Da dieser Peak auch im unbehandelten Tomatenpüree zu erkennen war, war davon auszugehen, dass es sich hierbei um eine (Synthese-) Verunreinigung des ^{14}C -Deltamethrins handelte, die erst durch die starke Ankonzentrierung detektiert werden konnte. Die höhere Peakfläche im Chromatogramm des Tomatenmark-Extraktes im Vergleich zum Tomatenpüree konnte durch den Ankonzentrierungsschritt bei der Herstellung des Marks erklärt werden.

Des Weiteren zeigt Abbildung 20 die radio-Chromatogramme der nicht-ankonzentrierten Extrakte des gebackenen Tomatenmarks (3) sowie des Feststoffs (4a)) und der Ölphase (4b) des Tomatenfonds. In allen drei Chromatogrammen trat lediglich der Peak des ^{14}C -Deltamethrins bei einer Retentionszeit von ungefähr 10,1 min auf. Obwohl von diesen Proben aufgrund z.T. geringer Probenmengen und starker Matrixbelastungen beim Einengen keine stark konzentrierten Extrakte erhalten werden konnten, zeigten die nicht-ankonzentrierten Extrakte jedoch keinerlei Anzeichen für weitere ^{14}C -markierte Abbauprodukte des Deltamethrins.

Ergebnisse

RT: 0.00 - 15.01 SM: 7B

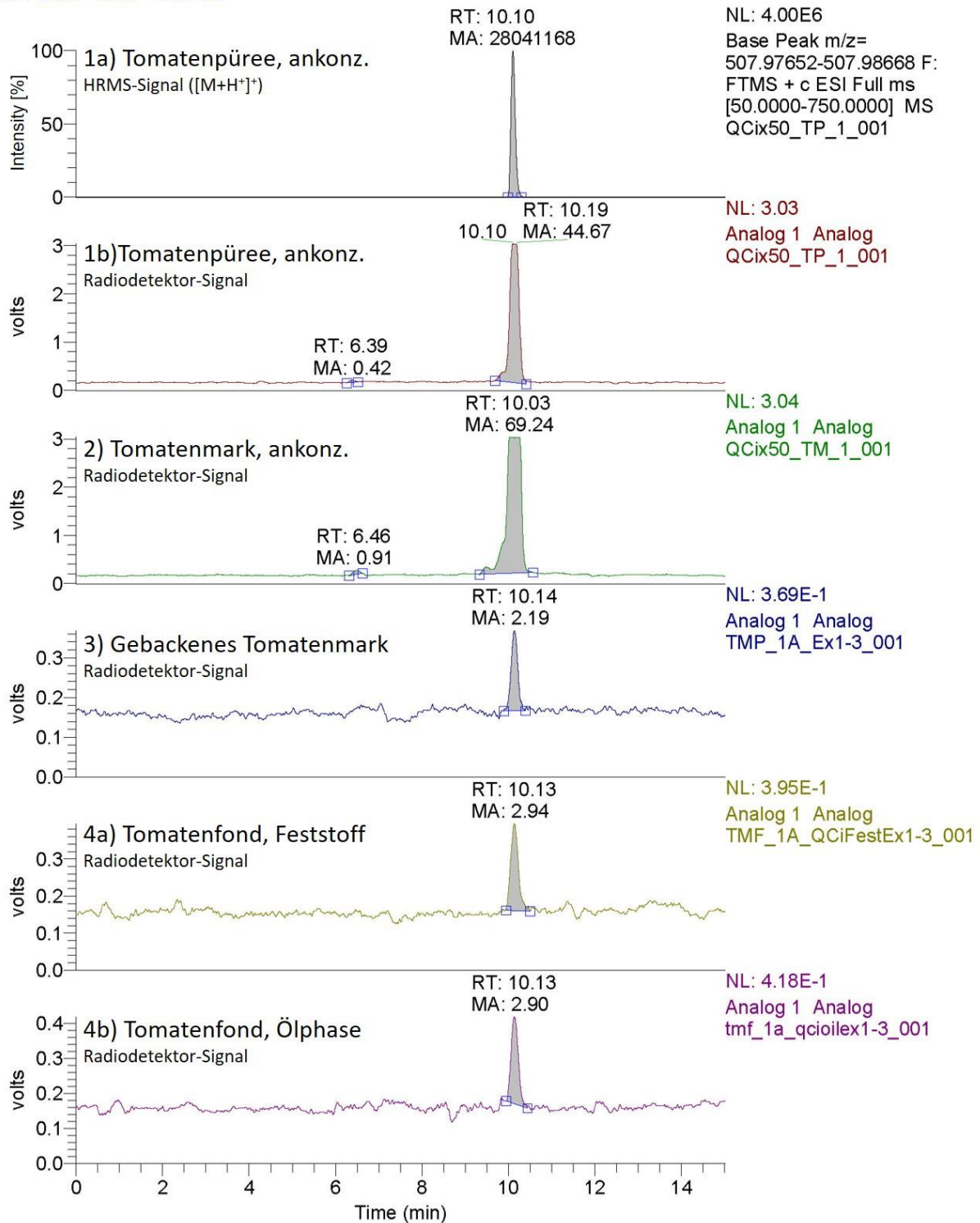


Abbildung 20. Massenspur des ^{14}C -Deltamethrins ($[M+H]^+$)= m/z 507,9816, 1a) im ankonzentrierten Extrakt des Tomatenpürees sowie radio-Chromatogramme der Extrakte aller verarbeiteten Tomatenprodukte (1b – 4b) nach chromatographischer Trennung entsprechend der ESI-positiv-Methode (siehe Absatz 3.2.3.4)

Um diese These zu bestätigen, wurden die hochaufgelösten MS-Daten sowohl im ESI-positiv- als auch im ESI-negativ-Modus zunächst per Suspect-Screening auf aus der Literatur bekannte Abbauprodukte und Metaboliten kontrolliert. Keines der in Tabelle 39 im Anhang aufgelisteten 13 Suspect-Produkte konnte als entsprechendes $[M+H]^+$ -, $[M+NH_4]^+$ - oder als $[M-H]^-$ -Ion detektiert werden.

Des Weiteren wurden die hochaufgelösten MS-Spektren mittels eines Br_2 -Isotopenfilters auf mögliche dibromierte Abbauprodukte gescannt. Alle von dem Programm Networks vorgeschlagenen m/z-Verhältnisse wurden auf Plausibilität geprüft. Durch Kontrolle der Massenspuren in den entsprechenden Leerwert-Extrakten, des Auftretens des korrekten Isotopenmusters sowie der klaren Absetzung der Signale vom Rauschen konnten alle vorgeschlagenen m/z-Verhältnisse als mögliche Abbauprodukte des Deltamethrins widerlegt werden.

Diese Beobachtungen stützten die Aussage der radio-Chromatogramme, dass in keinem der Hochtemperatur-Verarbeitungsprozesse signifikante Mengen an Abbauprodukten des eingesetzten Wirkstoffes Deltamethrin entstanden sind.

4.3 Chlorpropham in Kartoffeln

Insgesamt 16 Kartoffeln wurden mit einer Lösung aus ^{14}C -markiertem und nicht markiertem Chlorpropham appliziert und für insgesamt sechs Monate gelagert. Zu fünf Zeitpunkten wurden je drei Kartoffeln entnommen und verarbeitet. Die folgenden Kapitel umfassen die Ergebnisse zu den Verbleibsuntersuchungen von Chlorpropham während der Lagerung und während verschiedener Verarbeitungsprozesse von Kartoffeln.

4.3.1 Beobachtungen während der Lagerung

Die Lagerung der behandelten Kartoffeln erfolgte bei Raumtemperatur in einem belüfteten Eimer. Nach einer Lagerungszeit von vier Monaten wiesen einzelne Kartoffeln einen augenscheinlichen Gewichtsverlust durch Wasserverlust auf. Dieser zeigte sich durch die verringerte Größe sowie durch das faltige Erscheinungsbild der vereinzelt Knollen. Da bei den Frittier- und Backversuchen ein erwartungsgemäß hoher Massenverlust (circa 45%) während der Verarbeitung beobachtet wurde, wurden die Kartoffeln mit hohem Wasserverlust primär für die Kochversuche genutzt, da durch das Kochen geringe bis keine Massenverluste auftraten. So konnten ausreichende Probenmengen der frittierten und gebackenen Kartoffeln auch nach vier und sechs Monaten Lagerungszeit gewährleistet werden.

4.3.2 Verteilung der Rückstände während der Lagerung

Die verbleibende Aktivität wurde in allen rohen Kartoffeln bestimmt, um Rückschlüsse auf die gesamten Chlorpropham-Rückstände zu ziehen. Abbildung 21 zeigt den Verlauf der Aktivität in allen Rohkartoffeln direkt nach der Applikation sowie zu den verschiedenen Probenahmezeitpunkten. Für die Aktivität in der t_0 -Probe wurde ein Wert von $3,78 \pm 0,18 \text{ MBq/kg}$ ermittelt. Bei einer Zielmenge von $4,67 \text{ MBq/kg}$ entspricht dieser Messwert einem Aktivitätsverlust von etwa 19% während der 90-minütigen Wartezeit zwischen Applikation und Einfrieren der t_0 -Probe. Dieses

Ergebnis unterliegt der Annahme, dass während der Probenlagerung in der Tiefkühltruhe und während der Homogenisierung kein Verlust auftrat.

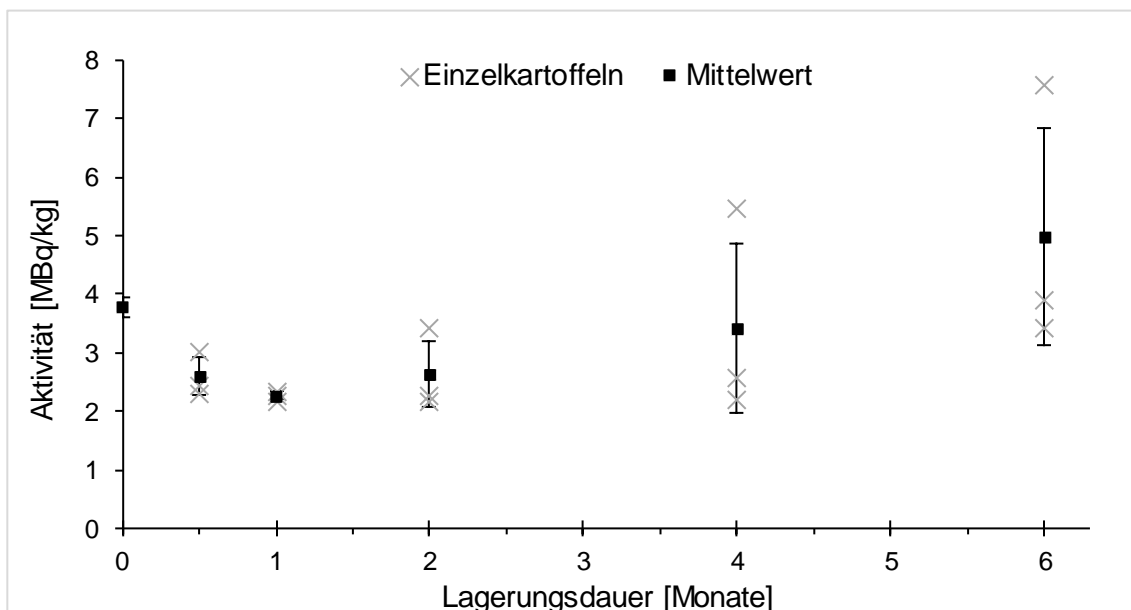


Abbildung 21. Gehalte an Aktivität in den entnommenen Einzelkartoffeln (eine Knolle nach 0 Tagen, je drei für die übrigen Probenahmezeitpunkte) in Abhängigkeit von der Lagerungszeit sowie deren Mittelwert inklusive Standardabweichung als Fehler

Zwischen der t₀-Probe und der Probe nach einmonatiger Lagerung sank die mittlere Aktivität der drei Kartoffeln auf ein Minimum von $1,75 \pm 0,44$ MBq/kg. Dies entsprach 37% der ursprünglich applizierten Gesamtaktivität. Auf die Minderung der Gehalte im ersten Monat folgte ein stetiger Anstieg der gemittelten Gehalte an Aktivität bis zum Ende des Lagerungsversuchs. Nach sechsmonatiger Lagerung wiesen die rohen Kartoffeln einen Mittelwert von $4,98 \pm 1,86$ MBq/kg auf. Dies entsprach 107% des ursprünglichen Zielgehaltes an Aktivität. Bei jedem der letzten drei Probenahmezeitpunkte (d.h. 2, 4 und 6 Monate) wies jeweils eine einzelne Kartoffel einen deutlich höheren Gehalt als die anderen beiden auf. Diese auffällig hohen Werte wurden in den Knollen gemessen, die einen starken Wasserverlust aufwiesen und deshalb für die Kochversuche genutzt wurden.

4.3.3 Identifizierung von Abbauprodukten

Die stark ankonzentrierten Extrakte aus den initialen Vorversuchen wurden mittels UPLC® in Kopplung mit einem Radiodetektor und einem hochauflösenden Massenspektrometer analysiert. Zusätzlich wurde mit dieser Methode ein Aliquot der Applikationslösung untersucht.

Die aufgenommenen Chromatogramme des Radiodetektors wiesen dabei keine Hinweise auf nachweisbare Mengen an Abbauprodukten auf. Neben einem Hauptpeak, der aufgrund der Retentionszeit von 7,81 min dem Analyten ¹⁴C-Chlorpropham zuzuordnen war, konnte ein weiterer Peak im Radiochromatogramm beobachtet werden (Retentionszeit 9,13 min). Dieser trat jedoch auch in den analogen Messdaten der Applikationslösung auf, sodass dieser Peak als Syntheseverunreinigung identifiziert wurde. Abbildung 39 (A) im Anhang zeigt das Chromatogramm, das vom Radioaktiv-Detektor bei der Messung der Applikationslösung aufgenommen wurde. Die Abbildung zeigt ergänzend die Zuordnung des Chlorpropham-Peaks ($t_r = 7,92$ min) anhand der massenspektrometrischen Daten im ESI-positiv-Modus. Ausgehend vom Flächenverhältnis der Peaks stellt die Verunreinigung etwa 4% der applizierten Aktivität dar. Der Verunreinigungspeak konnte neben der Applikationslösung in allen rohen Kartoffeln sowie in einigen hochkonzentrierten verarbeiteten Proben nachgewiesen werden.

Die Analyse der hochaufgelösten MS-Daten mittels eines Suspect Screenings auf aus der Literatur bekannte Metaboliten und Abbauprodukte [53, 54] lieferte erste Hinweise auf die Präsenz von 3-Chloranilin. In den initialen Extrakten der verarbeiteten Kartoffelprodukte mit einer Lagerungszeit von mindestens zwei Monaten konnte dabei 3-Chloranilin nachgewiesen werden, indem die Retentionszeit mit der eines analytischen Standards verglichen wurde. In den initialen Extrakten der entsprechenden Rohkartoffeln hingegen konnte 3-Chloranilin nicht detektiert werden.

Die Anwendung eines Chlor-spezifischen Isotopenmusterfilters lieferte keine Hinweise auf das Vorliegen weiterer Abbauprodukte neben den beschriebenen 3-Chloranilin-Nachweisen. Alle von der Software Metworks als relevant eingestuftes m/z-Verhältnisse konnten im Vergleich mit den Daten einer Lösemittel-Injektion und

einer analogen Leerwert-Messung (d.h. rohe bzw. verarbeitete Biokartoffel ohne Chlorpropham-Rückstände) als Fehlidentifikationen des Programms belegt werden.

Auf Basis dieser Ergebnisse wurde eine abgewandelte Extraktionsmethode entwickelt, die Chlorpropham und 3-Chloranilin jeweils sowohl im freien als auch im gebundenen Zustand erfasste. Ziel dieser Methode war es, zu prüfen, ob die 3-Chloranilin-Funde durch eine Freisetzung von bereits vorhandenem, aber gebundenem 3-Chloranilin oder durch tatsächlichen Abbau von Chlorpropham während der Verarbeitung erklärt werden können.

4.3.4 Quantifizierung und Methodenvergleich

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Quantifizierung mittels der entwickelten Extraktions- und LC-MS-Methode beschrieben. Dabei werden zunächst die Ergebnisse der Methodvalidierung und die der Quantifizierung der Analyten in den rohen und verarbeiteten Kartoffeln präsentiert. Aufgrund der gesonderten Rolle des 3-Chloranilins wird eine Bilanzierung der Gehalte vor und nach der Verarbeitung in einem separaten Abschnitt aufgestellt. Es folgt der Vergleich der drei Methoden, die zur Quantifizierung der Chlorpropham-Rückstände genutzt wurden, sodass Rückschlüsse über die Eignung der entwickelten LC-MS-Methode gezogen werden können.

4.3.4.1 Validierung der Quantifizierungsmethode

Die entwickelte Extraktions- und LC-MS-Methode für die Bestimmung von freiem und gebundenem Chlorpropham sowie freiem und gebundenem 3-Chloranilin konnte erfolgreich nach den Kriterien der SANCO/3029/99-Richtlinie [155] validiert werden. Die Bestimmungsgrenzen lagen bei 10 µg/kg für Chlorpropham und 5 µg/kg für 3-Chloranilin. Tabelle 34 zeigt die Übersicht der Validierungsergebnisse der einzelnen Analyten in den verschiedenen Matrices. Alle ermittelten Wiederfindungen lagen im Bereich von 90% bis 109% und somit innerhalb der Akzeptanzkriterien (70% bis 110%). Gleiches galt für die relativen Standardabweichungen (RSD), die mit 2% bis 11% unterhalb der Akzeptanzgrenze von 20% lagen [155].

Tabelle 34. Validierungsergebnisse der Quantifizierungsmethode für Chlorpropham und 3-Chloranilin (je als freie und gebundene Analyten). Die prozentuale Wiederfindung (WDF) und die relative Standardabweichung (RSD) wurden gemäß SANCO/3029/99-Richtlinie [155] aus einer Fünffachbestimmung auf LOQ- und zehnfachem LOQ-Level gemittelt

Matrix	Level	Chlorpropham				3-Chloranilin			
		Frei		Gebunden		Frei		Gebunden	
		WDF	RSD	WDF	RSD	WDF	RSD	WDF	RSD
Roh	LOQ	102%	± 4%	95%	± 4%	104%	± 3%	104%	± 6%
	10xLOQ	100%	± 4%	101%	± 2%	99%	± 3%	109%	± 7%
Frittirt	LOQ	94%	± 11%	105%	± 8%	95%	± 6%	90%	± 7%
	10xLOQ	101%	± 2%	104%	± 3%	101%	± 4%	107%	± 4%
Frittieröl	LOQ	90%	± 8%	99%	± 7%	101%	± 4%	107%	± 9%
	10xLOQ	99%	± 5%	98%	± 4%	104%	± 7%	103%	± 5%
Gekocht	LOQ	90%	± 9%	95%	± 6%	97%	± 4%	96%	± 3%
	10xLOQ	102%	± 5%	104%	± 4%	102%	± 3%	108%	± 3%
Kochwasser	LOQ	99%	± 3%	90%	± 2%	101%	± 3%	105%	± 5%
	10xLOQ	104%	± 5%	97%	± 2%	104%	± 7%	103%	± 1%

Die Bildung von quantifizierbaren Mengen an 3-Chloranilin durch Abbau aus Chlorpropham während der Säurehydrolyse konnte ausgeschlossen werden, da trotz der Anwesenheit des internen Standards Chlorpropham-(isopropyl-d7) während der Hydrolyse der Leerwertproben keine Gehalte an 3-Chloranilin gemessen wurden.

Die Kalibriergeraden von Chlorpropham und 3-Chloranilin sind in Abbildung 40 im Anhang dargestellt. Repräsentative Chromatogramme der auf die jeweiligen Bestimmungsgrenzen dotierten Validierungsproben sind für jede Matrix ebenfalls im Anhang in Abbildung 41 bis Abbildung 45 aufgeführt.

4.3.4.2 Gehalte in rohen Kartoffeln im Verlauf der Lagerung

Die Quantifizierung von Chlorpropham und 3-Chloranilin als freie und gebundene Analyten in den Rohkartoffeln zeigte, dass die Rückstände des Keimungshemmers in den Rohkartoffeln überwiegend als freies Chlorpropham (94,5% bis 96,2%) vorlagen. Lediglich 3,5% bis 5,2% lagen als gebundenes Chlorpropham vor. Während 3-Chloranilin in keiner der rohen Kartoffeln als freier Analyt nachgewiesen werden konnte, wurde 3-Chloranilin in gebundener Form in allen Rohkartoffeln mit einer

Lagerungszeit von mindestens einem Monat quantifiziert. Mit steigender Lagerungszeit wurde dabei ein stetiger Anstieg der 3-Chloranilin-Gehalte beobachtet. Des Weiteren stiegen auch die Unterschiede zwischen den 3-Chloranilin-Gehalten der drei einzelnen Rohkartoffeln mit steigender Lagerungszeit. Diese Differenzen führten zu entsprechend hohen Standardabweichungen der mittleren 3-Chloranilin-Gehalte zu späteren Probenahmezeitpunkten (z.B. $69,1 \pm 64,9 \mu\text{g}/\text{kg}$ nach sechs Monaten). Die höchsten Gehalte an Gesamt-Chlorpropham und gebundenem 3-Chloranilin wurden jeweils in den Proben mit dem starken Wasserverlust gemessen.

Die Gesamtrückstände, d.h. die Summe von freiem und gebundenem Chlorpropham und gebundenem 3-Chloranilin (in Chlorpropham-Äquivalente umgerechnet), der einzelnen Rohkartoffeln sowie der Mittelwerte je Probenahmezeitpunkt sind in Abbildung 22 dargestellt.

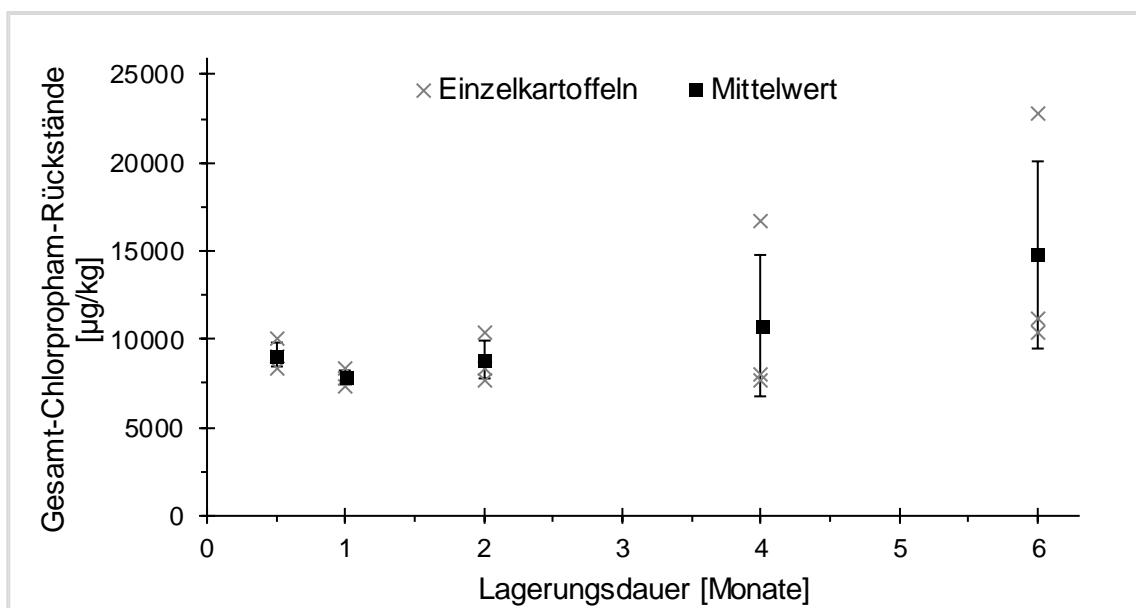


Abbildung 22. Per LC-MS-Methode ermittelte Gesamtgehalte an Chlorpropham-Rückständen in den jeweils drei entnommenen Einzelkartoffeln in Abhängigkeit von der Lagerungszeit sowie deren Mittelwerte inklusive Standardabweichung als Fehler

Der zeitliche Verlauf zeigte einen Trend, der den Ergebnissen der Radioaktivitätsmessungen in Abbildung 21 entsprach und auf eine grundsätzliche Vergleichbarkeit beider Methoden hinwies. Ein ausführlicher Vergleich der

verschiedenen Methoden, die Gesamtrückstände von Chlorpropham zu bestimmen, erfolgt in einem separaten Abschnitt (siehe Absatz 4.3.4.5 Methodenvergleich).

Für die Bilanzierung der LC-MS-Rückstandsgehalte im folgenden Kapitel wurden die in diesem Abschnitt beschriebenen Gesamtgehalte an Chlorpropham-Rückständen für jede einzelne Kartoffel mit dem Gewicht, das für den jeweiligen Verarbeitungsversuch eingesetzt wurde, multipliziert und als 100%-Referenzwert genutzt.

4.3.4.3 Verteilung der Analyten nach der Verarbeitung

Im Folgenden wird die Verteilung der quantifizierten Chlorpropham-Gesamtrückstände auf die einzelnen Matrices (verarbeitete Kartoffeln und Medien, d.h. Kochwasser und Frittieröl) präsentiert. Abbildung 23 zeigt die relativen Anteile der Analyten an der für die Verarbeitung eingesetzte Absolutmenge je Kartoffel (100%-Referenzwert). Die in der Abbildung aufsummierten Werte dienen des Weiteren der Bilanzierung und erlaubten erste tendenzielle Rückschlüsse über den Verlust durch Verflüchtigung von Chlorpropham-Rückständen während der Verarbeitungsprozesse. Alle drei Verarbeitungsprozesse führten zu einem deutlichen Transfer der Rückstände in das umgebende Medium bzw. zu einer starken Verflüchtigung. Im Folgenden werden die Einflüsse der Koch-, Frittier- und Backversuche im Detail beschrieben.

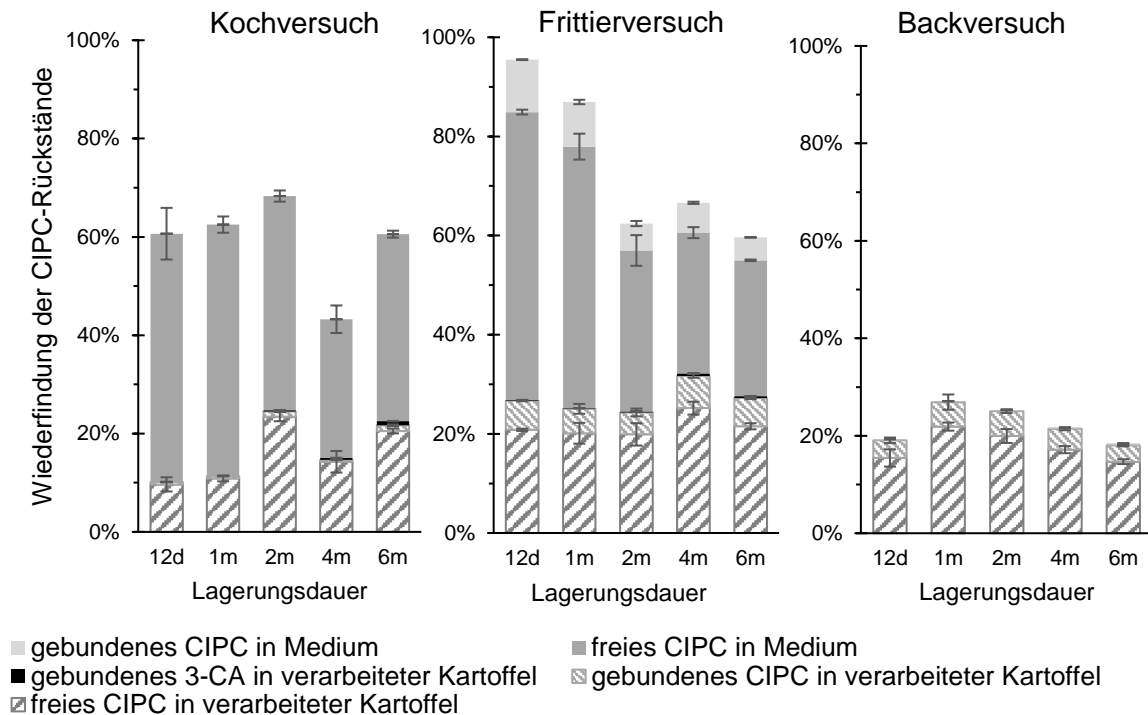


Abbildung 23. Verteilung der quantifizierten Analyten (Chlorpropham: CIPC, 3-Chloranilin: 3-CA) in den verarbeiteten Knollen sowie Kochwasser und Frittieröl. Als 100%-Referenzwert wurde jeweils die Summe aller freien und gebundenen Analyten betrachtet, die zuvor in der jeweiligen Rohkartoffel bestimmt wurden

Nach dem 20-minütigen Kochen der Kartoffelviertel zeugten Gesamtwiederfindungen zwischen 43,4% (vier Monate) und 68,4% (zwei Monate) der ursprünglich eingesetzten Mengen von einem deutlichen Verlust durch Verflüchtigung. Während in den gekochten Kartoffeln 9,7% \pm 1,4% bis 23,5% \pm 0,9% der Ursprungsmenge als freies Chlorpropham vorlagen, konnten deutlich geringere Mengen von maximal 1,2% als gebundenes Chlorpropham quantifiziert werden. Der Großteil der Chlorpropham-Rückstände wurde mit relativen Mengen zwischen 28,2% \pm 2,8% und 51,1% \pm 1,7% im Kochwasser ermittelt. Die Rückstände im Kochwasser lagen einzig in Form von freiem Chlorpropham vor. In den gekochten Kartoffeln hingegen konnte auch 3-Chloranilin in geringen Mengen von weniger als 1,0% der Ursprungsmenge quantifiziert werden, wenn die Kartoffeln zuvor mindestens zwei Monate gelagert wurden. Die 3-Chloranilin-Rückstände lagen dabei dominierend in gebundener Form vor. Jedoch konnten – im Gegensatz zu den Rohkartoffeln – auch quantifizierbare Mengen an freien 3-Chloranilin gemessen werden. Eine detaillierte Beschreibung der 3-Chloranilin-Gehalte im Verlauf der Lagerung sowie die Bilanzierung der

3-Chloranilin-Mengen vor und nach der Verarbeitung erfolgt separat im folgenden Absatz 4.3.4.4.

Im Rahmen der Frittierversuche konnte ein erheblicher Transfer der Rückstände in das Frittieröl beobachtet werden. Wie Abbildung 23 zeigt, lagen die Gesamtwiederfindungen an den verschiedenen Probenahmezeitpunkten zwischen 59,7% (sechs Monate) und 95,5% (zwölf Tage). Dabei wurde ein absteigender Trend der Wiederfindungen im andauernder Lagerungszeit festgestellt. Die Rückstandsmengen, die in den frittierten Kartoffeln verblieben, lagen stets auf einem ähnlichen Level von $27\% \pm 3\%$ (Mittelwert \pm Standardabweichung aller Werte). Die Rückstände in den frittierten Kartoffeln lagen dominierend als freies Chlorpropham (circa 80% der Rückstände in den frittierten Kartoffeln) vor, signifikante Mengen lagen jedoch auch als gebundenes Chlorpropham (circa 20%) vor. 3-Chloranilin konnte in allen frittierten Kartoffeln quantifiziert werden. Die relativen Mengen fielen mit einem Maximalwert von 0,6% (vier Monate) der ursprünglichen Chlorpropham-Gesamtrückstände jedoch gering aus. Das Abbauprodukt lag wie in den gekochten Kartoffeln dominierend als gebundener Analyt vor. Freies 3-Chloranilin konnte jedoch ebenfalls in geringen Mengen in allen frittierten Proben quantifiziert werden. Im Frittieröl hingegen wurde lediglich die Ausgangssubstanz Chlorpropham in freier (circa 85%) und in gebundener Form (circa 15%) bestimmt.

Nach dem 15-minütigem Backen der Kartoffelspalten bei 200 °C konnten 18,5% bis 27,1% der ursprünglichen Rückstände in den gebackenen Produkten ermittelt werden. Dies entsprach demnach einem Verlust von 72,9% bis 81,5% durch Verflüchtigung. Der Wirkstoff Chlorpropham war mit 14,7% bis 21,9% der Ursprungsmenge hauptsächlich als freier Analyt quantifizierbar. Gebundenes Chlorpropham hatte einen Anteil von 3,3% bis maximal 5,1% der Ursprungsmenge. 3-Chloranilin lag mit einem Maximalwert von 0,5% der Gesamtbelastung vor Verarbeitung in relativ geringen Mengen vor. Wie zuvor für die Koch- und Frittierversuche beschrieben, lag das Abbauprodukt dominierend als gebundener Analyt vor. Etwa ein Fünftel des vorliegenden 3-Chloranilins wurde als freier Analyt bestimmt.

4.3.4.4 Bilanzierung von 3-Chloranilin

Für die Einschätzung, ob 3-Chloranilin während der verschiedenen Verarbeitungsprozesse entstanden ist, wird im Folgenden eine Bilanzierung der Gesamtmengen an 3-Chloranilin in den Kartoffeln vor und nach Verarbeitung aufgestellt. Dazu wurden die ermittelten Gehalte an freiem und gebundenem 3-Chloranilin in jeder Probe addiert und mit dem Gewicht der eingesetzten Kartoffelviertel multipliziert. Eine graphische Auftragung der so ermittelten Totalmengen (in μg) vor und nach der Verarbeitung ist in Abbildung 24 dargestellt.

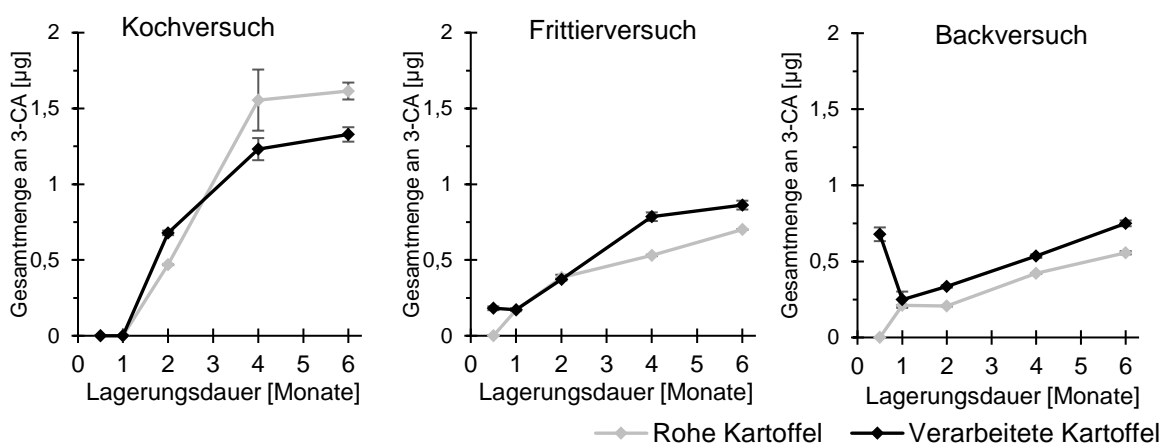


Abbildung 24. Bilanzierung der gesamten (frei und gebunden) 3-Chloranilin-Gehalte vor und nach der Verarbeitung (d.h. quantifizierte 3-Chloranilin-Gesamtgehalte multipliziert mit dem entsprechenden Kartoffelgewicht, das für den jeweiligen Schritt eingesetzt wurde). Dargestellte Werte sind Mittelwerte einer Doppelbestimmung mit Standardabweichung als Fehler

Die Grafiken für die drei Verarbeitungsschritte zeigen zwei wichtige Erkenntnisse in Bezug auf das Auftreten von 3-Chloranilin in den rohen und verarbeiteten Kartoffeln.

Zum einen stiegen die Mengen an 3-Chloranilin in den Rohkartoffeln während der Lagerungszeit stetig an. Dies galt für die dargestellten Absolutmengen (in μg) als auch für die relativen Gehalte in den Kartoffeln (in $\mu\text{g}/\text{kg}$). Nach einer Lagerungszeit von einem Monat konnten in den Rohkartoffeln erstmals quantifizierbare Mengen an 3-Chloranilin nachgewiesen werden. Im Laufe der Lagerung wurden deutliche Unterschiede im Verlauf der 3-Chloranilin-Mengen zwischen den Rohkartoffeln, die für die Kochversuche eingesetzt wurden, und denen, die für die Frittier- und Backversuche eingesetzt wurden, beobachtet. Diese Beobachtung korrelierte mit

dem augenscheinlichen Wasserverlust der einzelnen Kartoffeln. Die Knollen, die einen starken Wasserverlust aufwiesen, wurden primär für die Kochversuche eingesetzt und wiesen die erhöhten 3-Chloranilin-Gehalte auf. Wie Abbildung 24 zeigt, konnten die Differenzen zwischen den 3-Chloranilin-Gehalten in den einzelnen Knollen durch die Normierung auf die Absolutmenge nicht ausgeglichen werden. Die erhöhten Mengen an 3-Chloranilin waren folglich nicht einzig durch die Ankonzentrierung durch den Wasserverlust zu erklären, sondern deuteten auf eine erhöhte Bildung (beispielsweise durch verstärkte enzymatische Aktivität) in den entsprechenden Kartoffeln hin.

Zum anderen wiesen die Kartoffeln nach allen drei Verarbeitungsschritten vergleichbare Absolutmengen an 3-Chloranilin wie vor der Verarbeitung auf. Abweichend von den stetigen Anstiegen der Absolutmengen mit verlängerter Lagerungszeit, fiel die gebackene Kartoffeln nach einer Lagerungszeit von zwölf Tagen auf. Während in der Kartoffel vor Verarbeitung keine quantifizierbaren Mengen an 3-Chloranilin ermittelt wurden, wies die Kartoffel nach dem Backprozess mit $0,68 \pm 0,05 \mu\text{g}$ deutlich erhöhte Mengen auf. Dieser Wert konnte als signifikanter Ausreißer (Ausreißertest der Residuen nach Grubbs, $\alpha = 0,05$, $Z = 1,79$) identifiziert werden. Aus den Vergleichen der 3-Chloranilin-Mengen vor und nach den einzelnen Verarbeitungsschritten ließ sich somit herleiten, dass a) 3-Chloranilin während der Lagerung gebildet wurde und b) keine bedeutsamen Mengen an 3-Chloranilin während der Verarbeitungsprozesse entstanden sind.

4.3.4.5 Methodenvergleich

Um die entwickelte LC-MS-Quantifizierungsmethode hinsichtlich ihrer Eignung, die Gesamtmengen an Chlorpropham-Rückständen repräsentativ zu erfassen, zu bewerten, wurden die Ergebnisse der verschiedenen Methoden in den einzelnen Matrices gegenüberstellt. Abbildung 25 zeigt den Vergleich der Ergebnisse. Die Werte, die mittels Oxidizer-LSC (Feststoffproben) beziehungsweise direkt-LSC (Flüssigproben) ermittelt wurden, stellen dabei die Referenzwerte für jede Probe dar und werden als tatsächliche Totalgehalte angenommen. Neben den Ergebnissen der LC-MS-Quantifizierungsmethode zeigt Abbildung 25 zusätzlich die Mengen an

Chlorpropham-Rückständen, die durch LSC-Messungen der Messlösungen ermittelt wurden. Auf diese Weise konnten die tatsächlichen (Oxidizer/LSC), die extrahierbaren (Extrakt-LSC) und die quantifizierten Rückstandsmengen unterschieden und verglichen werden. Die Ergebnisse der LSC-Messungen (in MBq/kg) wurden dazu in $\mu\text{g}/\text{kg}$ -Gehalte umgerechnet, indem sie mit der reziproken spezifischen Aktivität von Chlorpropham in der Applikationslösung ($3209 \mu\text{g}/\text{MBq}$) multipliziert wurden. Die Ergebnisse der LC-MS-Methode werden als Summen von freiem und gebundenem Chlorpropham und freiem und gebundenem 3-Chloranilin (ausgedrückt als Chlorpropham-Äquivalente) dargestellt.

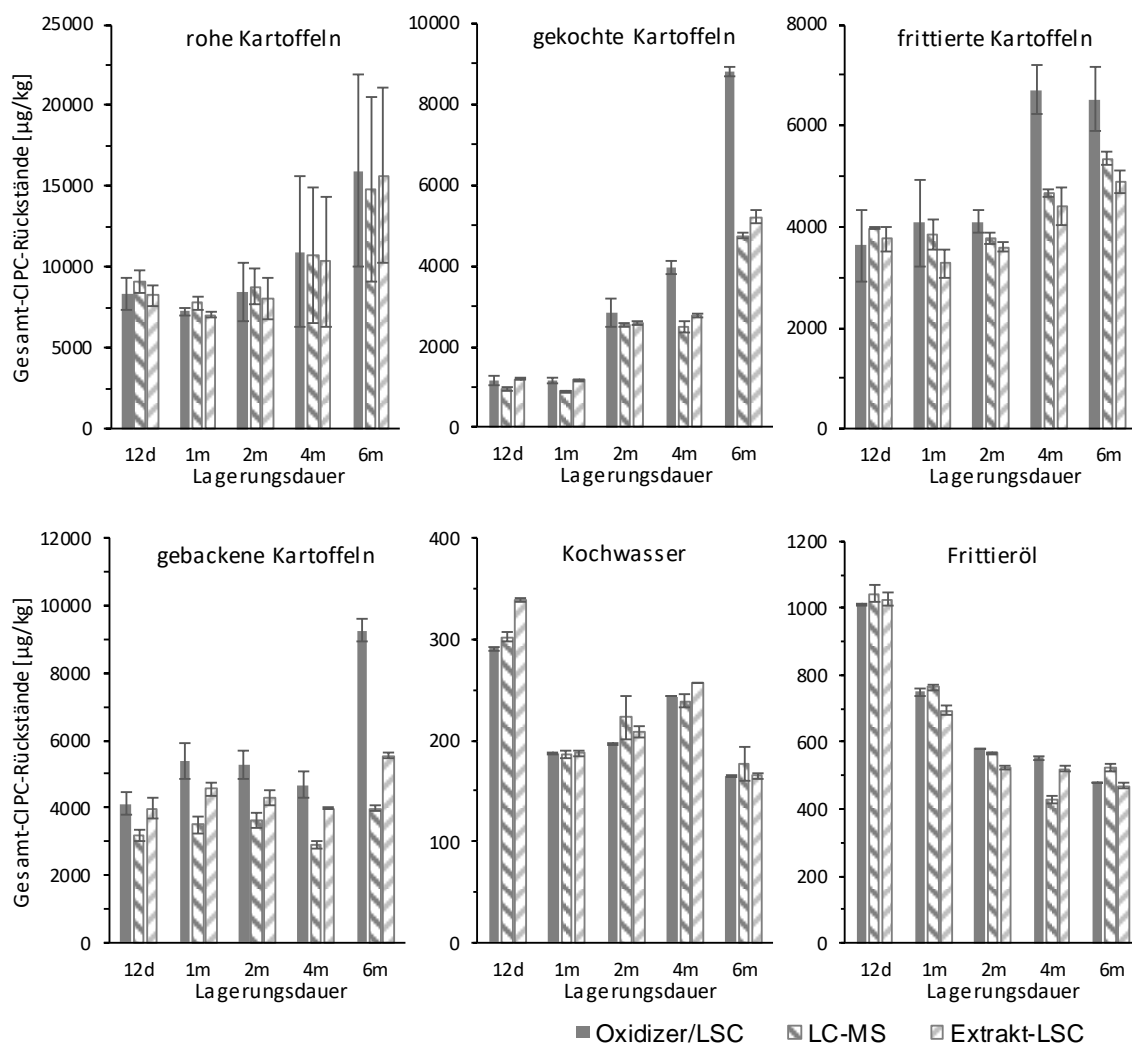


Abbildung 25. Vergleich der verschiedenen Methoden zur Bestimmung der Gesamtgehalte an Chlorpropham-Äquivalenten in den untersuchten Matrices, d.h. Rückstände, die per Oxidizer-LSC (direkt-LSC bei Flüssigproben), per LC-MS und per Extrakt-LSC bestimmt wurden. Dargestellte Werte sind Mittelwerte einer Doppelbestimmung (dreifache Doppelbestimmung für die Rohkartoffeln) mit der Standardabweichung als Fehler

Im Falle der rohen Kartoffeln sowie der Kochwasser- und der Frittierölproben lieferten alle drei Methoden vergleichbare Ergebnisse. Im Falle der Rohkartoffeln wurden abermals die starken Differenzen zwischen den einzelnen Kartoffeln nach langer Lagerungszeit deutlich. Dies äußerte sich an den starken Standardabweichungen in allen drei Methoden bei den Rohkartoffeln, die für vier oder sechs Monate gelagert wurden. Lediglich im Frittieröl nach viermonatiger Lagerung der Kartoffel konnte mittels der LC-MS-Quantifizierungsmethode ein nach unten abweichender Wert ermittelt werden.

Bei den verarbeiteten Kartoffeln hingegen zeigten sich andere Beobachtungen beim Vergleich der drei Methoden. Im Falle der gekochten Kartoffeln ergaben alle drei Methoden vergleichbare Ergebnisse bei den Proben, die zuvor maximal zwei Monate gelagert wurden. Bei den Kartoffeln, die vor dem Kochen vier beziehungsweise sechs Monate gelagert wurden, zeigten sich steigende Differenzen zwischen der Oxidizer-LSC-Methode und den beiden extraktionsbasierten Methoden. Während die Werte, die per Oxidizer-LSC bestimmt wurden, bei 3,95 mg/kg (vier Monate) bzw. 8,81 mg/kg (sechs Monate) lagen, ergaben die LC-MS- und die Extrakt-LSC-Methode jeweils Werte, die etwa 33% (vier Monate) beziehungsweise 44% (sechs Monate) niedriger ausfielen.

Ein ähnliches Muster konnte bei den frittierten Kartoffeln beobachtet werden. Während die drei Methoden bei den 12-Tages- bis 2-Monatsproben noch vergleichbare Ergebnisse lieferten, unterschätzten die extraktionsbasierten Methoden die Gesamtbelastung um circa 33% (vier Monate) beziehungsweise 21% (sechs Monate).

Im Falle der gebackenen Kartoffelecken wurde im Vergleich der drei Methoden ein sich wiederholendes Muster beobachtet. Wie Abbildung 25 zeigt, konnten zum einen Unterschiede zwischen den extrahierbaren (Extrakt-LSC) und den tatsächlichen (Oxidizer-LSC) Gehalten ermittelt werden. Zum anderen zeigten sich Differenzen zwischen den extrahierbaren und den quantifizierten (LC-MS) Werten. Die per Oxidizer-LSC gemessenen Werte fielen in den gebackenen Proben zu jedem Probenahmezeitpunkt am höchsten aus. Die extrahierbaren Mengen, die per LSC in den Extrakten gemessen wurden, hingegen lagen 3% (zwölf Tage) bis 40% (sechs Monate) niedriger. Die mittels LC-MS-quantifizierten Werte lagen wiederum 16%

(zwei Monate) bis 28% (sechs Monate) niedriger als die entsprechenden Extrakt-LSC-Ergebnisse.

Die detaillierten Ergebnisse der drei Methoden zur Bestimmung der Chlorpropham-Rückstände in allen Proben werden im Anhang in Tabelle 42 bis Tabelle 44 aufgelistet.

5 Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Verbleib von drei verschiedenen Pflanzenschutzmittelwirkstoffen während unterschiedlicher Verarbeitungsschritte von Lebensmitteln untersucht. Zur besseren Übersicht werden die beschriebenen Ergebnisse im Folgenden zunächst substanzspezifisch in einzelnen Kapiteln diskutiert. Die versuchsübergreifende Diskussion sowie die Einordnung der Gesamtergebnisse werden separat aufgeführt. Dies umfasst auch den Vergleich der Ergebnisse dieser Arbeit mit den Ergebnissen der Hydrolysestudien entsprechend der OECD 507 Richtlinie.

5.1 Prochloraz in Rapsöl

Der Abbau des Fungizids Prochloraz während der Erhitzung von Rapsöl wurde erstmalig modellhaft für verschiedene industrielle, gewerbliche und private Erhitzungsprozesse untersucht. Vergleichbare Untersuchungen werden im Rahmen der Zulassungsstudien nach der OECD 508 Richtlinie nicht berichtet. Für die Ölgewinnung aus Rapsöl hingegen wurden in mehreren Zulassungsstudien Verarbeitungsfaktoren > 1 abgeleitet, sodass Prochloraz-Rückstände in nicht raffinierten Rapsölen grundsätzlich als wahrscheinlich angenommen werden [127].

Während der Erhitzung von Prochloraz-dotiertem Rapsöl konnte die Bildung von insgesamt elf Abbauprodukten gezeigt werden. Diese sind in Abbildung 26 zusammenfassend dargestellt. Mehrere dieser Abbauprodukte wurden erstmalig beschrieben und wurden durch chemische Reaktion zwischen Prochloraz beziehungsweise dessen Abbauprodukten mit Inhaltsstoffen des Rapsöls gebildet.

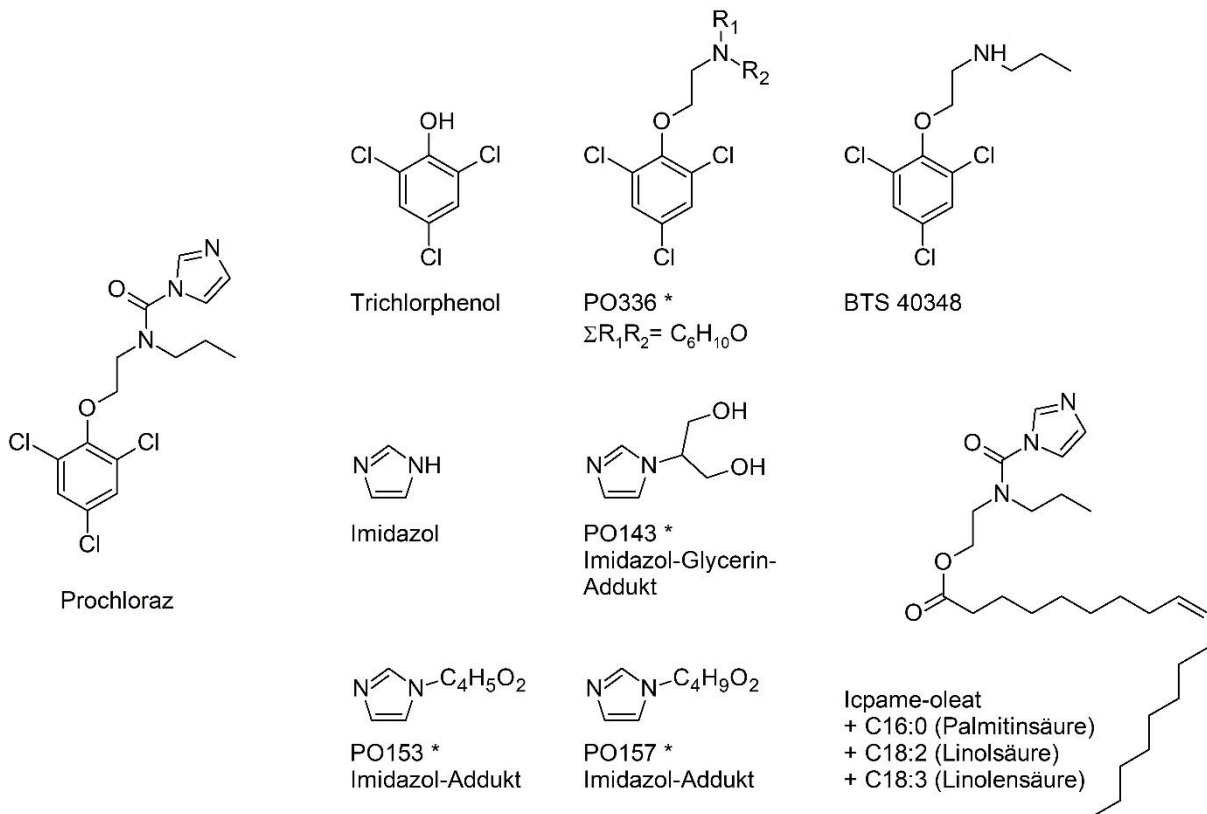


Abbildung 26. Strukturformeln von Prochloraz und dessen Abbauprodukten nach Erhitzung in Rapsöl (* Struktur nicht vollständig aufgeklärt)

Die Nutzung des radioaktiv markierten Wirkstoffes zeigte dabei bedeutende Vorteile gegenüber der herkömmlichen Standardanalytik, da diese Technik einerseits die vollständige Bilanzierung der Ausgangssubstanz und andererseits die Detektion und Identifizierung neuer Abbauprodukte ermöglichte. Die Summe der Aktivitätsmengen in den einzelnen Extrakten und im extrahierten Öl lag unabhängig von der Erhitzungstemperatur konstant auf einem Level von etwa 92% (mit einem signifikanten Ausreißer bei 88%). Es wurde gezeigt, dass während des Erhitzungsprozesses kein Verlust an Aktivität aus den geschlossenen Vials durch Verflüchtigung stattfand. Des Weiteren wurden keine Verluste während des Einengens oder während der Aufnahme der eingengten Extrakten bestimmt. Da die Menge der nicht bilanzierten Aktivität von etwa 8% ebenfalls in den nicht-erhitzten Proben auftrat, konnte diese Differenz nicht durch erhitzungsbedingte Einflüsse erklärt werden. Während des ersten Extraktionsschrittes mit Wasser wurde die untere wässrige Phase abgenommen, indem die obere ölige Phase durchstochen wurde. Dabei verblieb ein geringer Teil des Öls an der Außenseite der Pipette und dient so

als Erklärung für den beobachteten Verlust. Der Anteil der nicht-extrahierbaren Rückstände lag in den nicht-erhitzten Proben bei einem Wert von circa 2% und stieg um weniger als 3% an nachdem das Öl auf die höchste Temperatur von 240 °C für 45 min erhitzt wurde. Da der erheizungsbedingte Anteil der nicht-extrahierten Aktivität als vernachlässigbar gering eingestuft wurde, wurden keine weiteren Untersuchungen hinsichtlich der Charakterisierung der nicht-extrahierbaren Rückstände durchgeführt.

Die Verteilung der Aktivität auf die unterschiedlichen Extrakte ermöglichte erste Schlussfolgerungen hinsichtlich eines weitgehenden Abbaus von Prochloraz während der Erhitzung in Rapsöl. Dies zeigte sich in der vermehrten Bildung polarer und somit wässrig-extrahierbarer Abbauprodukte. Mithilfe der Chromatogramme des Radiodetektors wurde die Detektion einzelner radioaktiv markierter Abbauprodukte im Folgenden ermöglicht. Die weitere Identifizierung beziehungsweise Charakterisierung dieser Abbauprodukte wurde anhand des spezifischen $^{12}\text{C}/^{14}\text{C}$ -Isotopenmusters in den hochaufgelösten Massenspektren erleichtert. Auf eine vollständige Strukturaufklärung der partiell identifizierten Abbauprodukte PO143, PO153, PO157 und PO336 (vgl. Abbildung 26) wurde aufgrund schwacher Signalintensitäten und nicht aussagekräftiger Fragmentspektren verzichtet. Hinsichtlich ihrer quantitativen Relevanz wurden diese Abbauprodukte aufgrund ihrer vergleichsweise niedrigen Signalintensität und auf Basis der quantitativen Bilanzierungsmethoden jedoch als sekundär eingestuft.

Als ein zentrales Ergebnis dieses Versuchsteils konnte aufgezeigt werden, dass chemische Reaktionen während des Abbaus von Prochloraz nicht allein hydrolytischer Natur waren, sondern dass diese auch zwischen dem Wirkstoff Prochloraz beziehungsweise dessen Abbauprodukten und den Inhaltsstoffen des Rapsöls auftraten. Dies beeinflusste die Breite des Spektrums an Abbauprodukten signifikant. Im Rahmen der Vorversuche zur Synthese des identifizierten Fettsäure-Addukts Icpame-Oleat wurden verschiedene Versuche mit Ölsäure, Glycerinmonooleat und Triolein durchgeführt. Nach analogen Erhitzungsprozessen von Prochloraz in den drei Substanzen konnte Icpame-Oleat lediglich in dem Triolein-Ansatz mittels UPLC[®]-HRMS nachgewiesen werden. Dies lässt annehmen, dass die Bildung der Icpame-Fettsäure-Addukte durch chemische Reaktion von Prochloraz mit

Triglyceriden des Rapsöls und nicht mit anderen Fettsäure-haltigen Molekülen (freie Fettsäuren, Mono- oder Diglyceride) erfolgte. Alternativ könnten die Addukte auch in Anwesenheit der anderen Substanzen gebildet und anschließend durch weitere Reaktionen mit reaktiven Gruppen dieser Substanzen (Hydroxyl- oder Carboxylgruppen) abgebaut worden sein.

Zusätzlich zu der Bilanzierung der Aktivität nach der Erhitzung erlaubte die Quantifizierung von Prochloraz, Imidazol, Icpame-Oleat und Trichlorphenol in den nicht-radioaktiven Versuchen ebenfalls Massenbilanzierungen jeder erhitzten Ölprobe. In dem ursprünglich genutzten nativen Rapsöl lagen die Massenbilanzen im Falle beider Methoden (Summe aller Imidazol-haltigen Analyten und Summe aller Trichlorphenol-haltigen Analyten) in einem zufriedenstellenden Bereich von $101\% \pm 5\%$ beziehungsweise $103\% \pm 7\%$.

Die Erhitzungsversuche unter Variation von Temperatur und Dauer erlauben Schlussfolgerungen in Bezug auf Mechanismus und Kinetik des Prochloraz-Abbaus während der Erhitzung in Rapsöl. Allgemein wurde eine hohe Abhängigkeit des Abbaus von beiden Parametern aufgezeigt, die unter den harschesten Bedingungen von 240 °C für 240 min zu einem praktisch vollständigen ($> 99\%$) Abbau führten. Icpame-Oleat konnte als Intermediat während des Abbaus identifiziert werden, da die Gehalte an Icpame-Oleat bei hohen Temperaturen mit ansteigender Erhitzungsdauer wieder abfielen. Es wird angenommen, dass Icpame-Oleat bei hohen Temperaturen unter Bildung von kleineren Molekülen wie Imidazol weiter reagierte beziehungsweise abgebaut wurde. Ein vergleichbarer Trend konnte für die Abbauprodukte Imidazol und Trichlorphenol nicht beobachtet werden. Im Gegensatz zu den Gehalten des Icpame-Oleats liefen die als Prochloraz-Äquivalente ausgedrückten Gehalte von Imidazol und Trichlorphenol mit zunehmender Temperatur und Erhitzungsdauer auf die rechnerisch maximal möglichen Werte von $500\text{ }\mu\text{g/kg}$ zu. Da beide Substanzen als stabil gegenüber hohen Temperaturen bekannt sind [48, 159], werden sie als finale Abbauprodukte von Prochloraz eingestuft. Im Falle von Trichlorphenol konnte nach einer Erhitzung bei 240 °C für 240 min ein geringer Abfall der ermittelten Konzentration im Vergleich zur Erhitzung für 180 min beobachtet werden. Da Trichlorphenol einen Siedepunkt von 246 °C aufweist [159], kann diese Beobachtung möglicherweise durch die Verdampfung des Trichlorphenols in die Gasphase des

geschlossenen Vials und anschließende Kondensation an der Glasoberfläche oder an dem Septum erklärt werden.

Der Vergleich der unterschiedlichen Ölsorten und deren Einfluss auf den Verbleib von Prochloraz zeigte große Unterschiede zwischen einzelnen Ölsorten und demonstrierte stark matrixabhängige Einflüsse auf den Abbau des Fungizids. In Bezug auf die Prochloraz-Gehalte nach der Erhitzung trat der Abbau in raffiniertem Rapsöl, Sonnenblumenöl und nativem Olivenöl in höherem Ausmaß auf als in dem nativen Rapsöl. Unterschiede zwischen den Ölen wurden ebenfalls bei den Gehalten von Icpame-Oleat, Imidazol und Trichlorphenol beobachtet. Diese konnten nicht durch eine Verschiebung der Gehalte einzelner Analyten untereinander erklärt werden, da die Bilanzierung der Prochloraz-Rückstände ebenfalls deutliche Differenzen zwischen den Ölen aufwies. Daraus lässt sich die Bildung weiterer Abbauprodukte in den drei zusätzlichen Ölen ableiten, die mit den qualitativen Untersuchungen mit nativem Rapsöl nicht abgedeckt wurden. Dies zeigt, dass die Übertragbarkeit qualitativer und quantitativer Untersuchungen zwischen augenscheinlich sehr ähnlichen Lebensmitteln nicht zwingend gegeben ist. Die Bildung des Fettsäure-Addukts Icpame-Oleat variierte ebenfalls zwischen den Ölen und zeigte keine direkte Korrelation zu den in der Literatur beschriebenen Ölsäure-Gehalten der Öle (Rapsöl: 63%, Sonnenblumenöl: 23%, Olivenöl: 76% bezogen auf den Fettsäureanteil [100]). In den beiden getesteten nativen Ölen (Raps- und Olivenöl) wurden geringere Icpame-Oleat-Gehalte ermittelt als in den beiden raffinierten Varianten (Raps- und Sonnenblumenöl). Eine Erklärung für die beschriebenen Muster zwischen den Ölen können generelle Unterschiede zwischen nativen und raffinierten Ölen sein: Während raffinierte Öle hauptsächlich Triglyceride enthalten, enthalten native Öle weitere Komponenten [100], die die Bildung der Fettsäure-Addukte unterdrücken oder den weiteren Abbau gebildeter Addukte verstärken können. Für eine Bestätigung dieser Aussage muss jedoch künftig ein breiteres Spektrum verschiedener Öle getestet werden. Ähnliche Differenzen zwischen verschiedenen Ölen konnten Thüerer und Granvogl hinsichtlich der Bildung von Acrylamid während des Frittiervorgangs von Kartoffelchips nachweisen. Diese waren durch Unterschiede vorhandener Eduktmengen nicht zu erklären und ließen auf weitere, nicht-identifizierte Faktoren schließen, die die chemische Reaktion beeinflussen können [160].

Hinsichtlich der Bilanzierung der Prochloraz-Rückstände muss zusätzlich beachtet werden, dass die Quantifizierung von Icpame-Oleat lediglich das Addukt der häufigsten Fettsäure in Rapsöl repräsentiert. Unter Berücksichtigung des typischen Ölsäuregehalts in Rapsöl von 63% [100] müssen die molaren Gehalte von Icpame-Oleat um einen Faktor von etwa 1,6 multipliziert werden, um auf den Gehalte aller Fettsäure-Addukte im erhitzten Rapsöl schließen zu können (unter der Annahme, dass alle Fettsäuren analog reagieren). Im Falle der Rapsölprobe, die den höchsten Icpame-Oleat-Gehalt von 79,5 µg/kg aufwies (60 min bei 240 °C), entspricht dies einem Gesamtgehalt aller Fettsäure-Addukte von etwa 127 µg/kg beziehungsweise 20% der Prochloraz-Äquivalente. Genaue Quantifizierungsergebnisse für die anderen Fettsäure-Addukte sind jedoch erst durch die Synthese entsprechender Standardsubstanzen möglich.

Unabhängig von einer exakten Bestimmung weiterer Fettsäure-Addukte zeigen die ermittelten Gehalte die quantitative Relevanz dieser erstmals beschriebenen Abbauprodukte und werfen Fragen bezüglich der Risikobewertung dieser Substanzen auf. Der Erhalt der Imidazolgruppe in mehreren identifizierten Abbauprodukten stellt in diesem Zusammenhang ein potentiell toxikologisches Risiko dar, da Imidazolfungizide unter Verdacht stehen, als endokrine Disruptoren zu wirken [46]. Wie in Kapitel 0 beschrieben, geht diese Wirkung auf die Interaktion der Imidazolgruppe mit dem Eisenion hormonell bedeutsamer Enzyme zurück [47]. Folglich besteht die Gefahr, dass die verarbeitungsbedingten und Imidazol-haltigen Abbauprodukte vergleichbare Wirkungen auf das endokrine System verschiedener Organismen besitzen. Die tatsächliche Wirkung wird jedoch als abhängig von der Struktur des gesamten Moleküls erachtet. So zeigten Kapteyn et al. eine starke Abhängigkeit der *N*-Imidazol-Substituenten verschiedener Imidazolfungizide auf ihre fungizide Wirksamkeit [161]. Unter Annahme vergleichbarer Effekte der Substitution auf die endokrindisruptive Wirkung und unter Berücksichtigung des EU-Vorsorgeprinzips [7, 14] müssen die toxikologischen Daten der identifizierten Abbauprodukte in künftigen Studien umfassend evaluiert werden.

Während die derzeitigen Rückstandsdefinitionen für Prochloraz in Lebensmitteln lediglich Metaboliten und Abbauprodukte umfassen, die die Trichlorphenoleinheit beinhalten, zeigten die durchgeführten Versuche, dass der Verbleib der

Imidazolgruppe nicht zu vernachlässigen ist. Die aktuelle Rückstandsdefinition für die Risikobewertung (Prochloraz und alle Abbauprodukte, die die Trichlorphenoleinheit enthalten [46, 71]) ist zwar zu einem gewissen Grad in der Lage, die Höhe der Prochloraz-Rückstände quantitativ zu erfassen. Jedoch erlaubt diese Definition unter Berücksichtigung fehlender Daten zu Toxikologie und Relevanz der erstmals beschriebenen Abbauprodukte derzeit keine ausreichende Risikobewertung. Im Bereich der Überwachung umfasst die derzeitige Rückstandsdefinition für Prochloraz in pflanzlichen Produkten die Summe von Prochloraz und der Metaboliten BTS 44595 sowie BTS 44596. Der Bildung beider Metaboliten geht die Ringöffnung beziehungsweise Elimination der Imidazolgruppe voraus [46, 71]. Wird diese Rückstandsdefinition auf die erhitzten Öle angewendet, so trägt lediglich Prochloraz selbst zur Rückstandsmenge bei. Da der Wirkstoff mit erhöhter Temperatur und Dauer der Erhitzung eine zunehmend unerhebliche Rolle einnimmt, würde die Gesamtmenge der Prochloraz-Rückstände folglich signifikant unterbewertet werden. Eine adäquate quantitative Bewertung der Prochloraz-Rückstandsmengen erfordert folglich eine Aktualisierung der derzeitigen Rückstandsdefinitionen, um einer angemessenen Risikobewertung gerecht zu werden.

5.2 Deltamethrin in Tomatenprodukten

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Verbleib des Pyrethroids Deltamethrin während der Herstellung von Tomatenmark und während des Backens sowie Anbratens des Tomatenmarks untersucht. Die Versuche decken somit verschiedene Verarbeitungsschritte ab, in denen Tomatenprodukte unterschiedlicher Hitzebelastung ausgesetzt sind. Die Erhitzung des Tomatenmarks bei 250 °C im Backofen stellte dabei die harschesten Bedingungen dar wie sie typischerweise beim Backen von Pizza erreicht werden.

In allen drei Verarbeitungsschritten konnten weder eine chemische Veränderung noch eine messbare Verflüchtigung des Deltamethrins beobachtet werden. Die in den verarbeiteten Produkten ermittelte Gesamtaktivität lag jeweils in der gleichen Größenordnung wie zuvor theoretisch berechnet wurde. Folglich war ein deutlicher Verlust durch Verflüchtigung von Deltamethrin oder potentiellen Abbauprodukten

auszuschließen. Die Extrahierbarkeit mittels der QuEChERS-Methode lag in allen Produkten zwischen 91% (gebackenes Tomatenmark) und 99% (Tomatenmark), sodass die Messungen mittels radio-UPLC®-Methode als repräsentativ für die vorliegenden Deltamethrin-Rückstände eingestuft werden können. Da die Anteile nicht-extrahierbarer Rückstände im niedrigen Bereich von maximal 5% lagen, ergab die Bilanzierung der Aktivität in den jeweiligen Produkten Wiederfindungen von mindestens 96%. In den Radiochromatogrammen der jeweiligen Extrakte konnte neben einer Syntheseverunreinigung lediglich das Signal von ¹⁴C-Deltamethrin detektiert werden. Unter Berücksichtigung der hohen Extraktionsausbeuten und der niedrigen Anteile nicht-extrahierbarer Rückstände kann demnach davon ausgegangen werden, dass trotz Temperaturen von bis zu 250 °C kein chemischer Abbau von Deltamethrin stattfand. Die beobachtete Thermostabilität deckt sich mit den in der Literatur beschriebenen physikalisch-chemischen Eigenschaften von Deltamethrin. Entsprechend der im Rahmen der Zulassung angefertigten Studien zeigt Deltamethrin einen niedrigen Dampfdruck von $1,24 \cdot 10^{-8}$ Pa und zersetzt sich oberhalb von 270 °C vor Erreichen des Siedepunkts [77]. Eine Beeinträchtigung dieser Stabilität durch den niedrigen pH-Wert in Tomaten [162] oder andere Matrixbestandteile während der Lebensmittelverarbeitung wurde nicht beobachtet.

Bedingt durch die Stabilität des Deltamethrins konnte während der Verarbeitungsschritte jeweils eine Ankonzentrierung des Analyten beobachtet werden, die proportional zum Wasserverlust auftrat. Der höchste Gehalt wurde mit etwa $23,5 \pm 0,1$ MBq/kg beziehungsweise $5,47 \pm 0,02$ mg/kg im gebackenen Tomatenmark ermittelt. Dies entspricht dem etwa Neunfachen des ursprünglich im Tomatenpüree applizierten Deltamethrin-Gehalts und somit einem Verarbeitungsfaktor von $PF = 9$. In einer Zulassungsstudie entsprechend der OECD 508 Richtlinie wurde ein Verarbeitungsfaktor für die Herstellung von Tomatenmark abgeleitet. Dieser liegt mit einem Median von $< 0,49$ deutlich unterhalb des in dieser Arbeit beobachteten Ankonzentrierungseffekts [127]. Als Grund für diese Abweichung wird vermutet, dass in der Zulassungsstudie die Abtrennung der hochbelasteten Schalen berücksichtigt wurde. Die Herstellung von Tomatenmark und der Einfluss auf die Gehalte von Deltamethrin wurde auch von Uysal-Pala und Bilisli untersucht. Durch einen Waschvorgang der geernteten Tomaten wurde eine Minderung des Deltamethrin-Gehaltes um etwa die Hälfte beschrieben. Für die weitere Verarbeitung

der gewaschenen Tomaten wurde ein geringer Anstieg der Deltamethrin-Rückstände von 2,3% berichtet. Es ist jedoch darauf hinzuweisen, dass ein Großteil der Deltamethrin-Rückstände in den abgetrennten Schalen der Tomaten verblieb [20]. Da der Fokus dieser Arbeit jedoch verstärkt auf potentiellen chemischen Veränderungen lag und da die Dotierung mit Deltamethrin erst nach Abtrennung der Schalen stattfand, ist nur eine begrenzte Vergleichbarkeit der Ergebnisse gegeben. Der geringe Anstieg der Gehalte trotz Abtrennung großer Mengen des Wirkstoffes über die Schalen deutet jedoch auf den ankonzentrierenden Effekt der Tomatenmark-Herstellung hin. Der mindernde Einfluss des Waschens von Tomaten auf die Gehalte von Deltamethrin wurde ebenfalls von Elbashir et al. beschrieben [163].

Im Rahmen der Verbleibsuntersuchung von Deltamethrin während der Herstellung von Tomatenprodukten konnte folglich gezeigt werden, dass die Lebensmittelverarbeitung nicht nur wie im Beispiel des Prochloraz qualitative Unterschiede zwischen Roh- und verzehrten Endprodukten hervorrufen kann, sondern auch quantitative Unterschiede. Letztere können unter Berücksichtigung verschiedener Verarbeitungsprozesse sowohl erhöhend (Ankonzentrierungsschritte) als auch mindernd (Waschen, Abtrennen ungenutzter Pflanzenteile [20, 163]) auf Gehalte von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen ausfallen.

5.3 Chlorpropham in Kartoffeln

Für die Untersuchung des Verbleibs von Chlorpropham während der Lagerung und Verarbeitung von Kartoffeln wurde der Keimungshemmer zunächst auf die Kartoffeln appliziert und diese anschließend für bis zu sechs Monate gelagert. Während mit Chlorpropham behandelte Kartoffeln bei der kommerziellen Anwendung üblicherweise bei Temperaturen zwischen 8 und 12 °C gelagert werden [52, 91], wurde der in dieser Arbeit durchgeführte Lagerungsversuch bei Raumtemperatur durchgeführt. Dadurch sollte ein Worst-Case-Szenario untersucht und der potentielle Einfluss enzymatischer Reaktionen provoziert werden. Während der Lagerung konnte ein anfänglicher Verlust der Gesamt-Chlorpropham-Rückstände innerhalb des ersten Monats beobachtet werden. Darauf folgte ein stetiger Anstieg der Gehalte bis zum Ende des Lagerungsversuchs nach sechs Monaten. Der initiale Verlust wird

durch die Verflüchtigung des moderat flüchtigen Chlorprophams erklärt und wurde ebenfalls von Sakaliene et al. sowie von Lentza-Rizos und Balokas beschrieben [17, 19, 85]. Der Anstieg der Chlorpropham-Rückstände ab einer Lagerungsdauer von zwei Monaten geht auf den Gewichtsverlust durch Verdampfung von Wasser und den daraus resultierenden Ankonzentrierungseffekt zurück. Dieser Effekt wurde an vereinzelt Kartoffeln offensichtlich, da diese mit zunehmender Lagerungszeit ein stark schrumpeliges Erscheinungsbild aufwiesen. Da dieser Effekt nicht bei allen Einzelknollen so deutlich erkennbar war, unterstreicht diese Beobachtung die hohe Varianz zwischen einzelnen Kartoffeln bei Lagerungsversuchen in solch kleinem Maßstab. Der Einsatz einer erhöhten Anzahl applizierter Kartoffeln war aufgrund der damit einhergehenden Erhöhung der eingesetzten Gesamtaktivität aus strahlenschutzrechtlichen Gründen nicht möglich.

Die anfänglich durchgeführten radio-UPLC[®]-Messungen der konzentrierten Extrakte lieferten keine Hinweise auf die Bildung von Abbauprodukten in den verarbeiteten Proben. Die hochaufgelösten massenspektrometrischen Daten zeigten in diesen Extrakten jedoch die Präsenz von 3-Chloranilin in den verarbeiteten Produkten. Da in den initialen Extrakten der Rohkartoffeln in den ersten zwei Monaten jedoch keine Signale von 3-Chloranilin detektiert wurden, wurde die Extraktionsmethode signifikant verändert, um freie und gebundene Analyten extrahieren zu können. Diese Methode ermöglichte die Aussage, ob die anfänglich gemessenen Gehalte an 3-Chloranilin in den verarbeiteten Produkten entweder durch die Verarbeitung gebildet (d.h. verarbeitungsbedingter Abbau) oder aus gebundenem 3-Chloranilin freigesetzt (d.h. lagerungsbedingte Bildung von gebundenen 3-Chloranilin) wurden. Die komplexe Extraktionsmethode konnte nach den Kriterien der SANCO/3029/99-Richtlinie [155] erfolgreich validiert werden.

Die nachfolgende Analyse aller Proben unterstrich die hohe Relevanz gebundener Analyten, um die Gesamtbelastung der Proben mit Chlorpropham und 3-Chloranilin ausreichend bewerten zu können. Während 3-Chloranilin in den rohen Kartoffeln ausschließlich als gebundener Analyt vorlag, konnten in den verarbeiteten Kartoffelprodukten neben dem gebundenen Analyten auch geringe Anteile an freiem 3-Chloranilin gemessen werden. Diese geringfügige verarbeitungsbedingte Verschiebung von gebundenen zu freien Analyten erklärt die 3-Chloranilin-Funde in

den anfänglichen Extrakten, da diese nur freie Analyten enthalten konnten. Demnach bedingten die Verarbeitungsschritte eine Freisetzung von bereits während der Lagerung entstandenem 3-Chloranilin. Der Großteil des gesamten 3-Chloranilins in den verarbeiteten Kartoffeln lag jedoch weiter als gebundener Analyt vor. Der Vergleich der Mengen an 3-Chloranilin vor und nach den jeweiligen Verarbeitungsschritten im Laufe der Lagerungszeit zeigt zum einen die in der Literatur beschriebene Bildung von 3-Chloranilin während der Lagerung [51, 53, 54, 90]. Zum anderen zeigen die Ergebnisse in der rohen und der jeweiligen verarbeiteten Kartoffel absolute Mengen an 3-Chloranilin in vergleichbaren Größenordnungen. Demnach ist abzuleiten, dass Chlorpropham unter den getesteten Bedingungen der Koch-, Frittier- und Backprozesse nicht nachweisbar zu 3-Chloranilin abgebaut wurde. Da weder im Kochwasser noch im Frittieröl quantifizierbare Gehalte des Metaboliten ermittelt wurden, fand kein messbarer Übergang von 3-Chloranilin in die umgebende Matrix statt. Bezüglich des auffällig hohen Gehalts an 3-Chloranilin in der nach zwölf Tagen gebackenen Probe (vgl. Abbildung 24 in Kapitel 4.3.4.4) wird vermutet, dass der Ausreißer durch eine lokal begrenzte Bildung von 3-Chloranilin (beispielsweise durch hohe punktuelle enzymatische Aktivität) erklärt werden kann, die durch die Methode der gegenüberliegenden Viertel nicht homogen abgebildet werden konnte.

Die Quantifizierung der freien und gebundenen Analyten lieferte Informationen hinsichtlich der Minimierungseffekte typischer Verarbeitungsprozesse auf die Mengen an Chlorpropham-Rückständen. Der Vergleich der drei Bestimmungsmethoden (Oxidizer bzw. direkt-LSC, LC-MS und Extrakt-LSC) belegte die Eignung der entwickelten LC-MS-Methode, um die Gesamtbelastung roher Kartoffeln mit Chlorpropham quantitativ zu erfassen.

Die Kochversuche zeigten, dass mit mittleren Rückständen von $17\% \pm 6\%$ (d.h. $PF = 0,17$) in den gekochten Kartoffeln ein stark minimierender Effekt der Chlorpropham-Gehalte auftrat. In der Datenbank des BfR werden Minderungseffekte durch das Kochen ebenfalls in Form von Verarbeitungsfaktoren beschrieben. Diese liegen mit etwa 0,54 bis 0,63 über dem in dieser Arbeit berichteten Wert. Als Grund für diese Abweichung wird vermutet, dass die Kartoffeln in dieser Studie entgegen typischer Verarbeitungspraktiken vor dem Kochen geviertelt wurden. Durch die erhöhte Oberfläche können Auswascheffekte in stärkerem Maß aufgetreten sein als

üblich. Die Ergebnisse dieser Arbeit geben dennoch einen Eindruck über die Transferprozesse während des Kochvorgangs. Die Mehrheit der ursprünglich vorhandenen Chlorpropham-Rückstände wurde in das Kochwasser (Mittel: 42% \pm 9%) und per Verflüchtigung in die Luft (Mittel: 40% \pm 7%) transferiert. Zeitliche Trends in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer konnten nicht festgestellt werden, sodass der Transfer primär von individuellen Eigenschaften der Kartoffeln abhängig zu sein scheint. Der Vergleich der Ergebnisse, die mit den drei Bestimmungsmethoden ermittelt wurden, zeigte, dass die LC-MS-Methode die Belastung mit Chlorpropham-Rückständen in allen Kochwasserproben und den frisch gekochten Kartoffeln (zwölf Tage bis zwei Monate) repräsentativ darstellte. In den nach vier und sechs Monaten gekochten Kartoffeln lieferten die extraktionsabhängigen Methoden (LC-MS und Extrakt-LSC) deutliche Unterbefunde. Das Ausmaß der Unterbefunde korrelierte mit der Stärke des Wasserverlustes. Diese Unterbefunde können einerseits durch die Bildung von nicht-extrahierbaren Rückständen oder durch die Bildung von Abbauprodukten erklärt werden, die nach der Extraktion durch die Cleanup-Schritte entfernt wurden. Dies könnte beispielsweise Addukte mit Kohlenhydraten betreffen, die durch das PSA-Cleanup-Material gebunden wurden [164, 165]. Da dieser Effekt nur in den Langzeit-gelagerten Proben mit schrumpeligem Erscheinungsbild auftrat, wird er auf den Wasserverlust durch die erhöhten Temperaturen zurückgeführt und kann nicht auf handelsüblich gelagerte Kartoffeln übertragen werden.

Unabhängig von der Lagerungsdauer konnte nach dem Frittierprozess eine mittlere Rückstandsmenge von 27% \pm 3% in den frittierten Kartoffeln ermittelt werden. Der in dieser Studie bestimmte mittlere Verarbeitungsfaktor liegt mit einem Wert von 0,27 somit etwa in der Größenordnung der Werte, die in der Datenbank des BfR für das Frittieren ungeschälter Kartoffeln hinterlegt sind (PF = 0,13 – 0,17) [127]. In der vorliegenden Arbeit wurden im Mittel 47% \pm 15% der zuvor in den Rohkartoffeln vorhandenen Rückstände in das Frittieröl transferiert. Mit Anstieg der Lagerungszeit fielen die Rückstandsmengen im Öl von 69% nach zwölf Tagen auf 32% nach sechs Monaten. Der Verlust durch Verflüchtigung aus dem System hingegen stieg umgekehrt mit verlängerter Lagerungsperiode. Im Gegensatz zu den gekochten Kartoffeln konnte in den frittierten Kartoffeln und im Frittieröl ein deutlicher Anteil an gebundenem Chlorpropham ermittelt werden. Anteile an der Individualbelastung in

der jeweiligen Matrix von circa 20% in den frittierten Kartoffeln beziehungsweise circa 15% im Frittieröl belegen die Relevanz gebundener Analyten für die Gesamtbelastung mit Chlorpropham-Rückständen. Im Falle der frittierten Kartoffeln, die nach maximal zwei Monaten Lagerungszeit frittiert wurden, zeigte die LC-MS-Methode im Methodenvergleich eine hohe Repräsentanz für die tatsächliche Gesamtbelastung. Bei den länger gelagerten Proben (vier und sechs Monate) wiederum lieferte die Extraktionsmethode deutliche Unterbefunde. Die Gründe werden als ähnlich erachtet wie zuvor für die Kochversuche beschrieben und können aufgrund der unüblichen Lagerungsbedingungen nicht zwingend auf kommerziell gelagerte Kartoffeln übertragen werden. Im Frittieröl hingegen erwies sich die LC-MS-Methode unabhängig von der Lagerungszeit als geeignet, um die Chlorpropham-Rückstände quantitativ zu erfassen.

In den Backversuchen wurde ebenfalls ein deutlicher Minimierungseffekt durch den Verarbeitungsprozess beobachtet. In den gebackenen Kartoffeln konnten im Mittel etwa $22\% \pm 3\%$ der vor dem Backen vorhandenen Chlorpropham-Rückstände ermittelt werden. Dies entspricht folglich einem Verlust durch Verflüchtigung von circa 78%. In der Datenbank des BfR für Verarbeitungsfaktoren wird für das Backen Chlorpropham-behandelter Kartoffeln ein mittlerer Verarbeitungsfaktor von 0,57 beschrieben. Aus den Informationen der Datenbank geht jedoch nicht hervor, in welcher Form und bei welchen Temperaturen die ungeschälten Kartoffeln gebacken wurden [127]. Mögliche Temperaturunterschiede und Unterschiede in der Erhitzungstechnik (beispielsweise Heißluft im Vergleich mit Umluft) können folglich als Erklärung für die beobachteten Differenzen herangezogen werden. Ähnlich wie zuvor im Fall der gekochten Kartoffeln beschrieben, könnte die Differenz auch durch unterschiedliche Größe und Dicke der Kartoffelspalten erklärt werden. In den im Rahmen dieser Arbeit gebackenen Kartoffeln lag der Anteil von gebundenem Chlorpropham in einer ähnlichen Größenordnung wie zuvor bei den frittierten Kartoffeln. Somit kann geschlussfolgert werden, dass Chlorpropham durch die trockene Hitze partiell gebunden (chemisch oder physisch) wird und folglich mit üblichen Extraktionsmethoden nicht mehr direkt zugänglich ist. Der Methodenvergleich zeigte ein sich wiederholendes Muster zwischen den Ergebnissen der drei Methoden. Die Diskrepanzen zwischen den Oxidizer- und den Extrakt-LSC-Ergebnissen deuteten auf die Bildung von nicht-extrahierbaren Rückständen oder auf

die Bildung von Substanzen hin, die durch die Aufreinigungsschritte abgetrennt wurden. Die Differenzen zwischen den Extrakt-LSC- und den LC-MS-Ergebnissen hingegen zeigen die Präsenz von verarbeitungsbedingten Abbauprodukten, die zwar extrahierbar waren, aber nicht mit der Bestimmung von Chlorpropham und 3-Chloranilin abgedeckt wurden. Somit umfasst die entwickelte LC-MS-Methode nicht das gesamte Spektrum an Chlorpropham-Rückständen in gebackenen Kartoffeln. Folglich werden zum einen tatsächliche Rückstände quantitativ unterbewertet. Zum anderen besteht die Gefahr, dass die aktuelle Risikobewertung des Wirkstoffs Chlorpropham durch das Vorliegen unbekannter Abbauprodukte obsolet wird und entsprechend des Vorsorgeprinzips der Europäischen Union überholt werden muss [7, 14]. Die Identität der nicht-extrahierbaren und der nicht-quantifizierten Abbauprodukte konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter aufgeklärt werden und muss in künftigen Studien adressiert werden, um die Exposition von Verbrauchern gegenüber Chlorpropham-Rückständen umfassend zu beschreiben.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeugen generell von starken Minimierungseffekten durch die drei Verarbeitungsprozesse. Weiterhin muss in Betracht gezogen werden, dass Kartoffeln vor vielen häuslichen, kommerziellen und industriellen Prozessen gewaschen und/oder geschält werden. Lentza-Rizos und Balokas zeigten, dass die Chlorpropham-Rückstände durch das Waschen der Kartoffeln um 33% bis 47% vermindert werden. Weiter wurde beschrieben, dass die Rückstände durch das Schälen der Kartoffeln um 91% bis zu 98% reduziert wurden [17]. Sakaliene et al. berichteten ebenfalls von hohen Chlorpropham-Gehalten in den abgetrennten Schalen und im Waschwasser von behandelten Kartoffeln [19]. Eine erhebliche Minderung der Chlorpropham-Rückstände durch das Schälen von Kartoffeln wird ebenfalls durch veröffentlichte Verarbeitungsfaktoren > 1 in der Datenbank des BfR beschrieben [127]. Unter Berücksichtigung der Kombination einfacher Wasch- und Schälsschritte mit den in dieser Arbeit untersuchten Erhitzungsprozessen ist zu schlussfolgern, dass die Chlorpropham-Gehalte in zahlreichen verzehrfertigen Kartoffelprodukten deutlich minimiert vorliegen. In einigen Worst-Case-Fällen hingegen, in denen Kartoffeln üblicherweise ungeschält verzehrt werden, kann der Einfluss der Lebensmittelzubereitung auf die Senkung der Verbraucherexposition deutlich geringer ausfallen. Dazu gehören beispielsweise die untersuchten Kartoffelecken (Potato Wedges), Pellkartoffeln oder Folienkartoffeln. Die derzeitigen

Expositionsschätzungen der EFSA [53, 54] müssen deshalb unter Berücksichtigung eines breiten Spektrums typischer Verarbeitungsprozesse angepasst werden. In der derzeitigen Stellungnahme der EFSA wird angenommen, dass die Berücksichtigung von Verarbeitungsschritten zu einer Minderung der Chlorpropham-Exposition führt. Hinsichtlich der Exposition gegenüber 3-Chloranilin wurde dieser reduzierende Effekt von der EFSA jedoch nicht angenommen, da die verarbeitungsbedingte Bildung von 3-Chloranilin vermutet wurde [53]. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen jedoch, dass unter den getesteten Verarbeitungsbedingungen keine messbaren Mengen an 3-Chloranilin gebildet werden. Das während der Lagerung gebildete 3-Chloranilin verblieb gänzlich in der Kartoffel und wurde nicht in die umgebenden Medien übertragen. Daraus ist abzuleiten, dass die Berücksichtigung von Erhitzungsprozessen in Form von Verarbeitungsfaktoren keinen Einfluss auf die Verbrauchereexposition gegenüber 3-Chloranilin hat. Die Berücksichtigung einfacher physischer Verarbeitungsschritte wie das Waschen oder Schälen von Kartoffeln sollte hingegen einen starken Einfluss auf die Exposition haben, da hohe Mengen an Chlorpropham-Rückständen aufgrund der direkten Applikation in der Schale vorliegen [19, 54]. Da der aktuelle ARfD-Grenzwert nach vorläufigen Schätzungen der EFSA für 3-Chloranilin um 2360% überschritten wird [53], ist jedoch fraglich inwiefern die beschriebenen Minimierungseffekte die tatsächlichen Aufnahmemengen soweit mindern können, dass akute und chronische Expositionsgrenzen eingehalten werden.

Die Gesamtgehalte an 3-Chloranilin, die im Rahmen dieser Arbeit in den behandelten und gelagerten Kartoffeln gemessen wurden, lagen im Bereich von maximal 0,4% der Gesamtrückstände an Chlorpropham und wurden in den Proben nach sechsmonatiger Lagerung ermittelt. In den Proben, die einen offensichtlich starken Wasserverlust aufwiesen, lag der Maximalgehalt bei 1,2% 3-Chloranilin. In Zulassungsstudien wurden jedoch deutlich höhere Werte von bis zu 3,6% der gesamten radioaktiven Rückstände (TRR, engl. *total radioactive residues*) in der Schale und bis zu 6% der TRR in der geschälten Knolle ermittelt [54]. Als Erklärung für diese Unterschiede wird die Lagerung bei Raumtemperatur in dieser Arbeit angeführt, die bei der kommerziellen Anwendung üblicherweise bei niedrigeren Temperaturen von etwa 8 – 12 °C stattfindet [52, 91]. Zusätzlich zur Bildung als Metabolismusprodukt während der Lagerung kann 3-Chloranilin bereits während der

Applikation einiger Chlorpropham-Präparate entstehen. Smith et al. zeigten, dass die hohen Temperaturen während der Heißvernebelung von bis zu mehreren Hundert Grad Celsius zu einer Pyrolyse des Chlorprophams unter Bildung von 3-Chloranilin führen [82]. Sanftere Applikationstechniken wie die Nutzung von Pudern oder das Besprühen mit einer Emulsion führen nicht zu einer Bildung von 3-Chloranilin, erfordern jedoch insgesamt höhere Aufwandsmengen an appliziertem Chlorpropham und führen folglich zu insgesamt höheren Rückstandsmengen auf beziehungsweise in den Produkten [52].

Während der Wirkstoff Chlorpropham noch weltweit genutzt wird [95-97], wurde die Zulassung für Chlorpropham in der Europäischen Union im Frühjahr 2019 zurückgezogen unter anderem aufgrund der Bedenken der EFSA gegenüber der Gefahren von 3-Chloranilin [34, 53]. Im Rahmen der Verordnung (EU) 2017/2158 zur Minderung der Acrylamidbelastung von Verbrauchern hingegen wird ausdrücklich der Einsatz von Keimungshemmern empfohlen, da so die Lagerung bei Temperaturen oberhalb von 6 °C ermöglicht und die Verzuckerung der Stärke eingeschränkt wird [109]. Alternative Produkte zur Hemmung der Kartoffelkeimung werden stetig weiterentwickelt und sind bereits kommerziell erhältlich. Die Begasung der Lagerhallen mit Ethylen bietet neben der keimhemmenden Wirkung den Vorteil, dass die Risiken für den Verbraucher minimal sind. Ein Nachteil der Ethylen-Behandlung stellt die damit einhergehende erhöhte Verzuckerung der Stärke dar. Dies führt wiederum zu einem süßeren Geschmack der Kartoffeln und aufgrund der Beschleunigung der Maillard-Reaktion zu dunkleren Frittierprodukten [166]. Dadurch ist die Nutzung von Ethylen nicht für jeden Verwendungszweck der Kartoffeln geeignet. Weitere Alternativen wie Maleinsäurehydrazid oder Dimethylnaphthalin werden ebenfalls bereits vermarktet und eingesetzt [79, 167].

5.4 Versuchsübergreifende Diskussion

Die in den Versuchsteilen mit drei verschiedenen Substanzen untersuchten Lebensmittelverarbeitungsprozesse zeigen drei unterschiedliche Ergebnisse, die im Folgenden eingeordnet werden sollen.

Während bei der Erhitzung des Imidazolfungizids Prochloraz in Rapsöl auf Temperaturen von bis zu 240 °C ein starker Abbau unter Bildung von elf zum Teil erstmals beschriebenen Abbauprodukten beobachtet wurde, konnte während der Erhitzung des Insektizids Deltamethrin in Tomatenprodukten trotz ähnlicher Temperaturen kein deutlicher Abbau identifiziert werden. Im Falle des Keimungshemmers Chlorpropham konnte gezeigt werden, dass die von der EFSA vermutete Bildung von 3-Chloranilin [53] während der Zubereitung von Kartoffelprodukten ausblieb. Beim Backen der Chlorpropham-haltigen Kartoffeln hingegen konnten Hinweise über die Bildung von nicht-extrahierbaren und nicht bestimmten Rückständen gewonnen werden, die künftig weiter aufgeklärt werden müssen.

Wie anfangs bei der Beschreibung der einzelnen Wirkstoffe beschrieben (vgl. Kapitel 0), liegen für alle drei Wirkstoffe Daten aus Hydrolysestudien nach der OECD 507 Richtlinie vor, die chemische Reaktionen während der Lebensmittelverarbeitung widerspiegeln sollen [11, 53, 69, 75]. Im Fall von Prochloraz wird unter den Sterilisierungsbedingungen (120 °C, 20 min, pH 6) ein maximaler Abbau von 5% des Wirkstoffes beschrieben [69]. Das erwartete Abbauprodukt BTS 40348 konnte in erhitztem Rapsöl ebenfalls qualitativ erfasst werden, war quantitativ jedoch von geringer Relevanz. Zusätzlich zu dem zu erwartenden Abbauprodukt konnten im erhitzten Öl weitere zehn verarbeitungsbedingte Abbauprodukte ermittelt werden, die durch die Hydrolysestudie nach OECD 507 Richtlinie nicht abgedeckt werden. Neben der Identifizierung der finalen Abbauprodukte Imidazol und Trichlorphenol konnten auch Produkte detektiert werden, die chemische Reaktionen zwischen dem Fungizid und Matrixbestandteilen des Öls belegen. Dies betrifft in erster Linie die identifizierten Addukte aus Fettsäuren und dem Prochloraz-Rückgrat Icpame, aber auch die Produkte PO143, PO153, PO157 und PO336. Obwohl deren Strukturen nur teilweise aufgeklärt werden konnten, belegen die abgeleiteten Summenformeln jedoch, dass diese nicht durch einfachen hydrolytischen

Bindungsbruch entstanden sein können. Diese komplexen Interaktionen zwischen einem Pflanzenschutzmittelwirkstoff und den Inhaltsstoffen eines Lebensmittels wurden im Rahmen dieser Arbeit erstmals beschrieben. Da chemische Reaktionen im Rahmen der OECD 507 Richtlinie auf die Interaktion des Wirkstoffes mit Wasser und dem pH-Modifier limitiert sind, wird eine Schwachstelle im derzeitigen Zulassungsverfahren offensichtlich.

Bei den Verarbeitungsversuchen mit Deltamethrin während der Herstellung von Tomatenprodukten konnten ebenfalls deutliche Diskrepanzen zwischen den Ergebnissen dieser Arbeit und denen der Hydrolysestudien beobachtet werden. Unter den schonendsten Bedingungen (90 °C, 20 min, pH 4) der OECD 507 Richtlinie wird bereits ein geringer hydrolytischer Abbau beschrieben, der unter den Sterilisierungsbedingungen (120 °C, 20 min, pH 6) ein verstärktes Ausmaß von bis zu 75% annimmt [75]. Im Gegensatz zu diesem starken Abbau konnte während des Einengens von Tomatenpüree sowie während des Backens und Anbratens von Tomatenmark kein Abbau beobachtet werden. Dies belegt, dass die Hydrolysestudien den tatsächlichen Abbau in einigen Fällen überschätzen können. Als ausschlaggebend wird angenommen, dass die untersuchten realistischen Verarbeitungsprozesse eine verstärkte Exposition gegenüber zunehmend trockener Hitze beinhalten. Im Gegensatz zur trockenen Hitze sollten die vereinfachten Bedingungen der OECD 507 Richtlinie in Wasser hydrolytische Reaktionen entsprechend des Massenwirkungsgesetzes verstärkt begünstigen [168].

Analog sind die Differenzen zwischen den Ergebnissen dieser Arbeit und denen der Hydrolysestudien von Chlorpropham zu bewerten. Während in den Zulassungsstudien von Chlorpropham ein Abbau von 1,3% zu 3-Chloranilin beschrieben wird und noch höhere Bildungsraten bei erhöhten Temperaturen von der EFSA vermutet werden, wurde in den realitätsnahen Versuchen dieser Arbeit keine Bildung von 3-Chloranilin beobachtet. Unter Berücksichtigung der im Vergleich zu Chlorpropham höheren toxikologischen Relevanz von 3-Chloranilin wird die tatsächliche Bildung von 3-Chloranilin während der Lebensmittelverarbeitung durch die OECD 507 Richtlinie folglich überbewertet. Es ist jedoch anzumerken, dass bereits die Bildung von 3-Chloranilin während der Heißnebelapplikation und während

der Lagerung ohne Berücksichtigung der Lebensmittelverarbeitung zu deutlichen Überschreitungen der akuten und chronischen Expositionsgrenzen führt [53, 82].

Im Falle aller drei untersuchten Pflanzenschutzmittelwirkstoffe konnten demnach Unterschiede zwischen realitätsnahen Verarbeitungsschritten und den simulativen Hydrolysebedingungen der OECD 507 Richtlinie festgestellt werden. Diese Differenzen betonen die Notwendigkeit, realitätsnahe Lebensmittelzubereitungsschritte in das Zulassungsverfahren von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen einzubetten, um die Exposition von Verbrauchern gegenüber Rückständen qualitativ und quantitativ nachvollziehen zu können.

Ähnlich wie in anderen (für die Zulassung in der EU bereits geforderten) Metabolismus- und Abbauversuchen der Wirkstoffe ist der Einsatz radioanalytischer Methoden von bedeutendem Vorteil. In den drei Versuchsteilen konnten verschiedene Vorteile dieser Technik aufgezeigt werden. Grundsätzlich erlaubt die Messung der Radioaktivität in flüssigen und festen Proben eine vollständige Bilanzierung und somit die Unterscheidung zwischen nicht-extrahierbaren Rückständen und Verlusten durch Verflüchtigung. Dies spielte insbesondere im Falle der Produkte von Chlorpropham-behandelten Kartoffeln eine wichtige Rolle und erlaubte erstmals fundierte Aussagen über die Minimierungseffekte der untersuchten Verarbeitungsschritte. Bisherige Studien ohne den Einsatz von ^{14}C -Chlorpropham [15, 17, 19] konnten lediglich Rückschlüsse über die Rückstände des Wirkstoffes selbst ziehen. Anhand der Messungen der Radioaktivität in allen Matrices konnten auch Transferprozesse der Substanzen in umliegende Medien beobachtet werden. Bei der Identifizierung von Prochloraz-Abbauprodukten in den erhitzten Rapsölproben bot die Nutzung radioanalytischer Methoden weitere Vorteile. Zum einen erlaubte die hochselektive Detektion mittels des Raddetektors die Bestätigung des Vorliegens von Abbauprodukten anhand zusätzlicher Peaks neben der Ausgangssubstanz. Zum anderen konnte anhand der Retentionszeiten die entsprechenden Massenspektren zugeordnet werden. Bei der Auswertung der HRMS-Daten wiederum konnten die entsprechenden m/z -Verhältnisse anhand des spezifischen $^{12}\text{C}/^{14}\text{C}$ -Isotopenverhältnisses selektiv von den Begleitsignalen herausgefiltert werden. Dies stellte ein wichtiges Werkzeug bei der Strukturaufklärung

von verarbeitungsbedingten Abbauprodukten – insbesondere der Icpame-Fettsäure-Addukte – dar.

Bei der Bewertung der Ergebnisse der in dieser Arbeit durchgeführten Verbleibsstudien müssen qualitative und quantitative Aspekte beachtet werden. Aus qualitativer Sicht stellt die Bildung der erstmals beschriebenen Abbauprodukte von Prochloraz eine Wissenslücke hinsichtlich der Risikobewertung dar. Gleiches gilt für die nicht-extrahierbaren und nicht quantifizierten Chlorpropham-Rückstände in den gebackenen Kartoffeln. Da derzeit keine toxikologischen Daten zu diesen Unbekannten vorliegen, müssen diese in künftigen Studien erhoben werden.

Im Allgemeinen kann die Bildung von Abbauprodukten positive und negative Effekte auf die Risikobewertung haben, die substanz- und prozessindividuell abgewogen werden müssen. Wenn verarbeitungsbedingte Abbauprodukte als toxikologisch weniger bedenklich als ihre Ausgangssubstanz eingestuft werden, kann aufgrund der Risikominderung ein positiver Effekt angenommen werden. Umgekehrt kann eine Verstärkung toxikologischer Eigenschaften durch Abbaureaktionen negative Folgen für die Risikobewertung von Pflanzenschutzmitteln mit sich führen. Dies wiederum kann das Zurückziehen oder Änderungen von Zulassungen durch die zuständigen nationalen und europäischen Behörden bewirken, wenn erkannte Risiken als unannehmbar eingestuft werden [169].

In quantitativer Hinsicht konnten mit der Erhitzung von Deltamethrin in Tomatenprodukten und mit der Verarbeitung Chlorpropham-behandelter Kartoffeln Beispiele für positive und negative Aspekte aufgezeigt werden. Bei der Herstellung der Tomatenprodukte konnte durch den einhergehenden Wasserverlust eine Ankonzentrierung der Deltamethrin-Gehalte vom Tomatenpüree bis zum gebackenen Tomatenmark beobachtet werden. Andere Beispiele für die verarbeitungsbedingte Erhöhung von Rückstandsgehalten sind beispielsweise die Trocknung von Früchten oder die Speiseölraffination [16, 18, 22, 125]. Dabei können trotz konstanter Absolutmengen Gehalte oberhalb der jeweiligen Rückstandshöchstgehalte entstehen. Diese Grenzwerte gelten entsprechend der Verordnung (EG) Nr. 396/2005 primär für rohes Obst und Gemüse. Nach Artikel 20 der Verordnung können verarbeitungsbedingte Konzentrationsfaktoren jedoch berücksichtigt werden sofern diese vorliegen und von den Zulassungsbehörden als ausreichend abgesichert

eingestuft werden [42]. Deutlich minimierende Effekte konnten am Beispiel des Keimungshemmers Chlorpropham während der Koch-, Frittier- und Backvorgänge von Kartoffelprodukten beobachtet werden. Die Verluste traten dabei durch den Transfer der Substanz in umliegende Matrices (Kochwasser und Frittieröl) sowie durch die Verflüchtigung des Analyten auf. Die Minimierung der Rückstandsgehalte in den verzehrfertigen Lebensmitteln stellt somit einen positiven Effekt der Lebensmittelverarbeitung dar. Die Bildung hochpolarer Abbauprodukte während der Erhitzung von Prochloraz in Rapsöl kann ferner als Chance für weitere Minimierungseffekte beispielsweise in industriellen Prozessen dienen. So könnten polare Abbauprodukte während der vielfältigen Schritte der Speiseölraffination wie der Entlecithinierung oder der Desodorierung abgetrennt werden. Die industrielle Bleichung der Öle könnte weiterhin auch unpolare Substanzen, wie beispielsweise die identifizierten Fettsäure-Addukte, abtrennen und somit ebenfalls einen minimierenden Effekt herbeiführen.

Anhand der drei Beispielsubstanzen in den jeweiligen Lebensmitteln lässt sich bereits ableiten, wie substanz-, matrix- und prozessabhängig der Verbleib von Substanzen während der Verarbeitung von Lebensmitteln ist. Die Versuchsergebnisse zeigen jedoch, dass das derzeitige Verfahren in der Zulassung von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen aufgrund stark limitierter Bedingungen nicht geeignet ist, um chemische Reaktionen während der Lebensmittelverarbeitung repräsentativ darzustellen.

6 Ausblick

Die Ergebnisse dieser Arbeit geben einen ersten Eindruck über die Komplexität des Verhaltens von Pflanzenschutzmittelrückständen während der Verarbeitung von Lebensmitteln und sollen als Anlass für weitere notwendige Forschungsarbeiten dienen.

Aufbauend auf den Ergebnissen dieser Arbeit müssen künftige Studien im Fall von Prochloraz klären, ob die erstmals identifizierten Fettsäure-Addukte und die weiteren Abbauprodukte von toxikologischer Relevanz für den Verbraucher sind und ob diese auch in Prozessen der industriellen Speiseölraffination oder in häuslichen Verarbeitungsschritten entstehen. Weiterhin müssen die bisher nur partiell identifizierten Abbauprodukte von Prochloraz (PO143, PO153, PO157 und PO336) und von Chlorpropham (nicht-extrahierbare und nicht quantifizierte Rückstände) weiter identifiziert werden, um ein klareres Bild über die chemischen Reaktionen dieser Substanzen während der Lebensmittelverarbeitung zu erhalten.

Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen erahnen, dass die durchgeführten Versuche lediglich einen geringen Prozentsatz einer immensen Wissenslücke abdecken und primär als Stein des Anstoßes für weitere Studien dienen. Unter Berücksichtigung von aktuell beinahe 500 in der EU zugelassenen Pflanzenschutzmittelwirkstoffen [45] und wahrscheinlich tausenden, regional unterschiedlichen Variationen von Verarbeitungsprozessen lässt sich die Dimension dieser Daten- und Wissenslücke nur ansatzweise abschätzen. Die Ausweitung derzeitiger Zulassungsverfahren auf Verbleibsuntersuchungen während der realitätsnahen Verarbeitung von Lebensmitteln stellt zweifelsohne einen immensen Zeit- und Kostenaufwand dar. Ein holistischer Ansatz, bei dem pflanzliche Erzeugnisse aus Anbau- und Metabolismusstudien mit radioaktiv markierten Substanzen nach einem „*from farm to fork*“-Prinzip für weitere Verarbeitungsprozesse zur Verfügung gestellt werden, stellt die sicherlich umfassendste und sicherste Lösung dar. Eine Umsetzung für alle Pflanzenschutzmittelwirkstoffe und Verarbeitungsschritte muss aufgrund der Komplexität und dem damit verbundenen Aufwand jedoch als impraktikabel eingestuft werden. Stattdessen sollte die Etablierung modellhafter Experimente und die Identifizierung substanzspezifischer Worst-Case-Szenarien angestrebt werden.

Solche Modellexperimente könnten beispielsweise die Erhitzung von Wirkstoffen in Gegenwart eines erweiterten Spektrums an Lebensmittelinhaltsstoffen wie Ölen, Proteinen, Kohlenhydraten und – wie in der OECD 507 Richtlinie – Wasser umfassen. Die Temperaturen sollten sich dabei nach realistischen Maßstäben traditioneller und moderner Verarbeitungsprozesse richten, deren Temperaturen das derzeit zu testende Maximum von 120 °C deutlich überschreiten [12, 170]. Wenn im Rahmen dieser Modellversuche potentielle Risiken erkannt werden, können diese in komplexeren und realitätsnäheren Versuchen auf ihre tatsächliche Relevanz überprüft werden. So ist es langfristig möglich, die Lebensmittelqualität umfassend zu erhöhen und Gesundheitsrisiken für Verbraucher, Tiere und die Umwelt zu minimieren.

7 Literaturverzeichnis

1. Appel, K.E. and K. Abraham, *Chemische Lebensmittelsicherheit*. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz, 2010. **53**(6): p. 534-542.
2. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit. *Warum Pflanzenschutzmittel?* 2019 zuletzt besucht am 09.07.2019; Verfügbar unter: https://www.bvl.bund.de/DE/04_Pflanzenschutzmittel/02_Verbraucher/01_NutzenPSM/psm_NutzenPSM_node.html.
3. Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL). *Rückstände von Pflanzenschutzmitteln - Gesundheit geht vor*. 2017; Verfügbar unter: https://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/Broschueren/Pflanzenschutzmittel-Rueckstaende.pdf?__blob=publicationFile.
4. United Nations Department of Economic and Social Affairs; Population Division, *World Population Prospects 2019: Highlights (ST/ESA/SER.A/423)*. 2019.
5. Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz, *Pflanzenschutzgesetz vom 6. Februar 2012 (BGBl. I S. 148, 1281), das zuletzt durch Artikel 4 Absatz 84 des Gesetzes vom 18. Juli 2016 (BGBl. I S. 1666) geändert worden ist*. 2012.
6. Thieme Römpf Online. *Eintrag für "Pflanzenschutzmittel"*. 2013 Februar 2013 [cited zuletzt besucht am 09.07.2019].
7. European Commission, *Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC*, European Union, Editor. 2009.
8. Dressel, K., et al., *Pesticide Residues in Food: Public Perceptions in Germany - A Summary Report*. BfR Wissenschaft. 2011: BfR Printing House Dahlem.
9. Damalas, C.A. and I.G. Eleftherohorinos, *Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators*. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2011. **8**(5).
10. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), *FAO - Statistical Pocketbook World food and agriculture*. 2015, Rome.
11. OECD, *Test No. 507: Nature of the Pesticide Residues in Processed Commodities - High Temperature Hydrolysis*. 2007: OECD Publishing.
12. Europäisches Parlament, *Verordnung (EG) Nr. 1334/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Dezember 2008 über Aromen und bestimmte Lebensmittelzutaten mit Aromaeigenschaften zur Verwendung in und auf Lebensmitteln sowie zur Änderung der Verordnung (EWG) Nr. 1601/91 des Rates, der Verordnungen (EG) Nr. 2232/96 und (EG) Nr. 110/2008 und der Richtlinie 2000/13/EG*, Europäische Union, Editor. 2008.
13. OECD, *Test No. 508: Magnitude of the Pesticide Residues in Processed Commodities*. 2008: OECD Publishing.
14. Europäische Union, *Konsolidierte Fassung des Vertrags über die Arbeitsweise der Europäischen Union - DRITTER TEIL - DIE INTERNEN POLITIKEN UND MASSNAHMEN DER UNION TITEL XX - UMWELT Artikel 191 (ex-Artikel 174 EGV)*, Europäische Union, Editor. 2016.

15. Camire, M.E., R.J. Bushway, J. Zhao, B. Perkins, and L.R. Paradis, *Fate of Thiabendazole and Chlorpropham Residues in Extruded Potato Peels*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1995. **43**(2): p. 495-497.
16. Lentza-Rizos, C., E.J. Avramides, and K. Kokkinaki, *Residues of azoxystrobin from grapes to raisins*. J Agric Food Chem, 2006. **54**(1): p. 138-41.
17. Lentza-Rizos, C. and A. Balokas, *Residue Levels of Chlorpropham in Individual Tubers and Composite Samples of Postharvest-Treated Potatoes*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001. **49**(2): p. 710-714.
18. Lentza-Rizos, C. and K. Kokkinaki, *Residues of cypermethrin in field-treated grapes and raisins produced after various treatments*. Food Addit Contam, 2002. **19**(12): p. 1162-8.
19. Sakaliene, O., W.C. Koskinen, G. Blazauskiene, and I. Petroviene, *Level and fate of chlorpropham in potatoes during storage and processing*. J Environ Sci Health B, 2009. **44**(1): p. 1-6.
20. Uysal-pala, C. and A. Bilisli, *Fate of endosulfan and deltamethrin residues during tomato paste production*. Journal of central European agriculture, 2006. **7**(2): p. 343-348.
21. Gonzalez-Rodriguez, R.M., R. Rial-Otero, B. Cancho-Grande, C. Gonzalez-Barreiro, and J. Simal-Gandara, *A review on the fate of pesticides during the processes within the food-production Chain*. Crit Rev Food Sci Nutr, 2011. **51**(2): p. 99-114.
22. Amvrazi, E.G. and T.A. Albanis, *Multiclass Pesticide Determination in Olives and Their Processing Factors in Olive Oil: Comparison of Different Olive Oil Extraction Systems*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008. **56**(14): p. 5700-5709.
23. Holland P. T. , Hamilton D., Ohlin B., and Skidmore M. W., *Effects of storage and processing on pesticide residues in plant products*. Pure & Appl. Chem, 1994.
24. Cassidy, P., *The Use of Radiolabeled Compounds for Residue Method Development*, in *Current Challenges and Advancements in Residue Analytical Methods*. 2019, American Chemical Society. p. 17-22.
25. Schaefer, M., *Wörterbuch der Ökologie*. 2003: Spektrum, Akad. Verlag.
26. Europäisches Parlament, *RICHTLINIE 2009/128/EG DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 21. Oktober 2009 über einen Aktionsrahmen der Gemeinschaft für die nachhaltige Verwendung von Pestiziden*, European Union, Editor. 2009.
27. Europäisches Parlament, *VERORDNUNG (EU) Nr. 528/2012 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 22. Mai 2012 über die Bereitstellung auf dem Markt und die Verwendung von Biozidprodukten*, Europäische Union, Editor. 2012.
28. Belitz, H.-D., W. Grosch, and P. Schieberle, *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. 5., vollst. überarb. Aufl. ed. 2001, Berlin: Springer. 1059 S.
29. Amarjit S. Basra, *Plant Growth Regulators in Agriculture and Horticulture - Their Role and Commercial Uses*. 2000, Binghampton: Food Products Press.
30. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, *Absatz an Pflanzenschutzmitteln in der Bundesrepublik Deutschland - Ergebnisse der Meldungen gemäß § 64 Pflanzenschutzgesetz für das Jahr 2017*. 2018.
31. Schinner, F. and R. Sonnleitner, *Pflanzenschutzmittel*, in *Bodenökologie: Mikrobiologie und Bodenenzymatik Band III: Pflanzenschutzmittel*,

- Agrarhilfsstoffe und organische Umweltchemikalien*. 1997, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 65-217.
32. Europäische Kommission, *Verordnung (EG) NR. 1750/1999 der Kommission vom 23. Juli 1999 mit Durchführungsvorschriften zur Verordnung (EG) Nr. 1257/1999 des Rates über die Förderung der Entwicklung des ländlichen Raums durch den Europäischen Ausrichtungs- und Garantiefonds für die Landwirtschaft (EAGFL)* Europäische Union, Editor. 1999.
 33. International Agency for Research on Cancer (IARC), *IARC Monographs: Some Organophosphate Insecticides and Herbicides*. Vol. Volume 112. 2015: International Agency for Research on Cancer (IARC),.
 34. European Commission, *COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2019/989 of 17 June 2019 concerning the non-renewal of approval of the active substance chlorpropham, in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council concerning the placing of plant protection products on the market, and amending the Annex to Commission Implementing Regulation (EU) No 540/2011* European Union, Editor. 2019: Brussels.
 35. Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL), *Verordnung über das Inverkehrbringen und die Aussaat von mit bestimmten Pflanzenschutzmitteln behandeltem Saatgut (Pflanzenschutz-Saatgut-Anwendungsverordnung – PflSchSaatgAnwendV) vom 22. Juli 2016*, in *Bundesgesetzblatt Jahrgang 2016 Teil I Nr. 36*. 2016: Bonn.
 36. Rauh, V.A., et al., *Brain anomalies in children exposed prenatally to a common organophosphate pesticide*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2012. **109**(20): p. 7871-7876.
 37. Allsop, M., C. Huxdorff, P. Johnston, D. Santillo, and K. Thompson, *Greenpeace: Pesticides and our Health - A GROWING CONCERN*. 2015, Exeter: Greenpeace Research Laboratories.
 38. OECD. *OECD Test Guidelines for the Chemicals*. 2019 zuletzt besucht am 13 Juni 2019]; Verfügbar unter: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm>.
 39. OECD, *Test No. 307: Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil*. 2002.
 40. OECD, *Test No. 501: Metabolism in Crops*. 2007.
 41. OECD, *Test No. 503: Metabolism in Livestock*. 2007.
 42. Europäisches Parlament, *VERORDNUNG (EG) Nr. 396/2005 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 23. Februar 2005 über Höchstgehalte an Pestizidrückständen in oder auf Lebens- und Futtermitteln pflanzlichen und tierischen Ursprungs und zur Änderung der Richtlinie 91/414/EWG des Rates*, Europäische Union, Editor. 2005.
 43. Banasiak, U., H. Hesecker, C. Sieke, C. Sommerfeld, and C. Vohmann, *Abschätzung der Aufnahme von Pflanzenschutzmittel-Rückständen in der Nahrung mit neuen Verzehrsmengen für Kinder*. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforsch.Gesundheitsschutz, 2005. **48**(1): p. 84-98.
 44. Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz, *Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch (Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch - LFGB)*. 2005.
 45. European Commission. *EU Pestizid-Datenbank*. 2019 zuletzt besucht am 13. Juli 2019]; Verfügbar unter: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=homepage&language=EN>.

46. European Food Safety Authority (EFSA), *Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance prochloraz*. EFSA Journal, 2011. **9**(7): p. 2323.
47. Vinggaard, A.M., et al., *Prochloraz: an imidazole fungicide with multiple mechanisms of action*. Int J Androl, 2006. **29**(1): p. 186-92.
48. GESTIS-Stoffdatenbank. *Eintrag für "Imidazol"*. 2016 zuletzt besucht am 27. Juli 2019; Verfügbar unter: [http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_de/027150.xml?f=templates\\$fn=default-doc.htm\\$3.0](http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_de/027150.xml?f=templates$fn=default-doc.htm$3.0).
49. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, *PSM-Zulassungsbericht (Registration Report) - Bayer Garten Schädlingfrei Decis*. 2010: Braunschweig.
50. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, *PSM-Zulassungsbericht (Registration Report) - Bayer Garten Insektenspray Decis*. 2010: Braunschweig.
51. Mohammed, N.M.S., T.H. Flowers, and H.J. Duncan, *Development and Validation of an HPLC Method for the Analysis of Chlorpropham and 3-Chloroaniline in Potato Extracts*. Chromatography Research International, 2014. **2014**: p. 5.
52. Paul, V., R. Ezekiel, and R. Pandey, *Sprout suppression on potato: need to look beyond CIPC for more effective and safer alternatives*. Journal of food science and technology, 2016. **53**(1): p. 1-18.
53. European Food Safety Authority, et al., *Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance chlorpropham*. EFSA Journal, 2017. **15**(7): p. e04903.
54. European Food Safety Authority (EFSA), *Review of the existing maximum residue levels (MRLs) for chlorpropham according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005*. EFSA Journal, 2012. **10**(2): p. 2584.
55. Copping, L.G., R.J. Birchmore, K. Wright, and D.H. Godson, *Structure-activity relationships in a group of imidazole-1-carboxamides*. Pest Management Science, 1984. **15**(3): p. 280-284.
56. Hof, H., *Critical annotations to the use of azole antifungals for plant protection*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2001. **45**(11): p. 2987-2990.
57. Snelders, E., et al., *Triazole fungicides can induce cross-resistance to medical triazoles in Aspergillus fumigatus*. PLoS One, 2012. **7**(3): p. e31801.
58. European Commission. *EU Pesticide database*. 2018 last access on 31-01-2018]; Verfügbar unter: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.selection&language=EN>.
59. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, *PSM-Zulassungsbericht (Registration Report) - Mirage 45 EC*. 2011.
60. GESTIS-Stoffdatenbank. *Eintrag für "N-Propyl-N-(2-(2,4,6-trichlorphenoxy)ethyl)-1H-imidazol-1-carboxamid"*. 2018 zuletzt besucht am 17. Juli 2019; Verfügbar unter: [http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_de/000000.xml?f=templates\\$fn=default.htm\\$vid=gestisdeu:sdbdeu\\$3.0](http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_de/000000.xml?f=templates$fn=default.htm$vid=gestisdeu:sdbdeu$3.0).
61. Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. *FAO Specifications and Evaluations for Agricultural Pesticides - Prochloraz*. 2007 zuletzt besucht am 17. Juli 2019]; Verfügbar unter: http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Specs/Prochloraz_2009.pdf.

62. Cravedi, J.P., G. Boudry, M. Baradat, D. Rao, and L. Debrauwer, *Metabolic fate of 2,4-dichloroaniline, prochloraz and nonylphenol diethoxylate in rainbow trout: a comparative in vivo/in vitro approach*. *Aquatic Toxicology*, 2001. **53**(3): p. 159-172.
63. Debrauwer, L., E. Rathahao, G. Boudry, M. Baradat, and J. Cravedi, *Identification of the major metabolites of prochloraz in rainbow trout by liquid chromatography and tandem mass spectrometry*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2001. **49**(8): p. 3821-3826.
64. Höllrigl-Rosta, A., *Untersuchungen zur Rückstandsdynamik des Azolfungizids Prochloraz in Böden*. 1999, TU Braunschweig: Braunschweig.
65. Laignelet, L., J.-L. Riviere, and J.-C. Lhuguenot, *Metabolism of an imidazole fungicide (prochloraz) in the rat after oral administration*. *Food and chemical toxicology*, 1992. **30**(7): p. 575-583.
66. Needham, D. and I. Challis, *The metabolism and excretion of prochloraz, an imidazole-based fungicide, in the rat*. *Xenobiotica*, 1991. **21**(11): p. 1473-1482.
67. Needham, D., C.L. Creedy, and J.R. Dawson, *The profile of rat liver enzyme induction produced by prochloraz and its major metabolites*. *Xenobiotica*, 1992. **22**(3): p. 283-91.
68. Rütters, H., A. Höllrigl-Rosta, R. Kreuzig, and M. Bahadir, *Sorption behavior of prochloraz in different soils*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 1999. **47**(3): p. 1242-1246.
69. European Food Safety Authority (EFSA), *Modification of the existing MRL for prochloraz in rice on request from the European Commission*. *EFSA Journal*, 2010. **8**(4): p. 1580.
70. Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], *Prochloraz (142)*. *Pesticide Residues in Food - 2004*, 2004.
71. European Commission, *REGULATION (EU) No 520/2011 of 25 May 2011 amending Annexes II and III to Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council as regards maximum residue levels for benalaxyl, boscalid, buprofezin, carbofuran, carbosulfan, cypermethrin, fluopicolide, hexythiazox, indoxacarb, metaflumizone, methoxy- fenozide, paraquat, prochloraz, spiroadiclofen, prothioconazole and zoxamide in or on certain products*, European Union, Editor. 2011.
72. De Paoli, M., M.T. Barbina, V. Damiano, D. Fabbro, and R. Bruno, *Simplified determination of combined residues of prochloraz and its metabolites in vegetable, fruit and wheat samples by gas chromatography*. *Journal of Chromatography A*, 1997. **765**(1): p. 127-131.
73. Saavedra-Rodriguez, K., et al., *Exome-wide association of deltamethrin resistance in Aedes aegypti from Mexico*. *Insect Molecular Biology*. **0**(0).
74. Wouters, W. and J. van den Bercken, *Action of pyrethroids*. *General Pharmacology: The Vascular System*, 1978. **9**(6): p. 387-398.
75. European Food Safety Authority (EFSA), *Reasoned opinion on the review of the existing maximum residue levels for deltamethrin according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005*. *EFSA Journal*, 2015. **13**(11): p. 4309.
76. Casida, J.E., *Curious about Pesticide Action*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011. **59**(7): p. 2762-2769.
77. Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. *FAO Specifications and Evaluations for Agricultural Pesticides - Deltamethrin*. 2012 zuletzt besucht am 17. Juli 2019]; Verfügbar unter:

- http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticide_s/Specs/Deltamethrin_2016_01_15.pdf.
78. Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], *Deltamethrin (135)*. Pesticide Residues in Food - 2002, 2002: p. 167-357.
 79. Campbell, M.A., A. Gleichsner, R. Alsbury, D. Horvath, and J. Suttle, *The sprout inhibitors chlorpropham and 1,4-dimethylnaphthalene elicit different transcriptional profiles and do not suppress growth through a prolongation of the dormant state*. Plant Molecular Biology, 2010. **73**(1): p. 181-189.
 80. Vaughn, K.C. and L.P. Lehnen, *Mitotic Disrupter Herbicides*. Weed Science, 2017. **39**(3): p. 450-457.
 81. Smith, M.J. and G. Bucher, *Tools to study the degradation and loss of the N-phenyl carbamate chlorpropham--a comprehensive review*. Environ Int, 2012. **49**: p. 38-50.
 82. Smith, M.J., S. Müller, W. Sander, and G. Bucher, *Mechanisms of the thermal decay of chlorpropham*. Journal of Hazardous Materials, 2013. **246-247**: p. 154-162.
 83. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, *PSM-Zulassungsbericht (Registration Report) - Pflanzenschutzmittel: POLDER 1%*. 2013: Braunschweig.
 84. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, *PSM-Zulassungsbericht (Registration Report) - Gro-Stop Fog*. 2014: Braunschweig.
 85. GESTIS-Stoffdatenbank. *Eintrag für "Chlorpropham"*. 2015 zuletzt besucht am 17. Juli 2019; Verfügbar unter: [http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_de/000000.xml?f=templates\\$fn=default.htm\\$vid=gestisdeu:sdbdeu\\$3.0](http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_de/000000.xml?f=templates$fn=default.htm$vid=gestisdeu:sdbdeu$3.0).
 86. Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], *Chlorpropham (201)*. Pesticide Residues in Food - 2001, 2002: p. 21-90.
 87. L. Heikes, D., *Mass spectral identification of a metabolite of chlorpropham in potatoes*. Vol. 33. 1985.
 88. Balaji, V., et al., *Toxicokinetics, metabolism, and microsomal studies of chlorpropham in rats*. Toxicological & Environmental Chemistry, 2006. **88**(3): p. 527-539.
 89. Mohammed, N.S., T. Flowers, and H. Duncan, *HPLC-UV Method for the Analysis of Potato Sprout Inhibitor Chlorpropham and Its Metabolite 3-Chloroaniline in Potatoes*. Vol. 9. 2015. 78-85.
 90. Orejuela, E. and M. Silva, *Rapid determination of aniline metabolites of chlorpropham in potatoes by micellar electrokinetic chromatography using negative-charged mixed micelles and laser-induced fluorescence detection*. Electrophoresis, 2005. **26**(15): p. 2991-8.
 91. Park, L.J., *Chlorpropham distribution in potato stores and evaluation of environmental issues relating to its use* 2004, University of Glasgow: Glasgow.
 92. Sihtmäe, M., M. Mortimer, A. Kahru, and I. Blinova, *Toxicity of five anilines to crustaceans, protozoa and bacteria*. Journal of the Serbian Chemical Society, 2010. **75**(9): p. 1291-1302.
 93. European Food Safety Authority (EFSA), et al. *Pesticide Residue Intake Model - EFSA PRIMo revision 3.1*. 2019 zuletzt besucht am 15. Juli 2019; Verfügbar unter: <https://www.efsa.europa.eu/de/supporting/pub/en-1605>.
 94. King, J.C. and J.L. Slavin, *White potatoes, human health, and dietary guidance*. Advances in nutrition (Bethesda, Md.), 2013. **4**(3): p. 393S-401S.

95. Health Canada. *Search Product Label online website*. 2016 zuletzt besucht am 26. Juni 2019]; Verfügbar unter: <http://pr-rp.hc-sc.gc.ca/lr-re/index-eng.php>.
96. Indian Ministry of Agriculture & Farmers Welfare;. *Insecticides / Pesticides Registered under section 9(3) of the Insecticides Act, 1968 for use in the Country (As on 15/05/2019)* 2019 zuletzt besucht am 26. Juni 2019]; Verfügbar unter: http://ppqs.gov.in/sites/default/files/list_of_pesticide_registered_us_93.pdf.
97. United States Environmental Protection Agency (EPA);. *Pesticide Product and Label System*. 2019 zuletzt besucht am 26. Juni 2019; Verfügbar unter: <https://iaspub.epa.gov/apex/pesticides/f?p=PPLS:1> (last access on 26-06-2019).
98. Mishra, S., J. Monro, and D. Hedderley, *Effect of Processing on Slowly Digestible Starch and Resistant Starch in Potato*. *Starch - Stärke*, 2008. **60**(9): p. 500-507.
99. Europäische Kommission. *Standing Committee on Plants, Animals, Food and Feed - Section Phytopharmaceuticals-Residues - 13 -14 June 2019: Summary Report*. 2019 zuletzt besucht am 03. Oktober 2019]; Verfügbar unter: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/sc_phyto_20190613_ppr_sum.pdf.
100. Belitz, H.-D., W. Grosch, and P. Schieberle, *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. 6., vollst. überarb. Aufl. ed. 2008, Berlin: Springer. 1118 S.
101. Carmody, R.N. and R.W. Wrangham, *Cooking and the human commitment to a high-quality diet*. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2009. **74**: p. 427-34.
102. Kotthoff, M. and S. Nörenberg, *Odor and Nutrition Part 2 – Traits of Odors*. Vol. 63. 2016, *Ernährungs Umschau*. 22-30.
103. Granvogel, M., *Lebensmittelchemie 2016*. *Nachrichten aus der Chemie*, 2017. **65**(3): p. 362-366.
104. Buffo, R.A. and C. Cardelli-Freire, *Coffee flavour: an overview*. *Flavour and Fragrance Journal*, 2004. **19**(2): p. 99-104.
105. Harry Nursten, *The Maillard Reaction - Chemistry, Biochemistry and Implications*. Vol. 1. Auflage. 2005, Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
106. Parisi, S. and W. Luo, *Chemistry of Maillard Reactions in Processed Foods*. *SpringerBriefs in Molecular Science - Chemistry of Foods*, ed. Salvatore Parisi. Vol. 1. Auflage. 2018, Cham: Springer Nature.
107. Tareke, E., P. Rydberg, P. Karlsson, S. Eriksson, and M. Tornqvist, *Acrylamide: a cooking carcinogen?* *Chem Res Toxicol*, 2000. **13**(6): p. 517-22.
108. Tareke, E., P. Rydberg, P. Karlsson, S. Eriksson, and M. Tornqvist, *Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs*. *J Agric Food Chem*, 2002. **50**(17): p. 4998-5006.
109. Europäische Kommission, *Verordnung (EU) 2017/2158 der Kommission vom 20. November 2017 zur Festlegung von Minimierungsmaßnahmen und Richtwerten für die Senkung des Acrylamidgehalts in Lebensmitteln (Text von Bedeutung für den EWR.)*, Europäische Union, Editor. 2017.
110. Stadler, R.H., et al., *In-Depth Mechanistic Study on the Formation of Acrylamide and Other Vinylogous Compounds by the Maillard Reaction*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004. **52**(17): p. 5550-5558.

111. Zyzak, D.V., et al., *Acrylamide Formation Mechanism in Heated Foods*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003. **51**(16): p. 4782-4787.
112. Ray, M., S. Adhikari, and P. Kundu, *Isolation and Characterization of Microbial Asparaginase to Mitigate Acrylamide Formation in Food*, in *Advances in Plant & Microbial Biotechnology*, R. Kundu and R. Narula, Editors. 2019, Springer Singapore: Singapore. p. 95-100.
113. Balagiannis, D.P., et al., *Kinetic modelling of acrylamide formation during the finish-frying of french fries with variable maltose content*. Food Chemistry, 2019. **284**: p. 236-244.
114. Wu, H., J. Zheng, G. Zhang, C. Huang, and S. Ou, *The Formation of Acrylamide from and Its Reduction by 3-Aminopropanamide Occur Simultaneously During Thermal Treatment*. J Food Sci, 2018. **83**(10): p. 2662-2668.
115. Stadler, R.H. and A. Studer, *Acrylamide formation mechanisms*. Acrylamide in food: analysis, content and potential health effects. Elsevier, London, 2015: p. 1-17.
116. Singh, L., J.G. Varshney, and T. Agarwal, *Polycyclic aromatic hydrocarbons' formation and occurrence in processed food*. Food Chem, 2016. **199**: p. 768-81.
117. Scanlan, R.A., *Formation and occurrence of nitrosamines in food*. Cancer Res, 1983. **43**(5 Suppl): p. 2435s-2440s.
118. Jedrkiewicz, R., M. Kupska, A. Glowacz, J. Gromadzka, and J. Namiesnik, *3-MCPD: A Worldwide Problem of Food Chemistry*. Crit Rev Food Sci Nutr, 2016. **56**(14): p. 2268-77.
119. Andres, S., et al., *Erhitzungsbedingte Kontaminanten in Lebensmitteln*. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz, 2017. **60**(7): p. 737-744.
120. Stoytcheva, M., *Pesticides -Formulations, Effects, Fate*. 2010.
121. Kaushik, G., S. Satya, and S.N. Naik, *Food processing a tool to pesticide residue dissipation – A review*. Food Research International, 2009. **42**(1): p. 26-40.
122. Bajwa, U. and K.S. Sandhu, *Effect of handling and processing on pesticide residues in food- a review*. J Food Sci Technol, 2014. **51**(2): p. 201-20.
123. Kumari, B., *Effects of household processing on reduction of pesticide residues in vegetables*. ARPN J Agric Biol Sci, 2008. **3**.
124. Kwon, H., et al., *Effect of household processing on pesticide residues in field-sprayed tomatoes*. Food Science and Biotechnology, 2015. **24**(1): p. 1-6.
125. Guardia Rubio, M., A. Ruiz Medina, A. Molina Diaz, and M.J. Ayora Canada, *Influence of harvesting method and washing on the presence of pesticide residues in olives and olive oil*. J Agric Food Chem, 2006. **54**(22): p. 8538-44.
126. Scholz, R., M. Herrmann, and B. Michalski, *Compilation of processing factors and evaluation of quality controlled data of food processing studies*. Journal of Consumer Protection and Food Safety, 2017. **12**(1): p. 3-14.
127. Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), *BfR data compilation on processing factors*. BfR Communication No 032/2018, 2018.
128. Scholz, R., et al., *Database of processing techniques and processing factors compatible with the EFSA food classification and description system FoodEx 2 Objective 1: Compendium of Representative Processing Techniques investigated in regulatory studies for pesticides*. EFSA Supporting Publications, 2018. **15**(11): p. 1508E.

129. van Donkersgoed, G., et al., *Database of processing techniques and processing factors compatible with the EFSA food classification and description system FoodEx2 related to pesticide residues Objective 2: Linking the processing techniques investigated in regulatory studies with the EFSA food classification and description system FoodEx2*. EFSA Supporting Publications, 2018. **15**(11): p. 1509E.
130. Scholz, R., et al., *Database of processing techniques and processing factors compatible with the EFSA food classification and description system FoodEx 2 Objective 3: European database of processing factors for pesticides in food*. EFSA Supporting Publications, 2018. **15**(11): p. 1510E.
131. Scholz R, et al. *European database of processing factors for pesticides in food [Data set]*. 2018 zuletzt besucht am 30. Juni 2019]; Verfügbar unter: <https://zenodo.org/record/1488653#.XUBGyUHqqUn>.
132. World Health Organization (WHO), *Environmental health criteria No. 78: Dithiocarbamate pesticides, ethylenethiourea, and propylenethiourea : a general introduction*. 1988, Genua.
133. Rennie, M.J., *An introduction to the use of tracers in nutrition and metabolism*. Proceedings of the Nutrition Society, 2007. **58**(4): p. 935-944.
134. Currie, L.A., *The Remarkable Metrological History of Radiocarbon Dating [II]*. Journal of research of the National Institute of Standards and Technology, 2004. **109**(2): p. 185-217.
135. Audi, G., F.G. Kondev, M. Wang, W.J. Huang, and S. Naimi, *The NUBASE2016 evaluation of nuclear properties*. Chinese Physics C, 2017. **41**(3): p. 030001.
136. Zlokazov, S.B., et al., *Preparation of ¹⁴C by Irradiation of Aluminum Nitride in Nuclear Reactor*. Radiochemistry, 2002. **44**(1): p. 58-61.
137. Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz, *Verordnung zum Schutz vor der schädlichen Wirkung ionisierender Strahlung (Strahlenschutzverordnung - StrlSchV) vom 29. November 2018 (BGBl. I S. 2034, 2036)*. 2018.
138. Edler, R. *Cocktails for Liquid Scintillation Counting - Application Note by PerkinElmer*. 2015 zuletzt besucht am 16. Juli 2019]; Verfügbar unter: https://www.perkinelmer.de/lab-solutions/resources/docs/APP_Cocktails-for-Liquid-Scintillation-Counting-011940_01.pdf.
139. Broda, R., *A review of the triple-to-double coincidence ratio (TDCR) method for standardizing radionuclides*. Applied Radiation and Isotopes, 2003. **58**(5): p. 585-594.
140. Horrocks, D.L., *CHAPTER II - BASIC PROCESSES*, in *Applications of Liquid Scintillation Counting*, D.L. Horrocks, Editor. 1974, Academic Press. p. 12-34.
141. Krieger, H., *Grundlagen der Strahlungsphysik und des Strahlenschutzes*. 5. Auflage ed. 2017, Berlin: Springer Spektrum.
142. Rieder, A., *CO₂-Abscheidung aus Kraftwerksrauchgasen mit wässriger MEA-Lösung - Waschmitteldegradation und Aufbereitungsverfahren*, in *Fakultät Energie-, Verfahrens- und Biotechnik*. 2016, Universität Stuttgart: Stuttgart.
143. Thomson, J. *A Comparison of Sample Oxidation and Solubilization Techniques - Oxidizer Application Note by PerkinElmer Life Sciences Inc*. 2002 zuletzt besucht am 16. Juli 2019]; Verfügbar unter: https://www.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/APP_Oxidizer_Techniques_Comparison.pdf.

144. Saito, K., H. Miyatake, and N. Kurihara, *A combustion method for the simultaneous determination of 3H, 14C, and 35S in triply labeled organic samples by liquid scintillation counting*. Analytical Biochemistry, 1990. **190**(2): p. 276-280.
145. Thompson, J. and D.A. Burns. *LSC Preparation by Solubilization - Application Note by Perkin Elmer*. 2014 zuletzt besucht am 16. Juli 2019]; Verfügbar unter:
http://www.perkinelmer.co.jp/Portals/0/resource/products_ls/ls_cocktails/pdf/CS-003.pdf.
146. Smith, I.K. and A.L. Lang, *Decoloration and solubilization of plant tissue prior to determination of 3H, 14C, and 35S by liquid scintillation*. Analytical Biochemistry, 1987. **164**(2): p. 531-536.
147. Moore, P.A., *Preparation of whole blood for liquid scintillation counting*. Clinical Chemistry, 1981. **27**(4): p. 609-611.
148. Yanagida, T., *Inorganic scintillating materials and scintillation detectors*. Proceedings of the Japan Academy. Series B, Physical and biological sciences, 2018. **94**(2): p. 75-97.
149. Lecoq, P., A. Annenkov, A. Gektin, M. Korzhik, and C. Pedrini, *Inorganic Scintillators for Detector Systems: Physical Principles and Crystal Engineering*. 2006.
150. Berthold Technologies GmbH & Co. KG, *HPLC Radioflow Detektor LB 509 Handbuch; ID. No. 29 530 BA1; Rev. No. 01.03.97*. Vol. 1. Ausgabe. 1997.
151. Anastassiades, M., S.J. Lehotay, D. Štajnbaher, and F.J. Schenck, *Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce*. Journal of AOAC international, 2003. **86**(2): p. 412-431.
152. Jiang, Y., Y. Li, Y. Jiang, J. Li, and C. Pan, *Determination of multiresidues in rapeseed, rapeseed oil, and rapeseed meal by acetonitrile extraction, low-temperature cleanup, and detection by liquid chromatography with tandem mass spectrometry*. Journal of agricultural and food chemistry, 2012. **60**(20): p. 5089-5098.
153. Lehotay, S.J., et al., *Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables*. Journal of Chromatography A, 2010. **1217**(16): p. 2548-2560.
154. EURL-SRM, *Determination of Prochloraz (sum) via its Metabolites - Version 2*. Observations concerning a compound - available at: http://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EURL_observations_Prochloraz_UpdateFrom180614.pdf, 2014.
155. European Commission, *SANCO/3029/99 rev.4 - Residues: Guidance for generating and reporting methods of analysis in support of pre-registration data requirements for Annex II (part A, Section 4) and Annex III (part A, Section 5) of Directive 91/414*. Working document. 2000.
156. European Committee for Standardization (CEN), *CEN - EN 15662 - Foods of plant origin - Multimethod for the determination of pesticide residues using GC- and LC-based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and cleanup by dispersive SPE - Modular QuEChERS-method* European Committee for Standardization, Editor. 2018.
157. MacLachlan, D. *Deltamethrin (135) - First draft*. n.d. [cited 2019 Feb 20]; Verfügbar unter:

- http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation02/DELTAMETHRINEvaluationjja.pdf.
158. National Institute of Advanced Industrial Science and Technology. *SDBSWeb*. Sep 26th 2018]; Verfügbar unter: <https://sdb.sdb.aist.go.jp>.
159. GESTIS-Stoffdatenbank. *Eintrag für "2,4,6-Trichlorphenol"*. 2017 zuletzt besucht am 27. Juli 2019; Verfügbar unter: http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_de/000000.xml?f=templates&fn=default.htm&vid=gestisdeu:sdbdeu.
160. Thüerer, A. and M. Granvogl, *Generation of Desired Aroma-Active as Well as Undesired Toxicologically Relevant Compounds during Deep-Frying of Potatoes with Different Edible Vegetable Fats and Oils*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016. **64**(47): p. 9107-9115.
161. Kapteyn, J.C., R.J. Milling, D.J. Simpson, and M.A. De Waard, *Interaction of azole fungicides and related compounds with cytochrome-P450 isozymes from *Penicillium italicum* in in-vitro assays*. *Pesticide Science*, 1992. **36**(3): p. 273-282.
162. Almeida, D.P.F. and D.J. Huber, *Apoplastic pH and inorganic ion levels in tomato fruit: A potential means for regulation of cell wall metabolism during ripening*. *Physiologia Plantarum*, 1999. **105**(3): p. 506-512.
163. Elbashir, A.A., A. Albadri, and H.E.-o. Ahmed, *Effect of post-harvest and washing treatments on pesticide residues of fenpropathrin, λ -cyhalothrin, and deltamethrin applied on tomatoes grown in an open field in Sudan*. *Focusing on Modern Food Industry*, 2013. **2**(2): p. 103-109.
164. Walorczyk, S., D. Drożdżyński, and R. Kierzek, *Two-step dispersive-solid phase extraction strategy for pesticide multiresidue analysis in a chlorophyll-containing matrix by gas chromatography–tandem mass spectrometry*. *Journal of Chromatography A*, 2015. **1412**: p. 22-32.
165. Schenck, F.J., S.J. Lehotay, and V. Vega, *Comparison of solid-phase extraction sorbents for cleanup in pesticide residue analysis of fresh fruits and vegetables*. *Journal of Separation Science*, 2002. **25**(14): p. 883-890.
166. Daniels-Lake, B.J., K. Pruski, and R.K. Prange, *Using Ethylene Gas and Chlorpropham Potato Sprout Inhibitors Together*. *Potato Research*, 2011. **54**(3): p. 223-236.
167. Caldiz, D.O., L.V. Fernandez, and M.H. Inchausti, *Maleic hydrazide effects on tuber yield, sprouting characteristics, and french fry processing quality in various potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars grown under argentinian conditions*. *American Journal of Potato Research*, 2001. **78**(2): p. 119-128.
168. Cseslik C, Seemann H, and Winter R, *Basiswissen Physikalische Chemie*. Vol. 4., aktualisierte Auflage. 2010, Wiesbaden: Vieweg +Teubner.
169. Europäisches Parlament, *VERORDNUNG (EG) Nr. 1107/2009 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 21. Oktober 2009 über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln und zur Aufhebung der Richtlinien 79/117/EWG und 91/414/EWG des Rates*, Europäische Union, Editor. 2009.
170. Čmolík, J. and J. Pokorný, *Physical refining of edible oils*. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2000. **102**(7): p. 472-486.

8 Anhang

8.1 Publikationsliste

Im Folgenden werden Veröffentlichungen aufgelistet, die im Rahmen dieser Arbeit in Form von Beiträgen in Fachzeitschriften, Vorträgen oder Posterbeiträgen bei nationalen und internationalen Konferenzen präsentiert wurden.

8.1.1 Veröffentlichungen in Fachzeitschriften

1. Göckener, B; Kotthoff, M; Kling, H-W; Bücking, M: *Processing Induced Degradation Routes of Prochloraz in Rapeseed Oil*; Journal of Agricultural and Food Chemistry 2019; DOI: 10.1021/acs.jafc.9b03518
2. Göckener, B; Kotthoff, M; Kling, H-W; Bücking, M: *Fate of Chlorpropham during High Temperature Processing of Potatoes*; Journal of Agricultural and Food Chemistry (eingereicht)

8.1.2 Vorträge

1. Bücking, M; Göckener, B; Kotthoff, M: *Process control and food safety*; iFood Conference, 9. Oktober 2017, Köln
2. Kotthoff, M; Göckener, B; Bücking, M: *Radiokitchen – Unravelling processing-borne ingredients towards increased consumer safety*; 10 Jahre Fraunhofer-Allianz Food Chain Management Symposium “FOOD SYSTEMS – FIT FOR THE FUTURE?”, 13. November 2017, München
3. Göckener, B; Bücking, M; Kotthoff, M: *Towards a full understanding of food life: tracing food ingredients using 14-C food processing*; Fi Europe 2017, 28. – 30. November 2017, Frankfurt

4. Bücking, M; Göckener, B; Kotthoff, M: *Radiokitchen – Unravelling processing-borne ingredients towards increased consumer safety*. Seminar School of Chemistry, 6. Dezember 2017, Monash University, Melbourne, Australien
5. Kotthoff, M; Göckener, B; Bücking, M: *Dear Process, Can I Label Clean? Targeted Mitigation Using 14-C Food Processing*; Anuga FoodTec 2018, 20. – 23. März 2018, Köln
6. Göckener, B; Bücking, M; Kotthoff, M: *Die Radioküche - Neue Tools zur Aufklärung von Prozesskontaminanten entlang der Food Chain*; 8. Fresenius Laborleiter-Tagung: Analytik & QS, 6. – 7. November 2018
7. Göckener, B; Bücking, M; Kotthoff, M: *The Radiokitchen – Tracing Radiolabeled Pesticides to Investigate their Fate during Food Processing*; IUPAC International Congress of Crop Protection Chemistry, 19. – 24. Mai 2019, Gent, Belgien

8.1.3 Posterbeiträge

1. Göckener, B; Bücking, M; Kotthoff, M: *Unravelling Complex Reaction Pathways. Fate of 14C-Labelled Agrochemicals in Food Processing*. First Results. CHEMICAL REACTIONS IN FOODS VIII (CRF 2017). 15. – 17. Februar, 2017, Prag, Tschechien
2. Göckener, B; Bücking, M; Kotthoff, M: *Untersuchung des Verhaltens von ¹⁴C-Prochloraz während der Lebensmittelverarbeitung*; Arbeitstagung Regionalverband NRW der Lebensmittelchemischen Gesellschaft der GDCh, 14. März 2018, Essen
3. Göckener, B; Bücking, M; Kotthoff, M: *Investigating the Fate of [14C]-Prochloraz during the Heating of Rapeseed Oil*; European Pesticide Residue Workshop (EPRW), 21. – 26. Mai 2018, München

8.2 Ergänzende Abbildungen

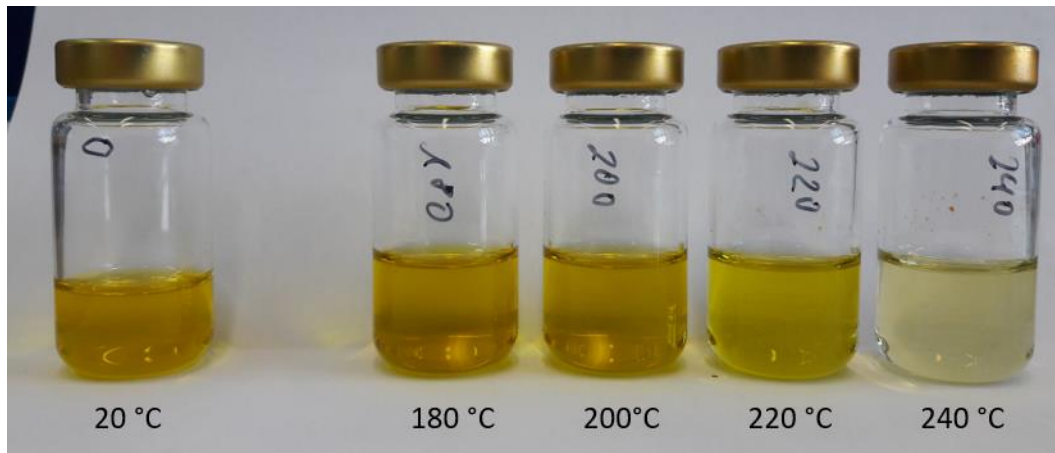


Abbildung 27. Vergleichende Darstellung des nicht-erhitzten Rapsöls (20 °C) mit den Ölen nach Erhitzung auf Temperaturen zwischen 180 und 240 °C für jeweils 45 Minuten.

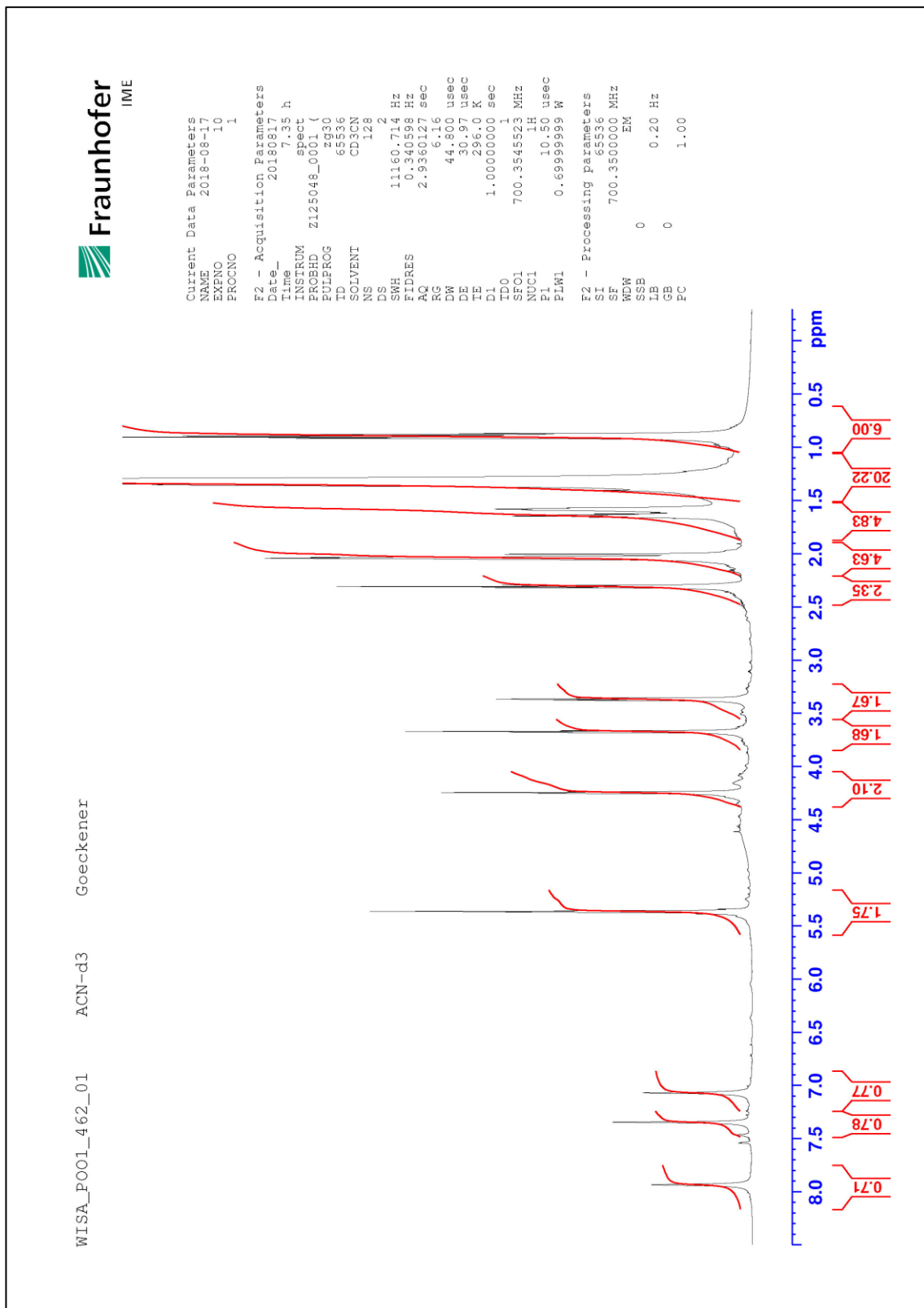


Abbildung 28. ^1H -NMR-Spektrum des isolierten Icpame-Oleats inklusive der Aufnahmeparameter (aufgenommen mit einem Bruker Ascend™ 700 NMR)

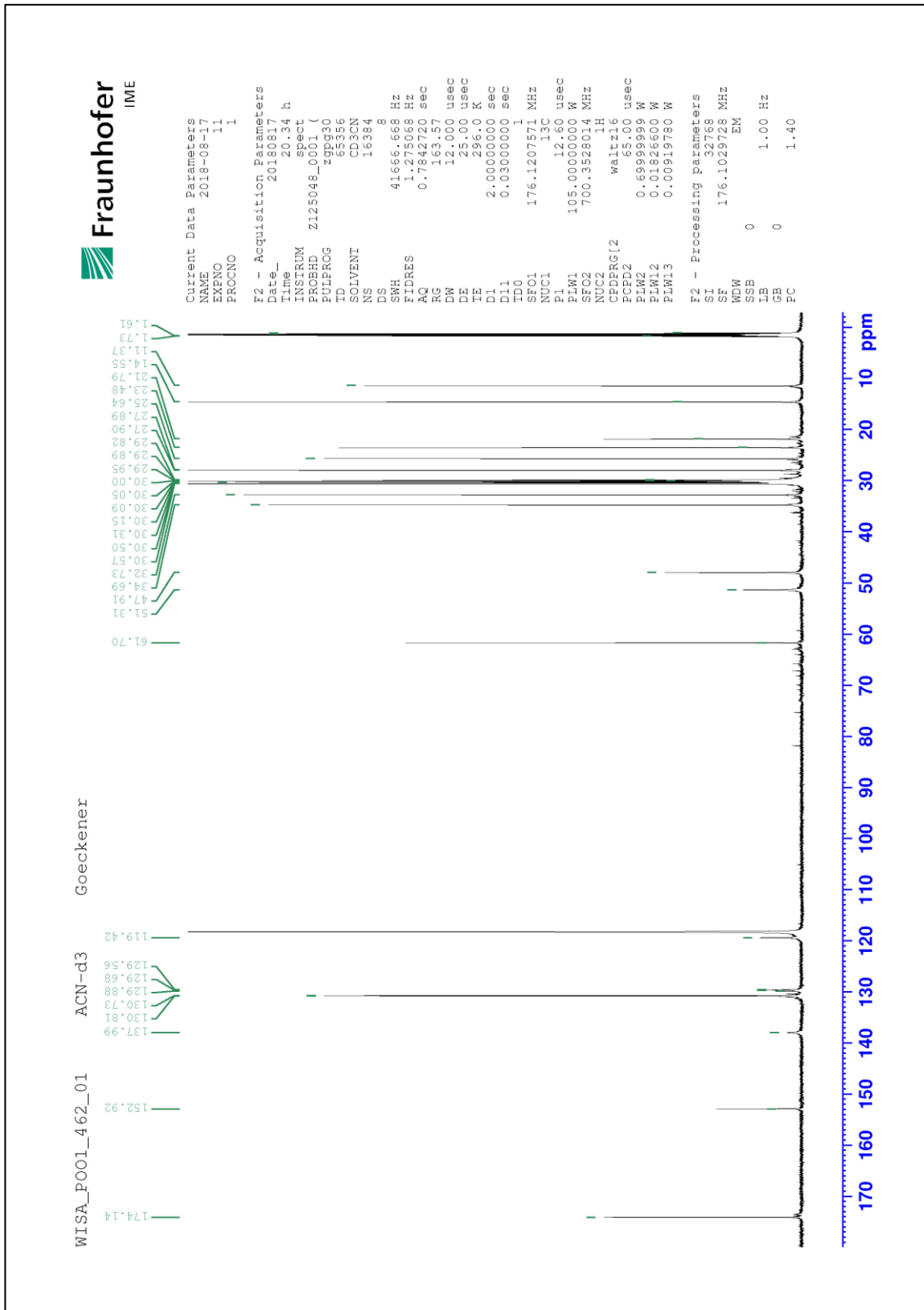


Abbildung 29. ¹³C-NMR-Spektrum des isolierten Icpame-Oleats inklusive der Aufnahmeparameter (aufgenommen mit einem Bruker Ascend™ 700 NMR)

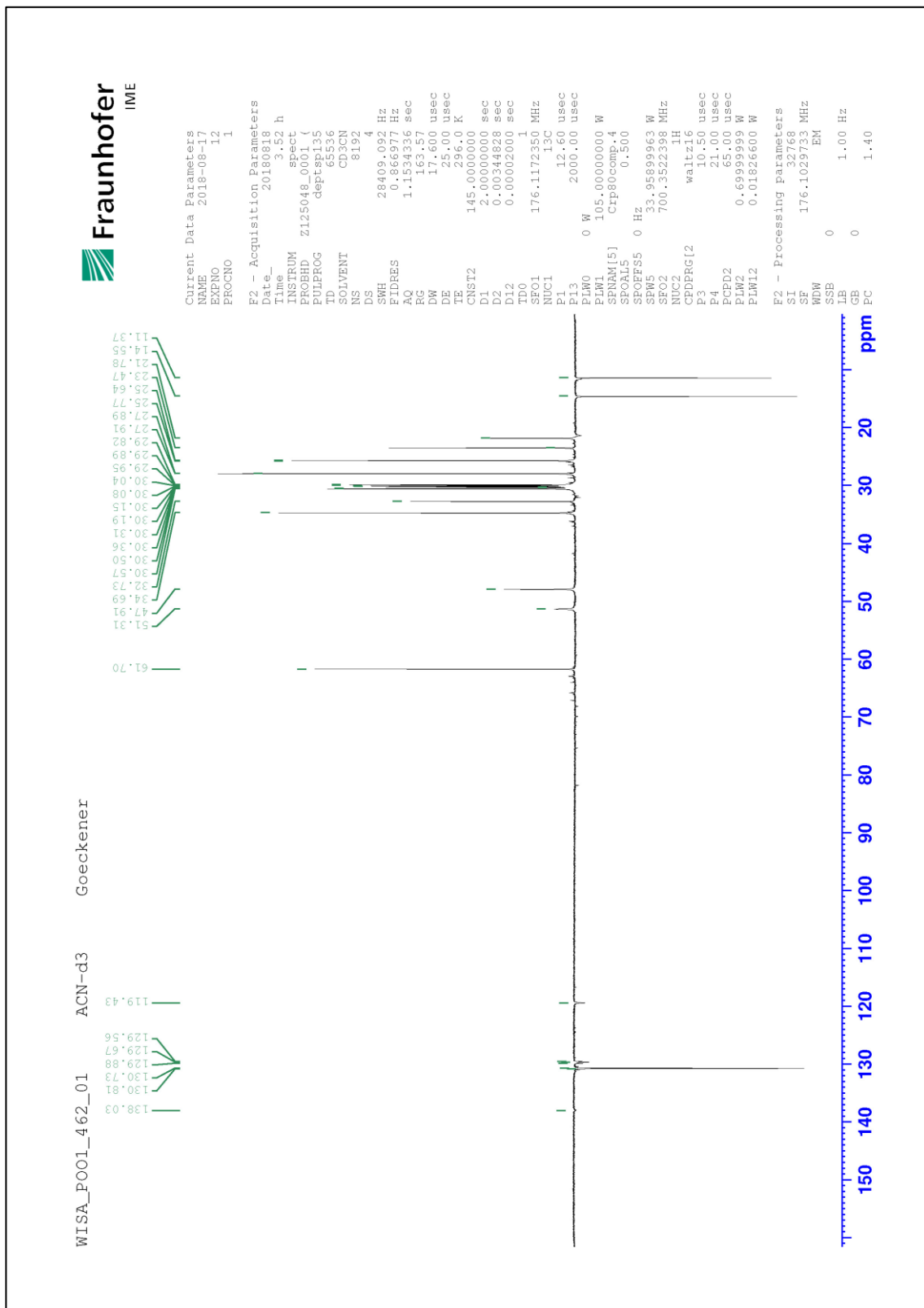


Abbildung 30. DEPT-135-Spektrum des isolierten Icpame-Oleats inklusive der Aufnahmeparameter (aufgenommen mit einem Bruker Ascend™ 700 NMR)

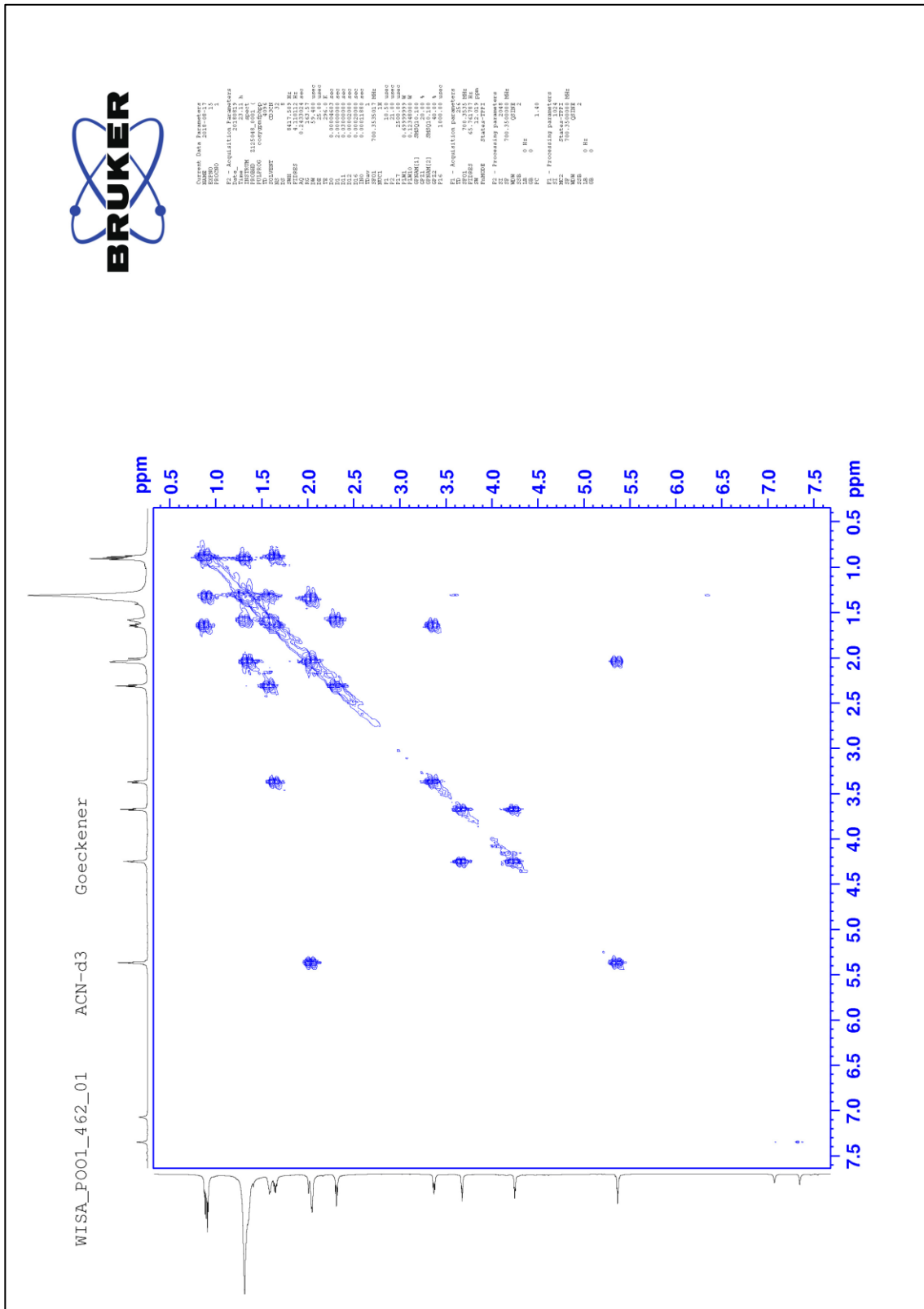


Abbildung 31. COSY-Spektrum des isolierten lcpame-Oleats inklusive der Aufnahmeparameter (aufgenommen mit einem Bruker Ascend™ 700 NMR)

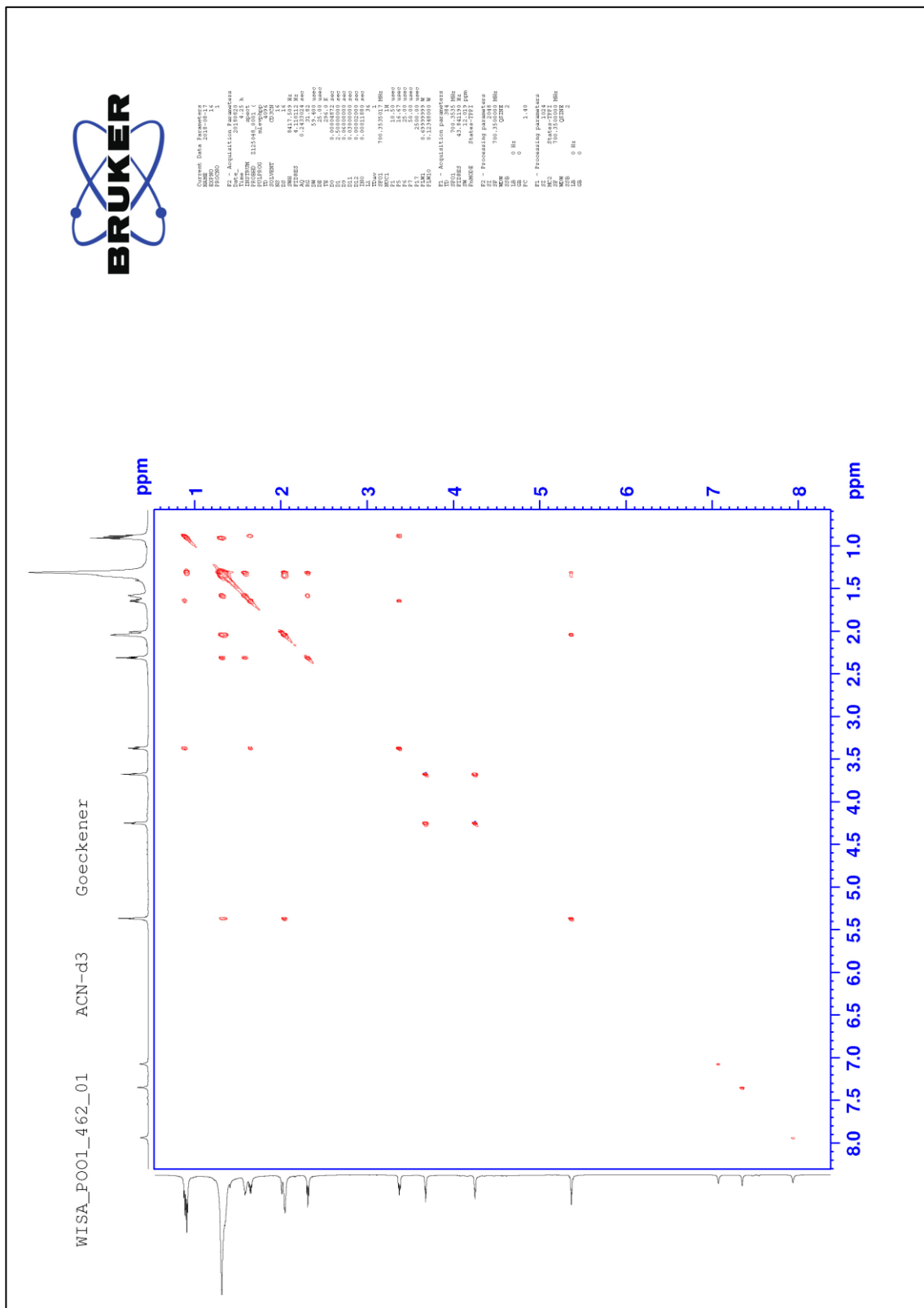


Abbildung 32. TOCSY-Spektrum des isolierten Icpame-Oleats inklusive der Aufnahmeparameter (aufgenommen mit einem Bruker Ascend™ 700 NMR)

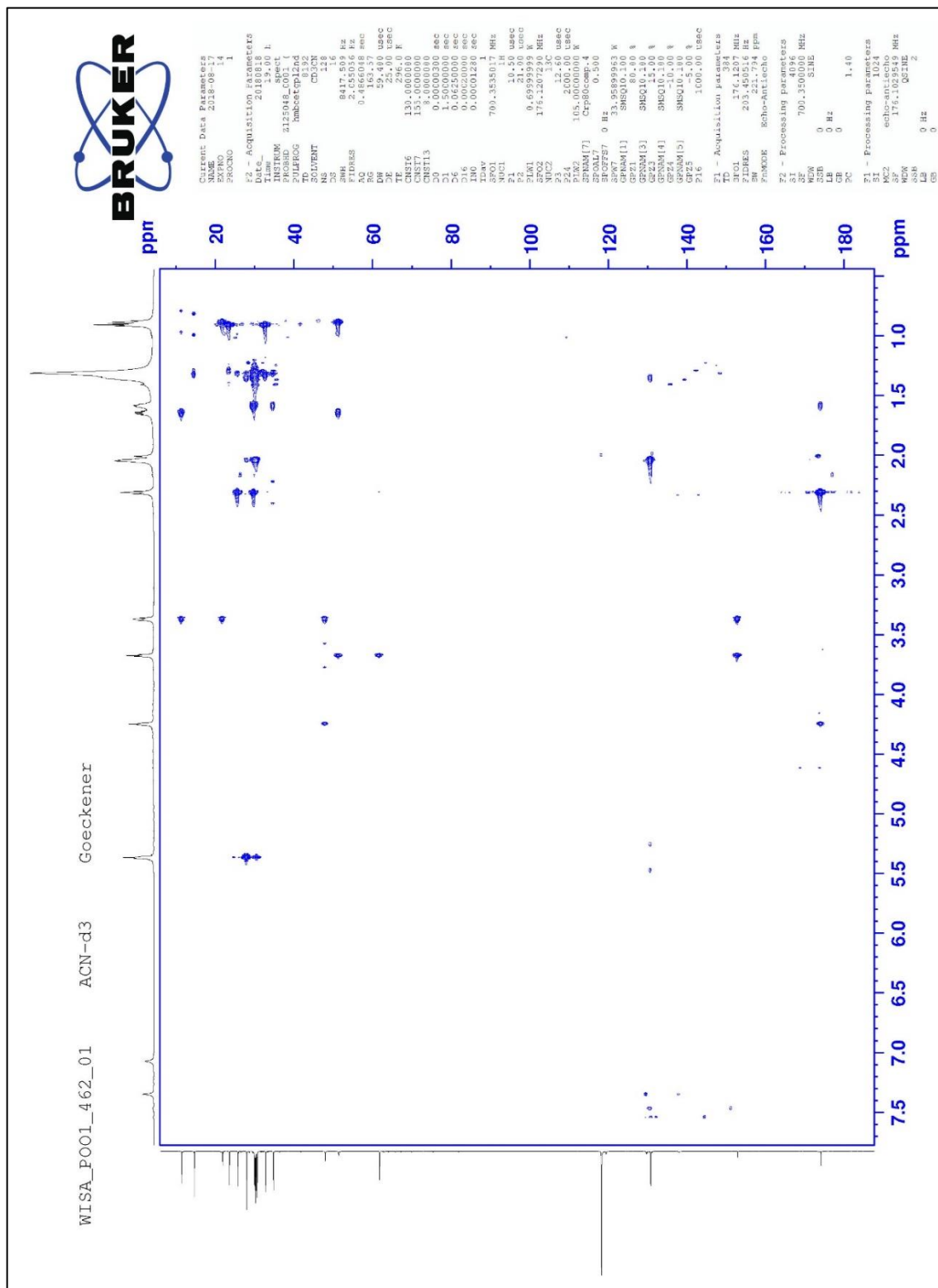


Abbildung 34. HMBC-Spektrum des isolierten Icpame-Oleats inklusive der Aufnahmeparameter (aufgenommen mit einem Bruker Ascend™ 700 NMR)

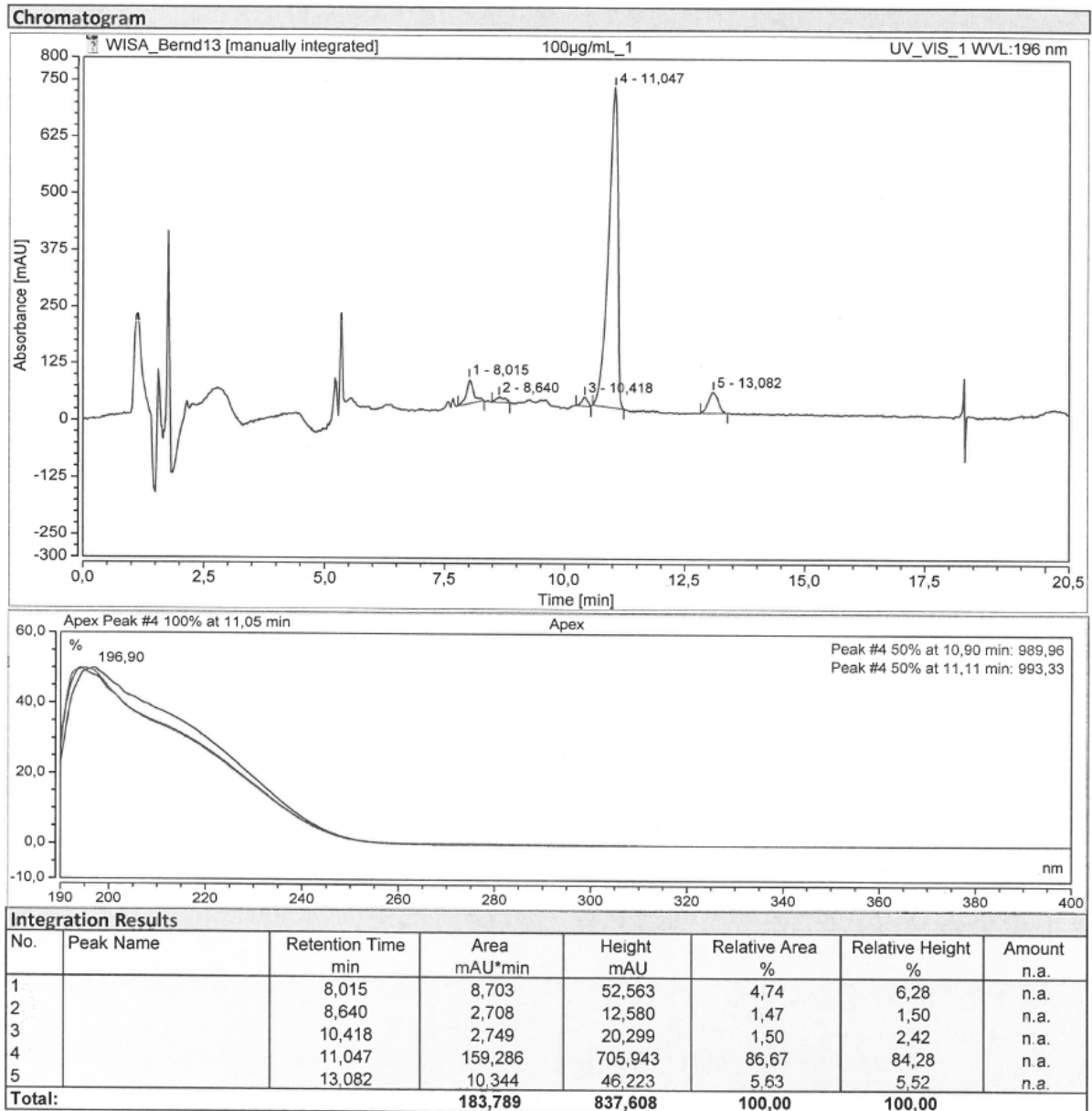


Abbildung 35. HPLC-UV-Chromatogramm nach Injektion einer 100 mg Isolat/L-Lösung (100 µL Injektionsvolumen) im Rahmen der Reinheitsbestimmung des Icpame-Oleat-Standards

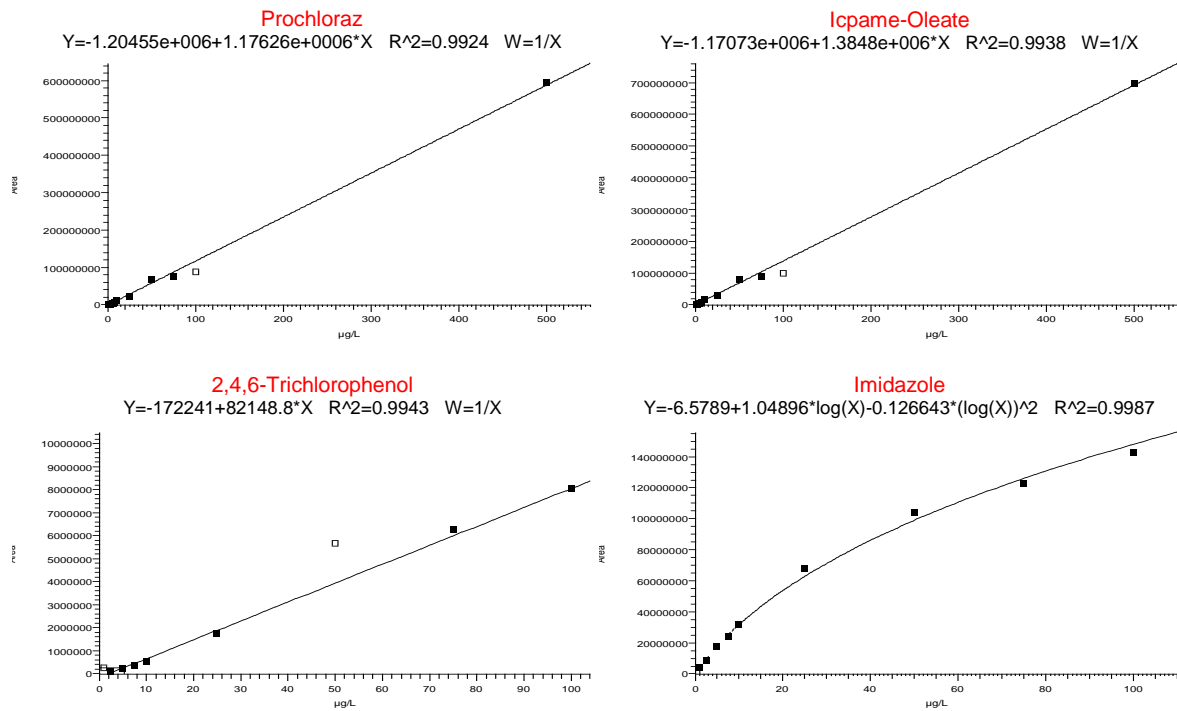


Abbildung 36. Kalibriergeraden beziehungsweise -kurve (Matrixkalibrierungen) für die Quantifizierung von Prochloraz, Icpame-Oleat, Trichlorphenol und Imidazol in erhitztem Rapsöl

Anhang

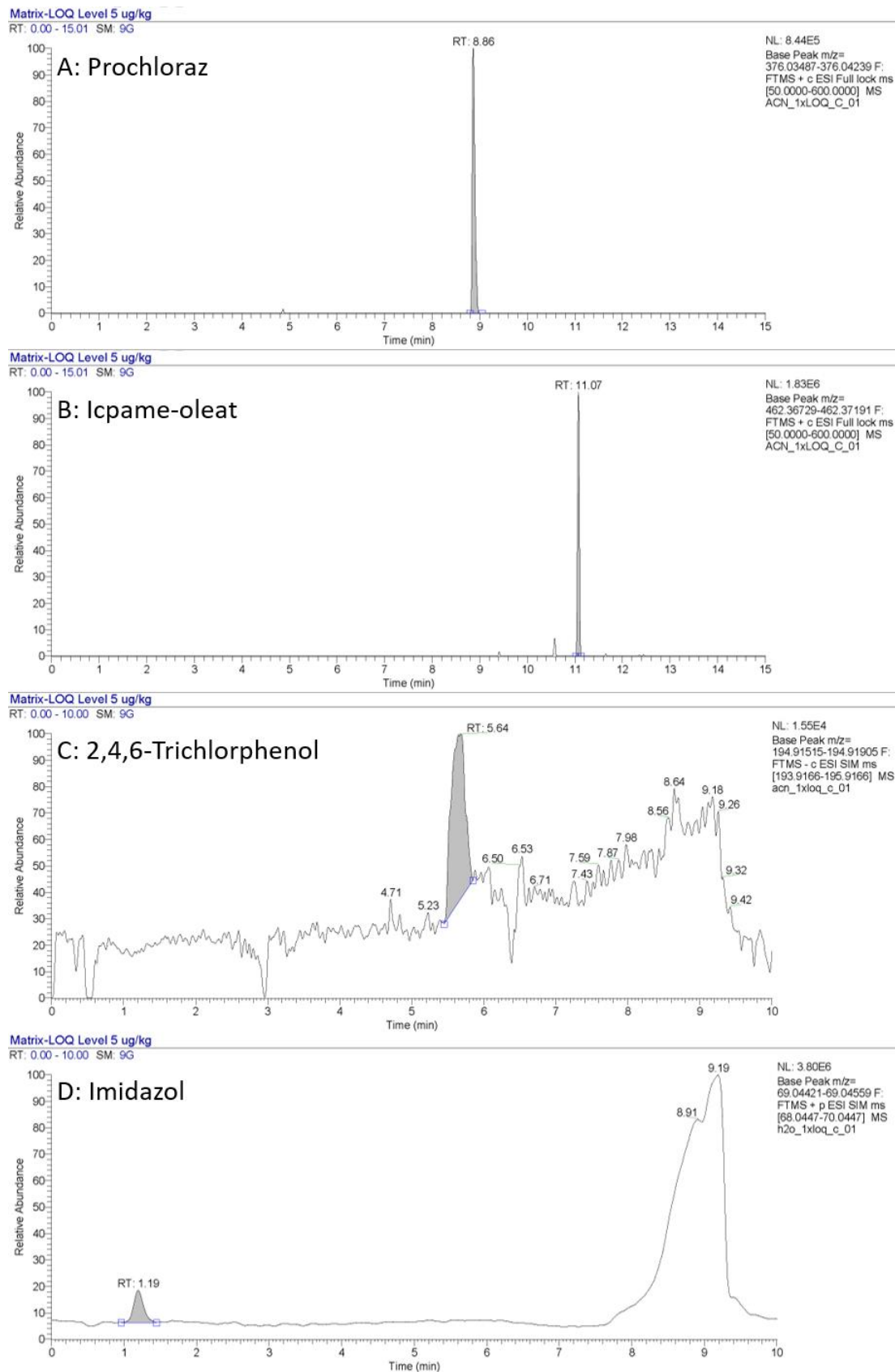


Abbildung 37. Repräsentative Chromatogramme von Prochloraz, Icpame-Oleat, Imidazol und 2,4,6-Trichlorphenol nach Dotierung von Rapsöl auf LOQ-Level (je 5 µg/kg Öl)

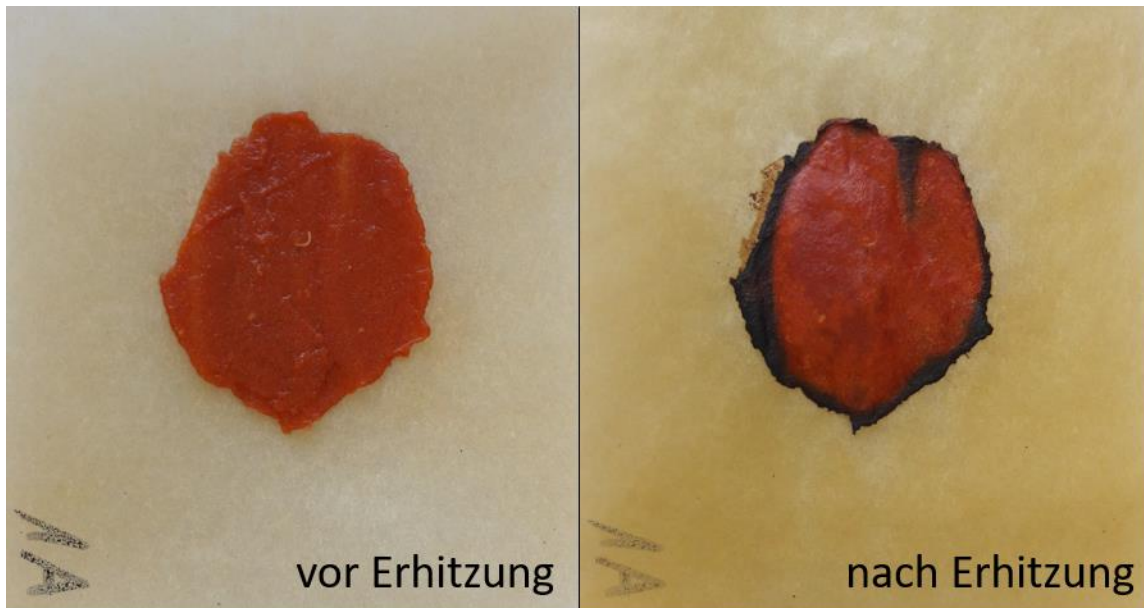


Abbildung 38: Tomatenmark vor und nach der Erhitzung im Backofen bei 250 °C für 5 Minuten

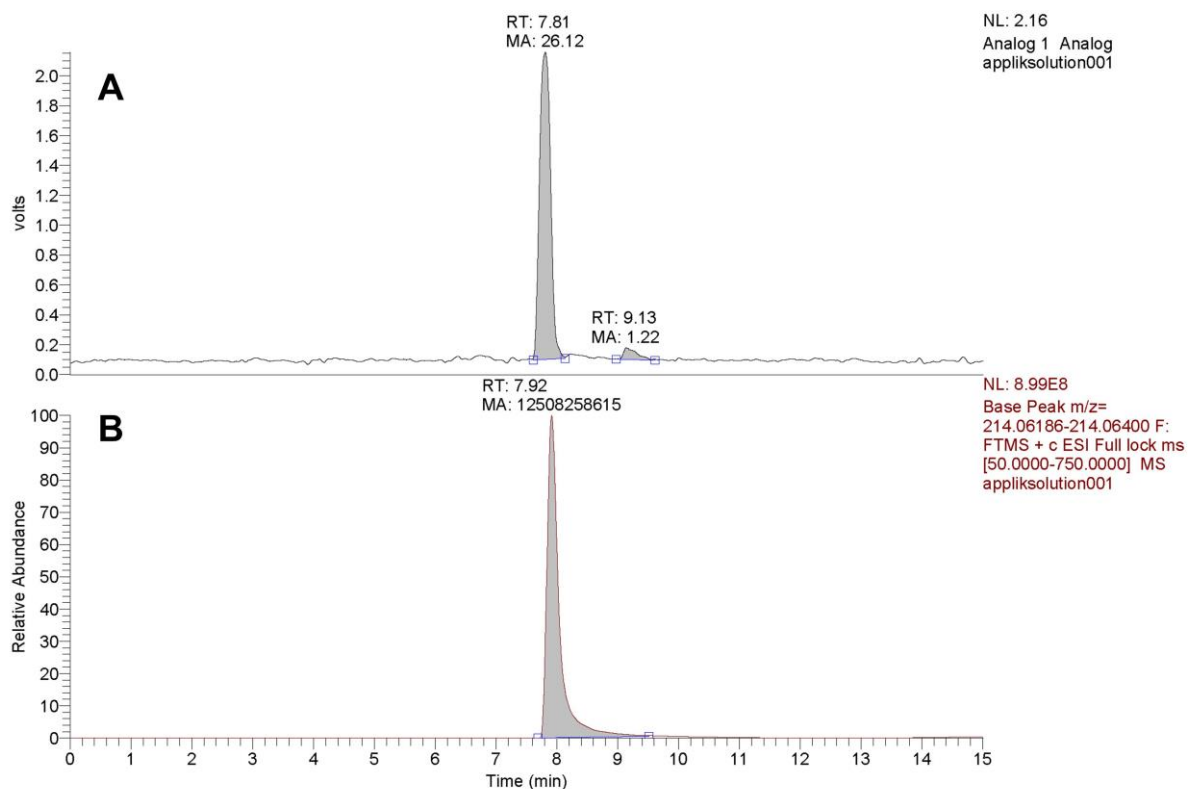


Abbildung 39. A: Radio-UPLC[®]-Chromatogramm der Applikationslösung. **B:** Parallel aufgenommenes HRMS Signal der Chlorpropham-Massenspur ($[M+H]^+$) = m/z 214,0629 im ESI-positiv-Modus

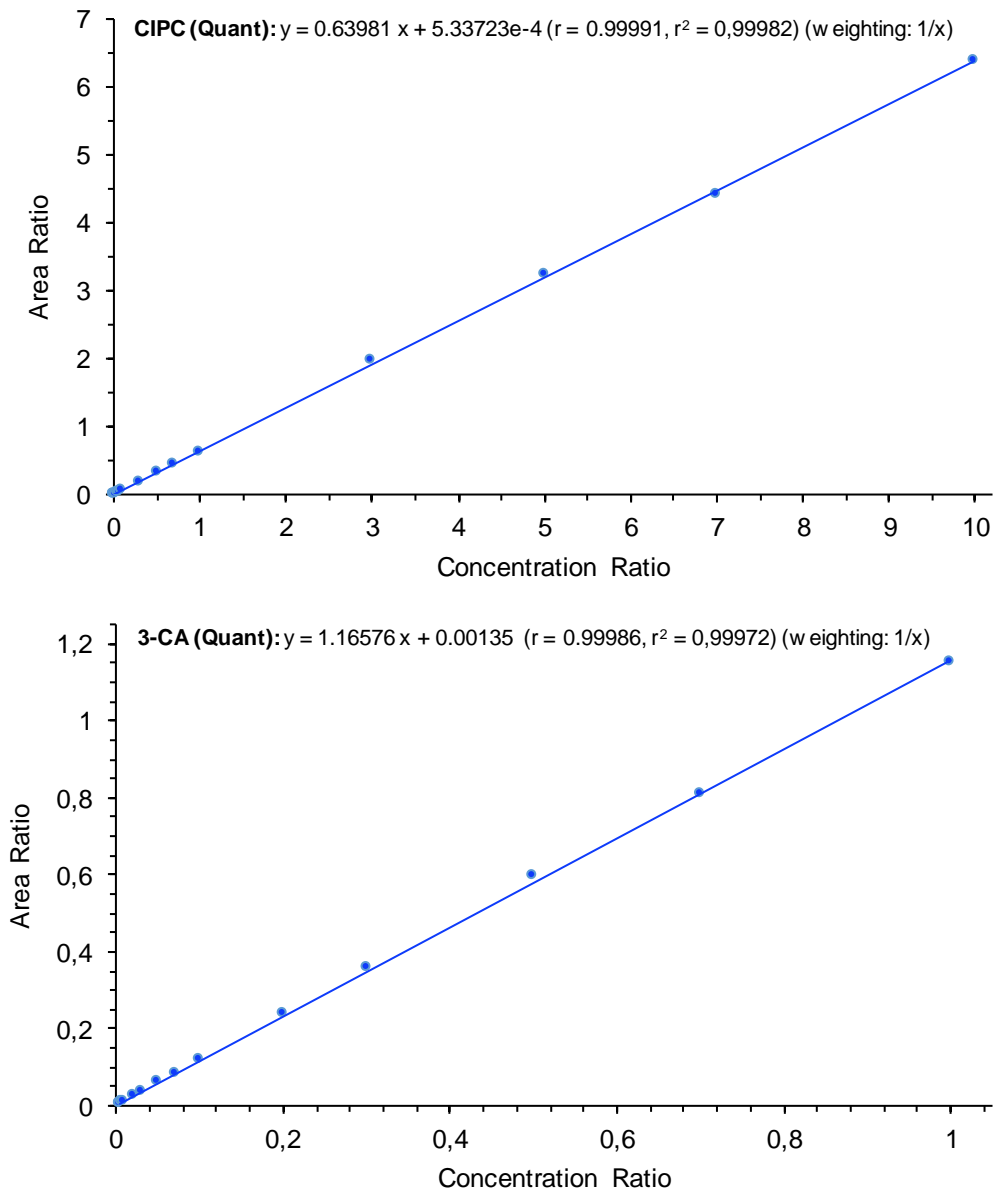


Abbildung 40. Kalibriergeraden für die Quantifizierung von Chlorpropham (oben) und 3-Chloranilin (unten) in rohen Kartoffeln und verarbeiteten Produkten

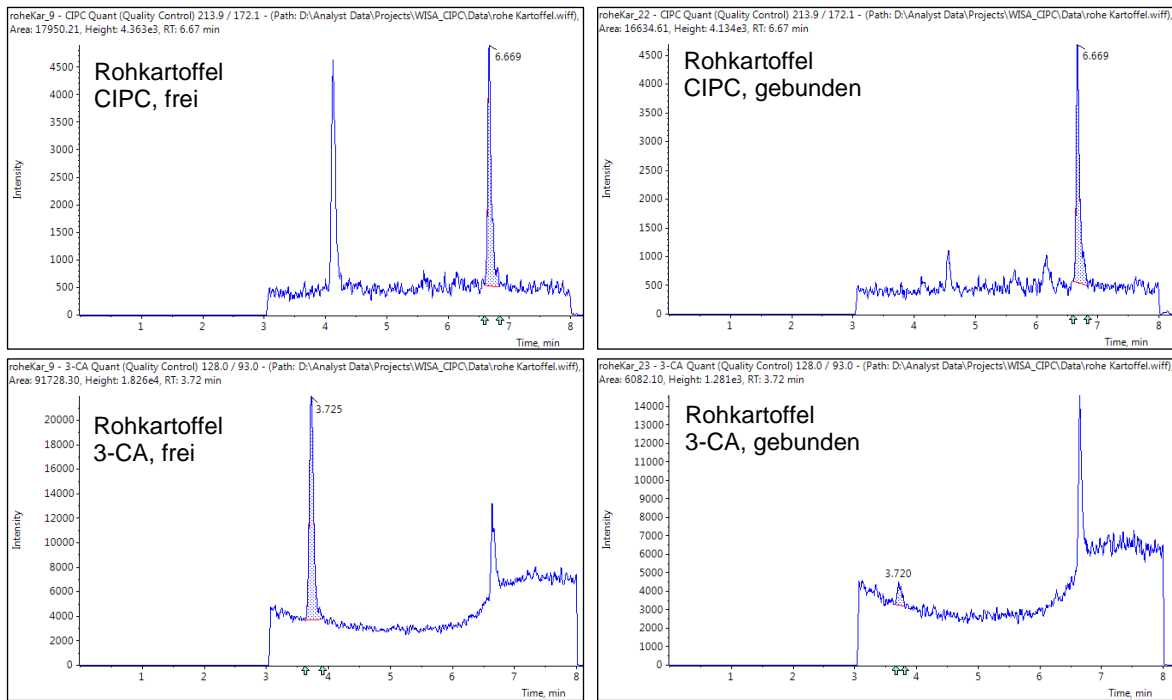


Abbildung 41. Validierung der Bestimmungsgrenzen von Chlorpropham-Rückständen in rohen Kartoffeln: Repräsentative UHPLC-MS/MS-Chromatogramme der Quantifier-Übergänge von freiem und gebundenem Chlorpropham ($t_r = 6,67$ min) und 3-Chloranilin ($t_r = 3,72$ min) auf LOQ-Level

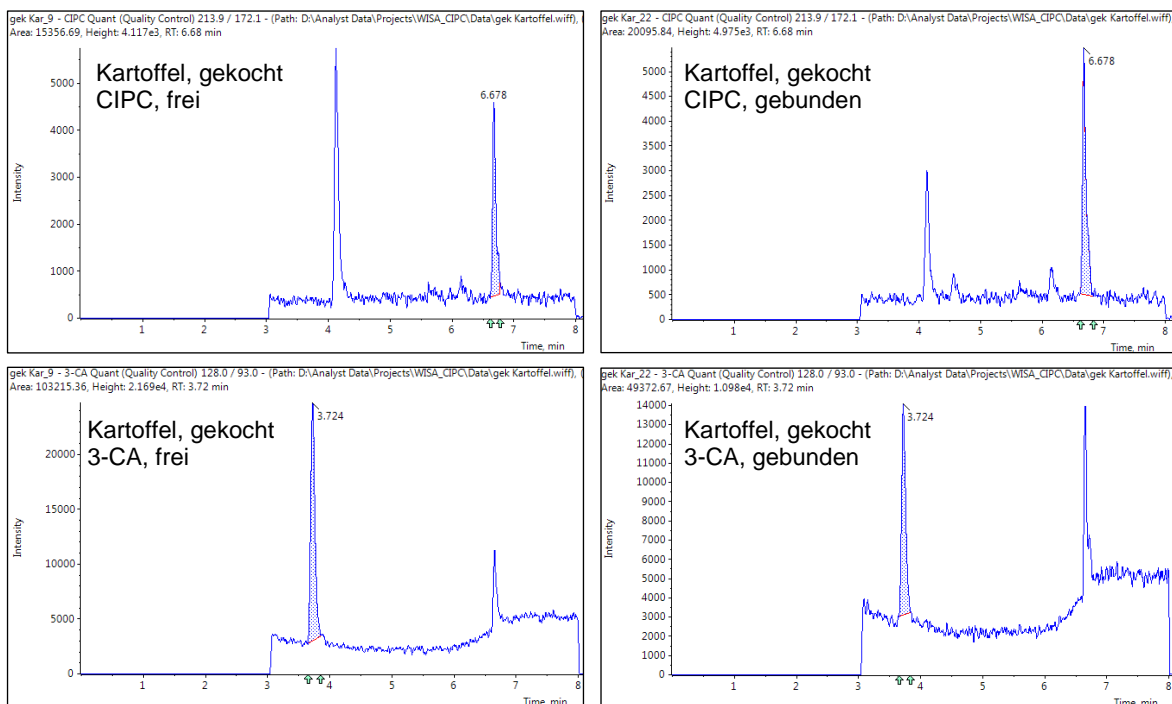


Abbildung 42. Validierung der Bestimmungsgrenzen von Chlorpropham-Rückständen in gekochten Kartoffeln: Repräsentative UHPLC-MS/MS-Chromatogramme der Quantifier-Übergänge von freiem und gebundenem Chlorpropham ($t_r = 6,68$ min) und 3-Chloranilin ($t_r = 3,72$ min) auf LOQ-Level

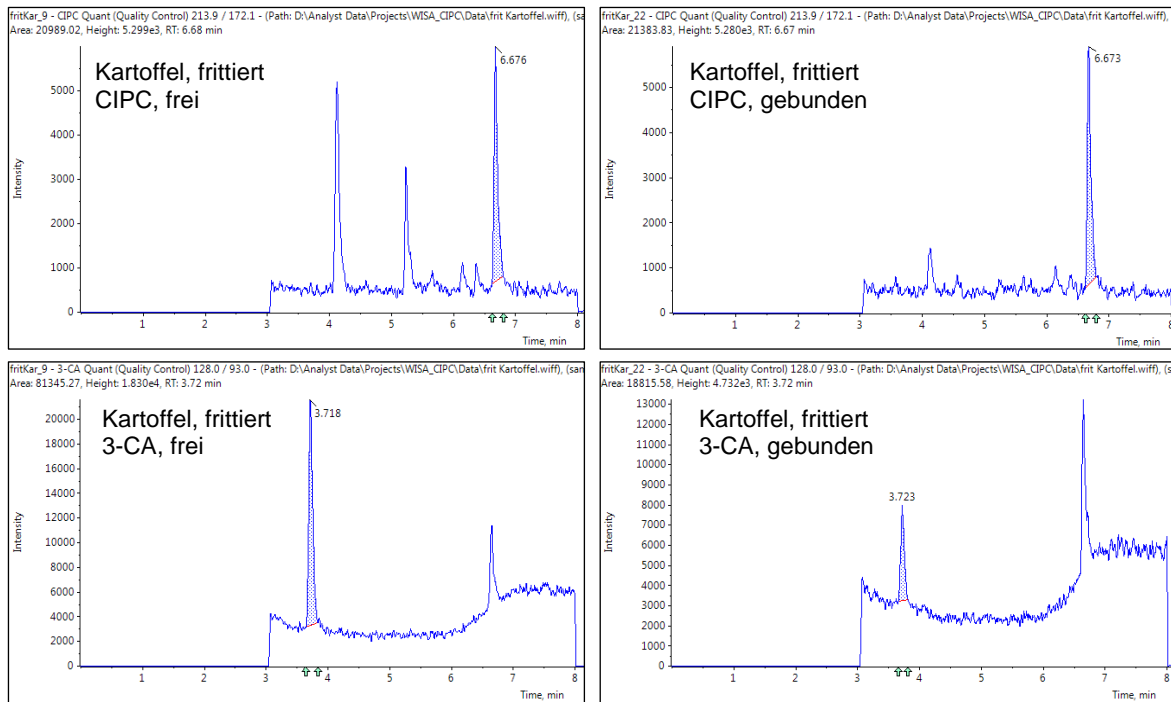


Abbildung 43. Validierung der Bestimmungsgrenzen von Chlorpropham-Rückständen in frittierten (bzw. fetthaltigen) Kartoffeln: Repräsentative UHPLC-MS/MS-Chromatogramme der Quantifizierungsübergänge von freiem und gebundenem Chlorpropham ($t_r = 6,67$ min) und 3-Chloranilin ($t_r = 3,72$ min) auf LOQ-Level

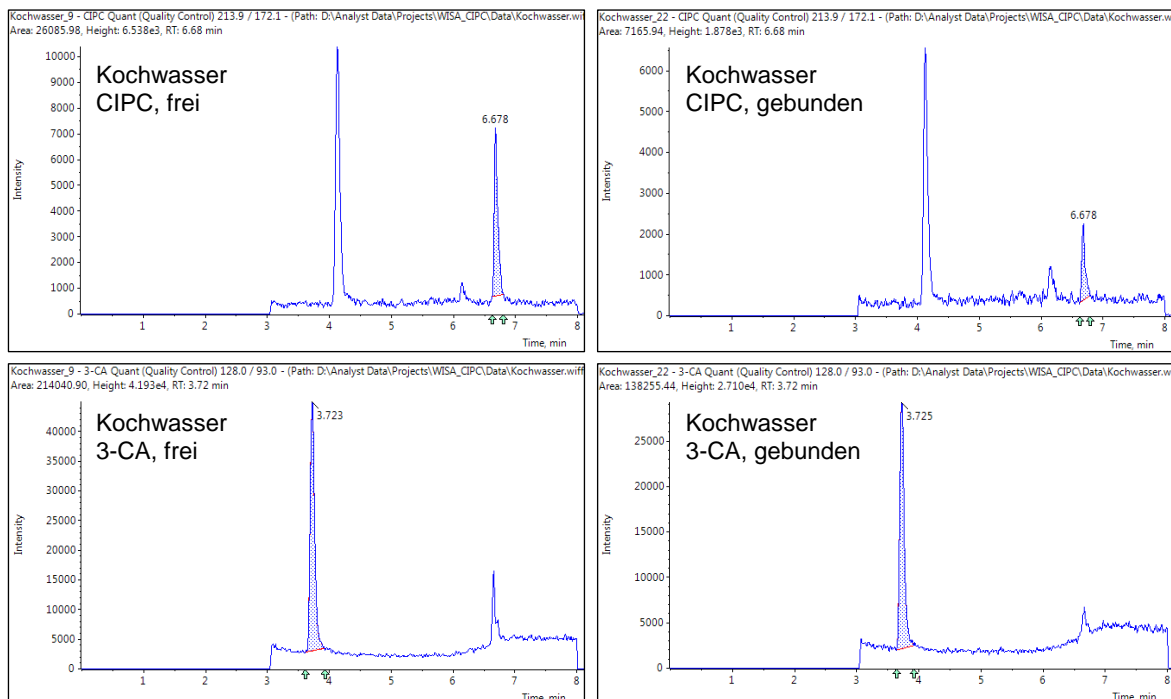


Abbildung 44. Validierung der Bestimmungsgrenzen von Chlorpropham-Rückständen in Kochwasser von Kartoffeln: Repräsentative UHPLC-MS/MS-Chromatogramme der Quantifizierungsübergänge von freiem und gebundenem Chlorpropham ($t_r = 6,68$ min) und 3-Chloranilin ($t_r = 3,72$ min) auf LOQ-Level

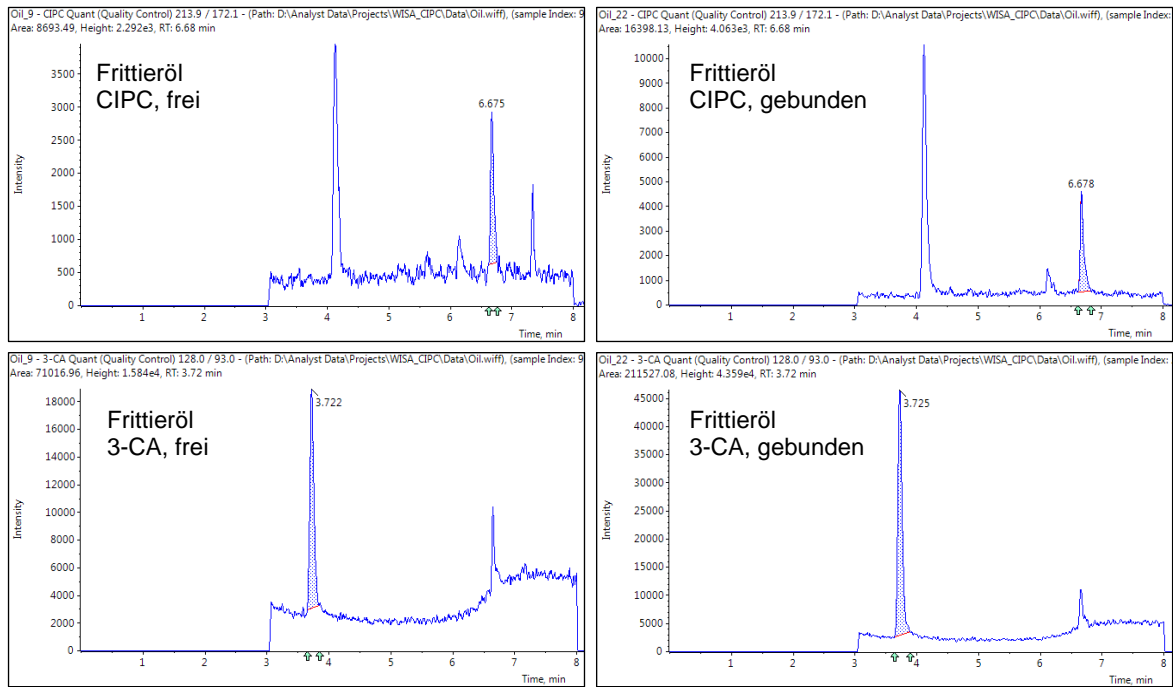


Abbildung 45. Validierung der Bestimmungsgrenzen von Chlorpropham-Rückständen in Frittieröl von Kartoffeln: Repräsentative UHPLC-MS/MS-Chromatogramme der Quantifizier-Übergänge von freiem und gebundenem Chlorpropham ($t_r = 6,68$ min) und 3-Chloranilin ($t_r = 3,72$ min) auf LOQ-Level

8.3 Ergänzende Tabellen

Tabelle 35. Liste der exakten m/z-Verhältnisse, die im Rahmen des Suspect-Screenings von potentiellen Prochloraz-Abbauprodukten im ESI-positiv- bzw. im ESI-negativ-Modus gescannt wurden [154]

Polarität	Bezeichnung	Chemische Bezeichnung	Cl-Isotope	[M+H] ⁺
ESI positiv	Prochloraz	N-Propyl-N-(2-(2,4,6-trichlorphenoxy)ethyl)-1H-imidazol-1-carboxamid	³⁵ Cl ₃	376,0386
			³⁵ Cl ₂ ³⁷ Cl	378,0357
			³⁵ Cl ₁ ³⁷ Cl ₂	380,0327
			³⁷ Cl ₃	382,0298
	¹⁴ C-Prochloraz	N-Propyl-N-(2-(2,4,6-trichlorphenoxy)ethyl)-1H-imidazol-1-carboxamid	³⁵ Cl ₃	378,0419
			³⁵ Cl ₂ ³⁷ Cl	380,0389
			³⁵ Cl ₁ ³⁷ Cl ₂	382,0360
			³⁷ Cl ₃	384,0330
	BTS 44595	1-Propyl-1-[2-(2,4,6-trichlorphenoxy)ethyl]urea	³⁵ Cl ₃	325,0277
	BTS 44596	3-Formyl-1-propyl-1-[2-(2,4,6-trichlorphenoxy)ethyl]urea	³⁵ Cl ₃	353,0226
BTS 40348	N-Propyl-N-2-(2,4,6-trichlorphenoxy)-ethylamin	³⁵ Cl ₃	282,0219	
Polarität	Bezeichnung	Chemische Bezeichnung	Cl-Isotope	[M-H] ⁻
ESI negativ	BTS 9608	2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure	³⁵ Cl ₃	252,9226
	BTS 45186	2,4,6-Trichlorphenol	³⁵ Cl ₃	194,9171

Tabelle 36. Ergebnisse der Erhitzungsversuche mit ¹⁴C-Prochloraz in Öl: Aktivität in den Ölen nach Erhitzung auf verschiedene Temperaturen sowie die prozentuale Verteilung der Aktivität auf die wässrigen und organischen Extrakte sowie nicht-extrahierbare Rückstände. Die Wiederfindung (WDF) beschreibt jeweils die Summe der Aktivitäten der Extrakte und der nicht-extrahierbaren Rückstände (NER)

	Mittelwerte [%]					Standardabweichung [%]				
	20 °C	180 °C	200 °C	220 °C	240 °C	20 °C	180 °C	200 °C	220 °C	240 °C
Aktivität im Öl	100,0	99,7	98,7	98,7	99,5	0,5	0,8	0,5	0,5	0,8
Wässriges Extrakt	2,2	4,8	8,7	22,5	43,1	0,1	0,0	0,2	0,1	0,2
QuEChERS Extrakt	88,0	85,5	75,1	64,7	44,3	0,4	0,5	0,3	0,7	0,2
NER	1,7	2,3	3,3	3,6	4,6	0,0	0,0	0,1	0,2	0,3
WDF nach Extraktion	92,0	92,9	88,2	91,9	92,4	0,5	0,5	0,6	1,1	0,7

Tabelle 37. Ergebnisse der Quantifizierungsversuche von Prochloraz, Icpame-Oleat, Trichlorphenol und Imidazol nach Erhitzung von Prochloraz-dotiertem Rapsöl. Variiert wurden Erhitzungstemperatur und -dauer

Analyt	Dauer [min]	Mittelwerte [$\mu\text{g}/\text{kg}$]				Standardabweichungen [$\mu\text{g}/\text{kg}$]			
		180 °C	200 °C	220 °C	240°C	180 °C	200 °C	220 °C	240°C
Prochloraz	0	498,8	498,8	498,8	498,8	5,9	5,9	5,9	5,9
	30	487,4	484,5	479,2	370,3	2,4	4,7	0,0	9,1
	60	483,7	469,5	375,3	185,7	5,7	0,6	15,0	3,2
	90	472,0	426,7	286,3	104,1	5,1	7,2	3,0	5,7
	120	460,6	368,5	214,1	43,0	9,1	10,5	7,2	4,0
	180	439,8	309,9	100,5	8,1	4,9	10,0	2,7	0,5
	240	412,1	278,0	34,3	0,0	6,1	11,7	3,7	0,0
Icpame-Oleat	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	30	0,0	0,0	8,2	48,4	0,0	0,0	0,1	0,9
	60	0,0	0,0	26,9	79,5	0,0	0,0	0,3	4,2
	90	0,0	8,6	38,4	73,9	0,0	0,1	0,2	1,9
	120	0,0	12,5	46,0	59,1	0,0	0,5	0,9	0,1
	180	0,0	21,3	40,2	45,0	0,0	0,0	1,7	0,0
	240	0,0	23,7	23,1	34,2	0,0	0,4	0,9	1,1
Trichlorphenol	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	30	0,0	0,0	6,1	14,3	0,0	0,0	0,3	1,2
	60	0,0	7,3	23,1	45,4	0,0	0,4	0,9	1,1
	90	0,0	11,9	42,0	66,2	0,0	0,7	1,1	3,0
	120	0,0	24,0	56,3	71,3	0,0	0,5	0,4	0,7
	180	8,4	35,8	75,5	81,7	0,1	0,5	2,5	0,0
	240	15,8	45,9	79,8	85,0	0,0	2,3	2,6	1,0
Imidazol	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	30	0,0	9,5	33,0	80,4	0,0	0,2	0,4	0,5
	60	8,4	14,2	106,0	149,4	0,5	10,7	1,4	3,1
	90	13,3	38,3	145,8	187,9	0,3	1,2	1,5	3,4
	120	17,9	62,5	202,1	252,8	0,2	1,9	11,0	1,8
	180	30,3	134,1	251,7	258,1	0,1	10,7	4,6	0,5
	240	47,6	148,8	250,2	231,0	0,3	2,4	3,6	9,8

Tabelle 38. Ergebnisse der Quantifizierungsversuche von Prochloraz, Icpame-Oleat, Trichlorphenol und Imidazol nach Erhitzung verschiedener Prochloraz-dotierter Öle. Alle Proben wurden einheitlich für 90 min auf 220 °C erhitzt

Ölsorte	Mittelwerte [$\mu\text{g}/\text{kg}$]				Standardabweichungen [$\mu\text{g}/\text{kg}$]			
	Prochloraz	Icpame-Oleat	Imidazol	TCP	Prochloraz	Icpame-Oleat	Imidazol	TCP
Rapsöl, nativ	286,3	38,4	42,0	145,8	3,0	0,2	1,1	1,5
Rapsöl, raffiniert	118,0	57,7	35,5	129,9	5,1	6,8	0,2	5,9
Sonnenblumenöl	120,7	56,8	24,4	58,2	0,7	2,5	0,2	0,9
Olivenöl, nativ	87,6	21,8	0,0	171,9	3,8	0,4	0,0	3,3

Tabelle 39: Liste der exakten m/z-Verhältnisse, die im Rahmen des Suspect-Screenings von potentiellen Deltamethrin-Abbauprodukten gescannt wurden [75, 157]

Substanz	Br-Isotope	[M+H] ⁺	[M+NH ₄] ⁺	[M-H] ⁻
Deltamethrin	79,79	503,98099	521,00754	501,96534
	79,81	505,97895	523,00549	503,96330
	81,81	507,97690	525,00345	505,96125
¹⁴ C-Deltamethrin	79,79	505,98423	523,01078	503,96858
	79,81	507,98219	525,00873	505,96654
	81,81	509,98014	527,00669	507,96449
3-Phenoxybenzaldehyd	-	199,07591	216,10245	197,06026
3-Phenoxybenzoesäure	-	215,07082	232,09737	213,05517
¹⁴ C-c-Br ₂ CA	79,79	298,91582	315,94237	296,90017
	79,81	300,91377	317,94032	298,89812
	81,81	302,91173	319,93827	300,89608
¹⁴ C-c-COOH-c-Br ₂ CA	79,79	328,89000	345,91655	326,87435
	79,81	330,88795	347,91450	328,87230
	81,81	332,88591	349,91245	330,87026
¹⁴ C-t-COOH-c-Br ₂ CA	79,79	328,89000	345,91655	326,87435
	79,81	330,88795	347,91450	328,87230
	81,81	332,88591	349,91245	330,87026
¹⁴ C-c-CH ₂ OH-c-Br ₂ CA	79,79	314,91073	331,93728	312,89508
	79,81	316,90869	333,93524	314,89304
	81,81	318,90664	335,93319	316,89099
¹⁴ C-t-COOH-c-CH ₂ OH-c-BrCA-lactone	79,79	326,87435	343,90090	324,85870
	79,81	328,87230	345,89885	326,85665
	81,81	330,87026	347,89680	328,85461
¹⁴ C-Deltamethrinamid	79,79	523,99480	541,02135	521,97915
	79,81	525,99275	543,01930	523,97710
	81,81	527,99070	545,01725	525,97505
¹⁴ C-2/4-OH-Deltamethrin	79,79	521,97915	539,00570	519,96350
	79,81	523,97710	541,00365	521,96145
	81,81	525,97505	543,00160	523,95940
3-Phenoxybenzylalkohol	-	201,09156	218,11810	199,07591
OH-3-Phenoxybenzaldehyd	-	215,07082	232,09737	213,05517
OH-3-Phenoxybenzoesäure	-	231,06574	248,09228	229,05009
OH-3-Phenoxybenzylalkohol	-	217,08647	234,11302	215,07082

Tabelle 40. Verbleib der Aktivität von ^{14}C -Deltamethrin während der Herstellung von Tomatenprodukten. Als Fehler wird die jeweilige Standardabweichung einer Doppelbestimmung betrachtet

	Wert	Fehler (\pm)	Einheit
Tomatenpüree			
theoretische Gesamtaktivität	2500		MBq/kg
Tomatenmark			
Konzentrationsfaktor aus T.-Püree	3,68		-
theoretische Gesamtaktivität	9209,1	108,4	MBq/kg
bestimmte Gesamtaktivität	9243,8	54,8	MBq/kg
Extrahierte Aktivität	9117,8	245,1	MBq/kg
Gebackenes Tomatenmark			
Mittlerer Konzentrationsfaktor	2,54	0,12	-
Mittlere theor. Gesamtaktivität	23460,6	139,1	MBq/kg
Mittlere extrahierbare Aktivität	21365,0	320,5	MBq/kg
Mittlerer Anteil NER	1110,8	16,9	MBq/kg
Tomatenfond			
Eingesetzte Gesamtaktivität	110,0	0,7	kBq
Bestimmte Gesamtaktivität (Feststoff)	56,9	0,8	kBq
Bestimmte Gesamtaktivität (Öl)	54,5	0,4	kBq
Extrahierte Aktivität (Feststoff)	54,6	1,3	kBq
Extrahierte Aktivität (Öl)	51,1	0,1	kBq
Anteil NER (Feststoff)	2,91	0,09	kBq
Anteil NER (Öl)	0,84	0,08	kBq

Tabelle 41. Liste der exakten m/z-Verhältnisse, die im Rahmen des Suspect-Screenings von Chlorpropham und potentiellen Abbauprodukten gescannt wurden [53, 54]

Substanz	$[\text{M}+\text{H}^+]^+$	$[\text{M}-\text{H}^+]^-$
Chlorpropham	214,06348	212,04783
^{14}C -Chlorpropham	216,06672	214,05107
Hydroxychlorpropham	230,05839	228,04274
Methoxychlorpropham	244,07404	242,05839
3-Chloranilin	128,02670	126,01105
3-Chlor-4-hydroxyanilin	144,02162	142,00597
3-Chlor-4-methoxyanilin	158,03727	156,02162

Tabelle 42. Ein- und Auswaagen der Verarbeitungsprozesse von Kartoffeln und Ergebnisse der Aktivitätsbestimmung (Oxidizer für Feststoffproben beziehungsweise Direkt-LSC für Flüssigproben) in den rohen und verarbeiteten Produkten. Aufgelistete Mittelwerte und Standardabweichungen der Aktivitätsmengen wurden aus einer Dreifachbestimmung ermittelt

Lagerungsdauer	Probe	Einwaage für Verarbeitung [g]	Auswaage nach Verarbeitung [g]	Aktivität [Bq/g]	
				Mittel	Fehler
12 d	nBoil	36,3	-	2445,4	399,5
	nFry	34,6	-	2312,4	521,3
	nWedg	38,4	-	3029,4	280,3
	Boil	-	35,2	362,4	42,2
	Fry	-	19,4	1134,0	221,0
	Wedg	-	23,5	1284,6	110,0
	BoilH ₂ O	n.b.	544,9	49364,3	405,9
	FryOil	n.b.	189,4	59672,4	212,9
1 m	nBoil	25	-	2262,7	227,9
	nFry	29,4	-	2348,5	335,8
	nWedg	30,3	-	2176,7	386,6
	Boil	-	24,5	360,4	23,8
	Fry	-	16	1269,9	269,1
	Wedg	-	17,2	1681,7	166,3
	BoilH ₂ O	n.b.	532,2	31066,3	228,3
	FryOil	n.b.	197,9	46212,9	621,3
2 m	nBoil	25,1	-	3440,3	345,3
	nFry	35,5	-	2283,7	275,8
	nWedg	37,1	-	2174,0	66,3
	Boil	-	25,5	880,9	111,3
	Fry	-	19,4	1277,6	70,7
	Wedg	-	19,8	1647,9	130,7
	BoilH ₂ O	n.b.	507,7	31147,4	86,3
	FryOil	n.b.	199,4	36154,9	0,0
4 m	nBoil	25	-	5463,5	511,4
	nFry	32,3	-	2205,0	115,9
	nWedg	41	-	2567,4	248,0
	Boil	-	25,4	1231,8	47,9
	Fry	-	17,1	2092,5	152,7
	Wedg	-	24,3	1458,0	121,7
	BoilH ₂ O	n.b.	492,7	37405,8	59,1
	FryOil	n.b.	199,5	34329,5	249,1

Anhang

Lagerungsdauer	Probe	Einwaage für Verarbeitung [g]	Auswaage nach Verarbeitung [g]	Aktivität [Bq/g]	
				Mittel	Fehler
6 m	nBoil	9,7	-	7593,9	440,8
	nFry	29,6	-	3907,2	446,0
	nWedg	24,5	-	3438,5	1032,4
	Boil	-	10,6	2746,0	38,9
	Fry	-	17	2034,1	194,9
	Wedg	-	11,8	2887,5	99,8
	BoilH ₂ O	n.b.	475,4	24378,5	47,5
	FryOil	n.b.	201,8	30139,0	100,8

Tabelle 43. Ergebnisse der Quantifizierung von Chlorpropham und 3-Chloranilin (jeweils als freie und gebundene Analyten) mittels LC-MS in rohen und verarbeiteten Kartoffelprodukten. Aufgelistete Mittelwerte und Standardabweichungen wurden aus einer Doppelbestimmung ermittelt

Lagerungsdauer	Probe	Mittelwerte				Standardabweichung			
		Frei		Gebunden		Frei		Gebunden	
		Chlorpropham [µg/kg]	Chloranilin [µg/kg]	Chlorpropham [µg/kg]	Chloranilin [µg/kg]	Chlorpropham [µg/kg]	Chloranilin [µg/kg]	Chlorpropham [µg/kg]	Chloranilin [µg/kg]
0 d	nBoil	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	nFry	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	nWedg	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Boil	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Fry	0,0	0,0	0,0	3,1	0,0	0,0	0,0	3,1
	Wedg	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	BoilH ₂ O	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	FryOil	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
12 d	nBoil	8625,8	0,0	366,0	0,0	896,3	0,0	39,6	0,0
	nFry	8065,1	0,0	244,7	0,0	41,1	0,0	7,8	0,0
	nWedg	9624,9	0,0	425,0	0,0	734,5	0,0	40,3	0,0
	Boil	896,2	0,0	45,3	0,0	40,7	0,0	0,9	0,0
	Fry	3084,6	0,0	874,9	9,3	14,6	0,0	16,0	0,6
	Wedg	2538,0	6,4	593,4	22,5	95,2	0,1	47,7	1,8
	BoilH ₂ O	302,5	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	4,8	0,0
	FryOil	881,8	0,0	160,6	0,0	21,3	0,0	2,8	0,0
1 m	nBoil	7393,0	0,0	358,3	0,0	236,1	0,0	12,9	0,0
	nFry	7928,9	0,0	373,1	5,8	399,0	0,0	4,7	0,1
	nWedg	6999,5	0,0	318,6	7,0	98,7	0,0	4,3	0,1
	Boil	860,3	0,0	37,7	0,0	19,4	0,0	1,0	0,0
	Fry	3072,6	0,0	753,5	10,7	171,3	0,0	115,2	0,6
	Wedg	2825,8	0,0	649,1	14,4	68,2	0,0	192,7	3,1
	BoilH ₂ O	186,2	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	1,6	0,0
	FryOil	651,6	0,0	111,2	0,0	7,4	0,0	0,8	0,0
2 m	nBoil	9796,2	0,0	530,2	18,7	204,3	0,0	15,8	0,1
	nFry	7930,1	0,0	437,9	10,8	781,9	0,0	15,2	0,5
	nWedg	7226,9	0,0	416,3	5,6	95,8	0,0	7,1	0,1
	Boil	2391,6	7,5	101,9	19,1	45,6	0,2	6,9	0,4
	Fry	3053,3	0,0	677,5	19,1	56,0	0,0	56,9	0,2
	Wedg	2862,0	0,0	732,2	16,9	166,0	0,0	45,1	0,4
	BoilH ₂ O	223,0	0,0	0,0	0,0	21,1	0,0	0,4	0,0
	FryOil	484,8	0,0	81,1	0,0	0,7	0,0	1,0	0,0

Anhang

Lagerungsdauer	Probe	Mittelwerte				Standardabweichung			
		Frei		Gebunden		Frei		Gebunden	
		Chlorpropham [µg/kg]	Chloranilin [µg/kg]	Chlorpropham [µg/kg]	Chloranilin [µg/kg]	Chlorpropham [µg/kg]	Chloranilin [µg/kg]	Chlorpropham [µg/kg]	Chloranilin [µg/kg]
4 m	nBoil	16025,6	0,0	557,5	62,2	1582,8	0,0	48,8	8,1
	nFry	7318,5	0,0	303,9	16,4	259,4	0,0	16,7	0,1
	nWedg	7669,9	0,0	265,6	10,3	96,4	0,0	0,0	0,1
	Boil	2342,8	14,3	68,0	34,2	129,3	0,3	4,0	2,6
	Fry	3638,9	5,3	941,1	40,7	57,6	0,0	21,5	1,7
	Wedg	2301,9	0,0	570,2	22,0	70,2	0,0	28,3	0,5
	BoilH ₂ O	239,1	0,0	0,0	0,0	2,9	0,0	3,4	0,0
	FryOil	352,0	0,0	74,5	0,0	11,4	0,0	1,0	0,0
6 m	nBoil	21449,6	5,7	1089,4	160,8	304,6	0,2	64,3	5,5
	nFry	10579,8	0,0	510,5	23,7	34,5	0,0	10,1	0,1
	nWedg	9944,0	0,0	404,7	22,7	106,2	0,0	41,0	0,4
	Boil	4288,2	22,8	243,0	102,5	31,9	0,0	29,9	4,5
	Fry	4170,7	6,3	1100,1	44,4	102,1	0,3	31,6	1,5
	Wedg	3168,9	10,0	712,1	53,5	62,8	0,0	24,5	1,6
	BoilH ₂ O	177,1	0,0	0,0	0,0	15,1	0,0	2,3	0,0
	FryOil	447,7	0,0	75,6	0,0	9,9	0,0	1,7	0,0

Tabelle 44. Ergebnisse der Aktivitätsmessungen in den Extrakten (freie und gebundene Analyten) der rohen Kartoffeln und der verarbeiteten Produkte. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen einer Doppelbestimmung

Lagerungs- dauer	Probe	Mittelwerte		Standardabweichung	
		Frei [Bq/g]	Gebunden [Bq/g]	Frei [Bq/g]	Gebunden [Bq/g]
12 d	nBoil	2531,0	88,9	232,8	11,0
	nFry	2256,5	64,7	65,7	3,0
	nWedg	2696,0	98,6	256,6	12,0
	Boil	348,1	26,1	2,1	0,8
	Fry	937,6	234,7	56,7	15,7
	Wedg	1061,9	181,8	84,4	10,6
	BoilH ₂ O	78,0	27,5	0,0	0,5
	FryOil	229,8	90,1	3,5	2,0
1 m	nBoil	2116,2	90,8	113,0	6,2
	nFry	2164,9	86,4	101,9	0,4
	nWedg	2038,4	80,9	73,7	2,8
	Boil	335,4	27,7	5,0	1,5
	Fry	827,0	193,9	59,6	24,7
	Wedg	1129,8	288,9	34,3	30,4
	BoilH ₂ O	40,5	18,0	0,5	0,4
	FryOil	153,0	63,2	4,3	0,1
2 m	nBoil	2936,3	131,8	17,5	1,9
	nFry	2223,4	102,4	236,0	4,5
	nWedg	2041,3	91,1	1,8	0,2
	Boil	758,1	52,8	12,8	1,8
	Fry	937,9	183,6	19,1	6,4
	Wedg	1077,3	259,3	45,7	25,2
	BoilH ₂ O	45,0	20,0	1,0	0,8
	FryOil	114,1	49,4	0,8	0,5
4 m	nBoil	4816,5	180,5	287,6	19,2
	nFry	2130,2	93,2	79,3	3,6
	nWedg	2371,7	87,3	49,5	0,8
	Boil	800,0	63,5	6,2	2,3
	Fry	1118,6	254,2	105,1	16,6
	Wedg	1015,1	227,5	5,6	4,8
	BoilH ₂ O	57,0	23,2	0,0	0,0
	FryOil	112,5	49,4	1,8	0,7
6 m	nBoil	6910,2	336,2	39,5	5,0
	nFry	3866,4	172,6	123,7	3,3
	nWedg	3203,4	158,0	46,0	33,4
	Boil	1429,7	195,1	43,6	5,1
	Fry	1224,3	301,1	63,6	6,8
	Wedg	1404,4	326,0	18,8	0,4
	BoilH ₂ O	33,5	18,0	0,5	0,4
	FryOil	103,8	42,1	1,7	0,7

8.4 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Vereinfachtes Schema der Metabolismus- bzw. Abbauwege von Prochloraz in Organismen und in Boden. BTS 44596: 3-Formyl-1-propyl-1-[2-(2,4,6-trichlorphenoxy)ethyl]harnstoff, BTS 44595: 1-Propyl-1-[2-(2,4,6-trichlorphenoxy)-ethyl]harnstoff, BTS 40348: N-Propyl-N-2-(2,4,6-trichlorphenoxy)-ethylamin [62-70]	11
Abbildung 2. Schematischer Metabolismus von Deltamethrin in Pflanzen [78]. Zur Übersicht werden keine Stereoisomere berücksichtigt (Br ₂ CA: (1R,3R)-3-(2,2-Dibromvinyl)- 2,2-dimethyl-cyclopropansäure)	14
Abbildung 3. Vereinfachtes Schema des Metabolismus von Chlorpropham in gelagerten Kartoffeln [86, 87]	17
Abbildung 4. Strukturformeln der in dieser Arbeit verwendeten radioaktiv markierten Substanzen mit Angabe der Position der radioaktiven Markierung durch ¹⁴ C (*)	23
Abbildung 5. Strukturformeln häufig eingesetzter primärer und sekundärer Szintillatoren für die Flüssigszintillationszählung [138]	26
Abbildung 6. Schematischer Aufbau eines Radiodetektors (PMT: engl. photomultiplier tube) [150]	28
Abbildung 7. Einfluss der Erhitzungstemperatur auf die Verteilung der Radioaktivität in verschiedenen Extrakten sowie Extraktionsrückständen (Erhitzungszeit: 45 min; 100% = 1,83 MBq/kg). Die Wiederfindung (WDF) beschreibt die Summe der Aktivitätsmengen in den Extrakten und Extraktionsrückständen (nicht-extrahierbare Rückstände: NER)	73
Abbildung 8. Repräsentative radio-UPLC [®] -Chromatogramme des wässrigen (A) und des organischen QuEChERS-Extraktes (B) der Ölprobe nach Erhitzung auf 240 °C für 45 min	75
Abbildung 9. MS/MS-Fragmentspektrum des Prochloraz-Abbauprodukts PO143... 76	
Abbildung 10. Postulierte Struktur des Abbauproduktes PO143 und der entsprechende vermutete MS/MS-Fragmentierungsmechanismus	77
Abbildung 11. Partielle Strukturvorschläge für die identifizierten Abbauprodukte PO153, PO157 und PO336	78
Abbildung 12. MS-Fragmentspektren des Prochloraz-Abbauproduktes (radio-UPLC [®] -Peak O5) mit dem m/z-Paar 462,3696 (a) und m/z 464,3728 (b)	79

- Abbildung 13. Postulierter Mechanismus für die MS/MS-Fragmentierung der m/z-Verhältnisse m/z 462,3696 bzw. m/z 464,3728. Die aufgelisteten m/z-Verhältnisse entsprechen den nicht-¹⁴C-markierten sowie den (falls vorhanden) ¹⁴C-markierten Fragmenten 80
- Abbildung 14. HMBC-NMR-Spektrum des isolierten Icpame-Oleats (Messparameter sind Abbildung 34 im Anhang zu entnehmen) 84
- Abbildung 15. Ergebnisse der Quantifizierung von Prochloraz-dotiertem Öl nach Erhitzung unter Variation von Temperatur und Erhitzungsdauer. Ergebnisse für Prochloraz, Icpame-Oleat, Imidazol und 2,4,6-Trichlorphenol (TCP) sowie die Summen aller Imidazol-haltigen Prochloraz-Äquivalente (P.-Äq., Prochloraz, Icpame-Oleat und Imidazol) und die Summen aller TCP-haltigen Prochloraz-Äquivalente (Prochloraz und Trichlorphenol). Alle gezeigten Werte stellen Mittelwerte einer Doppelbestimmung mit Standardabweichungen als Fehler dar. Ergebnisse unter der Bestimmungsgrenze wurden als Null berücksichtigt..... 87
- Abbildung 16. Ergebnisse der Quantifizierung der Prochloraz-Abbauprodukte in unterschiedlichen Ölen nach Erhitzung für 90 min bei 220 °C. Alle Werte stellen Mittelwerte einer Doppelbestimmung mit der Standardabweichung als Fehler dar (P.-Äq.: Prochloraz-Äquivalente, SB-Öl: Sonnenblumenöl) 90
- Abbildung 17: Verbleib der Aktivität nach Herstellung des Tomatenmarks. Dargestellt sind die aus der Änderung der Trockenmasse abgeleitete theoretische Gesamtaktivität, die mittels Aufschluss-LSC ermittelte, tatsächliche Gesamtaktivität und die mittels der QuEChERS-Methode extrahierbare Aktivität je Kilogramm Tomatenmark..... 92
- Abbildung 18. Verbleib der Aktivität nach dem Backprozess des ¹⁴C-Deltamethrin-haltigen Tomatenmarks. Dargestellt ist die aus dem Verhältnis aus Ein- und Auswaagen bestimmte theoretische Gesamtaktivität sowie die mittels der QuEChERS-Extraktion zugängliche Aktivität und die nicht-extrahierbare Aktivität 93
- Abbildung 19. Verbleib der eingesetzten, theoretischen Gesamtaktivität nach der Tomatenfond-Herstellung durch Anbraten von mit ¹⁴C-Deltamethrin-dotiertem Tomatenmark in Speiseöl. Darstellung zeigt neben der theoretischen Gesamtaktivität die Verteilung der gemessenen Aktivität in Feststoff und Ölphase sowie die Extrahierbarkeit der Aktivität in beiden Phasen 94

Abbildung 20. Massenspur des ¹⁴ C-Deltamethrins ([M+H] ⁺ = m/z 507,9816, 1a) im ankonzentrierten Extrakt des Tomatenpürees sowie radio-Chromatogramme der Extrakte aller verarbeiteten Tomatenprodukte (1b – 4b) nach chromatographischer Trennung entsprechend der ESI-positiv-Methode (siehe Absatz 3.2.3.4)	96
Abbildung 21. Gehalte an Aktivität in den entnommenen Einzelkartoffeln (eine Knolle nach 0 Tagen, je drei für die übrigen Probenahmezeitpunkte) in Abhängigkeit von der Lagerungszeit sowie deren Mittelwert inklusive Standardabweichung als Fehler	99
Abbildung 22. Per LC-MS-Methode ermittelte Gesamtgehalte an Chlorpropham-Rückständen in den jeweils drei entnommenen Einzelkartoffeln in Abhängigkeit von der Lagerungszeit sowie deren Mittelwerte inklusive Standardabweichung als Fehler.....	103
Abbildung 23. Verteilung der quantifizierten Analyten (Chlorpropham: CIPC, 3-Chloranilin: 3-CA) in den verarbeiteten Knollen sowie Kochwasser und Frittieröl. Als 100%-Referenzwert wurde jeweils die Summe aller freien und gebundenen Analyten betrachtet, die zuvor in der jeweiligen Rohkartoffel bestimmt wurden	105
Abbildung 24. Bilanzierung der gesamten (frei und gebunden) 3-Chloranilin-Gehalte vor und nach der Verarbeitung (d.h. quantifizierte 3-Chloranilin-Gesamtgehalte multipliziert mit dem entsprechenden Kartoffelgewicht, das für den jeweiligen Schritt eingesetzt wurde). Dargestellte Werte sind Mittelwerte einer Doppelbestimmung mit Standardabweichung als Fehler.....	107
Abbildung 25. Vergleich der verschiedenen Methoden zur Bestimmung der Gesamtgehalte an Chlorpropham-Äquivalenten in den untersuchten Matrices, d.h. Rückstände, die per Oxidizer-LSC (direkt-LSC bei Flüssigproben), per LC-MS und per Extrakt-LSC bestimmt wurden. Dargestellte Werte sind Mittelwerte einer Doppelbestimmung (dreifache Doppelbestimmung für die Rohkartoffeln) mit der Standardabweichung als Fehler	109
Abbildung 26. Strukturformeln von Prochloraz und dessen Abbauprodukten nach Erhitzung in Rapsöl (* Struktur nicht vollständig aufgeklärt).....	113
Abbildung 27. Vergleichende Darstellung des nicht-erhitzten Rapsöls (20 °C) mit den Ölen nach Erhitzung auf Temperaturen zwischen 180 und 240 °C für jeweils 45 Minuten.	148

Abbildung 28. ¹ H-NMR-Spektrum des isolierten Icpame-Oleats inklusive der Aufnahmeparameter (aufgenommen mit einem Bruker Ascend™ 700 NMR)	149
Abbildung 29. ¹³ C-NMR-Spektrum des isolierten Icpame-Oleats inklusive der Aufnahmeparameter (aufgenommen mit einem Bruker Ascend™ 700 NMR)	150
Abbildung 30. DEPT-135-Spektrum des isolierten Icpame-Oleats inklusive der Aufnahmeparameter (aufgenommen mit einem Bruker Ascend™ 700 NMR)	151
Abbildung 31. COSY-Spektrum des isolierten Icpame-Oleats inklusive der Aufnahmeparameter (aufgenommen mit einem Bruker Ascend™ 700 NMR)	152
Abbildung 32. TOCSY-Spektrum des isolierten Icpame-Oleats inklusive der Aufnahmeparameter (aufgenommen mit einem Bruker Ascend™ 700 NMR)	153
Abbildung 33. HSQC-Spektrum des isolierten Icpame-Oleats inklusive der Aufnahmeparameter (aufgenommen mit einem Bruker Ascend™ 700 NMR)	154
Abbildung 34. HMBC-Spektrum des isolierten Icpame-Oleats inklusive der Aufnahmeparameter (aufgenommen mit einem Bruker Ascend™ 700 NMR)	155
Abbildung 35. HPLC-UV-Chromatogramm nach Injektion einer 100 mg Isolat/L-Lösung (100 µL Injektionsvolumen) im Rahmen der Reinheitsbestimmung des Icpame-Oleat-Standards	156
Abbildung 36. Kalibriergeraden beziehungsweise -kurve (Matrixkalibrierungen) für die Quantifizierung von Prochloraz, Icpame-Oleat, Trichlorphenol und Imidazol in erhitztem Rapsöl	157
Abbildung 37. Repräsentative Chromatogramme von Prochloraz, Icpame-Oleat, Imidazol und 2,4,6-Trichlorphenol nach Dotierung von Rapsöl auf LOQ-Level (je 5 µg/kg Öl)	158
Abbildung 38: Tomatenmark vor und nach der Erhitzung im Backofen bei 250 °C für 5 Minuten	159
Abbildung 39. A: Radio-UPLC®-Chromatogramm der Applikationslösung. B: Parallel aufgenommenes HRMS Signal der Chlorpropham-Massenspur ([M+H] ⁺ = m/z 214,0629) im ESI-positiv-Modus	159
Abbildung 40. Kalibriergeraden für die Quantifizierung von Chlorpropham (oben) und 3-Chloranilin (unten) in rohen Kartoffeln und verarbeiteten Produkten	160
Abbildung 41. Validierung der Bestimmungsgrenzen von Chlorpropham-Rückständen in rohen Kartoffeln: Repräsentative UHPLC-MS/MS-	

Chromatogramme der Quantifizier-Übergänge von freiem und gebundenem Chlorpropham ($t_r = 6,67$ min) und 3-Chloranilin ($t_r = 3,72$ min) auf LOQ-Level. 161

Abbildung 42. Validierung der Bestimmungsgrenzen von Chlorpropham-

Rückständen in gekochten Kartoffeln: Repräsentative UHPLC-MS/MS-Chromatogramme der Quantifizier-Übergänge von freiem und gebundenem Chlorpropham ($t_r = 6,68$ min) und 3-Chloranilin ($t_r = 3,72$ min) auf LOQ-Level 161

Abbildung 43. Validierung der Bestimmungsgrenzen von Chlorpropham-

Rückständen in frittierten (bzw. fetthaltigen) Kartoffeln: Repräsentative UHPLC-MS/MS-Chromatogramme der Quantifizier-Übergänge von freiem und gebundenem Chlorpropham ($t_r = 6,67$ min) und 3-Chloranilin ($t_r = 3,72$ min) auf LOQ-Level..... 162

Abbildung 44. Validierung der Bestimmungsgrenzen von Chlorpropham-

Rückständen in Kochwasser von Kartoffeln: Repräsentative UHPLC-MS/MS-Chromatogramme der Quantifizier-Übergänge von freiem und gebundenem Chlorpropham ($t_r = 6,68$ min) und 3-Chloranilin ($t_r = 3,72$ min) auf LOQ-Level. 162

Abbildung 45. Validierung der Bestimmungsgrenzen von Chlorpropham-

Rückständen in Frittieröl von Kartoffeln: Repräsentative UHPLC-MS/MS-Chromatogramme der Quantifizier-Übergänge von freiem und gebundenem Chlorpropham ($t_r = 6,68$ min) und 3-Chloranilin ($t_r = 3,72$ min) auf LOQ-Level. 163

8.5 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Repräsentative hydrolytische Bedingungen entsprechend der OECD 507 Richtlinie zur Simulation des Verbleibs von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen während der Lebensmittelverarbeitung [11].....	7
Tabelle 2. Eigenschaften und Basisdaten des Wirkstoffes Prochloraz	10
Tabelle 3. Ergebnisse der Verbleibsuntersuchungen des Wirkstoffes Prochloraz nach OECD 507 Richtlinie [69]	12
Tabelle 4. Eigenschaften und Basisdaten des Wirkstoffes Deltamethrin	13
Tabelle 5. Ergebnisse der Verbleibsuntersuchungen des Wirkstoffes Deltamethrin nach OECD 507 Richtlinie (Br ₂ CA: (1R,3R)-3-(2,2-Dibromvinyl)-2,2-dimethylcyclopropansäure) [75]	15
Tabelle 6. Eigenschaften und Basisdaten des Wirkstoffes Chlorpropham.....	16
Tabelle 7. Ergebnisse der Verbleibsuntersuchungen des Wirkstoffes Chlorpropham nach OECD 507 Richtlinie [53]	18
Tabelle 8: Chromatographische Parameter zur Bestimmung von ¹⁴ C-Prochloraz und potentiellen Abbauprodukten in erhitztem Rapsöl.....	33
Tabelle 9: Spezifikation und Parameter des Radiodetektors zur Detektion von ¹⁴ C-Prochloraz und möglichen Abbauprodukten in erhitztem Rapsöl	34
Tabelle 10: HRMS-Parameter zur Bestimmung und Identifizierung von ¹⁴ C-Prochloraz und möglichen Abbauprodukten in erhitztem Rapsöl im FullIMS-AIF-Modus.....	35
Tabelle 11. HRMS-Parameter für die Strukturaufklärung von Prochloraz-Abbauprodukten nach Erhitzung in Rapsöl mittels t-SIM/dd-MS ²	36
Tabelle 12: Auflistung der Networks-Parameter zur Bestimmung möglicher ¹⁴ C-Prochloraz-Abbauprodukte in erhitztem Rapsöl	37
Tabelle 13. Messparameter der HPLC-UV-Messung zur Reinheitsbestimmung des Prochloraz-Abbauproduktes Icpame-Oleat.....	40
Tabelle 14. Informationen zu den in der Ölvergleichs-Messreihe untersuchten Ölen	41
Tabelle 15. Abgeänderter UPLC [®] -Gradient für die Quantifizierung von Trichlorphenol und Imidazol in erhitzten Ölproben. Die übrigen chromatographischen Parameter waren identisch zur Bestimmung von Prochloraz (vgl. Tabelle 8 in Absatz 3.1.1.3)	42

Tabelle 16: HRMS-Parameter für die Quantifizierung von Trichlorphenol und Imidazol mittels t-SIM-Methode	43
Tabelle 17. Liste der zur Untersuchung des Verbleibs von Prochloraz während der Erhitzung von Öl verwendeten Chemikalien	45
Tabelle 18. Auflistung der zur Untersuchung des Verbleibs von Prochloraz während der Erhitzung von Rapsöl verwendeten Geräte	46
Tabelle 19: Chromatographische Parameter zur Bestimmung von Deltamethrin und potentiellen Abbauprodukten in Tomatenprodukten	52
Tabelle 20: Spezifikation und Parameter des Radiodetektors zur Detektion von ¹⁴ C-Deltamethrin und möglichen Abbauprodukten in Tomatenprodukten	53
Tabelle 21: Massenspektrometer-Parameter zur Bestimmung von ¹⁴ C-Deltamethrin und möglichen Abbauprodukten in Tomatenprodukten	54
Tabelle 22: Auflistung der Networks-Parameter zur Bestimmung möglicher Deltamethrin-Abbauprodukte in Tomatenprodukten	55
Tabelle 23: Liste der zur Untersuchung des Verbleibs von Deltamethrin in der Herstellung von Tomatenprodukten verwendeten Chemikalien	56
Tabelle 24: Liste der zur Untersuchung des Verbleibs von Deltamethrin während der Herstellung von Tomatenprodukten verwendeten Geräte und Gefäße	57
Tabelle 25. Auflistung der Networks-Parameter zur Bestimmung möglicher Chlorpropham-Abbauprodukte in rohen und verarbeiteten Kartoffeln	64
Tabelle 26. Chromatographische Parameter zur Bestimmung von Chlorpropham und 3-Chloranilin als freie und als gebundene Analyten in rohen und verarbeiteten Kartoffelprodukten sowie Kochwasser und Frittieröl	67
Tabelle 27. MS/MS-Parameter zur Quantifizierung von Chlorpropham und 3-Chloranilin als freie und gebundene Analyten in rohen und verarbeiteten Kartoffelprodukten sowie Kochwasser und Frittieröl	68
Tabelle 28. Substanzspezifische MS-Parameter inklusive der Retentionszeiten der Analyten und internen Standards (DP: declustering potential, CE: collision energy, CXP: cell exit potential)	68
Tabelle 29: Chemikalien, die zur Untersuchung des Verbleibs von Chlorpropham während der Lagerung und Verarbeitung von Kartoffeln verwendet wurden	70
Tabelle 30: Geräte und Gefäße, die zur Untersuchung des Verbleibs von Chlorpropham während der Lagerung und Verarbeitung von Kartoffeln verwendet wurden	71

Tabelle 31. Zuordnung der radio-UPLC®-Peaks zu den identifizierten m/z-Paaren sowie zu den jeweils assoziierten Fettsäureresten	79
Tabelle 32. Zuordnung der ¹ H und ¹³ C Verschiebungen und die Interpretation der DEPT-Daten des isolierten Icpame-Oleats. Die genannten DEPT-Interpretationen wurden aus den DEPT-Signalen und den Integrationswerten interpretiert.....	83
Tabelle 33. Validierungsergebnisse der Quantifizierung von Prochloraz, Icpame-Oleat, Imidazol und 2,4,6-Trichlorphenol. Die mittleren Wiederfindungen und relative Standardabweichungen (RSD) wurden aus einer Fünffachbestimmung auf LOQ-Level (5 µg/kg) ermittelt.....	85
Tabelle 34. Validierungsergebnisse der Quantifizierungsmethode für Chlorpropham und 3-Chloranilin (je als freie und gebundene Analyten). Die prozentuale Wiederfindung (WDF) und die relative Standardabweichung (RSD) wurden gemäß SANCO/3029/99-Richtlinie [155] aus einer Fünffachbestimmung auf LOQ- und zehnfachem LOQ-Level gemittelt.....	102
Tabelle 35. Liste der exakten m/z-Verhältnisse, die im Rahmen des Suspect-Screenings von potentiellen Prochloraz-Abbauprodukten im ESI-positiv- bzw. im ESI-negativ-Modus gescannt wurden [154]	164
Tabelle 36. Ergebnisse der Erhitzungsversuche mit ¹⁴ C-Prochloraz in Öl: Aktivität in den Ölen nach Erhitzung auf verschiedene Temperaturen sowie die prozentuale Verteilung der Aktivität auf die wässrigen und organischen Extrakte sowie nicht-extrahierbare Rückstände. Die Wiederfindung (WDF) beschreibt jeweils die Summe der Aktivitäten der Extrakte und der nicht-extrahierbaren Rückstände (NER).....	164
Tabelle 37. Ergebnisse der Quantifizierungsversuche von Prochloraz, Icpame-Oleat, Trichlorphenol und Imidazol nach Erhitzung von Prochloraz-dotiertem Rapsöl. Variiert wurden Erhitzungstemperatur und -dauer	165
Tabelle 38. Ergebnisse der Quantifizierungsversuche von Prochloraz, Icpame-Oleat, Trichlorphenol und Imidazol nach Erhitzung verschiedener Prochloraz-dotierter Öle. Alle Proben wurden einheitlich für 90 min auf 220 °C erhitzt	166
Tabelle 39: Liste der exakten m/z-Verhältnisse, die im Rahmen des Suspect-Screenings von potentiellen Deltamethrin-Abbauprodukten gescannt wurden [75, 157].....	167

Tabelle 40. Verbleib der Aktivität von ^{14}C -Deltamethrin während der Herstellung von Tomatenprodukten. Als Fehler wird die jeweilige Standardabweichung einer Doppelbestimmung betrachtet.....	168
Tabelle 41. Liste der exakten m/z-Verhältnisse, die im Rahmen des Suspect-Screenings von Chlorpropham und potentiellen Abbauprodukten gescannt wurden [53, 54].....	168
Tabelle 42. Ein- und Auswaagen der Verarbeitungsprozesse von Kartoffeln und Ergebnisse der Aktivitätsbestimmung (Oxidizer für Feststoffproben beziehungsweise Direkt-LSC für Flüssigproben) in den rohen und verarbeiteten Produkten. Aufgelistete Mittelwerte und Standardabweichungen der Aktivitätsmengen wurden aus einer Dreifachbestimmung ermittelt	169
Tabelle 43. Ergebnisse der Quantifizierung von Chlorpropham und 3-Chloranilin (jeweils als freie und gebundene Analyten) mittels LC-MS in rohen und verarbeiteten Kartoffelprodukten. Aufgelistete Mittelwerte und Standardabweichungen wurden aus einer Doppelbestimmung ermittelt	171
Tabelle 44. Ergebnisse der Aktivitätsmessungen in den Extrakten (freie und gebundene Analyten) der rohen Kartoffeln und der verarbeiteten Produkte. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen einer Doppelbestimmung	173