

Analytik von Arzneimittelwirkstoffen und Untersuchung ihres Verhaltens während der Trinkwasseraufbereitung mit Ozon

vom Fachbereich C (Mathematik und Naturwissenschaften)
der Bergischen Universität Wuppertal
genehmigte Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
- Doktor der Naturwissenschaften -
(Dr. rer. nat.)



vorgelegt von
Bibiana Preuß
aus Remscheid

Wuppertal, Mai 2011

Diese Arbeit entstand in der Zeit von
Januar 2008 bis April 2011
unter Leitung von
Herrn Prof. Dr. Siegmur Gäb
und
Herrn Prof. Dr. Oliver J. Schmitz
des Fachbereichs C (Mathematik und Naturwissenschaften)
Arbeitsgruppe Analytische Chemie
der Bergischen Universität Wuppertal

Mein ausdrücklicher Dank gilt dem Bergischen Wasser- und
Umweltlabor der BTV-GmbH, das diese Arbeit gefördert hat.



Die Dissertation kann wie folgt zitiert werden:

urn:nbn:de:hbz:468-20111206-133545-9

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=urn%3Anbn%3Ade%3Ahbz%3A468-20111206-133545-9>]

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Siegmar Gäb für die kontinuierliche Unterstützung und intensive Betreuung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Oliver J. Schmitz möchte ich für die freundliche Aufnahme in den Arbeitskreis und Betreuung dieser Arbeit danken.

Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. Joachim M. Marzinkowski für die hilfreiche Unterstützung und die Vermittlung des Kontakts zum Arbeitskreis Analytische Chemie.

Mein herzlicher Dank gilt auch Herrn Dr. Marc Constapel für die intensive Betreuung und vielen konstruktiven Diskussionen.

Ich danke Herrn Dr. Mathias Schöpel, der mir freundlicherweise Proben für diese Arbeit zur Verfügung gestellt hat.

Herrn Dipl. Ing. Wolfgang Heinemann danke ich für seine Hilfe, die mir eine wertvolle Unterstützung bei dieser Arbeit war.

Besonders danken möchte ich Herrn Dr. Günther Preis und Herrn Dipl. Ing. Frank Brille, die mir diese Arbeit im Rahmen meiner Tätigkeit im Bergischen Wasser- und Umweltlabor der BTV-GmbH ermöglicht haben. Beide waren mir in zahlreichen Diskussionen und durch viele Ratschläge eine unschätzbare Hilfe.

Inhaltsverzeichnis

Abstract 1

1. Einleitung..... 4

 1.1 Uferfiltration..... 6

 1.2 Trinkwasseraufbereitung 8

 1.2.1 Aufbereitung nach dem Düsseldorfer-Verfahren 8

 1.2.2 Aufbereitung nach dem Mülheimer-Verfahren 10

 1.2.3 Weitere Aufbereitungsverfahren 11

 1.3 Ozon 12

 1.3.1 Physikalisch-chemische Eigenschaften 12

 1.3.2 Herstellung 13

 1.3.3 Anwendung in der Trinkwasseraufbereitung..... 14

 1.3.4 Reaktionen von Ozon in Wasser 14

 1.3.4.1 Redox-Reaktionen 15

 1.3.4.2 Cycloadditionen 15

 1.3.4.3 Elektrophile Reaktionen..... 16

 1.3.4.4 Nukleophile Reaktionen..... 16

 1.3.4.5 Indirekte Reaktionen des Ozons..... 16

 1.4 Arzneimittel 18

 1.4.1 Antiepileptika 18

 1.4.2 H₂-Rezeptorenblocker 21

 1.4.3 Analgetika..... 22

 1.5 Analytik von ausgewählten Arzneimitteln und deren Produkten aus
 oxidativem Abbau..... 23

 1.5.1 Flüssigchromatographie 24

 1.5.1.1 HPLC 24

 1.5.1.2 Ionenchromatographie..... 25

 1.5.2 Gaschromatographie 27

 1.5.3 Massenspektrometrie 28

 1.5.3.1 Ionisation 29

 1.5.3.2 Quadrupol-Massenspektrometer 30

 1.5.3.3 Ion-Trap-Massenspektrometer 32

 1.6 Aufgabenstellung 33

2. Ergebnisse..... 35

 2.1 Entwicklung der chromatographischen Methode für ausgewählte
 Arzneimittelwirkstoffe 35

 2.1.1 Anreicherung der Analyten 38

2.1.2 Chromatographische Trennung	39
2.1.3 Massenspektrometrische Detektion	41
2.1.4 Validierung	42
2.2 Ozonisierung der Arzneimittelwirkstoffe	49
2.2.1 Versuchsaufbau	49
2.3 Ozonisierung von Carbamazepin	51
2.3.1 Ergebnisse der LC-MS/MS-Direktinjektion	52
2.3.2 Chromatographische Trennung der Transformationsprodukte	58
2.3.3 Anorganische Abbauprodukte von Carbamazepin	61
2.4 Ozonisierung von Ranitidin	63
2.4.1 Anorganische Transformationsprodukte von Ranitidin	65
2.4.2 Bildung organischer Transformationsprodukte	66
2.4.2.1 Bildung von Ameisensäure	66
2.4.2.2 Bildung von N-Nitrosodimethylamin (NDMA)	69
2.5 Ozonisierung von Tramadol	71
2.5.1 Bildung von N-Nitrosodimethylamin	76
2.5.2 Anreicherung der Ozonisierungs-Produkte mit Festphasen-Extraktion ...	77
2.6 Untersuchung von Proben aus der Trinkwasseraufbereitung	78
2.6.1 Aufbereitung nach dem Düsseldorfer-Verfahren	78
2.6.2 Trinkwasseraufbereitung nach dem Mülheimer-Verfahren	79
2.6.3 Trinkwasseraufbereitung ohne Ozonung	79
2.6.4 Auswahl der Transformationsprodukte für Messungen über den Verlauf der Trinkwasseraufbereitung	80
2.6.5 Messungen über den Verlauf der Trinkwasseraufbereitung	81
2.6.5.1 Aufbereitung ohne Ozonung und Aktivkohlefiltration	81
2.6.5.2 Trinkwasseraufbereitung nach dem Mülheimer-Verfahren	84
2.6.5.3 Trinkwasseraufbereitung nach dem Düsseldorfer-Verfahren	86
3. Zusammenfassung	91
Anhang	94
Literaturverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	VIII
Abkürzungen	IX

Abstract

The Drinking Water Ordinance defines in section 4 (1) 1 water intended for human consumption as free from pathogens, wholesome and clean. Concentrations of chemical substances that can contaminate water or impair its quality are to be kept as low as reasonably possible in accordance with the generally acknowledged technical standards, taking into account the circumstances of the individual case.

This characterization of the purity of drinking water often collides with the consumer's view, where purity is defined in the sense of "non-existence". Next to pesticides, it is pharmaceuticals in drinking water that are most notably objectionable, irrespective of their actual concentration. Therefore, the presence of pharmaceuticals in bodies of water used as sources of drinking water has to be monitored, and the behaviour of these compounds during the treatment process has to be assessed.

The present work examines the occurrence of selected pharmaceuticals in rivers and their behaviour during drinking water treatment. The formation and analysis of transformation products during ozonation is a main focus of this work. Low concentrations of the pharmaceuticals in water impose high demands on the method of analysis. In a first step, an analytical method was developed that would permit the quantification of selected pharmaceuticals from 5 ng/l upwards. The method employs an online clean-up, allowing for a rapid and sensitive detection. The amount of sample required is very low – only 10 ml – and the automation of the enrichment makes possible the analysis of a large number of samples in a single series of measurements. To study the behaviour of the selected pharmaceuticals during ozonation, the substances were treated individually with ozone on a laboratory scale in a bubble-column reactor. Samples thus obtained were examined for transformation products by means of several chromatographic techniques, mainly liquid chromatography, in consistence with the chemical and physical properties of the analytes. Some of the transformation products of carbamazepine and ranitidine could be analysed by gas chromatographic analysis. With the exception of ion chromatography, the mode of detection was mass spectrometry.

Of the pharmaceuticals examined, carbamazepine alone formed stable transformation products in major concentrations. Tramadol showed only a slow reaction with ozone under the chosen conditions. Several stable products were formed, but only in minor concentrations. Ranitidine produced a number of smaller organic and inorganic

products, for example formic acid and n-nitrosodimethylamine, but likewise only in slight amounts. The examination of surface waters also showed significant differences between the various pharmaceuticals. Carbamazepine could be detected at a constant high level of concentration. Between the months of January 2009 and July 2010, an average of 54 ng/l was found in the river Rhine. Tramadol too, could be detected in each of the samples analysed, though concentrations were subject to considerable deviation. Ranitidin could only be detected sporadically in the surface waters examined. The natural water used for the abstraction of drinking water and examined in the present work was obtained by various techniques of river-bank filtration. The efficiency of the bank filtration depends strongly on the conditions prevailing during passage underground. Studies have shown that bank filtration can reduce the concentration of pharmaceuticals in water significantly. Tramadol can be nearly completely removed and carbamazepine significantly reduced in concentration. However, under adverse conditions underground passage has been shown to have nearly no measurable effect at all. The treatment of drinking water should therefore be in accordance with the recognized technical standards for the removal of organic trace components. The behaviour of pharmaceuticals during drinking water abstraction was compared several treatment techniques:

- Drinking water abstraction by artificial infiltration followed by flocculation/filtration
- Drinking water abstraction by artificial infiltration followed by ozonation and filtration through activated carbon (Mülheimer-Verfahren)
- Drinking water abstraction by river-bank filtration followed by ozonation and filtration through activated carbon (Düsseldorfer-Verfahren)

When drinking water is treated without the use of ozone, no measures need be taken to remove unwanted by-products; the pharmaceuticals examined in this study are, however, not eliminated. Similar concentrations of tramadol and carbamazepine could be found in drinking water and in natural water. If ozonation is used in drinking water treatment, the formation of unwanted organic and inorganic by-products has to be taken into consideration. After ozonation, carbamazepine could only infrequently be detected, but its transformation product BQM was regularly identified. If filtration with activated carbon follows the ozonation, this transformation product can successfully be removed from the water. With this treatment, BQM was never detected in drinking water samples.

Under certain conditions, the amount of tramadol in water can be substantially reduced during riverbank filtration. In cases where conditions during bank filtration are adverse to the removal of tramadol, ozonation doesn't present a suitable measure. The reaction of tramadol with ozone is slow, on laboratory scale as well as during drinking water treatment. Therefore, ozonation has only a slight influence on the concentration of tramadol in drinking water abstraction. The crucial step for the elimination of tramadol from water during the treatment process is filtration with activated carbon. Without this filtration, tramadol can pass unimpeded from the natural water into drinking water. To achieve effective removal of pharmaceuticals, the stages during drinking water abstraction have to be harmonized closely. If the conditions during riverbank filtration are adverse, action has to be taken during the treatment to compensate for this defect. Ozonation is an adequate measure, provided it is followed by filtration with activated carbon. It is to be wished that approaches for the application and disposal of pharmaceuticals will be designed that allow a permanent reduction of pharmaceuticals in surface and ground water. Some members of the EU already take environmental compatibility into consideration when admitting new pharmaceuticals. Numerous projects are investigating the elimination of pharmaceuticals during waste-water treatment or a separate treatment for heavily contaminated waste water, e.g. from hospitals. The main goal of all these projects is to ensure that pure and wholesome drinking water is provided for the future.

1. Einleitung

Arzneimittel in Trinkwasser – für viele Menschen ein sensibles Thema. Von keinem anderen Lebensmittel sind wir derart abhängig wie von sauberem Trinkwasser. Als wichtigstem, da unverzichtbarem Lebensmittel wird ihm zu Recht höchste Beachtung geschenkt. Weltweit ist der Zugang zu einwandfreiem Trinkwasser leider keine Selbstverständlichkeit, sondern eher die Ausnahme. Die Belastungen des Trinkwassers und seiner Ressourcen sind allerdings überwiegend anthropogen und selten geogen bedingt. In hochentwickelten und dichtbesiedelten Regionen wie z.B. in Mitteleuropa sind es unter anderem Arzneimittel, die zum Wohl des Menschen entwickelt, aber inzwischen zu einem Problem für das Trinkwasser geworden sind. Die Wege, auf denen Arzneimittel in unsere Umwelt gelangen können, sind vielfältig:

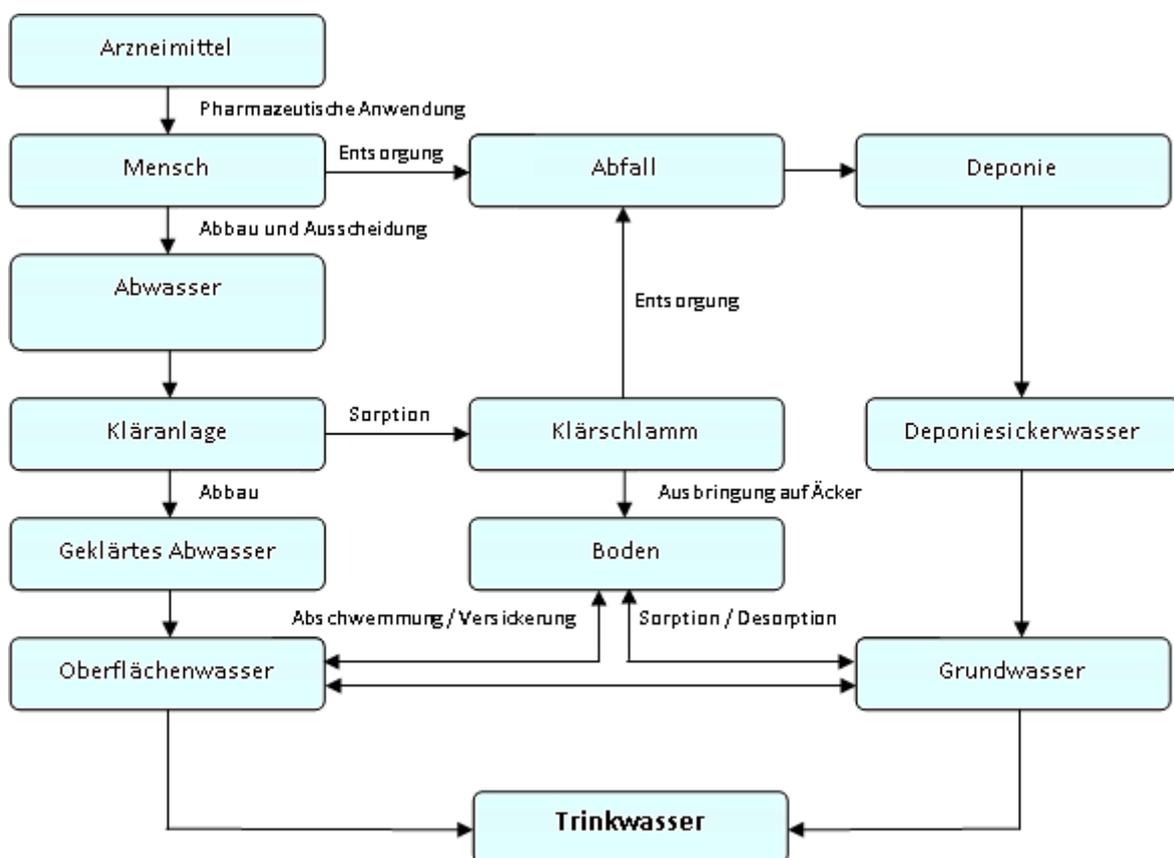


Abbildung 1: Eintragspfade von Arzneimitteln

In Deutschland werden jedes Jahr über 30.000 t⁽¹⁾ an Arzneimitteln für den menschlichen Gebrauch verschrieben, dazu nochmals fast 1000 t⁽²⁾ in der Veterinärmedizin.

Für die Humanmedizin sind fast 9000 Arzneimittel-Präparate mit rund 3000 verschiedenen Wirkstoffen zugelassen ⁽¹⁾. Am Beispiel des Antiepileptikums Carbamazepin kann man die Auswirkungen auf die aquatische Umwelt anschaulich darlegen:

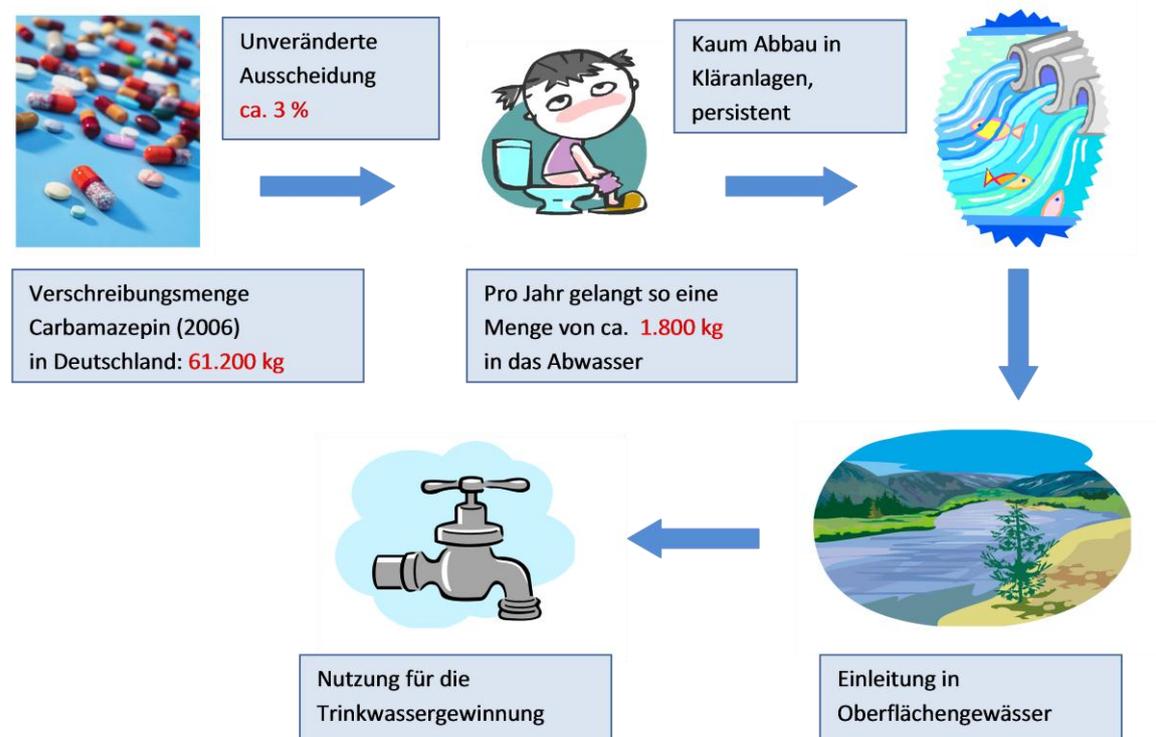


Abbildung 2: Carbamazepin in der Umwelt

Im Jahr 2006 wurden über 61 t Carbamazepin allein in Deutschland verschrieben ⁽³⁾. Damit zählt es zu den am häufigsten verordneten Antiepileptika. Obwohl das Medikament im Körper fast vollständig metabolisiert wird ⁽⁴⁾, gelangen durch Ausscheidung fast 2 t Carbamazepin unverändert in das Abwasser. Durch seine sehr schlechte biologische Abbaubarkeit können Kläranlagen Carbamazepin nur zu einem äußerst geringen Anteil aus dem Abwasser eliminieren ⁽⁵⁾. So gelangt es über Vorfluter schließlich in Oberflächengewässer, von denen ein Teil auch direkt oder indirekt zur Trinkwassergewinnung genutzt wird (siehe Kapitel 1.4.1).

Liegt eine derartige, anthropogene Beeinflussung des Rohwassers vor, so müssen bei der Aufbereitung zu Trinkwasser adäquate Maßnahmen getroffen werden, um eine für den menschlichen Gebrauch geeignete Wasserqualität zu erhalten. Die Wasserwerke verfügen dabei über eine Reihe von Aufbereitungstechniken, von mechanischen Verfahren wie Kies- und Sandfiltration über Aktivkohlefiltration, Ultra-

und Membranfiltration bis zur Bestrahlung mit UV-Licht oder der Behandlung mit Ozon. Während Filtrationsverfahren unerwünschte Stoffe bis zu einem gewissen Grad zurückhalten können, setzen Verfahren wie die Bestrahlung mit UV-Licht und die Behandlung mit Ozon auf die Zerstörung organischer Moleküle. Letztere bergen jedoch auch Risiken. Auf diese Weise werden unerwünschte Verbindungen aus dem Wasser entfernt, es können aber auch Umwandlungsprodukte entstehen, die für den Menschen z. T. deutlich schädlicher sind als ihre Ausgangssubstanzen. Bekannte Beispiele hierfür sind: Das als potentiell krebserregend geltende Bromat, das bei der Ozonung von bromidhaltigen Wässern entsteht ⁽⁶⁾ oder die Bildung von N-Nitrosodimethylamin (NDMA), das als stark krebserregend eingestuft wird und als Nebenprodukt bei der Desinfektion von Wasser mit Chloraminen gebildet wird ⁽⁷⁾. Diese Beispiele machen deutlich, dass der erwünschte positive Effekt durch zunächst unbekannte Begleitprozesse zunichte gemacht oder sogar ins Gegenteil umgekehrt werden kann.

1.1 Uferfiltration

Es gibt vielfältige Möglichkeiten Trinkwasser zu gewinnen und aufzubereiten, von der Talsperre bis zur Meerwasserentsalzung. Da sich diese Arbeit auf die Gewinnung von Wasser durch Uferfiltration von Flusswasser beschränkt, wird nur diese Art der Trinkwasserproduktion näher beschrieben.

Das Verfahren der Uferfiltration wird schon seit über 100 Jahren gezielt zur Gewinnung von Trinkwasser eingesetzt ^{(8), (9)}. Uferfiltration ist definiert als der Prozess der Infiltration von Oberflächenwasser in den Grundwasserraum ⁽¹⁰⁾. Das Ziel der Uferfiltration ist die Aufreinigung von Wasser durch natürliche Prozesse während der Bodenpassage. Bei diesem Verfahren, schematisch in Abb. 3 dargestellt, wird oberflächennahes Grundwasser aus Brunnen gewonnen, die sich in der Nähe von Fluss- oder Seeufern befinden. In diesen Brunnen sammelt sich eine Mischung aus Grundwasser und versickertem Oberflächenwasser. Die Zusammensetzung des so erhaltenen Rohwassers ist dabei stark von der Entfernung des Brunnens vom Ufer und dem Wasserstand des Flusses abhängig. Zusätzlich kann man Oberflächenwasser künstlich versickern lassen und durch die so gewonnene Bodenpassage einen vergleichbaren Effekt erzielen.

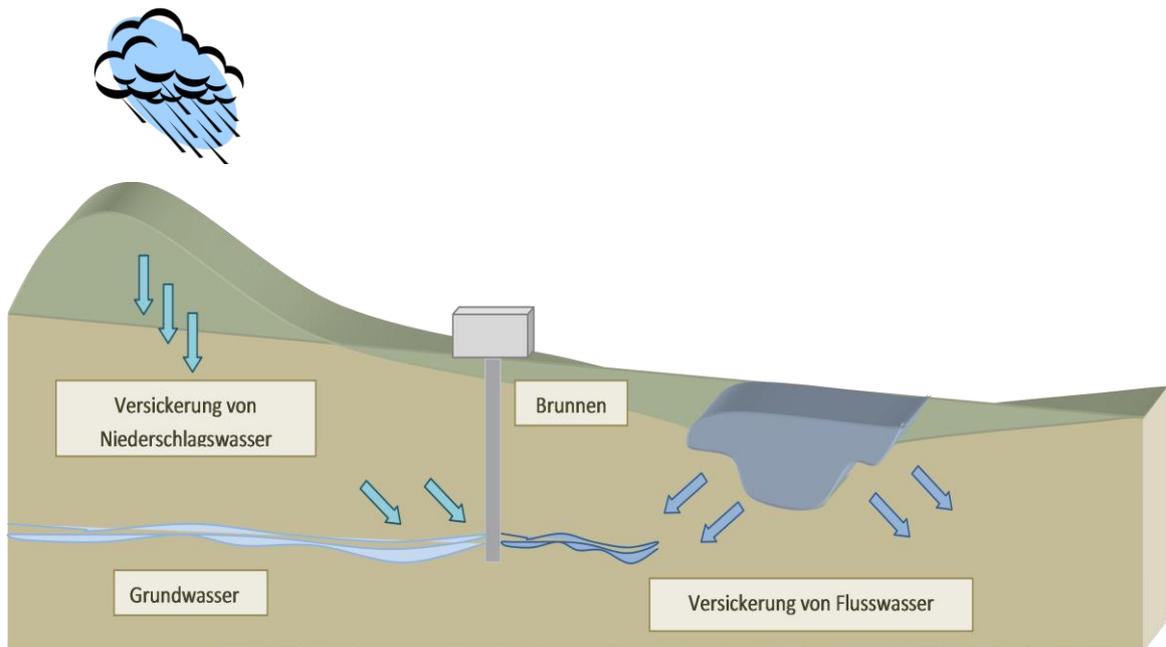


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Uferfiltration

Bei der Uferfiltration werden mehrere Phasen unterschieden ^{(9), (11), (12)}:

- die aerobe Infiltrationsphase: Der Gehalt an gelöstem organischem Kohlenstoff (DOC) sinkt stark ab, viele organische Spurenstoffe werden abgebaut, gleichzeitig fällt der Sauerstoffgehalt.
- die anoxische Zone: Hier liegt nicht mehr genügend Sauerstoff für den aeroben Abbau organischer Substanz durch Bakterien vor, der nötige Sauerstoff wird durch Denitrifikation aus Nitrat gewonnen.
- die anaerobe Zone: Nitrat ist weitgehend abgebaut, die Sauerstoffgewinnung erfolgt in dieser Zone aus Eisen- und Manganoxiden und -hydroxiden, Sulfat, Essigsäure und Kohlendioxid.

Die Verminderung des gelösten organischen Kohlenstoffes ist ein erwünschter Effekt der Uferfiltration, denn viele, auch natürlich in Oberflächengewässern enthaltene Substanzen wie z.B. Huminstoffe, können später bei der Trinkwasseraufbereitung stören. Neben der Abnahme des gelösten Kohlenstoffes werden partikulär vorliegende Stoffe zurückgehalten. Durch diese Reduktion organischer Materie während der Uferpassage werden dem Wasser Nährstoffe entzogen, die für mikrobielles Wachstum nötig sind. Die Möglichkeit eines erneuten Wachstums von Bakterien nach der Trinkwasseraufbereitung wird damit verringert. Des Weiteren kann eine geringere Menge an Oxidations- und Desinfektionsmitteln verwendet werden, wodurch wiederum weniger unerwünschte Nebenprodukte entstehen.

Viele der organischen Spurenstoffe aus anthropogenen Quellen sind jedoch nur schwer biologisch abbaubar oder breiten sich in Boden-Wasser-Systemen mit einer hohen Geschwindigkeit aus, wie z.B. das Antiklopfmittel Methyl-tertiär-butylether (MTBE) ^{(13), (14)}. Diese Substanzen werden während der Uferfiltration nur zu einem gewissen Anteil eliminiert und müssen daher - wenn möglich - bei der Aufbereitung des Trinkwassers entfernt werden.

1.2 Trinkwasseraufbereitung

Wenn aus Rohwasser ein Lebensmittel für den menschlichen Gebrauch gewonnen wird, müssen gezielte Maßnahmen zur Veränderung der Wasserqualität durchgeführt werden. Die Aufbereitung sollte derart ausgerichtet sein, dass das produzierte Trinkwasser den allgemeinen, mikrobiologischen und chemischen Anforderungen der Trinkwasserverordnung ⁽¹⁵⁾ genügt. Auch die Verteilung des Wassers über ein Leitungsnetz benötigt bestimmte Bedingungen, um einen dauerhaften Betrieb ohne Beeinträchtigung der Qualität des Wassers zu gewährleisten. Die angewandten Verfahren bei der Aufbereitung von Wasser richten sich nach verschiedenen Faktoren. Die Art und Qualität des verwendeten Rohwassers spielt dabei eine wesentliche Rolle.

1.2.1 Aufbereitung nach dem Düsseldorfer-Verfahren

Die Aufbereitung nach dem Düsseldorfer-Verfahren (Abb. 4) ist für die Produktion von Trinkwasser aus Uferfiltrat ausgelegt. Das verwendete Rohwasser ist eine Mischung aus Grundwasser und infiltriertem Flusswasser, das nach einer mehrwöchigen Bodenpassage in Sammelbrunnen gefasst wird. Der jeweilige Anteil der beiden Wasserarten kann variieren und hängt von dem Pegel des Grundwassers sowie dem Wasserstand des Flusses ab. Das so gewonnene Rohwasser wird im Wasserwerk zunächst teilenthärtet, dann folgen Verdüsung und Ozonung. Nach der Filtration über Kies- und Aktivkohlefilter wird das Wasser vor der Verteilung in das Rohrnetz mit Chlordioxid desinfiziert.

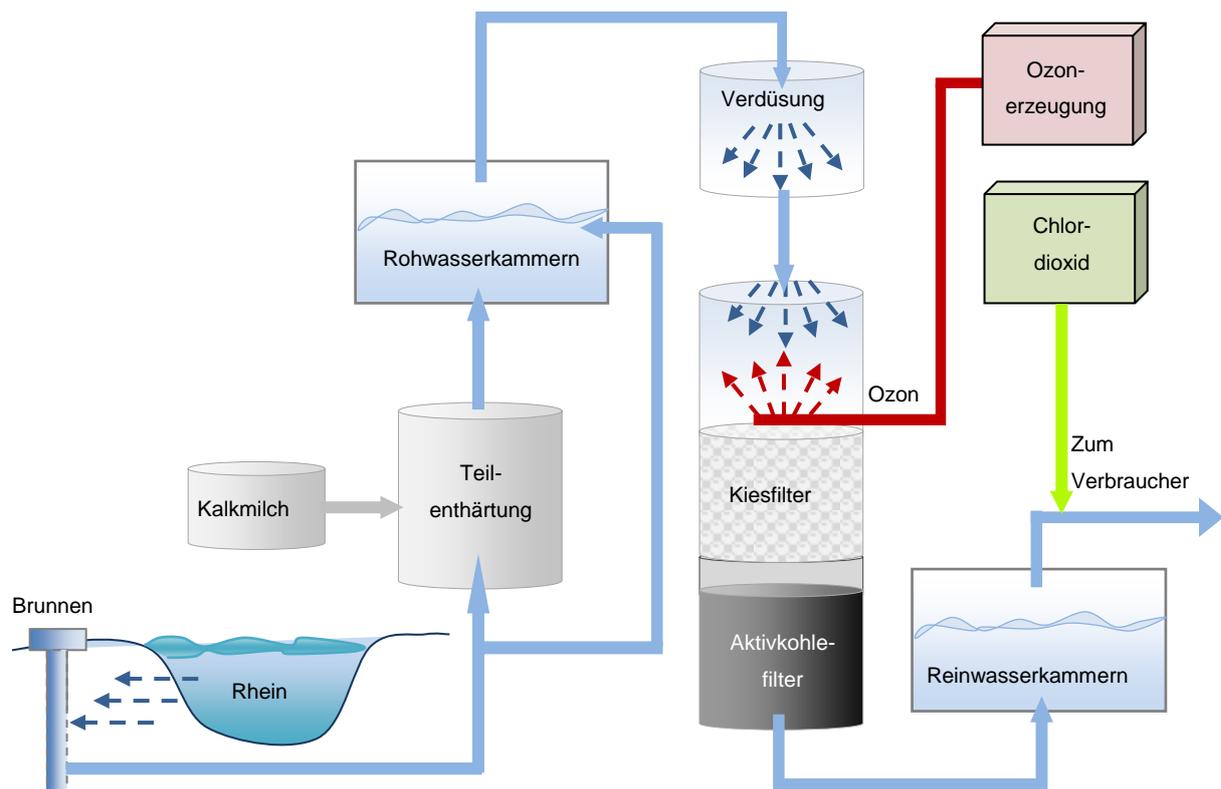


Abbildung 4: Trinkwasseraufbereitung nach dem Düsseldorfer-Verfahren

- Teilenthärtung

Ein Teil des in den Rohwasserkammern gespeicherten Wassers wird einer Enthärtung zugeführt. In einem geschlossenen Reaktor wird dem Wasser Kalkmilch zugegeben, wodurch der pH-Wert auf $> \text{pH } 9$ ansteigt. Durch den höheren pH-Wert bildet sich aus Calciumhydrogencarbonat Calciumcarbonat, während Magnesiumhydrogencarbonat in Magnesiumhydroxid umgewandelt wird. Im Reaktor befinden sich feine Quarzsandkörnchen, um das Calciumcarbonat kontrolliert auskristallisieren zu lassen. Ab einer gewissen Größe sinken diese kalkummantelten Körnchen auf den Boden des Reaktors und können ausgetragen werden. Das enthärtete Wasser wird dann mit dem übrigen unbehandelten Rohwasser gemischt und durchläuft anschließend die Verdüsung.

- Verdüsung

Bei der Verdüsung des Wassers wird überschüssige freie Kohlensäure entfernt, bis sich das Kalk-Kohlensäure-Gleichgewicht eingestellt hat, des Weiteren wird das Wasser mit Sauerstoff angereichert. Gelöste Eisen- und Manganverbindungen

werden dabei oxidiert, flüchtige Geruchsstoffe werden aus dem Wasser entfernt. Nach der Verdüsung folgt die Zugabe von Ozon.

- **Ozonung**

Ebenso wie bei der Verdüsung laufen auch bei der Ozonung verschiedene Prozesse gleichzeitig ab: Eisen- und Manganverbindungen flocken aus, organische Verbindungen werden z. T. oxidiert und im Wasser vorhandene Viren, Bakterien und Parasiten werden inaktiviert⁽⁶⁾ (siehe Kapitel 1.3).

Das Ozongas wird direkt über dem Kiesfilter eingeleitet. Durch Versprühen des Rohwassers über dem Kiesfilter bilden Wasser und Ozongas eine große Kontaktfläche, bevor der Kiesfilter durchlaufen wird. Die Zugabe ozonhaltiger Luft beträgt 30 Nm³/h und entspricht einer spezifischen Ozonzugabe von 0,1 g pro Kubikmeter Rohwasser.

- **Filtration**

Die Filtration ist in zwei Schritte unterteilt. Zunächst durchläuft das Wasser den Kiesfilter, in dem ausgefallene Eisen- und Manganverbindungen sowie weitere Trübstoffe abgeschieden werden. Das Filtermaterial besteht aus einer 2 m dicken Schicht Quarzkies mit einer Körnung von 1 – 2 mm. Nach dem Kiesfilter liegt im Wasser eine Restkonzentration von weniger als 15 µg/l Ozon vor. Auf den Kiesfilter folgt der Aktivkohlefilter mit einer Schichtdicke von 1,7 m und einer Korngröße von 0,6 – 2 mm. An der Aktivkohle sollen störende organische Inhaltsstoffe adsorbiert bzw. durch den auf der Kohle ausgebildeten Biofilm zum Teil biologisch abgebaut werden. Im Anschluss an die Filtration wird das aufbereitete Wasser in Reinwasserkammern gespeichert.

- **Zugabe von Chlordioxid**

Bevor das aufbereitete Wasser in das Leitungsnetz eingespeist wird, wird Chlordioxid zugegeben, um eine Verkeimung im Leitungsnetz zu verhindern.

1.2.2 Aufbereitung nach dem Mülheimer-Verfahren

Ein wesentlicher Unterschied zwischen dem Düsseldorfer-Verfahren und dem Mülheimer-Verfahren liegt in der Gewinnung des Uferfiltrats. Für das Mülheimer-Verfahren wird das Grundwasser künstlich mit infiltriertem Flusswasser angereichert.

Dafür lässt man Oberflächenwasser der Ruhr über Langsamsandfilter in den Boden versickern. Die Bodenpassage ist kürzer und beträgt wenige Tage. Das infiltrierte Wasser wird dann mit Grundwasser gemischt, in Heberbrunnen gefasst und aus diesen Brunnen in einen Sammelbrunnen überführt. Eine schematische Darstellung der Trinkwasseraufbereitung nach dem Mülheimer-Verfahren zeigt Abbildung 5. Das Rohwasser der Sammelbrunnen wird in Klarwasserkammern gespeichert, in denen auch die Ozonung stattfindet. Die Ozonung erfolgt über eine Ozonanlage, die an die Klarwasserkammern angeschlossen ist. Das ozoniertes Wasser fließt dann durch eine UV-Desinfektion und eine Mehrschicht- und Aktivkohlefilteranlage. Das aufbereitete Wasser wird in Reinwasserbehältern gespeichert und über Trinkwasserförderpumpen an das Leitungsnetz abgegeben. Bei Bedarf werden Chlorgas, Chlordioxid oder Natronlauge dosiert.

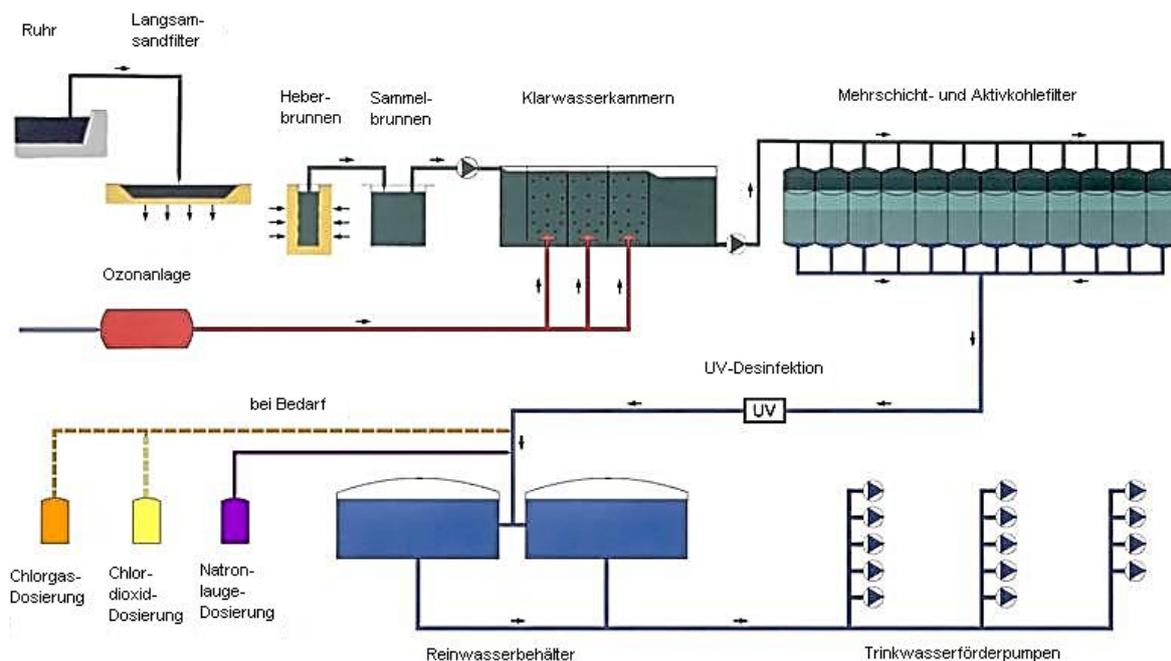


Abbildung 5: Das Mülheimer-Verfahren (Quelle: Rheinisch-Westfälische-Wasserwerke)

Nach der Ozonung folgt eine Filtration über Mehrschichtfilter aus Quarzkies und Quarzsand sowie eine Aktivkohlefiltration. Der Ablauf der Filter wird durch UV-Licht desinfiziert, Chlorgas oder Chlordioxid werden nur bei Bedarf eingesetzt. Das aufbereitete Wasser wird dann über die Reinwasserbehälter an das Leitungsnetz abgegeben.

1.2.3 Weitere Aufbereitungsverfahren

Die in Kapitel 1.2.1 und 1.2.2 beschriebenen Aufbereitungsverfahren arbeiten mit Ozonung und anschließender Aktivkohlefiltration. Die Ozonung des Wassers ist ein technisch und finanziell aufwändiger Schritt, auf den Wasserwerke mit kleineren Versorgungsgebieten oft verzichten. Bei der Gewinnung von Trinkwasser mit Uferfil-

ration ohne Ozonung und Aktivkohlefiltration kann man Oberflächenwasser z.B. über einen Sandfilter im Boden versickern lassen und nach einer Bodenpassage in Brunnen als Mischung mit Grundwasser wieder fassen. Aus Sammelbrunnen wird das Rohwasser in das Wasserwerk gepumpt, wo es zunächst verrieselt wird. Gelöste Eisen- und Manganverbindungen flocken dabei als Oxide aus. Um diese Flockung zu unterstützen, werden Flockungshilfsmittel wie Polyaluminiumchlorid $[\text{Al}(\text{OH})_x\text{Cl}_y]_n$ (PAC) zugesetzt. Diese Flockungshilfsmittel ermöglichen die Entfernung feinsten Partikel und kolloidal gelöster organischer Substanzen aus dem Wasser. Kolloidale Lösungen werden durch den Zusatz der Flockungshilfsmittel destabilisiert. Die kolloidal gelösten Stoffe und feinen Partikel koagulieren und bilden immer größere und damit mechanisch bei der Filtration abtrennbare Flocken ^{(16), (17)}. Die Filtration erfolgt üblicherweise über Mehrschichtenfilter aus Quarzkies und Quarzsand. Vor der Einspeisung in das Leitungsnetz wird das Wasser mit Chlorgas bzw. Chlordioxid versetzt.

1.3 Ozon

1.3.1 Physikalisch-chemische Eigenschaften

Ozon, O_3 , ist ein dreiatomiges Allotrop von Sauerstoff. Bei Raumtemperatur ist es ein blaues, äußerst giftiges Gas mit charakteristisch stechendem Geruch. Ozon ist thermisch instabil und in allen Aggregatzuständen hochexplosiv ⁽¹⁸⁾. Ozon kondensiert zu einer tiefblauen Flüssigkeit bzw. zu einem schwarzvioletten Feststoff (Sdp. – 109,5 °C, Smp. – 192,5 °C) ⁽¹⁹⁾, die Färbung beruht auf Absorptionsbanden im Bereich zwischen 500 und 700 nm. Ozon weist eine weitere Absorptionsbande im ultravioletten Bereich zwischen 220 und 290 nm auf und absorbiert so einen großen Teil der intensiven ultravioletten Strahlung der Sonne ⁽²⁰⁾. In Wasser ist Ozon im Vergleich zu Sauerstoff etwa um den Faktor 10 besser löslich ⁽¹⁹⁾.

Ozon lässt sich in vier mesomeren Formen darstellen, diese sind in Abbildung 6 wiedergegeben.

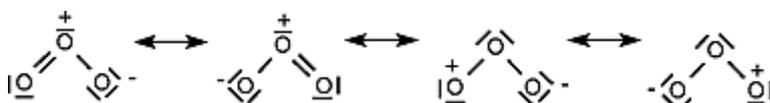


Abbildung 6: Mesomere Strukturen des Ozons ⁽²¹⁾

Die Reaktivität des Ozons lässt sich aus der Elektronenkonfiguration des Moleküls erklären. Ozon ist ein sogenannter 1,3-Dipol, d.h. es besitzt das π -System eines Allyl-Anions, kann aber im Gegensatz zu diesem das freie Elektronenpaar auch am mittleren Sauerstoffatom lokalisieren. Dadurch entsteht ein terminales Sauerstoffatom mit Elektronenmangel, das dem Molekül elektrophile Eigenschaften verleiht. Gleichzeitig bewirkt die überschüssige negative Ladung des anderen terminalen Sauerstoffatoms einen nukleophilen Charakter. Diese Eigenschaften machen Ozon zu einer extrem reaktiven Verbindung^{(21), (22)}.

1.3.2 Herstellung

Aufgrund seiner Instabilität muss Ozon für den jeweiligen Verwendungszweck direkt vor Ort produziert werden. Es gibt verschiedene Möglichkeiten der Ozon-Gewinnung. Der gängige Standard für Anwendungen im großtechnischen Maßstab ist die Herstellung aus Luft oder Sauerstoff durch stille elektrische Entladung. Eine weitere Methode für die Ozon-Gewinnung ist die Einwirkung von ultravioletter Strahlung (185 nm) auf Luftsauerstoff. Diese Art der Ozonherstellung ist jedoch für großtechnische Zwecke unwirtschaftlich und findet eher im Labormaßstab Anwendung^{(21), (23)}.

Ozon-Generatoren, die mit stiller elektrischer Entladung arbeiten, erzeugen atomaren Sauerstoff durch Einwirkung einer starken Wechselspannung. Ozon entsteht dabei durch Reaktion des atomaren Sauerstoffs mit Sauerstoffmolekülen. Dafür wird an mindestens zwei, bei großtechnischen Anwendungen aber an mehreren tausend, durch einen Spalt und ein Dielektrikum getrennte Elektroden ein Wechselstrom mit hoher Spannung angelegt. Das Dielektrikum - meist Glas - verhindert, dass die stille elektrische Entladung in eine Bogenentladung übergeht. Die Ozonbildung selbst ist endotherm, jedoch wird der größte Teil der zugeführten Energie in Wärme umgewandelt. Diese muss durch Wasserkühlung abgeleitet werden, denn der Ozonzerfall wird durch steigende Temperaturen beschleunigt. Die Ozonausbeute bei dieser Methode beträgt bei Verwendung von reinem Sauerstoff maximal 15 %. Der für die Ozonerzeugung verwendete Sauerstoff muss ca. 100 – 1000 ppm Stickstoff enthalten, ohne den kein Ozon über elektrische Entladung gebildet werden kann. Stickstoff dient als Katalysator, der seine Energie als Schwingungsenergie an Sauerstoffmoleküle weitergibt und damit den Prozess der Ozonbildung in Gang setzt^{(19) - (21), (23), (24)}.

1.3.3 Anwendung in der Trinkwasseraufbereitung

Ozon wird bereits seit Anfang des 20. Jahrhunderts ⁽²²⁾ in der Trinkwasseraufbereitung eingesetzt, zunächst zum Zwecke der Desinfektion. Mittlerweile ist die Verwendung von Ozon für die Aufbereitung von Trinkwasser zum Standard geworden.

Die Gründe für die Verwendung von Ozon sind vielfältig ^{(6), (22), (23)}:

- Oxidation von großen, biologisch schwer abbaubaren Verbindungen zu kleineren, leichter bioverfügbaren Molekülen
- Oxidation von Eisen und Mangan, auch wenn diese an Huminstoffe gebunden sind und daher durch Sauerstoff nicht oxidierbar sind
- Verbesserung der Flockung durch Vorbehandlung mit Ozon
- Ozon tötet Bakterien und Viren schneller und effektiver ab als Chlorverbindungen. Es müssen jedoch Maßnahmen gegen eine Wiederverkeimung getroffen werden, da die Menge an bioverfügbaren Stoffen steigt und Ozon keine lange Verweildauer im Wasser hat.
- Elimination von Geruchs- und Geschmacksstoffen sowie von farbigen Substanzen
- Oxidation von organischen Spurenverunreinigungen
- Geringe Sekundärbelastung

1.3.4 Reaktionen von Ozon in Wasser

Ozon kann, bedingt durch seine je nach Konfiguration elektrophilen oder nukleophilen Eigenschaften, in Wasser verschiedene Reaktionen eingehen ^{(22), (25)}:

- Redox-Reaktionen
- Dipolare Cycloadditionen
- Elektrophile Substitutionen
- Nukleophile Substitutionen
- Ozonolysen

Bei einigen dieser Reaktionen werden Hydroxyl-Radikale gebildet, die äußerst schnell mit organischen Substanzen im Wasser reagieren. Aus diesem Grund lassen sich die Reaktionen von Ozon in Wasser auch in direkte und indirekte Reaktionen einteilen.

1.3.4.1 Redox-Reaktionen

Ozon hat ein sehr hohes Redoxpotential von 2,07 V⁽²²⁾ in saurer Lösung und 1,24 V⁽²⁰⁾ in alkalischer Lösung, nur wenige andere starke Oxidationsmittel, wie z.B. Fluor, atomarer Sauerstoff und Hydroxyl-Radikale haben ein noch höheres Redoxpotential⁽²⁰⁾. Bei den meisten Redox-Reaktionen des Ozons findet kein expliziter Elektronentransfer statt, sondern der Übergang eines Sauerstoffatoms von Ozon auf den Reaktionspartner.

Die beiden in Wasser überwiegend ablaufenden Reaktionen sind:



1.3.4.2 Cycloadditionen

Da das Ozon-Molekül ein 1,3-Dipol ist, kann es mit Molekülen mit Mehrfachbindungen durch 1,3-dipolare Cycloadditionen reagieren. Bei der Reaktion von Ozon mit Alkenen findet als erster Schritt eine 1,3-dipolare Cycloaddition statt. Das so gebildete Primärozonid zerfällt dann im zweiten Schritt zu einer Carbonylverbindung und einem Carbonyloxid. Diese können in inerten Lösungsmitteln durch erneute Cycloaddition zu einem Ozonid reagieren. Abbildung 7 zeigt den Criegee-Mechanismus der Ozonolyse⁽²¹⁾.

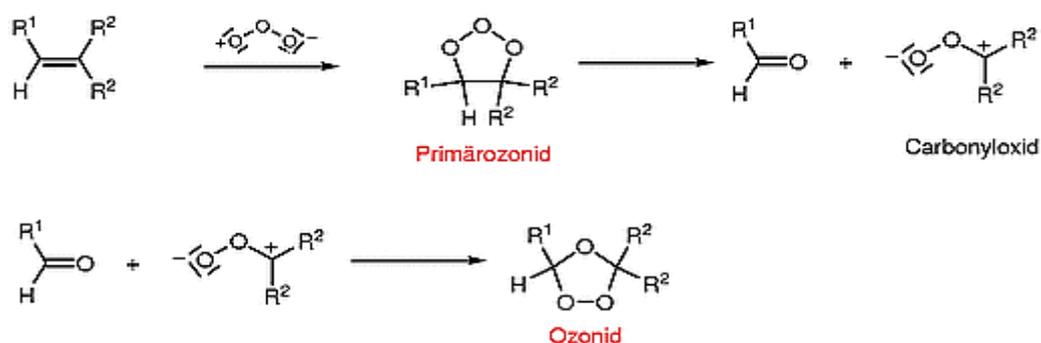


Abbildung 7: Criegee-Mechanismus der Ozonolyse von Alkenen⁽²⁶⁾

In Wasser hingegen läuft bevorzugt eine andere Reaktion ab. Hier bildet sich aus dem Carbonyloxid das 1-Hydroxyalkylhydroperoxid, welches zu Wasserstoffperoxid und einer weiteren Carbonylverbindung zerfällt.

1.3.4.3 Elektrophile Reaktionen

Bei elektrophilen Reaktionen greift Ozon an einer nukleophilen Position, z.B. einer funktionellen Gruppe eines organischen Moleküls an. Dies ist ein typischer Reaktionsweg für Ozon mit aromatischen Verbindungen⁽²²⁾. Aromatische Systeme sind durch ihre Resonanz sehr stabil. Daher ist zwar eine 1,3-dipolare-Cycloaddition möglich, es ist jedoch viel wahrscheinlicher, dass ein elektrophiler Angriff des Ozon-Moleküls auf ein nukleophiles Zentrum am Aromaten stattfindet. Der energetische Vorteil einer elektrophilen Reaktion liegt darin, dass im Gegensatz zur Cycloaddition das aromatische System und damit auch die daraus resultierende Resonanzenergie erhalten bleibt. Bei einem elektrophilen Angriff auf einen Aromaten wird zunächst ein Carbokation gebildet. Im zweiten Schritt wird unter Erhaltung des aromatischen Systems an einem nukleophilen Zentrum des Aromaten ein Proton abgespalten. Eine wichtige Rolle spielen bei dieser Reaktion Substituenten, die aktivierend oder desaktivierend wirken und damit die Substitution von Wasserstoffatomen an bestimmten Positionen des aromatischen Rings fördern. Aktivierend wirkende Substituenten, wie z.B. $-OH$ oder $-NH_2$, können Elektronen an den aromatischen Ring abgeben und begünstigen die Substitution in ortho- und / oder para-Position, während desaktivierend wirkende Substituenten wie $-NO_2$ oder $-COOH$ Elektronen aus dem aromatischen Ring anziehen und daher eine Substitution in meta-Position bewirken^{(22), (25)}.

1.3.4.4 Nukleophile Reaktionen

Die Resonanzstrukturen des Ozons (siehe Kapitel 1.3.1, Abbildung 6) weisen ein terminales Sauerstoffatom mit negativer Ladung auf, das dem Ozon-Molekül seinen nukleophilen Charakter verleiht. In inerten Lösungsmitteln können organische Moleküle mit Carbonylfunktionen oder Doppel- bzw. Dreifachbindungen zwischen Kohlenstoff und Stickstoff mit Ozon nukleophile Reaktionen eingehen⁽²²⁾.

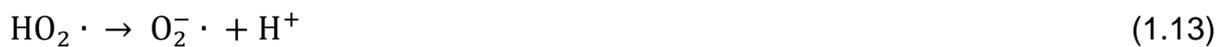
1.3.4.5 Indirekte Reaktionen des Ozons

Diese Reaktionen verlaufen über freie Radikale, die beim Zerfall von Ozon in Wasser gebildet werden. Der Zerfall des Ozons ist im Wesentlichen abhängig vom pH-Wert des Wassers und dem Gehalt an natürlicher organischer Matrix (NOM). Im Folgenden ist der Zerfallsmechanismus von Ozon in Wasser dargestellt^{(22), (27)}.

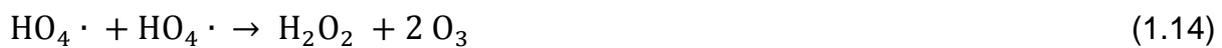
Initiations-Reaktion



Propagations-Reaktionen



Terminations-Reaktionen



Die im Wasser enthaltene natürliche organische Matrix (NOM) beeinflusst die Ozonstabilität auf zwei Arten. Zum einen kann sie direkt mit Ozon reagieren, zum anderen kann sie OH-Radikale abfangen und dabei als Promotor oder als Inhibitor wirken. Bei der Reaktion von OH-Radikalen mit NOM entstehen zum Teil Superoxidradikale O_2^- , die mit Ozon wieder OH-Radikale erzeugen. Diese Kettenreaktion kann nur durch Inhibitoren abgebrochen werden, die mit OH-Radikalen keine Superoxid-Radikale bilden. In Trinkwasser können das z.B. Carbonate oder bestimmte Bestandteile der NOM sein:

Terminations-Reaktionen



1.4 Arzneimittel

Für die Auswahl der in dieser Arbeit untersuchten Arzneimittel wurden verschiedene Kriterien zu Grunde gelegt:

- Die verschriebene Menge pro Jahr in Deutschland sollte über 10 t liegen
- Schlechte Abbaubarkeit bei der konventionellen Abwasserreinigung
- Schlechte Abbaubarkeit während der Bodenpassage oder schnelle Ausbreitung in Grundwasserleitern
- Häufige positive Befunde bei der Untersuchung von Oberflächengewässern und Uferfiltraten
- Geringe Metabolisierung bzw. wenige bekannte Hauptmetaboliten

Medikamente, die aufgrund ihrer hohen Wirksamkeit nur in Mengen von einigen Kilogramm pro Jahr verschrieben werden, z.B. Hormone und Zytostatika, wurden für diese Arbeit nicht berücksichtigt. Substanzen, von denen bekannt ist, dass sie unter Bedingungen, wie sie üblicherweise bei der Trinkwasseraufbereitung herrschen, nicht oder nur sehr schlecht mit Ozon reagieren, wurden ebenfalls nicht weiter berücksichtigt. Unter diese Gruppe fallen z.B. einige Röntgenkontrastmittel wie Amidotrizoesäure⁽²⁸⁾.

1.4.1 Antiepileptika

Epilepsien werden hauptsächlich durch Arzneitherapien behandelt, der größte Teil der verordneten Tagesdosen entfällt dabei auf Carbamazepin und Valproinsäure. Phenytoin, Barbiturate und Benzodiazepine spielen bei der Therapie nur eine untergeordnete Rolle⁽³⁾. In dieser Arbeit wurden Carbamazepin und verwandte Verbindungen untersucht (siehe Tabelle 1).

Das in Deutschland am häufigsten verschriebene Antiepileptikum Carbamazepin⁽²⁹⁾ gehört zur Substanzklasse der Dibenzazepine. Carbamazepin ist biologisch nur schwer abbaubar und sehr persistent^{(3), (28)}. Man kann es mittlerweile in der aquatischen Umwelt als nahezu ubiquitär bezeichnen, denn es wird nicht nur in Kläranlagenabläufen, sondern auch in Oberflächengewässern, Grund- und Trinkwasser nachgewiesen^{(5), (28), (30), (31)}.

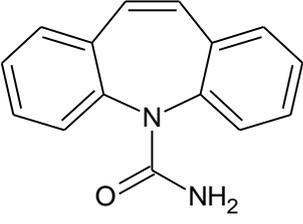
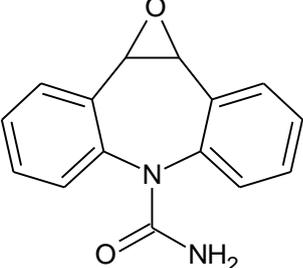
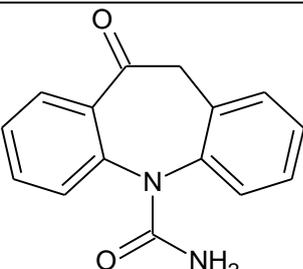
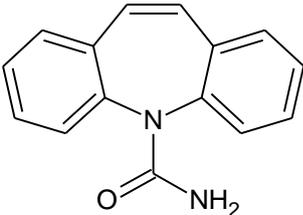
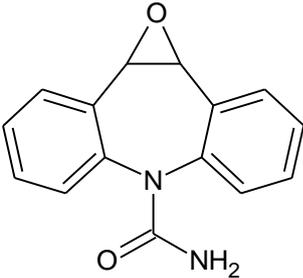
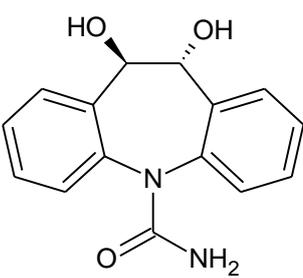
Substanz	Strukturformel	log _{KOW}	Verbrauch [t] (3), (29)
Carbamazepin		2,25 ⁽³⁰⁾	61.200
Carbamazepin- 10,11-epoxid Metabolit			-
Oxcarbazepin		1,13	12.300

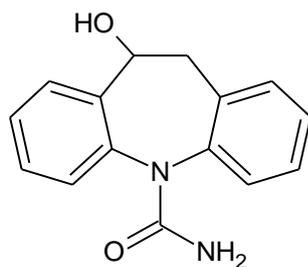
Tabelle 1: Antiepileptika

In den Jahren 2000/2001 betrug die durchschnittliche Konzentration von Carbamazepin im Rhein (Bimmen, Rhein-km 865, links) 150 ng/l⁽³⁰⁾, daraus lässt sich eine Fracht von 12.200 kg/a errechnen⁽³⁰⁾. Die große Menge des verschriebenen Carbamazepins (siehe Tabelle 2) erklärt sich nicht allein aus seiner Anwendung bei Epilepsie. Neuroleptika werden in vielen Altenheimen bei Unruhe, Schlafstörungen oder Aggressivität von dementen Patienten dauerverordnet^{(32), (33), (34)}. Auch bei Patienten mit neuropathischen Schmerzen werden häufig Antiepileptika verschrieben^{(35), (36)}. Oxcarbazepin wurde im Jahr 2000 als Alternative zu Carbamazepin eingeführt⁽³⁾, jedoch ist seine Verschreibungsmenge bislang deutlich geringer. Die antiepileptische Wirkung von Oxcarbazepin beruht überwiegend auf dem in der Leber gebildeten Metabolit 10-Hydroxycarbazepin⁽³⁾. Tabelle 2 zeigt einen Überblick über die Eigenschaften von Carbamazepin:

Carbamazepin ^{(3), (4), (29)}

Verschriebene Menge	61.200 kg (2006) bzw. 61.2 Mio. Defined Daily Doses (DDD)
Indikation	Bestimmte Epilepsieformen Neuropathische Schmerzen Bipolare affektive Störungen, akute Manie Depressionen Alkoholentzugssyndrom
Dosierung (DDD)	1000 mg pro Tag
Pharmakokinetik	Carbamazepin induziert seinen eigenen Metabolismus, Oxidation zu Carbamazepin-10,11-epoxid über den Epoxid-Diol-Stoffwechselweg der Leber durch das Cytochrom P450-Isoenzym 3A4
Strukturformel	
Metaboliten	- Carbamazepin-10,11-epoxid - trans-10,11-Dihydro-10,11-dihydroxycarbamazepin - Hydroxycarbamazepin
Strukturformeln Metaboliten	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-start;"> <div style="text-align: center;">  <p>Carbamazepin-10,11-epoxid</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>trans-10,11-Dihydro-10,11-dihydroxycarbamazepin</p> </div> </div>

**Strukturformeln
Metaboliten**



Hydroxycarbamazepin

Ausscheidung

3 % unverändert
1 % Carbamazepin-10,11-epoxid
30 % trans-10,11-Dihydro-10,11-dihydroxycarbamazepin
25 % Hydroxycarbamazepin

Tabelle 2: Kenngrößen und Metaboliten des Arzneimittelwirkstoffs Carbamazepin

1.4.2 H₂-Rezeptorenblocker

Die zu dieser Gruppe gehörenden Arzneimittel werden bei Refluxkrankheiten, funktioneller Dyspepsie und gutartigen Magengeschwüren eingesetzt^{(3), (4)}. Der Hauptteil der Verordnungen entfällt dabei auf den Wirkstoff Ranitidin. Von Präparaten mit den Wirkstoffen Famotidin, Pirenzipin oder Sucralfat werden deutlich geringere Mengen umgesetzt⁽³⁾. Schmidt et al.⁽³⁷⁾ haben in einer Studie gezeigt, dass Ranitidin in Wasser, das mit Chloraminen desinfiziert wird, ein hohes Bildungspotential für N-Nitrosodimethylamin (NDMA) aufweist. Besonders in den USA wird dieses Desinfektionsverfahren häufig eingesetzt. Aufgrund der hohen Verkaufsmenge und der in Oberflächen-, Grund- und Rohwässern nachgewiesenen Konzentrationen wird Ranitidin als potentiell umwelt-relevant eingestuft⁽⁵⁾.

Ranitidin^{(3), (4), (29)}

Verkaufsmenge	35.490 kg (2006) bzw. 118,3 Mio. DDD
Indikation	Zwölffingerdarmgeschwüre, gutartige Magengeschwüre, Sodbrennen, Übersäuerung
Dosierung (DDD)	300 mg/Tag

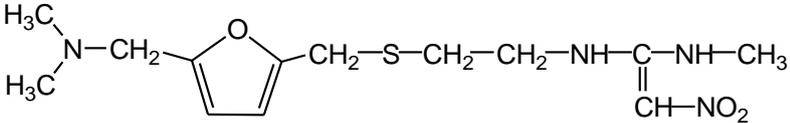
Wirkmechanismus	Spezifischer H ₂ -Rezeptorenblocker, Ranitidin hemmt die Magensäuresekretion durch Blockade der Rezeptorstellen für Histidin.
Strukturformel	
Metabolit	Hauptmetabolit ist das N-Oxid
Ausscheidung	vorwiegend renal, etwa 65 % werden metabolisiert

Tabelle 3: Kenngrößen und Metaboliten des Arzneimittelwirkstoffs Ranitidin

1.4.3 Analgetika

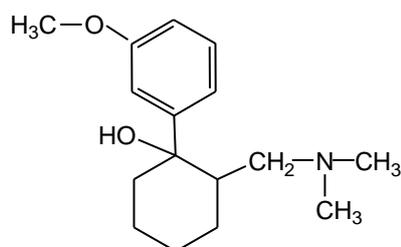
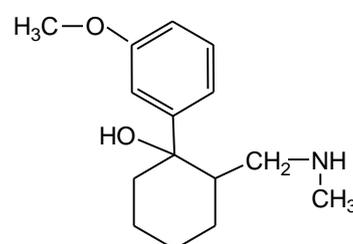
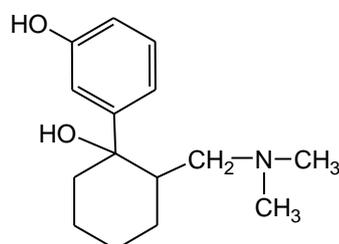
Für die Schmerzbehandlung unterscheidet man grob zwischen opioiden und nicht-opioiden Analgetika. Der in dieser Arbeit untersuchte Wirkstoff Tramadol ist ein schwaches Opioid. Seit Ende der 70er Jahre wird er in Deutschland bei mittleren bis schweren Schmerzen eingesetzt⁽³⁸⁾. Tramadol wird u. a. bei ähnlichen Indikationen wie Carbamazepin verschrieben, z.B. bei Polyneuropathie⁽³⁹⁾. Es ist von der Betäubungsmittel-Verschreibungsverordnung ausgenommen und zählt vermutlich auch daher neben Tilidin zu den am häufigsten verschriebenen Opioid-Analgetika⁽³⁾. Ebenso wie Ranitidin wird Tramadol aufgrund seiner Verkaufsmenge von knapp 30 t (2006) pro Jahr⁽³⁾ als umweltrelevant eingestuft⁽⁵⁾.

Tramadol^{(3), (4), (29)}

Verkaufsmenge	27.450 kg (2006) bzw. 91,5 Mio. DDD
Indikation	Mittelstarke bis starke akute oder prolongierte Schmerzen bei ungenügender Wirksamkeit nicht-opioider Analgetika.
Dosierung (DDD)	300 mg/Tag

Wirkmechanismus

Der Wirkmechanismus ist, wie bei vielen Schmerzmitteln, nicht vollständig bekannt. Insbesondere der O-Desmethylmetabolit blockiert die μ -Opioidrezeptoren, hemmt die neuronale Wiederaufnahme von Noradrenalin und bewirkt eine verstärkte Ausschüttung von Serotonin.

Strukturformel**Strukturformeln****Metaboliten**

O-Desmethyltramadol

N-Desmethyltramadol

Ausscheidung

vorwiegend renal, etwa 65 % werden metabolisiert

Tabelle 4: Kenngrößen und Metaboliten des Arzneimittelwirkstoffs Tramadol

1.5 Analytik von ausgewählten Arzneimitteln und deren Produkten aus oxidativem Abbau

Durch oxidativen Abbau von Arzneimittelwirkstoffen können sich eine Reihe unterschiedlichster Transformationsprodukte bilden. Die Analytik richtet sich dabei im Wesentlichen nach der Polarität und der thermischen Stabilität der untersuchten Substanzen. Die Untersuchung der Ausgangssubstanzen, d.h. der Arzneimittelwirkstoffe in ihrer unveränderten Form, erfolgt hauptsächlich durch Flüssigchromatographie gekoppelt mit einem Tandem-Massenspektrometer (LC-MS/MS). Die Analytik der Reaktionsprodukte wird aufgrund ihrer äußerst unterschiedlichen physikalisch-chemischen Eigenschaften mit verschiedenen analytischen Methoden durchgeführt. Einige der gebildeten Substanzen lassen sich zusammen mit ihren

Ausgangsstoffen durch LC-MS/MS untersuchen, andere erfordern die Verwendung von Ionenchromatographie oder Gaschromatographie.

Chromatographische Methoden erlauben es, ein komplexes Gemisch ähnlicher Substanzen in seine Einzelbestandteile aufzutrennen. Bei chromatographischen Methoden werden Analyten in einer mobilen Phase durch eine stationäre Phase geleitet, dabei stellt sich für jede Substanz ein Verteilungsgleichgewicht zwischen den beiden Phasen ein. Komponenten, die von der stationären Phase länger zurückgehalten werden, bewegen sich langsamer mit der mobilen Phase weiter, als Substanzen, die nur geringe Wechselwirkungen mit der stationären Phase eingehen. Die Verweildauer (Retentionszeit) der Analyten auf der stationären Phase wird je nach Auswahl der mobilen und stationären Phasen unter anderem durch die Polarität, den Siedepunkt oder die räumliche Struktur der Analyten beeinflusst. Dieses Prinzip ist bei vielen der chromatographischen Methoden ähnlich.

1.5.1 Flüssigchromatographie

Flüssigchromatographie wird hier im Folgenden im Sinne von Säulen-Flüssigkeitschromatographie verstanden, bei der die Analyten in einer flüssigen mobilen Phase (Eluent) über eine mit der stationären Phase gefüllte Säule gegeben werden. Die nachfolgend beschriebenen Analysetechniken Ionenchromatographie (IC) und High Performance Liquid Chromatography (HPLC) sind flüssigchromatographische Methoden.

1.5.1.1 HPLC

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie ist eine vielseitige Technik, die zum einen für präparative Zwecke genutzt wird, zum anderen als vielseitige und schnelle Analysetechnik, die mit unterschiedlichsten Detektoren kombiniert werden kann. Dazu zählen refraktometrische Detektoren, Photodioden-Arrays und Fluoreszenzdetektoren und die Kopplung mit Massenspektrometern ⁽⁴⁰⁾.

Für analytische Anwendungen werden üblicherweise Säulen mit einem Innendurchmesser zwischen 2 und 4,6 mm und einer Länge von 30 bis 250 mm eingesetzt. Die Grundlage der stationären Phase bilden meist poröse Kieselgele, gängige Partikelgrößen liegen zwischen 1,8 und 10 µm.

Man unterscheidet bei den stationären Phasen zwischen Normalphasen (normal phase, NP) und Umkehrphasen (reversed phase, RP). Bei der Normalphasen-

Chromatographie ist die stationäre Phase polarer als der Eluent. Beispiele sind Kieselgele, polar modifizierte Kieselgele oder Aluminiumoxid, die mit Eluenten wie Hexan oder Dichlormethan verwendet werden ^{(41), (42)}. Bei Umkehrphasen handelt es sich um Kieselgele, die chemisch so modifiziert werden, dass sie hydrophobe Gruppen wie z.B. n-Octadecyl-, n-Octyl- oder Phenyl-Gruppen tragen. Hier ist der Eluent polarer als die stationäre Phase, meist wird Methanol oder Acetonitril in Kombination mit einer wässrigen Pufferlösung verwendet. Einige stationäre Phasen bestehen auch aus organischen Polymeren wie Styrol-Divinylbenzol-Copolymere und Methylmethacrylate oder aus porösem graphitisiertem Kohlenstoff ^{(42), (43)}.

Der übliche Aufbau einer HPLC-Anlage besteht aus dem Probengeber, einem thermostatisierten Säulenofen, Eluenten-Reservoirs, einem Degasser, einer Pumpe und einem Detektor. Dieser Aufbau ist in Abbildung 8 dargestellt, wobei die hier skizzierte Anlage zusätzlich über eine Anreicherungssäule und eine weitere Pumpe verfügt. Die zweite Pumpe dient der Aufgabe der Probe auf die Anreicherungssäule. Der Aufbau entspricht damit dem für diese Arbeit verwendeten Gerät.

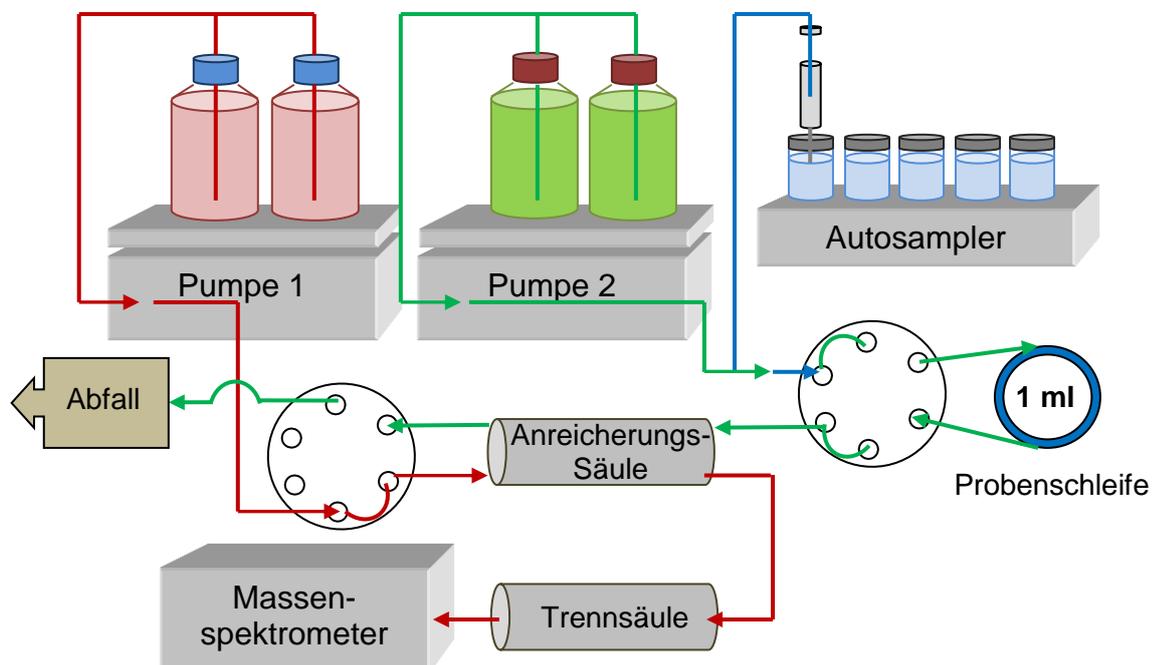


Abbildung 8: Schema einer Flüssigchromatographie mit online-Anreicherung

1.5.1.2 Ionenchromatographie

Das Prinzip der Ionenchromatographie ist ähnlich dem der HPLC. Die untersuchten Analyten stellen in diesem Fall anorganische und kleine organische Anionen und

Kationen dar. Der Trennmechanismus erfolgt über Ionenaustausch, d.h. man verwendet als stationäre Phase eine polymere Matrix mit kovalent gebundenen ionischen Gruppen, als mobile Phase dient oft ein niedrig konzentrierter, wässriger Puffer⁽⁴⁴⁾. Dem Eluenten kann zur Abschwächung von hydrophoben Wechselwirkungen zwischen Analyt und Ionentauscher ein geringer Anteil eines organischen Lösungsmittels zugesetzt werden⁽⁴²⁾. Abbildung 9 zeigt schematisch den Aufbau einer Ionenchromatographie.

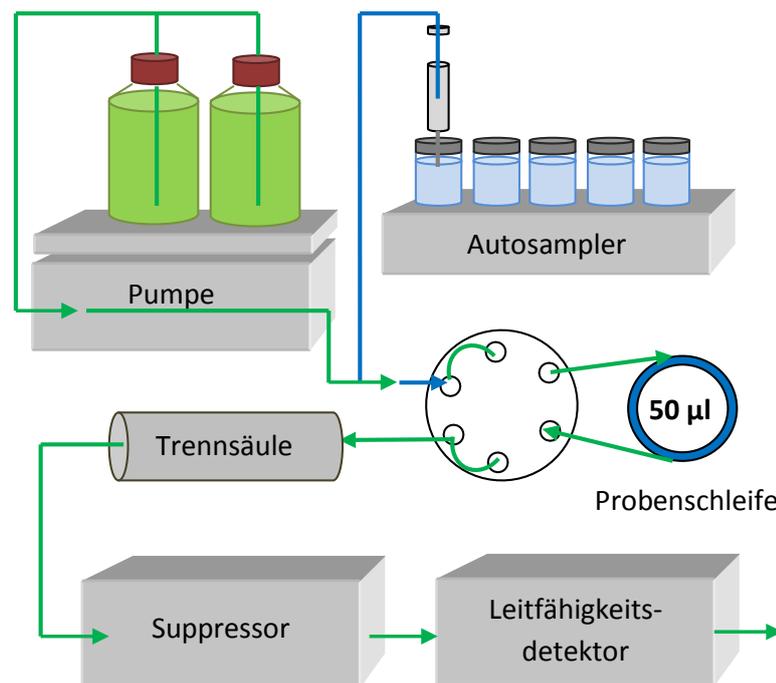


Abbildung 9: Schema einer Ionenchromatographie

Die Detektion erfolgt oft über einen Leitfähigkeitsdetektor, aber auch Kopplungen mit Massenspektrometern sind üblich. Um mit einem Leitfähigkeitsdetektor die nötige Empfindlichkeit zu erreichen, muss die Grundleitfähigkeit des Eluenten durch sogenannte Suppressoren unterdrückt werden. Der Suppressor besteht aus drei Kammern, die durch Ionentauschermembranen getrennt sind. Eine Kammer wird vom Eluenten durchflossen. Die beiden Regeneratorkammern enthalten in Abhängigkeit vom eingesetzten Eluenten Wasser, Schwefelsäure oder Tetrabutylammoniumhydroxid^{(45), (46)}.

Für diese Arbeit wurde ein System mit einem selbstregenerierenden Suppressor verwendet. Dieser besitzt eine anodische und eine kathodischen Regeneratorkammer. In der anodischen Kammer wird aus Wasser durch Elektrolyse H_3O^+ und Sauerstoff gebildet, in der kathodischen OH^- und Wasserstoff. Bei einem Eluenten,

der ein Natriumsalz enthält, treten H_3O^+ -Ionen durch die Membran in die Eluentenkammer, während die Na^+ -Ionen durch das entstandene Potentialgefälle in die kathodische Regeneratorkammer wandern. Durch diesen Prozess wird die Leitfähigkeit des Eluenten gesenkt und die Detektion der Analyten verbessert^{(45), (46)}.

1.5.2 Gaschromatographie

Substanzen, die gaschromatographisch untersucht werden sollen, müssen leicht verdampfbar sein, ohne sich dabei zu zersetzen. Die Probe wird im Injektor verdampft und mit der mobilen Phase, dem Trägergas, über die Trennsäule geleitet. Die Trennung beruht auf adsorptiven oder Verteilungseffekten^{(47), (48)}, das Trägergas dient dem Weitertransport entlang der Säule. Häufig verwendete Trägergase sind Helium, Wasserstoff und Stickstoff. Bei den stationären Phasen unterscheidet man zwischen festen und flüssigen Phasen. Für analytische Anwendungen werden überwiegend flüssige stationäre Phasen verwendet, die auf einer festen Oberfläche immobilisiert sind, meist auf einer Kapillare aus fused silica. Der Flüssigkeitsfilm wird dabei entweder als dünner Film von 0,1 – 5 μm direkt auf die Innenwand der Kapillare aufgetragen (wall coated open tubular columns, WCOT) oder auf der dünnen Schicht eines Trägermaterials (support coated open tubular columns, SCOT)⁽⁴⁷⁾. Gängige Säulenlängen liegen zwischen 10 und 60 m. Neben beschichteten Kapillarsäulen finden auch gepackte Säulen Verwendung. Dabei werden hochsiedende Flüssigkeiten wie z.B. Wachse auf inerte Trägermaterialien aufgebracht und in Säulen gefüllt. Feste stationäre Phasen werden heute in der Gaschromatographie nur in sehr eingeschränktem Maß verwendet, da durch irreversible Adsorptionseffekte polarer Substanzen starkes Peaktailing auftreten kann⁽⁴⁸⁾.

Um die Probe auf die Säule zu überführen, wird ein Volumen von wenigen Mikrolitern (ca. 1 – 10 μl) im Injektor verdampft. Bei der Injektion kann man zwischen der Heiß- und der Kaltinjektion unterscheiden. Während bei der Heißinjektion die Temperatur des Injektor deutlich oberhalb des Siedepunktes des am schwersten flüchtigen Analyten liegt, wird die Injektortemperatur bei der Kaltinjektion so gewählt, dass sie knapp über dem Siedepunkt des verwendeten Lösungsmittels liegt. Voraussetzung für die Anwendung der Kaltinjektion ist jedoch, dass der Siedepunkt des Lösungsmittels deutlich niedriger als der des am leichtesten flüchtigen Analyten ist.

Die Trennsäule befindet sich in einem thermostatisierten Ofen, über den sich die Temperatur im Laufe der Trennung kontinuierlich oder in Abschnitten erhöhen lässt.

Die Verwendung eines Temperaturprogramms wirkt sich positiv auf die Trennung der Analyten aus, besonders wenn diese in ihren Siedepunkten stark variieren.

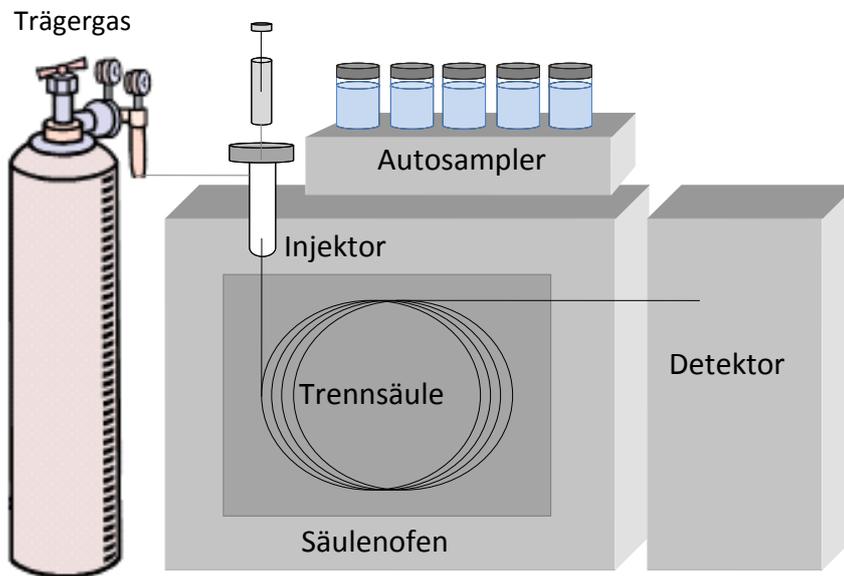


Abbildung 10: Schema eines Gaschromatographen

Eine besondere Aufgabetechnik ist die Headspace-Gaschromatographie. Statt wie üblich die Analyten als Lösung aufzugeben, wird die meist wässrige Probe für einen definierten Zeitraum thermostatisiert, bevor ein Aliquot aus dem Dampfraum auf die GC-Säule geleitet wird. Während der Thermostatisierung stellt sich ein Verteilungsgleichgewicht der Analyten zwischen der wässrigen und der gasförmigen Phase ein. Durch Zugabe eines Salzes kann dieses Gleichgewicht zu Gunsten der Gasphase zusätzlich verschoben werden. Diese Technik eignet sich besonders für sehr leicht flüchtige Substanzen.

Gaschromatographen lassen sich mit zahlreichen Detektoren betreiben. Häufig verwendete Detektoren sind der Flammenionisationsdetektor (FID), der Electron Capture Detector (ECD) oder massenselektive Detektoren (MSD).

1.5.3 Massenspektrometrie

Die Massenspektrometrie ist eine vielseitig einsetzbare analytische Methode, die auf der Trennung von Ionen entsprechend ihres Masse/Ladungsverhältnisses beruht. Ein Massenspektrometer erlaubt es dem Analytiker nicht nur eine quantitative Aussage

zu treffen, sondern kann auch für die Identifikation organischer und anorganischer Moleküle verwendet werden. Dies schließt die Bestimmung von Isotopenverhältnissen oder exakten Massen der Analytmoleküle ein⁽⁴⁸⁾. Der Grundaufbau ist für alle Massenspektrometer gleich: Erzeugung der Ionen in einer Ionenquelle, Trennung der Ionen nach ihrem Masse/Ladungsverhältnis in einem Massenanalysator und Detektion bzw. Verstärkung des Signals in einem Sekundärelektronenvervielfacher (SEV). Des Weiteren benötigen alle Massenspektrometer für die Analytik ein Hochvakuum von mindestens $2 \cdot 10^{-6}$ Torr^{(49), (50)}. Obwohl dieser Grundaufbau für alle Massenspektrometer gleich ist, gibt es verschiedene Gerätetypen, die unterschiedliche Mechanismen für die Trennung verwenden:

- Quadrupol
- Ion-Trap
- Time-of-Flight (TOF)
- Sektorfeld
- Fourier-Transform (FT)

In dieser Arbeit wurde sowohl mit Quadrupolfiltern als auch mit Ion-Traps gearbeitet, daher soll auf diese Gerätetypen näher eingegangen werden.

1.5.3.1 Ionisation

Bei der Kopplung von Gaschromatographen mit Massenspektrometern ist die Aufgabe der Analyten vergleichsweise einfach: Meistens endet die Trennsäule direkt in der Ionenquelle des Massenspektrometers⁽⁴⁸⁾. Bei der Elektronenstoß-Ionisation (EI) senden Filamente energiereiche Elektronen aus. Treffen die Elektronen auf Analyt-Moleküle, so werden diese häufig nicht nur ionisiert sondern auch fragmentiert, da die übertragene Energie wesentlich höher ist als die Ionisierungsenergie des jeweiligen Moleküls⁽⁵⁰⁾. Sollen die untersuchten Moleküle nicht oder nur wenig fragmentiert werden oder werden empfindliche Moleküle großer Molmasse untersucht, so kann statt der EI-Ionisation eine weniger energiereiche Form der Ionisierung gewählt werden, die chemische Ionisation (CI). Bei der CI werden zusätzlich Reaktandgase wie z.B. Methan, Isobutan oder Ammoniak in die Ionenquelle eingeleitet. Zunächst werden diese Gase durch EI ionisiert, die Ionisierung der Analytmoleküle erfolgt dann durch Stoßreaktionen mit den im Überschuss vorliegenden, ionisierten Gasmolekülen. Bei der Anwendung der EI werden überwiegend positiv geladene Ionen generiert. Die Bildung negativ geladener Ionen durch Elektroneneinfang ist

möglich, bei den üblichen Bedingungen der Ionisierung mit 70 eV jedoch selten. Bei der chemischen Ionisierung werden dagegen sowohl positiv als auch negativ geladene Ionen erzeugt. Negative Ionen können bei der CI z.B. durch Deprotonierung oder durch Elektroneneinfang gebildet werden. Dies ist möglich, da die übertragene kinetische Energie bei der CI deutlich geringer ist als bei der EI ^{(49), (50)}.

Bei der Kopplung mit Gaschromatographen befindet sich die Ionenquelle im Hochvakuum. Die Menge des aus der Säule austretenden Trägergases ist derart gering, dass sie abgepumpt werden kann. Bei der Kopplung mit der Flüssigchromatographie muss jedoch der Eluent vor dem Eintritt der Ionen in das Massenspektrometer abgetrennt werden. Die Ionisation erfolgt daher bei Atmosphärendruck (API von engl. atmospheric pressure ionisation). Auch hier gibt es verschiedene Arten der Ionisierung. Zwei gängige Techniken sind die Electrospray-Ionisation (ESI) und die APCI (von engl. atmospheric pressure chemical ionization).

Bei der Electrospray-Ionisation wird der Eluent durch eine Kapillare, an der eine Hochspannung anliegt, versprüht. Mit dieser Methode können sowohl positive als auch negative Ionen erzeugt werden, bei großen Molekülen sind Mehrfachladungen möglich ^{(49), (51)}. Für apolare und hitzestabile Moleküle eignet sich die APCI, bei der neutrale Moleküle in einem Plasma ionisiert werden ⁽⁴⁹⁾. Der Eluent wird durch einen auf 200 – 400 °C beheizten Gasstrom verdampft, die Erzeugung des CI-Plasmas erfolgt über eine Corona-Nadel. Auch mit APCI ist die Bildung positiver und negativer Ionen möglich.

1.5.3.2 Quadrupol-Massenspektrometer

Aufgrund ihrer Robustheit, des relativ einfachen Aufbaus und ihrer schnellen Messraten sind Quadrupole die für analytische Zwecke am häufigsten verwendeten Massenanalytoren ^{(48), (49)}. Das Herzstück jedes Quadrupols bilden vier parallel angeordnete Stabelektroden, von denen jeweils die gegenüberliegenden elektrisch verbunden sind. An eines der Elektrodenpaare wird eine positive, variable Gleichspannung angelegt, an das andere eine negative. Zusätzlich liegen an jedem Elektrodenpaar hochfrequente Wechselspannungen an, die um 180° phasenverschoben sind ⁽⁴⁸⁾. Durch ein Potentialgefälle wird der Ionenstrahl aus der Quelle zum Quadrupol hin beschleunigt. Im Quadrupol werden die Ionen durch die Wechselspannung zu Schwingungen angeregt. Um das Quadrupol zu passieren, müssen die Ionen eine stabile Flugbahn zwischen den Stäben aufweisen, da sie sonst mit einer

der Elektroden kollidieren und dadurch entladen werden⁽⁴⁹⁾. Durch Variation der Gleichspannung und der überlagerten Wechselspannung gelingt es, nur Ionen einer bestimmten Masse (eines ausgewählten Massenbereiches) auf einer stabilen Bahn das Quadrupol passieren zu lassen, während die Schwingungsamplituden aller anderen Ionen so zunehmen, dass sie an den Elektroden entladen werden. Da auf diese Weise einzelne Massen aus dem Gesamtspektrum herausgefiltert werden können, bezeichnet man Quadrupole oft auch als Massenfilter^{(48), (52)}.

Quadrupole besitzen im Vergleich zu anderen Massenanalysatoren nur eine mäßige Auflösung. Ionen mit gleicher nominaler Masse, aber unterschiedlichen exakten Massen, wie z.B. $C_2H_4^+$ und CH_2N^+ , lassen sich mit einem Quadrupol nicht unterscheiden. Um eine zusätzliche analytische Absicherung zu haben, werden häufig zwei Quadrupole mit einer dazwischen geschalteten Kollisionszelle verbunden. Durch diese sogenannten Tandem-Massenspektrometer oder Triple-Quads erhält man die Möglichkeit, ein gesuchtes Ion im ersten Quadrupol zu isolieren und die daraus gebildeten Produkt-Ionen im anderen Quadrupol zu analysieren. In der Targetanalytik lassen sich auf diese Weise in Verbindung mit einer chromatographischen Trennung eindeutige Zuordnungen treffen. Abbildung 11 zeigt eine schematische Darstellung eines Tandem-Massenspektrometers.

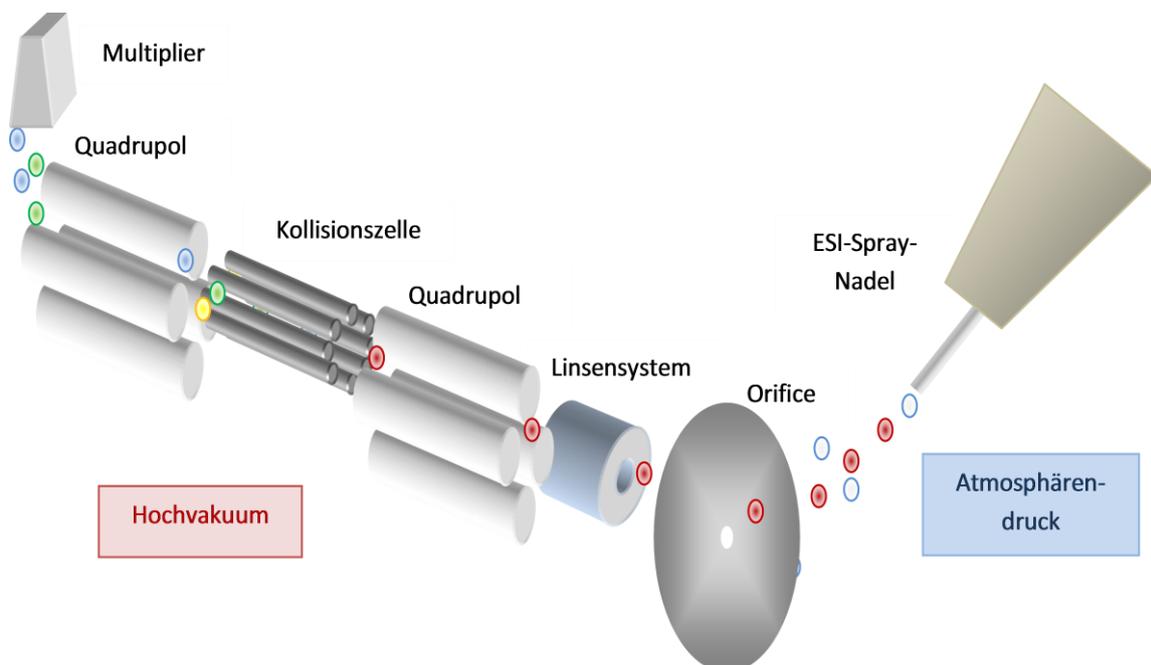


Abbildung 11: Tandem-Massenspektrometer für die Flüssigchromatographie mit Elektrospray-Ionisation

1.5.3.3 Ion-Trap-Massenspektrometer

Die für die Kopplung mit der Gaschromatographie verwendeten Ionenfallen bestehen aus zwei geerdeten Abschirm-Elektroden (Endcap-Elektroden) und einer Ringelektrode, an der eine variable Hochfrequenzspannung anliegt. Im Raum zwischen diesen Elektroden können Ionen auf stabilen Bahnen zirkulieren. Durch Veränderung der Hochfrequenzspannung können jeweils Ionen mit einem definierten m/z -Verhältnis auf stabilen Bahnen gehalten werden, während die übrigen Ionen an den Elektroden entladen werden^{(48), (49)}. Diese Technik hat mehrere Vorteile: Man kann über einen begrenzten Zeitraum Ionen in der Falle anreichern und man hat mit nur einem Massenanalysator die Möglichkeit MS/MS-Messungen durchzuführen. Für sehr geringe m/z -Verhältnisse sind Ion-Traps nur bedingt geeignet, da sich leichtere Ionen nur schwer in der Trap stabilisieren lassen. Abbildung 12 zeigt den Aufbau einer Ionenfalle.

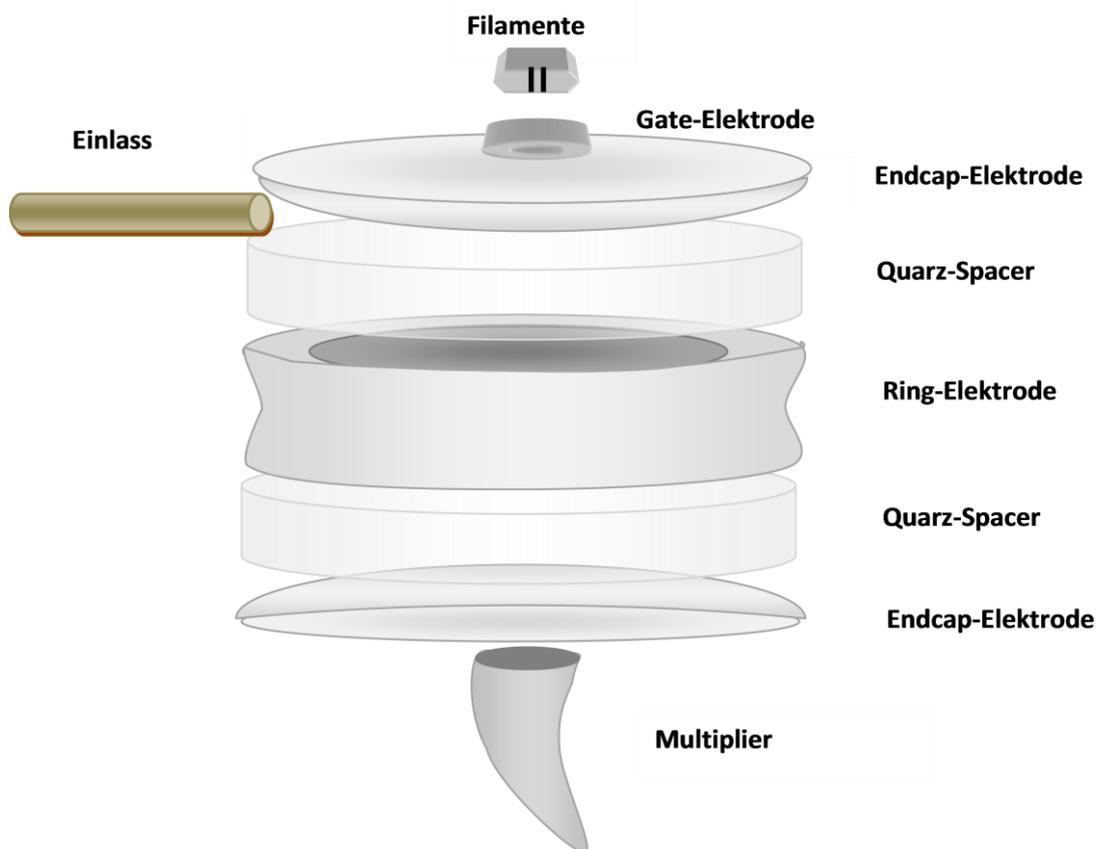


Abbildung 12: Aufbau einer Ionenfalle

1.6 Aufgabenstellung

Trinkwasser ist eine unserer wichtigsten Ressourcen. Das Rohwasser zur Trinkwasseraufbereitung stammt in Deutschland hauptsächlich aus Grund-, Talsperren- und Flusswasser, bei letzterem überwiegend aus Uferfiltrat. Die Reinhaltung von Gewässern und die Gewährleistung der Nachhaltigkeit bei deren Verwendung sollte daher oberste Priorität haben. Gerade Fließgewässer dienen aber oft vielen verschiedenen Verwendungszwecken: als Kühlwasser, zum Gütertransport, als Vorfluter für Kläranlagen etc. Diese intensive Nutzung hinterlässt in den Flüssen eine Vielzahl anthropogener Spurenstoffe. Für die Überwachung der Gewässergüte, besonders mit Blick auf die Verwendung als Trinkwasserressource, ist eine empfindliche und leistungsstarke Analytik dieser Spurenstoffe nötig. Die Überwachung ist dabei nicht nur in den Oberflächengewässern selbst nötig, es muss auch geprüft werden, ob bei deren Aufbereitung zu Trinkwasser unerwünschte Stoffe eliminiert werden. Die Aufbereitung des Trinkwassers sollte derart konzipiert sein, dass anthropogene Spurenstoffe möglichst quantitativ zurückgehalten werden. Gleichzeitig sollte gewährleistet sein, dass sich keine unerwünschten Transformationsprodukte bilden, die nicht durch die Aufbereitung entfernt werden können.

Es sollte in dieser Arbeit eine analytische Methode entwickelt werden, die es ermöglicht, ausgewählte Arzneimittel im Spurenbereich von einigen Nanogramm pro Liter quantitativ zu erfassen. Der zeitintensivste Faktor bei chromatographischen Messungen im Spurenbereich ist die Anreicherung der Analyten mit Hilfe der Festphasenextraktion. Daher war es auch Ziel dieser Arbeit, eine Methode mit Online-Anreicherung zu entwickeln, welche die Analysenzeiten deutlich verkürzt und das für die Messung der Arzneimittelwirkstoffe nötige Nachweisvermögen gewährleistet.

Um den Vorgaben der Trinkwasserverordnung zu genügen, ist die Aufbereitung des Rohwassers ein aufwändiger, kostenintensiver Prozess. Eine häufig angewandte Technik ist dabei die Ozonung. Neben zahlreichen positiven Effekten der Ozonung besteht jedoch auch immer die Möglichkeit der Bildung unerwünschter Substanzen. Ein bekanntes Beispiel ist die Bildung von Bromat aus Bromid. Die Effektivität verschiedener Trinkwasseraufbereitungen sollte mit Blick auf die Entfernung der

häufig verschriebenen Arzneimittelwirkstoffe Carbamazepin, Ranitidin und Tramadol sowie die Bildung von Transformationsprodukten aus diesen durch die Einwirkung von Ozon untersucht werden. Analysen über den gesamten Prozess der Trinkwasseraufbereitung vom Rohwasser bis zum Trinkwasser sollten das Verhalten der Arzneimittelwirkstoffe und ausgewählter Transformationsprodukte während der Aufbereitung gezielt verfolgen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sollen im Vergleich mit den Untersuchungsergebnissen anderer Aufbereitungsmethoden Rückschlüsse für die Beurteilung der Effektivität der Trinkwasseraufbereitung nach dem Düsseldorfer-Verfahren bei der Elimination anthropogener Spurenstoffe ermöglichen.

2. Ergebnisse

2.1 Entwicklung der chromatographischen Methode für ausgewählte Arzneimittelwirkstoffe

Eine Voraussetzung für die Untersuchung von Proben in der Routineanalytik ist eine robuste Methode. Sie sollte möglichst viele der zu untersuchenden Analyten erfassen und gleichzeitig einen möglichst geringen Aufwand für die Vorbereitung der Proben erfordern. Zur Bestimmung möglicher Transformationsprodukte der Arzneimittelwirkstoffe, die während der Trinkwasseraufbereitung mit Ozon gebildet werden, musste daher eine analytische Methode entwickelt werden, welche neben den Arzneimittelwirkstoffen auch deren Transformationsprodukte erfasst. Die in dieser Arbeit untersuchten Substanzen (siehe Tabelle 5) wurden nicht nach einer einheitlichen medizinischen Anwendung oder chemischen Klassifizierung ausgewählt (siehe Kapitel 1.4) und unterscheiden sich erheblich in ihrer molekularen Struktur und ihren chemisch-physikalischen Eigenschaften. Diesen Unterschieden muss bei der Entwicklung der Methode Rechnung getragen werden.

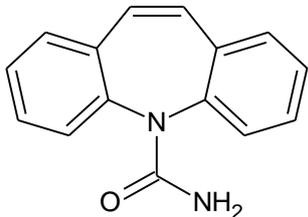
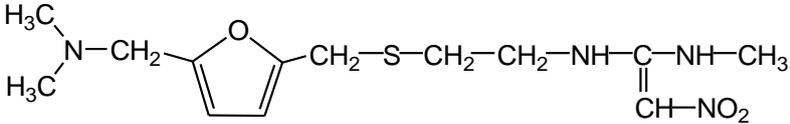
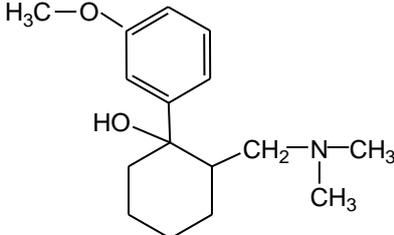
Arzneimittelwirkstoff	Strukturformel
Carbamazepin	
Ranitidin	
Tramadol	

Tabelle 5: Ausgewählte Arzneimittelwirkstoffe

Für die ausgewählten Arzneimittelwirkstoffe stehen verschiedene chromatographische Analysetechniken zur Verfügung. Carbamazepin z.B. kann gut gaschromatographisch mit einem massenspektrometrischen Detektor bestimmt werden. Bei dieser Methode muss jedoch die Festphasenextraktion (SPE= Solid Phase Extraction) bei der Probenvorbereitung angewendet werden, um niedrige Bestimmungsgrenzen zu erreichen. Ranitidin hingegen ist thermisch instabil und kann daher nicht mit der Gaschromatographie erfasst werden.

Die klassische Festphasen-Extraktion zur Anreicherung der gesuchten Analyten ist aufgrund der benötigten Arbeitszeit und Chemikalienmenge zeitintensiv und teuer, die benötigte Probemenge ist mit ca. 1 l vergleichsweise groß. Die Methodenentwicklung sollte daher unter dem Gesichtspunkt einer optimierten Probenvorbereitung erfolgen. Ziel war es, die aufwändige Festphasen-Extraktion durch eine online-Anreicherung zu ersetzen, wobei beachtet werden musste, dass die Nachweisempfindlichkeit für die untersuchten Substanzen erhalten blieb oder, wenn möglich, noch gesteigert wurde. Um die Erfassung der Arzneimittelwirkstoffe so effektiv wie möglich zu gestalten, sollten zudem alle ausgewählten Substanzen in einem Analysenlauf bestimmt werden können.

Neue Analysetechniken ermöglichen eine Anzahl an automatisierten Schritten, die die herkömmliche Form der Festphasen-Extraktion ersetzen können. Im Bereich der Flüssigkeitschromatographie gehören dazu Techniken wie die Direkt-Injektion der Proben, online-SPE mit automatisierter Anreicherung auf Kartuschen, online-SPE mit in-Line geschalteten Anreicherungsäulen oder Lab-on-a-chip-Systeme. Systeme mit Direktinjektion sind durch den kompletten Wegfall der Probenvorbereitung äußerst effizient. Da keine Anreicherung der Analyten und keine Matrixabtrennung vorgenommen wird, ist das Nachweisvermögen dieser Technik von der Leistungsfähigkeit des verwendeten Detektors abhängig und erreicht so unter Umständen nicht die Bestimmungsgrenzen, die nach Anreicherung der Analyten möglich sind. Lab-on-a-Chip-Systeme sind miniaturisierte Analysensysteme, die durch die Verkleinerung der Trennsäule auf einen Chip mit wenigen Mikrolitern Probe und Eluentenvolumina arbeiten. Sie zeichnen sich durch geringe Mengen von Proben und Chemikalien, geringe Abfallmenge, schnelle Analysenzeiten und einen hohen Durchsatz an Analysen durch Parallelisierung aus. Diese Technik wird überwiegend in der biochemischen Analytik und bei tragbaren Geräten verwendet.

Das für diese Arbeit verwendete LC-MS/MS-Gerät DSQ Quantum Access der Firma Thermo Scientific verfügt über einen Triple-Quadrupol-Massenanalysator und ein integriertes online-Clean-up der Proben, das sogenannte EQuanTM-Modul (siehe Abbildung 8, Kapitel 1.5.1.1). Das EQuanTM-Modul besteht aus einer Anreicherungssäule und einer quaternären Pumpe und ist über ein 6-Wege-Ventil zwischen dem Injektor und der analytischen Trennsäule der Flüssigchromatographie geschaltet. Die Probe wird zunächst auf die Anreicherungssäule aufgegeben, bevor sie durch das Laufmittel auf die analytische Trennsäule überführt wird. Das aufgegebene Probevolumen kann zwischen 100 µl und 2,5 ml betragen. Dies ist deutlich mehr als bei der klassischen Injektion, wo Volumina zwischen 10 und 100 µl aufgegeben werden. Noch deutlicher ist der Vergleich mit der klassischen offline Festphasen-Extraktion, wo standardmäßig für die Trinkwasseranalytik 500 bis 1000 ml Probe angereichert wurden. Die Empfindlichkeit des verwendeten massenspektrometrischen Detektors zum einen und die Abtrennung störender Matrix auf der Anreicherungssäule zum anderen machen die deutlich geringere Probenmenge möglich. Ein weiterer Vorteil der online-Anreicherung liegt in der großen Anzahl der in Reihe messbaren Proben. Mit dem in dieser Arbeit verwendeten Messsystem können je nach verwendetem Probevolumen zwischen 62 und 196 Proben und Standards in einer Messreihe analysiert werden. Im Vergleich liegt die Anzahl der gleichzeitig vorbereitbaren Proben bei der klassischen manuellen SPE oder automatisiert z.B. bei AutotraceTM-Geräten zwischen 6 und 12 Proben.

Zusammengefasst bringt die automatisierte Kopplung einer online-Anreicherungssäule an eine chromatographische Säule viele Vorteile: geringerer Arbeitsaufwand, geringere Mengen Probe und Chemikalien sowie eine deutliche Verkürzung der gesamten Analysenzeit. Bei der Entwicklung einer Methode muss jedoch beachtet werden, dass die Analyten ausreichend auf der Anreicherungssäule zurück gehalten werden und sich mit dem gewählten Gradienten vollständig auf die Trennsäule übertragen lassen. Werden Anreicherungs- und Trennsäule sowie die verwendeten Eluenten nicht optimal aufeinander und auf die Analyten abgestimmt, können Minderbefunde, Verschleppungen oder stark verbreiterte Peaks die Folge sein.

2.1.1 Anreicherung der Analyten

Eine C18-Säule (Thermo Hypersil Gold) zeigte für die Anreicherung der ausgewählten Arzneimittelwirkstoffe die besten Ergebnisse. Die verwendete Anreicherungs säule hat eine Länge von 20 mm bei einem Durchmesser von 2,1 mm und einer Partikelgröße von 12 μm . Damit ist die Partikelgröße deutlich kleiner als bei konventionellen Festphasen, die üblicherweise Partikelgrößen zwischen 30 und 100 μm aufweisen. Die kleineren Partikel erfordern auf Grund des entstehenden Drucks eine langsamere Geschwindigkeit bei der Probenaufgabe, bieten aber eine größere Oberfläche für die Anreicherung der Analyten. Die Probenaufgabe erfolgt durch Injektion von 1000 μL Probe, die mit dem Laufmittel (Wasser mit 0,1 % Ameisensäure und 10 % Methanol) bei einem Fluss von 0,5 ml/min auf die Anreicherungs säule gegeben werden. Anschließend wird die Anreicherungs säule für eine Minute mit dem Aufgabelaufmittel gespült, um die Matrix von den Analyten abzutrennen. Für die gesamte Probenaufgabe werden damit etwa drei Minuten benötigt. Bei einer klassischen Festphasenextraktion, bei der ca. 1 l Probe mit einer Geschwindigkeit von 10 ml/min angereichert wird, werden mit der Trocknung und Elution der Festphasenkartuschen oft mehrere Stunden für die Vorbereitung benötigt. Die Zeitersparnis bei der online-Anreicherung ist im Vergleich dazu enorm. Ein Nachteil dieser Anreicherungs methode ist zur Zeit noch die Beschränkung der erhältlichen stationären Phasen in den oben aufgeführten Dimensionen. Neben der verwendeten C18-Phase sind eine C8-Phase und eine Phase aus graphitisiertem Kohlenstoff erhältlich. Beide eignen sich nicht für die Anreicherung der ausgewählten Analyten. Bei einer Anreicherung auf graphitisiertem Kohlenstoff muss die Elution auf die analytische Säule mit einem Methanol-Anteil von deutlich mehr als 50 % erfolgen, um vergleichsweise unpolare Verbindungen wie Carbamazepin zu eluieren. Dieser hohe Anteil an Methanol verursacht Schwierigkeiten bei der Trennung der Arzneimittelwirkstoffe auf der analytischen Säule, besonders bei polareren Substanzen wie Ranitidin. Bei der Verwendung dieser Anreicherungs säule bauen sich zudem sehr hohe Drücke auf, die oft zu Undichtigkeiten bei der Anreicherung führen und das System dadurch fehleranfällig machen. Die C8-Phase weist eine insgesamt schlechtere Retention für die ausgewählten Analyten auf, die sich insbesondere bei den polareren Arzneimitteln negativ auswirkt.

2.1.2 Chromatographische Trennung

Als analytische Trennsäule wurde eine Phenylphase mit einem C4-Spacer zwischen Phenylring und Silylgruppe ausgewählt. Die verwendete Säule hat eine Länge von 50 mm bei einem Innendurchmesser von 2,1 mm und einer Partikelgröße von 3 μm . Durch π - π -Wechselwirkungen zwischen den aromatischen Strukturen der Analyt-Moleküle und der Phenyl-Phase wird eine gute Retention erzielt. Die C4-Ketten als Spacer erhöhen zudem die Selektivität dieser Säule für moderat polare Substanzen. Die drei in dieser Arbeit untersuchten Arzneimittelwirkstoffe enthalten alle aromatische Strukturen, aber auch polare Seitengruppen. Die Trennung dieser Substanzen wird daher durch die verwendete stationäre Phase optimal unterstützt.

Als Eluenten wurden sowohl für die Anreicherung als auch für die Trennung Methanol und Wasser mit 0,1 % Ameisensäure verwendet. Gängige organische Eluenten für die HPLC sind Acetonitril und Methanol. Für die hier beschriebene Methode sollte aus Gründen der Arbeitssicherheit und der Kosten Methanol verwendet werden, wenn es die chromatographische Trennung und massenspektrometrische Detektion zulassen. Da eine gute Trennung mit Methanol und eine empfindliche Detektion erzielt wurden, konnte auf den Einsatz von Acetonitril verzichtet werden. Das verwendete Wasser wurde mit 0,1% Ameisensäure versetzt. Der Zusatz von Ameisensäure verbessert die Ionisation der Analyt-Moleküle im positiven Elektrospray-Modus (ESI +) und führt bei der Anreicherung zu symmetrischeren Peakformen im Vergleich zur Verwendung von reinem Wasser. Die Anreicherung erfolgt isokratisch mit 90% Wasser mit 0,1 % Ameisensäure und 10 % Methanol. Durch den Zusatz von 10 % Methanol werden die Anreicherungsbedingungen so weit wie möglich an die Startbedingungen der chromatographischen Trennung angepasst.

Die Kombination einer C18-Anreicherungssäule mit einer Phenyl-Trennsäule ermöglicht, alle ausgewählten Arzneimittel ab einer Konzentration von 5 ng/l gut zu erfassen. Die benötigte Analysenzeit pro Probe beträgt inklusive der Anreicherung nur 15 min. In der nachfolgenden Tabelle 6 sind die chromatographischen Bedingungen für die quantitative Bestimmung der Arzneimittelwirkstoffe aufgeführt.

Injektionsvolumen	1 ml	
EQuan™-Säule	Hypersil Gold; 20 mm; 2,1 mm; 12 µm	
Fluss-Pumpe 2	0,5 ml/min	
Eluent-Pumpe 2	Wasser mit 0,1 % Ameisensäure und 10 % Methanol	
Analytische Säule	Hypersil Gold Phenyl; 50 mm; 2,1 mm; 3 µm	
Fluss-Pumpe 1	150 µl/min	
Eluent A	Wasser mit 0,1 % Ameisensäure und 1 % Methanol	
Eluent B	Methanol	
Gradient	0 – 2 min	80 % Eluent A / 20 % Eluent B
	2 – 10 min	80 % auf 15 % Eluent A 20 % auf 85 % Eluent B
	10 – 12 min	15 % Eluent A / 85 % Eluent B
	12 – 13 min	15 % auf 80 % Eluent A 85 % auf 20 % Eluent B
	13 – 15 min	80 % Eluent A / 20 % Eluent B
Säulenofen	25 °C	

Tabelle 6: Chromatographische Bedingungen

Abbildung 13 zeigt ein Chromatogramm der Arzneimittelwirkstoffe aus einer Standardlösung in LC-MS-grade Wasser mit der Konzentration 10 ng/l.

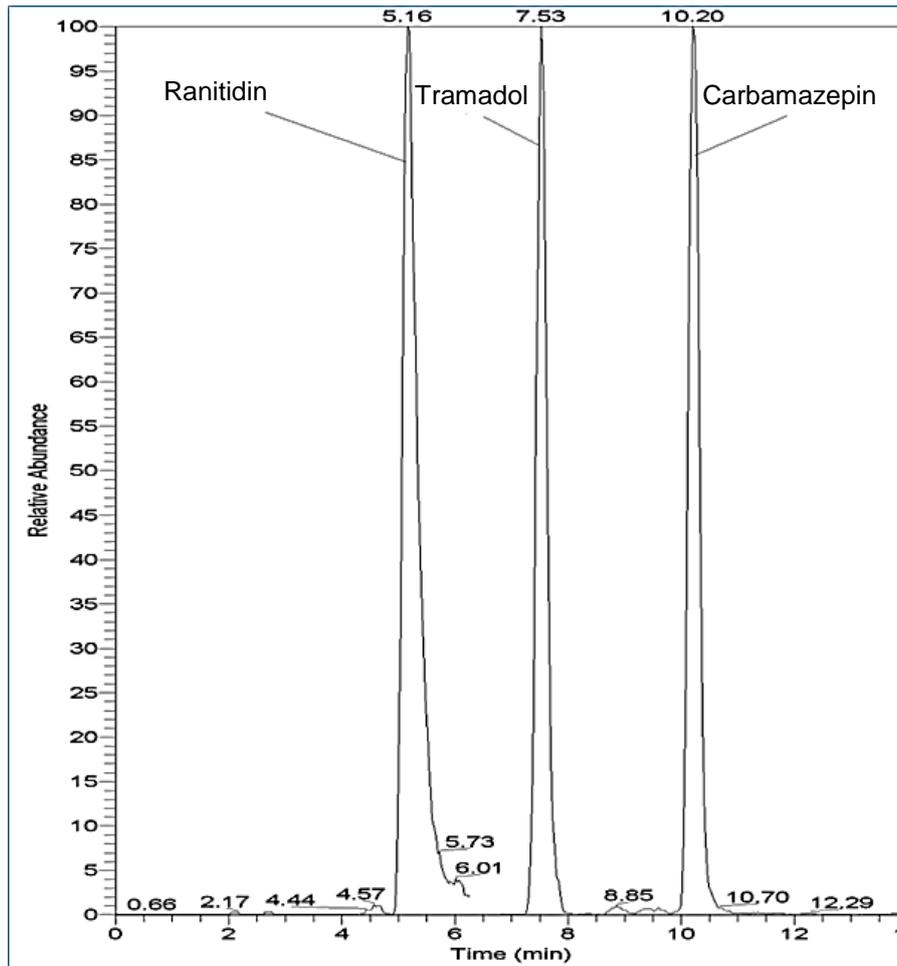


Abbildung 13: Chromatogramm eines Standards, Konzentration 10 ng/l

2.1.3 Massenspektrometrische Detektion

Die massenspektrometrische Detektion erfolgte nach Electrospray-Ionisierung im Positiv-Modus (ESI+) mit MS/MS. Die optimalen massenspektrometrischen Einstellungen wurden einzeln für jeden Analyten unter festgelegten chromatographischen Bedingungen ermittelt. Die Einstellungen, z.B. Spray Voltage und Transfer Capillary Temperature, orientierten sich an den am wenigsten empfindlichen Analyten, so dass insgesamt für alle Analyten die optimale Empfindlichkeit erzielt wurde. Die ermittelten Massenübergänge der einzelnen Analyten sind in Tabelle 7 zusammengefasst. Die hier beschriebene Methode wurde für die Bestimmung basischer und neutraler Arzneimittel entwickelt und ermöglicht neben den drei in dieser Arbeit untersuchten Substanzen noch die Erfassung weiterer Arzneimittel (siehe Anhang Seite 92). Insgesamt können mit dieser Methode 25 Arzneimittel sowie fünf Arzneimittel-Metaboliten analytisch erfasst werden. Da für die Substanzen eine gute chromatographische Trennung erreicht wurde, konnte die Methode in drei Messsegmente

unterteilt werden. Diese Unterteilung ermöglicht längere Scanzeiten für die einzelnen Massenübergänge bzw. erhöht die Anzahl der gemessenen Datenpunkte pro Peak und verbessert so die Empfindlichkeit und Reproduzierbarkeit der Messungen (siehe Kapitel 2.4.1).

Analyt	Carbamazepin	Tramadol	Ranitidin
Molekül-Ion [M+H] ⁺ [m/z]	237,0	264,1	315,0
Produkt-Ion P1 [m/z]	194,0	58,3	175,9
Kollisions-Energie P1	19	15	23
Produkt-Ion P2 [m/z]	191,9	-	102,2
Kollisions-Energie P2	33	-	36
Intensitätsverhältnis der Produktionen P1/P2 [%]	69	-	49

Tabelle 7: Massenspektrometrische Bedingungen (weitere Details siehe Anhang Seite 92 - 93)

Tabelle 7 listet die Massenübergänge der Arzneimittelwirkstoffe und das Intensitätsverhältnis der Produkt-Ionen zueinander auf. Um eine sichere Identifizierung zu gewährleisten, sollten pro Substanz mindestens zwei spezifische und voneinander unabhängige Massenübergänge verwendet werden. Das Intensitätsverhältnis der zwei Produkt-Ionen kann dann in Kombination mit der Retentionszeit zur sicheren Identifizierung herangezogen werden. Einige Substanzen, wie z.B. Tramadol, besitzen nur einen Massenübergang, der für die Detektion verwendet werden kann. Solche Substanzen müssen bei der Auswertung besonders kritisch beobachtet werden. Um die Gefahr einer falsch-positiven Identifizierung zu vermeiden, müssen besonders Schwankungen in den Retentionszeiten beachtet werden.

2.1.4 Validierung

Um die entwickelte Methode für die Anwendung in der quantitativen Analytik zu prüfen, wurde eine Methodvalidierung für alle untersuchten Analyten durchgeführt. Die Quantifizierung der Analyten erfolgte durch Kalibration über das gesamte Verfahren unter Verwendung von deuterierten internen Standards. Insgesamt

wurden für die Quantifizierung drei interne Standardsubstanzen herangezogen, die den gesamten Bereich des Analysenlaufs abdecken: Atenolol-d₇, Sotalol-d₆, Carbamazepin-d₁₀.

Neben dem online-Clean-up durch das EQuanTM-Modul war der einzige Schritt der Probenvorbereitung die Filtration über ein Membranfilter (regenerierte Cellulose, Porengröße 0,45 µm). Sowohl Proben als auch Kalibrierlösungen wurden gleichermaßen nach Zugabe der Standards filtriert. Die Validierungsdaten für Carbamazepin, Tramadol und Ranitidin sind in Tabelle 8 dargestellt:

Substanz	Carbamazepin	Tramadol	Ranitidin
Arbeitsbereich [ng/l]	1 – 25		
Konzentrationsniveaus [ng/l]	1 / 2,5 / 5 / 7,5 / 10 / 15 / 20 / 25		
Retentionszeit [min]	10,1	7,2	4,9
Korrelationskoeffizient r	0,9997	0,9989	0,9995
Nachweisgrenze (berechnet) [ng/l]	0,51	1,08	1,49
Bestimmungsgrenze (berechnet) [ng/l]	1,89	3,93	4,93
Signal-Rausch-Verhältnis (Peak zu Peak) Konzentration 10 ng/l	84	273	152
Anzahl der Datenpunkte pro Peak Konzentration 10 ng/l	11	11	10
Verfahrensstandardabweichung S _{xo} [ng/l]	0,22	0,46	0,35
Relative Verfahrensstandard- abweichung V _{xo} [%]	2,30	4,55	2,97
Standardabweichung über 10 Messungen [ng/l] Konzentration 10 ng/l	2,37	1,71	0,69
Standardabweichung über 10 Messungen [ng/l] Konzentration 100 ng/l	3,10	9,08	4,31

Tabelle 8: Validierungsdaten von Carbamazepin, Tramadol und Ranitidin

Die in Tabelle 8 aufgeführten Verfahrenskenndaten wurden nach DIN 32645 ⁽⁵³⁾ ermittelt. Die Daten der Korrelation, Nachweis- und Bestimmungsgrenze, Verfahrensstandardabweichung und relative Verfahrensstandardabweichung wurden mit Hilfe des statistischen Programms SQS 2000 ⁽⁵⁴⁾ bestimmt. Die Kalibrierfunktionen zur Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze sind in Abbildung 14 dargestellt.

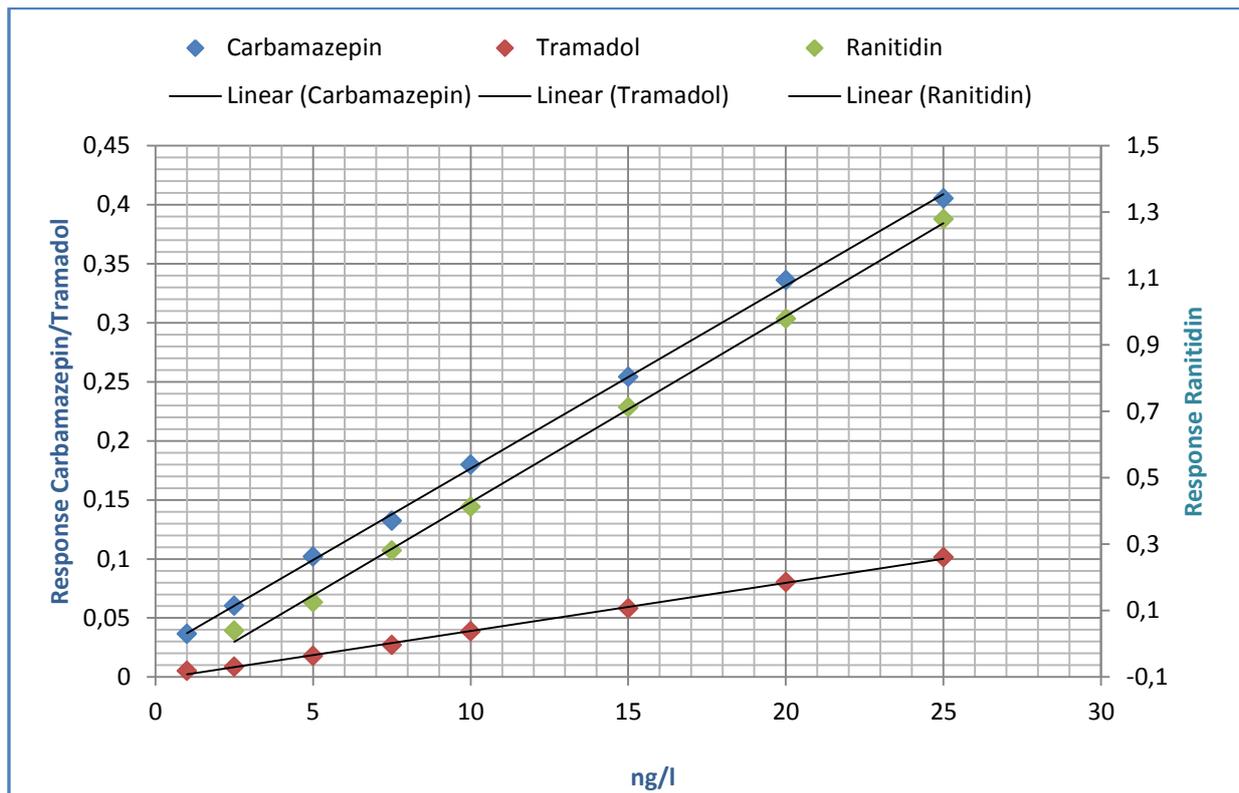


Abbildung 14: Kalibriergeraden für die Ermittlung von Nachweis- und Bestimmungsgrenze von Carbamazepin, Tramadol und Ranitidin

Der Ansatz der Standards für die Ermittlung der Verfahrenskenndaten erfolgte in blindwertfreiem Trinkwasser. Wie in Tabelle 8 gezeigt, wird für alle Substanzen eine errechnete Bestimmungsgrenze von < 5 ng/l erreicht.

Zusätzlich zur Berechnung der Bestimmungsgrenze wurde auch das Signal-Rausch-Verhältnis (S/N) bei einer Konzentration von 10 ng/l ermittelt. Für die Nachweisgrenze sollte das Signal des Analyten um den Faktor 3 größer sein als das Untergrundrauschen (Noise). Für die Bestimmungsgrenze sollte das Signal mindestens um den Faktor 10 größer sein als der Noise ^{(55), (56), (57)}. Bei einer Konzentration von 10 ng/l wurden Verhältnisse zwischen 84 und 273 S/N ermittelt, d.h. bei 10 ng/l werden die geforderten Werte für das Signal/Rausch-Verhältnis an der Bestimmungsgrenze

deutlich übertroffen. Das hohe Signal-Rausch-Verhältnis bei dieser niedrigen Konzentration wird durch verschiedene Faktoren erzielt. Durch das Abtrennen von Matrixbestandteilen während der Anreicherung wird das Rauschen deutlich verringert. Auch die Selektivität der MS/MS-Detektion und die Empfindlichkeit des Gerätes tragen zu den sehr guten Signal-Rausch-Verhältnissen bei.

An Hand der ermittelten Daten für die berechneten Nachweis- und Bestimmungsgrenzen in Kombination mit den anderen Verfahrenskenndaten wurde für die untersuchten Analyten eine Bestimmungsgrenze von 10 ng/l als „reporting limit“ festgelegt. Diese Bestimmungsgrenze liegt deutlich oberhalb der errechneten Werte, um eine sichere und robuste Quantifizierung zu gewährleisten.

Die Anzahl der ermittelten Datenpunkte an der Bestimmungsgrenze ist ein wichtiges Kriterium, da die Peaks bei zu wenigen Datenpunkten nicht wirklichkeitsgetreu abgebildet werden. Da das Messsignal vor der Integration geglättet wird, kann eine zu geringe Zahl an Datenpunkten zu einem Verlust an Signalintensität führen und besonders bei Peaks mit geringen Flächenwerten die Reproduzierbarkeit der Integration beeinträchtigen. Die Anzahl an Datenpunkten ergibt sich aus der Gesamtzahl der zu messenden Massenübergänge und der Dwell-time für die einzelnen Massen und sollte aus den angeführten Gründen die Anzahl von 10 Datenpunkten pro Peak nicht unterschreiten. Dieses Kriterium wird für die untersuchten Substanzen erreicht.

Die Verfahrensstandardabweichung S_{x_0} ist ein absolutes Präzisionsmaß für die Kalibrierfunktion und berechnet sich aus deren Reststandardabweichung S_y und Empfindlichkeit b . Die relative Verfahrensstandardabweichung V_{x_0} ergibt sich aus der Division von S_{x_0} durch die mittlere Konzentration des Kalibrierbereiches multipliziert mit 100 und wird in Prozent angegeben. Die relative Verfahrensstandardabweichung ermöglicht den Vergleich der Präzision unterschiedlicher Analysemethoden und ist zudem ein gutes Maß für die Robustheit einer Methode⁽⁵⁶⁾. Vergleichbare Verfahren, wie z.B. die EPA Methode 1694⁽⁵⁸⁾, geben für die Bestimmung von Carbamazepin in Wasser eine relative Verfahrensstandardabweichung von 8,3 % bzw. 21,9 % für die Bestimmung von Ranitidin. Beide Werte liegen deutlich oberhalb der für diese Methode erzielten Werte von 2,3 % für Carbamazepin und 3,0 % für Ranitidin.

	Carbamazepin	Tramadol	Ranitidin
Standards filtriert 10 ng/l Wiederfindung [%]	95	48	85
Standards filtriert 100 ng/l Wiederfindung [%]	99	69	90

Tabelle 9: Überprüfung der Wiederfindung von Carbamazepin, Tramadol und Ranitidin für den Filtrationsschritt

Für die Prüfung des Filtrationsschritts wurden Standards in zwei Konzentrationen filtriert. Es wurde der untere Anwendungsbereich mit Standards von 10 ng/l untersucht, sowie Standards, die mit 100 ng/l im Bereich von Proben aus Oberflächengewässern liegen. Filter aus regenerierter Cellulose mit einer Porengröße von 0,20 µm zeigten für alle Arzneimittelwirkstoffe die insgesamt besten Wiederfindungen. Die in Tabelle 9 aufgeführten Wiederfindungsraten wurden durch Messung von jeweils 10 filtrierten Standardlösungen gegen eine Kalibration aus unfiltrierten Standardlösungen ermittelt.

Bei einigen Substanzen zeigte sich bei der Überprüfung der Wiederfindung, dass es durch den Filtrationsschritt zu Minderbefunden kommt. Während für Carbamazepin und Ranitidin gute Wiederfindungen von über 90 bzw. über 80 % erzielt werden, treten bei Tramadol Verluste durch die Filtration auf. Diese Verluste müssen bei der Quantifizierung berücksichtigt werden. Indem Kalibrierstandards ebenso wie die Proben filtriert werden, soll vermieden werden, dass es bei der Quantifizierung zu Unterbefunden kommt. Durch Ermittlung der Wiederfindung in aufgestockten Proben in jeder Messreihe wurde kontrolliert, ob diese Vorgehensweise auch in Proben unterschiedlicher Matrices reproduzierbar gute Wiederfindungen zulässt. Die Konzentration der Aufstockung richtete sich dabei nach den in den Proben zu erwartenden Konzentrationen, so dass die Wiederfindung nicht nur unterschiedliche Matrices, sondern auch diverse Konzentrationen über den Anwendungsbereich abdeckt. Die Abbildungen 15 bis 17 zeigen die Kontrollkarten für Tramadol, Ranitidin und Carbamazepin, in der diese Wiederfindungen dokumentiert sind.

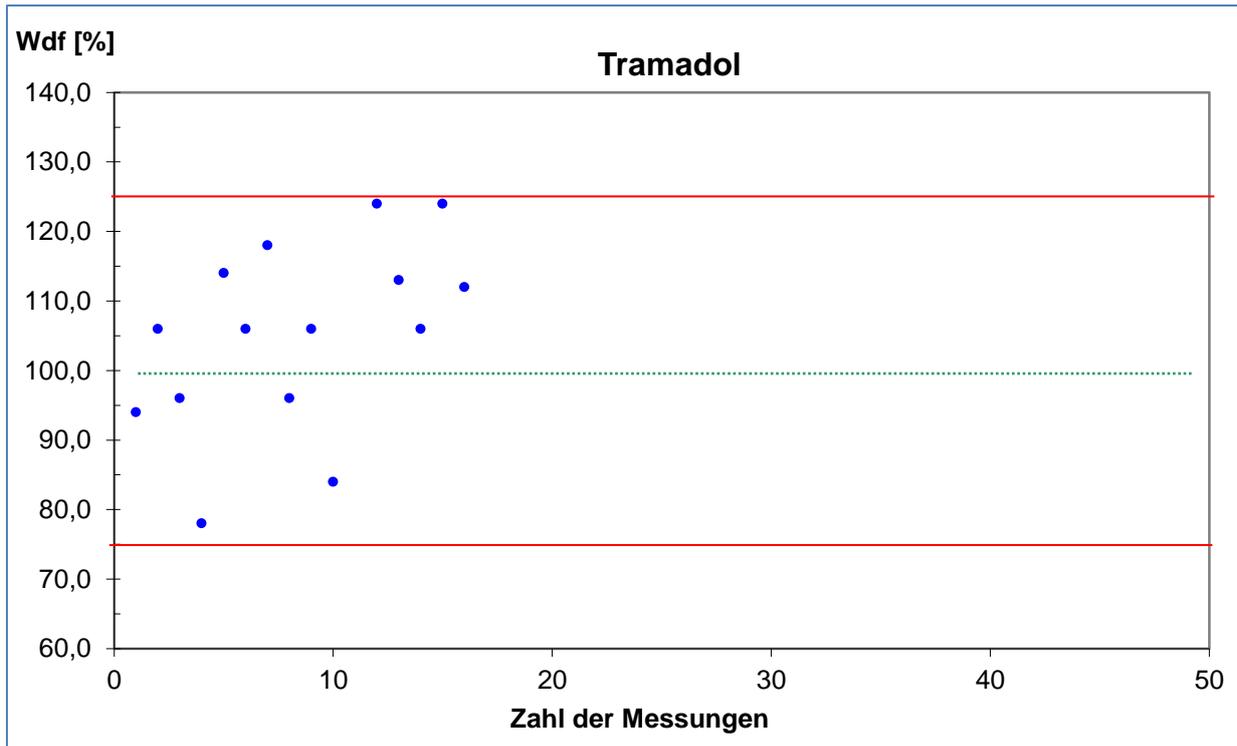


Abbildung 15: Wiederfindungs-Kontrollkarte für Tramadol

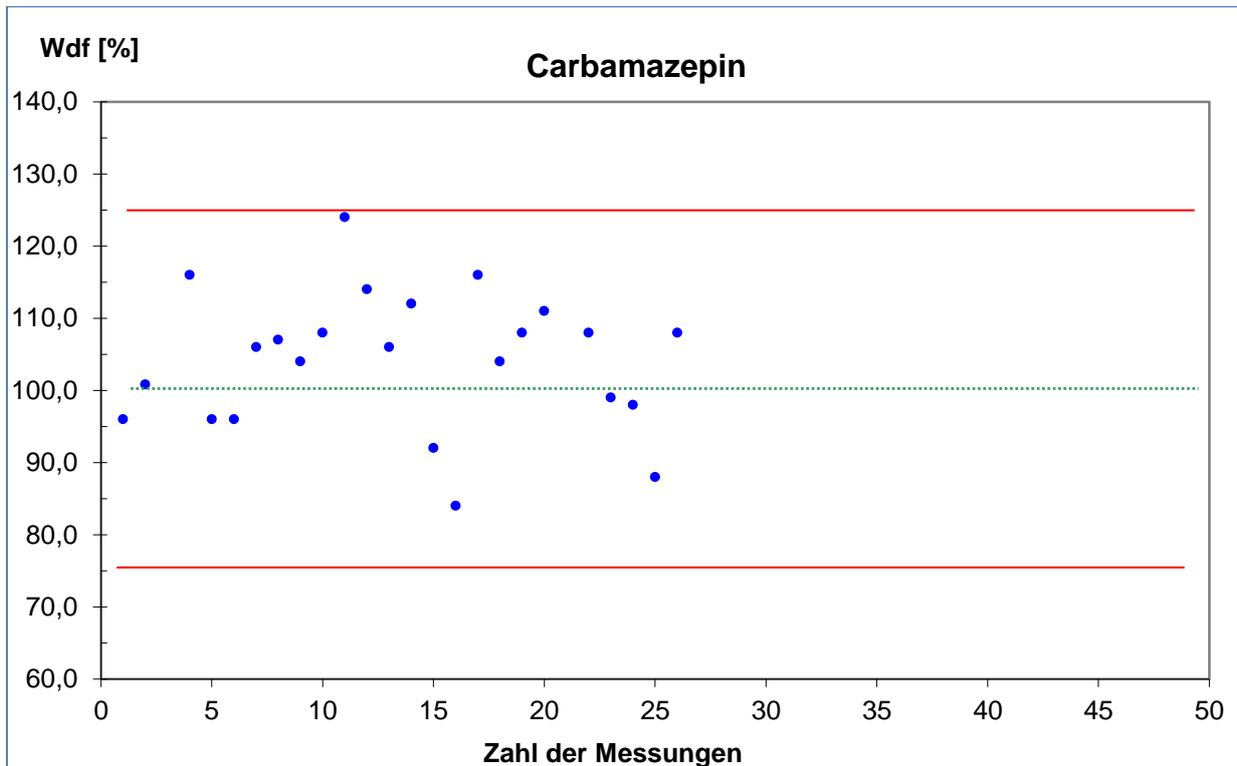


Abbildung 16: Wiederfindungs-Kontrollkarte für Carbamazepin

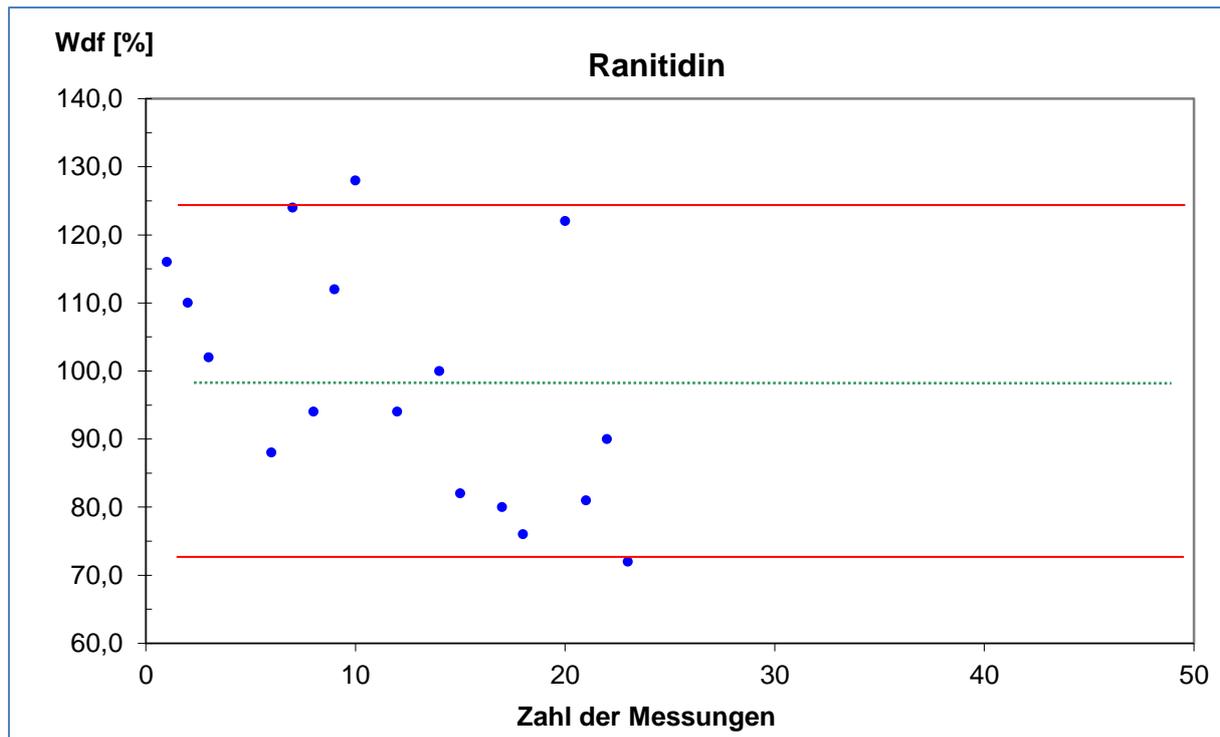


Abbildung 17: Wiederfindungs-Kontrollkarte für Ranitidin

Für Tramadol zeigt die in Abbildung 15 dargestellte Kontrollkarte eine mittlere Wiederfindung von 105,1 %, für Carbamazepin beträgt die mittlere Wiederfindung 101,8 % und für Ranitidin 102,3%. Damit ist belegt, dass die Verluste der Filtration durch das entwickelte Verfahren bei der Quantifizierung ausgeglichen werden können.

Die Kontrolle der Wiederfindung durch die Messung aufgestockter Proben ist zum einen eine fortwährende Kontrolle des Verfahrens, zum anderen gibt die Kontrollkarte Auskunft über die Präzision, Richtigkeit und Robustheit der Methode. Die aufgestockten Proben haben unterschiedliche Matrices. Neben Trinkwasser wurde Roh-, Oberflächen- und Abwasser für die Aufstockung verwendet. Die aufgestockten Konzentrationen variieren ebenfalls und richten sich nach den erwarteten Konzentrationen in der Probe, üblicherweise von 50 bis 200 ng/l. Die Ausschlussgrenzen für die Wiederfindung wurde auf $\pm 25\%$ gesetzt. Nach der EPA Methode 1694⁽⁵⁸⁾ dürfen die erlaubten Wiederfindungsraten für Carbamazepin und Ranitidin in aufgestockten Wasserproben zwischen 21 und 137 % für Carbamazepin bzw. 24 und 160 % für Ranitidin liegen. Diese Methode arbeitet mit LC-MS/MS, die Anreicherung erfolgt mit klassischer Festphasenextraktion bei einem Probenvolumen von bis zu 1000 ml. Das Kriterium von $\pm 25\%$ ist daher nicht zu großzügig gesetzt und liegt im Rahmen der

Möglichkeiten der entwickelten Analysenmethode. Schwankungen in der Wiederfindung können z.B. durch Matrixeinflüsse entstehen, aber auch durch methodische Störungen, wie z.B. Alterung der Säulen. Der Ansatz der Kalibrierlösungen erfolgt in Trinkwasser, so dass Matrixeinflüsse bei der Messung von Proben z.B. aus Oberflächenwasser zu Über- bzw. Unterbefunden führen können. Eine mögliche Korrekturmaßnahme wäre die Kalibration dieser Proben durch Standardaddition. Bei Wiederfindungen von weniger als 75 % oder mehr als 125 % muss das Analysenverfahren auf Fehler überprüft und die Messung wiederholt werden.

Mit der auf den vorangehenden Seiten beschriebenen Methode wird für alle Analyten eine Bestimmungsgrenze von 5 ng/l erreicht. Die Probenvorbereitung erfordert nur das Einwiegen der Probe, das Zusetzen von internen Standards und die Filtration von Proben und Kalibrierlösungen.

Nachdem eine schnelle und empfindliche Methode für die quantitative Analyse der Arzneimittelwirkstoffe entwickelt wurde, konnte im nächsten Schritt die Bildung möglicher Transformationsprodukte der Arzneimittelwirkstoffe durch Einwirkung von Ozon untersucht werden.

2.2 Ozonisierung der Arzneimittelwirkstoffe

2.2.1 Versuchsaufbau

Für die Ozonisierung der Arzneimittelwirkstoffe wurde ein Versuchsaufbau bestehend aus folgenden Bauteilen verwendet (siehe Abbildungen 18 und 19):

- Thermostatisierbarer Blasensäulenreaktor
- Laborozonisor Modell 301.19, Anlagen Nr. 1631,
Erwin Sander Elektroapparatebau
- Umwälzthermostat Modell WKL 26, Typ 03-8046, Thermo Scientific
- Peristaltikpumpe MV-CA/08 B, mv-Pumpsystem 8-Kanal, Ismatec SA
- Ozon-Analyzer Modell BMT 964, BMT Messtechnik Berlin



Abbildung 18: Aufbau der Versuchsapparatur für die Ozonisierung der Arzneimittelwirkstoffe

Der eingesetzte Blasensäulenreaktor ist ein modifizierter Dimrothkühler. Ein Umwälzthermostat hält die Probelösung im Blasensäulenreaktor auf einer konstanten Temperatur. Die Reaktionslösung wurde zur besseren Durchmischung über eine Bypassleitung im Kreis gepumpt. Dazu musste der Blasensäulenreaktor mit zwei zusätzlichen Anschlüssen versehen werden. Für eine schnelle und einfache Entnahme von Proben wurde zusätzlich ein Auslass mit einem Teflonhahn angebracht.



Abbildung 19: Blasensäulenreaktor mit Reaktionslösung

Die Konzentration von Carbamazepin im Rhein lag in den Jahren 2000/2001 bei durchschnittlich 150 ng/l (km 865, links)⁽¹⁾. Auch die anderen untersuchten Arzneimittel wie Tramadol und Ranitidin bewegten sich in einem vergleichbaren Konzentrationsbereich. Diese Konzentrationen sind für die Voruntersuchungen zur Bildung von Transformationsprodukten zu gering. Um eine Substanz z.B. durch Direkt-Injektion mit LC-MS im Fullscan-Modus als Peak erfassen zu können, benötigt man eine Konzentration von mindestens 100 ng/ml. Da nicht bekannt ist, welche Transformationsprodukte gebildet und in welchen Konzentrationen sie vorliegen werden, sollte die Konzentration der Ausgangssubstanzen hinreichend hoch liegen, um auch Transformationsprodukte in geringen Konzentration erfassen zu können. Die Ozonisierungsversuche wurden daher unter folgenden Bedingungen durchgeführt:

- Konzentration der Arzneimittelwirkstoffe	20 mg/l
- Volumen der Reaktionslösung	150 ml
- Gasdurchfluss synthetische Luft	200 l/h
- Ozon-Konzentration in der Gasphase	5 g/Nm ³
- Temperatur	20 °C
- pH-Wert bei Versuchsbeginn	7 – 8

Die Reaktionslösungen wurden in LC-MS-grade Wasser angesetzt und zunächst für 5 min mit Helium gestrippt. Anschließend wurde ozonhaltiges Gas durch die Probe geleitet und in definierten Zeitabständen zwischen 1 und 90 Minuten Teilproben entnommen. Vor der Entnahme der Probe wurde die Reaktion durch erneutes 5-minütiges Spülen der Probe mit Helium abgebrochen. Die Proben wurden, wenn sie nicht sofort untersucht werden konnten, bei 4 °C im Kühlschrank gelagert.

2.3 Ozonisierung von Carbamazepin

Durch McDowell et al.⁽⁵⁹⁾ wurden Reaktionen von Carbamazepin mit Ozon untersucht. Dabei wurde auch das Auftreten von Reaktionsprodukten während der Trinkwasseraufbereitung verfolgt. Für die Ozonolyse wurde von McDowell et al. ein von Ternes et al.⁽⁶⁰⁾ beschriebener Versuchsaufbau verwendet. Die Probelösungen wurden mit Ozongas durchströmt, anschließend ließ man die Probelösungen für einen definierten Zeitraum unter Rühren mit Ozon reagieren. Nach Ablauf der

Reaktionszeit wurde überschüssiges Ozon durch Zugabe einer Natriumthiosulfat-Lösung abgefangen.

Der für diese Arbeit verwendete Versuchsaufbau unterscheidet sich von dem bei Ternes et al. ⁽⁶⁰⁾ beschriebenen. Die Probelösung wird kontinuierlich mit Ozongas durchströmt, welches durch eine feinporige Fritte (Porengröße 4) über den Boden des Säulenreaktors in die Probelösung geleitet wird. Kurz unterhalb der Fritte befindet sich ein Drei-Wege-Ventil. Die angrenzenden Schläuche werden kontinuierlich von Ozongas bzw. Helium durchspült. Dies ermöglicht eine schnelle Einleitung beider Gase ohne lange Totzeiten. Die Einleitung des Ozongases durch eine Fritte sorgt zum einen für eine gleichmäßige Durchmischung mit der Probe, zum anderen steht bei kleineren Bläschen eine größere Kontaktfläche für die Wechselwirkung der Reaktionslösung mit dem Gas zur Verfügung. Die Probelösung wird des Weiteren über eine Kühlschleife auf eine definierte Temperatur von 20 °C temperiert. Die Vorteile dieses Versuchsaufbaus sind ein kontinuierlicher, gleichmäßiger Kontakt der Probelösung mit dem Ozongas unter definierten Umgebungsbedingungen.

Mit der Ozonisierung von Carbamazepin sollte unter anderem geprüft werden, ob sich unter den für diese Arbeit verwendeten Versuchsbedingungen und mit dem eingesetzten Rohwasser Ergebnisse erzielen lassen, die mit den in der Literatur ⁽⁵⁹⁾ beschriebenen Resultaten vergleichbar sind.

Eine Lösung von 20 mg/l Carbamazepin in LC-MS-grade Wasser wurde - wie unter 2.2 beschrieben - für 2 Minuten mit Ozon-Gas ($c = 5 \text{ g/Nm}^3$) durchspült. Um Carbamazepin im Wasser zu lösen, mussten 2 Vol-% Methanol zugesetzt werden. Die erhaltene Probelösung wurde dann sofort mit Direkt-Injektion am LC-MS/MS untersucht.

2.3.1 Ergebnisse der LC-MS/MS-Direktinjektion

Die ozonisierte Probelösung wurde durch Direkt-Injektion unter Verwendung einer Spritzen-Infusion über ein T-Stück massenspektrometrisch im Full-Scan untersucht. Auf diese Weise konnte die Probe unter Umgehung der Chromatographie direkt in das Massenspektrometer überführt werden. Um die Ionisierung an die Bedingungen der späteren chromatographischen Methode anzupassen, erfolgte die Infusion der Probelösung gemeinsam mit einem Eluenten-Gemisch.

Die untersuchten Arzneimittelwirkstoffe wurden im ESI+ Modus erfasst. Transformationsprodukte mit Ozon können durch Anlagerung von Sauerstoff polarer als die Ausgangssubstanzen werden. Denkbar ist z.B. die Bildung von Carbonsäure-Funktionen, die sich unter Umständen besser im ESI- Modus detektieren lassen. Aus diesem Grund wurde für die Identifikation der Produkte sowohl ESI+ als auch ESI- verwendet. Die Ionisationstechnik der APCI wurde aufgrund der thermischen Instabilität einiger Ausgangssubstanzen nicht in Betracht gezogen. Abbildung 20 zeigt den Versuchsaufbau für die Direkt-Injektion. Die ozonisierte Probelösung befindet sich in der Spritze und wird zusammen mit dem Eluenten in das Massenspektrometer überführt.

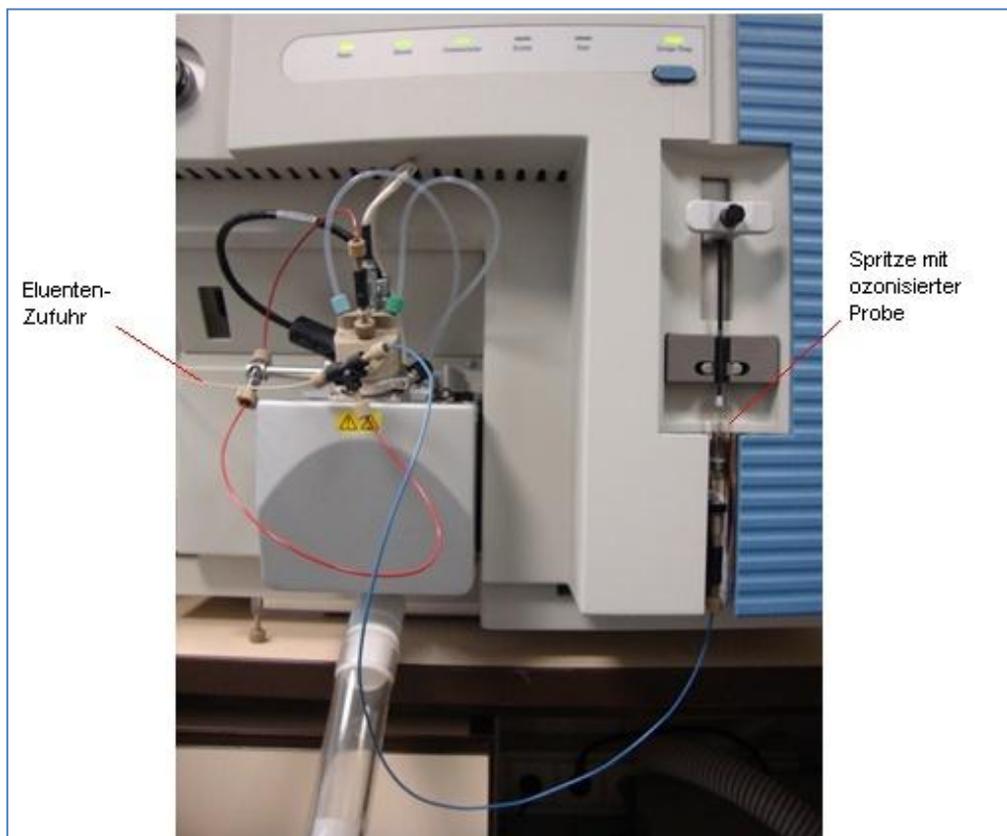


Abbildung 20: Versuchsaufbau für die Direkt-Injektion

In Tabelle 10 sind die massenspektrometrischen Bedingungen für die Identifikation der Transformationsprodukte im Full-Scan aufgelistet.

Ionisations-Modi	ESI positiv / negativ
Spray-Spannung	3500 V
Sheath Gas	40 AU
Auxillary Gas	2 AU
Spritzen-Fluss	ESI positiv 10 µl/min ESI negativ 20 µl/min
Eluent A ESI +	Wasser mit 0,1 % Ameisensäure und 1 % Methanol
Eluent A ESI -	Wasser mit 10 mmol Ammoniumacetat, pH 4
Eluent B	Methanol
Verhältnis Eluent A / Eluent B	50 / 50
Eluenten-Fluss	150 µl/min

Tabelle 10: Bedingungen bei der LC-MS/MS Direkt-Injektion

Während der Direktinjektion wurde im Fullscan nach möglichen Transformationsprodukten gesucht. Von allen detektierten Peaks wurden MS/MS-Spektren angefertigt.

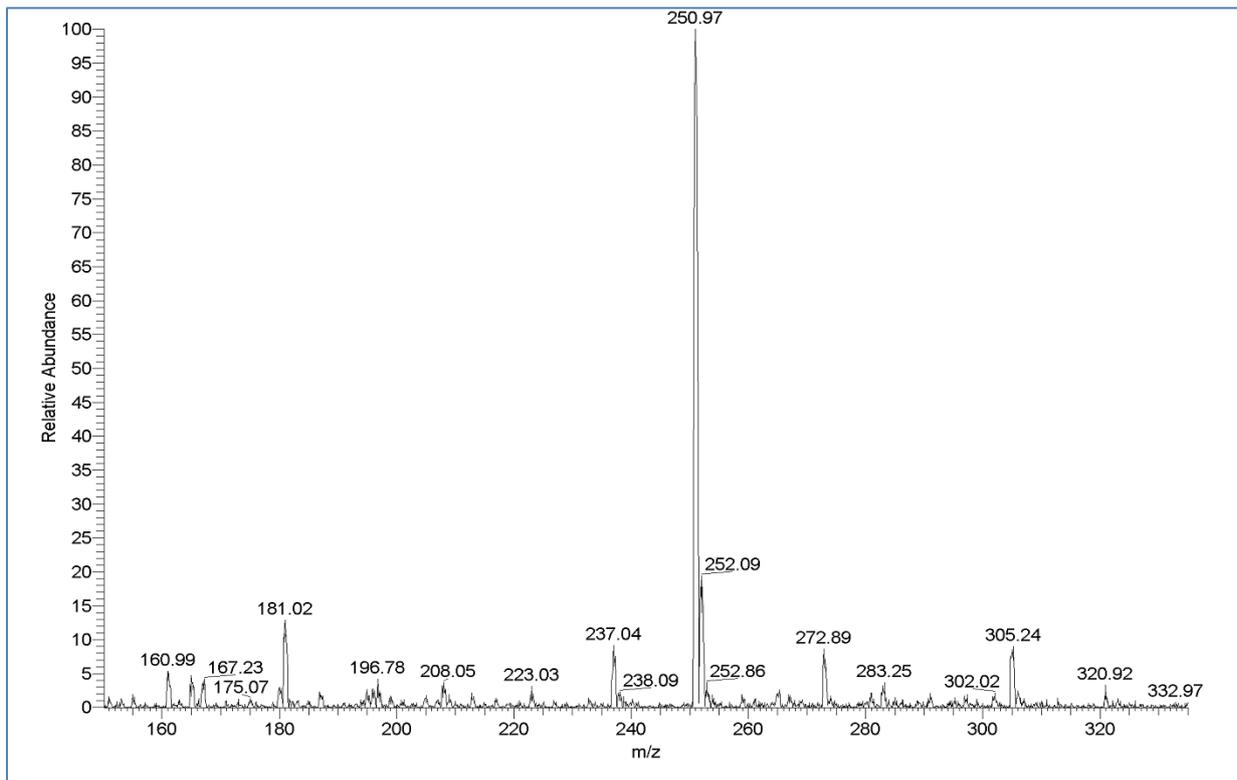


Abbildung 21: MS-Fullscan einer ozonisierten wässrigen Carbamazepinlösung im ESI+ Modus nach Direkt-Injektion

Das in Abbildung 21 dargestellte Spektrum eines ESI+ Fullscans bei Direktinjektion im Bereich zwischen $m/z = 150$ und $m/z = 350$ zeigt den $[M+H]^+$ -Peak von Carbamazepin bei $m/z = 237.01$ sowie den intensivsten Peak bei $m/z = 250.97$. Handelt es sich bei dem Peak $m/z = 250.97$ um ein MolekÜlion $[M+H]^+$, wie es im positiven Elektrospray-Modus entstehen kann, so entspricht das einem Molekül mit der Masse 250 Da.

Die angegebenen Werte für Masse/Ladungsverhältnisse beziehen sich aus Gründen der besseren Zuordnung auf die in den Chromatogrammen durch die Analysensoftware berechneten m/z -Werte mit 2 Nachkommastellen. Die Auflösung des Gerätes von 0.7 amu lässt diese Genauigkeit der Massen jedoch nicht zu. Dies kann zu leichten Schwankungen der angegebenen Massen zwischen zwei massenspektrometrischen Aufnahmen führen.

Ein Transformationsprodukt von Carbamazepin mit der molaren Masse von 250 Da wurde in der Literatur⁽⁵⁹⁾ als 1-(2-Benzaldehyd)-4-hydro-(1*H*, 3*H*)-quinazolin-2-on, abgekürzt BQM, beschrieben.

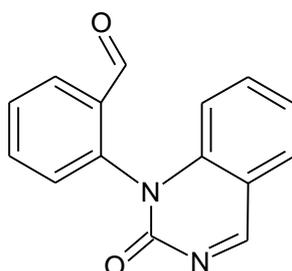


Abbildung 22: Transformationsprodukt BQM

Mit der Aufnahme eines MS/MS-Spektrums konnte das Transformationsprodukt BQM als der detektierte Peak $m/z = 250.97$ identifiziert werden.

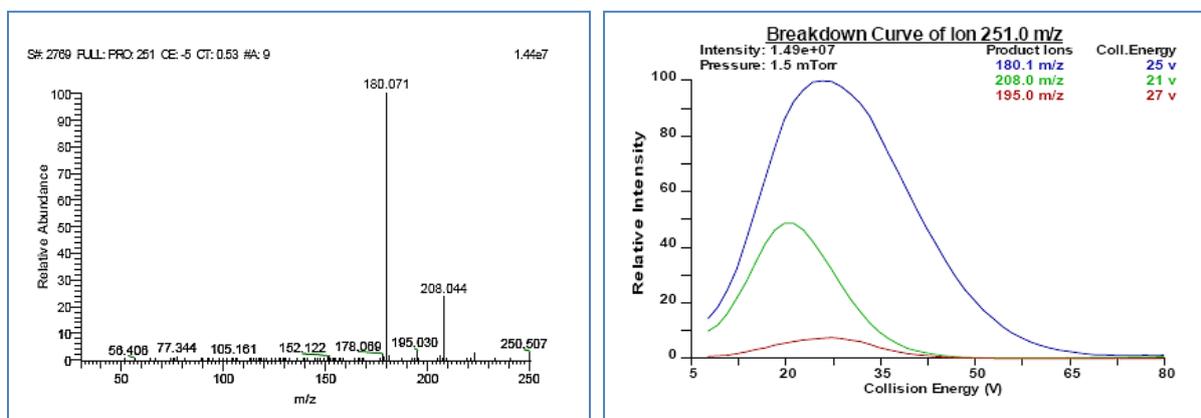


Abbildung 23: MS/MS-Spektrum der Masse $m/z = 251$ (BQM) und Intensitätsverhältnis der Fragmente

Die ermittelten Massenübergänge (siehe Abbildung 23) von $m/z = 251.0 \rightarrow m/z = 180.1$ und $m/z = 251.0 \rightarrow m/z = 208.0$ entsprechen den in der Literatur⁽⁵⁹⁾ angegebenen Fragmentierungen von BQM.

Ein vorgeschlagener Bildungsmechanismus⁽⁵⁹⁾ geht von einer Anlagerung des O_3 -Moleküls an die olefinische Doppelbindung des Carbamazepins aus. Durch anschließende Criegee-Spaltung des entstandenen Primärozonids (siehe Kapitel 1.3.4.2., Abbildung 7) werden in mehreren Schritten zwei Aldehydfunktionen gebildet. Durch Reaktion einer der Aldehydgruppen und der primären Aminofunktion bildet sich unter Abspaltung von Wasser das Transformationsprodukt BQM (siehe Abbildung 24).

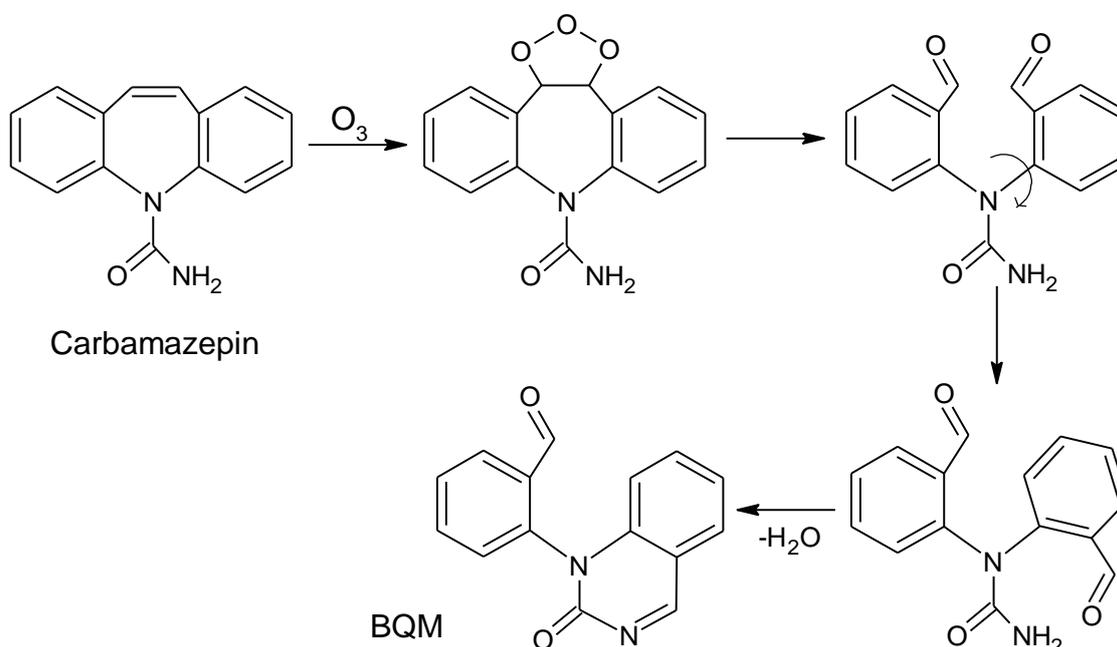


Abbildung 24: Vorschlag eines Reaktionsweges für die Bildung des Transformationsprodukts BQM⁽⁵⁹⁾

Die weiteren von McDowell et al.⁽⁵⁹⁾ beschriebenen Produkte 1-(2-Benzaldehyd)-4-hydro-(1*H*, 3*H*)-quinazolin-2,4-dion, abgekürzt BQD, mit der Masse 266 Da und 1-(2-Benzoesäure)-4-hydro-(1*H*, 3*H*)-quinazolin-2,4-dion mit der Masse 282 Da, abgekürzt BaQD, waren in der ozonisierten Lösung zwar nachweisbar, wurden aber im Verhältnis zu BQM nur in sehr geringen Konzentrationen gebildet. In Abbildung 21 ist BaQD als kleiner Peak bei $m/z = 283.25$ sichtbar, während BQD mit $m/z = 267$ im Rauschen verschwindet.

Betrachtet man im Gegensatz zum Fullscan von $m/z = 150$ bis $m/z = 350$ einen Massenbereich von ± 10 amu um die gesuchte Masse, so erlaubt die sich ergebende

größere Empfindlichkeit, trotz der im Verhältnis zu BQM geringen Intensität, die Aufnahme von MS/MS-Spektren für die Identifizierung sowohl für BQD als auch für BaQD (siehe Abbildungen 25 bis 28).

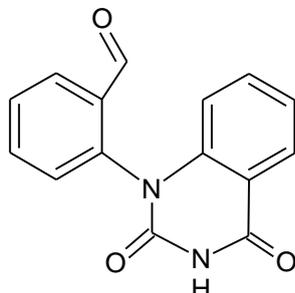


Abbildung 25: Transformationsprodukt BQD

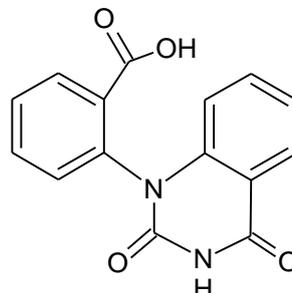


Abbildung 26: Transformationsprodukt BaQD

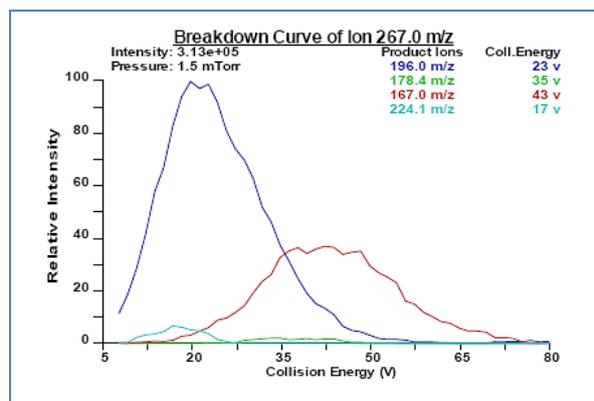
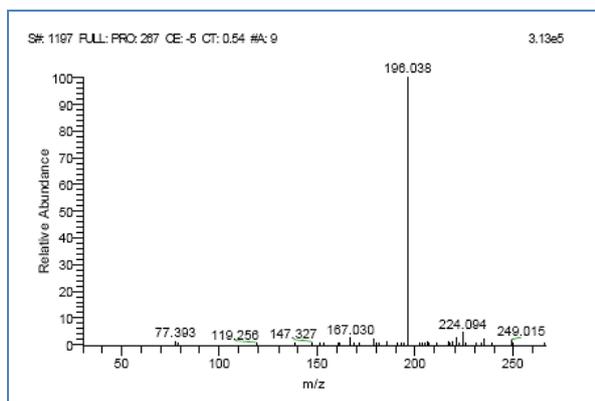


Abbildung 27: MS/MS-Spektrum der Masse m/z = 267 (BQD) und Intensitätsverhältnis der Fragmente

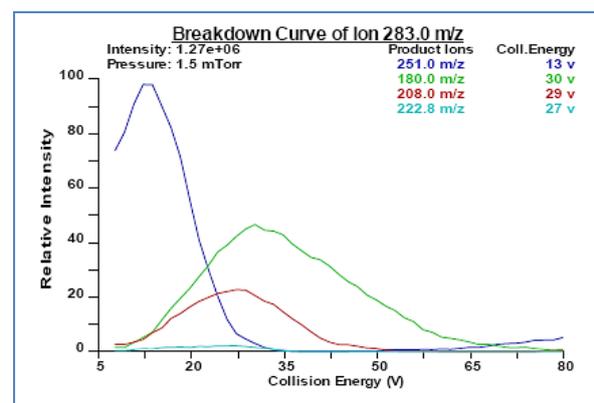
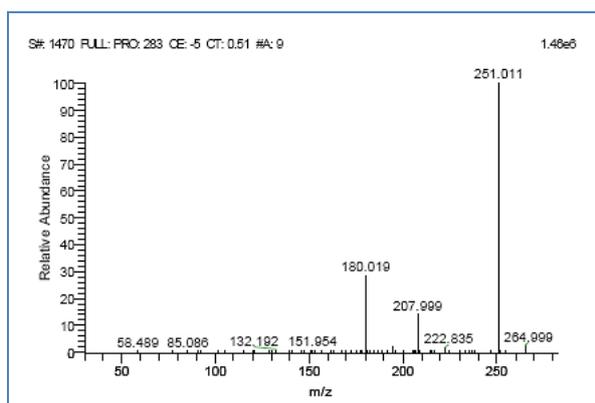


Abbildung 28: MS/MS-Spektrum Masse m/z = 283 (BaQD) und Intensitätsverhältnis der Fragmente

Die Aufnahme der MS/MS-Spektren ist wichtig für die Identifizierung der Ozonisierungsprodukte und die Messung im MS/MS-Modus erlaubt eine deutlich höhere

Selektivität. Dies ist besonders im Hinblick auf die spätere Messung von Proben aus der Trinkwasseraufbereitung von Bedeutung.

Tabelle 11 listet die detektierten Transformationsprodukte und deren Massenübergänge für die MS/MS-Detektion auf.

Produkt	Molekül-Ion [M+H] ⁺ [m/z]	Produkt-Ion 1 [m/z]	Produkt Ion 2 [m/z]
BQM	251.0	180.1	208.0
BQD	267.0	196.0	167.0
BaQD	283.0	251.0	180.0

Tabelle 11: Übersicht der Massenübergänge der Transformationsprodukte von Carbamazepin bei MS/MS-Untersuchungen

2.3.2 Chromatographische Trennung der Transformationsprodukte

Es wurde nun geprüft, ob sich die ermittelten Transformationsprodukte BQM, BDQ und BaDQ mit der für die Arzneimittelwirkstoffe entwickelten Analyse-methode (siehe Kapitel 2.1) chromatographisch trennen und massenspektrometrisch erfassen lassen. Abbildung 29 zeigt ein Chromatogramm der Massenübergänge (siehe Tabelle 7 und Tabelle 11) von Carbamazepin und den Transformationsprodukten BQM, BQD sowie BaQD. Untersucht wurde eine ozonisierte wässrige Lösung von Carbamazepin nach einer Reaktionszeit von fünf Minuten. Für die chromatographische Trennung musste die für die Direktinjektion verwendete Lösung (siehe Punkt 2.3.1) jedoch 1:100 mit LC-MS-grade Wasser verdünnt werden. Alle der ermittelten Transformationsprodukte lassen sich mit der für die Arzneimittel entwickelten Methode erfassen. Die Transformationsprodukte eluieren aufgrund ihrer größeren Polarität etwas vor Carbamazepin, ihre Flächen spiegeln das im Fullscan (Abbildung 21) aufgezeichnete Intensitätsverhältnis wieder.

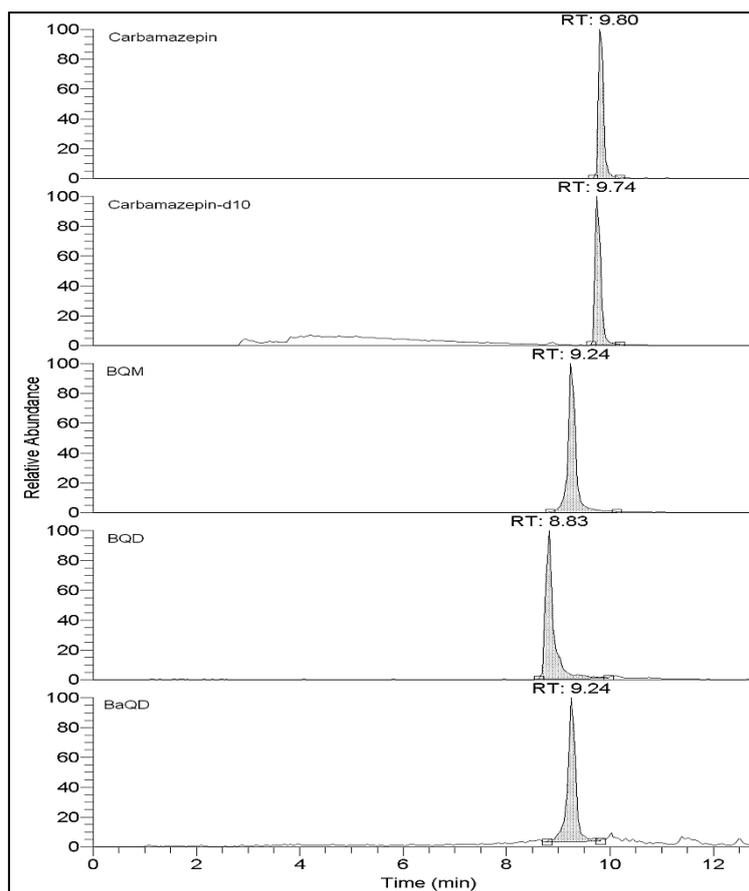


Abbildung 29: MS/MS-Messung von Carbamazepin und dessen Transformationsprodukten in Reinstwasser nach Ozonisierung. Messung im ESI+ Modus

Die Untersuchungen zeigen, dass nach einer Reaktionszeit von fünf Minuten unter den in Kapitel 2.2 angegebenen Bedingungen noch Carbamazepin in der Lösung verblieben ist. Das Transformationsprodukt BQM ($m/z = 251$) ist der Peak mit der größten Intensität, gefolgt von BaQD ($m/z = 283$) und BQD ($m/z = 266$).

Bis zu diesem Punkt wurden die Ozonisierungsversuche mit Lösungen der Arzneimittelwirkstoffe in LC-MS-grade Wasser durchgeführt. Um den Einfluss von Matrix auf die Ergebnisse der Ozonisierung zu prüfen, wurde Rheinuferfiltrat mit einer Carbamazepin-Lösung aufgestockt. Die Konzentration lag mit $100 \mu\text{g/l}$ wesentlich niedriger als bei den vorangegangenen Versuchen. Die übrigen Versuchsbedingungen blieben gleich. Abbildung 30 zeigt ein Chromatogramm der Massenübergänge von Carbamazepin und den Transformationsprodukten BQM, BQD sowie BaQD (siehe Tabelle 7 und Tabelle 11) in ozonisiertem Rohwasser nach einer Reaktionszeit von fünf Minuten.

Die Bildung der Transformationsprodukte erfolgte demnach analog zu den Versuchen in LC-MS-grade Wasser. Alle drei Produkte waren in ozonisiertem Rohwasser ebenfalls nachweisbar. Eine Unterdrückung oder Verstärkung einzelner Transformationsprodukte durch Bestandteile der Matrix wurde nicht beobachtet.

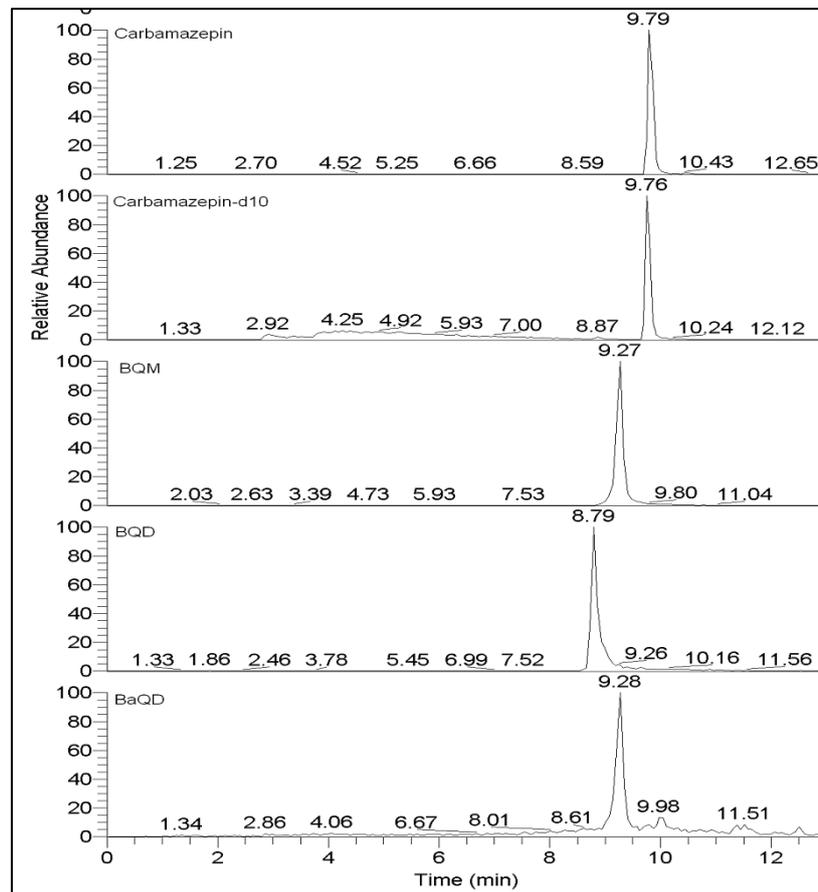


Abbildung 30: MS/MS-Messung von Carbamazepin und dessen Transformationsprodukten in Rohwasser nach Ozonisierung, aufgestockt mit 100 µg/l Carbamazepin, Messung im ESI+ Modus

Die Reaktionszeit von Carbamazepin mit Ozon wurde nun auf 60 Minuten erhöht, um zu prüfen, ob sich das Verhältnis der einzelnen Transformationsprodukte untereinander verschiebt. Innerhalb der ersten 5 Minuten nimmt die Konzentration von Carbamazepin stark ab, während die des Transformationsproduktes BQM stark ansteigt (siehe Abbildung 31).

Die von McDowell beschriebene ⁽⁵⁹⁾ Abnahme des Produktes BQM bei gleichzeitiger Zunahme von BQD bzw. BaQD konnte nicht beobachtet werden (siehe Abbildung 31). Im Beobachtungszeitraum blieben die Konzentrationen der einzelnen Produkte annähernd gleich.

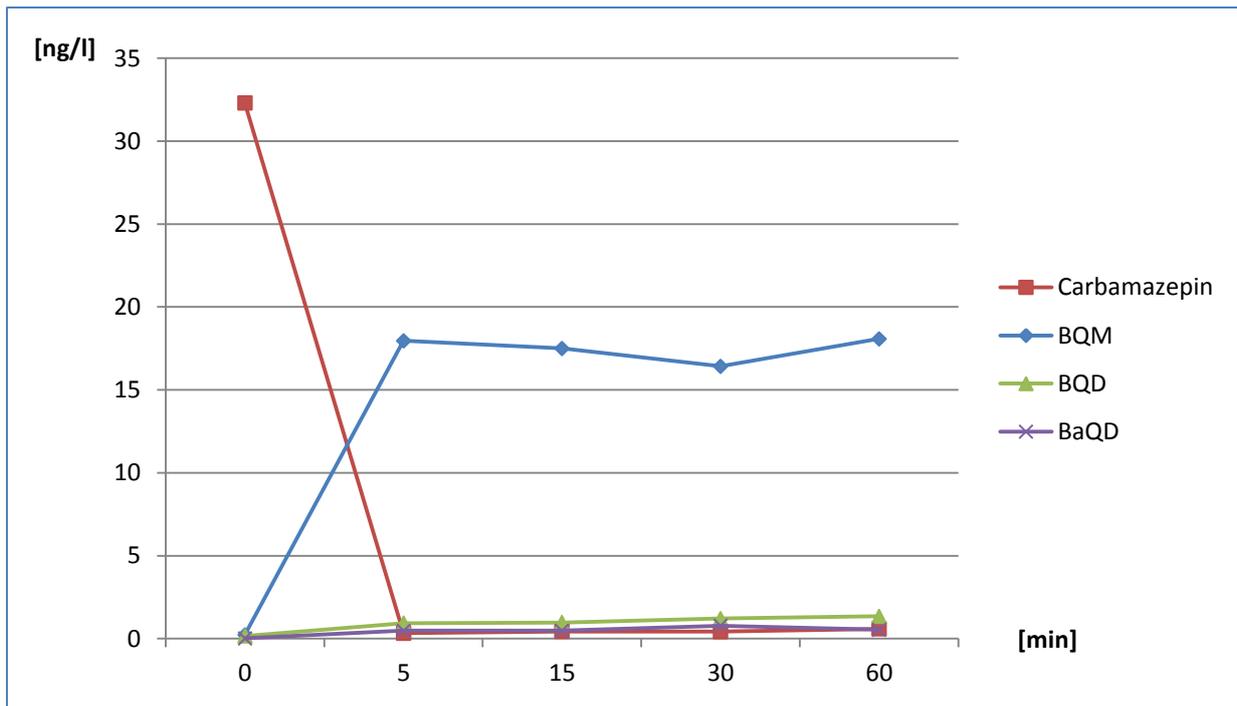


Abbildung 31: Abbau von Carbamazepin durch Ozon und die Bildung der Transformationsprodukte BQM, BQD und BaQD

Eine Analyse der Bildung von Transformationsprodukten aus Carbamazepin während der Trinkwasseraufbereitung soll zeigen, ob die Ergebnisse der Laborversuche auf den technischen Prozess der Aufbereitung übertragbar sind (siehe Kapitel 2.6).

2.3.3 Anorganische Abbauprodukte von Carbamazepin

Das Carbamazepin-Molekül enthält zwei Stickstoffatome, aus denen durch die Reaktion mit Ozon Nitrat gebildet werden kann. Eine Lösung von Carbamazepin ($c = 27,5 \text{ mg/l}$) wurde, wie in Kapitel 2.3.1 beschrieben, über einen Zeitraum von 60 Minuten mit Ozon behandelt. Zu verschiedenen Zeitpunkten der Reaktion (5, 15, 30 und 60 Minuten) wurden Proben entnommen und mit der Ionenchromatographie auf Nitrat untersucht. Für die Bedingungen der ionenchromatographischen Messung siehe Anhang Seite 100.

In Abbildung 32 ist die Zunahme von Nitrat in Relation zur Abnahme der Carbamazepin-Konzentration dargestellt. Aus den eingesetzten $27,5 \text{ mg/l}$ Carbamazepin können maximal $14,5 \text{ mg/l}$ Nitrat gebildet werden.

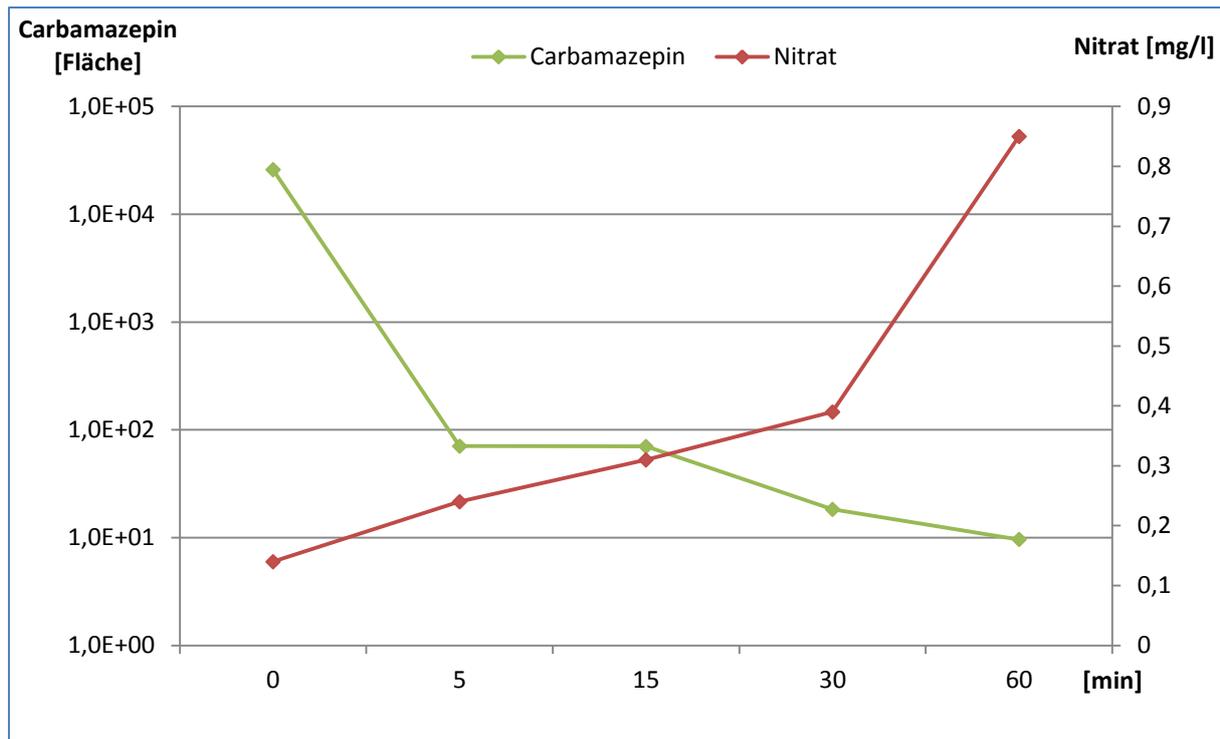


Abbildung 32: Zeitlicher Verlauf der Bildung von Nitrat aus Carbamazepin

Nach einer Versuchsdauer von 60 min lag die gemessene Nitratkonzentration jedoch unter 1 mg/l. Die Bildung von Nitrat konkurriert mit der in Kapitel 2.3.1 beschriebenen Reaktion von Carbamazepin zu dem Transformationsprodukt BQM. Dieses Produkt wurde bei den Ozonisierungsversuchen schon nach wenigen Minuten mit großer Intensität nachgewiesen, die sich über den Versuchszeitraum von 60 Minuten nicht änderte (siehe Abbildung 31). Es bildet sich mit BQM ein relativ stabiles Transformationsprodukt, in dem die Stickstoffatome in einer heterocyclischen Struktur eingebunden und damit für die Reaktion nicht mehr so leicht zugänglich sind, was die geringe Bildung von Nitrat erklären kann.

Der nach 30 Minuten auftretende Anstieg der Nitratkonzentration ist nicht auf die vermehrte Bildung von Nitrat aus Carbamazepin zurückzuführen. Blindversuche mit LC-MS-grade Wasser haben ergeben, dass sich bei der Verwendung von synthetischer Luft für die Erzeugung von Ozongas im Wasser Nitrat bildet. Diese Reaktion erreicht in reinem Wasser nach 60 Minuten eine Konzentration von 2,4 mg/l und liegt damit deutlich höher als die mit Carbamazepin zu diesem Zeitpunkt bestimmte Konzentration. In Kapitel 2.4.1 wird auf diesen Punkt in Zusammenhang mit den

organischen und anorganischen Transformationsprodukten von Ranitidin noch weiter eingegangen.

2.4 Ozonisierung von Ranitidin

Ranitidin (siehe auch Kapitel 1.4.2) wurde unter den gleichen Bedingungen wie Carbamazepin einer Ozonisierung unterworfen (siehe Kapitel 2.2).

Auch hier wurde eine Direkt-Injektion mit einer massenspektrometrischen Untersuchung im Fullscan sowohl im negativen als auch im positiven Elektrospray-Modus durchgeführt. Im Spektrum der wässrigen Ranitidin-Lösung (Abbildung 33) zeigt sich nach 10-minütiger Ozongabe nur noch mit geringer Intensität bei $m/z = 315.08$ der $[M+H]^+$ -Peak von Ranitidin. Die geringe Intensität lässt darauf schließen, dass der größte Teil des Ranitidins durch die Reaktion mit Ozon verbraucht wurde.

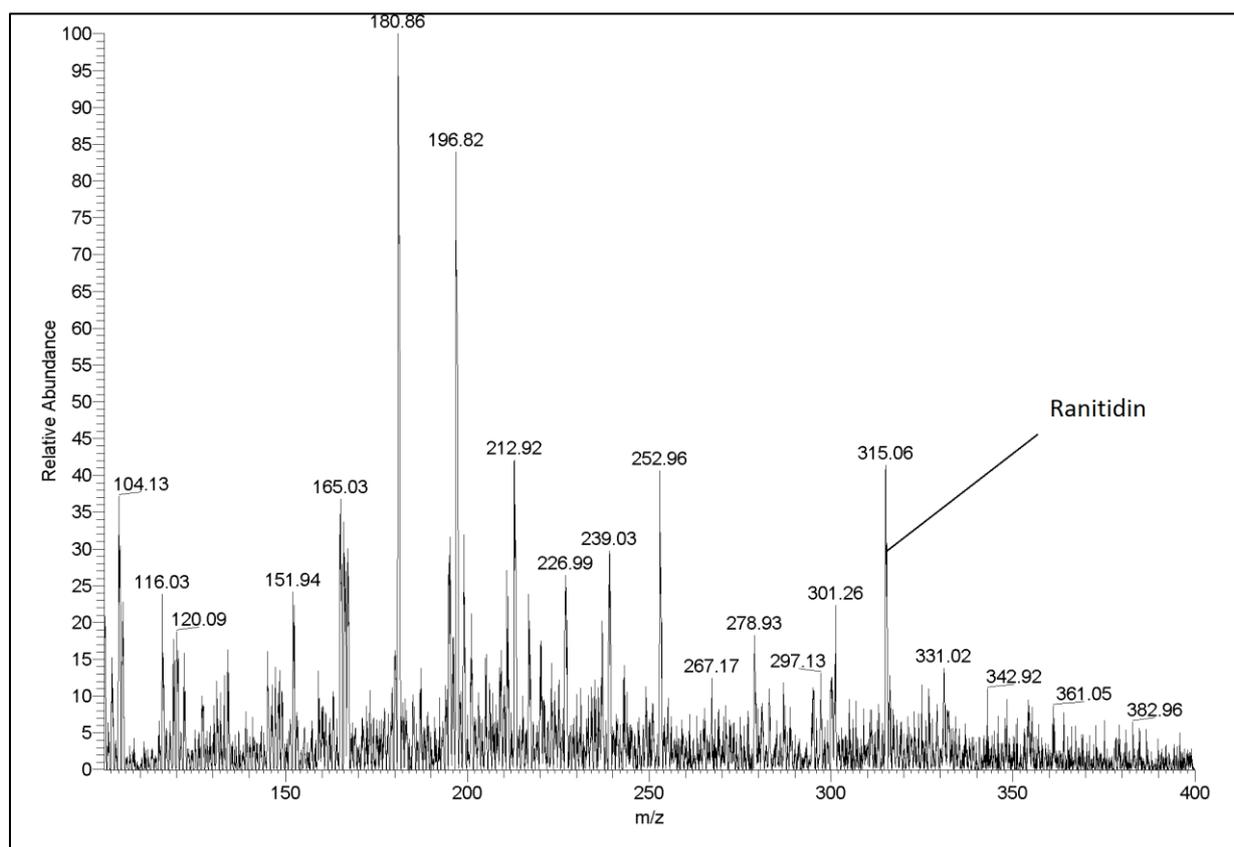


Abbildung 33: MS-Fullscan einer ozonisierten wässrigen Ranitidinlösung im ESI+ Modus nach Direkt-Injektion

Die anderen neben Ranitidin sichtbaren Peaks, z.B. bei $m/z = 180.86$, stammen aus dem Messsystem bzw. liegen auch in Blindwerten vor, die zum Abgleich mit den Proben messtätlich aufgenommen wurden.

Durch Vergleich mit dem von Carbamazepin in Abbildung 21 dargestellten Fullscan wird dies deutlich. Auch hier ist der aus dem System stammende Peak bei $m/z = 181.02$ vorhanden. Im Vergleich mit der Intensität des gebildeten Produktes BQM ist er jedoch sehr klein. Peaks aus dem Fullscan der ozonisierten Ranitidin-Lösung, die nicht dem Blindwert bzw. dem Messsystem zugeordnet werden konnten, wurden einer Untersuchung mit MS/MS unterworfen. Keiner dieser Peaks lieferte jedoch verwertbare MS/MS-Spektren, die sich auf mögliche Transformationsprodukte zurückführen ließen.

Dass Ranitidin trotz des zunächst fehlenden Nachweises von Transformationsprodukten mit Ozon reagiert, zeigt sich, wenn man die Abnahme der Ranitidinkonzentration über einen Zeitraum von 10 Minuten betrachtet (Abbildung 34). Gegen Ende der Versuchsdauer beträgt die verbliebene Menge an Ranitidin noch ca. 1/100 der Ausgangskonzentration.

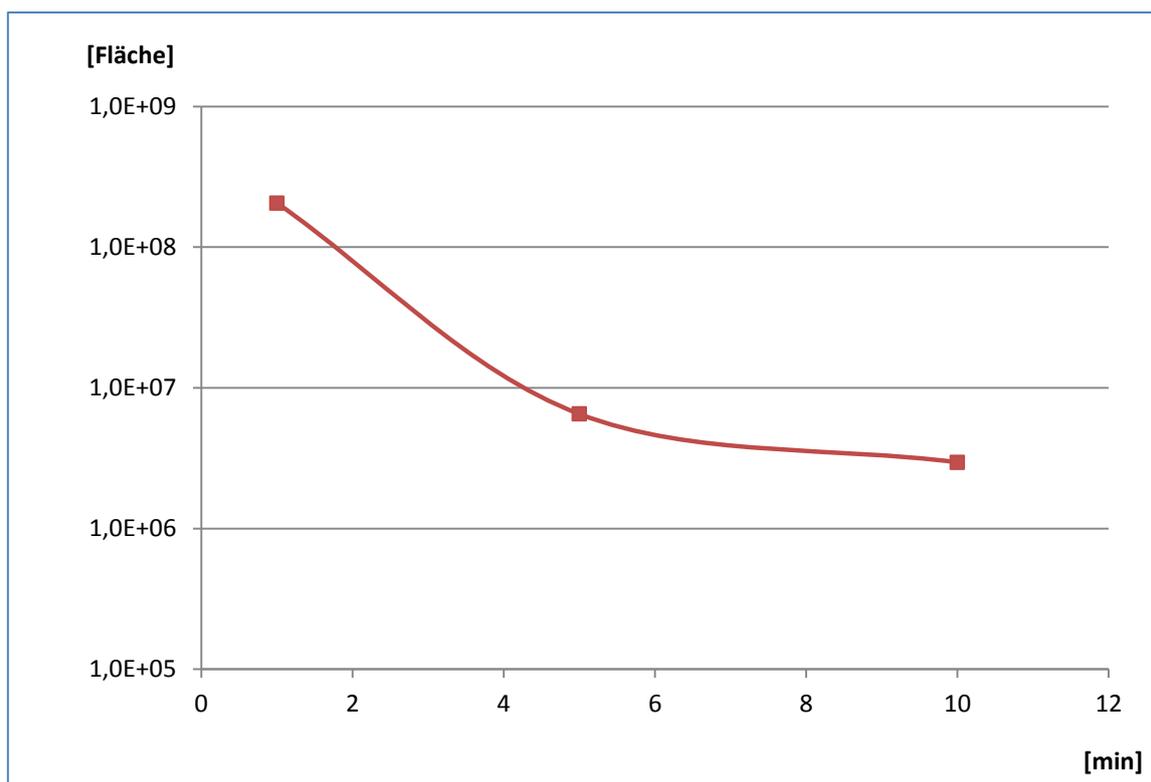


Abbildung 34: Abnahme der Ranitidinkonzentration während der Ozonisierung

Da mit LC-MS keine Transformationsprodukte erfasst werden konnten, wurde die Bildung von kleineren organischen und anorganischen Molekülen untersucht.

2.4.1 Anorganische Transformationsprodukte von Ranitidin

Ranitidin enthält pro Molekül vier Stickstoffatome sowie ein Schwefelatom, aus denen durch Ozonisierung Nitrat oder Sulfat gebildet werden kann. Um dies zu überprüfen, wurde eine Lösung von 10 mg/l Ranitidin über einen Zeitraum von 60 Minuten bei 20 °C mit Ozongas ($C_{\text{Ozon}} = 5 \text{ g/Nm}^3$) durchströmt. Vor Beginn des Versuches und nach 5, 15, 30 und 60 min wurde jeweils eine Probe entnommen und mittels Ionenchromatographie untersucht (siehe Abbildung 35).

Wenn der gesamte Stickstoff des eingesetzten Ranitidins zu Nitrat oxidiert würde, so ergäbe sich eine Konzentration von 7,90 mg/l. Nach einer Versuchsdauer von 60 Minuten lag die ermittelte Konzentration bei 2,32 mg/l.

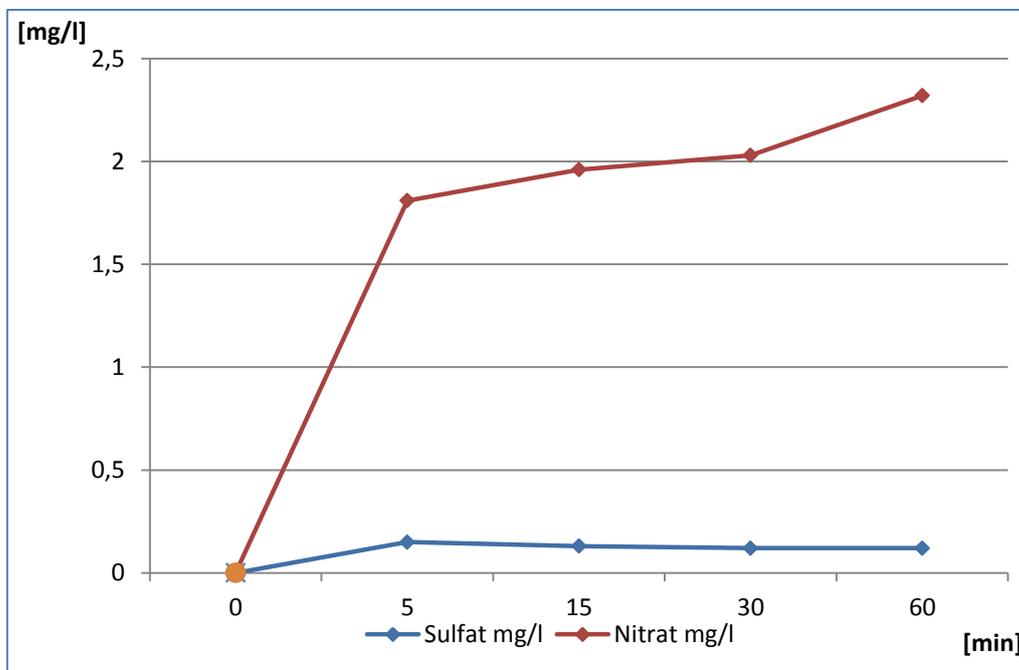


Abbildung 35: Bildung von Nitrat und Sulfat während der Ozonolyse von Ranitidin

Für Sulfat ist bei vollständiger Oxidation eine Konzentration von 3,06 mg/l möglich. Sulfat erreicht nach 5-minütiger Reaktionszeit eine Konzentration von 0,15 mg/l, die für den Rest der Versuchsdauer nicht weiter ansteigt. Die Konzentration von Nitrat steigt in den ersten 5 Minuten steil an und nimmt dann bis zu einer Versuchsdauer von 60 min nur noch langsam zu. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Oxidation der Schwefel- und Stickstoffatome nicht vollständig bis zum Sulfat bzw. Nitrat erfolgt. Constapel hat nachgewiesen⁽⁶¹⁾, dass schwefelhaltige organische Moleküle in wässrigen Lösungen unter Einwirkung von Ozon kurzkettige Alkylsulfonate bilden. Die Reaktion zu solchen Verbindungen kann eine Erklärung für die

geringe Bildung von Sulfat aus Ranitidin sein. Auch für Nitrat ist als konkurrierende Reaktion die Bildung kurzkettiger organischer Stickstoffverbindungen möglich. Die Untersuchung der Bildung organischer Transformationsprodukte wird in Kapitel 2.4.2 beschrieben.

Für die Erzeugung des Ozongases wurde synthetische Luft verwendet, deren Stickstoff in Wasser mit Ozon zum Teil Nitrat bildet. Diese Bildung von Nitrat verläuft jedoch wesentlich langsamer als die Bildung des Nitrats aus Ranitidin. Ihr Einfluss macht sich ab einer Versuchsdauer von 15 min bemerkbar und ist damit auch für den langsamen weiteren Anstieg der Nitrat-Konzentration verantwortlich.

2.4.2 Bildung organischer Transformationsprodukte

2.4.2.1 Bildung von Ameisensäure

Neben der Bildung von Nitrat und Sulfat aus Ranitidin ist auch die Bildung kurzkettiger organischer Moleküle zu erwarten. Die Struktur von Ranitidin ist gekennzeichnet durch einen Furanring, mehrere Aminofunktionen und eine Doppelbindung in Nachbarschaft zu einer Nitrogruppe. Greift Ozon an dieser Doppelbindung an, können nach dem in Abbildung 36 dargestellten Reaktionsweg Ameisensäure, Nitrat und Protonen entstehen.

Die Untersuchung der Nitratbildung aus Ranitidin hatte gezeigt (s. Kapitel 2.4.1), dass bereits in den ersten fünf Minuten der Ozonbehandlung die Konzentration von Ranitidin stark abnimmt. Um diesen Bereich der Reaktion genauer zu untersuchen, wurden in einem weiteren Versuch sieben Proben über einen Zeitraum von insgesamt zehn Minuten entnommen. Bilden sich neben Nitrat, wie vermutet, Ameisensäure und Protonen, so wird der pH-Wert im Verlauf des Versuches absinken. In Abbildung 37 sind Nitratkonzentration und pH-Wert der Probelösungen in Abhängigkeit von der Versuchsdauer dargestellt.

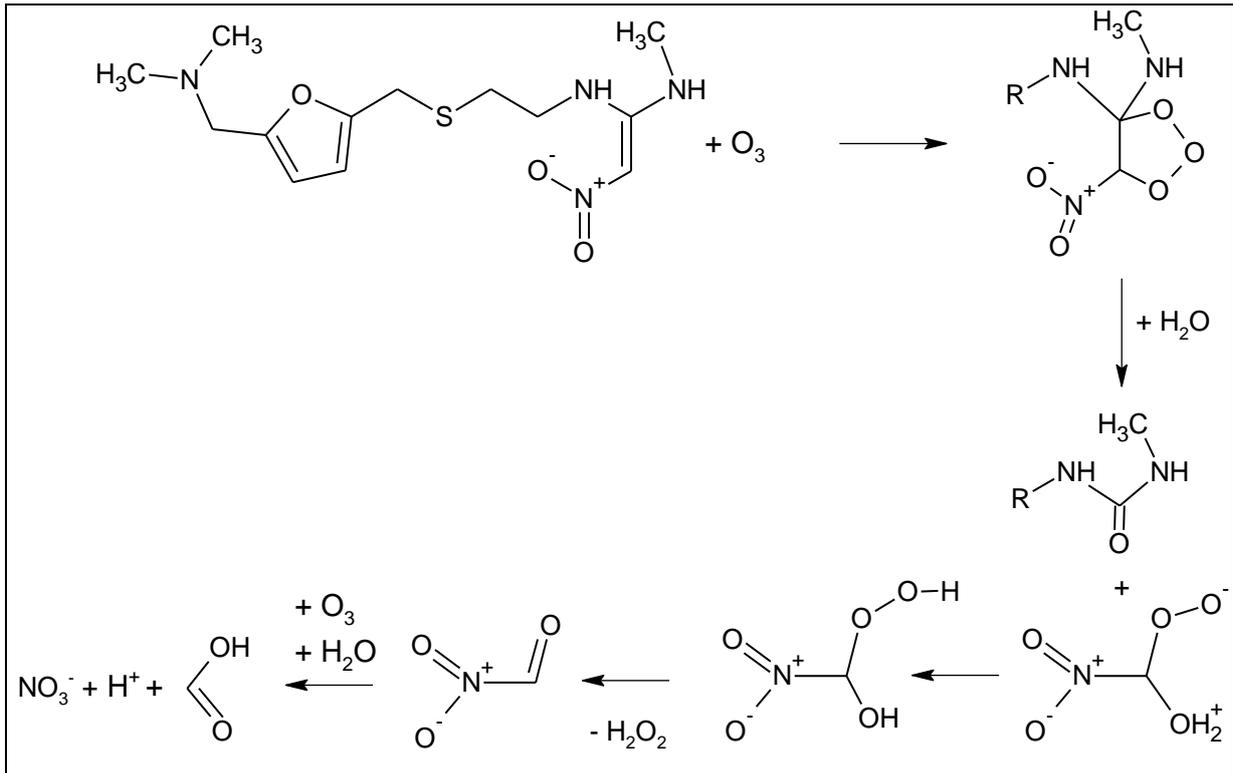


Abbildung 36: Vorgeschlagener Reaktionsweg zur Bildung von Ameisensäure und Nitrat aus Ranitidin durch Ozonisierung

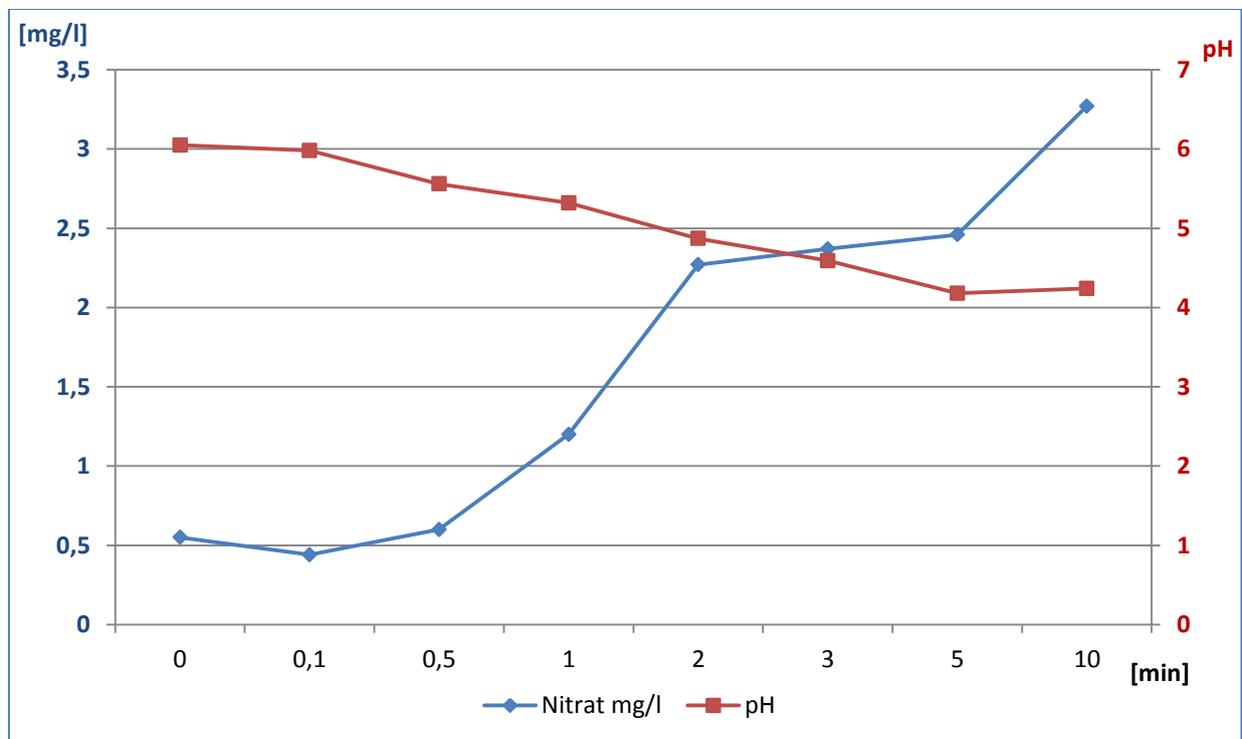


Abbildung 37: Zeitlicher Verlauf der Nitratkonzentration und des pH-Wertes bei der Ozonisierung einer Ranitidinlösung

Über einen Zeitraum von zehn Minuten steigt mit zunehmender Dauer der Ozongabe der Nitrat-Gehalt an, während der pH-Wert der Lösung von pH 6,0 auf pH 4,2 abnimmt. Dieses Ergebnis unterstützt den in Abbildung 36 vorgeschlagenen Reaktionsweg.

Um die Bildung von Ameisensäure mit einer zweiten analytischen Methode quantitativ zu erfassen, wurden die ozonisierten wässrigen Ranitidinlösungen gaschromatographisch untersucht. Ameisensäure lässt sich nach Methylierung als Ameisensäuremethylester mit Headspace-Gaschromatographie/Massenspektrometrie bestimmen⁽⁶²⁾. Abbildung 38 zeigt einen Anstieg der Ameisensäure-Konzentration in ozonisierten Ranitidin-Lösungen über eine Versuchsdauer von 10 Minuten.

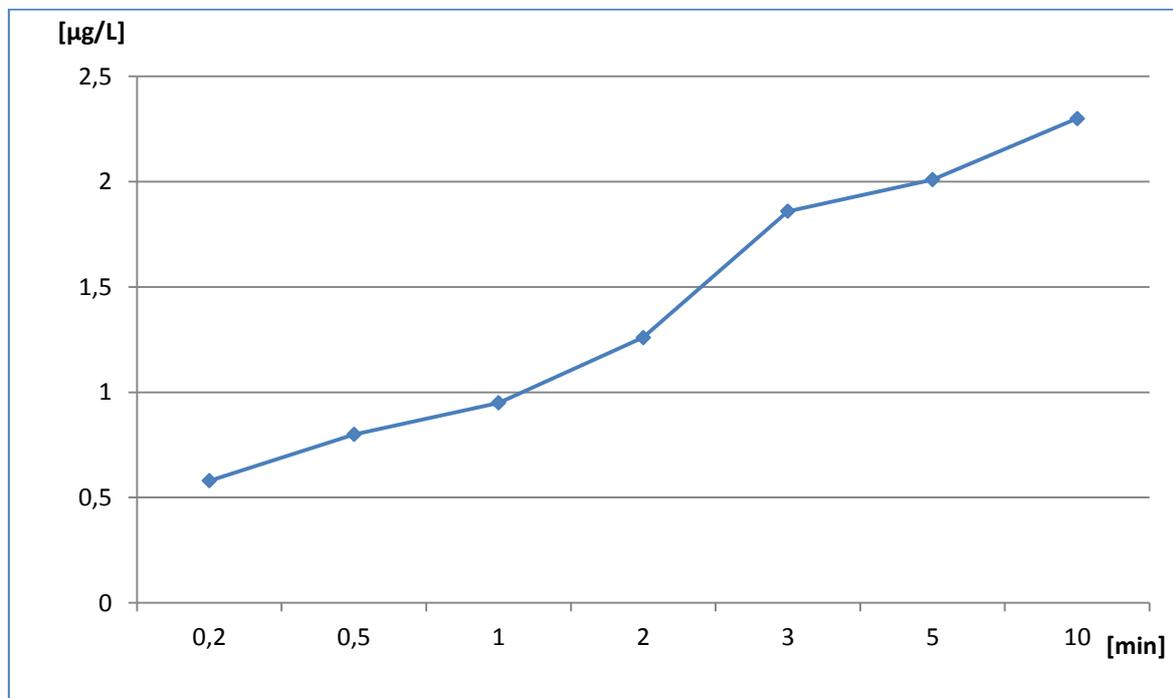


Abbildung 38: Bildung von Ameisensäure aus Ranitidin, gemessen als Methylester

Ausgehend von einer Konzentration von 0,5 µg/l erreichte die Ameisensäure-Konzentration einen Wert von 2,3 µg/l bei einer Versuchsdauer von 10 min. Die untersuchten Blindwerte wiesen Konzentrationen von bis zu 0,8 µg/l Ameisensäure auf.

Damit konnte neben der Bildung von Nitrat auch die Bildung von Ameisensäure aus Ranitidin durch die Reaktion mit Ozon sicher nachgewiesen werden.

2.4.2.2 Bildung von N-Nitrosodimethylamin (NDMA)

Wie bereits oben ausgeführt, wird nicht der gesamte Stickstoff des Ranitidin vollständig zu Nitrat oxidiert (siehe Kapitel 2.4.1). Da im Ranitidin-Molekül zusätzlich zu einer N-Dimethyl-Funktion zwei sekundäre Aminogruppen in Nachbarschaft zu einer Doppelbindung vorliegen, besteht die Möglichkeit, dass sich bei der Reaktion mit Ozon auch Nitrosamine bilden.

N-Nitrosamine sind Nitrosoverbindungen von Aminen mit der allgemeinen Struktur $R^1R^2N-N=O$. Durch die N-N=O-Gruppe sind viele Nitrosamine relativ gut wasserlöslich. Sie wirken akut toxisch, mutagen und bereits in geringen Konzentrationen tumorinduzierend⁽⁶³⁾. N-Nitrosodimethylamin, abgekürzt NDMA, ist mit einer molaren Masse von 74,08 g/mol das kleinste Nitrosamin (siehe Abbildung 39).

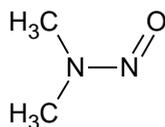


Abbildung 39: Struktur von N-Nitrosodimethylamin

NDMA ist wie die übrigen Nitrosamine ein starkes Cancerogen. Für die lebenslange Aufnahme aus Trinkwasser hat das Umweltbundesamt einen gesetzlichen Orientierungswert von derzeit 0,01 µg/l erlassen⁽⁶⁴⁾. Diese niedrige Konzentration unterstreicht die Wichtigkeit, die Bildung dieser Substanz bei der Gewinnung von Trinkwasser zu verhindern bzw. mögliche Vorläufersubstanzen aufzudecken.

Um zu überprüfen, ob sich bei der Ozonisierung aus Ranitidin NDMA bildet, wurde eine Ranitidin-Lösung der Konzentration 10 mg/l für die Dauer von 15, 30 und 60 min mit Ozon behandelt. Die entnommenen Proben wurden über SPE-Kartuschen mit 2 g Aktivkohle gegeben. Nach Trocknung der Kartuschen im Stickstoffstrom erfolgte die Elution mit 5 ml Dichlormethan. Der so erhaltene Dichlormethan-Extrakt wurde auf 1 ml eingeeengt und mit GC-MS mit positiver chemischer Ionisation (CI) gemessen (siehe Anhang Seite 99 - 100). Die unbehandelte Ranitidin-Lösung und das zum Ansatz der Lösung verwendete LC-MS-grade Wasser wurden ebenfalls über Festphasenextraktion angereichert und gemessen, um das Auftreten von Blindwerten zu überprüfen.

Die Bestimmungsgrenze für NDMA liegt mit dieser Methode bei 1 ng/l, diese niedrige Grenze ist auch aufgrund des vom Umweltbundesamt festgelegten gesetzlichen Orientierungswertes nötig.

Abbildung 40 zeigt das Chromatogramm einer Probe nach 30-minütiger Reaktionszeit. Die Konzentration von NDMA betrug zu diesem Zeitpunkt 180 ng/l. Das verwendete Ozon-Gas wurde für diesen Versuch aus synthetischer Luft gewonnen.

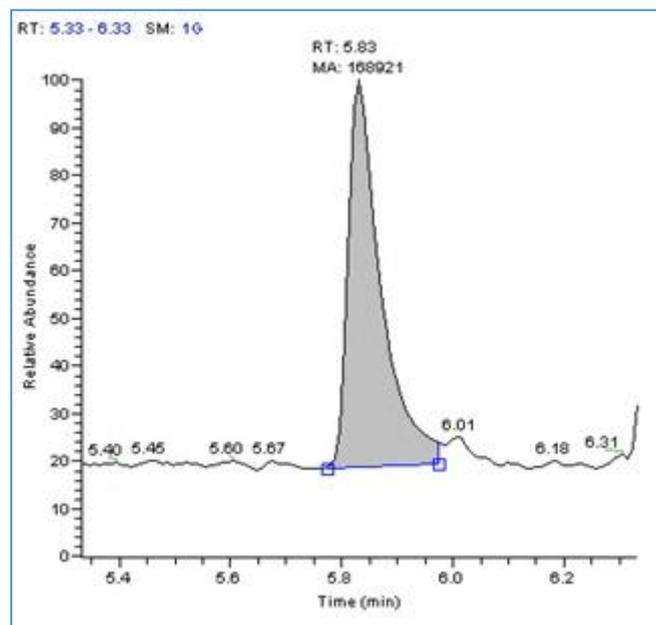


Abbildung 40: Nachweis von NDMA aus Ranitidin nach einer Reaktionszeit von 30 min

Dabei muss berücksichtigt werden, dass bei einer Versuchsdauer von mehr als 15 Minuten geringe Mengen Nitrat aus dem Stickstoff der synthetischen Luft entstehen (siehe Kapitel 2.4.1). Untersuchungen haben gezeigt, dass die Anwesenheit von Nitrit die Bildung von NDMA begünstigt^{(65), (66), (67)}. Um auszuschließen, dass der Stickstoff der synthetischen Luft bei der Reaktion mit Ozon über Nitrit auch die Bildung von NDMA begünstigt, wurden diese Versuche mit Ozon, das aus reinem Sauerstoff erzeugt wurde, erneut durchgeführt.

In Tabelle 12 sind die Ergebnisse beider Versuche gegenüber gestellt. Es zeigt sich, dass die Konzentration von NDMA bei Verwendung von Ozon, das aus reinem Sauerstoff hergestellt wurde, schneller ansteigt. Nach 60 min werden jedoch bei beiden Versuchen vergleichbare Konzentrationen an NDMA erreicht.

Versuchsdauer [min]	Konzentration NDMA bei Verwendung von Ozon aus synthetischer Luft [ng/l]	Konzentration NDMA bei Verwendung von Ozon aus reinem Sauerstoff [ng/l]
0	< 5	< 5
15	57	166
30	180	260
60	208	270

Tabelle 12: Bildung von NDMA aus Ranitidin

Die Komplexität von Probenvorbereitung und gaschromatographischer Messung verleihen der Methode trotz der Verwendung von internen Standards über das gesamte Verfahren eine höhere Messunsicherheit im Vergleich zu anderen GC-MS Methoden. Der Unterschied zwischen 208 ng/l und 270 ng/l kann daher nicht als signifikant angesehen werden. Der schnellere Anstieg der NDMA-Konzentration bei der Verwendung von NO_x-freiem Ozon kann durch geringe Unterschiede der Bedingungen während der Ozonisierung entstanden sein. Die Ozonkonzentration wurde für beide Versuche gleich gehalten. Das Ziel dieser Vergleichsuntersuchung war es zu belegen, dass die Bildung von NDMA durch den in synthetischer Luft enthaltenen Stickstoff nicht begünstigt wird. Dies wird durch die erhaltenen Ergebnisse zweifelsfrei bestätigt.

2.5 Ozonisierung von Tramadol

Tramadol (Kenngrößen und Struktur siehe Kapitel 1.4.3) wurde unter den gleichen Bedingungen wie Carbamazepin und Ranitidin einer Ozonisierung unterworfen (siehe Kapitel 2.2).

Die ozonisierten Tramadollosungen wurden ebenfalls mit Direkt-Injektion und massenspektrometrischer Untersuchung im Fullscan, sowohl im negativen als auch im positiven Elektrospray-Modus, untersucht (siehe auch Kapitel 2.3 und 2.4).

In den Fullscan-Spektren der Direkt-Injektion zeigt sich, dass nach einer Versuchsdauer von 10 Minuten noch ein intensiver Tramadol-Peak vorhanden ist, daneben sind Transformationsprodukte mit deutlich geringer Intensität zu sehen (Abbildung 41). Deutlich sichtbar ist der $[M+H]^+$ -Peak von Tramadol bei $m/z = 264.05$ sowie Signale der Reaktionsprodukte (siehe Tabelle 13), von denen das Produkt mit $m/z = 280.01$ die mit Abstand größte Intensität aufweist. Auch für Tramadol konnten nur im positiven Elektrospray-Modus Transformationsprodukte identifiziert werden.

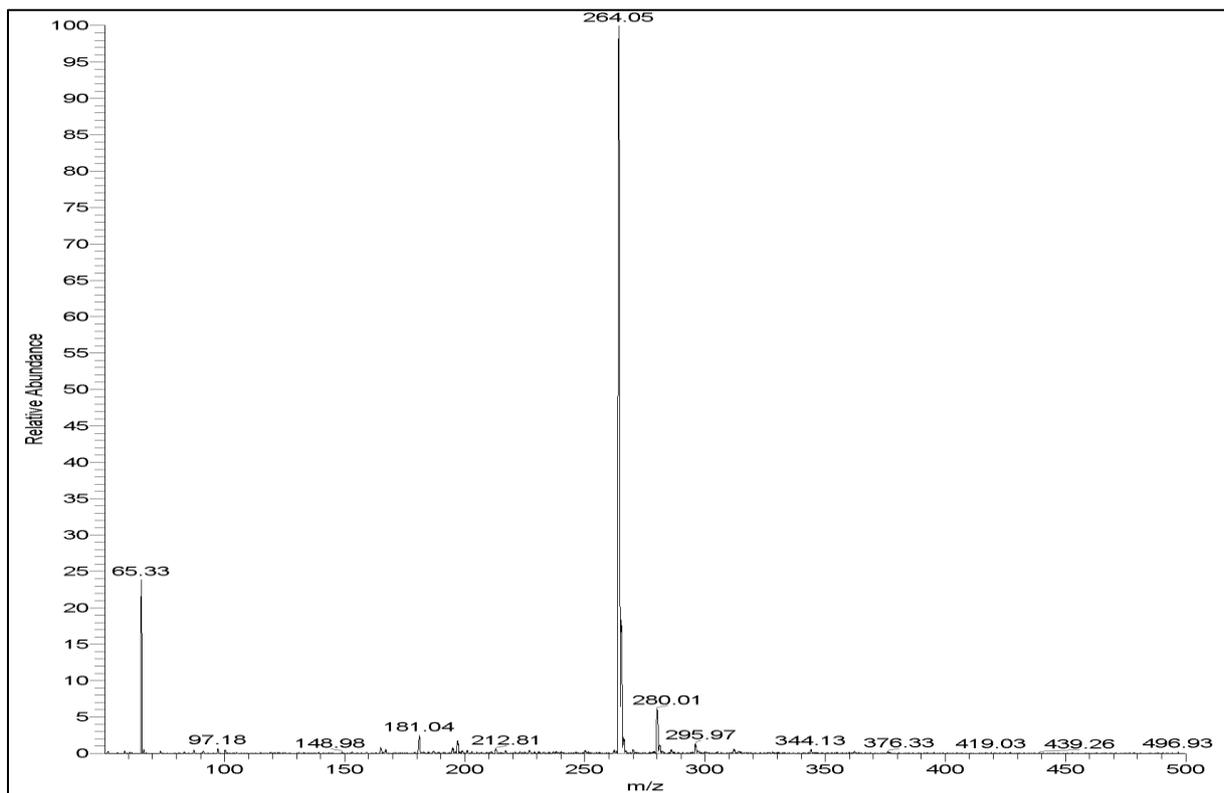


Abbildung 41: Massenspektrum einer ozonisierten wässrigen Tramadol-Lösung

Von den im Fullscan erfassten Signalen wurden MS/MS-Spektren angefertigt. Auf diese Weise wurden die in Tabelle 13 aufgeführten Beziehungen zwischen den jeweiligen Molekül-Ionen $[M+H]^+$ und den Produkt-Ionen hergestellt.

Die MS/MS-Massenspektren von Tramadol und den beobachteten Transformationsprodukten sind untereinander ähnlich, es werden oft nur wenige Fragment-Ionen gebildet.

Substanz	Molekül-Ion [M+H] ⁺ m/z	Produkt-Ion 1 m/z	Produkt-Ion 2 m/z	Produkt-Ion 3 m/z
Tramadol	264.1	58.3		
P 279	280.0	58.3	135	262
P 295	296.0	58.3	278	
P 311	312.0	58.3	278	294
P 327	328.0	58.3	238	294
P 343	344.0	58.3	278	310
P 361	362.0	58.3		

Tabelle 13: MS/MS/Untersuchungen von Tramadol und Reaktionsprodukten

In allen Spektren ist das Produkt-Ion m/z 58.3 zu finden. Dieses Ion stammt mit großer Wahrscheinlichkeit aus der Fragmentierung der stickstoffhaltigen Seitenkette, die in Abbildung 42 rot gekennzeichnet ist.

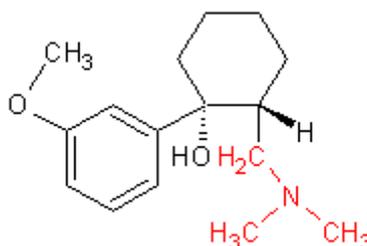


Abbildung 42: Fragmentierung von Tramadol

Das MS/MS-Massenspektrum des Transformationsproduktes P 279 (Abbildung 43) zeigt im Gegensatz zu den anderen Produkten viele intensive Produkt-Ionen.

Die Differenz von $\Delta m/z = 18$ zwischen [M+H]⁺-Ion bei m/z = 280 und Produkt-Ion bei m/z = 262 deutet auf eine Abspaltung von Wasser hin. Das Fragment m/z = 107 dürfte mit einiger Wahrscheinlichkeit von der Methoxyphenyl-Gruppe des Tramadol stammen und ist ein Hinweis darauf, dass am Benzolring zunächst keine Reaktion mit Ozon stattfindet.

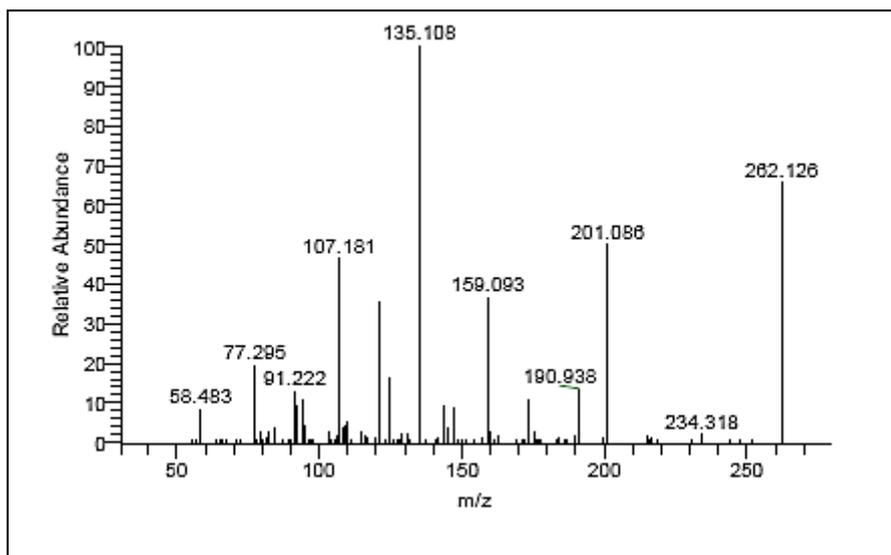


Abbildung 43: MS/MS-Massenspektrum des Transformationsproduktes P 279

Damit bliebe als möglicher Angriffspunkt die Aminogruppe am Cyclohexanring. Im Gegensatz zu den Transformationsprodukten mit höheren Massen wurde die Bildung des Produkts P 279 bereits in der Literatur beschrieben⁽⁶⁸⁾ und eine Anlagerung eines Sauerstoffatoms an der Aminogruppe vorgeschlagen (siehe Abbildung 44). Über die Bildung eines N-Oxids und nachfolgende Protonierung kann das Ion $m/z = 280$ erklärt werden.

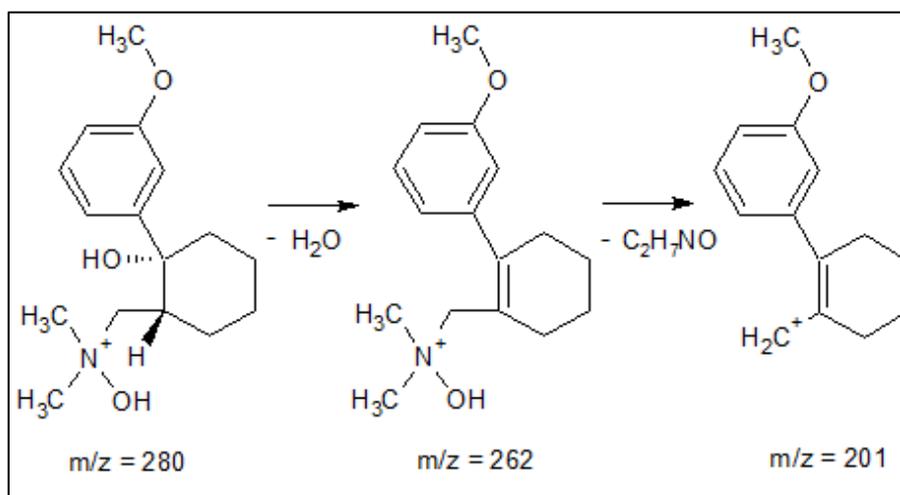


Abbildung 44: Strukturvorschlag des Produktes P 279 nach Protonierung und Fragmentierung bei MS/MS-Experimenten nach Schmukat et al.⁽⁶⁸⁾

Die Ionen $m/z = 135$ und $m/z = 121$ können vom Methoxyphenyl-Rest mit einer bzw. zwei CH_2 -Gruppen stammen (Abbildung 45).

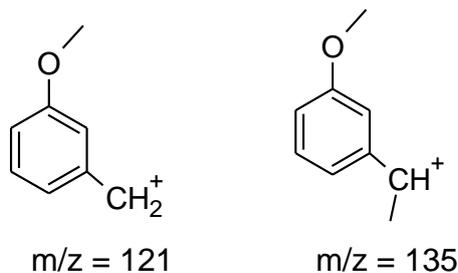


Abbildung 45: Fragmente des Transformationsproduktes P 279

Das im Spektrum ebenfalls vorhandene Ion $m/z = 58$ kann hier auch durch Fragmentierung an der Ammoniumfunktion entstanden sein (Abbildung 46).

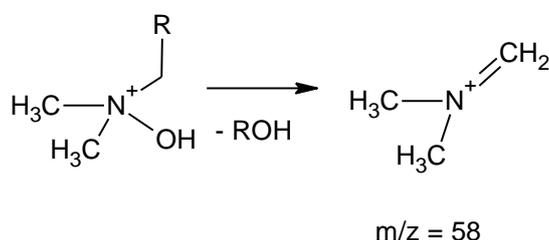


Abbildung 46: Vorschlag für die Bildung des Produkt-Ions $m/z = 58$

Die Transformationsprodukte mit höheren Massen als P 279 weisen diese intensive Fragmentierung nicht auf. Abbildung 47 zeigt das Spektrum des nächst höheren Produktes P 295 mit $m/z = 296$ nach Protonierung. Formal entspricht dies einer Anlagerung von zwei Sauerstoffatomen an Tramadol.

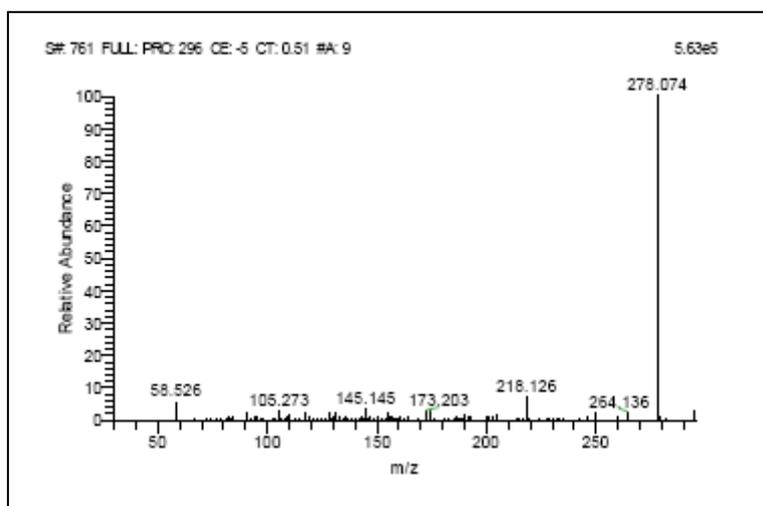


Abbildung 47: MS/MS-Massenspektrum des Transformationsproduktes P 295

Das intensivste Produkt-Ion ist $m/z = 278.07$, das aus dem $[M+H]^+$ -Ion durch Wasserabspaltung ($\Delta m/z = 18$) gebildet werden kann. Weitere größere Ionen treten bei $m/z = 58.53$ und $m/z = 218.13$ auf.

Abbildung 48 zeigt einen möglichen Strukturvorschlag für das Produkt P 295 nach Protonierung ($m/z = 296$) und für das Produkt-Ion $m/z = 278$ nach stoßinduzierter Fragmentierung.

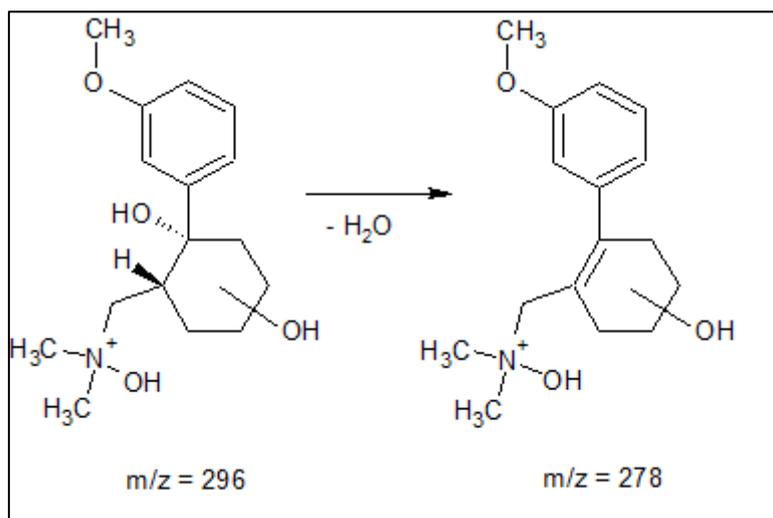


Abbildung 48: Vorschlag für die Struktur und Fragmentierung von P 295

Alle weiteren Transformationsprodukte zeigen ein zu dem Produkt P 295 analoges MS/MS-Massenspektrum mit einer bzw. zwei Wasserabspaltungen (intensivste Ionen) sowie dem Ion der Ammoniumfunktion bei $m/z = 58.3$, so dass sich aus diesen Spektren keine weiterführenden strukturellen Informationen entnehmen lassen.

2.5.1 Bildung von N-Nitrosodimethylamin

Analog zu den Versuchen mit Ranitidin (Kapitel 2.4.2.2) wurde auch bei Tramadol die Bildung von N-Nitrosodimethylamin überprüft. Da Tramadol ebenso wie Ranitidin eine N,N-Dimethylfunktion besitzt, besteht die Möglichkeit, dass bei gleichen Versuchsbedingungen auch aus Tramadol NDMA gebildet werden kann. Eine mögliche Erklärung für den negativen Befund bei Tramadol ist, dass NDMA aus Ranitidin durch die verbleibenden zwei weiteren Stickstoffatome gebildet wird, da auch der Angriff von Ozon an der Doppelbindung in Nachbarschaft dieser Stickstoffatome durch die Bildung von Ameisensäure nachgewiesen werden konnte.

2.5.2 Anreicherung der Ozonisierungs-Produkte mit Festphasen-Extraktion

Über eine Versuchsdauer von 15 Minuten sinkt die Tramadolkonzentration nur leicht ab, ein großer Teil verbleibt unverändert in der Probelösung. Daher wurde der Untersuchungszeitraum auf 90 Minuten ausgedehnt (siehe Abbildung 49). Nach dieser Zeit sind nur noch ca. 20 % der ursprünglichen Konzentration von Tramadol in der Lösung nachweisbar. Auch nach längeren Reaktionszeiten blieben die Konzentrationen der beobachteten Reaktionsprodukte relativ gering. Zum besseren Nachweis der Produkte wurden die Proben daher zusätzlich durch Festphasen-Extraktion (SPE) angereichert.

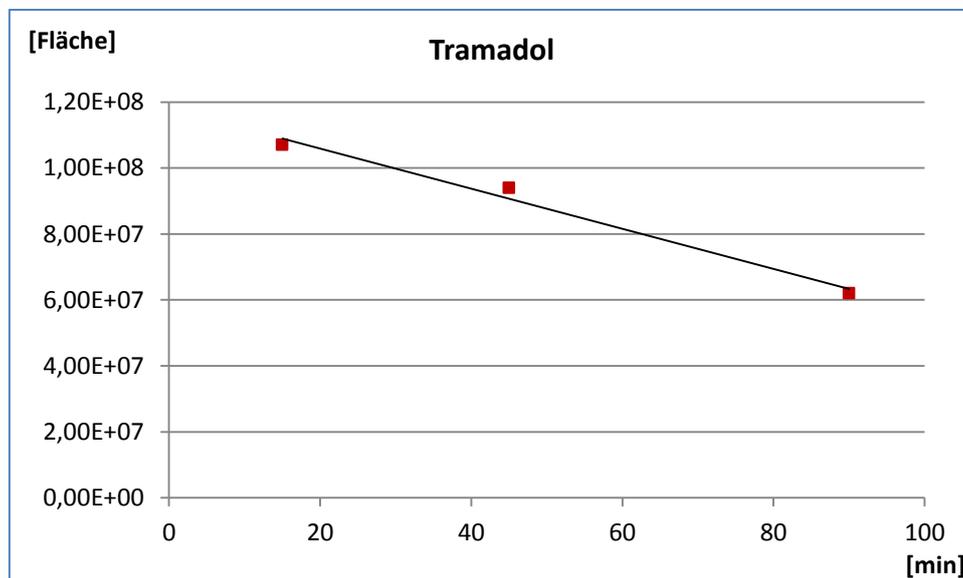


Abbildung 49: Abnahme der Tramadolkonzentration während der Ozonisierung

Die Anreicherung über Festphasen soll die Analyse der Transformationsprodukte trotz ihrer geringen Konzentrationen auch in Proben aus der Trinkwasseraufbereitung ermöglichen. Die Ozonisierungsversuche im Labor wurden mit einer Lösung von 50 mg/l Tramadol durchgeführt. In einer typischen Probe eines Oberflächengewässers wie z.B. dem Rhein sind Konzentrationen von nur 50 – 100 ng/l zu erwarten. Die Reaktionslösungen wurden nach der Ozonbehandlung über eine Polystyroldivinylbenzol-Phase angereichert (siehe Anhang Seite 100 - 101). Das nach der Anreicherung erhaltene Eluat wurde mit LC-MS/MS und online-Anreicherung gemessen.

Auf die online-Anreicherung wurde trotz der verwendeten SPE nicht verzichtet, da neben dem Vorteil einer zusätzlichen Anreicherung störende Matrixbestandteile, die sich während der Festphasenextraktion möglicherweise ebenfalls anreichern, abgetrennt werden. Alle gefundenen Produkte des Tramadol ließen sich auf diese Weise gut nachweisen, dabei wurde eine deutliche Steigerung der Empfindlichkeit erreicht.

2.6 Untersuchung von Proben aus der Trinkwasseraufbereitung

Nachdem die Analytik für die Bestimmung der Arzneimittel und einiger ausgewählter Transformationsprodukte zur Verfügung stand, sollten Proben über den gesamten Prozess der Trinkwasseraufbereitung vom Oberflächenwasser über das gewonnene Rohwasser bis zum Trinkwasser untersucht werden, um das Verhalten der Arzneimittel und das Auftreten von Transformationsprodukten unter realen Bedingungen zu beobachten. Dabei wurden auch verschiedene Aufbereitungsmethoden untersucht.

2.6.1 Aufbereitung nach dem Düsseldorfer-Verfahren

Dieses Aufbereitungsverfahren ist im Kapitel 1.2.1 näher beschrieben und umfasst eine Teilenthärtung, Verdüsung, Ozonung, Kies- und Aktivkohlefiltration sowie die Chlorung mit Chlordioxid. Das verwendete Rohwasser wird durch Uferfiltration gewonnen und setzt sich aus Grundwasser und infiltriertem Flusswasser zusammen. Der jeweilige Anteil der beiden Wasserarten kann variieren und hängt vom Pegel des Grundwassers sowie dem Wasserstand des Flusses ab. Für die Untersuchung des Verhaltens der Arzneimittel sowie der ausgewählten Transformationsprodukte wurden folgende Abschnitte der Trinkwasseraufbereitung beprobt:

- Oberflächenwasser aus dem Rhein
- Uferfiltrat
- Rohwasser nach Verdüsung
- Kiesfilter nach Ozonung
- nach der Aktivkohlefiltration
- Trinkwasser

2.6.2 Trinkwasseraufbereitung nach dem Mülheimer-Verfahren

Bei dieser Art der Aufbereitung wird Oberflächenwasser zur künstlichen Grundwasseranreicherung verwendet (siehe auch Kapitel 1.2.2). Durch Langsandsandfilter versickert das Wasser im Boden und wird nach einer mehrtägigen Bodenpassage über einen Hebebrunnen abgepumpt. Das Rohwasser wird aus dem Hebebrunnen in eine Klarwasserkammer geleitet, wo es mit Ozon versetzt wird. Im nächsten Aufbereitungsschritt durchläuft das Wasser einen Mehrschichtenfilter aus grobem und feinem Quarzkies sowie einen Aktivkohlefilter. Nach einer Desinfektion mit UV-Strahlung wird das Trinkwasser in einer Reinwasserkammer gespeichert und von dort in das Leitungsnetz verteilt. Für die Untersuchung des Verhaltens der Arzneimittel sowie der ausgewählten Transformationsprodukte wurden folgende Abschnitte der Trinkwasseraufbereitung beprobt:

- Oberflächenwasser aus der Ruhr
- Rohwasser aus Heberbrunnen
- nach Ozonung und Mehrschichtenfilter
- Trinkwasser

2.6.3 Trinkwasseraufbereitung ohne Ozonung

Wie unter 2.6.2 beschrieben, erfolgt auch bei dieser Aufbereitung eine künstliche Anreicherung des Grundwassers mit Oberflächenwasser. Das in Sammelbrunnen gefasste Wasser ist eine Mischung von Uferfiltrat, natürlichem und aus Oberflächenwasser künstlich angereichertem Grundwasser. Das so gewonnene Rohwasser wird zunächst entsäuert, einer Flockung unterworfen und über einen Mehrschichtenfilter gegeben. Nach der Desinfektion mit Chlorgas/Chlordioxid wird das Trinkwasser in das Leitungsnetz eingespeist. Für die Untersuchung des Verhaltens der Arzneimittel sowie der ausgewählten Transformationsprodukte wurden folgende Abschnitte der Trinkwasseraufbereitung beprobt:

- Oberflächenwasser
- Rohwasser
- nach Mehrschichtenfilter
- Trinkwasser

2.6.4 Auswahl der Transformationsprodukte für Messungen über den Verlauf der Trinkwasseraufbereitung

Für die untersuchten Arzneimittelwirkstoffe wurden diverse organische und anorganische Transformationsprodukte ermittelt (siehe Kapitel 2.2 ff.). Nicht alle dieser Transformationsprodukte sind zur Beobachtung des Verlaufs einer Trinkwasseraufbereitung geeignet. Darunter fallen alle anorganischen Transformationsprodukte wie Nitrat und Sulfat, denn diese sind nicht spezifisch für die betrachteten Arzneimittel und kommen bereits natürlich im Rohwasser vor. Für Ranitidin wurde die Bildung von Ameisensäure und N-Nitrosodimethylamin (NDMA) beobachtet (siehe Kapitel 2.4.2). Der Nachweis mittels Headspace-GC/MS von Ameisensäure aus Ranitidin, das im Rohwasser in Konzentrationen von wenigen ng/l vorliegt, ist für die Beobachtung des Verlaufs im Wasserwerk ebenfalls ungeeignet. Ameisensäure ist ebenso wie Nitrat und Sulfat kein spezifisches Transformationsprodukt von Ranitidin. Die Analysenmethode für NDMA mittels Anreicherung auf Aktivkohle und Messung mit GC/MS im CI-Modus ermöglicht einen sehr empfindlichen Nachweis ab einer Konzentration von 1 ng/l. Genauso wie die zuvor erwähnten Substanzen ist NDMA jedoch auch kein Transformationsprodukt, das eindeutig Ranitidin zugeordnet werden kann. Eine Reihe von Vorläufersubstanzen führt unter Einwirkung von Ozon zur Bildung von NDMA in Wasser. Bekanntestes Beispiel ist das Fungizid Tolyfluanid^{(65), (69)}, welches z.B. unter dem Namen Euparen[®] vor allem gegen Schorf im Obst- und Gemüseanbau eingesetzt wurde. Tolyfluanid hydrolysiert innerhalb weniger Tage und bildet dabei den Metaboliten N,N-Dimethylsulfamid^{(65), (70)}. Dieser Metabolit, der sich durch Bodenpassage oder Aktivkohlefiltration kaum zurückhalten lässt, reagiert bei einer Ozonung unter Bildung von NDMA^{(65), (69), (70)}. Sekundäre Amine, wie z.B. das Pflanzenschutzmittel Diuron, bilden bei der Aufbereitung von Wasser mit Chloraminen ebenfalls NDMA⁽⁷¹⁾. Eine andere Eintragsquelle für NDMA ist das in Oberflächengewässer eingeleitete geklärte Abwasser. In Kläranlagenabläufen wurden Nitrosamine nachgewiesen, die im Abwasser aus industriellen Prozessen stammen und während der Abwasserreinigung nicht vollständig entfernt werden können^{(67), (72)}. Für NDMA existiert in Deutschland ein gesundheitlicher Orientierungswert von 0,01 µg/l⁽⁶⁴⁾. Die Analytik von NDMA in Roh- und Trinkwasser ist aufgrund seines hohen kanzerogenen Potentials sinnvoll und angebracht. Da jedoch, wie beschrieben, zahlreiche Bildungswege für NDMA existieren, wird es bei der Betrachtung des Verhaltens von Ranitidin während der Trinkwasseraufbereitung

nicht berücksichtigt. Damit verbleiben die in Tabelle 14 aufgeführten Arzneimittelwirkstoffe und Transformationsprodukte.

Analyt	Molekül-Ion [M+H] ⁺ m/z	Produkt-Ion 1 m/z	Produkt Ion 2 m/z
Carbamazepin	237.0	191.9	194.0
BQM	251.0	180.1	208.0
BQD	267.0	196.0	167.0
BaQD	283.0	251.0	180.0
Tramadol	264.1	58.3	
P 279	280.0	58.3	135
P 295	296.0	58.3	278
P 311	312.0	58.3	278
P 327	328.0	58.3	238
P 343	344.0	58.3	278
P 361	362.0	58.3	
Ranitidin	315	175.9	102.2

Tabelle 14: Im Verlauf der Trinkwasseraufbereitung untersuchte Arzneimittelwirkstoffe und Transformationsprodukte

Die in Tabelle 14 aufgeführten Arzneimittelwirkstoffe und Transformationsprodukte lassen sich qualitativ, im Falle der Arzneimittelwirkstoffe auch quantitativ, mit der in Kapitel 2.1 beschriebenen Methode durch HPLC-MS/MS erfassen.

2.6.5 Messungen über den Verlauf der Trinkwasseraufbereitung

2.6.5.1 Aufbereitung ohne Ozonung und Aktivkohlefiltration

Die Aufbereitung von Trinkwasser erfolgte ohne Ozonung und ohne Aktivkohlefiltration (siehe Kapitel 1.2.3). Die nachfolgenden Abbildungen 50 und 51 zeigen den Vergleich zwischen Oberflächenwasser und Wasser nach dem Mehrschichtenfilter

für die Arzneimittelwirkstoffe Carbamazepin und Tramadol. Die Konzentrationen für Ranitidin lagen durchgehend bei < 5 ng/l.

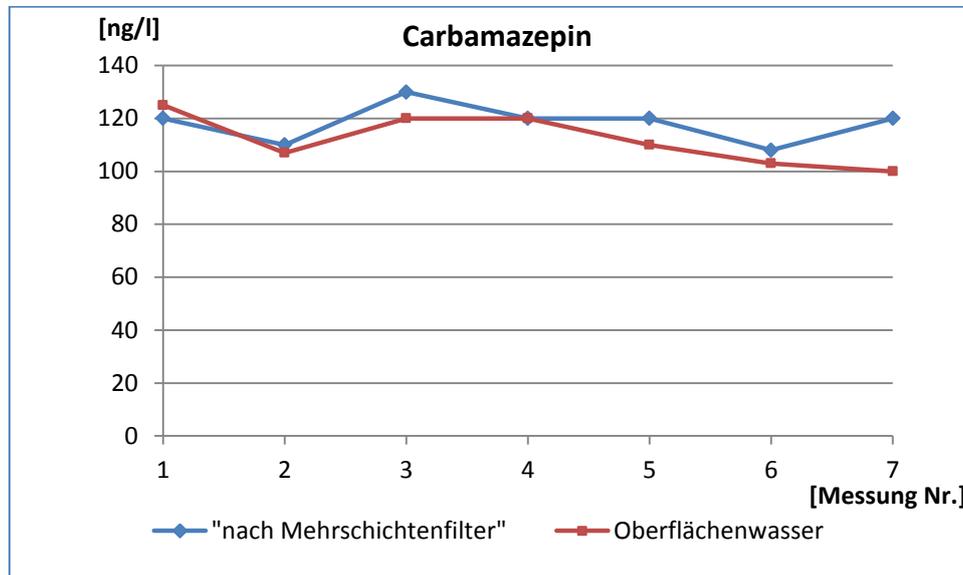


Abbildung 50: Carbamazepin-Konzentration im Oberflächenwasser und nach Filtration

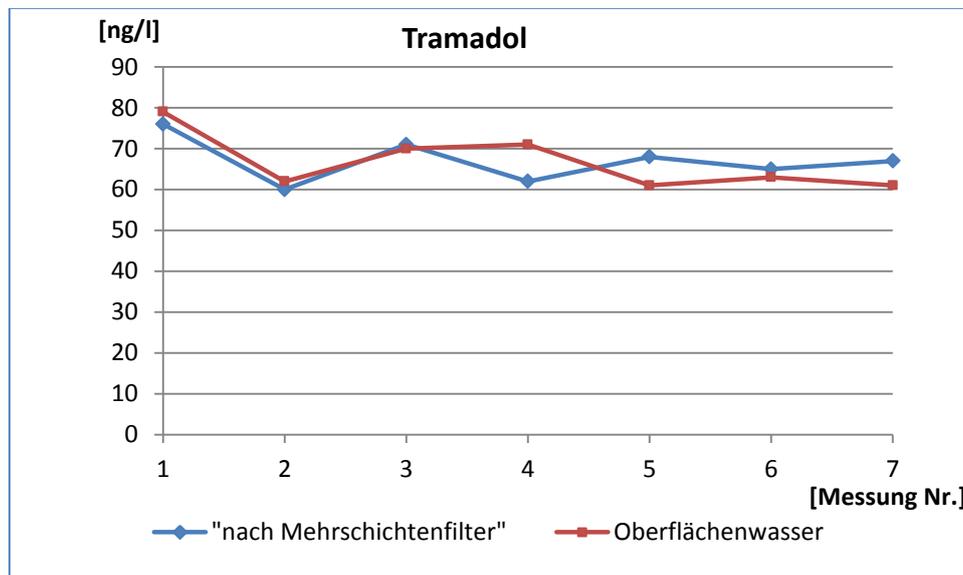


Abbildung 51: Tramadol-Konzentration im Oberflächenwasser und nach Filtration

Der Arzneimittelwirkstoff Oxcarbazepin, der als Alternativpräparat zu Carbamazepin verschrieben wird (siehe Kapitel 1.4.1), konnte im Oberflächenwasser ebenso wie Ranitidin nicht nachgewiesen werden. Oxcarbazepin wird pro Jahr in Deutschland in einer Menge von 12,3 t verkauft ^{(73), (74)}, das ist etwa ein Fünftel der im selben Zeitraum verschriebenen Menge an Carbamazepin. Die verkaufte Menge erklärt also nicht die negativen Befunde in Oberflächengewässern, da ein Fünftel der dort

nachgewiesenen Konzentration an Carbamazepin mit der in dieser Arbeit entwickelten Analysenmethode (siehe Kapitel 2.1) noch gut bestimmbar ist. Eine mögliche Erklärung für diese Befunde kann eine bessere Abbaubarkeit des Oxcarbazepins in Kläranlagen sein ⁽⁷⁵⁾. Vergleicht man jedoch die Konzentrationen der Arzneimittel, die über Kläranlagen in die Oberflächengewässer abgegeben werden, so zeigt sich ein Bild, das mit den Verschreibungszahlen in etwa korreliert. Carbamazepin liegt im untersuchten Kläranlagenauslauf in Konzentrationen von 600 – 900 ng/l vor, Oxcarbazepin zwischen 150 und 350 ng/l. Ranitidin, das im Oberflächenwasser ebenfalls nicht nachweisbar war, konnten im geklärten Abwasser noch mit 600 ng/l erfasst werden. Verdünnungseffekte im Oberflächenwasser, Konzentrationsschwankungen in den eingeleiteten geklärten Abwässern und eine möglicherweise bessere biologische Abbaubarkeit können die Gründe für den fehlenden Nachweis von Oxcarbazepin und Ranitidin im Oberflächenwasser sein.

Anhand der Abbildungen 50 und 51 wird deutlich, dass die Konzentrationen der Arzneimittel im Oberflächenwasser und nach Durchlaufen des Mehrschichtenfilters annähernd identisch sind. Die durchschnittliche Konzentration für Carbamazepin im Oberflächenwasser betrug 112 ng/l, nach dem Mehrschichtenfilter lag diese bei 118 ng/l. Tramadol weist im Oberflächenwasser und nach dem Mehrschichtenfilter eine identische Durchschnittskonzentration von 68 ng/l auf. Die Langsamsandfiltration und die Bodenpassage zeigen keinen Einfluss auf die Arzneimittelkonzentrationen, weder für Carbamazepin noch für Tramadol. Der fehlende Einfluss der Bodenpassage kann durch verschiedene Faktoren erklärt werden (siehe Kapitel 2.6.5.2), die einen Abbau begünstigen oder erschweren. Da bei der Uferfiltration meistens eine Mischung aus infiltriertem Oberflächenwasser und Grundwasser in den Brunnen gefasst wird, kann z.B. eine Verringerung der Arzneimittelkonzentration durch das Grundwasser eintreten. Ein solcher Einfluss durch das Grundwasser konnte bei dieser Aufbereitung nicht beobachtet werden. Die untersuchten Proben beziehen sich auf einen begrenzten Zeitraum. Bedingt durch den jeweiligen Wasserstand von Oberflächen- und Grundwasser kann das gefasste Rohwasser zum Zeitpunkt der Probenahme aus reinem Uferfiltrat bestanden haben.

Da Carbamazepin nahezu unlöslich in Wasser ist, könnte es partikulär gebunden an feinste Schwebstoffe bei einer Flockung teilweise aus dem Wasser entfernt werden

(siehe Kapitel 1.2.3). In den vorliegenden niedrigen Konzentrationen liegt Carbamazepin jedoch vollständig gelöst vor, die Flockung bleibt daher ohne Einfluss auf die Konzentration. Bei einer Mehrschichtenfiltration handelt es sich um einen rein mechanischen Prozess, eine Entfernung der gelöst vorliegenden Arzneimittel ist aber nur über einen biologischen Abbau durch Biofilme auf den Filtern möglich. Die Verweildauer auf den Filtern von weniger als 30 Minuten ist jedoch zu kurz, um bei biologisch schlecht abbaubaren Substanzen wie den hier betrachteten Arzneimitteln eine messbare Reduktion zu erzielen.

Das untersuchte Verfahren der Trinkwasseraufbereitung von Uferfiltrat ohne Ozonung und Aktivkohlefiltration ist für die Entfernung der Arzneimittelwirkstoffe aus dem Rohwasser ungeeignet. Es wurde gezeigt, dass die Arzneimittel in nahezu unveränderten Konzentrationen aus dem Rohwasser in das Trinkwasser übergehen können.

2.6.5.2 Trinkwasseraufbereitung nach dem Mülheimer-Verfahren

Ebenso wie das in Kapitel 2.6.5.1 untersuchte Aufbereitungsverfahren verwendet man auch hier künstlich angereichertes Uferfiltrat. Jedoch erfolgt bei dieser Aufbereitung eine Ozonung des Wassers mit anschließender Mehrschichtenfiltration unter Verwendung von Aktivkohle (siehe Abbildung 5). Die Ergebnisse der Messungen im Verlauf der Aufbereitung sind in Tabelle 15 dargestellt.

	Carbamazepin	Tramadol	Ranitidin	Carbamazepin-10,11-epoxid	Oxcarbazepin
	[ng/l]	[ng/l]	[ng/l]	[ng/l]	[ng/l]
Oberflächenwasser	60	32	14	10	< 5
Sammelbrunnen	48	7	<5	9	< 5
nach Ozonung und Mehrschichtenfilter	< 5	< 5	< 5	5	< 5
nach Aktivkohlefilter	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5
Trinkwasser	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5

Tabelle 15: Arzneimittel-Konzentrationen im Verlauf der Aufbereitung nach dem Mülheimer-Verfahren

Im Vergleich zu den in Kapitel 2.6.5.1 angeführten Ergebnissen ließen sich im Oberflächenwasser alle drei der in den Ozonisierungsversuchen untersuchten Arzneimittel nachweisen. Auch der im menschlichen Körper gebildete Metabolit Carbamazepin-10,11-epoxid konnte erfasst werden, das Medikament Oxcarbazepin hingegen nicht (siehe Kapitel 2.6.5.1 und 1.4.1).

Die künstliche Infiltration über Langsandsandfilter und die angeschlossene Bodenpassage bewirken hier eine leichte Konzentrationsminderung für Carbamazepin, wogegen die Konzentration von Tramadol während der Bodenpassage deutlich absinkt. Ranitidin ist nach der Bodenpassage nicht mehr nachweisbar (vergleiche Werte Oberflächenwasser und Sammelbrunnen). Dieser Effekt konnte bei der in Kapitel 2.6.5.1 untersuchten Aufbereitung nicht festgestellt werden. Die Arzneimittel durchliefen hier die Bodenpassage in unveränderten Konzentrationen. Die Dauer der Bodenpassage ist mit wenigen Tagen bei beiden Aufbereitungen ähnlich lang und kann somit kein entscheidender Faktor sein. Einen größeren Einfluss auf den Abbau organischer Substanzen als die Verweildauer im Boden hat beispielsweise das vorherrschende Redoxmilieu⁽⁷⁶⁾. Auch die Wassertemperatur nimmt Einfluss auf den Abbau organischer Spurenstoffe über die im Boden lebenden Mikroorganismen ebenso wie die physikalisch-chemischen Prozesse. So führen höhere Temperaturen zu Veränderungen der Wachstums- und Stoffwechselprozesse der verschiedenen Mikroorganismen und beschleunigen Transport- und Diffusionsprozesse im Boden⁽⁷⁶⁾. Bei beiden Untersuchungen muss aber beachtet werden, dass es sich um Momentaufnahmen handelt, bei denen z.B. jahreszeitliche Umwelteinflüsse nicht berücksichtigt werden konnten. Für die Bewertung der Effektivität der künstlichen Infiltration können diese Ergebnisse nicht herangezogen werden, da dafür ein deutlich längerer Untersuchungszeitraum und ein breiter gefächertes Spektrum an Untersuchungsparametern nötig sind.

Ein weiterer Unterschied im Vergleich zu der in Kapitel 2.6.5.1 beschriebenen Aufbereitung zeigt sich nach der Mehrschichtenfiltration. Bei der Aufbereitung nach dem Mülheimer-Verfahren ist nach dem Mehrschichtenfilter nur noch der Metabolit Carbamazepin-10,11-epoxid nachweisbar. Tramadol, das im Sammelbrunnen noch mit 7 ng/l nachgewiesen werden konnte, ist ebenso wie Carbamazepin, das in einer Konzentration von 48 ng/l vorlag, nicht mehr nachweisbar. Die Mehrschichtenfiltration hatte bei der Untersuchung in Kapitel 2.6.5.1 keinen Einfluss auf die Arzneimittel-

konzentrationen erkennen lassen. Der entscheidende Unterschied liegt beim Mülheimer-Verfahren in der Ozonung unmittelbar vor der Mehrschichtenfiltration. Die Ozonung bewirkt eine Senkung der Arzneimittelkonzentrationen auf weniger als 5 ng/l.

Da die Arzneimittelwirkstoffe nach der Ozonung in nicht mehr nachweisbaren Konzentrationen vorlagen, wurde das Wasser nach dem Mehrschichtenfilter auf die Bildung von Transformationsprodukten untersucht. Dabei konnten für Carbamazepin die in Kapitel 2.3 beschriebenen Produkte BQM und BQD nachgewiesen werden. Die Konzentration des Produktes BQM war, wie in den Laborversuchen ermittelt, deutlich höher als die des Produktes BQD. Das Produkt BaQD konnte nicht nachgewiesen werden, wies aber auch im Laborversuch stets die geringste Konzentration auf. Auch von Tramadol konnte ein Transformationsprodukt nachgewiesen werden. Das Produkt mit der Masse $m/z = 280$ hatte die größte Konzentration bei den Laborversuchen und konnte hier als einziges Produkt von Tramadol während der Aufbereitung nachgewiesen werden. Für die Effektivität dieser Aufbereitung ist entscheidend, ob die gebildeten Transformationsprodukte durch die anschließende Aktivkohlefiltration zurückgehalten werden oder in das Trinkwasser übergehen. Es wurde daher auch Wasser nach der Aktivkohlefiltration auf das Auftreten der Transformationsprodukte untersucht. Nach der Aktivkohlefiltration ließen sich weder die untersuchten Arzneimittelwirkstoffe noch deren bekannte Transformationsprodukte nachweisen. Damit ist die Technik der Trinkwasseraufbereitung nach dem Mülheimer-Verfahren mit Ozonung, Mehrschichten- und Aktivkohlefiltration für die Entfernung der betrachteten Arzneimittel und Transformationsprodukte ein wirksamer Prozess.

2.6.5.3 Trinkwasseraufbereitung nach dem Düsseldorfer-Verfahren

Die Aufbereitung nach dem Düsseldorfer-Verfahren unterscheidet sich vom Mülheimer-Verfahren vor allem durch die Gewinnung des Uferfiltrats. Es erfolgt keine künstliche Infiltration, sondern natürliches Uferfiltrat wird nach einer Bodenpassage von ca. sechs Wochen in Brunnen als Mischung mit Grundwasser aufgefangen. Abbildung 52 zeigt den Konzentrationsverlauf von Carbamazepin im Rhein und im Rohwasser über einen Zeitraum von 18 Monaten zwischen Januar 2009 und Juli 2010.

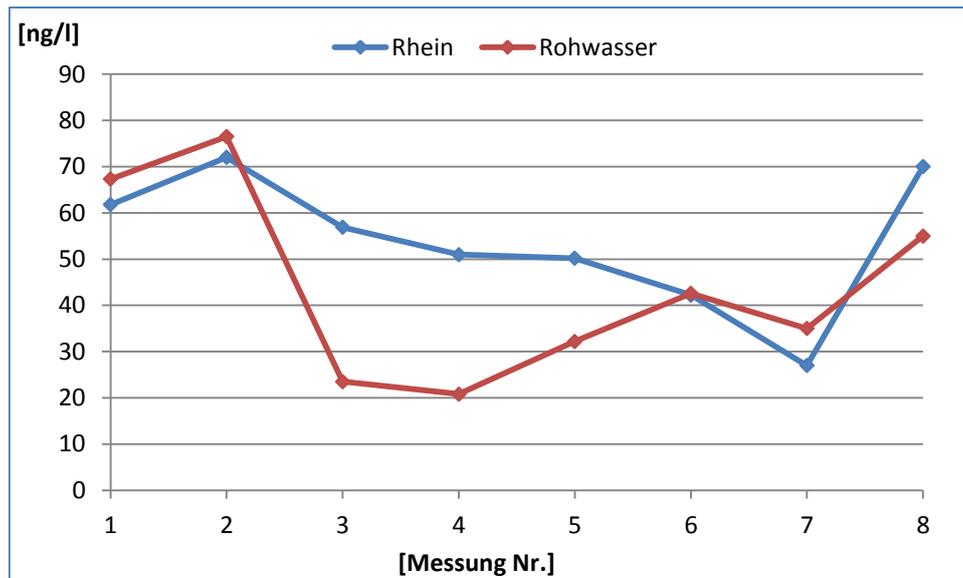


Abbildung 52: Konzentration von Carbamazepin im Rhein und im Rohwasser

Die mittlere Konzentration im Rhein lag über den betrachteten Zeitraum bei 54 ng/l, im Rohwasser (Uferfiltrat) bei 44 ng/l. Damit kann für Carbamazepin durch die Uferfiltration in Verbindung mit dem Vermischen mit Grundwasser die mittlere Konzentration um fast 20 % gesenkt werden. Wie schon bei der Aufbereitung nach dem Mülheimer-Verfahren beobachtet werden konnte (siehe Kapitel 2.6.5.2), wird Tramadol bei der Bodenpassage deutlich stärker zurückgehalten als Carbamazepin. Während im Rhein im Mittel 77 ng/l Tramadol gefunden wurden, war es im Rohwasser nur vereinzelt nachweisbar (siehe Abbildung 53).

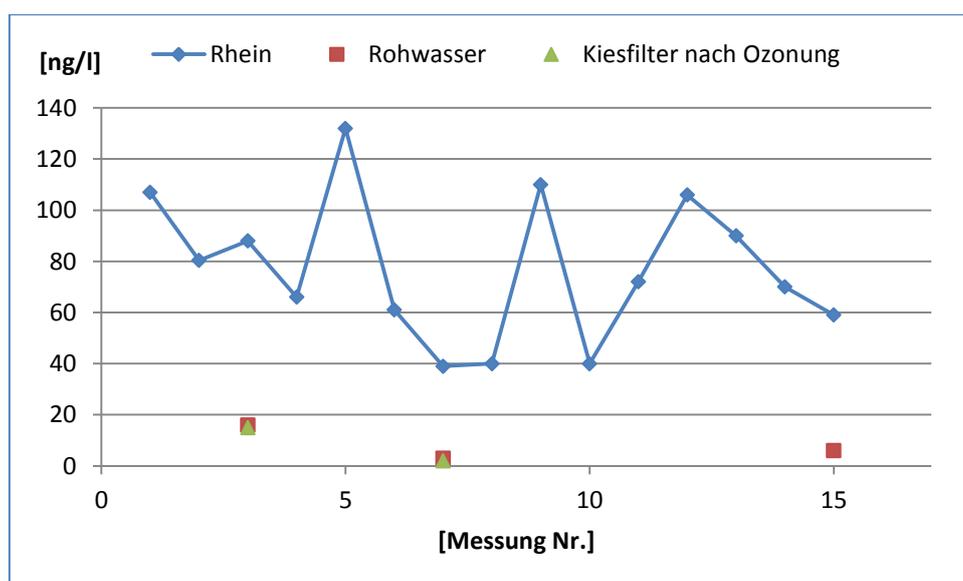


Abbildung 53: Konzentration von Tramadol im Rhein, im Rohwasser und nach Ozonung

Demnach kann Tramadol bei der Uferfiltration im Vergleich zu Carbamazepin sehr gut eliminiert werden. Jedoch muss ein weiterer Punkt beachtet werden. In den wenigen Fällen, wo Tramadol im Rohwasser nachgewiesen wurde, war die Konzentration nach der Ozonung beinahe identisch mit der im Rohwasser. Das heißt, ohne eine funktionierende Uferfiltration ist Tramadol mit der Ozonung allein nicht aus dem Trinkwasser zu entfernen. Diese Beobachtung entspricht den im Laborversuch erhaltenen Ergebnissen (siehe Kapitel 2.5), nach denen Tramadol nur langsam mit Ozon abgebaut wird. Im Ablauf des Aktivkohlefilters war Tramadol nicht mehr nachweisbar.

Ranitidin wurde im Oberflächenwasser nicht regelmäßig nachgewiesen, die Konzentrationen bewegten sich in einem Bereich zwischen 5 und 40 ng/l. Im Rohwasser wurde Ranitidin nur wenige Male in Spuren von weniger als 5 ng/l erfasst. Auch Oxcarbazepin ist im Rhein nur selten in Konzentrationen über 5 ng/l nachweisbar. Die Uferfiltration ist hier ein gutes Instrument zur Reduktion der Konzentrationen der betrachteten Arzneimittel. Tramadol und Ranitidin werden nahezu vollständig durch die Bodenpassage eliminiert, Carbamazepin deutlich in seiner Konzentration vermindert.

Bei der Aufbereitung im Wasserwerk erfolgt nach der Teilenthärtung die Verdüsung und Ozonung des Rohwassers. Tramadol und Ranitidin spielen auf Grund ihrer geringen Konzentrationen keine Rolle für die Prozesse im Wasserwerk. Carbamazepin hingegen, welches im Rohwasser mit einer mittleren Konzentration von 44 ng/l enthalten ist, weist nach Ozonung und Kiesfiltration noch eine mittlere Konzentration von 29 ng/l auf. Gleichzeitig lässt sich in fast allen Proben nach der Ozonung das Transformationsprodukt BQM nachweisen. Die zwei anderen Transformationsprodukte BQD und BaQD, die im Laborversuch ermittelt wurden, konnten in den Proben aus der Trinkwasseraufbereitung nicht nachgewiesen werden. In der Abbildung 54 sind die Response-Werte der Flächen von Carbamazepin und BQM bezogen auf den internen Standard Carbamazepin-d₁₀ dargestellt. An dieser Stelle wurden die Response-Werte gegenüber gestellt, da für das Transformationsprodukt BQM kein Standard mit bekannter Konzentration erhältlich ist. Der Zeitraum der Untersuchung umfasst die Monate Januar bis Dezember 2009.

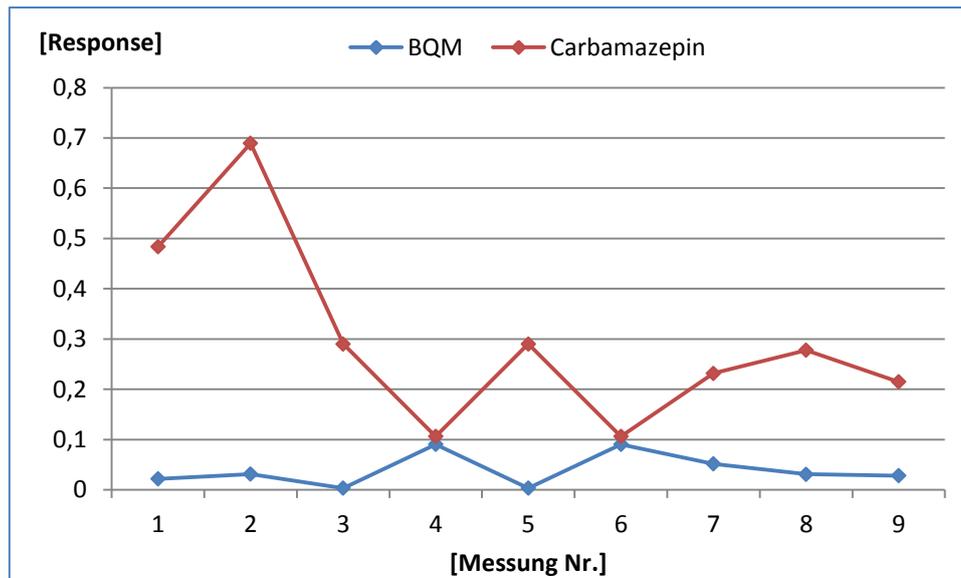


Abbildung 54: Response von Carbamazepin und BQM nach Ozonung

Die im Wasserwerk eingesetzte Ozonkonzentration von $c_{\text{Ozon}} = 0,1 \text{ g/m}^3$ Rohwasser reicht nicht aus, um Carbamazepin vollständig abzubauen. Auffällig ist, dass die Response-Werte von Carbamazepin und BQM gegensinnig verlaufen. Sinken die Carbamazepin-Werte auf ein Minimum, wie in Messung 4 bzw. 6 in Abbildung 54, so erreichen die BQM-Werte ein Maximum. Dies kann darauf beruhen, dass das Reaktionsprodukt der Ozonung eine etwas größere Stabilität als Carbamazepin besitzt.

Da die Reaktion von Carbamazepin mit Ozon in Konkurrenz mit anderen organischen Wasserinhaltsstoffen abläuft, ist ein Vergleich mit der Konzentration des gesamten organisch gebundenen Kohlenstoffs TOC vor der Ozonzugabe von Interesse. Der TOC ist ein Summenparameter unter anderem für die Abschätzung der Gewässergüte und lag 2009 im Rhein (km 722, links) im Mittel bei $2,4 \text{ mg/l}$. Die Bestimmung des TOC erfolgt durch Oxidation der im Wasser enthaltenen organischen Substanzen durch katalytische Verbrennung und Messung des dabei gebildeten CO_2 über Infrarot-Absorption. Auch der Gehalt an Eisen und Mangan kann die Ozonung beeinflussen. Durch die Ozonung werden gelöste Eisen- und Manganverbindungen zu ungelösten Verbindungen oxidiert. Die Reaktion mit Eisen und Mangan verbraucht Ozon, das dann nicht mehr für die Reaktion mit den organischen Spurenstoffen zur Verfügung steht.

Der TOC im Rohwasser schwankt um eine mittlere Konzentration von ca. $0,6 \text{ mg/l}$. Es lässt sich keine direkte Korrelation zwischen den Konzentrationen von Carbama-

zepin und BQM sowie dem TOC herstellen. Gleiches gilt auch für die Konzentrationen von Eisen und Mangan.

Da nach Ozonung und Kiesfiltration in vielen Proben sowohl Carbamazepin als auch das Transformationsprodukt BQM nachgewiesen werden konnte, wurde die anschließende Aktivkohlefiltration ebenfalls überprüft. Nach Durchlauf der Aktivkohlefilter konnte Carbamazepin nur selten in Spuren nachgewiesen werden, das Transformationsprodukt BQM war nicht mehr nachweisbar.

Ebenso wie das in Kapitel 2.6.5.2 beschriebene Mülheimer-Verfahren ist die Aufbereitung von Trinkwasser aus Uferfiltrat nach dem Düsseldorfer-Verfahren eine effektive Technik, um die untersuchten Arzneimittel sowie deren durch die Ozonung gebildeten Transformationsprodukte zu entfernen.

3. Zusammenfassung

Die Trinkwasserverordnung ⁽¹⁵⁾ bestimmt in § 4 (1) 1, dass Wasser für den menschlichen Gebrauch frei von Krankheitserregern, genusstauglich und rein sein muss. Das Wasser darf keine chemischen Substanzen enthalten, die nach den allgemein anerkannten Regeln der Technik und mit vertretbarem Aufwand unter Berücksichtigung der Umstände des Einzelfalls entfernt werden können ⁽¹⁵⁾. Diese Definition der Reinheit von Trinkwasser entspricht häufig nicht der Verbrauchermeinung, die Reinheit im Sinne von „nicht vorhanden“ versteht. Neben Pflanzenschutzmitteln sind vor allem Arzneimittel im Trinkwasser unabhängig von den vorliegenden Konzentrationen unerwünscht. Aus diesem Grund ist es wichtig, das Auftreten von Arzneimitteln in Gewässern, die für die Trinkwassergewinnung genutzt werden, zu untersuchen und das Verhalten während der Aufbereitung zu klären.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Auftreten von ausgewählten Arzneimittelwirkstoffen in Fließgewässern und deren Verhalten während der Trinkwasseraufbereitung untersucht. Ein besonderes Augenmerk galt dabei der Bildung und Analytik von Transformationsprodukten während der Ozonung.

Die sehr niedrigen Konzentrationen der Arzneimittel im Wasser stellen bei Untersuchungen dieser Art hohe Anforderungen an die Analytik. Daher wurde im ersten Schritt dieser Arbeit eine analytische Methode für die quantitative Bestimmung ausgewählter Arzneimittelwirkstoffe ab einer Konzentration von 5 ng/l entwickelt. Diese Methode arbeitet mit einem online-Cleanup, das einen schnellen und empfindlichen Nachweis ermöglicht. Die benötigte Probenmenge ist mit 10 ml sehr gering und die Automatisierung des Anreicherungs-schrittes lässt die Messung eines großen Probensatzes pro Messreihe zu.

Um das Verhalten der ausgewählten Arzneimittelwirkstoffe während der Ozonung bei der Trinkwasseraufbereitung aufzuklären, wurden die einzelnen Substanzen zunächst im Laborversuch in einem Blasensäulenreaktor ozonisiert. Die so erhaltenen Probelösungen wurden mit unterschiedlichen chromatographischen Methoden auf Transformationsprodukte untersucht. Ihren chemisch-physikalischen Eigenschaften entsprechend wurde hauptsächlich die Flüssigchromatographie eingesetzt. Einige der Produkte von Carbamazepin und Ranitidin konnten jedoch auch gaschromatographisch erfasst werden. Die Detektion erfolgte, mit Ausnahme der Ionenchromatographie, immer massenspektrometrisch.

Von den untersuchten Arzneimittelwirkstoffen Carbamazepin, Tramadol und Ranitidin bildete allein Carbamazepin in größeren Konzentrationen stabile Transformationsprodukte. Tramadol zeigte unter den angewandten Versuchsbedingungen nur eine langsame Reaktion mit Ozon. Es wurden zwar verschiedene, stabile Transformationsprodukte gebildet, jedoch nur mit geringer Konzentration. Ranitidin hingegen bildete unter Einwirkung von Ozon eine Anzahl kleinerer organischer und anorganischer Produkte, wie Ameisensäure und N-Nitrosodimethylamin, die ebenfalls nur in geringen Konzentrationen vorlagen.

Auch bei der Untersuchung der Oberflächengewässer zeigten sich zwischen den Arzneimittelwirkstoffen deutliche Unterschiede. Carbamazepin ist in den Oberflächengewässern in einem gleichbleibend hohen Konzentrationsbereich nachweisbar. Im Rhein lagen durchschnittlich 54 ng/l zwischen Januar 2009 und Juli 2010 vor. Auch Tramadol konnte in jeder der untersuchten Proben der Oberflächengewässer bestimmt werden, jedoch ist die Konzentration einer größeren Schwankung unterworfen als bei Carbamazepin. Ranitidin wurde in allen Oberflächengewässern nur vereinzelt nachgewiesen.

Das in dieser Arbeit untersuchte Rohwasser für die Trinkwasseraufbereitung wurde mit verschiedenen Verfahren der Uferfiltration gewonnen. Je nach den bei der Bodenpassage vorherrschenden Bedingungen war die Effektivität der Uferfiltration sehr unterschiedlich. Es konnte gezeigt werden, dass die Bodenpassage die Konzentrationen der Arzneimittel im Wasser deutlich absenken kann. Tramadol kann auf diese Weise fast vollständig entfernt, Carbamazepin noch deutlich reduziert werden. Im ungünstigsten Fall wurde jedoch auch nachgewiesen, dass keine Reduktion der Konzentrationen während der Bodenpassage stattfindet. Die Aufbereitung im Wasserwerk sollte daher nach dem aktuellen Stand der Technik auf die Entfernung organischer Spurenstoffe ausgelegt sein.

Das Verhalten der Arzneimittel während der Trinkwasseraufbereitung wurde an verschiedenen Aufbereitungsverfahren untersucht:

- Aufbereitung aus künstlich angereichertem Uferfiltrat mit Flockung/Filtration
- Aufbereitung aus künstlich angereichertem Uferfiltrat mit Ozonung und Aktivkohlefiltration nach dem Mülheimer-Verfahren
- Aufbereitung aus Uferfiltrat mit Ozonung und Aktivkohlefiltration nach dem Düsseldorfer-Verfahren

Ein Verfahren, das bei der Aufbereitung auf die Ozonung verzichtet, muss keine Maßnahmen treffen, um unerwünschte Nebenprodukte aus dem Trinkwasser zu entfernen. Die betrachteten Arzneimittelwirkstoffe selbst werden jedoch nicht eliminiert. Im Trinkwasser wurden Tramadol und Carbamazepin im selben Konzentrationsbereich wie im Rohwasser nachgewiesen.

Verfahren, die eine Ozonung verwenden, müssen die Bildung unerwünschter organischer und anorganischer Nebenprodukte in Betracht ziehen. Carbamazepin ist nach der Ozonung in den Wasserwerken nur noch vereinzelt nachweisbar, dafür konnte das Transformationsprodukt BQM nach der Ozonung häufig nachgewiesen werden. Dieses Produkt kann jedoch durch die nachgeschaltete Aktivkohlefiltration aus dem Wasser entfernt werden, so dass es in keiner Trinkwasserprobe nachweisbar war.

Die Tramadol-Konzentration kann unter bestimmten Bedingungen während der Uferfiltration deutlich gesenkt werden. In Fällen, in denen dies nicht gelingt, ist jedoch auch die Ozonung keine wirksame Maßnahme, da Tramadol, wie im Laborversuch gezeigt, auch bei der Ozonung im Wasserwerk nur sehr langsam mit Ozon reagiert. Wurde Tramadol im Rohwasser nachgewiesen, so änderte die Ozonung seine Konzentration kaum. Der entscheidende Schritt für die Elimination von Tramadol ist die Aktivkohlefiltration, ohne die es ungehindert in das Trinkwasser übergehen kann. Für eine effektive Entfernung der Arzneimittel bei der Trinkwasseraufbereitung müssen verschiedenste Bereiche optimal auf einander abgestimmt sein. Herrschen bei der Gewinnung des Uferfiltrats ungünstige Bedingungen für die Entfernung der Arzneimittelwirkstoffe, müssen im Wasserwerk Maßnahmen ergriffen werden, die dieses Defizit auffangen. Die Ozonung ist ein geeignetes Mittel, jedoch nur, wenn sie mit einer anschließenden Aktivkohlefiltration kombiniert wird.

Es ist wünschenswert, dass sowohl beim Einsatz als auch bei der Entsorgung der Arzneimittel Ansätze entwickelt werden, die die Belastung der Gewässer dauerhaft senken. Einige Länder der EU berücksichtigen bereits heute die Umweltverträglichkeit von Arzneimitteln bei deren Zulassung. Zahlreiche Projekte untersuchen die Verbesserung der Elimination von Arzneimitteln während der Abwasserbehandlung bzw. die gesonderte Behandlung besonders stark belasteter Abwässer, z.B. von Krankenhäusern. Alle Maßnahmen dienen letztlich dem Zweck, auch in Zukunft reines, genusstaugliches Trinkwasser zur Verfügung zu haben.

Anhang

1. Bestimmung von Arzneimitteln mit LC-MS/MS

Reagenzien und Standards

Chemikalien	Einsatz	Eigenschaften
Methanol	Fließmittel HPLC, Ansatz von Standardlösungen	LC/MS grade
Ameisensäure, konz.	Ansäuern der Proben, Eluenten	LC/MS grade
Essigsäure, konz.	Ansäuern der Proben, Eluenten	LC/MS grade
Ammoniumacetat	Herstellung von Fließmitteln	p.a.
Wasser mit 0,1 % Ameisensäure	Fließmittel HPLC Probenvorbereitung	LC/MS grade
Wasser	Fließmittel HPLC, Ansatz von Standards	Millipore, LC/MS-grade oder doppelt destilliert
Natriumthiosulfat	Abfangen von freiem Chlor in Proben	p.a.
EDTA	Komplexierung von störenden Kationen	p.a.
Argon	Betriebsgas LC/MS	Reinheitsgrad 5.0
Stickstoff	Betriebsgas LC/MS	Reinheitsgrad 5.0
Carbamazepin	Standard-Substanz	> 99 %
Carbamazepin-d10	Interner Standard	100 ng/ml in Methanol
Ranitidin	Standard-Substanz	> 99 %
Tramadol	Standard-Substanz	> 99 %

Verbrauchsmaterial LC-MS

Verbrauchsmaterial	Beschreibung	Hersteller
Equan™-Säulen: - Hypersil Gold C18 - Hypersil Gold C18AQ	20 x 2,1 mm, 12 µm	Thermo Fisher
Trennsäule: - Hypersil Phenyl	50 x 2,1 mm, 3 µm	Thermo Fisher
Spritzenvorsatzfilter	Chromafil Xtra RC-20/25, 0,20 µm	Macherey & Nagel
Autosamplervials	10 ml	IVA
Schraubkappe	Mit alukaschiertem Septum	IVA
Einwegspritzen	10 ml	

Geräte LC-MS-Messung

Gerät	Beschreibung	Hersteller
Filtrationseinheit	pneumatische Probenfiltration	Quma
Autosampler	CTC-Pal mit Equan™ Modul	CTC
Massenspektrometer	TSQ Quantum Access, TQU01393	Thermo Scientific
Säulenofen		Thermo Scientific
LC-Pumpen	Surveyor	Thermo Scientific

Basische Arzneimittel: Analyten LC-MS/MS-Messung mit online-Anreicherung

Substanz	Molekül Ion [M+H] ⁺	Tube Lens	Produkt Ion P 1 m/z	Kollisions Energie P 1	Produkt Ion P 2 m/z	Kollisions Energie P 2
Acetaminoantipyrin	246,085	104	104,103	22	228,066	14
α-Hydroxymetoprolol	254,13	81	159	20	177	18
Atenolol	267,108	77	145,069	27	190,12	13
Betaxolol	308,0	85	121	27	177	20
Bisoprolol	326,153	92	116,09	17	132,839	28
Carbamazepin	237,0	86	192	33	194	20
Carbamazepin-10,11-epoxid	253,03	83	180	24	210	12
Clenbuterol	277,0	100	203,1	16	259,2	10
Diazepam	284,728	99	154,13	27	193,177	33
Formylaminoantipyrin	232,075	90	204,039	12	214,001	15
Fenofibrat	361,889	103	139,026	29	233,765	16
Fenoterol	303,9	96	107,144	33	135,1	18
Furosemid	328,9	-103	205	23	261	17
Metoprolol	268,132	82	158,966	82	191,011	16
Oxcarbazepin	253,00	83	180	24	208	12
Pentoxifyllin	279,100	100	99	18	181,2	16
Phenazon	189,099	100	104,178	26	146,079	20
Phenylethylmalonamid	207,073	68	91,176	30	162,084	13
Pindolol	249,048	84	116,126	18	172,15	18
Primidon	219,017	94	91,17	31	161,989	11
Propranolol	260,11	73	155,022	26	183,028	18
Propyphenazon	231,1	97	146,0	23	189,0	21
Ranitidin	315,057	86	175,88	16	269,96	13
Salbutamol	240,193	69	121,096	30	148,12	17
Sotalol	273,071	77	133,126	25	213,033	17
Timolol	317,093	82	243,973	23	260,87	14
Tramadol	264,13	82	58,30	15	246,2	18

Interne Standards

Atenolol-d7	274,145	83	145	26	190	17
Sotalol-d6	279,066	75	134,003	28	260,971	11
Carbamazepin-d10	247,0	104	201	20	204	20

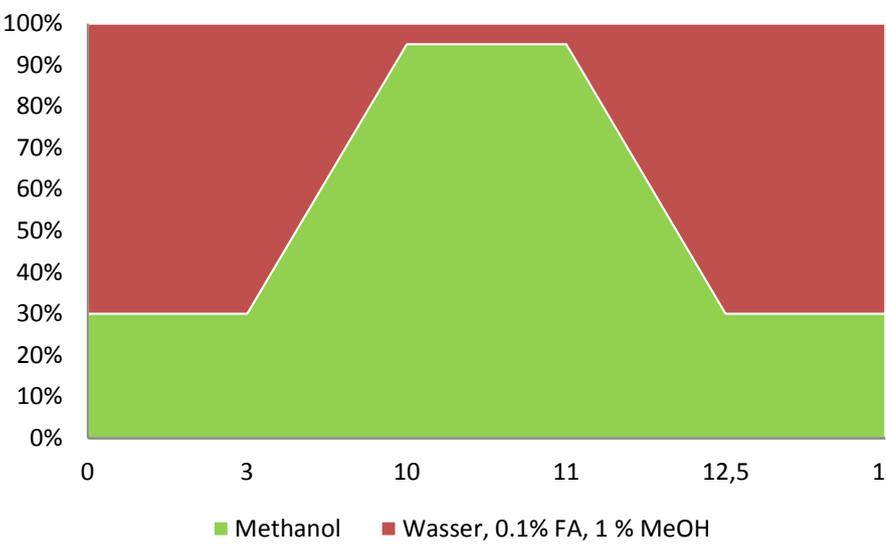
Massenspektrometrische Bedingungen

Aux-Gas	5 AU
Sheath-Gas	40 AU
Transfer-Capillary Temperature	270 °C
Spray-Voltage	3500 V
Dwelltime	70 ms
Mess-Modus	ESI positiv/negativ

Bedingungen der Anreicherung

LC-PAL	Single Step Injection
Injektionsvolumen	1100 µl
Ladezeit	150 s
Elutionszeit	500 s
Eluent	Wasser mit 0.1 % Ameisensäure und 10 % Methanol
Fluss	0.5 ml/min
Säule	20 x 2,1 mm, 12 µm Hypersil Gold

Bedingungen der chromatographischen Trennung

Säulentemperatur	25 °C
Fluss	150 ml/min
Gradient	 <p>100% 90% 80% 70% 60% 50% 40% 30% 20% 10% 0%</p> <p>0 3 10 11 12,5 14</p> <p>■ Methanol ■ Wasser, 0.1% FA, 1 % MeOH</p>
Eluent 1	Methanol
Eluent 2	Wasser mit 0,1 % Ameisensäure und 1 % Methanol

Um für alle Substanzen die nötige Empfindlichkeit zu erreichen, wurde die Messmethode in drei Segmente unterteilt. Diese Aufteilung verringert die Anzahl der zu erfassenden Massenübergänge in den einzelnen Segmenten. Abbildungen 55 - 57 zeigen die Massenspuren im MS/MS-Modus der untersuchten Arzneimittel einer Standardlösung in Trinkwasser der Konzentration 100 ng/l. Die Konzentration der internen Standards beträgt ebenfalls 100 ng/l.

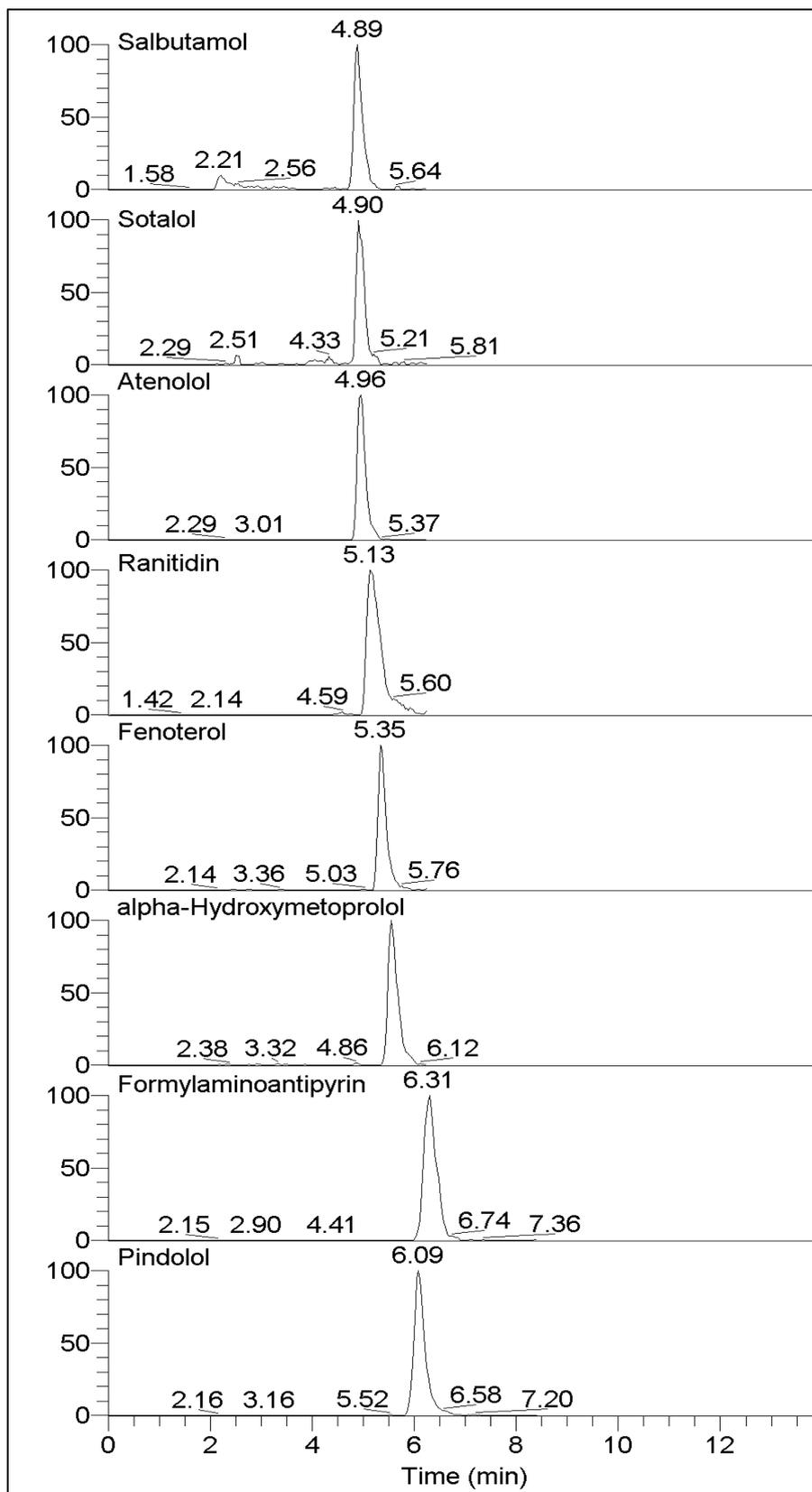


Abbildung 55: MS/MS-Massenspuren einer Standardlösung von 100 ng/l in Trinkwasser, Segmente 1 + 2

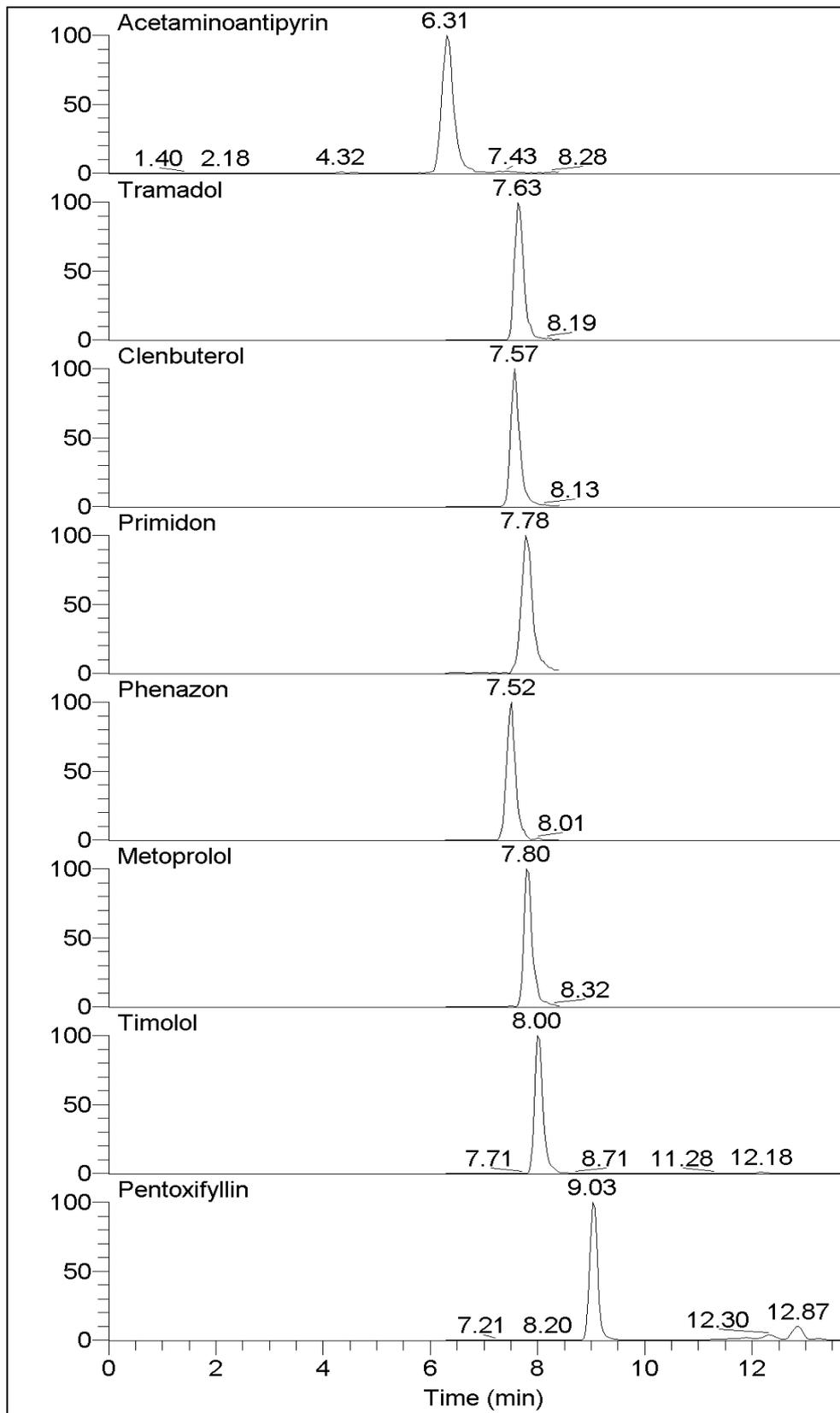


Abbildung 56: MS/MS-Massenspuren einer Standardlösung von 100 ng/l in Trinkwasser, Segmente 2 + 3

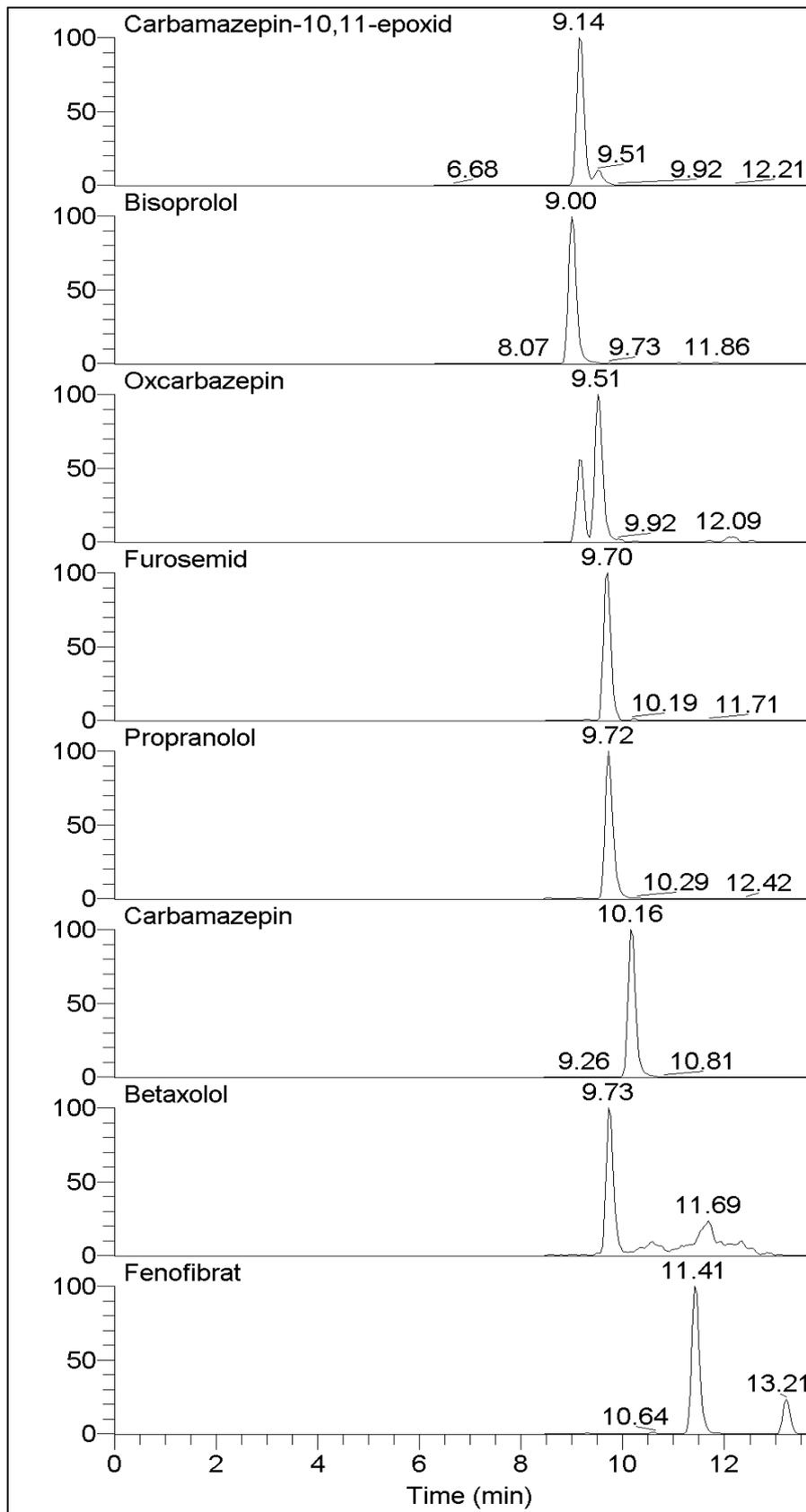


Abbildung 57: MS/MS-Massenspektren einer Standardlösung von 100 ng/l in Trinkwasser, Segmente 2 + 3

Carbamazepin-10,11-epoxid und Oxcarbazepin besitzen die gleiche nominale Masse $M_r = 253.0$ g/mol und weisen einen gemeinsamen Massenübergang auf ($m/z = 253.0 \rightarrow m/z = 180$). Daher ist die chromatographische Trennung beider Substanzen wichtig für eine exakte Quantifizierung beider Substanzen. Die Massenspur von Oxcarbazepin in Abbildung 57 zeigt, dass beide Substanzen annähernd basisliniengetreunt sind.

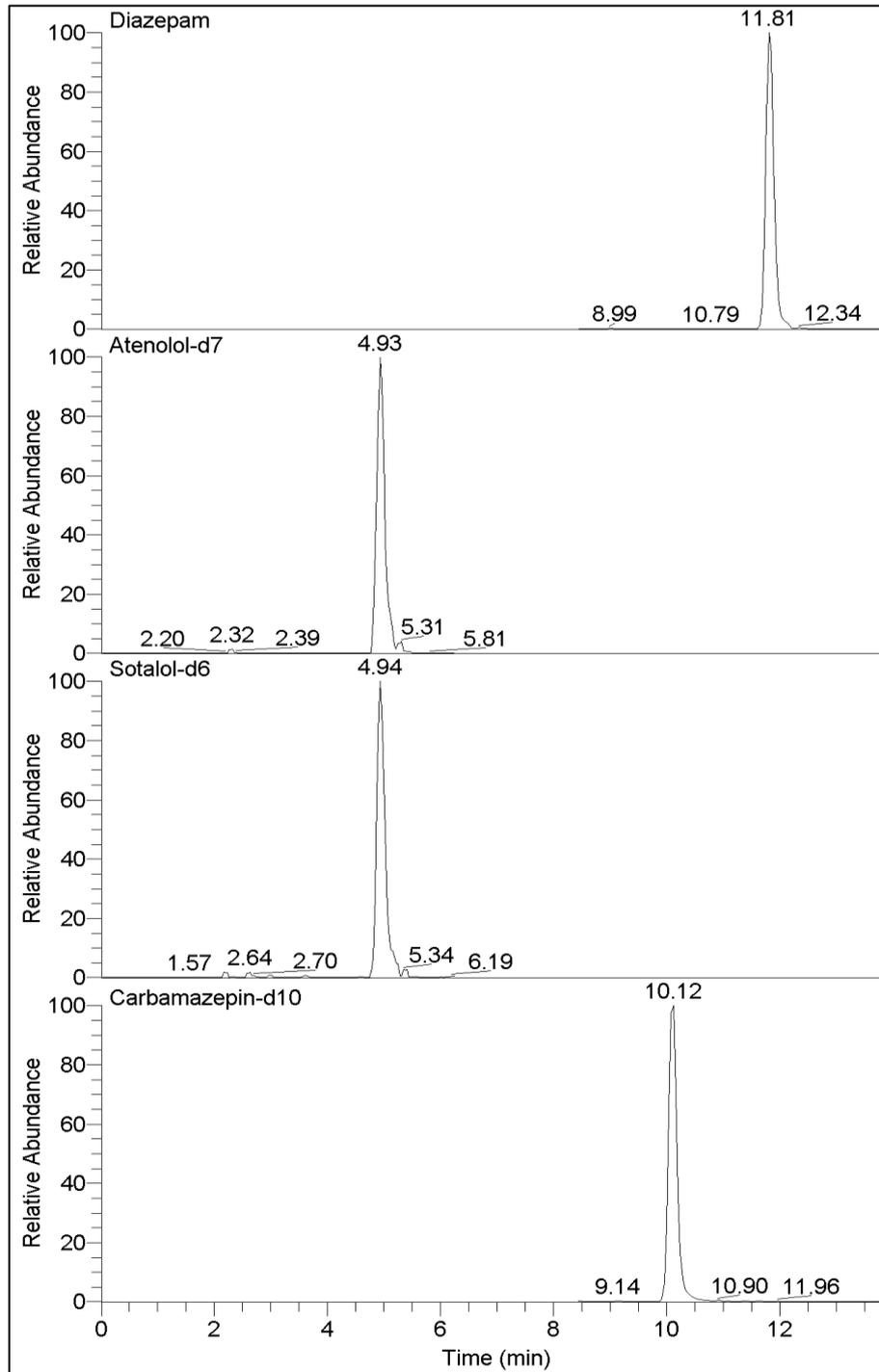


Abbildung 58: : MS/MS-Massenspur der internen Standards von 100 ng/l in Trinkwasser

2. Bestimmung von Ameisensäure mit Headspace GC-MS

Reagenzien

Natriumthiosulfat, p.a.	Aussalzen der Analyten
Kaliumhydrogensulfat	Ansäuern der Proben
Methanol, Pestilyse grade	Veresterungsreagenz
Helium, 5.0	Trägergas
Ameisensäure, p.a.	Standard

Verbrauchsmaterial

Headspace-Vials	20 ml	IVA
Crimp-Kappen	Pharma-Fix	IVA
Trennsäule	DB-VRX, 60 m, 0,25 mm, 1,4 µm	J&W

Geräte

Headspace Sampler	QHSS [®] -40	Quma Elektronik & Analytik GmbH
Gaschromatograph	6890N	Agilent Technologies
Massenspektrometer	6100	Agilent Technologies
Probenschüttler	Beheizbar	Quma Elektronik & Analytik GmbH

Chromatographische Bedingungen

Thermostatisierung	30 min
Injektortemperatur	150 °C
Fluss	1 ml/min, constant flow
Split Mode	5:1
Temperaturprogramm	40 °C (3 min) → 3 °/min 60 °C (0 min) → 30 °/min 200 °C (1 min)
Transferlinetemperatur	240 °C

Massenspektrometrische Bedingungen

Aquisition Mode	Scan
Low Mass	29 m/z
High Mass	70 m/z
Solvent Delay	5.8 min

Probenvorbereitung

- Einwaage von 4 g Na₂SO₄ und 0,5 g KHSO₄ in ein Headspace-Vial
- Zugabe von 10 g Probe
- Zugabe von 100 µl Methanol
- Thermostatisierung des verschlossenen Vials für 30 min bei 80 °C
- Messung mit Headspace-Gaschromatographie und massenspektrometrischer Detektion

3. Bestimmung von N-Nitrosodimethylamin mit GC-MS

Reagenzien

Dichlormethan, stabilisiert	Lösungsmittel Probenvorbereitung
Aceton, Pestilyse grade	Lösungsmittel Probenvorbereitung
Helium, 5.0	Trägergas
Methan, 4.0	CI-Gas
N-Nitrosodimethylamin	Standard
N-Nitrosodimethylamin-d6	Interner Standard

Verbrauchsmaterial

Caps	PP Schraubverschluss, Silikon/Teflon-Septen	IVA
Autosampler Vials	2 ml	IVA
SPE Säulen	EPA 521 Activated Charcoal 6 ml, 2 g	Restek
Trennsäule	RTX-440, 60 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm Film	Restek

Geräte

Autotrace™	Automatisierte Festpha- senextraktion	Dionex
Autosampler	CTC GC PAL	CTC
Gaschromatograph	Trace GC	Thermo Scientific
Massenspektrometer	Trace DSQ	Thermo Scientific
Trennsäule	RTX-440, 60 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm Film	Restek

Chromatographische Bedingungen

Injektortemperatur	40 °C
Fluss	1 ml/min, constant flow
Split Mode	Split/splitless
Splitflow	50 ml/min
Temperaturprogramm	32 °C (5 min) → 10 °/min 130 °C (0 min) → 40 °/min 250 °C (1.5 min)
Transferlinetemperatur	250 °C

Massenspektrometrische Bedingungen

Aquisition Mode	SIM
CI-Gas	Methan
Flow	1.7 ml/min
Segment 1	75.1 m/z, 89 m/z
Solvent Delay	4.5 min

Probenvorbereitung

- 1000 g der Probe werden eingewogen und mit einer Lösung des internen Standards versetzt (c = 50 ng/l)
- Anreicherung der Analyten über Festphasen aus 2 g aktivierter Holzkohle
- Elution mit 5 ml Dichlormethan
- Einengen des Extraktes auf 0.5 ml
- Messung mit GC-MS mit chemischer Ionisation

4. Ionenchromatographie

Reagenzien

Natriumcarbonat	Herstellung des Eluenten
Natriumhydrogencarbonat	Herstellung des Eluenten

Verbrauchsmaterial

Caps	Mit integrierter Filterfritte	Dionex
Autosampler Vials	6 ml	Dionex
Trennsäule	Ionpac AS14-4mm (10-32)	Dionex

Geräte

Ionenchromatograph	DX-120	Dionex
Leitfähigkeitsdetektor	W/HTR	Dionex
Autosampler		Dionex

Chromatographische Bedingungen

Injektionsvolumen	25 µl
Fluss	1,5 ml/min
Eluent	3,5 mM/l Natriumcarbonat 1,0 mM/l Natriumhydrogencarbonat
Thermostat-Temperatur	30 °C

Eine Probenvorbereitung ist für die in dieser Arbeit untersuchten Proben nicht notwendig. Die Proben können nach dem Umfüllen in Autosampler Vials direkt untersucht werden.

5. SPE-Anreicherung Transformationsprodukte Tramadol

Verbrauchsmaterial und Chemikalien

Aceton, pestilyse grade	Konditionierung / Elution	Carl Roth
Wasser, deion.	Konditionierung	
Methanol, pestilyse grade	Probenvorbereitung	Carl Roth
SPE Kartuschen	H-RX, 200 mg, 6 ml	Macherey&Nagel

Stickstoff, 5.0	Trocknung SPE Kartuschen Einengen der Proben	Air Products
-----------------	---	--------------

Geräte

Autotrace™	Automatisierte Festphasenextraktion	Dionex
Verdampfer	Einengen der Proben	QUMA

Probenvorbereitung

- 1100 ml Probe werden mit 10 ml Methanol versetzt
- Automatische Anreicherung mit 10 ml/min
- Trocknung mit Stickstoff bei 70 °C
- Elution mit 5 ml Aceton
- Einengen der Probe auf 0,5 ml und Aufnahme in 10 ml Wasser

Literaturverzeichnis

1. **M. Salomon**, Pharmazeutische Wirkstoffe und Umweltschutz. 2007, Bd. 19, 3, S. 155-167.
2. *Aktuelle Studie: Verbrauchsmengen von Tierarzneimitteln*. UBA-Symposium - Arzneimittel in der Umwelt. Berlin : s.n., 2004.
3. **U. Schwabe, D. Paffrath, [Hrsg.]** *Arzneiverordnungsreport 2007*. Heidelberg : Springer Medizin Verlag, 2008.
4. **DOCUMED AG** Arzneimittelkompendium der Schweiz. [Online] 2008.
5. **LANUV**, *Eintrag von Arzneimitteln und deren Verbleib und Verhalten in der Umwelt*. 2007.
6. **K. Ritter, [Hrsg.]** *Trinkwasser-Desinfektion*. s.l. : Oldenbourg Industrieverlag, 2007. 2. Auflage.
7. **M. Krauss**, Nitrosamine - eine Gefahr für das Trinkwasser? *EAWAG News*. April 2009, 66d.
8. **Umweltbundesamt**, www.umweltbundesamt.de/wasser/themen/trinkwasser/filtration. [Online] Mai 2007 [Zitat vom: 28. November 2009]
9. **M. Jekel, D. Bloem**, *Exportorientierte Forschung und Entwicklung auf dem Gebiet der Wasserver- und -entsorgung, Teil I: Trinkwasser*. Berlin : Bundesministerium für Forschung und Bildung, 2007.
10. DIN 4049-3. *Hydrologie - Teil 3: Begriffe zur quantitativen Hydrologie*. s.l. : Beuth, 1994 -10.
11. **Dipl.-Chem. D. Bloem, Prof. Dr.-Ing. M. Jekel**, *Kernprojekt B 3: Rolle des Redoxmilieus für die Aufbereitungswirkung der Uferfiltration*. Bonn : Bundesministerium für Bildung und Forschung, April 2006.
12. **G. Massmann, et al.**, *Hydrodynamische und hydrochemische Aspekte der anthropogenen und natürlich induzierten Uferfiltration am Beispiel von Berlin/Brandenburg*. *Grundwasser*, September 2009, Bd. 14, 3, S. 163 - 177.
13. **M. Effenberger, H. Weiß, P. Popp, M. Schirmer**, *Untersuchungen zum Benzininhaltstoff Methyl-tertiär-butylether (MTBE) in Grund- und Oberflächenwasser in Deutschland*. *Grundwasser*, 2001, Bd. 6, 2.
14. **H. D. Stupp, A. Bakenhus, M. Gass, D. Mäurer, D. Lorenz**, *Grundwasserverunreinigungen durch Oxygenate - Verhalten von MTBE, ETBE, Ethanol, TAME und TAEE im Grundwasser*, *Altlastenspektrum*, 2008, Bd. 3.
15. Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch - TrinkwV 2001. s.l. : BGBl.1 S. 959, 21.05.2001.
16. **F. Geldsetzer, A. Behler** *Römp online - Flockungshilfsmittel*. [Online] 04 2007. [Zitat vom: 28. 02 2011.]
17. **Sachtleben Wasserchemie GmbH** *PAC in Trinkwasser*. Duisburg : s.n., 2009.
18. **BGIA - Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung**, *GESTIS-Stoffdatenbank. Ozon*. [Online] 2007.
19. **A. F. Holleman**, *Lehrbuch der anorganischen Chemie*. Berlin : Walter de Gruyter Co., 1985.

20. **N. Greenwood, A. Earnshaw**, *Chemie der Elemente*. Weinheim : Wiley-VCH, 1998. S. 786 - 792.
21. **J. Wingender**, www.roempp.com. *Ozon*. [Online] 3.0, 12 2006.
22. **J. J. Beltrán**, *Ozone Reaction Kinetics for Water and Wastewater Systems*. Boca Raton : CRC Press LLC, 2004.
23. **C. Gottschalk, J. Libra, A. Saupe**, *Ozonation of Water and Wastewater*. Weinheim : Wiley-VCH, 2000.
24. **W. Dietrich, G. Scholz, J. Voit**, *Linde-Verfahren für die Gewinnung von Sauerstoff und Ozon für eine Zellstoff und Papierfabrik*. s.l. : Linde AG, 2000.
25. **P. S. Bailey**, *Ozonation in Organic Chemistry*. London : Academic Press, Inc., 1978.
26. **S. Kubik**, www.roempp.com, Ozonisierung, [Online] 3.0, 07 2007
27. **U. von Gunten**, *Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation*, *Water Research*. 2002, Bd. 37, S. 1443-1467.
28. **F. Frimmel, M. Müller, [Hrsg.]** *Heil-Lasten Arzneimittelrückstände in Wasser*. Berlin : Springer Verlag, 2006.
29. **GKV-Arzneimittelindex im wissenschaftlichen Institut der AOK**, *Anatomisch-therapeutisch-chemische Klassifikation mit Tagesdosen, Amtliche Fassung des ATC-Index mit DDD-Angaben für Detuschland*. s.l. : Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information, 2007.
30. **Bund/Länderausschuss für Chemikaliensicherheit**, *Arzneimittel in der Umwelt - Auswertung der Untersuchungsergebnisse*. s.l. : Freie Hansestadt Hamburg, Institut für Hygiene und Umwelt, 2003.
31. **Umweltbundesamt (Hrsg.)** *Arzneimittel in der Umwelt - Zu Risiken und Nebenwirkungen fragen sie ihr Umweltbundesamt*. IV 1.2. Dessau : s.n., 2005. Texte 29/05.
32. **Dr. C. Wilhelm-Gößling**, *Neuroleptikaverordnungen bei dementen Alterspatienten*. *Der Nervenarzt*, November 1998, Bd. 69, S. 999-1006.
33. **C. Haw, J. Stubbs**, *A survey of the off-label use of mood stabilizers in a large psychiatric hospital*. *Journal of Psychopharmacology*, 2005, Bd. 19, 4, S. 402-407.
34. **F. Huying, S. Klimpe, K. J. Werhahn**, *Antiepileptic drug use in nursing home residents: A cross-sectional, regional study*. *Seizure*. 2006, Bd. 15, 3, S. 195-197.
35. **M. Maizels, B.I McCarberg**, *Antidepressants and Antiepileptic Drugs for Chronic Non-Cancer Pain*. *American Family Physician*. Februar 2005.
36. **U. W. Buettner**, *Chronische neuropathische Schmerzen*. [Hrsg.] Schweizerische Gesellschaft zum Studium des Schmerzes. *dolor - Schmerztherapie in der Praxis*. 2006, Bd. 2.
37. **C. K. Schmidt, F. Sacher, H.-J. Brauch**, *Strategies for minimising formation of NDMA and other nitrosamines during disinfection of drinking water*. Paper presented during the AWWA Water Quality Technology Conference, 5-9 November 2006, Denver, US : s.n., 2006.

38. **K. A. Lehmann**, *Le Tramadol dans les douleurs aiguës*. Drugs. 1997, Bd. 53, Supplement 2, S. 25-33.
39. **D. Naleschinski, R. Baron**, *Therapie und Diagnostik neuropathischer Schmerzen*. Psychopharmakotherapie. 2008, Bd. 5.
40. **I. Brehm**, www.roempp.com. *HPLC*. [Online] Februar 2004. [Zitat vom: 5. Dezember 2009.]
41. —. www.roempp.com. *NP-HPLC*. [Online] Mai 2004. [Zitat vom: 5. August 2009.]
42. **K. K. Unger, [Hrsg.]**. *Handbuch der HPLC -Teil 1 Leitfaden für Anfänger und Praktiker*. Darmstadt : GIT-Verlag, 1989.
43. **I. Brehm**, www.roempp.com. *reverse Phasen*. [Online] Georg Thieme Verlag, Dezember 2007. [Zitat vom: 5.. Dezember 2009.]
44. **P. Fleischmann**, www.roempp-online.de. *Ionenchromatographie*. [Online] Georg Thieme Verlag, November 2004. [Zitat vom: 5.. Dezember 2009.]
45. **Dionex Corporation**, *Product Manual Anion-Selfregenerating-Suppressor 300*. 2008. Bd. Revision 06, August 2008.
46. **P. Fleischmann**, www.roempp-online.de. *Ionenaustauschchromatographie*. [Online] Geoarg Thieme Verlag, November 2004. [Zitat vom: 5. Dezember 2009.]
47. **U. Engelhardt**, www.roempp.com. *Gaschromatographie*. [Online] Georg Thieme Verlag, November 2004. [Zitat vom: 5. Dezember 2009.]
48. **D. A. Skoog, J. J. Leary**, *Instrumentelle Analytik: Grundlagen - Geräte - Anwendungen*. Berlin : Springer, 1996.
49. **J. H.Gross**, *Mass Spectrometry*. Heidelberg : Springer-Verlag, 2004.
50. **I. Brehm**, www.roempp.com. *Massenspektrometrie*. [Online] Georg Thieme Verlag, Mai 2004. [Zitat vom: 5. Dezember 2009.]
51. **O. Hampe, J. K. Wesener**, www.roempp.com. *Elektrospray-Ionisation*. [Online] Georg Thieme Verlag, August 2008. [Zitat vom: 5. Dezember 2009.]
52. **I. Brehm**, www.roempp.com. *Massenspektrometrie*. [Online] Mai 2004. [Zitat vom: 15.. August 2009.]
53. **Deutsches Institut für Normung e.V.**, DIN 32645 *Chemische Analytik - Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen - Begriffe, Verfahren, Auswertung*. 2008 - 11. Berlin : Beuth Verlag.
54. **Dr. J. Kleiner**, SQS 2000, Software zur statistischen Qualitätskontrolle analytischer Daten.
55. **F.T. Peters, et al.** Anforderungen an die Validierung von Analysemethoden. *Anhang B der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen*. s.l. : Gesellschaft für toxische und forensische Chemie, Arbeitskreis Qualitätssicherung, 10.06.2009.
56. **EVD, Eidgenössisches Volkswirtschaftsdepartement** *Leitfaden zur Akkreditierung Schweizer Prüflaboratorien zur Durchführung forensischer Drogenanalytik*. Dokument Nr. 318d. August 2005, Rev. 01.
57. **International Organization for Standardization**, *Water quality - Guidance on analytical quality control an physicochemical water analysis. ISO/TS 13530*. 2009.

58. **U.S. Environmental Protection Agency**, Method 1694: Pharmaceutical and Personal Care Products in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HPLC/MS/MS. Washington D. C. : s.n., 2007.
59. **D. C. McDowell, et al.** *Ozonation of Carbamazepine in Drinking Water: Identification and Kinetic Study of Major Oxidation Products*. Environ. Sci. Technol. 2005, Bd. 39, 20, S. 8014 - 8022.
60. **T. Ternes, et al.** *Removal of Pharmaceuticals during Drinking Water Treatment*. Environ. Sci. Technol. 2002, Bd. 36, S. 3855 - 3863.
61. **M. Constapel**, *Untersuchungen zum Abbau ausgewählter Reaktivfarbstoffhydrolysate mit Ozon: Charakterisierung der Abbauprodukte durch LC-MS Analyse*. Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Naturwissenschaften. Wuppertal : s.n., 2004.
62. **O. Rörden**, Bestimmung von Ameisensäure als Methylester mit Headspace-Gaschromatographie.
63. **M. Hofer**, www.roempp.com. *Nitrosamine*. [Online] Dezember 2007. [Zitat vom: 12. April 2010.]
64. **Umweltbundesamt**, *Bewertung der Anwesenheit teil- oder nichtbewertbarer Stoffe im Trinkwasser aus gesundheitlicher Sicht*. Bundesgesundheitsblatt. 2003, Bd. 46, S. 249-251.
65. **G. Dillon, S. Blake, P. Rumsby, L. Rockett, T. Hall, P. Jackson, A. Rawlinson.** *NDMA - Concentrations in drinking water and factors affecting its formation*. DEFRA. Swindon : WRc Swindon, 2008.
66. **J. Choi, R. L. Valentine**, *Formation of N-Nitrosodimethylamine in Chloraminated Water: new Desinfection-Byproduct*. San Diego : Department of Civil and Environmental Engineering, University of Iowa, 2001.
67. **I. Najm, R. R. Trussell**, *NDMA Formation in Water and Wastewater*. Journal of the American Water Works Association. 2001, Bd. 93, 2, S. 92-99.
68. **A. SchmuKat, J. Benner, T. Ternes**, *Ozonierung von Tramadol und Primidon: kinetische Studien und Identifizierung der Oxidationsprodukte*. [Poster]. Jahrestagung der Wasserchemischen Gesellschaft, Stralsund : s.n., 2009.
69. **C. K. Schmidt, H. J. Brauch**, *N,N-dimethylsulfamide as precursor for N-nitrosodimethylamine (NDMA) formation upon ozonation and its fate during drinking water treatment*. Environmental Science & Technology. 2008, Bde. 42(17): 6340-6.
70. **C. K. Schmidt**, *N,N-Dimethylsulfamid (DMS) - Ein Problemstoff mit zwei Gesichtern*. Karlsruhe : Technologiezentrum für Wasser, 2007-03.
71. **W. Chen, T. M. Young**, *NDMA Formation during Chlorination and Chloramination of Aqueous Diuron Solutions*. Environmental Science & Technology. 2008, Bde. 42(4); 1072-1077.
72. **M. Krauss**, *Nitrosamine - Eine Gefahr für das Trinkwasser?* Eawag News. 2009, Bd. 66d.
73. **U. Schwabe, D. Paffrath, [Hrsg.]** *Arzneiverordnungsreport 2007*. Heidelberg : Springer Medizin Verlag, 2008.

74. **Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information**, *Anatomisch-therapeutisch-chemische Klassifikation mit Tagendosen*. 2007.
75. **M. Leclercq, et. al.**, *Presence and fate of carbamazepine, oxcarbazepine, and seven of their metabolites at wastewater treatment plants*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 2009, Bd. 56 (3), S. 408-415.
76. **C. K. Schmidt, H.-J. Brauch**, *Untersuchungen zur Spurenstoffentfernung bei der Uferfiltration in Abhängigkeit von der Wasserführung und Temperatur des Rheins*. Arbeitsgemeinschaft Rhein-Wasserwerke e.V. 2009.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Eintragspfade von Arzneimitteln	4
Abbildung 2: Carbamazepin in der Umwelt.....	5
Abbildung 3: Schematische Darstellung der Uferfiltration.....	7
Abbildung 4: Trinkwasseraufbereitung nach dem Düsseldorfer-Verfahren.....	9
Abbildung 5: Das Mülheimer-Verfahren.....	11
Abbildung 6: Mesomere Strukturen des Ozons	12
Abbildung 7: Criegee-Mechanismus der Ozonolyse von Alkenen	15
Abbildung 8: Schema einer Flüssigchromatographie mit online-Anreicherung.....	25
Abbildung 9: Schema einer Ionenchromatographie	26
Abbildung 10: Schema eines Gaschromatographen	28
Abbildung 11: Tandem-Massenspektrometer für die Flüssigchromatographie mit Elektrospray-Ionisation	31
Abbildung 12: Aufbau einer Ionenfalle	32
Abbildung 13: Chromatogramm eines Standards, Konzentration 10 ng/l	41
Abbildung 14: Kalibriergeraden für die Ermittlung von Nachweis- und Bestimmungsgrenze von Carbamazepin, Tramadol und Ranitidin.....	44
Abbildung 15: Wiederfindungs-Kontrollkarte für Tramadol	47
Abbildung 16: Wiederfindungs-Kontrollkarte für Carbamazepin	47
Abbildung 17: Wiederfindungs-Kontrollkarte für Ranitidin.....	48
Abbildung 18: Aufbau der Versuchsanordnung für die Ozonisierung der Arzneimittelwirkstoffe	50
Abbildung 19: Blasensäulenreaktor mit Reaktionslösung.....	50
Abbildung 20: Versuchsaufbau für die Direkt-Injektion	53
Abbildung 21: MS-Fullscan einer ozonisierten wässrigen Carbamazepinlösung im ESI+ Modus nach Direkt-Injektion	54
Abbildung 23: MS/MS-Spektrum der Masse $m/z = 251$ (BQM) und Intensitätsverhältnis der Fragmente	55
Abbildung 24: Vorschlag eines Reaktionsweges für die Bildung des Transformationsprodukts BQM	53
Abbildung 25: Transformationsprodukt BQD.....	54
Abbildung 26: Transformationsprodukt BaQD.....	54
Abbildung 27: MS/MS-Spektrum der Masse $m/z = 267$ (BQD) und Intensitätsverhältnis der Fragmente	57
Abbildung 28: MS/MS-Spektrum Masse $m/z = 283$ (BaQD) und Intensitätsverhältnis der Fragmente	57
Abbildung 29: MS/MS-Messung von Carbamazepin und dessen Transformationsprodukten	59

Abbildung 30: MS/MS-Messung von Carbamazepin und dessen Transformationsprodukten in Rohwasser nach Ozonisierung, aufgestockt mit 100 µg/l Carbamazepin, Messung im ESI+ Modus ...	60
Abbildung 32: Zeitlicher Verlauf der Bildung von Nitrat aus Carbamazepin.....	62
Abbildung 33: MS-Fullscan einer ozonisierten wässrigen Ranitidinlösung im ESI+ Modus nach Direkt-Injektion	63
Abbildung 34: Abnahme der Ranitidinkonzentration während der Ozonisierung.....	64
Abbildung 35: Bildung von Nitrat und Sulfat während der Ozonolyse von Ranitidin ..	65
Abbildung 36: Vorgeschlagener Reaktionsweg zur Bildung von Ameisensäure und Nitrat aus Ranitidin	67
Abbildung 37: Zeitlicher Verlauf der Nitratkonzentration und des pH-Wertes bei der Ozonisierung einer Ranitidinlösung.....	67
Abbildung 38: Bildung von Ameisensäure aus Ranitidin	68
Abbildung 39: Struktur von N-Nitrosodimethylamin	66
Abbildung 40: Nachweis von NDMA aus Ranitidin nach einer Reaktionszeit von 30 min.....	70
Abbildung 41: Massenspektrum einer ozonisierten wässrigen Tramadol-Lösung.....	72
Abbildung 42: Fragmentierung von Tramadol.....	73
Abbildung 43: MS/MS-Massenspektrum des Transformationsproduktes P 279.....	74
Abbildung 44: Strukturvorschlag des Produktes P 279 nach Protonierung und Fragmentierung bei MS/MS-Experimenten	74
Abbildung 45: Fragmente des Transformationsproduktes P 279.....	75
Abbildung 46: Vorschlag für die Bildung des Produkt-Ions $m/z = 58$	75
Abbildung 47: MS/MS-Massenspektrum des Transformationsproduktes P 295.....	75
Abbildung 48: Vorschlag für die Struktur und Fragmentierung von P 295	76
Abbildung 49: Abnahme der Tramadolkonzentration während der Ozonisierung	77
Abbildung 50: Carbamazepin-Konzentration im Oberflächenwasser und nach Filtration.....	82
Abbildung 51: Tramadol-Konzentration im Oberflächenwasser und nach Filtration ..	82
Abbildung 52: Konzentration von Carbamazepin im Rhein und im Rohwasser	87
Abbildung 53: Konzentration von Tramadol im Rhein, im Rohwasser und nach Ozonung.....	87
Abbildung 54: Response von Carbamazepin und BQM nach Ozonung	89
Abbildung 55: MS/MS-Massenspektren einer Standardlösung von 100 ng/l in Trinkwasser, Segmente 1 + 2.....	97
Abbildung 56: MS/MS-Massenspektren einer Standardlösung von 100 ng/l in Trinkwasser, Segmente 2 + 3.....	98
Abbildung 57: MS/MS-Massenspektren einer Standardlösung von 100 ng/l in Trinkwasser, Segmente 2 + 3.....	99
Abbildung 58: MS/MS-Massenspektren der internen Standards von 100 ng/l in Trinkwasser	100

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Antiepileptika.....	19
Tabelle 2: Kenngrößen und Metaboliten des Arzneimittelwirkstoffs Carbamazepin .	21
Tabelle 3: Kenngrößen und Metaboliten des Arzneimittelwirkstoffs Ranitidin.....	22
Tabelle 4: Kenngrößen und Metaboliten des Arzneimittelwirkstoffs Tramadol	23
Tabelle 5: Ausgewählte Arzneimittelwirkstoffe.....	35
Tabelle 6: Chromatographische Bedingungen.....	40
Tabelle 7: Massenspektrometrische Bedingungen	42
Tabelle 8: Validierungsdaten von Carbamazepin, Tramadol und Ranitidin	43
Tabelle 9: Überprüfung der Wiederfindung von Carbamazepin, Tramadol und Ranitidin.....	46
Tabelle 10: Bedingungen bei der LC-MS/MS Direkt-Injektion.....	54
Tabelle 11: Übersicht der Massenübergänge der Transformationsprodukte von Carbamazepin bei MS/MS-Untersuchungen.....	58
Tabelle 12: Bildung von NDMA aus Ranitidin	71
Tabelle 13: MS/MS/Untersuchungen von Tramadol und Reaktionsprodukten	73
Tabelle 14: Im Verlauf der Trinkwasseraufbereitung untersuchte Arzneimittelwirkstoffe und Transformationsprodukte	81
Tabelle 15: Arzneimittel-Konzentrationen im Verlauf der Aufbereitung nach dem Mülheimer-Verfahren	84

Abkürzungen

APCI	Atmospheric Pressure Chemical Ionization
amu	atomic mass unit
BaQD	1-(2-Benzoesäure)-4-hydro-(1 <i>H</i> , 3 <i>H</i>)-quinazolin-2,4-dion
BQD	1-(2-Benzaldehyd)-4-hydro-(1 <i>H</i> , 3 <i>H</i>)-quinazolin-2,4-dion
BQM	1-(2-Benzaldehyd)-4-hydro-(1 <i>H</i> , 3 <i>H</i>)-quinazolin-2-on
CBZ	Carbamazepin
CI	Chemische Ionisation
DDD	Defined Daily Doses
DOC	Dissolved Organic Carbon
ECD	Electron Capture Detector
EI	Elektronische Ionisation
EPA	Environmental Protection Agency
ESI	Electrospray Ionization
FID	Flammen-Ionisations-Detektor
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IC	Ionenchromatographie
LC	Liquid Chromatography
MS	Massenspektrometer
MTBE	Methyltertiärbutylether
NDMA	N-Nitrosodimethylamin
NOM	Natural Organic Matter
NP	Normal Phase
PAC	Polyaluminiumchlorid
RP	Reversed Phase
Sdp	Siedepunkt
Smp	Schmelzpunkt
SPE	Solid Phase Extraction
TOC	Total Organic Carbon
UV	Ultraviolett
Wdf	Wiederfindung