

Sobhy Hamed

Enantioselektive Bestimmung chiraler Toxaphenkongenere in Legehennen- und Eierproben mittels gaschromatographisch massenspektrometrischer Methoden

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Institut für Lebensmitteltechnologie und Analytische Chemie
Lehrstuhl für Chemisch-Technische Analyse und Chemische Lebensmitteltechnologie
in Freising-Weihenstephan

Enantioselektive Bestimmung chiraler Toxaphenkongenere in Legehennen- und Eierproben mittels gaschromatographisch massenspektrometrischer Methoden

Sobhy Abd El Rahiem Hamed

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Agrarwissenschaften
(Dr. agr.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr.-Ing. R. Meyer-Pittroff

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Dr. agr. habil. H. Parlar
2. Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Dr. h.c.(RO) A. Kettrup

Die Dissertation wurde am 24.04.2003 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 17.04.2003 angenommen.

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von November 1999 bis April 2003 am Institut für Lebensmitteltechnologie und Analytische Chemie der Technischen Universität München, Lehrstuhl für Chemisch-Technische Analyse und chemische Lebensmitteltechnologie in Freising / Weihenstephan durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. H. Parlar gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des außerordentlich interessanten Themas, seine stete Diskussionsbereitschaft, seine wohlwollende und umfassende Unterstützung sowie insbesondere für die großzügige finanzielle Förderung.

Herrn Dr. G. Leupold, Arbeitsgruppenleiter, gilt mein Dank und meine Anerkennung für seine Unterstützung in fachlichen und technischen Angelegenheiten, insbesondere dafür, dass er sich immer erfolgreich um die schnelle Lösung technischer Probleme gekümmert hat.

Bei Herrn K. Scholz bedanke ich mich für die Anfertigung spezieller Glasapparaturen für die Säulenchromatographie. Frau B. Zimmermann danke ich für die Durchführung der GC-MS/MS-Messungen. Frau Pierschalik möchte ich für Ihre stete Hilfsbereitschaft bei allen organisatorischen Arbeiten danken

Den Herren M.Sc. Ahmed Ismail, Dipl.-Ing. Pablo Avendaño und Dipl.-Ing. Alexander Förg bin ich für ihre Kollegialität, stete Hilfsbereitschaft und das hervorragende Arbeitsklima zu Dank verpflichtet

Nicht zuletzt gilt mein aufrichtiger Dank meiner Frau, meiner Kindern sowie meiner Schwester und meinen Brüdern für das entgegengebrachte Vertrauen und die bereitwillige Unterstützung in den vergangenen Jahren.

Schließlich bedanke ich mich bei der Botschaft und den Mitarbeitern der Studienmission der Ägyptischen Regierung in Berlin für die Unterstützung während meines Aufenthaltes in Deutschland

Für das grenzenlose Vertrauen und
die liebevolle Unterstützung
während meiner gesamten Ausbildung

bin ich meinen Eltern unendlich dankbar.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2.Theoretischer Teil	4
2.1 Allgemeine Eigenschaften von technischem Toxaphen	4
2.1.1 Zusammensetzung des technischen Toxaphens	4
2.2 Identifizierte Einzelkomponenten des Toxaphens	9
2.2.1 Struktur und Nomenklatur	9
2.2.2 Kommerziell und nicht kommerziell erhältliche Toxaphene.....	13
2.3 Physikalische und chemische Eigenschaften von Toxaphen	15
2.4. Allgemeines zur chiralen Analytik	22
2.4.1 Gaschromatographische Enantiomerentrennung	22
2.4.2 Gaschromatographische Methoden der Konfigurationsanalytik.....	23
2.4.3 Definition des Enantiomerenverhältnisses (ER), der Enantiomerenfraktion (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee).	23
2.4.4 Chiraler Trennfaktor	24
2.4.5 Thermodynamik der Enantiomerentrennung	25
2.4.6 Chirale stationäre Phasen	26
2.4.6.1 Geschichtliche Entwicklung	26
2.4.6.2 Klassifizierung und Charakterisierung.....	29
2.4.6.3 Zusammensetzung der chiralen stationären Phasen.....	30
2.4.7 Cyclodextrine als stationäre Phasen.....	32
2.4.7.1 Struktur und Eigenschaften der Cyclodextrine	32
2.4.7.2 Stand der Forschung	35
2.4.7.3 Charakterisierung der Cyclodextrinphasen.....	38
2.4.7.4 Mechanismus der Enantiomerentrennung.....	40
2.4.7.5 Fehlerquellen in der gaschromatographischen Enantiomerenbestimmung	42
2.5 Über die Chiralität von Technischem Toxaphen	43
2.5.1 Die Berechnung der Varianz der Toxaphene am Beispiel der polychlorierten Bornane..	43
2.5.2 Enantioselektive Bestimmung von CTTs mittels Gaschromatographie	47
2.5.2.1 Chirale stationäre Phasen (CSPs) für die Enantiomerentrennung von CTTs	48
2.5.3 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse von CTTs mittels GC/ECD-Analyse	49
2.5.4 Bildung chiraler, chlorierter Xenobiotika.....	50
2.5.5 Umwandlung von Toxaphen in der Umwelt.....	51

2.5.5.1	Abiotische Umweltbedingungen.....	51
2.5.5.2	Biotische Umwandlungen.....	54
2.5.6	Mikrobielle Umwandlung.....	56
2.5.6.1	Struktur-Stabilitäts-Beziehungen.....	59
2.5.7	Enantioselektive Bestimmung einiger Toxaphenkomponenten.....	62
2.5.8	Enantiomerenverhältnisse von Toxaphenkomponenten in biologischen Proben	63
3	Material und Methoden.....	69
3.1	Standards.....	69
3.2	Chemikalien.....	69
3.4	Live-T-Technik für die multidimensionale Gaschromatographie (MD-HRGC).....	72
3.4.2	Prinzip der Live-Schaltung.....	72
3.5	Untersuchte Proben.....	76
3.5.1	Versuchstiere und Applikation.....	76
3.6	Rückstandsanalytische Methoden.....	78
3.6.1	Extraktion der Proben.....	78
3.6.2	Aufarbeitung der Proben.....	78
3.6.2.1	Schwefelsäure-Cleanup.....	78
3.6.2.2	Säulenchromatographische Fraktionierung.....	78
3.6.2.3	Bestimmung der Wiederfindungsraten	79
3.6.3	Quantifizierung der Toxaphenrückstände mit HRGC-ECD-Analyse.....	79
4	Ergebnisse und Diskussion.....	80
4.3	Enantioselektive Bestimmung von CTTs mittels Gaschromatographie.....	80
4.3.1	Enantiomerentrennung umweltrelevanter CTTs.....	80
4.1.1	Tandem-HRGC.....	82
4.2	CTT-Enantiomerentrennung an tert.-butyldimethylsilyliertem β -CD (β -BSCD).	84
4.4	Enantioselektivität relevanter chiraler Toxaphenkomponenten in den untersuchten Legehennenproben auf der eingesetzten β -BSCD-Säule.....	90
4.4.1	Fütterungsversuche während 18, 28 und 38 Wochen mit 0,5 ppm technischem Toxaphen	90
4.4.2	Fütterungsversuche während 18, 28 und 38 Wochen mit 1,0 ppm technischem Toxaphen	111
4.4.3	Fütterungsversuche während 18, 28, und 38 Wochen mit 5 ppm technischem Toxaphen	133

4.4.4 Abklingversuche: 1, 5, 8 und 16 Wochen nach Fütterung mit 5 ppm (unkontaminiert)	156
5. Zusammenfassung	174
6. Summary	176
7. Abkürzungsverzeichnis	178
8. Literaturverzeichnis	179

1. Einleitung

Technische Toxaphengemische sind aus mehreren Hundert Einzelkomponenten zusammengesetzt, wobei der Hauptanteil aus polychlorierten Bornanen besteht [1]. Aufgrund der relativ hohen Flüchtigkeit ist Toxaphen ubiquitär verteilt und durch den lipophilen Charakter der Verbindungen des technischen Toxaphens (compounds of technical toxaphene, CTTs) kommt es besonders im Fettgewebe höherer Organismen zur Akkumulation [1]. Dabei reichern sich aber, abhängig vom jeweiligen Enzymsystem, nur die stabilsten Verbindungen an, so daß sich hier das CTT-Rückstandsmuster stark von dem des technischen Gemisches unterscheidet [1]. Die Rückstandsanalytik der Verbindungen des technischen Toxaphens gestaltete sich bis Anfang der 90er Jahre sehr problematisch. Zwar wurden analytische Methoden wie die Gaschromatographie mit Elektroneneinfangdetektor (GC/ECD) oder die massenspektrometrische Detektion mit negativer Ionisierung nach gaschromatographischer Trennung (GC/ECNI-MS) zur Erfassung von CTTs ständig weiterentwickelt, es stand jedoch zur Quantifizierung dieser Verbindungen nur das technische Gemisch als externer Standard zur Verfügung, so daß bei Proben, deren CTT-Rückstandsmuster stark vom technischen Gemisch abwich, eine exakte Bestimmung der CTT-Gehalte nicht möglich war [2]. Als Ausweg bot sich die Gewinnung von CTT-Einzelstandards an. Da eine Totalsynthese einzelner Toxaphenkongenerer bis heute jedoch nicht realisiert werden konnte, mußte man sich auf die Isolierung dieser Verbindungen aus dem technischen Gemisch und biologischen Matrices konzentrieren. Nach Herstellung einer Lösung bekannten Gehaltes sollten diese Verbindungen zusammen mit CTTs bekannter Struktur in verschiedenen Geweben mariner Organismen mittels GC/ECD quantitativ bestimmt werden. Über die Ermittlung des Anteils dieser Komponenten am Toxaphengehalt ausgewählter Proben sollte ein Beitrag zur weiteren Verbesserung der kongenerspezifischen Erfassung von CTT-Rückständen geleistet werden. Viele dieser Organochlorpestizide, deren Metabolite und ca. 95% aller Komponenten des technischen Toxaphen sind chiral und existieren in zwei optischen Isomeren. Aufgrund ihrer abiotischen Herstellung liegen diese Substanzen weitgehend als Racemate vor und wurden auch als solche appliziert. Bei der Mehrzahl der polychlorierten Bornane sind chirale Toxaphenkongenerer [3] neben den Untersuchungen zur enantioselektiven Anreicherung von CTTs in bestimmten Organismen von großem Interesse, da die jeweiligen Enantiomere eine unterschiedliche toxikologische Wirkung auf den Organismus haben können [4]. Außerdem können die Enantiomerenverhältnisse Aufschluß über die Metabolisierung einzelner CTTs geben [5]. Da die Wirkung der Enantiomere optisch aktiver Pestizide auf biologische Systeme im allgemeinen sehr verschieden ist, unterscheiden sie sich nicht nur in ihrer Toxizität, sondern werden auch selektiv metabolisiert [6, 7]. Im Fall der

chiralen Pestizide zeigen die Enantiomere unterschiedliche insektizide Wirksamkeit (z. B. das (+)-Heptachlorepoxid-Isomer besitzt eine höhere Toxizität als das (-)-Isomer oder das Racemat). Untersuchungen der biologischen Aktivität von chiralen chemischen Stoffen, wie Arzneimitteln, Aromastoffen, Insektiziden etc., ergaben große Unterschiede für beide Enantiomere (Tab. 1). So hat z.B. das rechtsdrehende Östron Hormonwirkung, das linksdrehende Isomer ist dagegen unwirksam. L-Asparagin schmeckt bitter, sein Enantiomer D-Asparagin hat einen süßlichen Geschmack. In bezug auf das unterschiedliche Verhalten von Enantiomeren in der Umwelt spielt die Beziehung zwischen Chiralität und biologischen Eigenschaften eine bedeutende Rolle in der Chemie derartiger Pestizide. Metabolisierungs- und Akkumulierungsprozesse können für Enantiomere stereospezifisch ablaufen. Das Enantiomerenverhältnis (ER) chiraler Komponenten kann sich demnach während dieser biologischen Prozesse ändern. So ist es mit der enantioselektiven Bestimmung der Pestizidrückstände z. B. möglich, zwischen enzymatischen und nicht enzymatischen Prozessen zu unterscheiden.

Tab 1. Beziehung zwischen der absoluten Konfiguration und der biologischen Aktivität enantiomerer Verbindungen.

Verbindung	absolute Konfiguration	biologischer Effekt
Thalidomid	R	inaktiv
	S	stark teratogen
2-Ethylhexansäure	R	stark teratogen
	S	inaktiv
Chloramphenicol	R	antibakteriell
	S	inaktiv
Deltamethrin	R	stark insektizid
	S	inaktiv
Östron	R	inaktiv
	S	hormonell wirksam
Asparagin	R	bitter
	S	süß
Limonen	R	Orangenduft
	S	Zitronenduft

Ein Enantiomerenverhältnis nahe 1,0 ist ein Zeichen für einen sehr geringen Bioabbau, da eine gleiche Metabolisierungsrate für beide Enantiomere ungewöhnlich ist. Um mehr über die unterschiedlichen biologischen Eigenschaften der Enantiomere zu erfahren, war es wichtig, geeignete Bestimmungsmethoden für Enantiomerenverhältnisse, auch im Spurenbereich (ppm/ppb-Bereich) zu entwickeln. Mit der Einführung der chiralen Cyclodextrinphasen in der Gaschromatographie Ende der achtziger Jahre wurde es erstmals möglich, durch die Enantiomerenbestimmung auch bei sehr geringen Schadstoffkonzentrationen, zwischen den beiden Abbauprozessen zu unterscheiden. Da diese junge Technik immer noch von „Versuch und Irrtum“ bestimmt ist und es keine universellen Phasen gibt, hängt deshalb die Enantiomerentrennung von allgemeinen Erfahrungen, der Art der chiralen Phase und dem zu trennenden Enantiomerenpaar ab.

Durch die Entwicklung modifizierter Cyclodextrine als chirale stationäre Phasen (CSPs) ist es seit wenigen Jahren möglich geworden, einzelne Toxaphenkongeneren im Ultraspurenbereich mit Hilfe der Kapillargaschromatographie enantioselektiv zu bestimmen [8]. Allerdings ist die Enantiomerentrennung polychlorierter Bornane noch mit Schwierigkeiten behaftet, so daß bis heute fast ausschließlich nur Enantiomerenverhältnisse der beiden wichtigsten CTTs (2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,10a,10c-Octachlorbornan und 2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a,10c-Nonachlorbornan) in biologischen Proben ermittelt werden konnten [9].

Deshalb sollte eine HRGC/ECD-Methode entwickelt werden, mit der sowohl die Enantiomere des aus biologischem Material zu isolierenden Octachlorbornans als auch andere CTTs aus Probenextrakten quantitativ bestimmt werden können.

Ziel dieser Arbeit ist die Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse (ERs) und der Enantiomerfraktion (EF) von Toxaphenkongeneren in verschiedenen Proben von Legehühnern (Fleisch, Fett, Leber, Haut Niere, Blut und Eidotter) und ihrer Metabolite mittels multidimensionaler HRGC/ECD-Analyse. Anhand der Enantiomerenverhältnisse sollen Rückschlüsse auf die Art des Abbaus (biotisch oder abiotisch) der Pestizide gezogen werden.

2.Theoretischer Teil

2.1 Allgemeine Eigenschaften von technischem Toxaphen

2.1.1 Zusammensetzung des technischen Toxaphens

Toxaphen (Chemical Abstract Services (CAS): Toxaphene mixture [8001-35-2]) ist ein äußerst komplexes Gemisch aus vorwiegend polychlorierten bicyclischen C₁₀-Terpenen, wobei die einzelnen Komponenten durchschnittlich 6 bis 10 Chloratome besitzen. Technische Toxaphengemische weisen einen Chlorgehalt von 67-69 % und ein durchschnittliches Molekulargewicht von 414 g/mol auf. Das entspricht einer mittleren Elementarzusammensetzung von C₁₀H₁₀Cl₈ [10].

Das Gemisch besteht überwiegend aus polychlorierten Bornanen, polychlorierten Camphenen und Dihydrocamphenen [11-14]. Diese drei Grundgerüste sind in Abbildung 1 dargestellt. Nur ein sehr geringer Teil besteht aus nicht chlorierten Verbindungen [15].

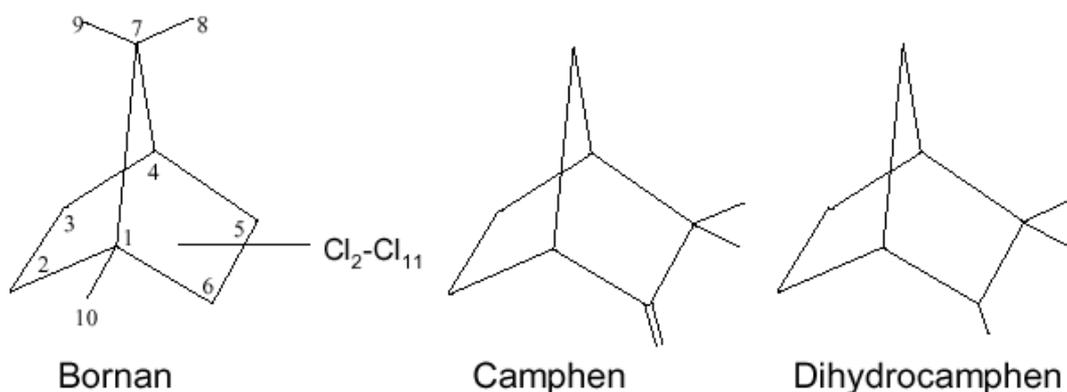


Abb. 1 Grundgerüste der Hauptbestandteile des technischen Toxaphens

Die Entstehung von polychlorierten Bornanen, Bornadienen und Tricyclenen im technischen Gemisch ist unter mechanistischen Gesichtspunkten sehr unwahrscheinlich, obwohl in der Literatur von hohen Anteilen an polychlorierten Bornanen berichtet wird [16]. In neueren Untersuchungen wurde erstmals eindeutig bewiesen, daß sowohl polychlorierte Bornene als auch Camphene im technischen Toxaphengemisch vorhanden sind [17]. Aufgrund dieser Ergebnisse erscheint es naheliegend, daß ein großer Teil der in der Vergangenheit als Bornene bezeichneten ungesättigten Verbindungen in Wirklichkeit ein Camphen-Grundgerüst besitzt. Die Entstehung dieser ungesättigten Verbindungen, z. B. durch Photoreaktion [18, 19] sowie durch HCl-Eliminierung während der Analyse [20], wurde dabei vermieden und berücksichtigt. Der Anteil an ungesättigten

Verbindungen im technischen Toxaphen wird auf maximal 10 % geschätzt, wobei die Camphene etwa 75 % und die Bornenderivate etwa 25 % ausmachen [17]. Über die gesicherte Existenz von Bornadienen im technischen Gemisch wird nur in einem Fall berichtet [21], wobei hier die Synthese eines Hexachlorbornadiens nachvollzogen wurde. Die Darstellung dieser weiteren Bestandteile des technischen Toxaphens erfolgt in Abb. 2.

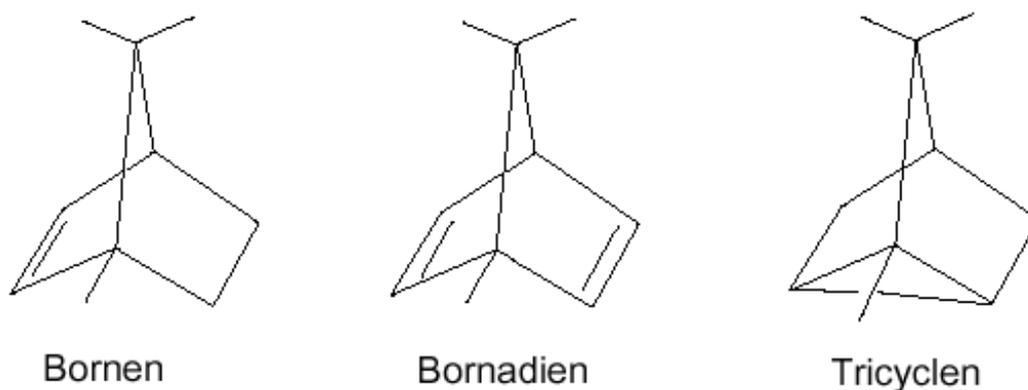


Abb. 2 Grundgerüste weiterer Bestandteile des technischen Toxaphens

2.1.2 Herstellung von Toxaphen

Die Synthese von Toxaphen geht von technischem Camphen (2,2-Dimethyl-3-methylenbicyclo[2.2.1]heptan) aus, welches durch katalytische Isomerisierung von α -Pinen (2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-en), dem Hauptbestandteil des Terpentinöls, hergestellt wird [22]. Achtstündiges Einleiten von elementarem Chlor in eine 20%ige Lösung von Camphen in Tetrachlorkohlenstoff unter Ultraviolett(UV)-Bestrahlung führt zu einer Vielzahl an Verbindungen, nämlich dem technischen Toxaphen [23]. Es wird ohne weitere Reinigung in den Handel gebracht und enthält 67-69 % Chlor, woraus sich eine empirische Summenformel von $C_{10}H_{10}Cl_8$ ergibt. Wird bei der Synthese α -Pinen (vgl. Abb. 3) als Ausgangsverbindung eingesetzt, so entsteht ein fast identisches Produkt, welches unter dem Handelsnamen Strobane vertrieben wurde und dessen Chloranteil etwas geringer ist (ca. 65 %).



Abb. 3 Synthese des Camphens aus α -Pinen

Der primäre Reaktionsschritt bei der Herstellung ist die elektrophile Addition eines Chlorkations an die Doppelbindung des Camphens, das daraufhin nach dem Mechanismus einer Wagner-Meerwein-Umlagerung (vgl. Abb. 4) zu einem Bornangerüst isomerisiert und nach Anlagerung eines Chloranions schließlich das 2-exo,10-Dichlorbornan (B2-20) bildet [24, 25].

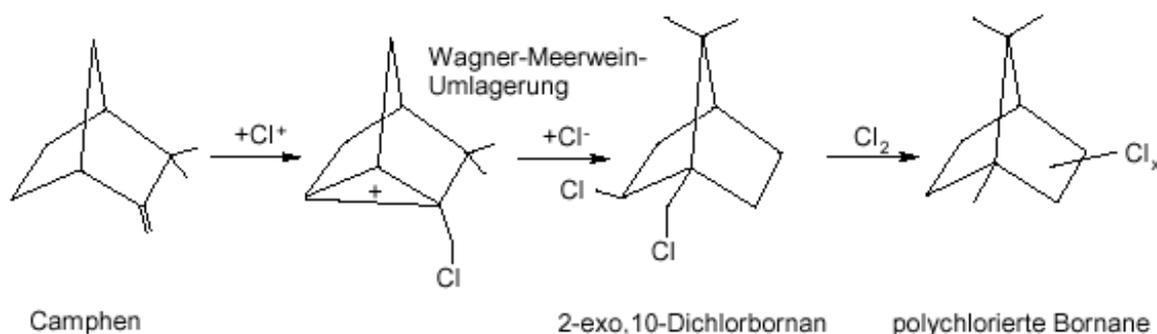


Abb. 4 Mechanismus der Darstellung polychlorierter Bornane aus Camphen über die Zwischenstufe 2-exo,10-Dichlorbornan (B2-20) [24,25]

Weiterhin können nach der Isomerisierung auch Deprotonierungen erfolgen, bei denen cis- und trans-10-Chlorcamphene und 10-Chlortricyclen gebildet werden. Weitere Reaktionsprodukte sind 2-exo-Chlorcamphen, welches durch Isomerisierung aus 10-Chlortricyclen entsteht, und 2-exo,10,10-Trichlorbornan (B3-90), das sich durch die Reaktion mit überschüssigem Chlor bildet. Der bei der Reaktion frei werdende Chlorwasserstoff führt durch Nebenreaktionen zur Bildung von Camphenhydrochlorid, welches sich bei der Isolierung in Camphen umwandelt. Hauptprodukte des ersten Reaktionsschrittes sind 2-exo,10-Dichlorbornan (B2-20) und 2-exo,10,10-Trichlorbornan (B3-90). In Abb. 5 sind die möglichen Reaktionswege dargestellt. Diese niedrig chlorierten

Zwischenprodukte werden durch radikalische Substitution weiter chloriert, wobei sich zum größten Teil höher chlorierte Bornane bilden. So entsteht ein äußerst komplexes Gemisch, dessen Zusammensetzung je nach Ausgangsverbindung (Camphen oder α -Pinen) und Herstellungsverfahren leicht variiert.

Bei der Darstellung des technischen Toxaphengemisches mit Hilfe von chromatographischen Verfahren wird deutlich, daß es nicht möglich ist, die einzelnen Toxaphene vollständig voneinander zu trennen. Dies wird im Chromatogramm sichtbar in Form einer Bauchbildung, die in Abhängigkeit vom Temperaturprogramm mehr oder weniger stark ausgeprägt sein kann. Sie wird verursacht durch eine Vielzahl von Komponenten, die zur gleichen Zeit den Detektor erreichen und damit zu dessen Überlastung führen. In Abb. 6 wird das GC/ECD-Chromatogramm von technischem Toxaphen (Camphechlor, 61,8 % Cl) an einer 30 m langen Kapillarsäule gezeigt.

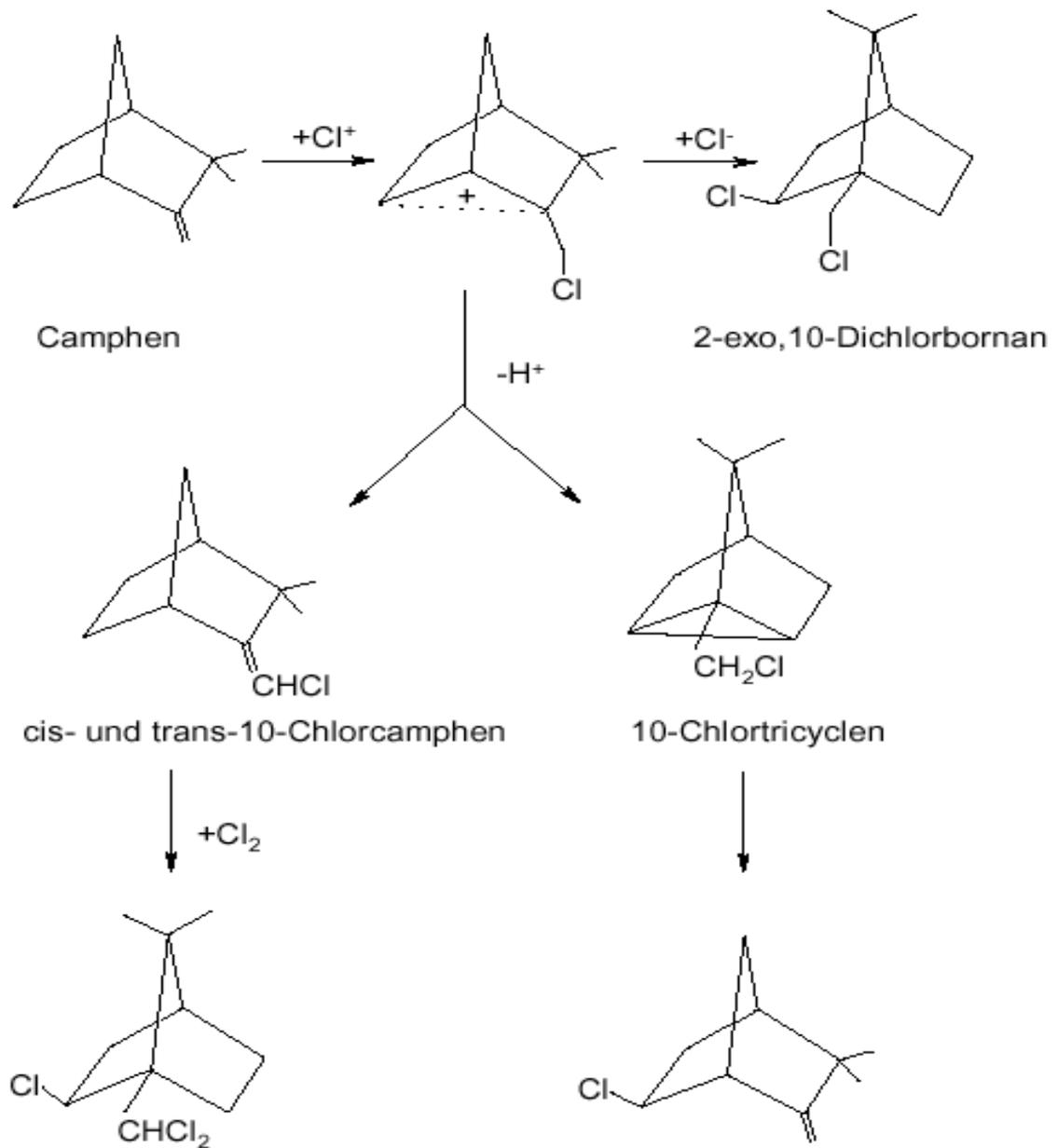


Abb. 5 Reaktionen von Camphen mit elementarem Chlor [22]

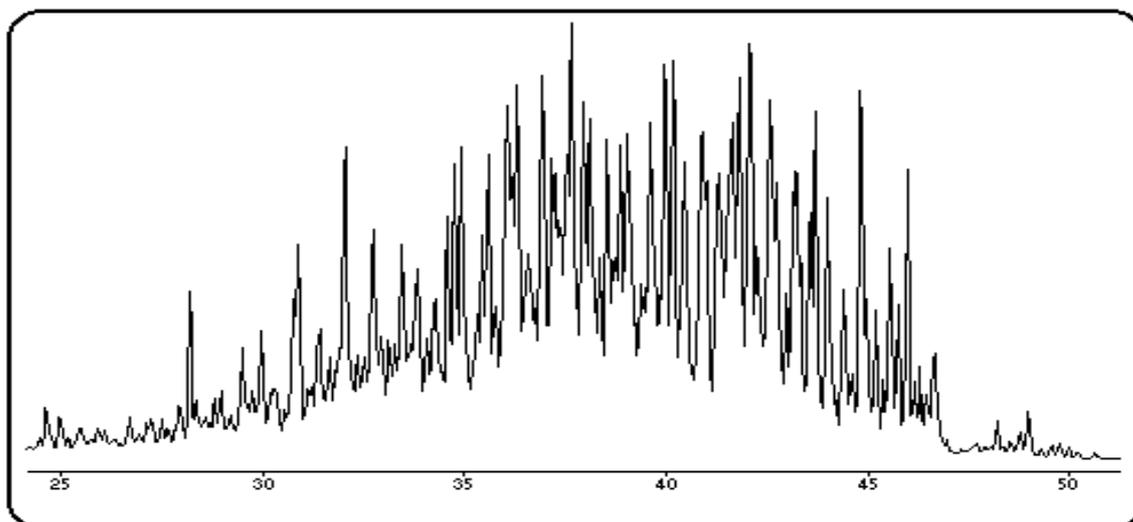


Abb.6 GC/ECD- Chromatogramm von technischem Toxaphen (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm DB5, J&W Scientific)

2.2 Identifizierte Einzelkomponenten des Toxaphens

2.2.1 Struktur und Nomenklatur

Wie bereits erwähnt, besteht technisches Toxaphen hauptsächlich aus polychlorierten Bornanen, polychlorierten Camphenen und Dihydrocamphenen sowie zu sehr geringen Mengen aus nicht chlorierten Verbindungen (vgl. Kap. 2.1.1). Eine einheitliche Abkürzung, wie z. B. PCB für polychlorierte Biphenyle, gibt es für Toxaphen noch nicht. In der Literatur werden Abkürzungen wie PCC (polychlorinated camphenes) [26], CHBs (chlorinated bornanes) [27] oder CBNs (chlorierte Bornane) [28], CB (Chlorbornane) [29] und CTTs (Compounds of Technical Toxaphene) [30] verwendet, wobei das letztere Akronym als einziges alle Komponenten des technischen Gemisches beinhaltet. In der vorliegenden Arbeit wird die Bezeichnung **Toxaphen** für das technische Gemisch mit all seinen Komponenten und die Bezeichnung **Toxaphene** für die Einzelkomponenten (Kongenere) verwendet. Die Bezeichnung **Toxaphene** schließt die im technischen Gemisch vorhandenen, die in biologischen Proben detektierten und ihre möglichen Metabolite sowie die isolierten und synthetisierten Komponenten ein.

Aufgrund der parallelen Forschungsanstrengungen verschiedener Arbeitsgruppen, die sich mit der Isolierung und Synthese von Toxapheneinzelkomponenten beschäftigen, wurden neben den International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)-Namen [31] unterschiedliche Nomenklaturen eingeführt. Abb. 7 zeigt das Bornangerüst mit der Nummerierung nach den IUPAC-

Regeln und die Struktur eines Nonachlorbornans, welches ein Hauptkongener in biologischen Proben darstellt.

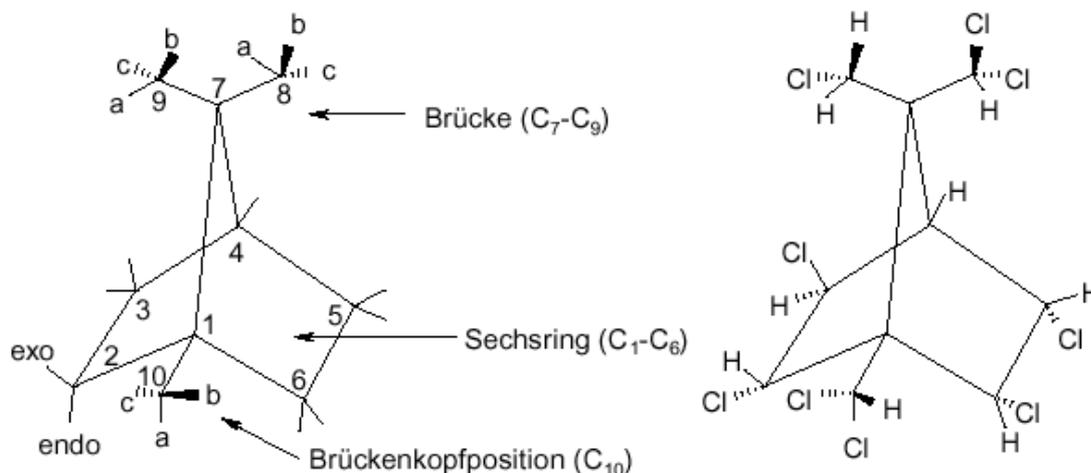


Abb. 7 Bornangerüst mit der Nummerierung der C-Atome nach IUPAC [31] und die Struktur von 2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a,10c-Nonachlorbornan (rechts)

Nach der IUPAC-Nomenklatur beginnt die Nummerierung des Sechsrings an der Brückenkopfposition mit der Methylgruppe. Die Brücke besteht aus den C-Atomen C7 bis C9, wobei sich C8 über C5 und C6 bzw. C9 über C2 und C3 befindet. Das C-Atom der Methylgruppe an C1 erhält die Nummer 10. Die Nummerierung der Chlorsubstitution muß so niedrig wie möglich erfolgen, wobei die *endo*-Position Vorrang hat [31, 20]. Die Konformationen an den C-Atomen 8 und 9 werden durch die Angabe der Ausrichtung des Chlorsubstituenten mit den Buchstaben *a*, *b* und *c* angegeben, wobei *a* für „unten“, *b* für „vor“ und *c* für „hinten“ der Papierebene steht [32].

Da die systematischen Namen der einzelnen Toxaphene für den häufigen Gebrauch sehr unpraktisch sind, existieren in der Literatur die unterschiedlichsten Benennungsvorschläge. Tab. 1 zeigt z.B. die Namen für die Verbindung 2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a,10c-Nonachlorbornan.

Tab. 1 Akronyme des 2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a,10c-Nonachlorbornans

Toxaphenkongener (IUPAC Name)	Akronym	Lit.
2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,9c, 10a,10c-Nonachlorbornan	Tox Ac	33
	T12	34
	TOX9	35
	Parlar #50	35
	NCB 4926	36
	297-643	37
	B9-1679	38
	B[12012]-(212), (vgl. Tab. 5)	39

Wie aus **Tab. 1** ersichtlich wird, vereinfachen die Benennungsvorschläge in ihrer Vielfalt keineswegs die schnelle Erfassung von Toxaphenkongeneren, sondern führen zu Unübersichtlichkeiten und sorgen nur allzu oft für Verwirrung in den wissenschaftlichen Ergebnissen hinsichtlich ihrer Vergleichbarkeit. Auch lassen sich nicht immer Rückschlüsse auf die Struktur bzw. den Chlorierungsgrad ziehen. Im folgenden werden drei dieser Nomenklaturen näher erläutert. Die Nummerierung durch Parlar [32] erfolgte ganz allein nach der GC-Elutionsfolge isolierter Toxaphenkomponenten an einer DB5-Säule. Diese Nomenklatur ist nach ihrer Einführung in dem Jahre 1994 zwar die am häufigsten benutzte, wird aber den in neuerer Zeit isolierten und identifizierten Toxaphenkomponenten aus anderen Arbeitskreisen nicht mehr gerecht.

Eine zur Zeit immer häufiger eingesetzte Nomenklatur ist die von Andrews und Vetter [38]. Es handelt sich hierbei um eine umfassende Nummerierung aller theoretisch möglichen Chlorbornane auf der Basis der IUPAC-Regeln. Anhand des von den Autoren auch im Internet zur Verfügung gestellten Computerprogramms „Congener“ [40] ist es möglich, sich für eine vorliegende Struktur eines Toxaphenkongeners den Nummerncode anzeigen zu lassen und umgekehrt. 2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a,10c-Nonachlorbornan erhält so die Bezeichnung B9-1679, wobei der Großbuchstabe für das Grundgerüst (B = Bornan, C = Camphen, D = Bornadien und E = Bornen) steht, die nachfolgende Zahl den Chlorierungsgrad anzeigt und der vierstellige Zahlencode die Isomerennummer angibt, die sich aus den Positionen der Chlorsubstituenten ergibt.

Soll dargestellt werden, daß es sich bei der Verbindung um ein Enantiomerenpaar handelt, wird dem Nummerncode noch der Buchstabe „a“ bzw. „b“ angefügt, wobei das Enantiomer mit der niedrigeren Nummerierung der Chlorsubstitution den Buchstaben „a“ erhält [38]. Der Nachteil dieser Nomenklatur ist, daß es nicht sofort möglich ist, ohne das Programm auf die komplette Struktur des Kongeners zu schließen und dieses bisher nur für chlorierte Bornane zu Verfügung steht.

Das Computerprogramm bietet aber noch weitere Möglichkeiten wie z. B. die Zahl der wahrscheinlich vorkommenden Kongenere genauer zu ermitteln. Die Mehrzahl der polychlorierten Bornane sind chirale Verbindungen. Aus der von Vetter [3] berechneten theoretisch möglichen Isomerenzahl von 32768 ergeben sich 16128 Enantiomerenpaare und nur 512 achirale Verbindungen. Die Spiegelebene verläuft durch C1, C4 und C7. Durch den Vergleich bekannter Strukturen kann man die im folgenden beschriebenen Einschränkungen hinsichtlich der Isomerenzahl treffen (vgl. Abb. 7). Eine Chlorsubstitution an C4 wird nicht beobachtet. Weiterhin kann eine Besetzung der Methylgruppen mit jeweils 3 Chloratomen ausgeschlossen werden. An der Brücke befinden sich insgesamt höchstens 3 Chloratome. Die sogenannte „Brücke-und-exo-Regel“ [41] besagt, daß eine Dichlormethylgruppe an C8 nur im Fall einer Chlorsubstitution in 6-exo-

Position, eine Dichlormethylgruppe an C9 nur im Fall einer 2-exo-Chlorsubstitution vorliegen kann [41]. Weiterhin werden maximal 3 Chlorsubstituenten an C2/C3 bzw. C5/C6 gefunden. Der Syntheseweg über 2-exo,10-Dichlorbornan (B2-20) schließt eine Nichtsubstitution dieser beiden Positionen aus. Wenn diese Einschränkungen beachtet werden, verringert sich die theoretisch mögliche Kongenerenzahl auf 1344 [41].

Ein anderer Vorschlag zur Nomenklatur stammt von Wester et al. [39] und stellt einen einfachen Code zur Strukturbezeichnung dar. Je nach Anzahl und Stellung (exo oder endo, vgl. Abb. 7) der Chloratome wird jedem Kohlenstoffatom im Ring eine Zahl zwischen 0 und 3 zugeordnet. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die Chlorsubstitution der Ringkohlenstoffatome (C2 bis C6) an (vgl. Tab. 2), die Zahlen in runden Klammern die Anzahl der Chloratome an den Kohlenstoffatomen C8 bis C10. Vor dem Zahlencode steht ein Großbuchstabe, der angibt, welches Grundgerüst vorliegt (B = Bornan, D = Bornadien, E = Borne). Der Nachteil dieses Vorschlages liegt darin, daß Camphene nicht berücksichtigt werden.

Tab. 2 Code zur Bezeichnung der Chlorsubstitution der Ringkohlenstoffatome nach Wester et al.

[39]

endo	exo	Code
0	0	0
1	0	1
0	1	2
1	1	3

In der vorliegenden Arbeit werden für die bekannten Toxaphene neben den systematischen Bezeichnungen die Nummerierung nach Parlar mit Priorität im Ergebnisteil sowie auch die von Andrews und Vetter (AV) verwendet. Die in den früheren Literaturzitatzen angegebenen aufgeklärten Strukturen werden, soweit es sich um chlorierte Bornane handelt, ebenfalls mit dem AV-Code „übersetzt“. Die Bezeichnungen für die in der vorliegenden Arbeit gefundenen, unbekannteren Toxaphene sind eigene und dienen der näheren Charakterisierung (die Nummern 6, 7, 8, 9 und 10 bezeichnen den Chlorierungsgrad, die Buchstaben a, d oder e das Bornan, Bornadien und Borne oder Camphen). Ein z. B. unbekanntes Bornan mit dem Chlorierungsgrad 8 erhält somit die Bezeichnung 8a1, ein weiteres in numerischer Folge die Bezeichnung 8a2, etc.

2.2.2 Kommerziell und nicht kommerziell erhältliche Toxaphene

Die zur Zeit kommerziell erhältlichen Toxaphenstandards werden von zwei Arbeitsgruppen hergestellt, dem Arbeitskreis H. Parlar, München und dem von V. A. Nikiforov, St. Petersburg. Parlar et al. [42] stellten 1995 einen 22-Komponenten-Standard (22-Komp.-Standard) vor, dessen Bestandteile aus photochemisch verändertem Toxaphen isoliert bzw. durch selektive Chlorierung von 2-exo,10-Dichlorbornan (B2-20) gewonnen wurden [43]. Bei diesen Einzelverbindungen handelt es sich um 17 polychlorierte Bornane und 5 polychlorierte Camphene, die bei der Fa. Dr. Ehrenstorfer, Augsburg bezogen werden können (vgl. Tab. 3). Von der Arbeitsgruppe um V. A. Nikiforov wurden und werden durch Chlorierung der isolierten Zwischenstufe 2-exo,10,10-Trichlorbornan (B3-90) höher chlorierte Toxaphene synthetisiert [36, 44] und von der Fa. Promochem, Wesel vertrieben (vgl. Tab. 3). Nicht kommerziell erhältlich sind momentan die Toxaphene B7-1453 und B8-1412, die von der Arbeitsgruppe Vetter et al. aus dem technischen Gemisch Melipax® und aus Seehundfett isoliert wurden. Die zur Zeit verfügbaren Toxaphenstandards sind in den Tab. 3 und 6 aufgeführt.

Tab. 3 Verfügbare Toxaphenstandards und ihre Hersteller (Akronyme nach Parlar [29], Andrews und Vetter (AV-Code) [38])

Her. = Hersteller; E. = Ehrenstorfer; P. = Promochem; V. = Vetter et al.

Nr	Chemischer Name (IUPAC) [44]	Parlar #	AV-Code	Her
1	2-exo,5-endo,9,10,10-Pentachlorbornan .	-	B5-596	P
2	2,2,3-exo-Trichlor,5,5-bis(chlormethyl),6-(E)-chlormethylen,8,9,10-trinorbornan	11		- E.
3	5-exo,6-endoDichlor,2,2bis(chlormethyl),3-(E)chlormethylen,8,9,10-trinorbornan	12	-	E.
4	5-exo,6-endo,7-anti-Trichlor,2,bis (chlormethyl),3(E)chlormethylen,8,9,10trinorbornan	15	-	E.
5	5 2,2,5,5,8,9,10-Heptachlorbornan	-	B7-495	P
6	2,2,5,5,9c,10a,10b-Heptachlorbornan .	21	B7-499	E
7	2-endo,3-exo,6-exo,8,9,10,10-Heptachlorbornan	-	B7-1059	P.
8	2-exo,3-endo,5-exo,8,9,10,10-Heptachlorbornan	-	B7-1450	P
9	2-exo,3-endo,5-exo,9,9,10,10-Heptachlorbornan .	-	B7-1453	V
10	2-exo,3-endo,6-endo,8,9,10,10-Heptachlorbornan	-	B7-1462	P
11	2-exo,3-endo,6-exo,8,9,10,10-Heptachlorbornan	-	B7-1474	P.
12	2-exo,5,5,9b,9c,10a,10b-Heptachlorbornan .	-	B7-1715	P
13	2,2,3-exo,6,8,10,10-Heptachlordihydrocamphen	-	-	P.
14	2,2,3-exo-Trichlor,5-endo-chlormethyl,6-(E)-chlormethylen,5-dichlormethyl,8,9,10-trinorbornan	25.	-	E
15	2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8,8,9,10-Octachlorbornan	-	B8-1412	V.
16	2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,10a,10cOctachlorbornan	26	B8-1413	E.,P.
17	2,2,3-exo-Trichlor,6-(E)-chlormethylen,5,5-bis(dichlormethyl),8,9,10-trinorbornan	31	-	E
18	2,2,5-endo,6-exo,8c,9b,10a-Heptachlorbornan	32	B7-515	E.,P
19	2,2,5,5,9b,9c,10a,10b-Octachlorbornan	38	B8-789	E.,P
20	2,2,3-exo,5-endo,6-exo,8c,9b,10a-Octachlorbornan	39	B8-531	E.,P.
21	2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,9c,10a,10c-Octachlorbornan B8-	40	1414	E
22	2-exo,3-endo,5-exo,8c,9b,9c,10a,10b-Octachlorbornan	41	B8-1945	E
23	2,2,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a-Octachlorbornan.	42a	B8-806	E
24	2,2,5-endo,6-exo,8c,9b,9c,10a-Octachlorbornan	. 42b	B8-809	E
25	2-exo,5,5,8c,9b,9c,10a,10b-Octachlorbornan	44	B8-2229	E
26	2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a,10c-Nonachlorbornan	50	B9-1679	E.,P
27	2,2,5,5,8c,9b,10a,10b-Octachlorbornan	51	B8-786	E

Fortsetzung von Tab.3

28	2,2,3-exo,6,8,9,10,10-Octachlordihydrocamphen	-	-	P
29	2,2,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a,10c-Nonachlorbornan	56	B9-1046	E.,P
30	2,2,3-exo,5,5,8c,9b,10a,10b-Nonachlorbornan	58	B9-715	E.,P.
31	2-endo,2-exo,3-exo,5-endo,6-exo,8,9,10,10-Nonachlorbornan	-	B9-743	P.
32	2,2,5-endo,6-exo,8c,9b,9c,10a,10b-Nonachlorbornan.	59	B9-1049	E
33	2-exo,3,3,5-exo,6-endo,8,9,10,10-Nonachlorbornan	-	B9-2006	P.
34	2-exo,3,3,5-exo,6-endo,9,9,10,10-Nonachlorbornan	-	B9-2009	P
35	2,2,5,5,8c,9b,9c,10a,10b-Nonachlorbornan	62	B9-1025	E.,P
36	2-exo,3-endo,5-exo,6-exo,8,8,9,10,10-Nonachlorbornan	63	B9-2206	E.
37	2,2,5,5,6-exo,8c,9b,9c,10a,10b-Decachlorbornan.	69	B10-1110	E.,P
38	2,2,3-exo,5,5,8c,9b,9c,10a,10b-Decachlorbornan	70	B10-831	E.,P.
39	2,2,3-exo,5-endo,6-exo,8c,9b,9c,10a,10b-Decachlorbornan	-	B10-860	P.
40	2-exo,3,3,5-exo,6-endo,8,9,9,10,10-Decachlorbornan	-	B10-1993	P

In der vorliegenden Arbeit wurden das technische Gemisch Camphechlor, der 22-Komp.-Standard und die beiden isolierten Toxaphene B7-1453 und B8-1412 aus dem Arbeitskreis Vetter et al. zur Charakterisierung der Toxaphene in Tierkörper- sowie Eidotter-Proben von Legehennen eingesetzt.

2.3 Physikalische und chemische Eigenschaften von Toxaphen

Technisches Toxaphen ist ein gelblicher, hochviskoser, wachsartiger Stoff, der einen leichten Terpengeruch besitzt. Sowohl durch Bestrahlung mit UV-Licht (unterhalb von 260 nm) als auch durch Alkalien wird Toxaphen unter Chlorwasserstoffabspaltung zersetzt und verliert dadurch seine insektiziden Eigenschaften. Bei Temperaturen ab 155 °C beginnt die Zersetzung einzelner Komponenten des Gemisches ebenfalls unter HCl-Entwicklung. Ein definierter Schmelzpunkt existiert aufgrund der komplexen Zusammensetzung des technischen Produktes nicht. Bei der Umkristallisation aus Methanol erfolgt eine Trennung in einen kristallinen und einen öligen Anteil [45]. In der öligen Fraktion sind vor allem niedrig chlorierte und ungesättigte Komponenten angereichert. Im Gegensatz dazu besteht der kristalline Anteil hauptsächlich aus hoch chlorierten Bornanderivaten.

Toxaphen ist in allen üblichen organischen Lösungsmitteln gut löslich, in aromatischen besser als in aliphatischen. Im Vergleich zu anderen Organochlorinsektiziden (vgl. Tab. 4) besitzt Toxaphen auch eine relativ hohe Wasserlöslichkeit. Weitere wichtige physikalisch-chemische Parameter sind in Tab. 5 aufgeführt.

Der n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient, ein Maß für die Lipophilie einer Verbindung, ist nur wenig geringer als der von PCB [10]. Dagegen weist Toxaphen im Gegensatz zu DDT eine wesentlich höhere Wasserlöslichkeit auf [10]. Technisches Toxaphen besitzt eine relative hohe Flüchtigkeit. Die Henry-Konstante, die die Flüchtigkeit eines Stoffes beschreibt und mittels Dampfdruck und maximaler Wasserlöslichkeit berechnet wird [46], liegt für Toxaphen in einem Bereich, der den Transport über die Atmosphäre sowie eine Anreicherung im Wasser erlaubt [47]. Die zum Teil recht starken Schwankungen, die bei einigen Daten in Tab. 5 auftreten, resultieren möglicherweise aus der Tatsache, daß die verschiedenen technischen Gemische in ihrer Zusammensetzung geringfügig variieren.

Tab. 4 Wasserlöslichkeit einiger Organochlorinsektizide [10,48,49,50,51]

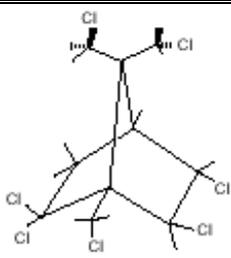
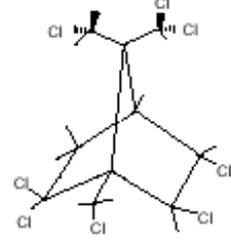
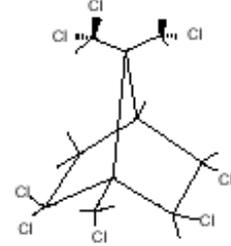
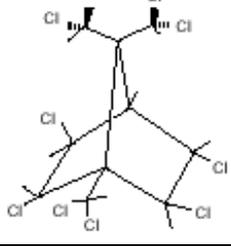
Insektizid	Wasserlöslichkeit [$\mu\text{g/l}$]
DDT	< 2
Chlordan	56
Aldrin	200
Dieldrin	250
Toxaphen	3000
Lindan	10000

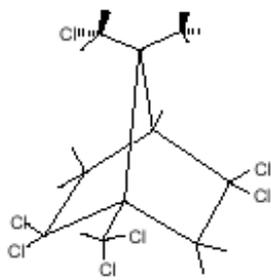
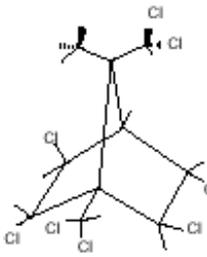
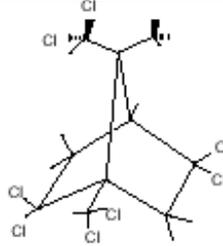
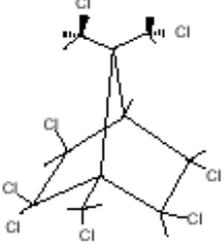
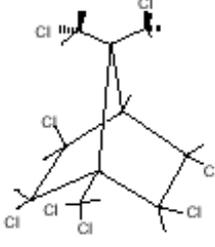
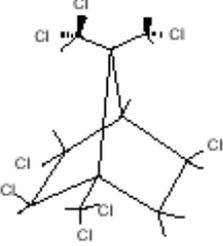
Tab. 5 Physikalisch-chemische Eigenschaften von Toxaphen

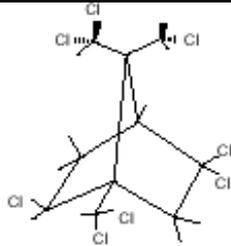
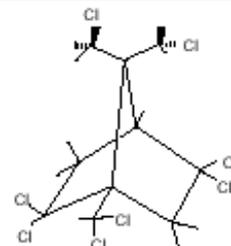
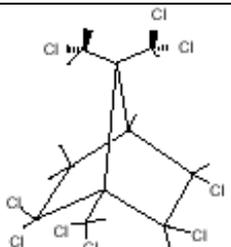
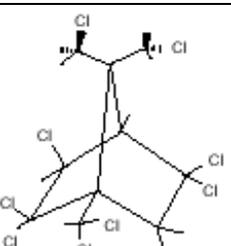
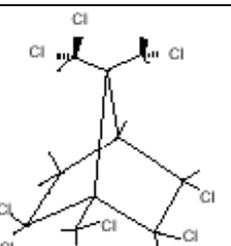
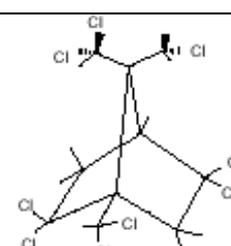
Parameter	Werte	Lit.
Dichte (25 °C)	1,63 g/ml	[10]
Dampfdruck	$6,7 \times 10^{-6}$ mmHg [20 °C]	[48]
	3×10^{-7} mmHg [20 °C]	[49]
Schmelzbereich	56-70 °C	[52]
	65-90°C	[53]
Zersetzungstemperatur	ab 155 °C [79]	[54]
Wasserlöslichkeit	bis 3000 $\mu\text{g/l}$	[10]
$\log K_{ow}$ ¹⁾	3,30	[55]
	5,50	[56]
	6,44	[10,51]
Henry-Konstante	$0,17 \text{ Pa} \times \text{m}^3/\text{mol}$	[49]
	$0,61 \text{ Pa} \times \text{m}^3/\text{mol}$	[48]

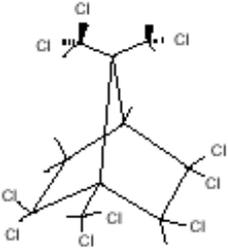
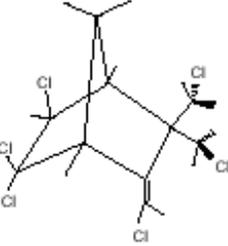
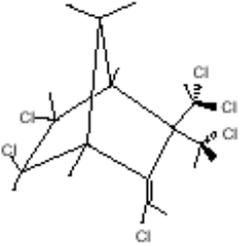
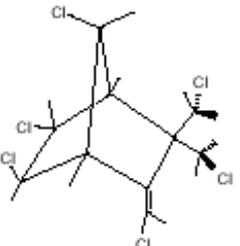
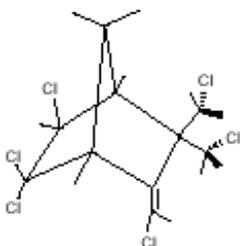
¹⁾ n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient

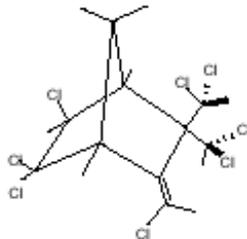
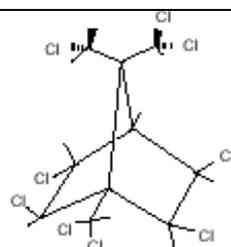
Tab. 6 Übersicht der wichtigsten Toxaphenkomponenten

Nr.	IUPAC- Name	Strukturformel	Parlar Nr.	Literatur
1	2,2,5-endo,6-exo,8c,9b.10a-Heptachlorbornan (Tox B)		32	[57,58,59,21,60,61,62,63]
2	2,2,5-endo,6-exo,8c,9b.10a-Octachlorbornan (Tox A ₁)		42a	[57,49,64]
3	2,2,5-endo,6-exo,8c,9b.10a-Octachlorbornan (Tox A ₂)		42b	[57,49,64]
4	2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a,10c-Nonachlorbornan (Tox Ac)		50	[58,56,60,61,34,62,35]
5	2-endo,3,3,5-exo,9,10,10-Octachlorbornan		—	[65]
6	2-endo,3,3,5-endo,8,9,9,10,10 Nonachlorbornan		—	[65]
7	2-endo,3,3,5-endo,6-endo,8,9,9,10,10-Decachlorbornan		—	[65]
8	2-exo,5-exo,6-exo,8,9,10,10-Heptachlordihydrocamphan		—	[59]

9	2,2,5,5,9c,10a,10b- Heptachlorbornan		21	[57]
10	2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b, 8c,10a,10c-Octachlorbornan		26	[57,61,34,35]
11	2,2,5,5,9c,10a,10b- Octachlorbornan		38	[57,35]
12	2,2,3-exo,5-endo,6-exo,8c, 9b,10a-Octachlorbornan		39	[57,35]
13	2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b, 9c,10a,10c-Octachlorbornan		40	[57]
14	2-exo,3-endo,5-exo,8c,9b,9c, 10a,10b-Octachlorbornan		41	[57]

15	2-exo,5,5,8c,9b,9c,10a,10b-Octachlorbornan		44	[57]
16	2,2,5,5,8c,9b,10a,10b-Octachlorbornan		51	[57]
17	2,2,5-endo,6-exo,8c,9b,10a, 10b-Octachlorbornan		—	[57,21]
18	2,2,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a, 10c-Nonachlorbornan		56	[57,21]
19	2,2,3-exo,5,5,8c,9b,10a,10b-Nonachlorbornan		58	[57]
20	2,2,5-endo,6-exo,8c,9b,9c,10a, 10b-Nonachlorbornan		59	[57]
21	2,2,5,5,8c,9b,9c,10a,10b-Nonachlorbornan		62	[57,58,65,61, 34,62]
22	2,2,3-exo,5-endo,8c,9b,9c, 10a,-		—	[57]

	Nonachlorbornan			
23	2,2,5,5,6-exo,8c,9b,9c,10a,- Nonachlorbornan		—	[57]
24	2,2,5,5,6-exo,5,5,8c,9b,9c,10a, 10b-Decachlorbornan		69	[57,58,65,62]
25	2,2,3,-exo,5,5,6,8c,9b,9c,10a, 10b-Decachlorbornan		—	[57,58,65,62]
26	2,2,3-exo-trichlor,5,5-bis(chlor methyl),6-(E)-chlormethylen- 8,9,10-Trinorbornan		11	[57]
27	5-exo,6-endo-dichlor,2-endo- chlormethyl,3-(E)-chlor- methylen-8,9,10-Trinorbornan		12	[57]
28	5-exo,6-endo,7-anti-trichlor,2, 2- bis(chlormethyl),3-(E)-chlor- methylen-8,9,10-Trinorbornan		15	[57]
29	2,2,3-exo-trichlor,5-endo- chlormethyl,6-(E)-chlor- methylen-5-dichlormethyl, 8, 9,10-Trinorbornan		25	[57]

30	2,2,3-exo-trichlor,6-(E)-chlor- metylen,5,5-bis(dichlormethyl), 8,9,10-Trinorbornan		31	[57]
31	2,2,3-exo-5-endo,5-exo,9,9, 10,10-Heptachlorbornan		—	[66,67]
32	2,2,3-exo-5-endo,6-exo,8c,9b,9c, 10a,10b-Decachlorbornan		—	[58,60,68]
33	2-exo,3-endo,5-exo,6-exo,8b,8c, 9c,10a,10b-Nonachlorbornan		63	[58,60,62]
34	2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8,9,9, 10,10-Nonachlorbornan		—	[58,60,62]
35	2,5-endo,6-exo,8c,9b,9c,10a,10c- Octachlorbornen		—	[58,60,62]
36	2-endo,3-exo,5-endo,6-exo 8,8,9,10-Octachlorbornen		—	[69]

2.4. Allgemeines zur chiralen Analytik

2.4.1 Gaschromatographische Enantiomerentrennung

Weil viele wichtige Biomoleküle chiral sind und die meisten Stoffwechselprozesse in natürlichen Organismen streng stereospezifisch verlaufen, ist die korrekte Bestimmung von Enantiomerenüberschüssen (enantiomeric excess, ee) eine zentrale Aufgabe der modernen Forschung geworden [70]. Dabei ist die klassische Methode der Enantiomerentrennung über diastereomere Salze nach Pasteur immer noch von unverändert großer Bedeutung sowohl als präparativer Weg zur Gewinnung reiner Enantiomere als auch als analytische Methode zur Bestimmung. Um mit der Entwicklung hoch enantioselektiver Verfahren [70] (asymmetrische Synthese, kinetische Racematspaltung, „chiral pool“-Synthesen, enzymatische Umwandlungen) Schritt halten zu können, wurde jedoch die Chromatographie in der analytischen Enantiomerenbestimmung in den letzten Jahren zur Methode der Wahl. Ein entscheidender Vorteil dabei ist die Tatsache, dass exakte Ergebnisse auch von nicht isolierbaren Einzelkomponenten komplexer Gemische erhalten werden können, vorausgesetzt, alle chiralen und nicht chiralen Komponenten werden ausreichend gut getrennt.

Das Feld chiraler Chromatographie ist in den letzten Jahren stark angewachsen, wie man aus der steigenden Anzahl der Publikationen pro Jahr ersehen kann. Es wurden zahlreiche Fachbücher, Buchbeiträge und Übersichtsartikel über enantioselektive Flüssigkeitschromatographie (LC) [71, 72], Kapillarelektrophorese (CE) [73, 74], superkritische Flüssigkeitschromatographie (SPE) [75, 76] und Gaschromatographie (HRGC) [77-80] veröffentlicht.

Die Wahl der chromatographischen Technik hängt in erster Linie vom chemischen Charakter der zu untersuchenden Substanz ab. Obwohl die Gaschromatographie für thermisch stabile Enantiomere mit unpolaren bis gering polarem Charakter und kleinen Molekulargewichten ohnehin die Methode der Wahl ist, wird sie zusätzlich wegen folgender Vorteile bevorzugt [70, 77, 79]:

1. Möglichkeit der Bestimmung der absoluten Konfiguration einer Komponente, selbst bei geringer Konzentration in einem komplexen Gemisch im Subnanogrammbereich [70]
2. Hohe Empfindlichkeit, unabhängig von funktionalen Gruppen
3. Geringe Nachweisgrenze für enantiomere Verunreinigungen (unter 1%)
4. Universelle Detektoren mit linearer Response über einen weiten Bereich
5. Chirale stationäre Phasen für die Trennung aller erhältlichen verdampfenden Komponenten
6. Haltbarkeit der eingesetzten GC-Kapillarsäulen bis zu mehreren Jahren

7. Erleichterung des Nachweises chiraler komplexer biologischer Matrices durch zusätzliche Techniken, wie multidimensionale Gaschromatographie bzw. Kopplungen mit spektroskopischen Verfahren.

Es gibt natürlich auch einige Einschränkungen in der Anwendbarkeit enantioselektiver Gaschromatographie (Thermolabilität der chiralen Trennsäulen), die vor allen Dingen auf der geringen Verdampfbarkeit stark polarer oder großer organischer Moleküle und dem Verlust der Enantioselektivität bei hohen Temperaturen (über 240 °C) beruhen.

2.4.2 Gaschromatographische Methoden der Konfigurationsanalytik

Man unterscheidet prinzipiell zwei gaschromatographische Verfahren, mit denen racemische Gemische getrennt werden können:

- Indirekte Methode:** Umsetzung der Enantiomere mit einem enantiomer-reinen chiralen Reagenz in diastereomere Derivate und anschließende gaschromatographische Trennung der Diastereomere an einer achiralen stationären Phase. Der Vorteil dieser Methode liegt in der Anwendbarkeit in nahezu jedem chromatographischen System, vorausgesetzt, es besitzt die notwendige Selektivität. Der Nachteil besteht vor allen Dingen in der Notwendigkeit der absoluten Enantiomerenreinheit des chiralen Reagenzes, das zur Vermeidung systematischer Fehler unabdingbare Voraussetzung ist .
- Direkte Methode:** Trennung der Enantiomere an einer chiralen stationären Phase, die den optisch aktiven Hilfsstoff enthält. Der Vorteile dieser Methode liegt in erster Linie darin, dass die Richtigkeit des Ergebnisses durch die Enantiomerenreinheit der chiralen stationären Phasen nicht beeinträchtigt wird. Hier erlaubt das Detektorsignal gleichzeitig durch Flächenintegration eine quantitative Bestimmung des Enantiomerenverhältnisses.

2.4.3 Definition des Enantiomerenverhältnisses (ER), der Enantiomerenfraktion (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee).

a) Enantiomerenverhältnis (ER):

Das Enantiomerenverhältnis erhält man durch die direkte Peakintegration von NMR-Spektren oder Chromatogrammen. Es ist durch folgende Gleichung definiert:

$$ER = S/R$$

S und R sind hierbei das erste bzw. zweite eluierende Enantiomer. ER = 1 für das racemische Gemisch, ER < 1, wenn S < R (optimaler Wert 0), und ER > 1, wenn S > R (optimaler Wert ∞).

Das ER ist ein Maß für das Verhältnis der Geschwindigkeitskonstanten K_R/K_S in enantioselektiven Reaktionen:

$$-\Delta_{R,S}(\Delta G) = \Delta_{R,S}(\Delta H) + T\Delta_{R,S}(\Delta S) = RT \ln ER$$

b) Enantiomerenfraktion (EF):

$$EF = S/S + R \times 100$$

wobei S und R die Peakflächen des Enantiomers 1 und 2 darstellen.

c) Zusammenhang zwischen ER und EF:

$$EF = 1/(1 + 1/ER)$$

EF umfasst nur den Bereich von 0 bis 1

EF = 0,5 für das racemische Gemisch

EF > 0,5 oder < 0,5 für die enzymatisch bedingte Veränderung.

d) Enantiomerenüberschuß (ee):

Der Enantiomerenüberschuß zeigt den Überschuß eines der beiden Enantiomere an und wird durch folgende Gleichung definiert:

$$ee = (S - R) / (S + R)$$

S und R sind die Mengen der beiden Enantiomere; S stellt das Hauptenantiomer dar. Der Wert von ee reicht von ee = 0 für racemische Gemische bis zu ee = 1 für pures S. In der Praxis wird ee oft in Prozent angegeben:

$$\% ee = (S - R) / (S + R) \times 100 = \% S - \% R$$

e) Zusammenhang zwischen ER und ee:

$$ER = (1 + ee) / (1 - ee)$$

$$ee = (ER - 1) / (ER + 1)$$

2.4.4 Chiraler Trennfaktor

Der Trennfaktor α ist definiert durch den Quotienten der (von einem Inertgaspeak aus gemessen) Nettoretentionszeiten des später (t_R') und des früher eluierenden Antipoden (t_S').

$$\alpha = (t_R') / (t_S')$$

Hat man den Trennfaktor experimentell bestimmt, so lässt sich daraus die Differenz der freien Enthalpien der Assoziate der beiden Enantiomeren R und S mit der ungelösten chiralen stationären Phase errechnen:

$$-\Delta(\Delta G^0)_{R,S} = RT \ln \alpha$$

Nach Schleimer und Schurig [75] ist die untere Grenze der quantitativen Auftrennung zweier Enantiomere an einer hochauflösenden Kapillarsäule ein α -Wert 1,01 (entsprechend $-\Delta(\Delta G^0)_{R,S} = 10 \text{ cal/mol}$).

Da der Trennfaktor in Beziehung zur Enantioselektivität (Trennleistung bezüglich der zu trennenden Enantiomere) steht und temperaturabhängig ist, kann man ihn in temperaturprogrammierten Läufen nicht bestimmen. In gelösten Systemen ist α zudem konzentrationsabhängig. Anhand theoretischer Überlegungen und experimenteller Belege ist man zu der Ansicht gekommen, dass α mit der Konzentration des Cyclodextrinderivates in Polysiloxan nicht linear ansteigt [76]. Das Optimum liegt vielmehr bei niedrigen Konzentrationen. Oberhalb eines Cyclodextringehalts von ca. 30 Gew.% für permethylierte β -Cyclodextrine oder 50% für Derivate mit hohen Molekularmassen, wie z.B. n-Pentyl-Gruppen enthaltende γ -Cyclodextrine, wird keine weitere Selektivität (Trennleistung für das zu trennende Molekül) erreicht.

2.4.5 Thermodynamik der Enantiomerentrennung

Die chromatographische Enantiomerentrennung wird durch die freie Enthalpie-Differenz (Gibbs'sche Energie) $-\Delta(\Delta G)_{R,S}$ der diastereomeren Assoziationskomplexe zwischen chiralem Selektor (= chirale Moleküleinheiten der stationären Phase) und Selektand (= zu trennende Verbindung) begründet und ist deshalb ein thermodynamischer Prozeß. Wie schon erwähnt, gilt für die Enantiomerentrennung die Gibbs-Helmholtz-Gleichung:

$$-\Delta_{R,S}(\Delta G) = -\Delta_{R,S}(\Delta H) + T\Delta_{R,S}(\Delta S) = RT \ln \alpha_{\max} \quad (1)$$

Da die Nettoretentionszeit (vom Luft- oder Methanpeak aus gemessen) sowohl durch den physikalischen als auch den chemischen Beitrag zur Retention bestimmt wird, ist der entscheidende chemische Beitrag zur Enantiomerendifferenzierung $-\Delta(\Delta G^0)_{R,S}$ in Gl. (1) unterrepräsentiert. Nach Gl. (1) ergibt $RT \ln \alpha_{\max}$ bei Auftragung gegen $1/T$ eine Gerade, deren Steigung den Unterschieden der Assoziationsenthalpien und deren Achsenabschnitt die Differenz der Differenz der Assoziationsentropien der hochverdünnten Enantiomere in der stationären Phase angibt.

Für eine 1:1 Molekülassoziation üben die Werte $\Delta_{R,S}(\Delta S)$ und $\Delta_{R,S}(\Delta H)$ gewöhnlich einen gegenläufigen temperaturabhängigen Effekt auf $-\Delta(\Delta G^0)_{R,S}$ aus. Bei der iso-enantioselektiven Temperatur T_{isoenant} ,

$$T_{\text{isoenant}} = \Delta_{R,S}(\Delta H) / \Delta_{R,S}(\Delta S) \quad (2)$$

tritt Peakkoaleszenz auf [$-\Delta(\Delta G^0)_{R,S} = 0$ ($K_R = K_S$; keine Enantiomerentrennung)].

Oberhalb von T_{isoenant} wechselt das Vorzeichen der Enantioselektivität, was mit einer Peakinversion begründet werden kann. Unterhalb der Koaleszenztemperatur wird das Vorzeichen der Enantioselektivität $-\Delta(\Delta G^0)_{R,S}$ von $-\Delta_{R,S}(\Delta H)$ und oberhalb davon durch $\Delta_{R,S}(\Delta S)$ bestimmt. Diese Umkehr der Peakfolge wurde durch die gaschromatographische Enantiomerentrennung mehrfach bewiesen [81-87]. Normalerweise wird die Enantioselektivität in der Gaschromatographie von der Enthalpie bestimmt, d.h. der Trennfaktor α steigt mit sinkender Temperatur.

Für ungelöste chirale stationäre Phasen wird $-\Delta(\Delta G^0)_{R,S}$ durch den Trennfaktor $\alpha_{\text{ungelöst}}$ gemäß der Gleichung (1) erhalten. Obwohl die Gleichung (1) auch für gelöste chirale Stationärphasen gelegentlich benutzt wird, ist sie in diesem Fall nicht gültig, weil eben $\alpha_{\text{gelöst}}$ konzentrationsabhängig, $-\Delta(\Delta G^0)_{R,S}$ dagegen immer konzentrationsunabhängig ist. Um die Löslichkeit des chiralen Selektanden in der achiralen stationären Phase von dessen enantioselektiver Assoziation mit dem chiralen Selektor zu unterscheiden, muss man bei gelösten chiralen Stationärphasen den chemischen Kapazitätsfaktor R' einführen. R' ist experimentell über die relativen Retentionsdaten r (Säule mit Selektor in stationärer Phase) und r_0 (Referenzsäule ohne Selektor in stationärer Phase) [88, 86] gemäß der Gleichung:

$$R' = K m = (r - r_0)/r_0 = \text{assoziiert/nicht assoziiert} \quad (3)$$

zugänglich. Hierbei stellt m die Molalität (mol/kg stationäre Phase, temperaturunabhängige Größe) des Selektors in Polysiloxan (gelöst oder polymer gebunden) und K die Assoziationskonstante dar. R' repräsentiert das Verhältnis von assoziiertem zu unassoziiertem Selektanden in der stationären Phase und ist deshalb ein Maß für die Stärke der Selektor/Selektanden-Assoziation (für eine konstante Molalität m). Für gelöste chirale Stationärphasen kann die Größe $-\Delta(\Delta G^0)_{R,S}$ deshalb leicht aus der Differenz der chemischen Kapazitätsfaktoren R'_R und R'_S der Enantiomere erhalten werden [88]:

$$-\Delta(\Delta G^0)_{R,S} = RT \ln(K_R/K_S) = RT \ln(R'_R/R'_S) \quad (4)$$

Während $-\Delta(\Delta G^0)_{R,S}$ unabhängig von der Molalität der chiralen stationären Phase ist, hängt der Trennfaktor $\alpha_{\text{gelöst}}$ von der Konzentration ab [89]:

$$\alpha_{\text{gelöst}} = (K_R m + 1) / (K_S m + 1) = (R'_R + 1) / (R'_S + 1) \quad (5)$$

2.4.6 Chirale stationäre Phasen

2.4.6.1 Geschichtliche Entwicklung

Die ersten gaschromatographischen Enantiomerentrennungen beschrieben Gil-Av et al. [78, 80] 1966 an acylierten Aminosäure- und Dipeptidesterphasen in Kapillarsäulen. Sie konnten N-trifluoracetylierte Aminosäureester in ihre Enantiomere trennen, wobei sich zeigte, dass stationäre Phasen mit L-Aminosäuren als Bausteine L-Aminosäurederivate länger zurückhielten als D-Aminosäurederivate. Die Enantiomerendiskriminierung wurde durch die Ausbildung von Assoziationskomplexen zwischen den chiralen Substraten und der chiralen stationären Phase (CSP) erklärt. Für Diamidphasen wurden Wasserstoffbrückenbindungen als die wichtigste Kraft der molekularen Wechselwirkung angesehen. So führen gleichkonfigurierte Partner aufgrund stabilerer diastereomerer Assoziate zu einer längeren Retentionszeit als unterschiedlich konfigurierte Partner.

Diese Technik war beschränkt auf die Trennung von Aminosäuren und zudem nur in einem engen Temperaturbereich anwendbar (max. Betriebstemperatur ca. 100 °C). Trotzdem fand sie großes Interesse bei Forschern, die sich mit stereochemischen Problemen beschäftigten und viele Forschungsgruppen versuchten, die Anwendbarkeit dieser Technik auf andere chirale Komponenten zu erweitern. Es lag nahe, die Struktur der stationären Phase den zu trennenden Substraten anzupassen. So wurden erstmals α -Hydroxysäuren, Alkohole, Nitrite und Lactone getrennt [90-95], wobei jedoch die mangelnde thermische Stabilität der verwendeten stationären Phasen auch hier die breite Anwendung begrenzte. Der Temperaturbereich konnte 11 Jahre später erstmals von Frank et al. [79] bis auf 200 °C erweitert werden, indem sie den chiralen Selektor L-Valin-t-butylamid mit einer Polysiloxanmatrix verknüpften (Abb. 8). Mit dieser unter dem Namen Chirasil-Val bekannt gewordenen Phase konnten alle Proteinamino-säuren in einem einzigen chromatographischen Lauf getrennt werden.

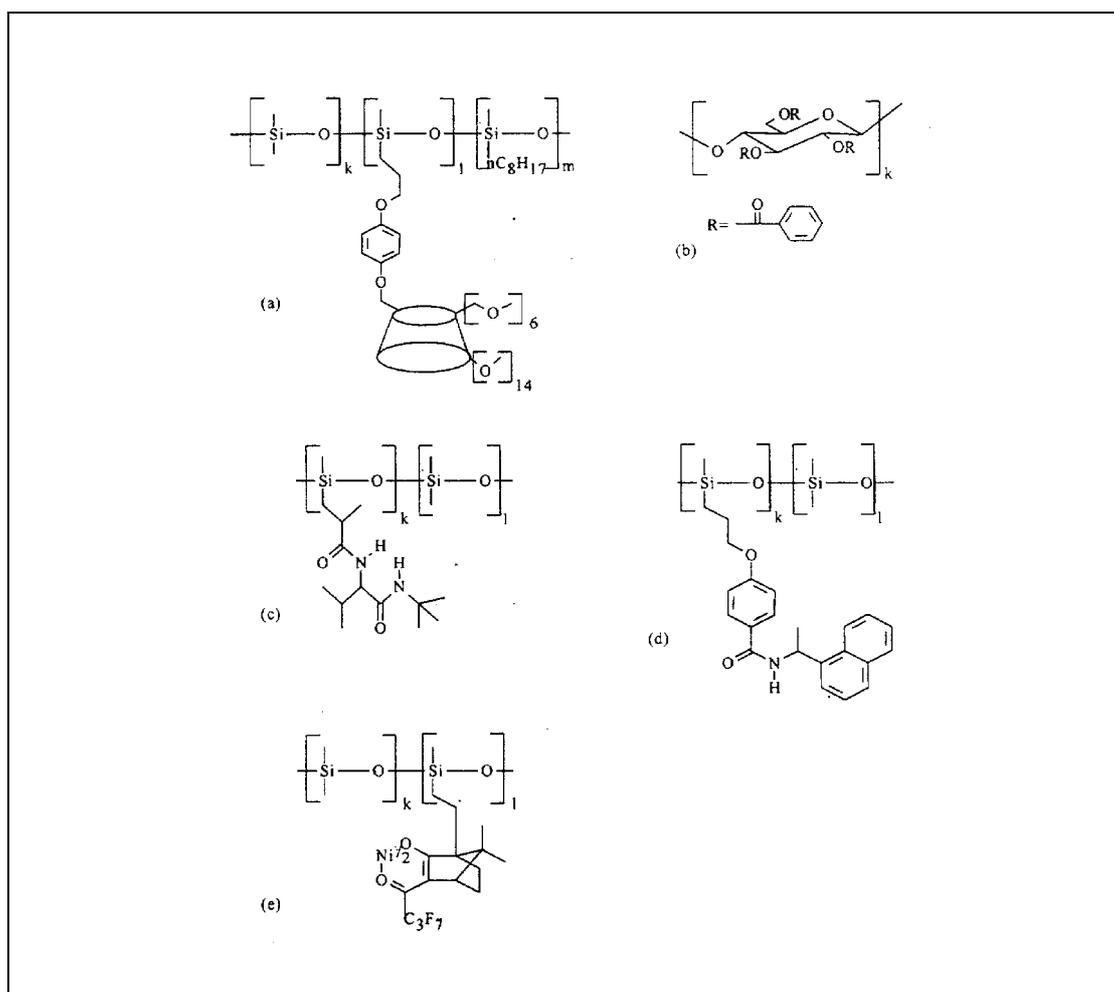


Abb. 8 Strukturen verschiedener chiraler Selektoren. a = Cyclodextrine; b = lineare Polysaccharide; c = Aminosäuren (Chirasil-Val); d = Amide; e = Metallkomplexe (Chirasil-Ni).

Mit kommerziell erhältlichen cyanoalkyl-substituierten Polysiloxanen (XE 60, OV 225) konnten verschiedene Aminosäure-Selektoren mit dem Polymer verbunden werden, nachdem die Nitril- in eine Carboxylgruppe umfunktioniert worden war. Die diastereomer modifizierten Polysiloxane XE 60-L-Valin(S)- und (R)- α -Phenylethylamid konnten im Rahmen vieler stereochemischer Untersuchungen im Bereich der Naturstoffe und Pharmaka angewendet werden [77].

Der Anwendungsbereich konnte zudem durch die Derivatisierung der chiralen Selektanden bedeutend erweitert werden. Dabei wurden Gruppen eingeführt, die verstärkt Wasserstoffbrückenbindungen mit der chiralen stationären Phase eingehen, wie z.B. Isocyanate [96] und Phosgen [97].

Der Fortschritt in der enantioselektiven Gaschromatographie war immer verbunden mit der Einführung neuer Prinzipien der Molekülwechselwirkung. Dies war auch der Fall bei der von Schurig [98] eingeführten Komplexierungs-Gaschromatographie, die auf der enantiospezifischen Koordinationswechselwirkung racemischer Selektanden mit optisch aktiven Organometall-Verbindungen als Selektoren beruht. Die treibenden Kräfte bei der chiralen Erkennung dieser chiralen stationären Phasen sind hauptsächlich π - π - und Dipol-Dipol-Wechselwirkungen. Nach anfänglichen Schwierigkeiten wurde 1977 erstmals das racemische Olefin 3-Methylcyclopenten aufgrund der diastereomeren Wechselwirkung mit Dicarboxyl-rhodium-3-trifluoracetyl-(1R)-campherat in seine Enantiomere aufgetrennt [98]. Dieses Trennprinzip konnte zwar nicht auf Olefine allgemein übertragen werden, dagegen aber auf sauerstoff-, stickstoff- und schwefelhaltige Substanzen unter Verwendung von optisch aktiven zweiwertigen Übergangsmetall-bis-chelaten. So konnten cyclische Olefine, Epoxide, Ether, Alkohole, Ketone, Lactone, Acetale und Ester in ihre Enantiomere getrennt werden [99-101]. Während Kapillarsäulen mit chiralen Polysiloxanen kommerziell erhältlich und deshalb weit verbreitet waren, wurde die Komplexierungs-GC erstens fast ausschließlich in der Schurig-Gruppe angewendet und zweitens war sie durch die mangelnde thermische Stabilität der Metall-Chelate in der Anwendung stark eingeschränkt. Dieser Zustand wurde 1991 von Schurig et al. [102] durch die Immobilisierung des chiralen Selektors mittels Bindung an ein Polysiloxan wesentlich verbessert.

Der wirkliche Durchbruch für die enantioselektive Gaschromatographie kam jedoch erst 1983 mit der Einführung von Cyclodextrinen (CD) auf der Basis des Inklusionsphänomens als neuem Prinzip der molekularen Wechselwirkung [103]. Die erfolgreiche Ausbreitung der modifizierten Cyclodextrine als chirale, makrocyclische Selektoren machte die enantioselektive GC zu einer der wichtigsten Methoden im Bereich der stereochemischen Analyse organischer Komponenten.

2.4.6.2 Klassifizierung und Charakterisierung

Zwischen 1966 und 1994 wurden mehr als 200 wissenschaftliche Artikel über die enantioselektive Chromatographie veröffentlicht [104]. In diesen Artikeln wurden 230 chirale stationäre Phasen für die HRGC beschrieben, von denen mehr als 40 kommerziell erhältlich sind [105]. Wie in Abb. 9 zu sehen ist, decken Cyclodextrine als chirale stationäre Phasen hierbei den größten Bereich ab.

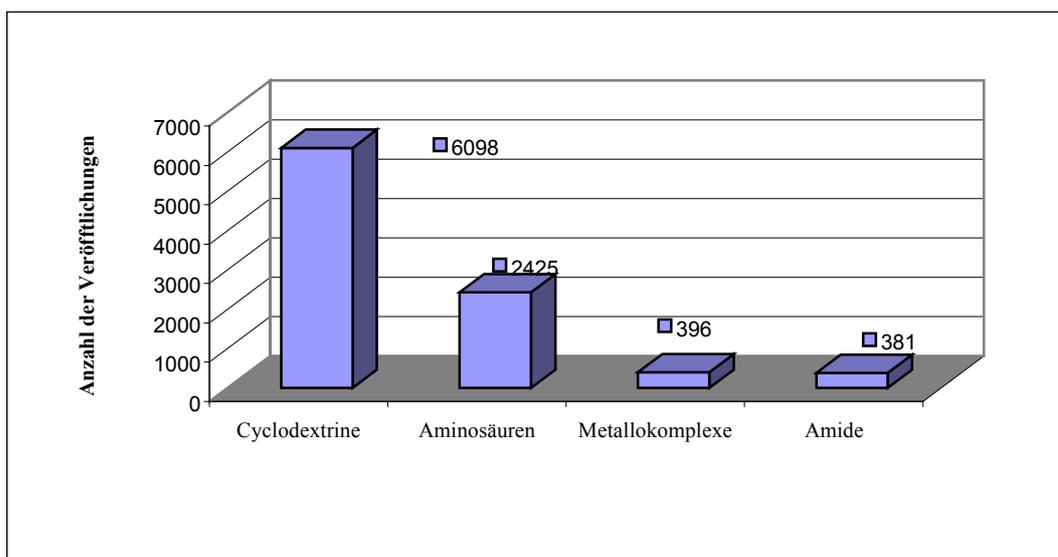


Abb. 9 Chirale stationäre Phasen, erschienen in Chirbase/GC (Version1/94).

Anzahl der Veröffentlichungen in Bezug zu der Anzahl der Trennungen für einen bestimmten Typ chiraler stationärer Phasen.

Chirale stationäre Phasen werden meistens mit Bezug auf ihren chiralen Selektor in verschiedene Typen eingeordnet. Man unterscheidet grundsätzlich fünf verschiedene Arten von chiralen Selektoren: Cyclodextrine, lineare Polysaccharide, Aminosäuren, Amide und Metallkomplexe (Abb. 2), die in unverdünnter Form, gelöst in oder kovalent gebunden an Polysiloxane verwendet werden [77-79, 106-108].

Um die chiralen stationären Phasen zu charakterisieren, wurden von verschiedenen Autoren McReynolds-Retentionsindices und Chromatogramme der Grob-Test-Mischung eingeführt. Während diese Daten nur Auskunft über Polarität und, in Ausnahmefällen, auch über die Belastbarkeit der chiralen Phase geben, hat man chirale Testmischungen für Cyclodextrine und Amide [109, 110] vorgeschlagen, mit denen man auch die Selektivität untersuchen kann. Diese Testmischungen können zwar wertvoll sein, wenn man verschiedene Typen chiraler stationärer

Phasen miteinander vergleichen will, aber Voraussagen über die Trennbarkeit bestimmter Enantiomerenpaare sind jedoch nur begrenzt möglich. Ein kleiner Unterschied in der Struktur, wie z.B. eine zusätzliche Methylgruppe [77] oder ein zusätzliches C-Atom in einer homologen Reihe [111-114], kann die Selektivität vermindern oder die Elutionsreihenfolge umkehren. Aus diesen Gründen gibt es bislang noch keine universelle chirale stationäre Phase und die Auswahl wird von „try and error“ bestimmt.

2.4.6.3 Zusammensetzung der chiralen stationären Phasen

Die Zusammensetzung einer guten chiralen stationären Phase ist ein Kompromiß zwischen mehreren Faktoren:

1. **Anteil des chiralen Selektors**
2. **Polarität des achiralen Teils der chiralen stationären Phase**
3. **Kovalente Bindung des chiralen Selektors an das Polysiloxangerüst**
4. **Immobilisierung der gesamten Phase.**

1. Anteil des chiralen Selektors

Der Anteil des chiralen Selektors übt großen Einfluß auf die Selektivität der Säule aus. Für Cyclodextrin- und Cellulose-Phasen steigt die Selektivität mit steigendem Anteil des Selektors asymptotisch bis zu einem bestimmten Wert an [88, 115, 116]. Bei Amid-Phasen z.B. führt diese Wechselwirkung ab einem bestimmten Anteil des chiralen Selektors zu einer sinkenden Selektivität [117]. Diesen Effekt kann man durch eine Selbstblockade des chiralen Selektors erklären. Sind die chiralen Zentren durch den achiralen Teil nicht mehr voneinander isoliert, dann reagieren sie miteinander und hemmen so die Selektivität.

Auch die Effizienz (Leistungsfähigkeit) der Säule wird durch die Menge an chiraalem Selektor beeinflusst. Mit sinkendem Prozentsatz des achiralen Anteils sinkt auch die Effizienz der Säule [116]. Es kann dabei so weit führen, daß sowohl die Selektivität als auch die Effizienz ab einem bestimmten Punkt der Sättigung rapide sinken, weil die chirale stationäre Phase inhomogen und teilweise fest wird [116].

Ein weiterer Nachteil bei steigender Menge des chiralen Selektors kann die verlängerte Retentionszeit sein, die an der höheren Polarität des chiralen Teils gegenüber dem achiralen liegt. Von Vorteil dagegen ist die erhöhte Kapazität bei steigender Menge an chiraalem Selektor [118, 119], was bei der Analytik von geringen chiralen Rückstandsmengen in Gegenwart einer komplexen Matrix von Bedeutung ist.

2. Polarität des achiralen Teils der chiralen stationären Phase

Benutzt man ein polares Polymer als achirale Phase, führt das zu einem Anstieg der Sättigungskonzentration des chiralen Selektors und somit, wie oben schon erwähnt, zu einem möglichen Anstieg der Selektivität und Kapazität. Man muß jedoch dabei beachten, dass Wechselwirkungen mit der polarerer achiralen Phase in Konkurrenz mit den chiralen Erkennungsmechanismen treten können, welche die Selektivität wiederum vermindern können [116, 117]. Nachteile von polarerer achiralen Phasen sind die erhöhte Retentionszeit und die geringere Effizienz, was an der flexibleren Struktur und damit in der höheren Durchlässigkeit der apolaren Phase liegt [99].

Auch hier ist es wichtig, einen Kompromiß zwischen kurzer Retentionszeit, guter Selektivität und Effizienz zu finden. Eine Richtlinie ist hierbei, das polarste Siloxanpolymer zu benutzen, das einen großen Anteil an chiraalem Selektor lösen kann, ohne die Selektivität und Effizienz zu stark zu mindern.

3. Kovalente Bindung des chiralen Selektors an das Polysiloxangerüst

Es gibt viele Gründe, die für den Gebrauch eines chiralen Selektors sprechen, der kovalent an ein Siloxanpolymer gebunden ist. Sowohl die thermische Stabilität als auch die Lebenszeit einer chiralen stationären Phase wird erhöht, wenn man den Selektor kovalent an ein Polymergerüst bindet. Ein weiterer Vorteil gegenüber gemischten Phasen besteht im geringeren Säulenbluten, was ihren Einsatz in der Massenspektrometrie möglich macht. Kovalent gebundene, chirale, stationäre Phasen können einen höheren Anteil an chiralen Selektoren aufnehmen, da diese durch den achiralen Teil voneinander getrennt sind und somit nicht miteinander reagieren können [108, 120]. Ein entscheidender Nachteil der kovalent gebundenen Phasen ist jedoch die schwierigere und zeitaufwendigere Herstellung.

4. Immobilisierung der gesamten Phase

Die Immobilisierung der chiralen stationären Phase erleichtert sowohl die on-column und splitlose Injektion als auch die Spülung der Säule mit Lösungsmitteln. Ein zweiter positiver Aspekt ist die Erweiterung des Temperaturbereichs, bewirkt durch die Unterdrückung des Säulenblutens. Außerdem ermöglicht die Immobilisierung die Anwendung dieser chiralen stationären Phase in der SFC und CE [74-76, 121-123]. Obwohl eine milde Immobilisierung normalerweise keinen signifikanten Einfluß auf die Selektivität hat [115, 124], kann eine stärkere und ausgedehntere Immobilisierung deren Verminderung mit sich bringen [115, 116, 118, 125].

Tab. 7 CSP-Zusammensetzung sowie deren Vor- und Nachteile

Aktion	Vorteile	Nachteile
ansteigender Anteil des chiralen Selektors	ansteigende Selektivität, steigende Probenkapazität	sinkende Effizienz, steigende Retentionstzeit
steigende Polarität des achiralen Teils der chiralen stationären Phase	steigende Probenkapazität, steigende Löslichkeit des chiralen Selektors, verbesserte Peakgestalt bei polaren Komponenten	steigende Retentionstzeit sinkende Effizienz, sinkende Selektivität
konvalente Bindung des chiralen Selektors	verbesserte Peakgestalt bei polaren Komponenten sinkende Polarität des achiralen Teils der CSP oder steigender Anteil des chiralen Selektors verbesserte Stabilitätweiterer Temperaturbereich	steigende Retentionszeit sinkende Selektivität komplizierte Synthese
Immobilisierung	verbesserte Stabilitätweiterer Temperaturbereich	sinkende Selektivität

2.4.7 Cyclodextrine als stationäre Phasen

2.4.7.1 Struktur und Eigenschaften der Cyclodextrine

Cyclodextrine (CD), auch Cycloamylosen, Cycloglucane oder Cyclomaltooligosen genannt, wurden bereits 1891 von Villers [126] als Abbauprodukt der Stärke isoliert. Erst 1904 wurden diese von Schardinger [127] als cyclische Oligosaccharide charakterisiert. 1948 erkannten Freudenberg und Cramer [128] die Fähigkeit der Cyclodextrine, molekulare Einschlusskomplexe zu bilden. Cyclodextrine werden biotechnisch durch enzymatischen Abbau der α -1,4-verknüpften Glucoseeinheiten des Polysaccharids Stärke unter Einwirkung der Cyclodextringlycosyltransferasen von *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus macerans* und anderen Bacillusarten hergestellt [129]. Sie bilden eine homologe Reihe nicht reduzierender cyclischer Oligosaccharide aus mindestens sechs α -D-Glucosepyranoseeinheiten in α -1,4-glycosidischer Verknüpfung [130, 131], von denen bisher α -, β -, γ - und δ -Cyclodextrin mit sechs bis neun Glucosepyranoseeinheiten isoliert und charakterisiert worden sind. Cyclodextrine mit bis zu zwölf Einheiten sind lediglich nachgewiesen worden ([132, 133], solche mit weniger als sechs Einheiten sind unbekannt. Ausschließlich α -, β - und γ -Cyclodextrin sind zur Zeit kommerziell erhältlich (Abb. 10).

Makrocyclische Konformation der Cyclodextrine

Man kann sich die Cyclodextrine als hohle Kegelstümpfe (tori) vorstellen, deren weitere Öffnung ausschließlich mit sekundären Hydroxygruppen (C2-OH und C3-OH) und dessen konisch verengte entgegengesetzte Öffnung ausschließlich mit primären Hydroxylgruppen (C6-OH) besetzt ist. Das

Innere des Torus wird von zwei C-H-Gruppen-Reihen (C3 und C5) und der dazwischenliegenden Reihe der glykosidischen Etherbindungen (C1 und C4) begrenzt und besitzt durch die freien Elektronenpaare der Sauerstoffatome eine hohe Elektronendichte. Außerdem ist es unpolar und hydrophob [134], weil keine Hydroxygruppen nach innen gerichtet sind. Die Höhe dieses Hohlraumes ist bei verschiedenen Cyclodextrinen konstant, wogegen der Durchmesser variiert (Tab 8). Der Torus wird an beiden Öffnungen von Hydroxygruppen begrenzt, welche die nicht derivatisierten Cyclodextrine hydrophil machen. Eine zusätzliche Stabilität dieses cyclischen Makromoleküls wird durch stabile intramolekulare Wasserstoffbrücken O3-H...O'2 bzw. H...O'2 zwischen sekundären Hydroxygruppen benachbarter Glucoseeinheiten erreicht.

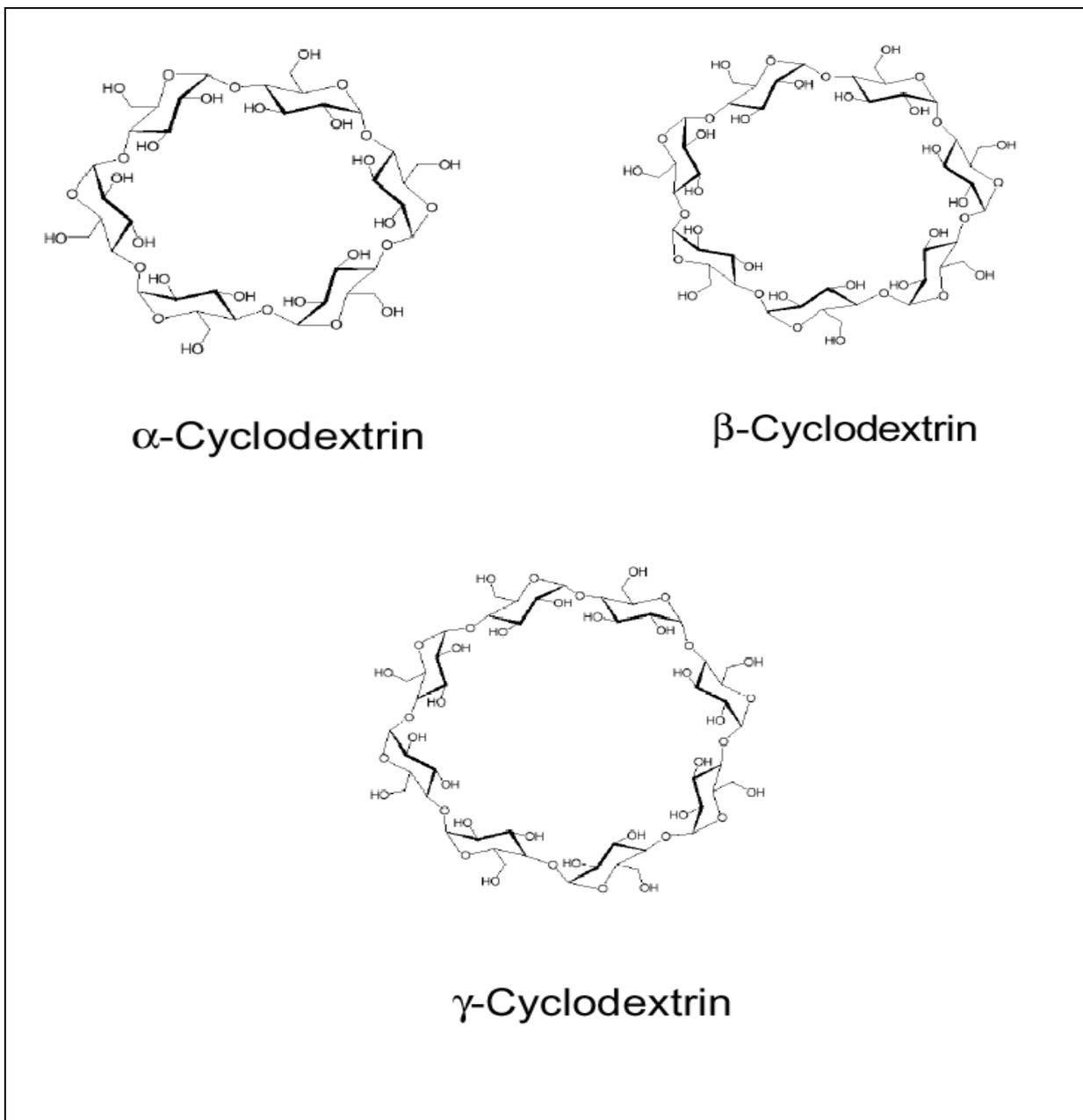


Abb. 10 α -Cyclodextrin, β -Cyclodextrin und γ -Cyclodextrin

Tab. 8 Molekulare Dimension und physikalische Daten von α -, β - und γ -Cyclodextrin

	Cyclodextrin		
	α	β	γ
Zahl der Glucoseeinheiten	6	7	8
Zahl der Chiralitätszentren	30	35	40
Molmasse	972,86	1135,01	1297,15
Außendurchmesser (pm)	1370-1460	1530-1540	1690-1750
Innendurchmesser (pm)	470-520	600-650	750-850
Hohlraumvolumen (nm ³)	0,176	0,346	0,510
pK _a der Hydroxygruppen	12,1-12,6	12,1-12,6	12,1-12,6
Wasserlöslichkeit (g/100ml, 25 °C)	14,50	1,85	23,20
Molarität der gesättigten Lösung (M)	0,114	0,016	0,179
Schmelz- und Zersetzungspunkt (°K)	551	572	540

Tab. 9 Strukturen der Cyclodextrinderivate, entwickelt als CSPs in der GC

Substituenten			Version			Literatur
3-O	2-O-	6-O-	unver- dünnt	verdünnt	gebun- den	
Me	Me	Me	x	X	x	141,106,108,120,121,143-145
Pe	Me	Me	X	X		146,143,147,148
Pe	Pe	Me	X	X		149,150
Pe	Pe	Pe	X	X		151,145,152,153
H	Pe	Pe	X			154,155
Me	S-HyPr	S-HyPr	X			156,157
Ac	Pe	Pe	X	X		112,152,158,159
TFA	Me	Me	X	x	x	113,160,161,162
Butylryl	Pe	Pe	X	x		163,148,164
TFA	Pe	Pe	X	x		165,166
Me	Me	TBDMS		X		167-169
Ac	Ac	TBDMS		X		111,114,170
H	TBDMS	TBDMS		X		171
Me	Me	Deoxy			x	118,120
Pe	Pe	Deoxy	x	x		172

Me = methyl; Pe = pentyl; H = nicht derivatisiert; TBDMS = tert-butyldimethylsilyl; S-HyPr = (S)-2-Hydroxypropylmethylether; Ac = acetyl; TFA = trifluoracetyl; Deoxy = Tausch der OH-Gruppe mit Wasserstoff

Diese Gestalt einer leeren molekularen Kapsel verleiht den Cyclodextrinen die Eigenschaft Komplexbindungen durch Inklusion eingehen zu können [130-137], welche durch hydrophobe Wechselwirkungen begünstigt werden. Diese Neigung wird technisch vielseitig genutzt [132, 139], vor allen Dingen deshalb, weil die Bildung von Einschlußkomplexen die Stabilität, Löslichkeit, Bioverfügbarkeit, Verweilzeit, Toxizität und die Olfaktion der Gasverbindung vorteilhaft beeinflussen kann [132-134, 140]. Die Gasverbindung kann sowohl ein Enantiomer sein als auch eine andere Art von Isomer, wie z.B. ein ortho-, para-, oder meta-Isomer, ein Steroidepimer oder ein Positionsisomer eines Terpens oder polycyclischen Kohlenwasserstoffes [121, 141, 142].

Eine große Anzahl von Cyclodextrinderivaten, die sich in Größe (α -, β - und γ -), Art und Position der Substituenten (2-O-, 3-O-, oder 6-O-) unterscheiden, hat sich für die Gaschromatographie als brauchbar erwiesen (Tab. 9).

2.4.7.2 Stand der Forschung

Die ersten erfolgreichen gaschromatographischen Enantiomerentrennungen von Pinenen und Pinanen gelangen 1983 Koscieski et al. [173] an gepackten Säulen, in denen das Trägermaterial mit underivatisiertem α -Cyclodextrin in Formamidlösung belegt war. Zu dieser Zeit gab es zahlreiche gaschromatographische Untersuchungen an gepackten Säulen, insbesondere die bahnbrechenden Arbeiten von Smolkova-Keulemansova et al. [174-176]. Diese Säulen zeigten zwar große Trennfaktoren α für die Enantiomere, waren jedoch wenig effizient. So waren die Peaks selbst für gepackte Säulen ungewöhnlich verbreitert, wie aus den geringen theoretischen Bodenzahlen von etwa 950-1250 für 2 m lange Säulen hervorging [175]. Damit waren diese Säulen den Cyclodextrinsäulen in der HPLC unterlegen, die bei 25 cm Länge etwa 8000 theoretische Böden besitzen [177]. Der eingeschränkte Temperaturbereich (70 °C), die geringe Lebensdauer der Säulen sowie die fehlende Übertragbarkeit der Methode auf Kapillarsäulen ließen das Interesse an thermisch stabilen Cyclodextrinphasen aufleben.

Der Durchbruch in der gaschromatographischen Enantiomerentrennung wurde 1987 mit der Verwendung von hochauflösenden Kapillarsäulen erzielt [141]. Da die nicht derivatisierten Cyclodextrine wegen ihrer physikalischen Eigenschaften für die Belegung von Kapillarsäulen ungeeignet waren, benutzte man alkylierte Cyclodextrine mit günstigeren Schmelzpunkten bzw. Löslichkeitseigenschaften. So wurde geschmolzenes, permethyliertes β -Cyclodextrin (Heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)- β -Cyclodextrin) bei hohen Temperaturen eingesetzt [141, 178, 179].

Bei der Anwendung in unverdünnter Form erwies sich der hohe Schmelzpunkt von permethylierten Cyclodextrinen als nachteilig. Um dieses Problem in den Griff zu bekommen, wurden wenig später zwei verschiedene Lösungen vorgeschlagen:

a) Lösung derivatisierter Cyclodextrine in Polysiloxanen

Vorteile bei der Verwendung von Lösungen peralkylierter Cyclodextrine in mäßig polaren Polysiloxanen nach Schurig und Nowotny [180-183] sind:

- 1- Die verdünnte Phase kann in einem weiten Temperaturbereich eingesetzt werden.
 - 2- Eine Trennung ist auch für stark polare Verbindungen möglich.
 - 3- Die Polarität der stationären Phase ist nicht nur durch die Art der Derivatisierung, sondern auch durch die Wahl des Lösungsmittels variierbar.
 - 4- Der geringe Substanzbedarf in Lösung hat den ökonomischen Einsatz schwer zugänglicher Cyclodextrine (γ , δ) zur Folge.
 - 5- Kurze Analysenzeiten werden durch geringe Konzentration der Cyclodextrine erreicht.
- Peralkylierte Cyclodextrine verbinden somit die Enantioselektivität der einfachen Cyclodextrine mit den einmaligen gaschromatographischen Eigenschaften der Polysiloxane. Derzeit verwendete Cyclodextrine und Polysiloxane sind in den Tab. 11 und 12 aufgeführt.

Tab. 11 Verwendete Cyclodextrine zur Herstellung von verdünnten Cyclodextrinphasen

Nr.	Cyclodextrinphase	bevorzugt getrennte Enantiomere
1	Heptakis(2,3,6-tri-O-methyl) β -CD	cyclische Ether; underivatisierte cyclische und acyclische Ketone; γ -Lactone; Terpenketone; underivatisierte sekundäre aliphatische und aromatische Alkohole; Terpenalkohole; underivatisierte aliphatische Dirole; aliphatische und aromatische Oxirane; bicyclische Alkene und Alkane
2	Heptakis(2,3,6-tri-O-methyl) α -CD	Phenyloxiran; wie 1;
3	Octakis(2,3,6-tri-O-methyl) γ -CD	Spiroketale; wie 1 und 2
4	Heptakis(2,6-di-O-methyl-3-O-trifluoracetyl) β -CD	γ -Lactone
5	Octakis(2,6-di-O-methyl-3-O-trifluoracetyl) γ -CD	δ -Lactone
6	Heptakis(3-O-heptatrifluoracetyl-2,6-di-O-methyl) β -CD	Cyclische und acyclische Ketone

Tab. 12 Verwendete Polysiloxane zur Verdünnung der Cyclodextrinphasen

OV-1; OV-101; CP-Sil 5; DB-1 (100% Dimethylpolysiloxan)
SE 54; PS086 (94% Methyl-, 5% Phenyl-, 1% Vinylpolysiloxan)
OV-1701; CP-Sil 19 (14% Phenylcyanopropyl-, 86% Dimethylpolysiloxan)
OV-17; Rtx 50; CP-Sil 24 (50% Dimethyl-, 50% Diphenylpolysiloxan)

Eine logische Erweiterung dieser Methode stellte die kovalente Bindung des Cyclodextrinselektors an das Polysiloxanrückgrat dar [107, 108]. Durch thermische Immobilisierung wurden diese Chirasil-Dex-Phasen (kommerziell erhältlich von Chrompack, Middelburg, Niederlande) an Fused-Silica-Oberflächen gebunden [121], womit chirale stationäre Phasen entwickelt waren, die resistent gegen Säulenbluten, Lösungsmittel (für on-column-Technik einsetzbar) und Temperaturschocks (PTV-Injektoren) sind. Der anwendbare Temperaturbereich liegt zwischen -25 °C und 250 °C.

b) Flüssige, unverdünnte längerkettig-alkylierte Cyclodextrinphasen

König et al. [184-188] fanden, dass die Einführung von längerkettigen n-Alkylresten bei Raumtemperatur zähflüssige Cyclodextrinderivate ergab, die sich hervorragend zur gaschromatographischen Enantiomerentrennung eignen. Diese Cyclodextrinphasen (Handelsname Lipodex, kommerziell erhältlich von Macherey-Nagel, Düren, Deutschland) sind in Tab. 13 aufgeführt.

Polarere, partiell alkylierte, flüssige Cyclodextrinderivate wurden von Armstrong et al. [156, 157, 165, 189] für unbehandelte Fused Silica-Kapillarsäulen verwendet (Tab. 13). Die freien Hydroxygruppen verleihen hier den mäßig polaren Derivaten hydrophile Eigenschaften.

Blum und Aichholz [114, 168, 190] führten tert-butyldimethylsilyliertes β -CD als nützliche alternative chirale stationäre Phase in die enantioselektive Gaschromatographie ein (kommerziell erhältlich von BGB-Analytik, Adliswil, Schweiz).

Tab. 13 Flüssige Cyclodextrinphasen

Nr.	Cyclodextrinphasen	Bevorzugt getrennte Enantiomere
1	Hexakis(2,3,6-tri-O-n-pentyl) α -CD (Lipodex A)	Trifluoracetylierte Alkohole; Epoxyalkohole; Diole; Triole; Kohlenhydrate; Alkylhalogenide; Spiroacetale; Glycerinderivate; N-alkylierte Barbiturate
2	Hexakis(3-O-acetyl-2,6-di-O-n-pentyl)- α -CD (Lipodex B)	γ -Lactone, cyclische Carbonate; 1,2- Diole; Succinimide; racemische trifluoracetylierte Kohlenhydrate; Aldole; Cyanhydrine; Aminoalkohole
3	Heptakis(2,3,6-tri-O- n-pentyl) β -CD (Lipodex C)	trifluoracetylierte Alkohole und Kohlenhydrate ; Hydroxycarbonsäureester; Cyanhydrine; Olefine; Diene ; Alkylhalogenide
4	Heptakis(3-O-acetyl- n- di-O-n-pentyl)- β -CD (Lipodex D)	trifluoracetylierte Amine; Aminoalkohole, β -Aminosäureester; cyclische trans-Diole
5	Octakis(2,3,6-tri-O-n-pentyl)- γ CD	Alkene; Carbonylmetall- π -komplexe
6	Octakis(3-O-butanoyl-2,6,-di-O-n-pentyl) γ - CD (Lipodex E)	N- trifluoracetyl-O-methylierte Aminosäuren; O-trifluoracetylierte Hydroxycarbonsäureester; Alkohole und Diole als Trifluoracetylester; Terpenketone; cyclische Acetate; Lactone
7	Heptakis(O-(S)-2-hydroxypropyl-per-O-methyl)- α -CD (PMHP-α-CD)	trifluoracetylierte sekundäre Amine und Aminoalkohole; Epoxide; Lactone; Norbornen- und Norbornanderivate; Acetale
8	Heptakis(O-(S)-2-hydroxypropyl-per-O-methyl)- β -CD (PMHP-β-CD)	wie 7
9	Heptakis(2,6-di-O- n-pentyl)- α -CD (Dipentyl-α-CD)	wie 7
10	Heptakis(2,6-di-O- n-pentyl)- β -CD (Dipentyl-β-CD)	wie 7
11	Heptakis(2,6-di-O- n-pentyl-3-O-trifluoracetyl)- β -CD (DPTFA-β-CD)	trifluoracetylierte Kohlenhydrate

2.4.7.3 Charakterisierung der Cyclodextrinphasen.

Effizienz der Cyclodextrinphase

Die Effizienz der zuerst eingeführten ungelösten, permethylierten β -Cyclodextrinphasen war sehr begrenzt. Sie wurde durch die Verwendung von ungelösten, höheralkylierten Derivaten mit geringeren Schmelzpunkten wesentlich verbessert [153, 186]. Eine alternative Methode ist die Mischung verschiedener CD-Derivate, um eine eutektische Schmelzpunktniedrigung zu erreichen [157, 166, 190].

Sehr effiziente Säulen wurden durch die Lösung von CD-Derivaten in Polysiloxanen oder, alternativ, auch durch die Bindung daran produziert. Cyclodextrinderivate haben einen mäßig polaren Charakter, weshalb ihre Löslichkeit in den meisten unpolaren und effizienten Polysiloxanen limitiert ist. Durch eine kovalente Bindung an das Polysiloxangrundgerüst ist es jedoch möglich, die Menge an chiralem Selektor stark zu erhöhen und somit hohe Effizienz sogar bei Raumtemperatur zu erreichen.

Selektivität der Cyclodextrinphasen

Die Selektivität der Cyclodextrinphasen wird durch vier Faktoren beeinflusst:

a) Menge an Cyclodextrin

Für die meisten Analyten steigt die chirale Selektivität mit steigendem Anteil der Cyclodextrinphase asymptotisch bis zu einem bestimmten Wert (15-50 %) an. Für bestimmte Enantiomere, wie z.B. Diole, bringt eine relativ kleine Menge an Selektor auf indirektem Weg (geringere Temperatur) eine größere Selektivität mit sich. Deshalb können sie ohne Derivatisierung nicht mit der ungelösten Form der Cyclodextrinphasen, sondern nur mit der gelösten oder kovalent gebundenen, getrennt werden.

b) Polarität der achiralen Polysiloxane

Obwohl es anscheinend eine gewisse Gesetzmäßigkeit gibt, die besagt, dass eine sinkende Polarität der Siloxane eine steigende Selektivität mit sich führt [170], gibt es viele Gegenbeispiele. In mehreren Veröffentlichungen wird z.B. von einer höheren Selektivität für bestimmte Analyten gesprochen, wenn Cyanogruppen im Polysiloxan enthalten sind [118, 145].

c) Größe der Cyclodextrine

Zum einen gibt es Enantiomere, die an einem bestimmten Derivat der Cyclodextrine, unabhängig von der Ringgröße, getrennt werden können. Andere wiederum verlangen eine bestimmte Ringgröße. Es ist deshalb schwierig, vorherzusagen, welche Ringgröße die beste Trennung für ein

bestimmtes Enantiomerenpaar ergibt. Die Enantiomertrennung eines großen Analyten erfolgt nicht unbedingt mit dem größten kommerziell erhältlichen Cyclodextrin, dem γ -CD. Ziemlich voluminöse δ -Lactone können z.B mit dem kleinsten Cyclodextrin, dem α -CD, sehr gut aufgetrennt werden [111]. Ein anderes Beispiel ist die Trennung von (+/-)-3-Methylhexan und anderen aliphatischen Hydrocarbonen, relativ kleinen Analyten, welche an dem größten Cyclodextrin erfolgt [149, 184].

d) Typ und Position der Substituenten

Durch eine Derivatisierung der Cyclodextrine kann man die Selektivität der chiralen stationären Phase am leichtesten beeinflussen. Hierbei ist sowohl die Art als auch die Position der Substitution von Bedeutung. Acylgruppen besitzen im Gegensatz zu Alkylgruppen starke Dipole und begünstigen somit die Wechselwirkung mit Elektronenakzeptoren [152, 160, 163], während Acylgruppen mit Analyten, die lange Alkylketten haben, van der Waals-Wechselwirkungen eingehen [152, 153]. Die Wahl der Position, welche substituiert wird (2-O- oder 6-O-, Abb. 11), hat ebenfalls einen großen Einfluß auf die chirale Erkennung.

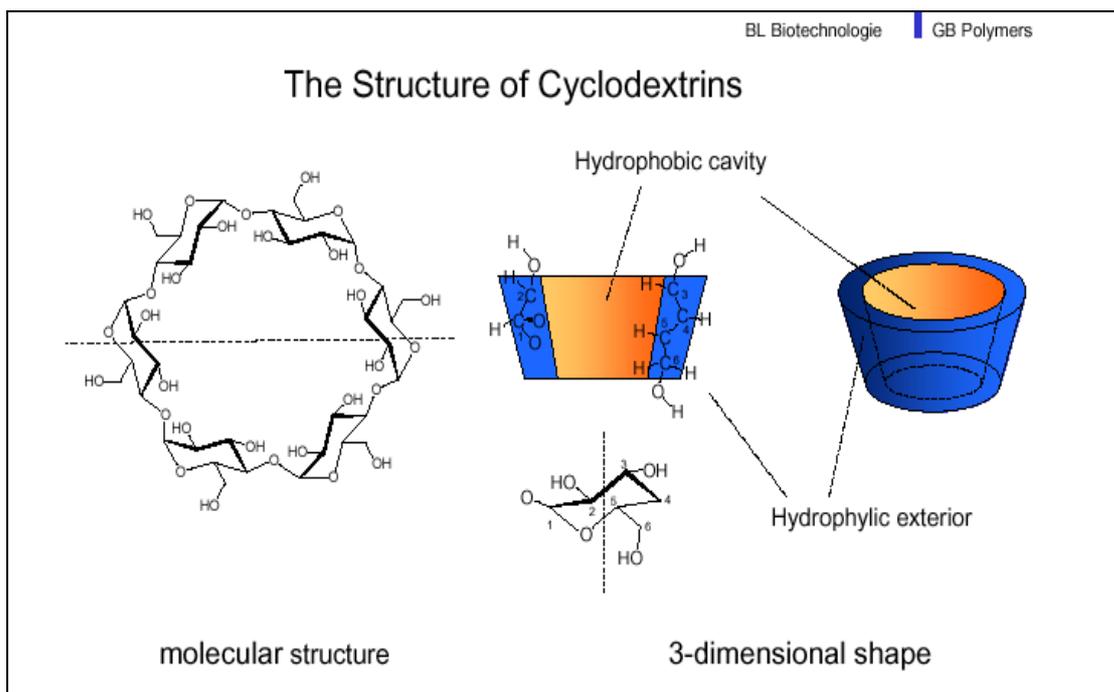


Abb. 11 Ringeinheit eines Cyclodextrins mit Substitutionspositionen und Cyclodextrintorus mit Substitutionspositionen

Substitution der Position 3-O-: Substituenten in dieser Position sind annähernd parallel zu der Cyclodextrinachse ausgerichtet [191, 192] und üben deshalb einen großen Einfluß auf die Gestalt der derivatisierten Cyclodextrine und somit auch auf Selektivität aus. Ist zudem das Innere des

Cyclodextrinorus an der chiralen Erkennung beteiligt, reagieren Substituenten in dieser Position besonders stark mit den zu trennenden Enantiomeren. Das einsame Elektronenpaar des Carbonylsauerstoffs (3-O-acetyl-, trifluoracetyl- und butyrylsubstituierte Cyclodextrine) kann z.B Wasserstoffbrückenbindungen eingehen und ermöglicht somit bevorzugt die Trennung polarer Analyten, wie Alkohole, Säuren, Lactone etc. [111, 113, 163, 164].

Es besteht ein allgemeiner Trend, dass polare Enantiomere besser mit polaren Substituenten als mit apolaren getrennt werden und umgekehrt. Es gibt jedoch genügend Fälle, in denen polare Enantiomere mit alkylierter 3-O-Position [82, 127, 128] und apolare Enantiomere mit polaren Cyclodextrinen besser getrennt wurden [82, 149, 184].

Substitution der Position 6-O-: Da die chirale Erkennung hauptsächlich an der weiten Öffnung der Cyclodextrine stattfindet, reagieren die Substituenten in der 6-O-Position nicht direkt mit den Analyten. Sie haben vielmehr Einfluß auf die Gestalt des Cyclodextrinorus und wirken deshalb indirekt auf die chirale Erkennung, wie es für Acetyl- und tert-Butyldimethylsilyl-(TBDMS) Derivate gezeigt wurde. Während die Acetylierung der 3-O-Position eine chirale stationäre Phase mit guter Selektivität ergibt, zerstört die Acetylierung der 6-O-Position diese für die meisten Enantiomeren [149]. Eine Erklärung kann die veränderte Gestalt des Cyclodextrinorus sein, eine andere die geringere Flexibilität der Cyclodextrine durch die Wechselwirkungen der polaren Acetylgruppen. Vergleicht man die reine chromatographische Leistung der 6-O-acetylierten Cyclodextrine mit denen der 6-O-TBDMS-substituierten Cyclodextrine, so ist man von der guten selektiven und effizienten chiralen Eigenschaften der silylierten Phasen überrascht [111, 114, 167-170]. Molekulare Untersuchungen [169] haben gezeigt, dass die voluminösen TBDMS-Gruppen die enge Öffnung der Cyclodextrine weiten und die weite Öffnung verengen. Derselbe Effekt sollte für acetylierte Cyclodextrine eintreten. Im Falle der silylierten Cyclodextrine entfällt jedoch die Wechselwirkung der Substituenten untereinander, welche die acetylierten gegenüber den silylierten Cyclodextrinen unflexibel macht.

Substitution der Position 2-O-: Substituenten an dieser Position befinden sich außerhalb der weiten Öffnung der Cyclodextrine [191, 192] und haben deshalb weder Einfluß auf die Gestalt noch auf die chirale Erkennung, die hauptsächlich im Innern des Torus stattfindet.

2.4.7.4 Mechanismus der Enantiomerentrennung

Es gibt viele verschiedene Hypothesen für chirale Erkennungsmechanismen der Cyclodextrine. Anfänglich gingen die meisten Autoren davon aus, dass die Enantiomerentrennung an Cyclodextrinphasen ausschließlich ein Ergebnis eines engen Einschlusskomplexes ist. Später

wurden jedoch relativ kleine Moleküle wie (+/-)-cis-Pinan [149, 184] mit Derivaten des β - und γ -Cyclodextrins getrennt. Ein weiteres Beispiel stellt die Trennung von (+/-)-3-Methylhexan an 2,3-Di-O-pentyl-6-O-methyl- γ -Cyclodextrin dar [149]. In beiden Fällen ist es nicht mehr möglich, einen Einschlusskomplex zu formulieren. Obwohl die Analyten wahrscheinlich in den Cyclodextrinhohlraum eintreten, kommt die chirale Erkennung wohl eher aufgrund von Wechselwirkungen sowohl mit dem Innern als auch mit den Rändern des Torus und nicht durch die Bildung von Einschlußkomplexen zustande. Bei der gaschromatographischen Enantiomeren-trennung mit Cyclodextrinderivaten hat sich gezeigt, dass eine auffallende Vielfalt an Stoffklassen einer Enantiomeren-trennung zugänglich ist. Das Spektrum umfasst stark polare chirale Diole und freie Carbonsäuren, derivatisierte Aminosäuren und Kohlenhydrate, Metallkoordinations-verbindungen, Allene, Propellane, planar-chirale cyclische Alkene und unfunktionalisierte, monocyclische Kohlenwasserstoffe [195]. Während die Enantiomeren-trennung gesättigter cyclischer Kohlenwasserstoffe wie trans-1,2-Dimethylcyclohexan eindeutig auf molekulare Inklusion zurückzuführen ist [182], kommen für polare Substrate zusätzlich enantioselektive Wechselwirkungen in Betracht. Die dabei auftretenden Wirt-Gast-Wechselwirkungen können verschiedener Art sein:

- Sterische Anpassung durch Konformationsänderung des Gastmoleküle bzw. des Cyclodextrins beim molekularen Einschluß [191]
- Wasserstoffbrückenbindungen [195-196]
- Van-der-Waals-Wechselwirkungen
- Hydrophobe Wechselwirkungen
- Dipol-Dipol-Wechselwirkungen
- Charge-Transfer-Wechselwirkungen
- Elektrostatische Wechselwirkungen
- Freisetzung von Wasser aus dem Cyclodextrinhohlraum
- Freisetzung von Lösungsmittel aus dem Cyclodextrinhohlraum unter Entropiegewinn
- Abbau der Ringspannung des Makrocyklus

Obwohl sehr schwer zu entscheiden ist, welche Wechselwirkung an der chiralen Erkennung beteiligt ist, gibt es erste Hinweise auf Struktur–Trennungs–Beziehungen. Enantiomere mit starren und cyclischen Strukturen werden normalerweise mit größeren α -Werten als lineare und flexiblere Moleküle getrennt. So werden für die cyclische Form größere α -Wert erhalten als für die lineare Form ein- und derselben Komponente [145, 198]. Die Anwesenheit von Wasserstoff, der in der Lage ist, Wasserstoffbrücken einzugehen, scheint die chirale Erkennung alkylierter Cyclodextrine zu verbessern. Alkohole und freie Carbonsäuren werden mit größeren α -Werten getrennt als ihre

korrespondierenden Ester [198, 199]. Bei acylierten Cyclodextrinen scheinen dagegen die aktiven Wasserstoffbindungen nur teilweise an der chiralen Erkennung beteiligt zu sein, weil einige Enantiomere in ihrer acylierten Form mit höheren α -Werten getrennt werden als in ihrer underivatisierten Form [166]. Dipol-Dipol-Wechselwirkungen zwischen den Acylgruppen der Enantiomere und Cyclodextrine scheinen dagegen eine große Bedeutung zu haben [189]. Acetyl-, Trifluoracetyl-, Chloracetyl- und Trichloracetyl-Derivate einiger Enantiomere wurden mit großen Unterschieden in der Selektivität getrennt, obwohl sie bezüglich Masse und Volumen ähnlich sind. Diese Unterschiede können mit der unterschiedlichen Polarität erklärt werden.

Im Gegensatz zu den meisten anderen chiralen stationären Phase sind Cyclodextrinphasen nicht auf Enantiomere beschränkt, die funktionelle Gruppen nahe dem asymmetrischen Zentrum enthalten. Obwohl die α -Werte gewöhnlich für α -Säuren größer als die für β - oder γ -Säuren sind, werden doch alle auf einer Cyclodextrinphase getrennt [149, 163, 166, 195].

Faßt man die Mechanismen der chiralen Erkennung der Cyclodextrine zusammen, kommt man zu dem Schluß, daß Cyclodextrine die Trennung einer hohen Anzahl von verschiedenen Enantiomeren ermöglichen.

2.4.7.5 Fehlerquellen in der gaschromatographischen Enantiomerenbestimmung

Trotz des großen Erfolges der enantioselektiven Gaschromatographie darf man potentielle Fehlerquellen nicht außer Acht lassen. Sie wurden erst kürzlich von Schurig zusammengefasst [200]. Die wichtigsten sind:

1. Bei hohen Temperaturen kann während der chromatographischen Trennung ein Abbau des Analyten eintreten (das Enantiomer, das länger in der Säule verweilt, wird stärker abgebaut, was einen Fehler im Enantiomerenverhältnis erzeugt). Feststellen kann man diese Fehlerquelle, indem man stationäre Phasen entgegengesetzter Chiralität verwendet. Um diesen Fehler zu vermeiden, muß man die Differenz der Aufenthaltszeit beider Enantiomere reduzieren. Dieses Ziel kann durch die Benutzung kurzer Säulen, durch höhere Drücke oder durch die Verwendung von Cyclodextrinphasen mit kleinen Trennfaktoren erreicht werden.
2. Die Koelution mit Verunreinigungen kann die Peakflächen verfälschen. Benutzt man auch in diesem Fall stationäre Phasen entgegengesetzter Chiralität oder verändert man einfach die Parameter Temperatur und Trägergasfluß, kann man diesen Fehler erkennen und eliminieren. Eine weitere Möglichkeit ist die Verwendung von Vorsäulen mit verschiedenen Polaritäten in der multidimensionalen Gaschromatographie.

3. Die enantioselektive Umwandlung eines konfigurationslabilen Enantiomers während der Enantiomerentrennung führt zur Inversion der Konfiguration. Dieser Effekt verursacht charakteristische Umwandlungsprofile, welche bei Cyclodextrinen beobachtet wurden [201, 202].

4. Peakverzerrungen können durch instrumentelle Bedingungen entstehen. Ein ungeeignetes Temperaturprogramm kann z.B. eine thermische Peakspaltung produzieren, wenn offenröhrierte (open tubular) Säulen aus Glas mit geringen thermischen Kapazitäten benutzt werden. Diese periodischen Schwankungen in chromatographischen Elutionsprofilen treten hauptsächlich bei großen Retentionsfaktoren auf und verursachen Peaks, die die Gestalt eines sogenannten "Weihnachtsbaums" haben [203].

5. Eine nichtlineare Detektorresponse kann zu Fehlinterpretation führen. Der Responsefaktor eines racemischen Enantiomerenpaares ist immer gleich, wenn man achiroptische Detektionssysteme verwendet, da Enantiomere in einer achiralen Umgebung nicht unterschieden werden können. Ist der Responsefaktor jedoch über einem gewissen Konzentrationsbereich nicht linear (ECD-Detektor), muß man bei der Interpretation der nicht racemischen Enantiomerenverhältnisse vorsichtig sein. Es empfiehlt sich in diesem Fall, Verdünnungsexperimente mit einer konzentrierten Mischung durchzuführen.

2.5 Über die Chiralität von Technischem Toxaphen

2.5.1 Die Berechnung der Varianz der Toxaphene am Beispiel der polychlorierten Bornane

In Abb. 12 sind die Substituenten des Bornanmoleküls (hier H oder Cl) mit Buchstaben von a bis r gekennzeichnet.

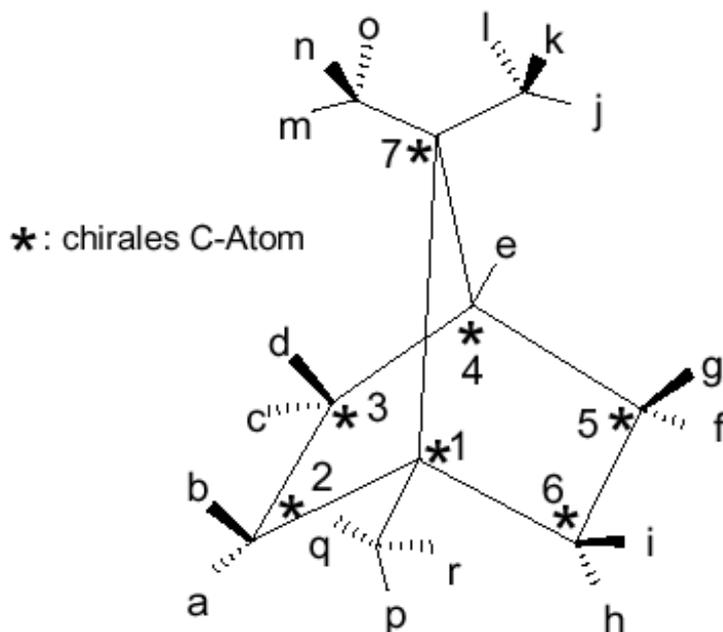


Abb. 12 Substitutionsmöglichkeiten am Bornan-Grundgerüst

Im Bornan-Molekül führt eine ungleiche Besetzung (d.h. 1 Cl oder 0 Cl) der Substituenten a-i jeweils zu einer neuen Verbindung. Dagegen sind die drei Positionen j, k und l der Methylgruppe C-8 identisch, und das gleiche gilt auch für die Positionen m, n und o an C-9 sowie p, q und r an C-10. Bei der Annahme einer freien Rotation der Methylgruppe können an den jeweiligen Kohlenstoffatomen jeweils vier Substitutionsgrade (d. h. 0 Cl, 1 Cl, 2 Cl und 3 Cl) vorliegen, die jeweils zu unterschiedlichen Verbindungen führen. Die Gesamtzahl n der möglichen Bornane ergibt sich somit nach folgender Gleichung (1):

$$(1) \quad n = 2^9 \times 4^3 = 32768$$

n = Anzahl möglicher chlorierter Bornane

$$a-i = 2 \times 2 = 2^9 = 512$$

$$j-r = 4 \times 4 \times 4 = 4^3 = 64$$

Wie aus Gleichung (1) hervorgeht, sind - das (nicht chlorierte) Bornan eingeschlossen - insgesamt 32768 Kombinationsmöglichkeiten denkbar [3]. Die Verteilung der Kongenere auf die unterschiedlichen Chlorierungsgrade und die Summenformel mit dem entsprechenden Molekulargewicht sind in Tab. 14 aufgeführt. Ganz ähnliche Berechnungen lassen sich für die chlorierten Camphene und Dihydrocamphene durchführen [204].

Tab. 14 Theoretische Anzahl und Isomerenverteilung polychlorierter Bornane [3]

Summen- formel	Molekular- gewicht	Mögliche Enantiomere	Achirale Isomere	Enantio- merenpaare	Trennbar an achiralen Phasen (m)*
$C_{10}H_{18}$	138	1	1	-	1
$C_{10}H_{17}Cl_1$	172	12	2	5	7
$C_{10}H_{16}Cl_2$	206	69	7	31	38
$C_{10}H_{15}Cl_3$	240	256	12	122	134
$C_{10}H_{14}Cl_4$	274	696	22	337	359
$C_{10}H_{13}Cl_5$	308	1488	32	728	760
$C_{10}H_{12}Cl_6$	342	2608	42	1283	1325
$C_{10}H_{11}Cl_7$	376	3840	52	1894	1946
$C_{10}H_{10}Cl_8$	410	4818	56	2381	2437
$C_{10}H_9Cl_9$	444	5192	60	2566	2626
$C_{10}H_8Cl_{10}$	478	4818	56	2381	2437
$C_{10}H_7Cl_{11}$	512	3840	52	1894	1946
$C_{10}H_6Cl_{12}$	546	2608	42	1283	1325
$C_{10}H_5Cl_{13}$	580	1488	32	728	760
$C_{10}H_4Cl_{14}$	614	696	22	337	359
$C_{10}H_3Cl_{15}$	648	256	12	122	134
$C_{10}H_2Cl_{16}$	682	69	7	31	38
$C_{10}H_1Cl_{17}$	716	12	2	5	7
$C_{10}Cl_{18}$	750	1	1	-	1
Σ Kongenere		32768**	512**	16128	16640**

m* = Summe der achiralen Isomere und Enantiomerenpaare

** enthält das unchlorierte Bornan

In Abb. 13 ist die Enantiomerenverteilung graphisch dargestellt, wobei leicht zu erkennen ist, daß eine Beschränkung auf die im technischen Toxaphen dominierenden Penta- bis Dodecachlor-Komponenten kaum mit einer merklichen Reduzierung der denkbaren Kongenerenzahl verbunden ist [3, 203].

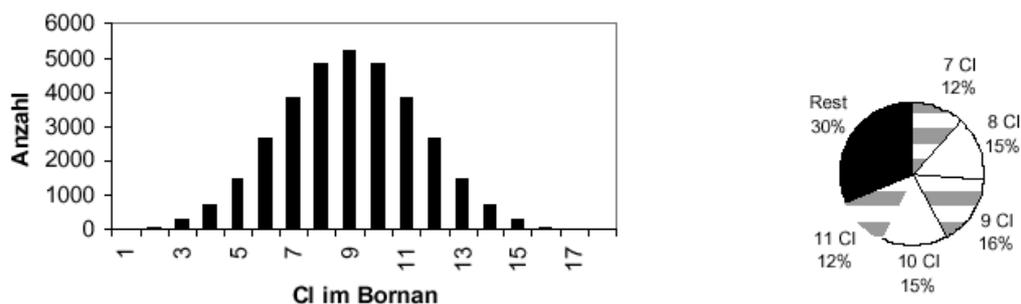


Abb. 13 Enantiomerenverteilung polychlorierter Bornane (rechts in %) [3]

Um einen Eindruck von der Komplexität im Vergleich zu anderen Gemischen von Organochlorverbindungen zu bekommen, sind in Tab. 15 die theoretisch möglichen Zusammensetzungen verschiedener chlorhaltiger Multikomponentengemische zusammengefaßt.

Tab. 15 Theoretisch mögliche Zusammensetzung polychlorierter Multikomponentengemische [20, 204]

Multikomponentengemisch	Kongenerenzahl m
Polychlorierte Bornane	16640
Polychlorierte Camphene	12288
Polychlorierte Dihydrocamphene	32768
Compounds of Technical Toxaphene (CTTs)	61696
PCBs	209
Polychlorierte Dibenzo-p-dioxine (PCDDs)	75
Polychlorierte Dibenzofurane (PCDFs)	135
Polychlorierte Naphthaline	75
PolychlorierteTerphenyle	8149
Monomethylsulfonyl-PCBs	836
1,2,3,4,5,6-Hexachlorcyclohexane (HCHs)	8
Polychlorierte Benzole	14

Ein Blick in Tab. 15 verdeutlicht, daß die Komplexität unter Berücksichtigung der Chiralität von Toxaphen die anderer Multikomponentengemische bei weitem übertrifft. Lediglich die noch wenig

untersuchten chlorierten Paraffine könnten eine ähnliche Komplexität wie Toxaphene aufweisen [204].

Der theoretisch möglichen Anzahl an Toxaphenen stehen weitaus weniger nachgewiesene gegenüber, wobei die Angaben sehr unterschiedlich sind. Zum Beispiel Holmstead et al. [205] berichten von mindestens 177, Saleh [11] von nicht weniger als 202, de Boer et al. [206] von 246, Zhu et al. [207] von mehr als 300 und Jansson et al. [208] von mehr als 670 nachgewiesenen Einzelverbindungen im technischen Gemisch. Nikoforov et al. [209] analysierten 176 Einzelverbindungen, die 50 % im technischen Gemisch Camphechlor ausmachen. Sie registrierten 352 größere Peaks von unterschiedlicher Intensität und rechnen den anderen 50 % weitere tausend Einzelverbindungen mit geringeren Anteilen zu.

Swackhamer et al. [210] geben die prozentuale Verteilung der Chlorierungsgrade nachgewiesener Toxaphene im technischen Gemisch (keine Angaben) mit je 33 % für die Heptachlor- und Octachlorkomponenten, 20 % für die Hexachlor- und 14 % für die Summe der Nona- und Decachlorkomponenten an, wobei sie darauf hinweisen, daß die prozentualen Anteile je nach Art des technischen Gemisches um ± 3 % schwanken können.

2.5.2 Enantioselektive Bestimmung von CTTs mittels Gaschromatographie

Rund 97% der polychlorierten Bornane sind chiral [3], wobei zu berücksichtigen ist, dass sich Enantiomere nicht nur in ihrer biologischen Aktivität, sondern auch in der Aufnahme, dem Transport und dem Metabolismus in einem bestimmten Organismus sowie in ihrer toxikologischen Wirkung auf diesen unterscheiden können [4]. Dieser Sachverhalt wurde bei der Herstellung und Anwendung des Pestizides Toxaphen nicht beachtet [5], so daß sich nummehr die Frage stellt, ob auch CTTs in bestimmten Organismen – evtl. organspezifisch – enantioselektiv angereichert werden, wie dies bereits bei anderen chiralen Organochlorverbindungen beobachtet wurde [211].

Da CTTs im Ultraspurenbereich in Umweltproben vorliegen, muss auch hier die HRGC/ECD- oder die HRGC/ECNI-MS-Analyse zu ihrem Nachweis mit trenneffizienten Kapillarsäulen, die mit geeigneten chiralen stationären Phasen (CPs) belegt sind, eingesetzt werden. Mit der Verwendung modifizierter Cyclodextrine als CSPs wurde die Bestimmung von Enantiomerenverhältnissen in Probenextrakten mittels Gaschromatographie möglich [8], und da es sich bei der Enantiomerentrennung von CTTs an modifizierten Cyclodextrinen um eine erst seit wenigen Jahren eingesetzte Analysetechnik handelt, sollen an dieser Stelle nähere Erläuterungen hierzu folgen.

Wie schon in Kapitel 2.4.7.1 erwähnt, bestehen Cyclodextrine je nach Typ aus 6, 7 oder 8 α -1,4-verknüpften α -D-Glucose-Bausteinen, die als α -, β - oder γ -Cyclodextrine bezeichnet werden [212].

Sie haben die geometrische Form eines Torsionskörpers, der je nach Anzahl enthaltener Glucose-Einheiten einen unterschiedlich großen Hohlraum aufweist. Durch Alkylierung, Silylierung oder Acylierung der OH-Gruppe an 2-, 3- und 6-Position der Glucose-Bausteine ist es gelungen, die Eigenschaften der Cyclodextrine derartig zu verändern, dass sie sich als Trennphasen in der Kapillar-Gaschromatographie eignen [8]. Die Geometrie des Torsionskörpers wird je nach Substituent unterschiedlich verändert, was einen entscheidenden Einfluss auf die Wechselwirkung zwischen chiralem Selektor und den chiralen Selektanden hat [5].

In den vergangenen Jahren wurde eine Vielzahl unterschiedlich modifizierter Cyclodextrine hergestellt, wobei die Enantiomerentrennung chiraler Organochlorverbindungen mitunter nur an einer bestimmten CSP gelingt [5]. Da eine erfolgreiche Enantiomerentrennung nicht vorausgesagt werden kann, bleibt nur der Versuch nach dem „try and error“-Prinzip.

Zur Optimierung der Enantiomerentrennung werden die Standards der entsprechenden CTTs eingesetzt, wobei die kommerziell erhältlichen CTT-Einzelverbindungen als Racemate vorliegen. Zur Charakterisierung der Trennleistung werden die chirale Auflösung R_s und der Trennfaktor α herangezogen (Gleichungen 1 und 2) [213].

$$R_s = 2 \Delta t^l / W_{b1} + W_{b2} \quad (1)$$

t^l = reduzierte Retentionszeit

$$t^l = t - t_0$$

t_0 = Durchflußzeit

W_b = Peakbreite an der Nulllinie

1,2 = erst- bzw. zweiteluiertes Enantiomer

$$\alpha = t^l_2 / t^l_1 \quad (2)$$

2.5.2.1 Chirale stationäre Phasen (CSPs) für die Enantiomerentrennung von CTTs

1994 gelangen erstmals Enantiomerentrennung der beiden CTT-Hauptkongenere in marinen Organismen, d.h. von B8-1413 und B9-1679 [214, 215]. In beiden Fällen wurde tert.-butyldimethylsilyliertes β -Cyclodextrin (β -BSCD) als chirale stationäre Phase in Mischungen mit OV1701 (85% Methyl-, 7% Phenyl-, 7% Cyanopropyl-, 1% Vinylpolysiloxan) oder PS086 (85% Dimethyl-, 15% Diphenylpolysiloxan) eingesetzt. GC-Säulen mit β -BSCD als chiralem Selektor wurden 1990 durch Blum und Aichholz [216] eingeführt.

An β -BSCD-Phasen konnten innerhalb eines GC-Laufs sieben persistente CTTs in ihre Enantiomere getrennt werden (Abb. 14) [217], und zu Beginn dieser Arbeit galt β -BSCD als einzige CSP, an der CTTs enantioselektiv bestimmt werden können [9].

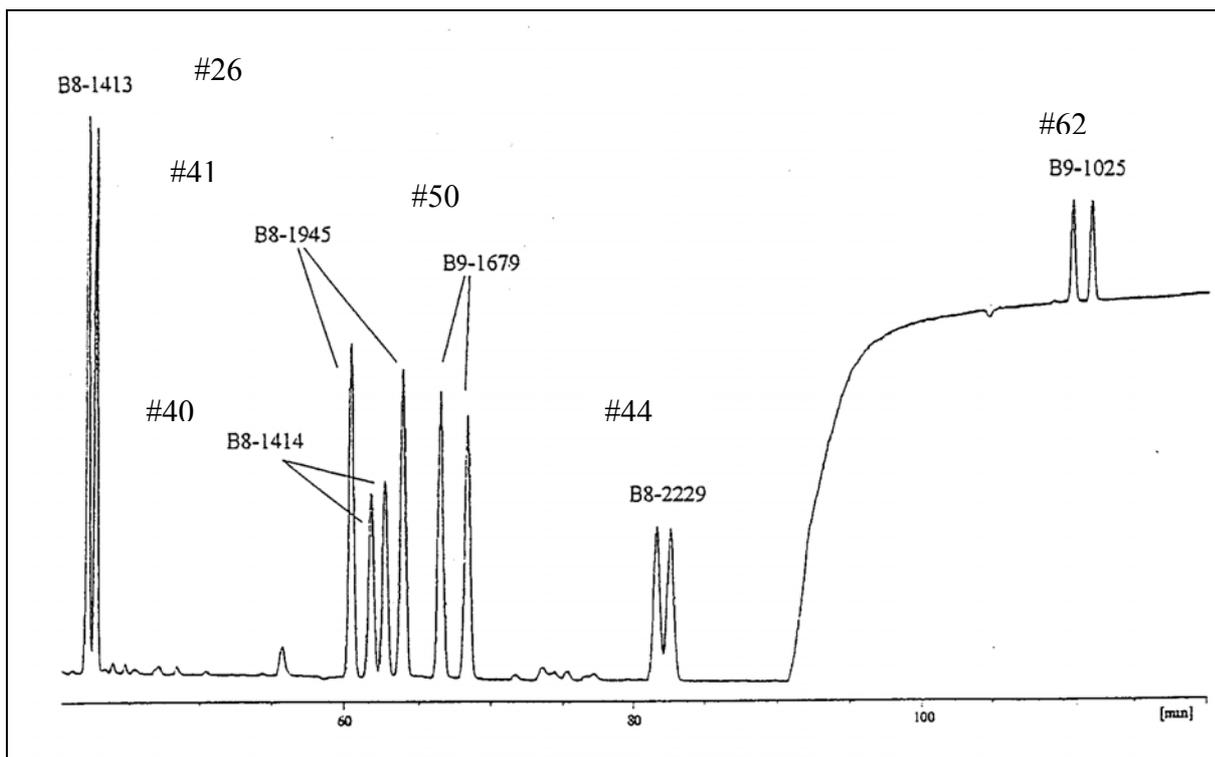


Abb. 14 GC/ECD-Chromatogramm der Enantiomerentrennung von 6 persistenten CTTs (Standard) an einer β -BSCD-Phase (30% in PS086) [92]

2.5.3 Bestimmung der Enantiomenverhältnisse von CTTs mittels GC/ECD-Analyse

Enantiomenverhältnisse werden üblicherweise als das Verhältnis von rechtsdrehendem zu linksdrehendem Enantiomer ($ER_{(+/-)}$) angegeben. Ist die Drehrichtung linear polarisierten Lichts nicht bekannt, wird das Enantiomenverhältnis auf folgende Weise als $ER_{(1/2)}$ definiert:

$$ER_{(1/2)} = \text{Höhe (Fläche) des ersteluierten Peaks} / \text{Höhe (Fläche) des zweiteluierten Peaks}$$

Da bisher keine vollständige und reproduzierbare Silylierung aller terminalen OH-Gruppen des Cyclodextrins gelungen ist, kommt es, je nach Syntheseansatz, zu Produkten unterschiedlicher Zusammensetzung, die alle mit dem Namen β -BSCD bezeichnet werden. Diese unterschiedlich zusammensetzten β -BSCD-Phasen können im Extremfall sogar zu einer Umkehr der Elutionsfolge eines Enantiomerenpaares führen. So wurde mit einer enantioangereicherten Standardlösung von α -HCH (1,2,4,5,6-Hexachlorcyclohexan) an verschiedenen β -BSCD-Phasen eine inverse Elutionsfolge der Enantiomere festgestellt, obwohl es sich formal um die „gleiche“ CSP handelte [217]. Deshalb muß bei der Angabe eines $ER_{(1/2)}$ für eine bestimmte chirale Verbindung unbedingt eine genaue Beschreibung der verwendeten CSP hinzugefügt werden.

Die störungsfreie Erfassung der Enantiomere bei der enantioselektiven GC ist wesentlich schwieriger als die bei der Bestimmung der Organochlorverbindungen bei der achiralen Analyse. Zum einen erfolgt die enantioselektive GC meist an kürzeren Trennsäulen (20-30 m Länge anstatt 50–60 m bei der achiralen GC), und im Vergleich zur achiralen GC müssen bei der Enantiomerentrennung deutlich mehr Signale pro Zeiteinheit getrennt werden. Schon geringfügige Störungen eines Enantiomers könnten zu einer erheblichen Verfälschung des Enantiomerenverhältnisses führen [5].

Um die Richtigkeit des $ER_{(1/2)}$ bei der HRGC/ECD-Analyse abzusichern, verglichen wir deshalb den Gehalt einer Verbindung, der an einer chiralen stationären Phase bestimmt wurde (Summe der Konzentrationen beider Enantiomere) mit der an einer achiralen GC-Säule ermittelten Konzentration (Gleichung 3).

$$C_{\text{achiral}} = C_{\text{Enantiomer1}} + C_{\text{Enantiomer2}} \quad \text{mit } C = \text{Konzentration} \quad (3)$$

Erst bei Übereinstimmung beider Werte kann das Enantiomerenverhältnis einer Verbindung in einem Probenextrakt angegeben werden. Oft wird jedoch zusätzlich der Einsatz der HRGC/MS-Analyse zur eindeutigen Bestimmung des $ER_{(1/2)}$ notwendig [5].

2.5.4 Bildung chiraler, chlorierter Xenobiotika

Bei der Synthese chlorierter Pestizide entstehen in den meisten Fällen Gemische verschiedener Isomere, die unterschiedliche chemische und toxikologische Eigenschaften besitzen. Viele dieser Substanzen sind achiral, einige aber auch chiral. Jede Synthese chiraler Moleküle führt normalerweise - d.h. bei Abwesenheit optisch aktiver Hilfsreagenzien oder Katalysatoren - zu einem

Gemisch beider Enantiomere im Verhältnis 1:1, weil die Wahrscheinlichkeit für die Bildung des einen oder anderen Enantiomers gleich groß ist. Da die Darstellung dieser Verbindungen auf abiotischem Wege entweder durch reine Chlorierung oder durch Chlorierung und nachfolgende Kondensationsreaktionen geschieht, liegen die chiralen Pestizide im technischen Produkt als Racemate vor. Toxaphen, das durch Photochlorierung von Camphen, einem chiralen Naturstoff, hergestellt wird, stellt in diesem Zusammenhang offensichtlich eine Ausnahme dar. Die erst kürzlich publizierte Untersuchung des Enantiomerenverhältnisses einer Komponente des technischen Toxaphens (Melipax) zeigt, dass trotz der abiotischen Darstellungsweise nicht racemische Verhältnisse vorliegen können [199, 218].

Eine Hauptmöglichkeit für die Entstehung chiraler Rückstände liegt in der abiotischen oder biotischen Umwandlung achiraler oder chiraler Ausgangsstoffe. Wichtige Vertreter der in der Umwelt aus achiralen Pestiziden gebildeten Kontaminaten sind u. a. die Photoprodukte der Cyclodieninsektizide.

2.5.5 Umwandlung von Toxaphen in der Umwelt

Für die Bewertung einer Umweltchemikalie sind neben der Persistenz und dem Akkumulationsverhalten insbesondere die Umwandlungsprodukte von Interesse. Sind die Umwelteinflüsse von abiotischer Natur, so spricht man von *abiotischer*, bei biotischen Prozessen von *biotischer* Umwandlung [219]. Die durch Umwelteinflüsse in ihrer Struktur veränderten Zwischen- und Endprodukte können sich u. a. in ihren toxikologischen Eigenschaften stark vom Ausgangsprodukt unterscheiden. Im Boden laufen abiotische und biotische Abbauprozesse in Verbindung mit Bakterien, Aktinomyceten und Pilzen oft parallel ab und lassen sich, da sie auch zu gleichen Endprodukten führen können, nur schwer voneinander abgrenzen.

Allgemein kann man annehmen, daß Toxaphen sich, wie andere chlorierte Kohlenwasserstoffe auch, in der Natur verhältnismäßig stabil verhält, wobei unterschiedliche Abbauraten zwischen den einzelnen Toxaphenen zu erwarten sind [220].

2.5.5.1 Abiotische Umweltbedingungen

Diese Umweltbedingungen laufen hauptsächlich in den Systemen Luft, Wasser und Boden unter Abwesenheit von Enzymen ab. Die wichtigsten Energiequellen dieser Reaktionen sind die UV-Strahlung und die Temperatur. Es werden vier verschiedene Reaktionstypen unterschieden:

- Hydrolytische Prozesse in aquatischen Systemen, z.B. Verseifung.
- Reduktive Prozesse im anaeroben Milieu von Sedimenten, z.B. Dechlorierung.

- Oxidative Prozesse mit verschiedenen Sauerstoffspezies in Luft und Wasser, z.B. Epoxidierung und Ozonolyse von Doppelbindungen, Allyloxidation, etc.
- Photochemische Prozesse, z.B. Photoisomerisierung, Photodissoziation, Photomineralisierung.

Unterliegen achirale Substanzen diesen Reaktionen, dann können sowohl achirale als auch chirale Produkte entstehen. Aus chiralen Verbindungen werden wiederum chirale Produkte gebildet. Diese chiralen Produkte liegen immer als Racemate vor, da die Geschwindigkeitskonstanten für die Bildung beider Enantiomere identisch sind. Die Geschwindigkeit, mit der zwei Substanzen miteinander reagieren, wird durch die betreffende Aktivierungsenergie, also durch die Energiedifferenz zwischen Ausgangssubstanz und aktiviertem Komplex bestimmt. Diese Differenz ist für die Reaktion der beiden Enantiomere mit einem achiralen Reagenz identisch, weil die aktivierten Komplexe auch enantiomer zueinander sind und somit gleiche Energien besitzen [221].

Khalifa et al. [222] konnten 1976 zeigen, daß Tox A₁ (2,2,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a-Octachlorbornan, Parlar #42a, B8-806), Tox A₂ (2,2,5-endo,6-exo,8c,9b,9c,10a-Octachlorbornan, #42b, B8-809) und Tox B (2,2,5-endo,6-exo,8c,9b,10a-Heptachlorbornan, #32, B7-515) mit reduziertem Hämatin (Ferrihämhydroxid) zu verschiedenen Produkten dechloriert werden. In allen Fällen waren eine reduktive Dechlorierung und Dehydrochlorierung die Hauptabbauwege. Ganz ähnliche Ergebnisse hatten Saleh und Casida 1978 [19], die ebenfalls einen reduktiven Abbau von Tox B in Gegenwart von reduziertem Hämatin feststellten. Dabei erhielten sie zu ca. 85 % die durch reduktive Dechlorierung der geminalen Dichlorgruppe entstandenen Verbindungen 2-exo,5-endo,6-exo,8,9,10-Hexachlorbornan (B6-923) und 2-endo,5-endo,6-exo,8,9,10-Hexachlorbornan (B6-913). Weiterhin identifizierten sie ein 2,5-endo,6-exo,8,9,10-Hexachlorbornan und ein mögliches 2,5-endo,8,9,10-Pentachlortricyclen.

Der photochemische Abbau von Toxaphen ist von besonderem Interesse. Toxaphen besitzt in n-Hexan ein Absorptionsmaximum bei 210 nm und läßt eine direkte Photolyse mit der für die Troposphäre typischen UV-Strahlung (> 290 nm) nicht erwarten. Bei Wellenlängen von < 290 nm werden unter Laborbedingungen verstärkt Abbauraten beobachtet [223], wobei vor allem hoch chlorierte Bornane dechloriert (in C2- oder C3-Position) bzw. dehydrochloriert (C2- und C3-Position) werden [18, 19, 227]. Dichlorbornanderivate verhalten sich unter diesen Bedingungen inert. Nach einer zweistündigen Bestrahlung von technischem Toxaphen mit einer Niederdrucklampe bei 254 nm weist das Chromatogramm des erhaltenen Photoprodukts ein ähnliches Peakmuster auf, wie das von Lebertran und Fischölproben. Diese Korrelation konnte Lach [224] 1990 erstmals feststellen und Hinweise dafür liefern, daß sowohl beim biotischen als auch beim abiotischen Abbau ein ähnliches Transformationsverhalten vorliegen muß. Das durch Bestrahlung entstandene Produkt (CB-Standard) mit etwa 20 größeren Einzelpeaks wurde daraufhin

für einige Zeit zur Quantifizierung von Toxaphenen in Lebertran- und Fischölproben eingesetzt [225]. In anderen Untersuchungen wurde auch das photochemische Verhalten von Einzelkomponenten in n-Hexan und einem Methanol/Wassergemisch untersucht [19, 220]. Bei Bestrahlungen von > 220 nm und > 230 nm konnten reduktive Dechlorierungen an der geminalen Dichlorgruppe in C5-Position beobachtet werden sowie eine in Abhängigkeit vom Reaktionsmedium und der Bestrahlungsdauer stehende Dechlorierungsstufe.

Die in organischen Lösungsmitteln durchgeführten Photoabbaureaktionen bei 254 nm laufen insgesamt alle unter der Erhaltung des Bornangerüsts ab. Bestrahlt man dagegen die an standardisierten Oberflächen, wie z. B. Kieselgel, adsorbierten chlorierten Bornanderivate und das technische Gemisch bei > 230 nm, so findet zum Teil eine rasche Mineralisierung zu CO_2 und HCl statt. Desgleichen werden bei diesen Wellenlängen auch die niedrig chlorierten Bornanderivate, die bei Bestrahlung in n-Hexan inert sind, vollständig abgebaut [226]. Parlar führte Bestrahlungsversuche bei > 290 nm mit zwei von Anagnostopoulos und ihm selbst [65] 1974 isolierten Toxaphenen durch (2-endo,3,3,5-exo,6-exo,8,10,10-Octachlorbornan, B8-1058) und 2-endo,3,3,5-exo,6-exo,8,9,10,10-Nonachlorbornan, B9-1327)). In wäßriger Lösung erwiesen sich die beiden Verbindungen als sehr stabil, während sie - adsorbiert an Kieselgel, so daß der Absorptionsbereich bathochrom verschoben ist - rasch abgebaut wurden. Der Abbau in wäßriger Lösung erfolgt dagegen erst bei der Bestrahlung mit niedrigeren Wellenlängen (> 230 nm). Die identifizierten Abbauprodukte (vgl. Abb. 14) entstanden durch reduktive Dechlorierung, Dehydrochlorierung, Oxidation und durch Kombination von diesen Reaktionen [227].

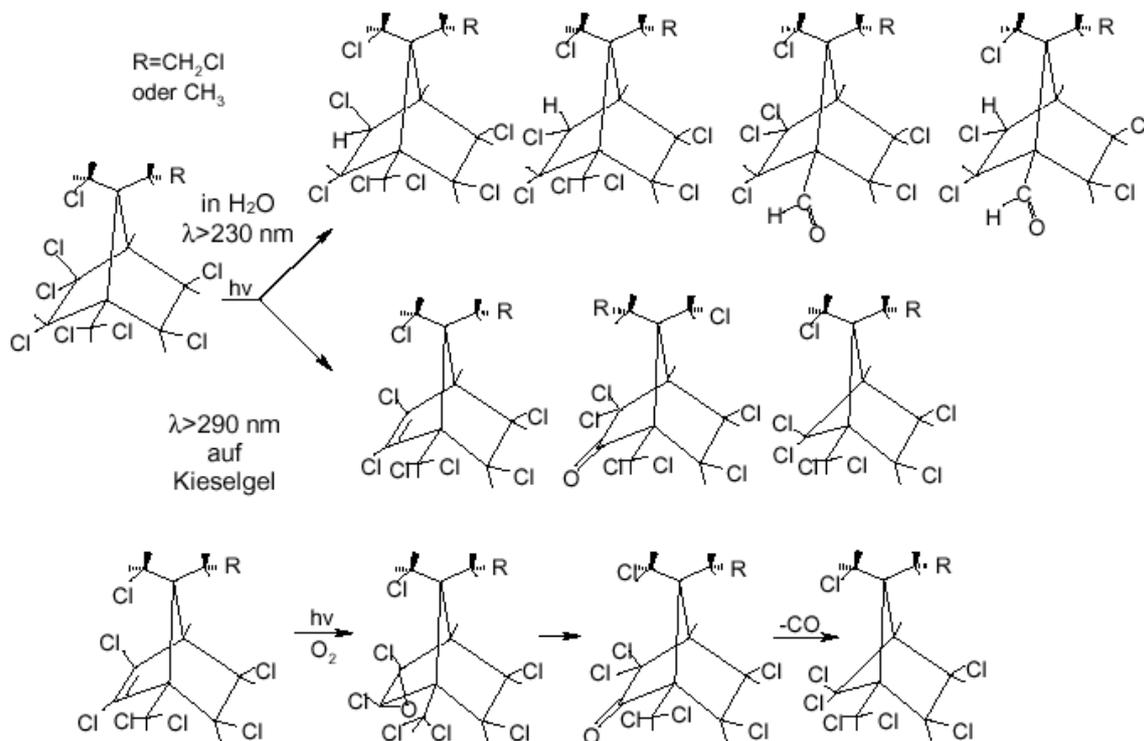


Abb. 14 Photoreaktionen von 2-endo,3,3,5-exo,6-exo,8,9,10,10-Nonachlorbornan (R=CH₂Cl) und 2-endo,3,3,5-exo,6-exo,8,10,10-Octachlorbornan (R=CH₃) [227]

Als biotische Umwandlungen werden chemische Veränderungen einer Substanz durch Organismen bzw. deren Enzyme bezeichnet. Dieser sogenannte Metabolismus führt über enzymatisch katalysierte Reaktionen im erwünschten Fall zur Detoxifikation, d. h. es entstehen Verbindungen mit geringerer Schadstoffwirkung, oder im unerwünschten Fall zu einer Aktivierung. Im letzteren Fall haben die entstandenen Metabolite eine höhere Toxizität als die Ausgangssubstanzen [219]. Für die Metabolisierung organischer Verbindungen können grundsätzlich drei Umsetzungsmöglichkeiten unterschieden werden [228]:

1. Die Substanz wird vollständig zu CO₂ und H₂O mineralisiert (Totalabbau).
2. Die Substanz wird zu niedermolekularen Verbindungen abgebaut, die in natürlichen Stoffkreisläufen wiederum zu CO₂ und H₂O abgebaut werden.
3. Die Substanz wird zwar chemisch verändert, liefert aber weder Energie noch verwertbare Produkte für den Organismus (Co-Metabolismus); sie wird entweder ausgeschieden oder akkumuliert.

Die Reaktionen in den Stoffwechselwegen lassen sich ebenfalls grundsätzlich in drei Typen unterteilen:

1. Oxidationen (Epoxidierung, Hydroxylierung)
2. Reduktionen.
3. Hydrolysen

Werden chirale Verbindungen metabolisiert, dann entstehen nicht racemische Enantiomerenverhältnisse, da die meisten Prozesse in lebenden Organismen unter Wirkung spezifischer, in der Regel optisch aktiver Enzyme verlaufen. Der Grund dafür liegt in den diastereomer zueinander stehenden, aktivierten Komplexen mit unterschiedlichen Energien. Da die freie Aktivierungsenergie die Reaktionsgeschwindigkeiten bestimmt, reagieren die beiden Enantiomere mit dem chiralen Reagenz verschieden rasch ($k_+ \neq k_-$). Gewöhnlich wirken diese Enzyme streng stereospezifisch und greifen nur eines der beiden Enantiomere chemisch an, während das andere unverändert zurückbleibt [221]. Auch chirale Metabolite, die durch enzymatische Umsetzungen von achiralen Edukten entstehen, liegen aus dem gleichen Grund nicht als Racemate vor (Abb. 15).

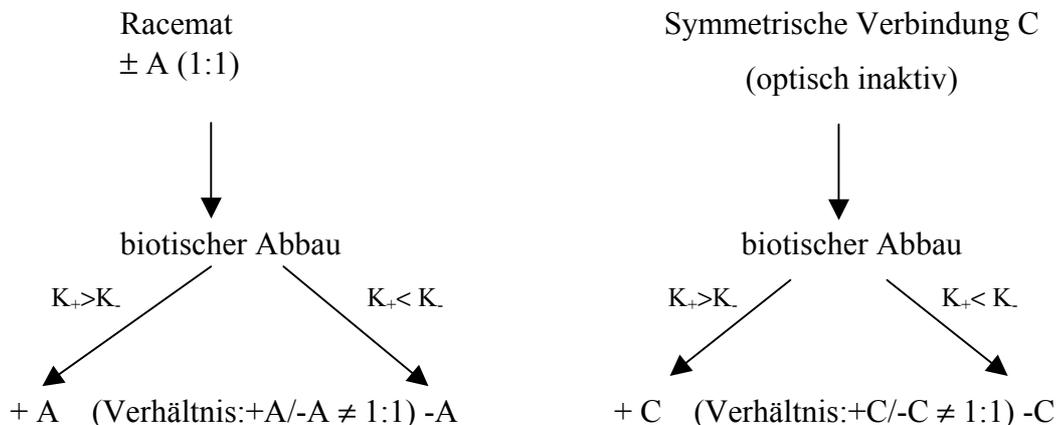


Abb. 15 Biotischer Abbau achiraler und chiraler Verbindungen zu optisch aktiven Produkten [138].

Wiederum muß man die biotische mikrobielle Transformation von Xenobiotika, die hauptsächlich im Boden stattfindet, und die Metabolisation in höheren Organismen unterscheiden. Der mikrobielle Abbau spielt eine tragende Rolle bei der Eliminierung von Toxaphen aus der Umwelt [19, 229] und verläuft am schnellsten unter anaeroben Bedingungen. Informationen zum Toxaphenmetabolismus in höheren Organismen sind spärlich und gestalteten sich aufgrund der

komplexen Zusammensetzung des Toxaphens als recht problematisch. Erst durch die ausreichende Gewinnung von Einzelkomponenten in den letzten Jahren können in der heutigen Zeit gezielte Untersuchungen zum Metabolismus sowie zur Toxikokinetik und Toxizität gemacht werden. Dabei werden durch die Verbesserung der chiralen Analytik auch mögliche Enantiomere erfaßt, um so weitere Aussagen über eine enantioselektive Anreicherung und Metabolisierung von Toxaphenen in Umweltproben zu machen.

2.5.6 Mikrobielle Umwandlung

Der Abbau von polychlorierten organischen Xenobiotika durch Mikroorganismen kann sich sowohl unter aeroben als auch unter anaeroben Bedingungen vollziehen. Für die Effektivität der Abbaubarkeit ist unter anderem die Anzahl und die Position der Chloratome im Molekül von entscheidender Bedeutung.

Der erste Schritt zur Eliminierung sind dabei die reduktiven Dehalogenierungen bzw. die reduktiven Dechlorierungen [147]. Diese konnten in Gegenwart von sowohl zellfreien als auch von Zellextrakten, gereinigten Enzymen oder Übergangsmetallkomplexen nachgewiesen werden [19, 22, 231-233]. In gemischten Mikroorganismenpopulationen, wie sie im Boden vorkommen, ist die Effektivität der reduktiven Dechlorierung im starken Maße von der biologischen Aktivität geeigneter Stämme abhängig. Im anaeroben Milieu bestehen graduelle Unterschiede zwischen den nitrifizierenden, sulfatreduzierenden und methanogenen Bedingungen die sich in den unterschiedlichen Höhen der Redoxpotentiale widerspiegeln [234]. Freie Fe^{2+} -Ionen besitzen z. B. aufgrund des hohen Redoxpotentials von 0,77 V nicht die Fähigkeit, reduktive Dechlorierungsreaktionen zu katalysieren. Erst durch die Komplexbildung wird das Redoxpotential signifikant abgesenkt und hat etwa im Cytochrom P450 (CYP) schon einen Wert von -0,17 V. In Mikroorganismen weit verbreitete Coenzyme, die wichtige Übergangsmetalle enthalten, sind das CYP (Fe), Vitamin B₁₂ (Co) und das ausschließlich in methanogenen Mikroorganismen vorkommende F₄₃₀ (Ni) [235].

Die durch diese Coenzyme zu beobachtenden Dechlorierungsraten von einzelnen Verbindungen, z. B. die von Tetrachlorethylen, steigen dabei mit zunehmender Anzahl der Chlorsubstituenten und zeigen zudem regio- und stereospezifische Reaktionen [152].

Dehydrochlorierungen von chlorierten Kohlenwasserstoffen, wie sie in extrem alkalischen Lösungen stattfinden oder durch enzymatische Katalysierung in Säugern [19, 231] zu beobachten sind, spielen in Mikroorganismen keine Rolle oder sind zumindest nicht eindeutig geklärt [236]. Der oxidative Metabolismus von chlorierten Kohlenwasserstoffen in Mikroorganismen unterscheidet sich zum Teil wesentlich von dem in höheren Organismen. Zum einen besitzen die

meisten Spezies keine effizienten Oxidasen und zum anderen bilden sie keine Konjugate mit den Produkten. Nur ein paar wenige höher entwickelte Spezies, wie einige *Pseudomonas*-Arten, besitzen, ähnlich wie Säuger, mischfunktionelle Monooxygenasensysteme wie das CYP [237]. Desweiteren ist die Glutathion(GSH)-abhängige Dichlormethan-Dehalogenase bei zahlreichen fakultativ methylotrophen Bakterien, wie z. B. einigen *Pseudomonas*- und *Hyphomicrobium*-Arten in den Oxidationsmechanismus involviert [238]. Im wesentlichen wurden bisher folgende mikrobiell katalysierte Oxidationsreaktionen beobachtet:

1. Übertragung eines Sauerstoffatoms aus dem Luftsauerstoff auf einen Halogenkohlenstoff
2. Oxidation einer C=C-Doppelbindung zu einem Epoxid

Die oxidative Hydroxylierung findet häufig bei aliphatischen Verbindungen statt. DDT wird mikrobiell an C7-Position oxidiert, während aus vielen Chloralkanen Hydroxychloralkane gebildet werden. Besitzt das hydroxylierte Kohlenstoffatom einen Chlorsubstituenten, so liegt ein instabiles Chlorhydrin vor, das in der Regel unter spontaner HCl-Abspaltung zu einem Aldehyd bzw. Keton reagiert. Eine direkte oxidative Hydroxylierung von überbrückten chlorierten Ringsystemen, wie die des Toxaphens oder der Cyclodieninsektizide konnte beim mikrobiellen Abbau bisher nicht beobachtet werden. Dagegen ist die enzymatische Bildung von Epoxiden besonders bei den Cyclodieninsektiziden verbreitet. Bekannt ist die mikrobielle Oxidation von Aldrin zu Dieldrin [239] sowie die Oxidation von Heptachlor zu Heptachlorepoxid bzw. Isodrin zu Endrin [240]. In Isomerisierungsreaktionen können sich die Epoxide schließlich zu Ketonen umlagern [52].

Der Abbau von Toxaphen durch Mikroorganismen wird seit Mitte der 70er Jahre untersucht. Parr und Smith [232] berichten über eine rasche mikrobielle Transformation von Toxaphen in feuchten, sandigen Lehmböden, wobei der Abbau durch Zugabe von Luzernemehl noch gesteigert werden konnte. Die schnellsten Abbauraten vollzogen sich dabei in einem geschüttelten, mit Wasserüberstand versehenen Boden unter anaeroben Bedingungen. Die Charakterisierung des umgewandelten Toxaphengemisches mittels GC-ECD-Analyse zeigte, daß sich das Peakmuster des Ausgangsgemisches deutlich in den Bereich kürzerer Retentionszeiten verschoben hatte. Eine nähere Charakterisierung der Chlorierungsgrade wurde nicht durchgeführt.

In anderen Labor- und Feldstudien von Mirsatari et al. [233] im Boden und im Sediment wurde der zeitliche Verlauf des Toxaphenabbaus untersucht. Bereits nach 6 Wochen sank die Toxaphenkonzentration im Sediment unter die Nachweisgrenze, wohingegen im Boden der Abbau langsamer erfolgte. Weiterhin stellten sie fest, daß die am höchsten chlorierten Toxaphene, wie die Nona- und Decachlorbornane im Boden im Laufe der Zeit vollständig verschwinden. Ebenfalls zu beobachten war eine Anreicherung eines nicht näher definierten Hexachlorbornans. Eine starke

Anreicherung von Hexa- und Tetrachlorbornanen in Böden durch mikrobielle Aktivität unter anaeroben Bedingungen wurde in einer Arbeit von Murthy et al. beschrieben [241].

Maiorino [242] berichtet von einem Toxaphenabbau durch Pansenbakterien mit einer Halbwertszeit von $t_{1/2} = 3 \frac{1}{4}$ Stunden mit einer Kinetik 1. Ordnung. Es zeigte sich, dass der Abbau wesentlich schneller als der von DDT abläuft ($t_{1/2} = 5 \frac{3}{4}$ Std.) und daß sich die Bildung von dechlorierten Verbindungen parallel mit dem Verschwinden von Toxaphen vollzog. Generell kann aufgrund dieser Ergebnisse vermutet werden, daß durch die mikrobielle Aktivität im Verdauungstrakt mit einer möglichen Dechlorierung die Zusammensetzung der Toxaphenmuster auch in anderen höheren Organismen beeinflusst wird.

Daß Toxaphen sowohl aerob als auch anaerob metabolisiert werden kann, demonstrierten Clark und Matsumura [229] durch Studien an *Pseudomonas putida*. Sie postulierten sowohl einen oxidativen als auch reduktiven Abbau von Toxaphen, wobei der vollständige Abbau der niedrig chlorierten Toxaphene unter aeroben Bedingungen über einen oxidativen Weg verläuft. Weiterhin bemerkten sie, daß das ^{14}C -markierte Toxaphen schneller abgebaut wird als das ^{36}Cl -Toxaphen.

Die bisher aufschlussreichsten Untersuchungen über die Umwandlung von Toxaphen durch eine mikrobielle Aktivität im Boden sind aus der Arbeitsgruppe Parlar hervorgegangen [230, 236, 243]. In den Untersuchungen von Fingerling et al. [236, 243] in überfluteten Böden konnte durch die Verwendung des technischen Toxaphengemisches und von 6 Einzelkomponenten (Parlar #32 (B7-515), #42a/b (B8-806/9), #49a (B8-810), #56 (B9-1046), #59 (B9-1049)) die Bildung von Hexachlorbornanen als Endmetabolite bewiesen werden. Unter anaeroben, sulfat-reduzierenden Bedingungen erfolgte der Abbau der 6 genannten Einzelkomponenten zu zwei sehr stabilen Hexachlorbornanen (2-exo,5-endo,6-exo,8c,9b,10a- und 2-endo,5-endo,6-exo,8c,9b,10a-Hexachlorbornan (B6-923 und B6-913)), welche sich unter den gegebenen Laborbedingungen nicht weiter reduzieren ließen. Das Hexachlorbornan B6-923 war ebenfalls der Hauptmetabolit beim Abbau des technischen Toxaphens nach 6 Monaten unter den gleichen Bedingungen. Beide Endmetabolite konnten in ihrer Struktur eindeutig aufgeklärt werden. Die Hauptreaktion zur Bildung der Metabolite war die reduktive Dechlorierung, wobei die Dechlorierungsrate von der Zahl der Chloratome abhing: Nonachlorbornan > Octachlorbornan > Heptachlorbornan. In weiteren Untersuchungen mit den Toxaphenen Parlar #26 (B8-1413), #40 (B8-1414), #41 (B8-1945), #44 (B8-2229), #50 (B8-1679) und #62 (B9-1025) war, unter gleichen Bedingungen, ebenfalls nur ein Enantiomer von B6-923 der einzige Hauptmetabolit [230]. Da die Ausgangsverbindungen alle als Racemate vorlagen, wurde ein möglicher enantioselektiver Abbau von Toxaphenen durch Bakterien diskutiert. Desweiteren wurde die Möglichkeit erörtert, die entstandenen bzw. entstehenden Metabolite als Indikatoren für Abbauewege und -mechanismen zu nutzen. Es konnten auch Struktur-

Stabilitäts-Beziehungen hergestellt werden, die durch weitere Untersuchungen ergänzt wurden [244]. Diese und andere Struktur-Stabilitäts-Beziehungen werden in Kap. 2.5.6.1 zusammenfassend dargestellt. In einer weiteren Studie von Fingerling und Parlar [162] konnte überraschenderweise eine oxidierte Toxaphenverbindung in den Bodenproben identifiziert werden. Die unter anaeroben Bedingungen stattgefundenen Versuche mit den Kongeneren Parlar #32 (B7-515) und #42a/b (B8-806/9) lieferten ein Cycloketon (7b,8c,9c-Trichlorcamphen-2-on), dessen Bildung sich die Autoren durch eine Dechlorierung mit anschließender Oxidation der Edukte erklärten.

2.5.6.1 Struktur-Stabilitäts-Beziehungen

Die Sammlung und Auswertung von Daten über die Umwandlung von Toxaphenen in verschiedenen Organismen erlaubt in gewissem Umfang, Aussagen über das Umweltverhalten homologer oder chemisch ähnlicher Kongenere zu machen. Diese sind insofern von Interesse, da zwischen der Zahl der verfügbaren Einzelkongenere zur Quantifizierung und den detektierten unbekanntem Toxaphenen in Umweltproben noch immer ein Mißverhältnis besteht. Ausgehend von gemeinsamen Strukturmerkmalen stabiler bekannter Toxaphene, könnten so gezielte Synthesen und Voraussagen (molecular modeling) von wahrscheinlich persistenten und akkumulierenden Toxaphenen gemacht werden. Durch Untersuchungen zum mikrobiellen Abbau ausgewählter Einzelkomponenten im Boden (vgl. Kap. 2.5.6), welche im übrigen auch für den photochemischen Abbau gelten, konnte eine Einteilung in drei Gruppen (vgl. Abb. 16) vorgenommen werden [230, 244].

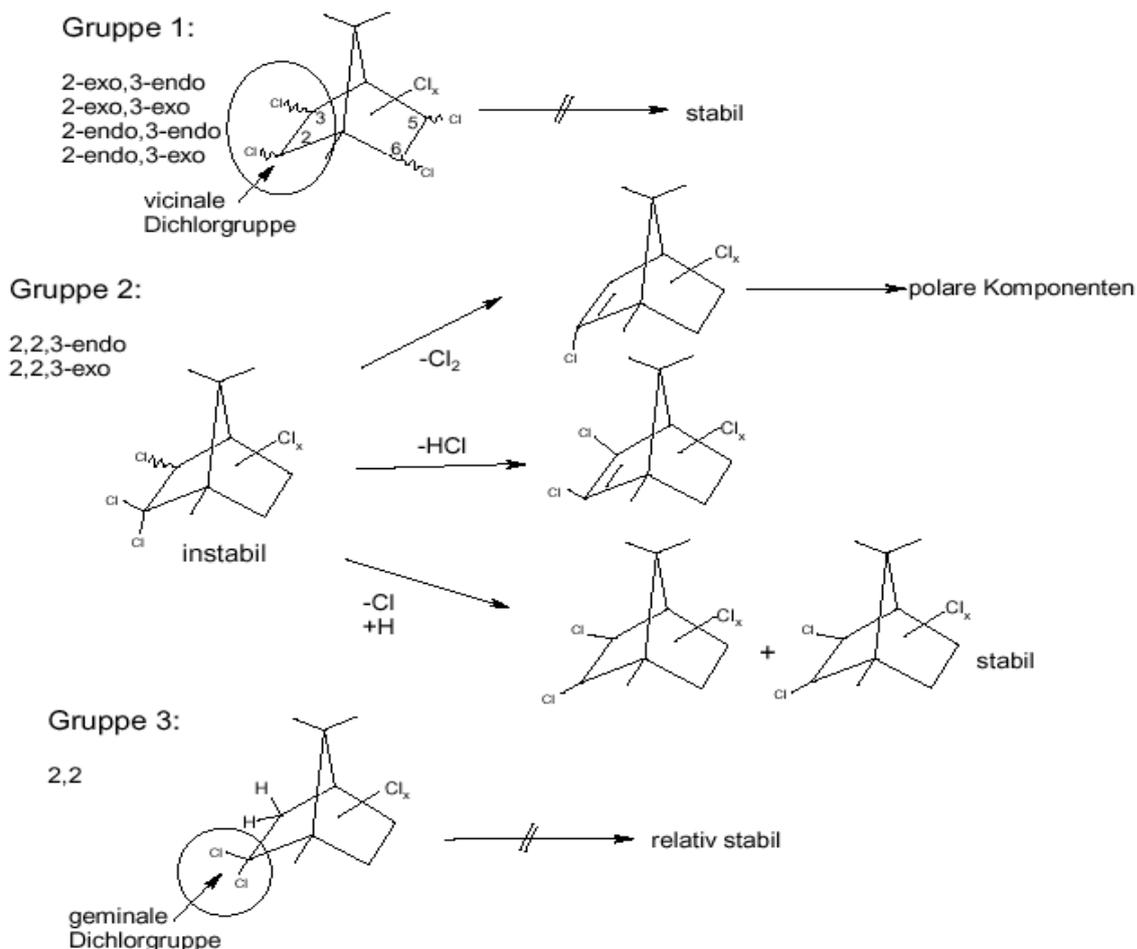


Abb. 16 Einteilung chlorierter Bornane bezüglich ihrer Stabilität bei mikrobiellem Abbau [230, 244]

Aus den Ergebnissen ließ sich ableiten, daß die Toxaphene, die im Ring in C2-, C3-, C5- und C6-Position nur ein Chloratom in alternierender Orientierung besitzen, sehr stabil sind. Im Gegensatz dazu werden Komponenten mit geminalen Dichlorgruppen im Ring, denen ein weiteres Chloratom in exo- oder endo-Stellung benachbart ist, leicht abgebaut. Diese hatten in den Versuchen mit Bodenproben eine Halbwertszeit von nur wenigen Wochen. Befindet sich allerdings im Ring in der C2-Position eine geminale Dichlorgruppe, der kein weiteres Chloratom benachbart ist, so sind diese Komponenten relativ stabil. Inwieweit eine Chlorsubstitution in 2,2,5,5-Stellung im Sechsring Auswirkung auf die Stabilität hat, wurde in den Untersuchungen nicht diskutiert. Sicher ist aber, daß diese Konformationen zu einer Verschlechterung der Response bei HRGC/ECNI-MS-Analysen führen [246, 247].

Durch den Vergleich der Substitutionsmuster der bis heute bekannten polychlorierten Bornane konnten weitere Zusammenhänge erkannt werden. Neben der stabilisierenden alternierenden endo-exo-endo-exo-Konformation im Sechsring, welches sich im HRGC/ECNI-MS-Chromatogramm

auch durch ein intensives $[M-HCl]^-$ zeigt [248], wurde eine weitere Konformationsregel postuliert. Diese sogenannte „Brücken- und exo-Regel“ [41, 249, 250] besagt, daß alle polychlorierten Bornane mit zwei Chloratomen an C8 ein 6-exo-Chloratom besitzen, während alle mit zwei Chloratomen an C9 ein 2-exo-Chloratom aufweisen. Weiterhin wurde ersichtlich, daß die Chloratome an den primären Methylgruppen C8, C9 und C10 energetisch bevorzugte Konformationen einnehmen. Dabei wird ein niedriger Wert für die Bindungsenthalpie (ΔH°) als Indikator und Grad für die Stabilität gesehen [249]. Diese energetisch bevorzugten Positionen (als a, b und c bezeichnet, vgl. Abb. 12) stehen in Abhängigkeit zu den exo-Chloratomen an C2 und C6 und verhalten sich wie folgt [249]:

2-exo: 8c, 9b, (9c), 10b, (10a)

6-exo: 8b, (8c), 9c, 10c, (10a)

Der Grund für diese energetisch bevorzugten Konformationen lassen sich an der räumlichen Struktur von Parlar #50 (B9-1679) (vgl. Abb. 17), welches in allen biologischen Proben bisher nachgewiesen wurde und das bisher einzige detektierte Nonachlorbornan in Meeressäugern ist [250], darstellen.

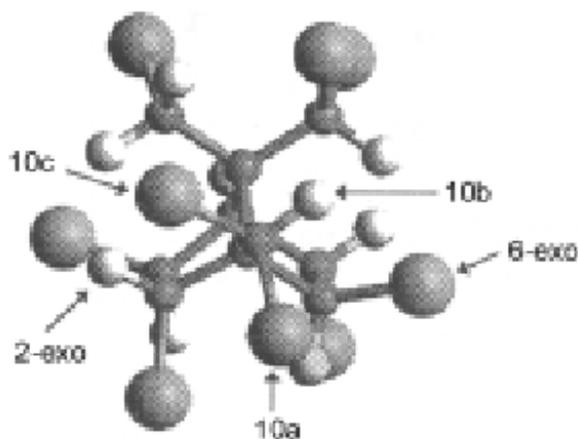


Abb. 17 Räumliche Struktur von Parlar #50 (B9-1679) [250]

Parlar #50 besitzt ein 6-exo-Chloratom in der Nähe des Wasserstoffatoms an 10b, d. h. die zwei Chloratome an C10 sind in der 10a- und 10c-Position und das 2-exo-Wasserstoffatom ist in der Nähe des Chloratoms an 10c. Daraus folgend sind die Bornane mit zwei vicinalen Chloratomen zu C1 (2-exo und 6-exo) in einer energetisch ungünstigeren Konformation und daher nicht sehr stabil. Das Molekül steht unter Spannung und kann daher leichter abgebaut werden. Diese

Zusammenhänge erklären auch, warum Parlar #32 (B7-515) und #42a/b (B8-806/9) in marinen Säugern nicht persistent sind [250].

Nach den genannten idealen Konformationen existieren wahrscheinlich nur sieben hochchlorierte Bornane (vgl. Tab. 14), die alle Voraussetzungen hinsichtlich der Stabilität mitbringen [250]. Von diesen sieben wurden alle bis auf zwei Heptachlorbornane in biologischen Proben detektiert.

Tab. 14 Nach den Konformationsregeln sehr stabile und persistente Bornane und ihr Vorkommen in Umweltproben [249].

Chemischer Name (IUPAC)	Parlar #	AV-Code	Lit.
2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a,10c-Nonachlorbornan	50	B9-1679	67
2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8,8,9,10-Octachlorbornan	-	B8-1412	63
2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,10a,10c-Octachlorbornan	26	B8-1413	67
2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,9c,10a,10c-Octachlorbornan	40	B8-1414	164
2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8,8,10-Heptachlorbornan	-	B7-1000	*
2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8,9,10-Heptachlorbornan	-	B7-1001	127
2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8,10,10-Heptachlorbornan	-	B7-1002	*

* bis heute in Umweltproben nicht detektiert

Im Zusammenhang mit den betrachteten unterschiedlichen Strukturen ist aber auch die Polarität der Toxaphene ein interessanter Aspekt in Bezug auf die Persistenz [41]. Die Elutionsfolge an einer Kieselgelsäule mit n-Hexan ergab folgende Reihe:

Parlar #26 (B8-1413) < B7-1453 < B8-1412 + #50 (B9-1679) < #44 (B8-2229) □ #62 (B9-1025) < #40 (B81414) < #41 (B8-1945) < #32 (B7-515).

Parlar #26 (B8-1413) ist das apolarste Toxaphen in dieser Reihe, B8-1412 und Parlar #50 (B9-1679) unterscheiden sich nur durch eine zusätzliche Chlorierung an C10 und eluierten an der Kieselgelsäule fast gleichzeitig an dritter Stelle. Parlar #62 (B9-1025) und sein möglicher Metabolit Parlar #44 (B8-2229) [249, 250] zeigten ebenfalls ähnliche Polaritäten. Das zuletzt eluierende der untersuchten Kongenere war Parlar #32 (B7-515) und bestätigte damit den Zusammenhang zwischen Polarität und Persistenz

2.5.7 Enantioselektive Bestimmung einiger Toxaphenkomponenten

Die meisten Komponenten im technischen Toxaphen sind chiral. Doch obwohl Toxaphen ein Hauptorganochlorkontaminant aquatischer Systeme ist [253], gibt es bislang nur wenige Unter-

suchungen der Enantiomerenverhältnisse von Toxaphenkomponenten. Dies ist hauptsächlich auf die Schwierigkeiten der Trennung von Enantiomeren der Toxaphenkomponenten auf verschiedenen chiralen Phasen zurückzuführen. Kürzlich wurde eine Liste von zwölf chiralen stationären Phasen herausgegeben, die sich aber alle nicht für die Trennung von Parlar #26 eignen [254]. Bis heute wird dieses Octachlorbornan nur auf chiralen Phasen getrennt, die tert.-butyldimethylsilyliertes β -Cyclodextrin in PS086 in verschiedenen Konzentrationen enthalten [254-262]; das gleiche gilt für weitere Toxaphenkomponenten. Durch die Isolierung und Synthese von mehr als 20 Einzelsubstanzen aus dem technischen Toxaphengemisch ist die spezifische Quantifizierung der chiralen Toxaphenkomponentenrückstände möglich geworden.

Die Interpretation der Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkomponenten im technischen Produkt ist im Gegensatz zu den vorher diskutierten Organochlorpestiziden mit einigen Schwierigkeiten behaftet. Zum einen konnte man für verschiedene technische Toxaphengemische mit chiroptischen Detektoren eine geringe optische Drehung feststellen [182], was auf nichtracemische Enantiomerenverhältnisse schließen lässt. Zum anderen wurden durch enantioselektive HRGC in Kombination mit MS/MS-Analyse und selected reaction monitoring (SRM) einige Komponenten im technischen Toxaphen identifiziert, deren Enantiomerenverhältnisse von 1,0 abweichen [263]. Doch obwohl SRM in der MS/MS-Analyse eine selektive Methode zur Bestimmung der Toxaphenkomponenten darstellt, kann man Koelutionen aufgrund der hohen Anzahl der Komponenten im technischen Gemisch nicht ausschließen. Ein konkreter Beweis für die Anwesenheit von nicht-racemischen Verbindungen wurde kürzlich von Vetter et al. [254] erbracht, die ein Heptachlorbornan B7-1453 (Tox 7) aus dem technischen Produkt Melipax isolierten, dessen Enantiomere unterschiedliche Peakhöhen besitzen. Es ist also anzunehmen, dass B7-1453 und vielleicht andere Toxaphenkomponenten in nicht-racemischen Verhältnissen im technischen Toxaphen vorliegen. Zu erklären wäre das eventuell, wie schon in Kapitel 2.5.4 erwähnt, durch die Anwendung von natürlichen Edukten (α -Pinen, Terpen und Camphen) bei der Toxaphenherstellung.

Bei der Interpretation der Enantiomerenverhältnisse von Toxaphenkomponenten muss man also beachten, dass ein nicht racemisches Verhältnis nicht nur vom enantioselektiven Abbau der Komponenten herrühren kann, sondern auch von nicht racemisch vorkommenden Komponenten im angewendeten technischen Toxaphen.

2.5.8 Enantiomerenverhältnisse von Toxaphenkomponenten in biologischen Proben

Das enantioselektive Verhalten der beiden Toxaphenkomponenten Parlar #50 und #26 in der Umwelt wurde bisher am besten untersucht. Da die absolute Konfiguration dieser Verbindungen

nicht bekannt ist, kann man nur ERs angeben, die sich auf das ersteluirende Enantiomer beziehen. In den meisten Fällen wurde ein Enantiomerenverhältnis von >1 für beide Komponenten gefunden. Die ersten zwei Berichte über die Enantiomerenverhältnisse von Parlar #50 und #26 zeigten für #50 ERs von 1,06 und 1,08 und für #26 von 1,02 und 1,12 [257, 258]. In beiden Fällen wurde für #26 keine Basislinientrennung erreicht, was vielleicht die Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse ist. Die umfassendste Studie über das Verhalten von #50 und #26 in Organismen wurde von Alder et al. durchgeführt [261]. Sie fanden für #26 in verschiedenen Fischarten ERs von 0,91-1,13, in Fettgewebe von Affen ein ER von 1,30 und in Muttermilch ERs von 1,07-1,28. Für #50 wurden in den gleichen Proben ERs von 1,08-1,13 bei Fischen, 1,4 im Affengewebe und 1,06-1,33 in Muttermilch gefunden. In allen Fällen ist also das zuerst eluierende Enantiomer stärker angereichert als das zweite.

Bisher wurden fast nur Enantiomerenverhältnisse für die beiden CTT-Hauptkongenere (2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,10a,10c-Octachlorbornan und 2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a,10c-Nonachlorbornan) in biologischen Proben bestimmt. Dabei ergaben die Untersuchungen für diese CTTs nur geringe Abweichungen vom racemischen Verhältnis ($ER_{(1/2)} = 1,0$) [89, 90, 93]. Kürzlich wurden jedoch für B8-229 in Robbenfett deutliche Abweichungen vom $ER_{(1/2)}$ des Racemates gefunden [8]. Es besteht deshalb ein großes Interesse, herauszufinden, ob auch andere CTTs in Umweltproben dieses Verhalten zeigen. Somit könnte diese neue Messtechnik hilfreich für Metabolismusstudien sein, deren Ziel es ist, aufzuklären, ob es sich bei einem bestimmten CTT um eine Verbindung handelt, die enantioselektiv abgebaut wurde oder aber aus anderen höher chlorierten Verbindungen – beispielsweise durch reduktive Dechlorierung [271] – entstanden ist, und zwar in nicht-racemischer Zusammensetzung.

Durch neuere Untersuchungen mittels chiraler Säulen wird, durch die Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse einiger Toxaphene, auch in Fischen eine Metabolisation von Toxaphenen postuliert [264]. Die eventuelle organspezifische, enantioselektive Anreicherung von Toxaphenen wird durch den Einsatz modifizierter Cyclodextrine als chirale stationäre Phasen überprüft. Zur Zeit werden weltweit etwa vier verschiedene Säulen zur Enantiomerentrennung von Toxaphenen eingesetzt, wobei als chirale Phasen hauptsächlich tert.-butyldimethylsilyliertes β -Cyclodextrin oder 2,3,6-O-tert.-butyldimethylsilyliertes β -Cyclodextrin vorherrschen [265, 266]. Die Peakhöhe (Peakfläche) des zuerst eluierenden Enantiomers durch die des zweiteluierenden Enantiomers ergibt das Enantiomerenverhältnis ($ER_{(1/2)}$). Bei nicht-racemischem Vorliegen einer Toxaphenkomponente ergeben sich Werte größer oder kleiner als 1. Bei Abweichungen von mehr als 20 % zum Racemat kann davon ausgegangen werden, daß eine Metabolisation stattgefunden haben muß [256]. Typisch

für technisches Toxaphen ist ein $ER_{(1/2)}$ von ca. 1,08, obwohl es in der Regel aus enantiomerangereichertem Camphen hergestellt wird, aber aufgrund der Racemisierung im Verlauf der Chlorierung die resultierenden Chlorbornane in $ER_{S(1/2)}$ von ca. 0,92 bis 1,16 vorliegen [267], und zwar unabhängig von der Herkunft bzw. der Enantiomerenzusammensetzung des verwendeten Camphens.

Ein anderer Maßstab für etwaige Verschiebungen der Enantiomerenverhältnisse ist die Bestimmung der Enantiomerenfraktion (EF). Diese ergibt sich aus dem Verhältnis der Peakhöhe (-fläche) des zuerst eluierten Enantiomers durch die Summe der beiden Enantiomere [268]. Bei dem Vorliegen eines Racemates wäre dies 50 %. Da die vollständige und reproduzierbare Silylierung des Cyclodextrins noch nicht gelingt, kann es unter Umständen zu Änderungen der Elutionsfolge kommen. Auch haben geringfügige Änderungen im GC-Ofentemperaturprogramm starke Auswirkungen auf die Trennleistung der Säulen, so daß insgesamt die zur Zeit produzierten Ergebnisse nur mit Vorsicht zu vergleichen sind [269].

So lagen die Toxaphene Parlar #44 (B8-2229) und #62 (B9-1025) in einigen Lebertran- und Fischölproben aus verschiedenen Ländern (keine genauen Angaben) mit einem $ER_{(1/2)} > 1$ vor. Die Toxaphene Parlar #26 (B8-1413) und #50 (B9-1679) waren dagegen racemisch [264]. In anderen Untersuchungen von Karlsson et al. [270] an Fischarten aus dem Oberen See der Großen Seen Nordamerikas konnte eine enantioselektive Anreicherung der Kongenere Parlar #32 (B7-515), B8-1412, #40 (B8-1414), #41 (B9-1945) und #42a/b (B8-806/9) vor allem im amerikanischen Seesaibling (*Salvelinus namaycush*) festgestellt werden.

Auch die in Meeressäugern untersuchten Kongenere Parlar #26 (B8-1413) und #50 (B9-1679) weisen nur geringe Abweichungen vom racemischen Verhältnis ($ER_{(1/2)} = 1$) auf [266]. Allerdings konnten jedoch erst kürzlich für Parlar #44 (B8-2229) im Blubber von Weddelrobben (*Leptonychotes weddelli*) EFs von 72-77 % und in einer Probe vom Seeleoparden (*Hydrurga leptonyx*) sogar ein EF von 81 % festgestellt werden [265]. Die hohe enantioselektive Anreicherung von Parlar #44 (B8-2229) in dem als Fisch-, Krill- und Pinguinfresser bekannten Seeleoparden könnte durch eine mögliche reduktive Dechlorierung von Parlar #62 (B9-1025) erklärt werden. Die enantioselektive Anreicherung von B8-1412 in der Kegelrobbe (*Halichoerus grypus*) mit einem $ER_{(1/2)}$ von 0,4 könnte durch reduktive Dechlorierung von Nonachlorbornanen mit einem geminalen Cl am Sechsring oder, wie im Falle von Parlar #50 (B9-1679) durch Elimination eines Chloratoms an Position C10, zu erklären sein [268].

Fütterungsversuche an Affen, denen technisches Toxaphen über einen Zeitraum von einem Jahr verabreicht wurde, zeigten ebenfalls eine hohe selektive Anreicherung von Parlar #26 (B8-1413) und #50 (B9-1679). Ebenfalls dominant in den Blut-, Leber- und Fettproben waren die Kongenere

Parlar #44 (B8-2229) und #62 (B9-1025). Dagegen waren in den Nierenproben sowie im Urin keine oder fast keine Toxaphene nachzuweisen. Die Fäzes der untersuchten Affen wiesen allerdings ein zu niedrig chloriertes, verschobenes Toxaphenmuster auf [271]. In Muttermilchproben von den Faröer-Inseln konnten Parlar #26 (B8-1413) und #50 (B9-1679) mit $ER_{s(1/2)}$ von 1,07 bis 1,28 bzw. 1,06 bis 1,33 bestimmt werden [261]. Gill et al. [272] konnten in Blutproben kanadischer Ureinwohner Parlar #26/40/41/44 (B8-1413/1414/1945/2229) sowie #50 (B9-1679) nachweisen, die zusammen 95 % der Toxaphenbelastung ausmachten. 1998 konnte in subkutanen Fettgewebsproben von Säuglingen, Kindern und Adoleszenten (Alter: 0-20,2 Jahre) aus Deutschland und Russland (Saratow) das persistente Verhalten von Parlar #26 (B8-1413) und #50 (B9-1679) in humanen Proben ebenfalls beobachtet werden [273]. Die Vergleiche der $ER_{s(1/2)}$ von Säugern und Fischen lassen insgesamt eine stärkere und vielleicht effizientere Metabolisation der bisher untersuchten Toxaphene in Warmblütlern vermuten.

Enantioselektive Untersuchungen zur Toxaphenbelastung in Vögeln liegen nur in einem Fall vor [275]. Vielfach war man auch der Annahme, daß Toxaphene in Seevögeln überhaupt nicht akkumuliert werden bzw. durch einen ausgeprägten Metabolismus schnell wieder ausgeschieden werden [220, 276]. In neueren kongenerspezifischen Untersuchungen zeigt sich, daß sich die als sehr persistent geltenden Kongenere Parlar #26 (B8-1413) und #50 (B9-1679) ebenfalls in fischfressenden Seevögeln anreichern. So wurden diese beiden Kongenere bisher in Eiern der Silbermöwe (*Larus argentatus*) aus der Ostsee [277], in Eiern der norwegischen Wasseramsel (*Cinclus cinclus*) [278], im Fettgewebe des Laysan-Albatros (*Diomedea immutabilis*) [281] und in Leber-, Gehirn- und Fettproben von zwei Adéliepinguinen (*Pygoscelis adeliae*) [279] als einzige bzw. als Hauptkongenere nachgewiesen. In den Silbermöweneiern wurden außerdem drei unbekannte Octachlorbornane und ein Heptachlorbornan detektiert [277]. Die Pinguinproben zeigten weiterhin, daß das Fettgewebe 15- 20fach höhere Konzentrationen aufwies als die Leber- oder Gehirnproben. Neben den Toxaphenen Parlar #40 (B8-1414), #41 (B8-1945), #44 (B8-2229) und #62 (B9-1025) wurden erstmalig die Toxaphenkongenere B7-1453 und B8-1412 auch in Vogelproben, den oben genannten Pinguinen, bestimmt. Für B8-1412b konnte eine enantioselektive Anreicherung in Leber, Hirn u. Fett mit $ER_{s(1/2)}$ von 0,35-0,25, 0,43-0,29 u. 0,38-0,21 beobachtet werden [275]. Durch die Untersuchungen an den Pinguinen wurde die Beobachtung bestärkt, daß sich Parlar #26 (B8-1413) zu #50 (B9-1679) in biologischen Proben der südlichen Hemisphäre genau umgekehrt zu Proben aus der nördlichen Hemisphäre verhalten – höhere Konzentrationen von Parlar #50 (B9-1679) im Vergleich zu #26 (B8-1413) in Proben der nördlichen Hemisphäre und vice versa in Proben der südlichen Hemisphäre [280].

Die Veränderung der Zusammensetzung der Toxaphenmuster in biologischen Proben wird im wesentlichen auch durch die Aktivität der CYP-Enzyme bestimmt. Die alternierende 2,3,5,6-endo-exo-Chlorsubstitution am Sechsring scheint diese Toxaphene vor einer Oxidation durch CYPs in Vögeln und Meeressäugern zu schützen [281]. Boon et al. [281] untersuchten die Metabolisation von technischem Toxaphen und vier Chlorbornanen (Parlar #26 (B8-1413), #32 (B7-515), #50 (B9-1679) und #62 (B9-1025)) an gewonnenen Lebermikrosomen aus drei Meeressäugern und einem Seevogel kurz nach deren Tod. Die Fähigkeit der Mikrosomen, technisches Toxaphen zu metabolisieren, nahm in der Reihenfolge Seehund *Phoca vitulina* >> Weißschnauzendelphin *Lagenorhynchus albirostris* ≡ Laysan-Albatros *Diomedea immutabilis* > Pottwal *Physeter macrocephalus* ab. In allen Proben fand keine Metabolisation der Toxaphene Parlar #26 (B8-1413) und #50 (B9-1679) statt. Dagegen wurden Parlar #32 (B7-515) und #62 (B9-1025) in den Lebermikrosomen des Seehundes metabolisiert, in den Mikrosomen des Weißschnauzendelphins und des Albatros aber nur Parlar #32 (B7-515). Aufgrund der beobachteten Unfähigkeit der Pottwallebermikrosomen, die vier Kongenere zu metabolisieren, wurde ihre strukturelle Unversehrtheit in Frage gestellt. Die mögliche Hydroxylierung von Parlar #32 (B7-515) an der C3-Position im Sechsring und an den Methylgruppen der C8- und C10-Positionen wurde durch den Nachweis eines Mono- und Trihydroxy-Metaboliten in *in vitro*-Versuchen mittels HRGC/ECNI-MS-Analyse postuliert [281].

Die mischfunktionellen Oxidasen sind, gefolgt von der Glutathion-S-Transferase, die wichtigsten Enzyme im Toxaphenmetabolismus [10]. Die CYP- und die Anilinhydroxylasenaktivität konnten durch Toxaphengaben an Meerschweinchen in der Leber und Niere induziert werden [282]. In anderen Versuchen mit Leberhomogenaten von männlichen Mäusen (ICR) konnte durch Toxaphengaben der Metabolismus von Amidopyrin (21-52 %), Anilin (58-72 %), Phenacetin (239-307 %), Pentobarbital (104-148 %) sowie von Benz [a] pyren (143-304 %) gesteigert werden. Eine Zunahme der Lebercytochrom P450-Gehalte um 57-80 % konnte ebenfalls beobachtet werden [283]. Welche Cytochrome durch Toxaphen und seine Komponenten induziert werden, ist noch nicht eindeutig geklärt. Einiges spricht aber dafür, daß das CYP2B und auch Cytochrom bs eine wesentliche Rolle spielen [284].

Die tägliche Verabreichung von 5 mg/kg Toxaphen an Sprague-Dawley-Ratten [285] führte zu einem Anstieg der Aldrinepoxidasenaktivität um ca. 400 %, welcher als Hinweis auf die Induktion des PB-Typs gedeutet wird [208]. Die Toxaphenapplikation an Mäusen verkürzte eine durch Phenobarbital eingeleitete Narkose, was ebenfalls auf die Induktion von CYP2B hindeutete [286]. In diesem Zusammenhang wird auch vermutet, daß die durch Toxaphen induzierten Enzyme ebenfalls zur Metabolisierung anderer Xenobiotika und umgekehrt führen können [268]. Weit

genauere Untersuchungen über die Toxapheninduktion der CYP-Isoenzyme gelangen Drenth et al. [287] 1999 an vier Monate alten Ratten (Wistar, CPB: u. Xu, SPF). Durch die Verwendung hydroxylierter Testosteronmetaboliten als Indikatoren für die verschiedenen Isoenzyme in den gewonnenen Rattenlebermikrosomen konnte unter anderem die Beteiligung von CYP2B am Metabolismus von vier Toxaphenkongeneren bestätigt werden (vgl. Tab. 15).

Tab. 15 Hauptverantwortliche Cytochrome für den Metabolismus von vier Toxaphenkongeneren in Rattenlebermikrosomen [287]

Toxaphenkongenerere	beteiligte CYP-Isoenzyme
Parlar #26 (B8-1413)	2B, 3A
Parlar #32 (B7-515)	2B, 2C11, 3A
Parlar #50 (B9-1679)	2A, 2B, 3A
Parlar #62 (B9-1025) 2A2, 2B, 2C11	

Parlar #32 (B7-515) zeigte im Rahmen der Untersuchungen die höchste Metabolisierungsrate.

Weitere Untersuchungen zum Toxaphenmetabolismus in humanen Lebermikrosomen werden von der gleichen Arbeitsgruppe zur Zeit durchgeführt [287].

3 Material und Methoden

3.1 Standards

Toxaphenstandard: 22 Komponenten-Standard von Dr. Ehrenstorfer (enthält je 0,4 mg/l der Komponenten Parlar #11, #12, #15, #21, #25, #26, #31, #32, #38, #39, #40, #41, #42, #44, #50, #51, # 56, #58, #59, #62, #63, #69 in Cyclohexan).

Technisches Toxaphen: Dr. Ehrenstorfer; Reinheit 99 %, Chlorgehalt 61,6 %

3.2 Chemikalien

Aceton: destilliert über silberspiegelte, mit Raschigringen gefüllte Kolonne
n-Hexan : destilliert über silberspiegelte, mit Raschigringen gefüllte Kolonne
Cyclohexan: destilliert über silberspiegelte, mit Raschigringen gefüllte Kolonne
Dichlormethan: Merck; min. 99,9 % für die Gaschromatographie
Schwefelsäure: Roth; 95 – 98 % reinst
Bidestilliertes H₂O: eigene Destillation
Kieselgel 60: Merck; Korngröße 70–230 mesh für die Säulenchromatographie
Natriumsulfat: Merck; wasserfrei, p.A.

3.3 HRGC/ECD- und HRGC/ECNI-SIM-MS-Analyse

3.3.1 HRGC/ECD-Analyse der Enantiomerenverhältnisse chiraler Toxaphenkongenerer des 22 Komponenten-Standards, Siemens-GC SiChromat 2-8

GC Siemens Doppelofen-GC (SiChromat 2-8 mit Live-T-Technik)
Detektoren: 2 ECDs, 280 °C
Make-up-Gas: N₂
Injektor: split/splitlos, 230 °C (1 min splitlos)
Injektionsvolumen: 1-2 µl
Trägergas: H₂; Säule 1: 1,5 bar, Säule 2: 0,65 bar
Flussrate: 1,5 ml/min
Splitverhältnis: 1 : 10
Achirale Säule (1): DB5, 60 m × 0,32 mm i.D., 0,25 µm Filmdicke (J&W Scientific, Wesel, BRD)
Chirale Säule (2): BGB-172 (20 % BSCD), 30 m × 32 mm i.D., 0,20 µm Filmdicke (BGB-Analytik AG, Adliswil, Schweiz); chiraler Selektor: tert-butyl-dimethylsilyliertes β-CD; achiraler Anteil: OV 1701
Temperaturprogramm (1): 100 °C → 250 °C (4 °C/min) (15 min)
Temperaturprogramm (2): siehe Tab. 16

3 Material und Methoden

Tab. 16: Parameter für die chirale Säule (2)

Toxaphen- komponente	Ausschnitt auf der achiralen Säule (min)	Temperaturprogramm auf der chiralen Säule
11	30,6-30,9	100 °C (25 min) → 250 °C (3 °C/min)
12	30,9-31,2	„
15	31,7-32,1	„
21	32,8-33	„
25	33,7-34,1	„
26	34,1-34,3	100 °C (25 min) → 250 °C (1 °C/min)
31+32	35,1-35,4	100 °C (25 min) → 250 °C (2 °C/min)
38	36,2-36,6	100 °C (25 min) → 250 °C (3 °C/min)
39	36,7-36,9	„
40+41	37-37,2	100 °C (25 min) → 250 °C (2 °C/min)
42	37,2-37,4	100 °C (25 min) → 250 °C (2,5 °C/min)
44	37,5-37,7	100 °C (25 min) → 250 °C (1,5 °C/min)
50	38,5-38,8	100 °C (25 min) → 250 °C (2 °C/min)
51	38,8-39,1	100 °C (25 min) → 250 °C (3 °C/min)
56	39,9-40,2	100 °C (25 min) → 250 °C (2,5 °C/min)
58	40,3-40,6	100 °C (25 min) → 250 °C (3 °C/min)
59	40,6-40,9	„
62	41,4-41,9	100 °C (25 min) → 250 °C (2 °C/min)
63	41,9-42,3	100 °C (25 min) → 250 °C (3 °C/min)
69	46,4-46,7	100 °C (25 min) → 250 °C (3 °C/min)

3.3.2 HRGC/ECNI-SIM-MS-Analyse der Toxaphenkongenere

A. MS Finnigan 4500

Ionisierungskammer:	140 °C
Ionisierungsenergie:	70 eV
Emission:	0,25 mA
Multiplayerspannung:	950 V
Auflösung:	1000
Software:	MASPEC Data System für MS-Windows (MSS, Manchester), Version 2.11, NIST-Library.

GC Finnigan 9600

Injektor:	Split/Splitlos, 230 °C (1,5 min splitlos)
Injektionsvolumen:	1 µl
Trägergas:	He
Säule:	DB5, 30 m x 0,25 mm i.D., 025 µm Filmdicke (J&W Scientific)
Flussrate:	1,26 ml/min
Splitverhältnis:	1 : 11
Temperaturprogramm:	50 °C (1 min) → 150 °C (70 °C/min) (5 min) → 260 °C (2 °C/ min)

B. MS Finnigan 8200

Ionisierungskammer:	230 °C
Ionisierungsenergie:	70 eV
Emission:	1 mA
Multiplayerspannung:	3 KV
Auflösung:	1,8 KV
Software:	MASPEC Data System für MS-Windows (MSS,Manchester), Version 2.11, NIST-Library.

GC HP 5890 Series II

Injektor:	split/splitlos, 230°C (1,5 min splitlos)
Injektionsvolumen:	1 µl
Trägergas:	He
Säule:	DB5, 30 m x 0,25 mm i.D., 025 µm Filmdicke (J&W Scientific)
Flussrate:	1,15 ml/min
Splitverhältnis:	1 : 10
Temperaturprogramm:	50 °C (1 min) → 150 °C (70 °C/min) (5 min) → 260 °C (2 °C/min)

3.4 Live-T-Technik für die multidimensionale Gaschromatographie (MD-HRGC)

3.4.1 Chirale Analytik

Für die zweidimensionale Gaschromatographie wurden ein System verwendet, das bereits 1999 am Institut bei Arbeiten über den Nachweis chiraler Organochlorrückstände in Lipiden optimiert worden war [288]. Eine achirale DB5-Säule (1) und die chirale BSCD-Säule (2) sind dabei durch eine Live-T-Schaltung (Fa. Siemens) verbunden. Es handelt sich dabei um eine pneumatische Brückenschaltung nach dem Prinzip der Wheatstone'schen Brücke. Kernstück ist das Live-T-Stück, ein Doppel-T-Stück als Verbindung für die beiden Säulen. Eine Koppelkapillare im Innern verbindet Vor- und Hauptsäule. In dieser Koppelkapillare lässt sich die Strömung einstellen und nach Abgleich die Strömungsrichtung auf Differenzdruckbasis im mbar-Bereich umkehren. Dies ermöglicht eine totvolumenfreie und ventillose Kopplung bzw. Entkopplung der beiden Trennsäulen. Der Ausschnitt der Vorsäule, in dem die Substanzen nach Ausschnittdosierung auf die chirale Hauptsäule auf Enantioselektivität hin geprüft werden sollen, kann zeitgesteuert gewählt werden. Da die Pestizide unterschiedliche Siedetemperaturen besitzen und die enantioselektiven Mechanismen erst dann wirksam werden, wenn die Verbindungen verdampfen, mussten verschiedene Temperaturprogramme auf der chiralen Säule entwickelt werden (Tab. 16). Die Substanzen passieren die Vorsäule (1) bei hoher Arbeitstemperatur, werden dann bei 80 °C in den ersten Windungen der chiralen Säule (2) kondensiert und fokussiert. Das individuelle Temperaturprogramm wird erst dann gestartet, wenn die Verbindungen auf die chirale Säule gelangt sind. Die verschiedenen Temperaturprogramme und die Ausschnittszeiten der verschiedenen Pestizide sind in Tab. 16 aufgelistet.

3.4.2 Prinzip der Live-Schaltung

Die Live-Schaltung enthält ein spezielles Kopplungsstück (vgl. Abb. 18), das Teil einer pneumatischen Brückenschaltung (vgl. Abb. 20) ist. An den vier Strömungswiderständen NV2, NV3, Dr1 und Dr2 liegt der Druck P_M an. Der Differenzdruck Δp an der Brückendiagonale ist mit MV2 schlagartig umschaltbar.

Dadurch lassen sich die Trägergasströmungen in der Koppelkapillare bezüglich Menge und Richtung frei wählen. Die Probe kann von der Säule 1 über die Koppelkapillare in die Säule 2 oder über Dr1 zum Monitordetektor geleitet werden (vgl. Abb. 19 und 20). Bei der Rückspülung wird der Trägergasfluss am Säulenanfang der ersten Säule durch MV1 und NV1 so stark reduziert, dass $P_A < P_M$ ist und eine Strömungsumkehr in der 1. Säule erfolgt (Backflush). Die rückgespülten Komponenten treten durch das Split-Nadelventil NV4 aus.

3 Material und Methoden

Das Kopplungsstück ist so aufgebaut, dass alle Spalte, bes. die Ringspalte, zwischen den Trennsäulen und der Pt-Ir-Koppelkapillare eng sind, um den notwendigen Druckaufbau und damit die Steuerung der Säulenschaltung zu gewährleisten. Deswegen gibt es für alle Kapillarsäulendurchmesser die jeweils passenden Koppelkapillaren. Eine Rückdiffusion von Probe und eine Peakdeformation wird dadurch vollständig verhindert. Auch sorgen besondere Spülkanäle in einem Querweg für eine einwandfreie Überführung der Probe in die Drosselkapillare Dr1 zum Monitordetektor D_M . Die einzelnen möglichen Schaltzustände des Live-T-Stückes sind in Abb. 19 dargestellt. Die Funktionsweise soll anhand dieser Schemazeichnungen näher erklärt werden:

Geradeausbetrieb (Straight on)

Hierbei wird der gesamte Eluentenstrom aus der 1. Säule vollständig auf die 2. Säule gebracht. Dies gelingt dadurch, dass bei nicht angeregtem Magnetventil MV2 mit dem Nadelventil NV3 der Druck in Hilfsweg B geringfügig gesenkt wird (in diesem Betriebszustand ist das Nadelventil NV2 kurzgeschlossen, so dass in Hilfsweg A der Druck P_M anliegt).

Ausschittdosierung (Heart-cut)

Jetzt ist die Strömungsrichtung in der Platin-Iridium-Kapillare der bei "Straigt on"-Betrieb entgegengesetzt; d.h. der Trägergasstrom aus der 1. Säule gelangt nicht mehr auf die 2. Säule, sondern wird in den Monitordetektor gespült. Erreicht wird das bei angeregtem Magnetventil MV2 durch geringfügiges Absenken des Drucks im Hilfsweg A mit dem Nadelventil NV2 gegenüber dem Druck in Hilfsweg B.

Rückspülung (Backflush) der 1. Säule

Der "Backflush" wird durch das Schließen des Magnetventils MV1 erreicht, wobei die Rückströmung bei Kapillarsäulenbetrieb über das Splitventil NV4 oder bei gepackten Säulen über ein vor dem Injektor liegendes Ventil ins Freie gelangt. Der Differenzdruck ($P_M - P_A$) wird mit dem Nadelventil NV1 eingestellt, mit dem geringfügigen Fluss über NV1 wird eine Diffusion der rückgespülten Komponenten in die Trägergas-Zufuhrleitung zum Injektor verhindert.

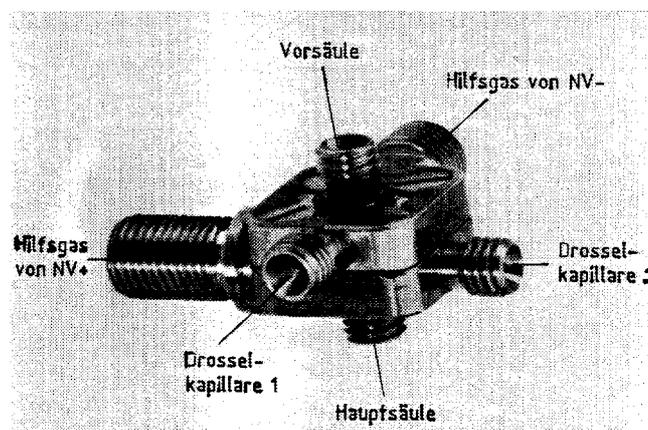
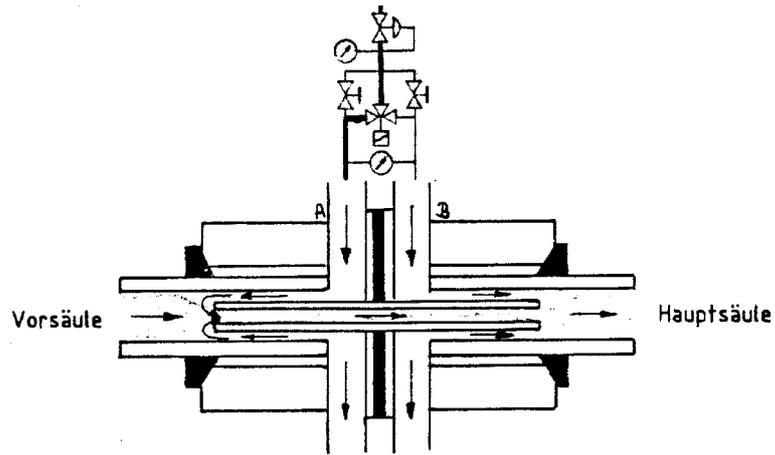
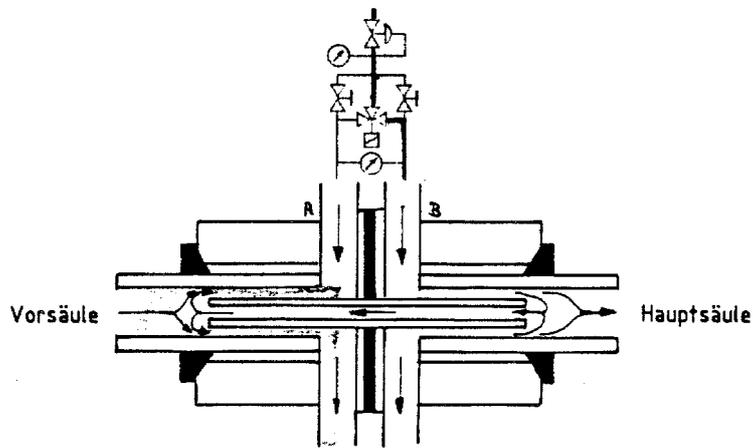


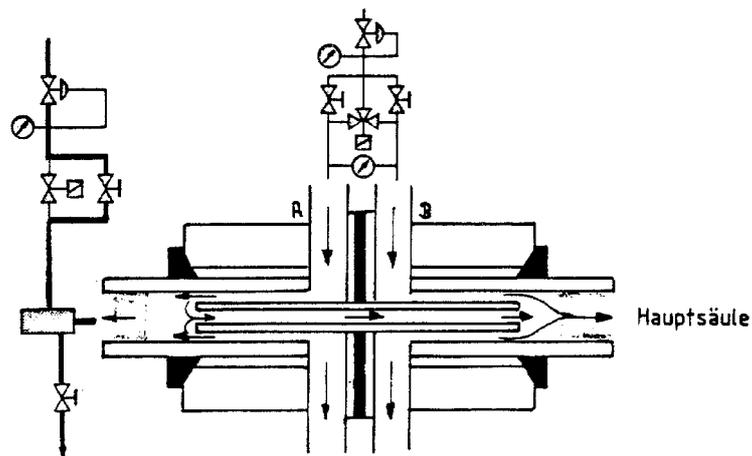
Abb. 18 Anschlüsse am Live-T-Stück



Geraudeausbetrieb (Straight on)

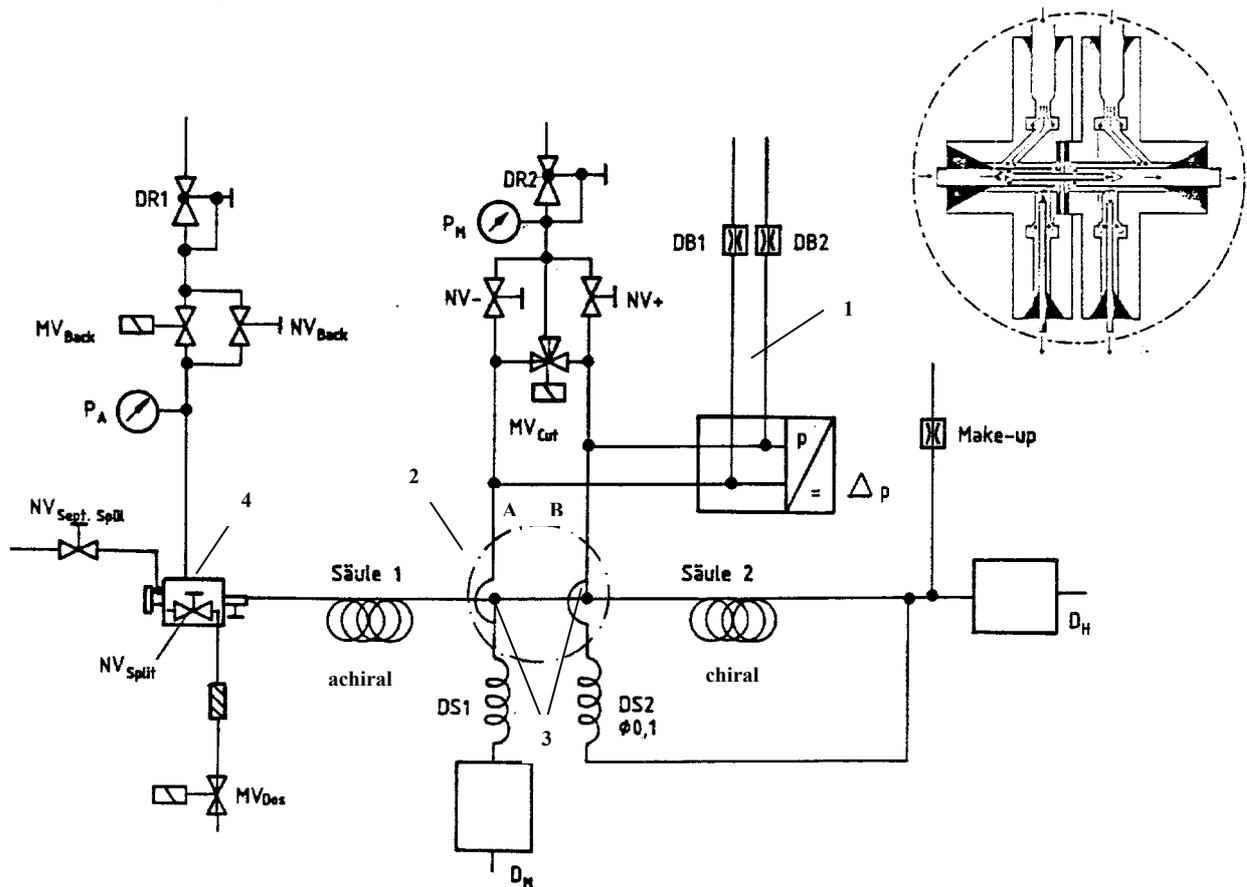


Ausschnittdosierung (Heart-cut)



Rückspülung (Backflush) der achiralen Vorsäule (1)

Abb. 19 Darstellung der drei möglichen Schaltzustände des Live-T-Stücks und das Entstehen der drei dabei auftretenden Differenzdrücke



DB1 Blendenklasse 3
DB2 Blendenklasse 5

1	Differenzdruckaufnehmer	A	Hilfsweg A
2	Live-T-Stück	ΔP	Differenzdruck zwischen A und B bzw. Anfang und Ende der Koppelkapillare
3	Ringspalt	NV	Nadelventil
4	Injektor	Dr	Drossel
MV	Magnetventil	D_H	Hauptdetektor
DR	Druckregler	P_M	Mitteldruck
D_M	Monitordetektor	B	Hilfsweg B
P_A	Anfangsdruck		

Abb. 20 Schematische Darstellung der verwendeten Live-T-Schaltung
(Bei Kapillarsäulen unterschiedlicher Durchmesser muß die Vorsäule (1) den kleineren Durchmesser haben, damit das Live-T-Stück abgeglichen werden kann).

3.5 Untersuchte Proben

3.5.1. Versuchstiere und Applikation

Die Versuche wurden mit insgesamt 89 LSL-Hennen (*Lohmann*) durchgeführt. Die Tiere waren zu Beginn der Versuche 22 Wochen alt und wurden in mehrere Gruppen eingeteilt. Die Fütterung erfolgte über einen Zeitraum von 38 Wochen. Die Dosierungen von technischem Toxaphen betragen 0 (Kontrollgruppe); 0,1; 0,5; 1 und 5 mg/kg lufttrockenes Futter. Als Futter diente Legehennen-Alleinfutter aus Mariensee, das nicht in Höfersilos gelagert worden war. Dem Futter wurde 1 Gew.-% Sojaöl zugemischt. Mit dem Sojaöl wurde das Camphechlor in unterschiedlichen Anteilen ins Futter eingebracht. Das Futter wurde ca. alle 4 Wochen neu gemischt. Berechnungsgrundlage war ein Futterbedarf von 0,13 kg pro Tier und Tag, dem 5% zugeschlagen wurden. Im Rahmen von Vorversuchen wurde abgesichert, daß das zur Herstellung der Vormischungen eingesetzte Sojaöl nicht mit Toxaphen verunreinigt war und daß PCB-Verbindungen nicht in relevantem Ausmaß über den Futtermischer in die Futtermischungen gelangten. Zum Herstellen der kontaminierten Futtermischungen wurden jeweils 1 kg Sojaöl mit 25 ml einer Camphechlor/Isooctan-Lösung (A-D) versetzt (Vormischung). Dann wurden jeweils 99 kg des Hühnerfutters mit 1 kg der entsprechenden Vormischung versetzt und gründlich homogenisiert.

Vormischung A: 10 mg techn. Toxaphen in 25ml Isooctan + 1 kg Sojaöl

Vormischung B: 50 mg techn. Toxaphen in 25ml Isooctan + 1 kg Sojaöl

Vormischung C: 100 mg techn. Toxaphen in 25ml Isooctan + 1 kg Sojaöl

Vormischung D: 500 mg techn. Toxaphen in 25ml Isooctan + 1 kg Sojaöl

A. Fütterungsphase

Gruppe A:	Futter kontaminiert mit 0,1 ppm Camphechlor	9 Tiere
Gruppe B:	Futter kontaminiert mit 0,5 ppm Camphechlor	9 Tiere
Gruppe C:	Futter kontaminiert mit 1 ppm Camphechlor	9 Tiere
Gruppe D1:	Futter kontaminiert mit 5 ppm Camphechlor	9 Tiere
Gruppe E:	Futter unkontaminiert	9 Tiere

B. Abklingphase

Gruppe D2:	Fütterung mit 5 ppm Camphechlor für 38 Wochen und danach mit unkontaminiertem Futter	21 Tiere
Gruppe F:	Futter unkontaminiert	18 Tiere

3 Material und Methoden

Während der 38wöchigen Applikationsphase wurden in definierten Abständen (18, 28 und 38 Wochen) je drei Tiere zur Analyse von Leber, Niere, Muskelfleisch, Fett und Blut geschlachtet bzw. Proben von Kot und Eiern (Dotter) entnommen. Danach wurden die restlichen Tiere der Gruppe mit der höchsten Dosierung noch weitere 17 Wochen lang mit unkontaminiertem Futter gefüttert und jeweils nach 1, 2, 3, 5, 8 und 16 Wochen wie vorher Proben entnommen. Die genauen Angaben dazu sind der Tab. 17 zu entnehmen. In dieser Periode gelegte Eier wurden wöchentlich gesammelt und zu Poolproben zusammengefaßt. Die Proben wurden nach der Probenahme homogenisiert und tiefgefroren (-50 °C).

Tab. 17 Schlachtungszeitpunkte der Versuchstiere

Gruppe	Tiere	Fütterungsphase, kontaminiertes Futter			Abklingphase nach 38 Wochen, unkontaminiertes Futter					
		Schlachttermine (Wochen)								
		18	28	38	39(1)	40(2)	41(3)	43(5)	46(8)	54(16)
A&E (Kontrolle)	27	3	3	3	3	3	3	3	3	3
B (0.5 ppm)	9	3	3	3						
C (1 ppm)	9	3	3	3						
D1&D2 (5 ppm)	27	3	3	3	3	3	3	3	3	3

Die bisher erhaltenen und analysierten Probenmatrices waren:

1. Muskelfleisch: homogenisierte Muskelfleischproben (Schenkel und Brust 1 : 1) von jeweils 3 Einzeltieren einer Versuchsgruppe
2. Fett: homogenisierte Fettgewebe (Bauch- und Eingeweidefett) von jeweils 3 Einzeltieren einer Versuchsgruppe
3. Leber: homogenisierte Leberprobe von jeweils 3 Einzeltieren einer Versuchsgruppe
4. Niere: homogenisierte Nierenprobe von jeweils 3 Einzeltieren einer Versuchsgruppe
5. Haut: homogenisierte Hautprobe von jeweils 3 Einzeltieren einer Versuchsgruppe
6. Eidotter: homogenisierte Eidotterprobe jede Woche von jeweils 3 Einzeltieren einer Versuchsgruppe

3.6 Rückstandsanalytische Methoden

3.6.1 Extraktion der Proben

Annähernd 2,5 g Fleisch, 2,5 g Fett, 2 g Leber, 4 g Haut, 2 g Niere oder 4 g Eidotter wurden genommen, im Verhältnis 1 : 4 mit wasserfreiem Natriumsulfat gemischt, fein gemörsert und anschließend homogenisiert. Danach wurden die Proben durch vierstündige Soxhlet-Extraktion mit Cyclohexan und Dichlormethan (2 : 1) extrahiert. Zur Reinigung wurde die Soxhlet-Apparatur zuvor mit der leeren Extraktionshülse jeweils zwei Stunden mit Lösungsmittelgemisch ausgelaut. Zur Fettgehaltsbestimmung wurde der Probenextrakt am Rotationsverdampfer unter Vakuum im Wasserbad bei 40 °C eingeengt und bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

3.6.2 Aufarbeitung der Proben

3.6.2.1 Schwefelsäure-Cleanup

Die Matrixabtrennung bei den Proben erfolgte mittels Schwefelsäure-Cleanup nach der von Xu [289] vorgeschlagenen Methode. Dazu wurde der Probenextrakt in 30 ml n-Hexan/1g Fett aufgenommen, mit 15 ml konzentrierter Schwefelsäure versetzt und ohne Schütteln bis zur vollständigen Phasentrennung stehen gelassen. Anschließend wurde die Säurephase abgetrennt. Dieser Vorgang wurde fünfmal wiederholt. Nach weiterem fünfmaligen Ausschütteln mit jeweils 15 ml konzentrierter Schwefelsäure, bis die untere Phase keine Verfärbung mehr zeigte, und Abtrennung der Säurephase nach der Phasentrennung wurde die Probe fünfmal mit je 15 ml destilliertem Wasser ausgeschüttelt, bis der pH-Wert neutral war. Schließlich wurde die Probe über Nacht über 10 g wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet.

3.6.2.2 Säulenchromatographische Fraktionierung

Zur Abtrennung der Interferenzen wurde der erhaltene Extrakt durch eine Säulenchromatographie an Kieselgel 60 (70-230 mesh) nach der Methode von Müller [290] fraktioniert. Nach dem Abfiltrieren des Natriumsulfats wurde die Probe am Rotationsverdampfer unter Vakuum im Wasserbad bei 40 °C auf etwa 1 ml eingeengt. Eine Säule (30 cm Länge × 1 cm Innendurchmesser) wurde mit 4,3 g Kieselgel (48 Stunden auf 140 °C erhitzt und mit 5 % Wasser deaktiviert) nass gefüllt und mit 20-30 ml n-Hexan voreluert. Nach der Aufgabe des eingeengten Probenextraktes wurde das Gefäß zweimal mit je ca. 0,5 ml n-Hexan ausgespült und dieses ebenfalls auf die Säule aufgegeben. Das Elutionsmittel (n-Hexan) wurde nach 13 ml (inklusive 1 ml Probenextrakt) durch ein Gemisch aus n-Hexan/Dichlormethan (2 : 1) ersetzt (9 ml). Zusammen mit den 3 ml n-Hexan,

3 Material und Methoden

die das Absorbens enthielten, ergab dies ein Elutionsvolumen von insgesamt 25 ml. Die Elutionsgeschwindigkeit betrug hierbei 7 ml/min, was einem N₂-Überdruck von ca. 0,3 bar entspricht. Die Toxaphenkomponenten lagen anschließend in der Fraktion 18 - 25 ml vor.

Für jede Analyse wurden die Säulen neu gefüllt, um mögliche Kontaminationen der untersuchten Proben auszuschließen. Auch das Elutionsmittelgemisch aus n-Hexan/Dichlormethan wurde vor jeder Analyse neu hergestellt, um eventuelle Änderungen in der Zusammensetzung durch Verdampfen zu vermeiden.

3.6.2.3 Bestimmung der Wiederfindungsraten

Eine unbelastete, mit NaSO₄ vermischte Probe wurde sowohl mit technischem Toxaphen in den Konzentrationen 0,5, 1 und 5 µg/ml als auch mit dem 22-Komponenten-Standard (0,1 µg/ml je Komponente) dotiert. Anschließend wurden die Proben 5 min lang im Ultraschallbad homogenisiert. Die Aufarbeitung erfolgte wie oben beschrieben.

3.6.3 Quantifizierung der Toxaphenrückstände mit HRGC-ECD-Analyse

Die Quantifizierung der chiralen Toxaphenrückstände erfolgte mittels HRGC-ECD-Analyse im SiChromat 2-8 mit Live-T-Schaltung (s. Kap. 3.3 und 3.4). Diese Ergebnisse wurden zusätzlich durch HRGC/ECNI-SIM-MS-Analyse bestätigt (s. Kap. 3.3). Einzelne Toxaphenkomponenten wurden durch den Vergleich der Peakflächen der Proben mit einem externen Standard (22-Komponenten-Standard) quantifiziert. Für jede der 22 Einzelkomponenten wurde eine eigene Eichgerade (6, 12, 24, 48 und 96 ng/ml pro Komponente) aufgestellt und zur Quantifizierung herangezogen. Der Responsefaktor der Toxapheneinzelkomponenten wurde ermittelt, jedoch bei der Quantifizierung nicht berücksichtigt. Jede Probe wurde dreimal eingespritzt und aus den Ergebnissen der Mittelwert und die Standardabweichung bestimmt.

4. Ergebnisse und Diskussion

4.3 Enantioselektive Bestimmung von CTTs mittels Gaschromatographie

Rund 97% der polychlorierten Bornane sind chiral [3], wobei zu berücksichtigen ist, dass sich Enantiomere nicht nur in ihrer biologischen Aktivität, sondern auch in der Aufnahme, dem Transport und dem Metabolismus in einem bestimmten Organismus sowie in ihrer toxikologischen Wirkung auf diesen unterscheiden können [4].

Das Interesse an der Enantioselektivität ist größer als je zuvor, weil man durch sie einen einfachen Weg gefunden hat, um Einblicke in enzymatische Abbau-, Akkumulierungs- und Aufnahme-mechanismen zu erhalten.

Die chiralen Toxaphenkongeneren lassen sich aufgrund ihrer unterschiedlichen Enantiomerenverhältnisse in Umweltproben in drei verschiedene Gruppen einteilen:

1. Racemisches Verhältnis der Enantiomere 1,0 → keine enzymatische Veränderung in der Umwelt.
2. ER, das gering von 1,0 abweicht → geringe enzymatische Veränderung in der Umwelt.
- 3- ER, das stark von 1,0 abweicht → deutliche enzymatische Veränderung in der Umwelt.

4.3.1 Enantiomerentrennung umweltrelevanter CTTs

Neben der Bestimmung der Belastung von Biota mit umweltrelevanten CTTs ist auch die enantioselektive CTT-Analyse von großer Bedeutung für die Rückstandsanalytik, da sie Anregungen für die Durchführung von Metabolisierungsstudien dieser Verbindungen liefern kann [5]. Weiterhin ist die Kenntnis darüber, ob ein Enantiomer - und wenn ja, welches - in einem bestimmten Gewebe angereichert wird, aus toxikologischer Sicht von großem Interesse, solange davon ausgegangen werden muß, dass Enantiomere unterschiedlich toxisch sein können [4].

Die eventuelle organspezifische, enantioselektive Anreicherung von Toxaphenen wird durch den Einsatz modifizierter Cyclodextrine als chirale stationäre Phasen in der instrumentellen Analytik überprüft. Zur Zeit werden weltweit etwa vier verschiedene Säulen zur Enantiomerentrennung von Toxaphenen eingesetzt, wobei als chirale Phasen tert.-butyldimethylsilyliertes β -Cyclodextrin oder 2,3,6-O-tert.-butyldimethylsilyliertes β -Cyclodextrin vorherrschen [265, 266]. Die Peakhöhe bzw. Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers durch die des zweiteluierenden Enantiomers ergibt das Enantiomerenverhältnis ($ER_{(1/2)}$). Bei nicht racemischem Vorliegen einer Toxaphenkomponente ergeben sich Werte, die größer oder kleiner als 1 sind. Bei Abweichungen von mehr als 20 % zum Racemat kann davon ausgegangen werden, daß eine Metabolisierung stattgefunden haben muß [14].

4. Ergebnisse und Diskussion

Ein anderer Maßstab für etwaige Verschiebungen der Enantiomerenverhältnisse ist die Bestimmung der Enantiomerenfraktionen (EFs). Diese ergibt sich aus dem Verhältnis der Peakhöhe (-fläche) des zuerst eluierten Enantiomers durch die Summe der beiden Enantiomeren [15]. Bei dem Vorliegen eines Racemates wäre diese 50 %. Bei nicht racemischem Vorliegen einer Toxaphenkomponente ergeben sich Werte, die größer oder kleiner als 1 sind, d.h. es kann davon ausgegangen werden, daß eine Metabolisation stattgefunden haben muß.

Das ursprünglich aus mindestens 200 Komponenten bestehende technische Toxaphen wird durch überwiegend abiotische Photoreaktionen in der Umwelt verändert. Man findet nur sehr stabile Komponenten in Umweltproben. Fingerling [236] untersuchte die Abbaubarkeit einiger Toxaphenkomponenten aus dem technischen Toxaphen unter abiotischen und biotischen Bedingungen und konnte zwischen drei Gruppen unterscheiden (Abb 21).

Anhand der Enantiomerenverhältnisse der chlorierten Bornane #26, #31, #32, #40, #41, #42, #44, #50 und #62 des technischen Toxaphens lassen sich mehrere Struktur-Abbaubarkeits-Beziehungen diskutieren. Offensichtlich werden Komponenten mit einer alternierenden (endo-exo)-Ringsubstitution an jedem C-Atom des Ringes, z. B. #26 und #50, kaum abgebaut, da ihre Enantiomerenverhältnisse und -fraktionen nahezu racemisch sind. Im Gegensatz dazu werden Bornane mit nicht substituierten oder doppelt substituierten C-Atomen im Ring, wie #44 und #62, besser abgebaut, was sich aus ihren häufig von 1,0 abweichenden ERs schließen lässt.

4. Ergebnisse und Diskussion

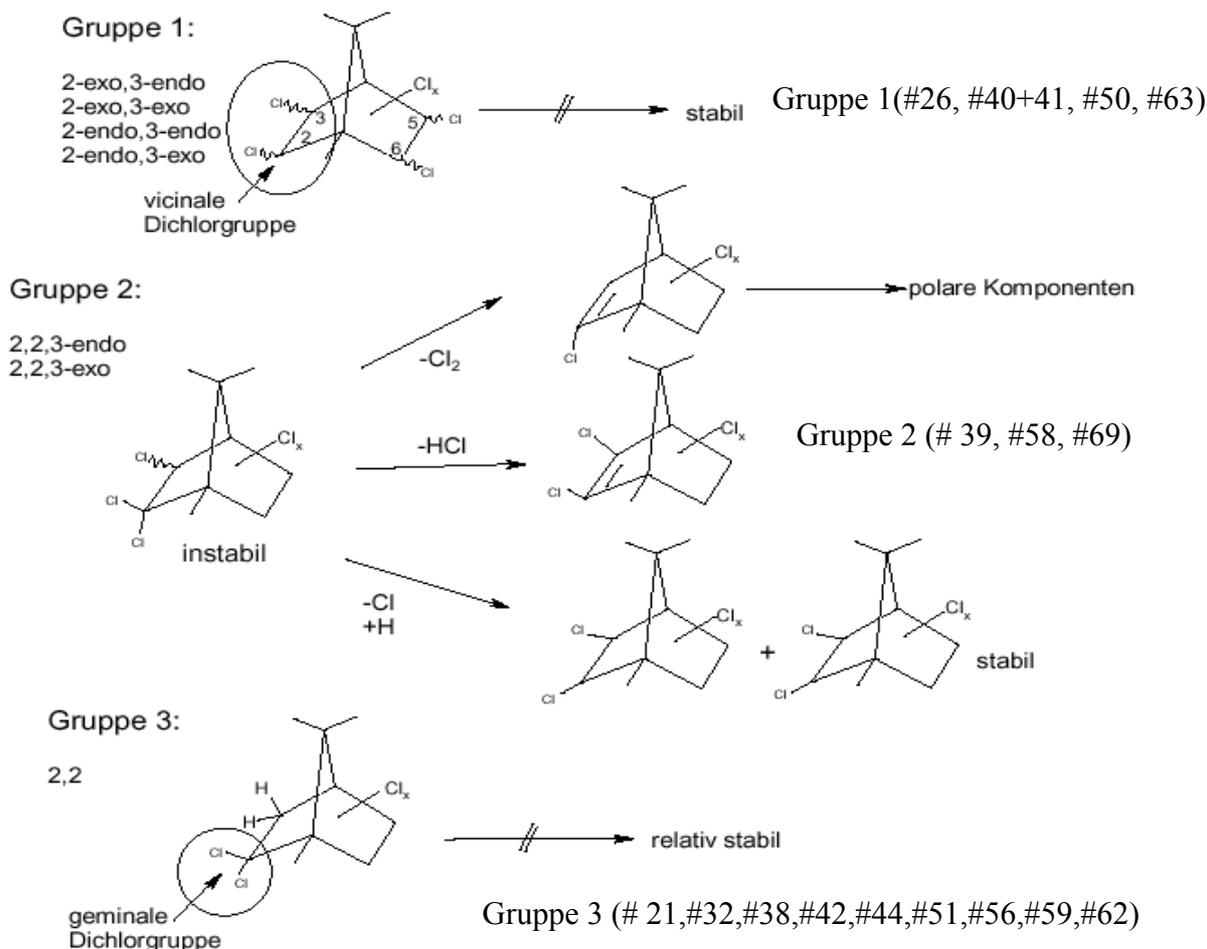


Abb 21 Stabilität von Chlorbornanen, Einteilung in drei Gruppen.

Zusätzlich lässt sich noch ein Zusammenhang zwischen unsubstituierten Methylgruppen und der Abbaubarkeit herstellen, da #26 mit einer unsubstituierten Methylgruppe im Gegensatz zu #50 auch ein ER aufweist, das geringfügig von 1,0 abweicht.

Komponenten mit unsubstituierten Methylgruppen (Position 8 bzw. 9), wie #26, zeigen eine geringe Enantioselektivität und sind instabiler als Bornane mit Chlorsubstituenten an beiden Positionen [236].

4.1.1 Tandem-HRGC

Die Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse von Toxaphenkongeneren mittels HRGC-ECD-Analyse in Umweltproben ist mit vielen Schwierigkeiten behaftet, wenn man dabei nur mit einer Säule arbeitet. Einige dieser Schwierigkeiten können folgendermaßen aussehen:

4. Ergebnisse und Diskussion

1. Die Enantiomerenpeaks können mit Peaks von Verunreinigungen überlappen. Dies kann zu einer Verfälschung der Enantiomerenverhältnisse führen.
2. Durch die Verdoppelung der Peaks auf der chiralen Säule steigt die Anzahl der Gesamtpeaks und damit auch die Wahrscheinlichkeit der Koelution mehrerer Substanzen.
3. Es müssen z. T. hohe Probenkonzentrationen eingespritzt werden, was die Lebensdauer der chiralen Säule verringert.
4. Durch schwerflüchtige Matrixbestandteile, die gar nicht oder erst bei hohen Temperaturen von der Säule eluieren, wird die häufig thermisch labile, chirale Säule belastet und die Trennleistung empfindlich gestört. Zusätzliches Ausheizen bei hohen Temperaturen hat ebenfalls einen negativen Effekt auf die Stabilität der Säule.
5. Insbesondere aufgearbeitete Ölproben enthalten meistens noch freie Fettsäuren, die mit freien OH-Gruppen der Cyclodextrine Esterbindungen eingehen können. Die Trennleistung wird drastisch reduziert.

Aus den vorgenannten Gründen ist es sinnvoll, sich der zweidimensionalen Gaschromatographie zu bedienen, die wegen der Vortrennung auf einer achiralen Säule die weitgehende Ausschaltung der fünf vorher beschriebenen Kontaminationsquellen auf der nachfolgenden chiralen Säule, auf der die eigentliche Enantiomerentrennung der relevanten chiralen Pestizide erfolgt, ermöglicht.

Die zweidimensionale Gaschromatographie hat sich in dieser Arbeit als effiziente Methode zur Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse erwiesen. Da die Hühnerproben trotz Aufarbeitung in den meisten Fällen zahlreiche Peaks enthielten, konnte durch die Kombination der Vortrennung der Kontaminanten auf der achiralen Säule mit anschließender Enantiomerentrennung auf der chiralen Säule eine Koelution relevanter Enantiomere mit anderen Toxaphenkongeneren oder Peaks von Verunreinigungen weitgehend vermieden werden. Außerdem war es so möglich, die Belastung der chiralen Cyclodextrinphase mit hochsiedenden, polaren Matrixbestandteilen und die durch hohe Lösungsmittelmengen verursachte Ablösung der Phase zu minimieren und die Lebensdauer der chiralen Säule erheblich zu verlängern.

Da die zweidimensionale HRGC-Technik eine weitaus höhere Trennleistung als die eindimensionale erzielt, ist sie für die Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse chiraler Komponenten in komplexen Gemischen die Methode der Wahl und wird bereits in zunehmendem Maße zu diesem Zweck genutzt.

4.2 CTT-Enantiomerentrennung an tert.-butyldimethylsilyliertem β -CD (β -BSCD).

Die Ergebnisse der durchgeführten Enantiomerentrennungen bestätigen die allgemeinen Erfahrungen, dass die Trennung in erster Linie von der Art der chiralen Phase und von dem zu trennenden Enantiomerenpaar abhängt. Aber man erkennt auch hier keine eindeutige Korrelation zwischen der Art der Cyclodextrinphase und deren Trennleistung. Deshalb ist die Auswahl einer chiralen Phase zur idealen Trennung von chiralen Substanzen immer noch empirisch und wird von Versuch und Irrtum bestimmt.

Tab. 18 zeigt die Retentionswerte R und Trennfaktoren α für die Standards einzelner Toxaphenkongeneren (CCTs) bei der HRGC/ECD-Analyse im Doppelofen-GC mit der β -BSCD-Kapillarsäule.

Wie aus Abb. 23 ersichtlich, überlappen einzelne Enantiomere des 22-Komponenten-Standards auf der β -BSCD Säule. Durch die Verdoppelung der Peaks auf der chiralen Säule steigt die Anzahl der Gesamtpeaks auf 44 und erhöht natürlich die Wahrscheinlichkeit der Koelution mehrerer Substanzen. Mit der zweidimensionalen HRGC war es jedoch möglich, die meisten Racemate wegen vollständiger Trennung auf der achiralen Vorsäule separat mittels Heart-cut auf die chirale Säule zu überführen. Ein typisches Chromatogramm des 22 Komponenten-Toxaphenstandards mit Ausschnitt für Parlar #26, #50 und #62 auf der achiralen Säule und den entsprechenden Chromatogrammen der Enantiomerentrennung auf der chiralen Säule ist in Abb. 24 dargestellt.

Die Abb. 25a und b zeigen die Enantiomerentrennung der 22 chiralen Standardkomponenten, jeweils nach Ausschnittdosierung, auf der chiralen β -BSCD-Hauptsäule. Die Leistungsfähigkeit des eingesetzten Tandemsystems achiral (DB 5)/chiral (β -BSCD) zur Bestimmung aller Standardkongeneren soll an dieser Stelle kurz zusammengefasst werden (vgl. dazu Tab. 18):

- Die Enantiomere der Toxaphenkomponenten Parlar # 11, #12, #15, #21, #25, #31, #40, #41, #42, #44, #50 und #62 werden auf der β -BSCD-Phase bis zur Basislinie getrennt. Da die Kongeneren #40 und #41 sowie #42a und #42b auf der achiralen Säule coeluierten, fällt nach Totaltransfer vermutlich das zweiteluiierende Enantiomer von #41 mit dem ersteluiierenden von #40 wegen identischer Retentionszeiten zusammen (d.h. lediglich 3 Peaks auf β -BSCD; ermittelt mit einem separaten Racemat von #40, vgl. Abb. 25a). Bei den Kongeneren #42a und #42b erhält man auf der chiralen Säule nur zwei Peaks, d.h. es können keine Aussagen über deren Enantiomerentrennung gemacht werden.
- Bei Parlar # 26, #32, #39, #51, und #56 werden die Enantiomere auf β - BSCD nicht vollständig (d.h. bis zur Basislinie) getrennt.
- Bei Parlar # 38, #58, #59, #63 und #69 ist mit der eingesetzten chiralen Säule keine Enantiomerentrennung möglich.

4. Ergebnisse und Diskussion

Tab. 18 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse (ER), chirale Auflösung (R-values), Trennfaktoren (α) von Toxaphenstandardkomponenten (CTTs) auf der eingesetzten β -BSCD-Kapillarsäule.

Toxaphen- komponenten Parlar #	ER* ($^{1/2}$)	t ₁ (min) (S)	t ₂ (min) (R)	Elutions- temp.	R-value **	Trennfaktor(α) ^{***} α -Wert	prozentualer Anteil (%)	
							(S)	(R)
11	0,987	58,375	58,902	200°C	4,75	1,009	49,7	58,375
12	0,98	58,460	58,640	200 °C	1,44	1,003	49,5	50,5
15	0,96	59,038	59,217	202°C°	1,22	1,003	48,9	51,1
21	1,15	62,067	62,315	211 °C	2,01	1,004	53,4	46,6
25	1,06	61,717	62,435	210°C	5,7	1,012	51,6	48,4
26	1,00	107,263	107,482	182°C	0,6	1,002	50,1	49,9
31	1,04	76,467	77,630	203°C	6,4	1,015	50,6	49,4
32	1,00	79,00	79,130	208°C	0,7	1,002	49,9	50,1
39	1,02	64,677	64,770	219 °C	0,5	1,001	50,5	49,5
40	0,90	80,177	80,637	210° C	2,2	1,007	47,2	52,8
41	0,81	79,857	80,177	209°C	3,2	1,004	44,6	55,4
42(a,b)	2,65	72,503	72,757	195 °C	1,64	1,004	72,6	27,4
44	1,03	96,230	96,427	207 °C	0,8	1,002	50,7	49,3
50	1,03	81,402	81,577	213 °C	1,00	1,002	50,7	49,3
51	0,95	69,165	69,280	232 °C	0,86	1,002	48,7	51,3
56	0,96	75,355	75,463	225 °C	0,7	1,001	48,9	51,1
62	1,1	88,767	88,963	227°C	1,0	1,002	50,4	49,6

ER* = S/R (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers);

R-Wert** = $(t_1 - t_2) / (w_1 + w_2)$, wobei t₁ und t₂ die Retentionszeiten des Enantiomers 1 und 2 darstellen und w₁ und w₂ die Peakweiten in halber Höhe (R = 0,0 bedeutet nicht getrennt, R = 1,0 bedeutet ungefähr 95% getrennt, und R > 1 bedeutet vollständig getrennt);

α -Wert*** = t_R/t_S; keine Trennung (Parlar #38, #58, #59, #63 und #69)

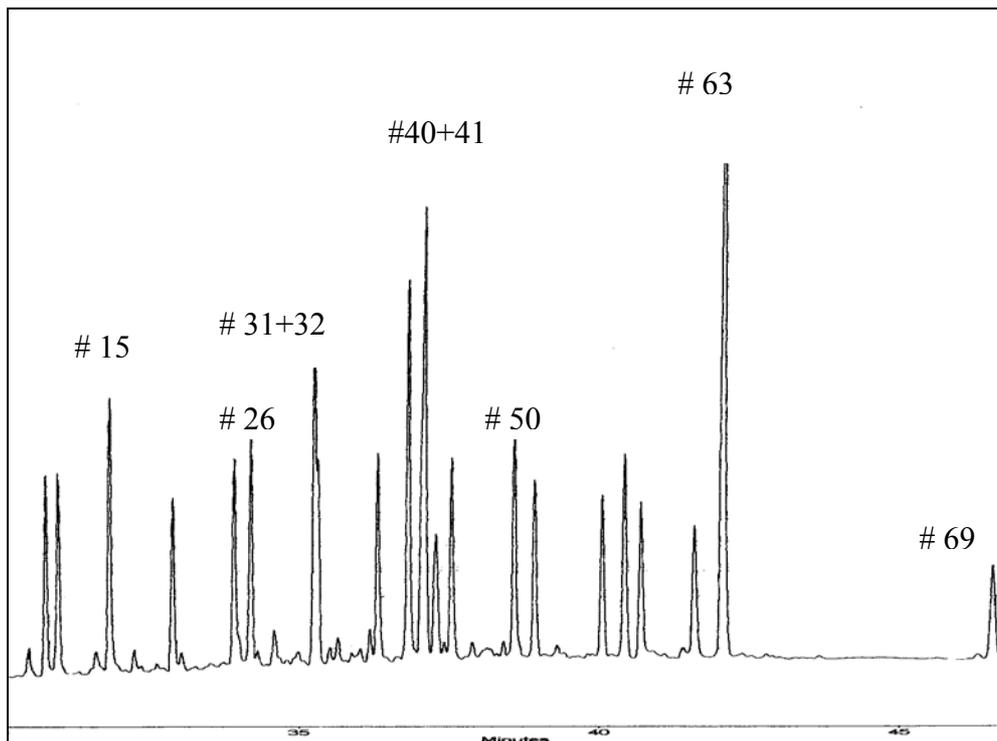


Abb. 22 GC/ECD-Chromatogramm des 22 Komponenten-Toxaphenstandards

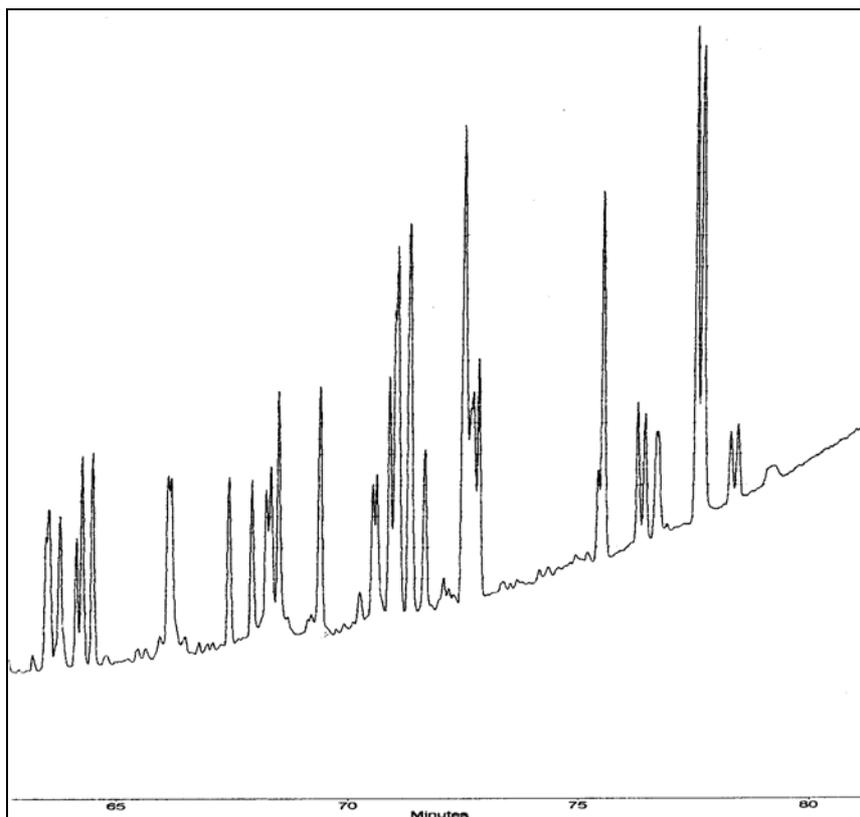
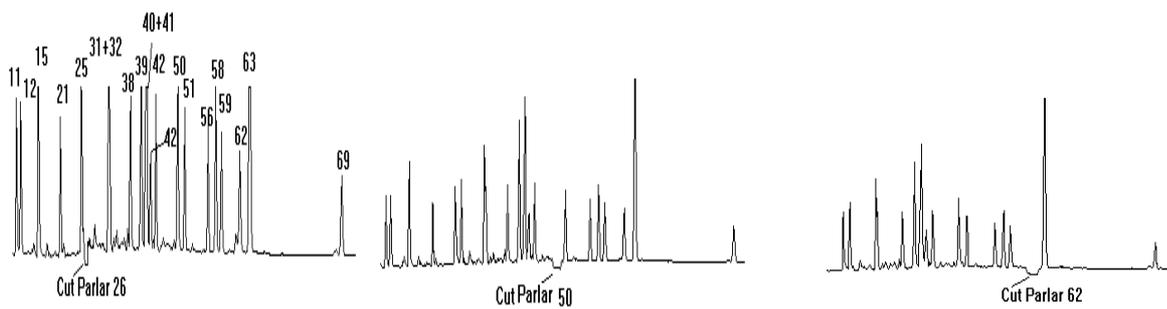


Abb. 23 Koelution von Toxaphenkomponenten bei Direktinjektion des 22 Komponenten-Standards auf der eingesetzten chiralen Säule (β -BS CD).

4. Ergebnisse und Diskussion

A



B

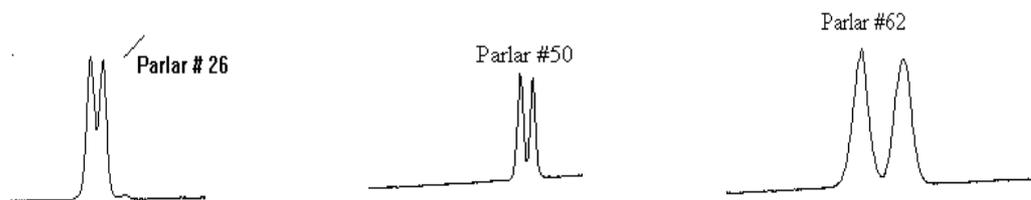


Abb. 24 (A) Chromatogram des 22 Komponenten-Standards auf der achiralen DB5-Säule mit Ausschnittdosierung von Parlar # 26, #50 und #62; (B) Enantiomerentrennung der Ausschnittdosierung auf der chiralen β -BSCD-Säule

4. Ergebnisse und Diskussion

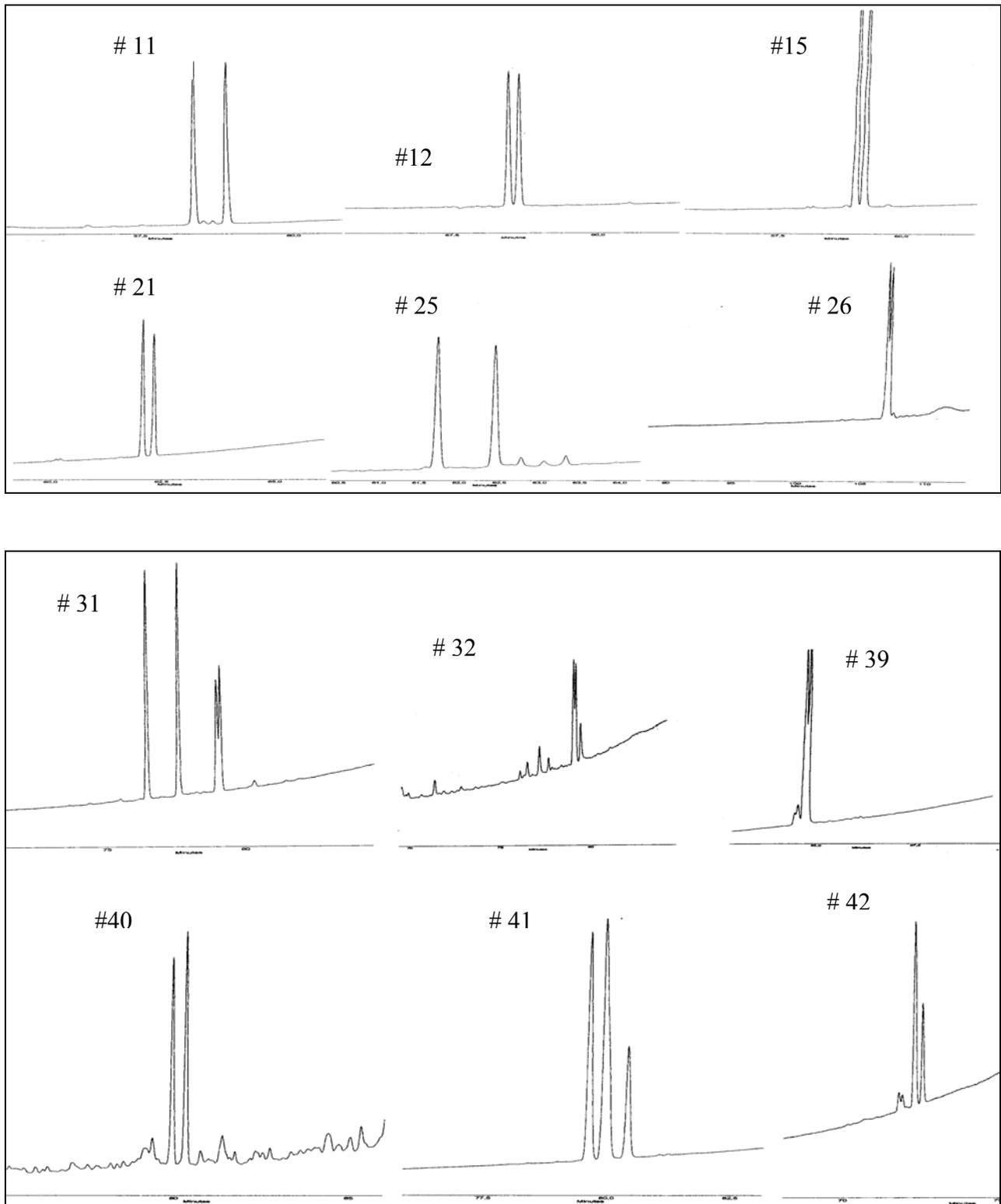


Abb. 25a HRGC/ECD-Chromatogramme der Enantiomertrennung von Toxaphenkongeneren (CTTs; 22 Komponenten-Standard) nach Ausschnittdosierung auf der β -BSCD-Säule

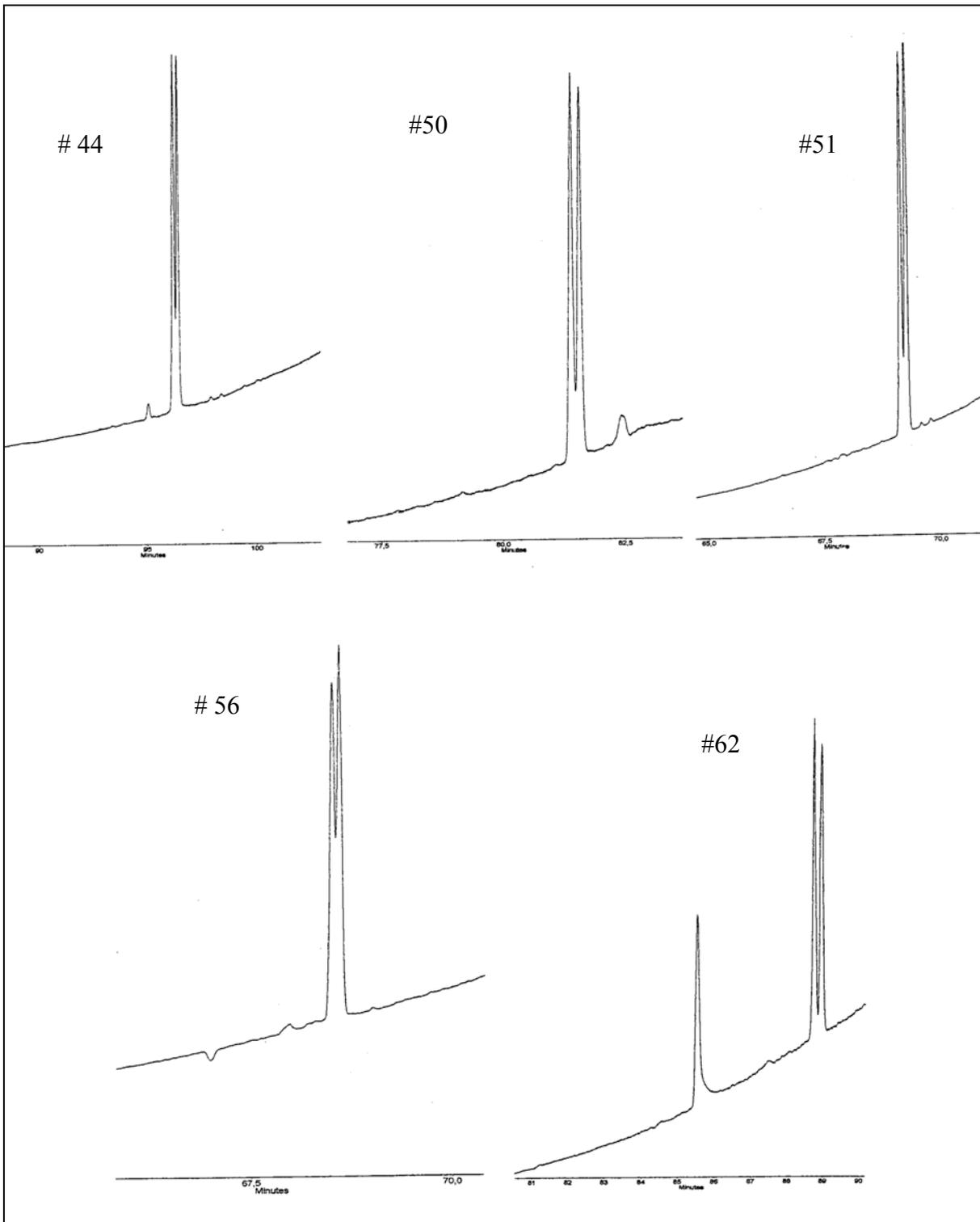


Abb. 25b HRGC/ECD-Chromatogramme der Enantiomerentrennung von Toxaphenkongeneren (CTTs; 22 Komponenten-Standard) nach Ausschnittdosierung auf der β -BSCD-Säule

4.4 Enantioselektivität relevanter chiraler Toxaphenkomponenten in den untersuchten Legehennenproben auf der eingesetzten β -BSCD-Säule

4.4.1 Fütterungsversuche während 18, 28 und 38 Wochen mit 0,5 ppm technischem Toxaphen

Für diesen Fütterungsversuch wurden Legehennen in 3 Versuchsgruppen mit unterschiedlicher Fütterungsdauer eingesetzt. Die Zugaben an technischem Toxaphen betragen 0,5 mg/kg lufttrockenem Futter. Dabei wurden Eier-, Leber-, Nieren-, Fleisch-, Blut- und Fett-Proben untersucht. Zur Untersuchung des Abklingverhaltens von Toxaphen in den Legehühnern bekamen die Versuchstiere der höchstdosierten Gruppe nach den Versuchswochen weitere 16 Wochen lang nur noch unkontaminiertes Futter.

Abb. 26 zeigt die Ausschnitte der GC/ECD-Chromatogramme der Extrakte von Eidotter für #26, #31+32, #44 und #62 auf der DB5-Säule (achiral) während der Anfütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen). In allen Probenextrakten ist das erst eluierende Enantiomer gegenüber dem zweiteluierenden deutlich angereichert.

Die EFs von Parlar #44 und #62 in den Leberproben betragen 97,3; 92,7 und 92,1 % sowie 88,9; 96,9 und 92,2 % jeweils nach 18, 38 und 38 Wochen Fütterung mit Toxaphenzusatz (Abb. 31). Die mittels MD-HRGC/ECD-Analyse bestimmten Ers in den Fett-, Nieren-, Fleisch-, Dotter- und Blutproben sind in den Tab. 19-24 zusammengefasst.

Die EFs von #44 in Fettgewebeproben der Legehennen betragen 81,8; 83,3, und 81,8% (Abb. 29). Das bedeutet, dass die zuerst eluierenden Enantiomere stets stärker angereichert sind als die zweiteluierenden (Abb. 35-44).

Beim Vergleich der Ergebnisse in den Fett-, Nieren-, Fleisch-, Dotter- und Blutproben (Tab. 19-24) kann man feststellen, dass die EFs für #26 und #50 fast keine Veränderung des ursprünglich vorhandenen racemischen Verhältnisses ($ER_{1/2}$) zeigen. Das bedeutet, dass hier ein enzymatischer Abbau offensichtlich nicht stattfindet. Bereits Fingerling [236] wies nach, dass Parlar #26 und #50 sehr stabile Verbindungen darstellen, die durch abiotische Prozesse ebenfalls nur sehr schwer abgebaut werden.

In den Nieren-, Dotter- und Leberproben der Legehennen konnten die Kongenere Parlar #31 und #32 nicht nachgewiesen werden.

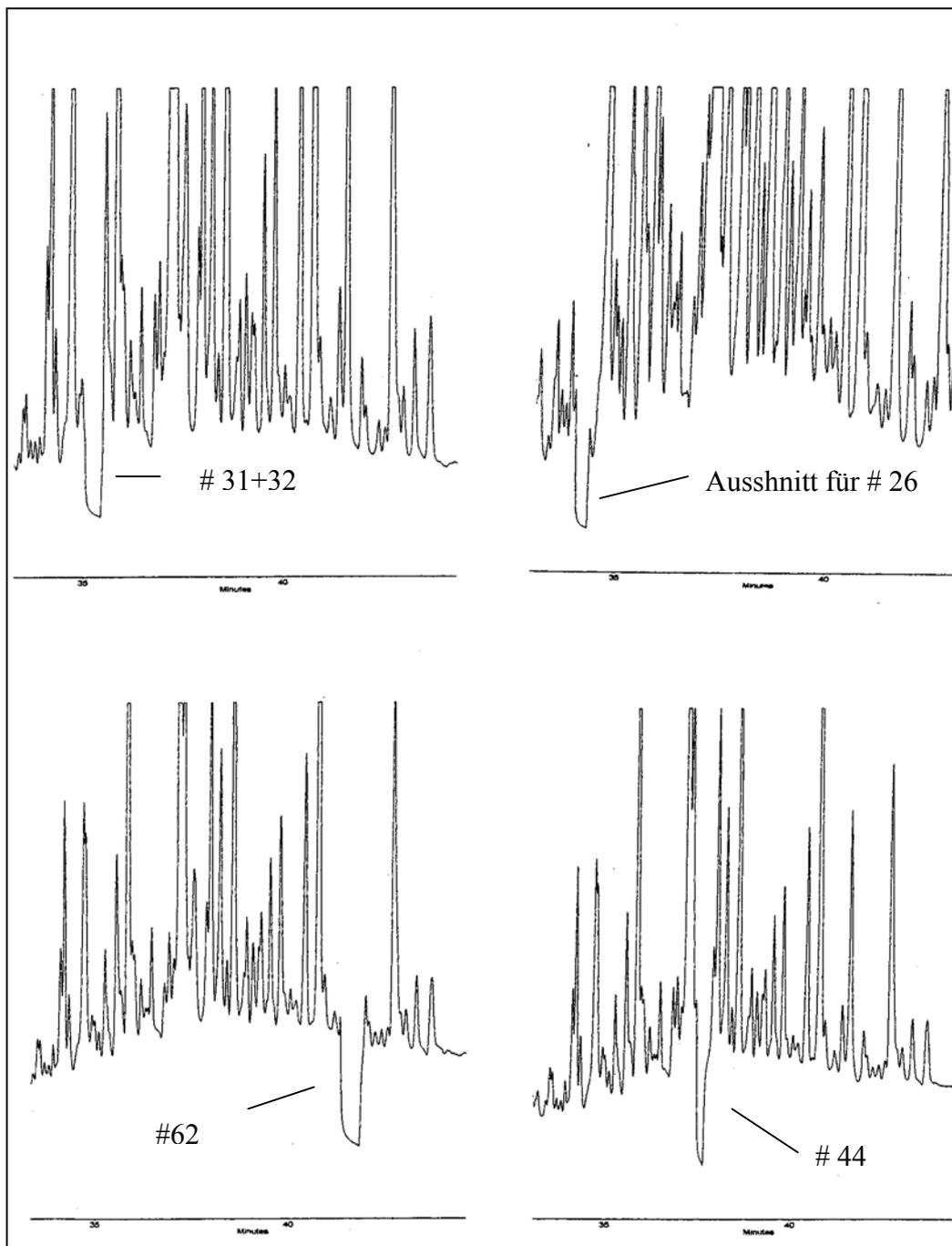


Abb. 26 GC/ECD–Ausschnittschromatogramme für Parlar # 26, #31+32, #44 und #62 auf der DB5-Säule (achiral) in Eidotterproben von Legehennen während der Anfütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen)

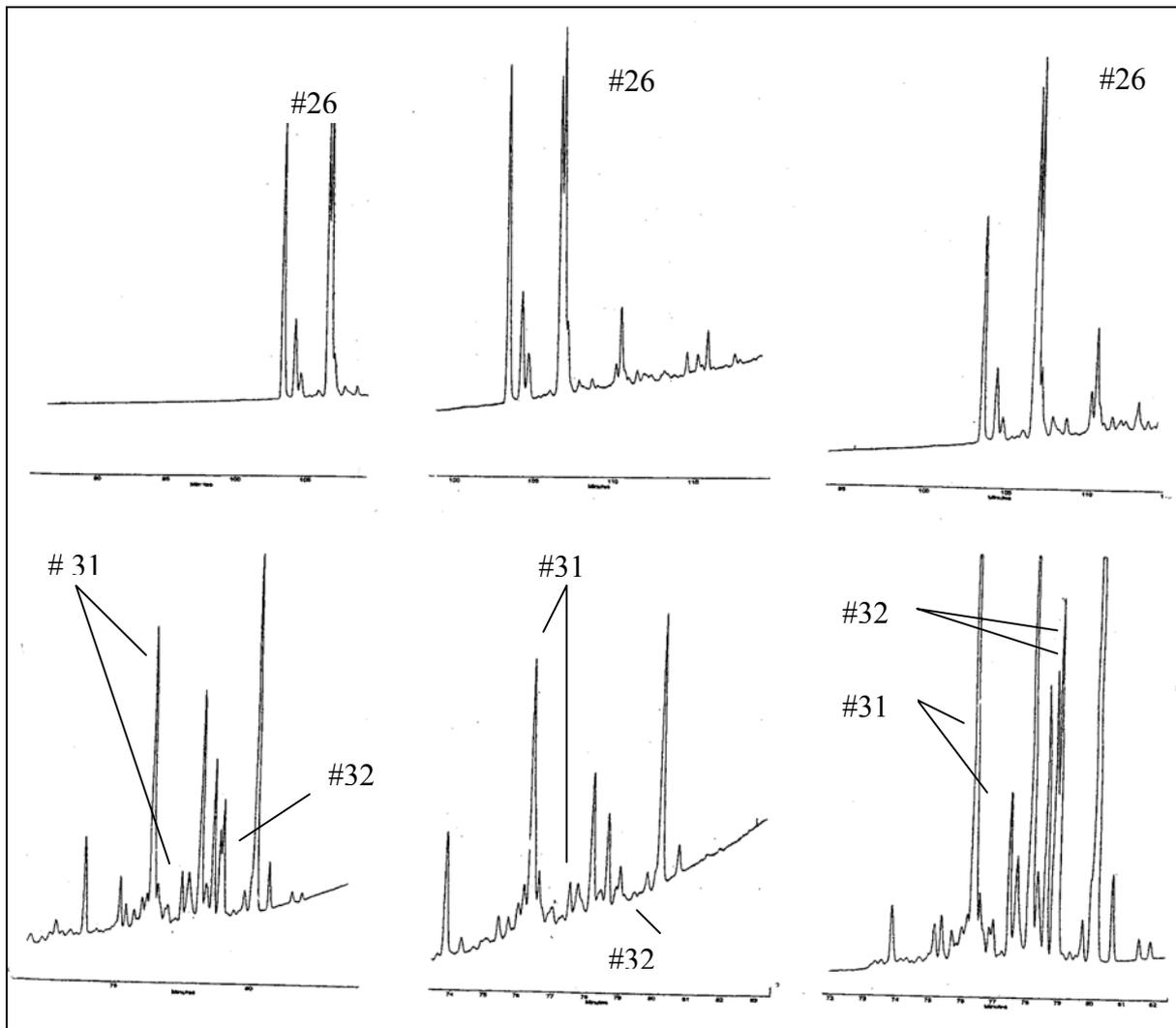


Abb. 27 GC/ECD-Ausschnitts chromatogramme der Enantiomerentrennung von Parlar #26 und #13+#23 auf der β -BSCD-Säule (chiral) in Eidotterproben von Legehennen während der Fütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Eidotterprobe nach 22 Versuchswochen
Mittleres Chromatogramm	Eidotterprobe nach 32 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Eidotterprobe nach 38 Versuchswochen

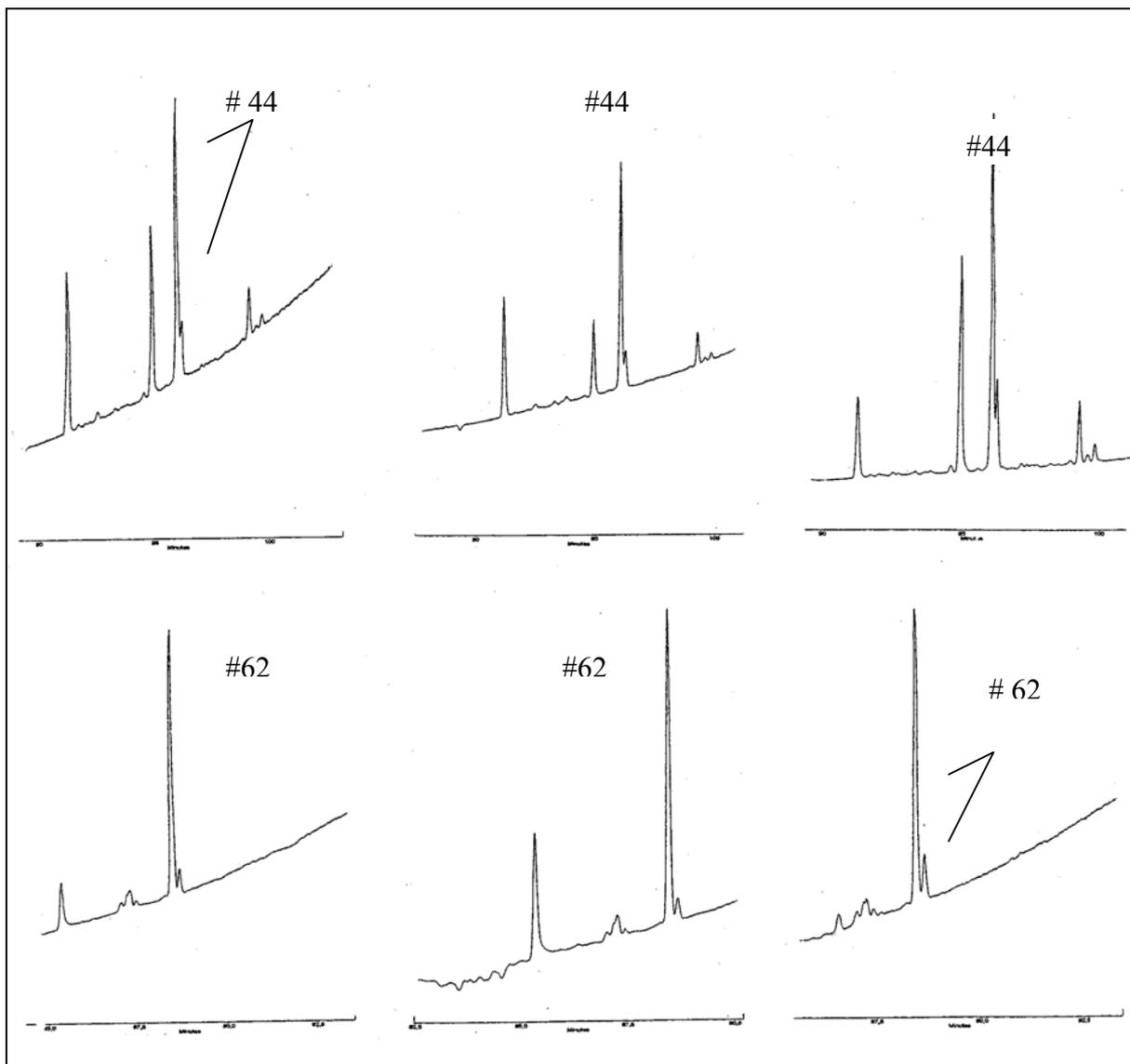


Abb. 28 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung von Parlar #44 und #62 auf der β -BSCD-Säule (chiral) in Eidotterproben von Legehennen während der Fütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Eidotterprobe nach 22 Versuchswochen
Mittleres Chromatogramm	Eidotterprobe nach 32 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Eidotterprobe nach 38 Versuchswochen

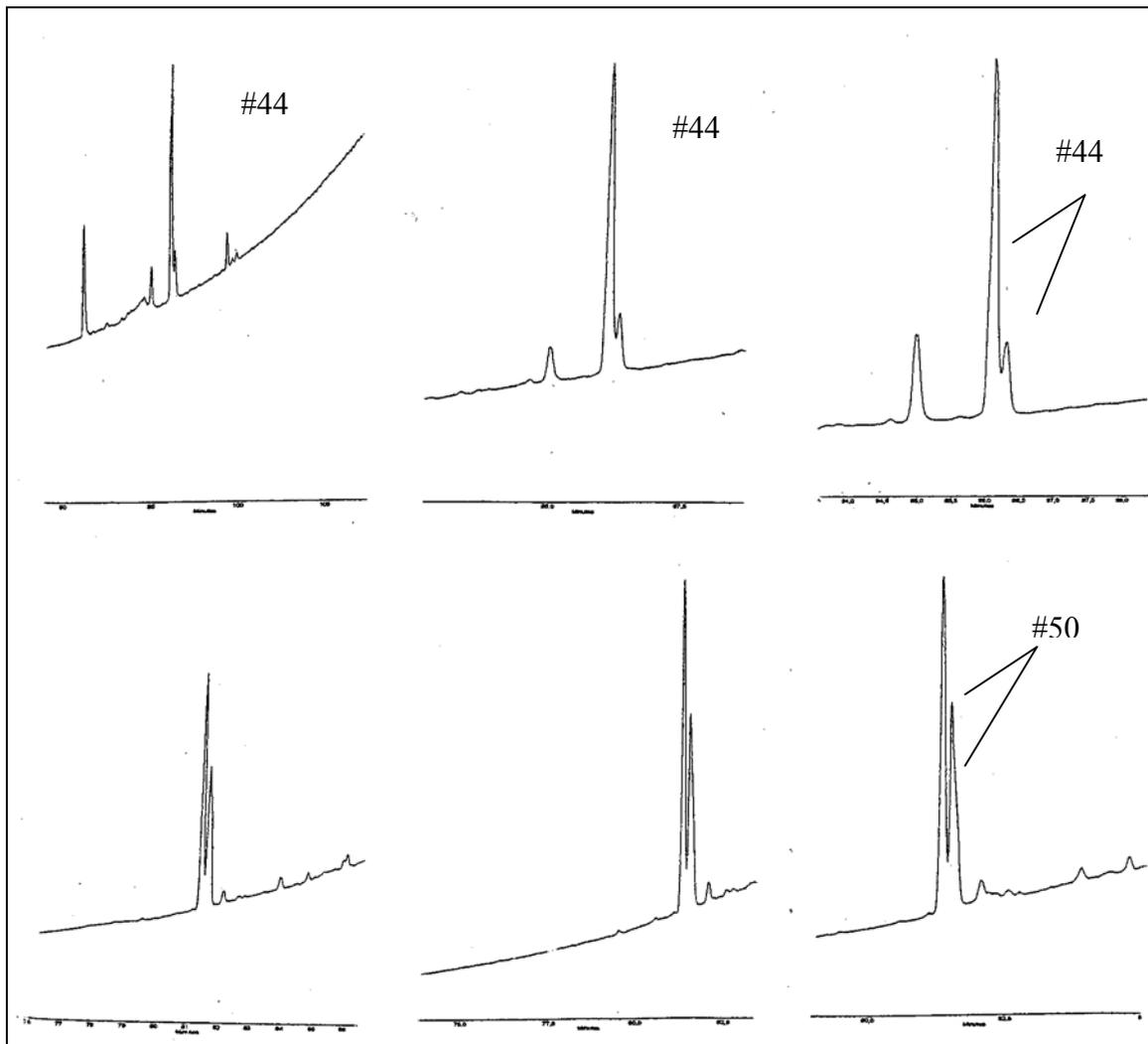


Abb. 29 GC/ECD-Ausschnittchromatogramme der Enantiomerentrennung auf der β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #44 und #50 im Fettgewebe von Legehennen während der Fütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Fettprobe nach 18. Versuchswoche
Mittleres Chromatogramm	Fettprobe nach 28. Versuchswoche
Linkes Chromatogramm	Fettprobe nach 38. Versuchswoche

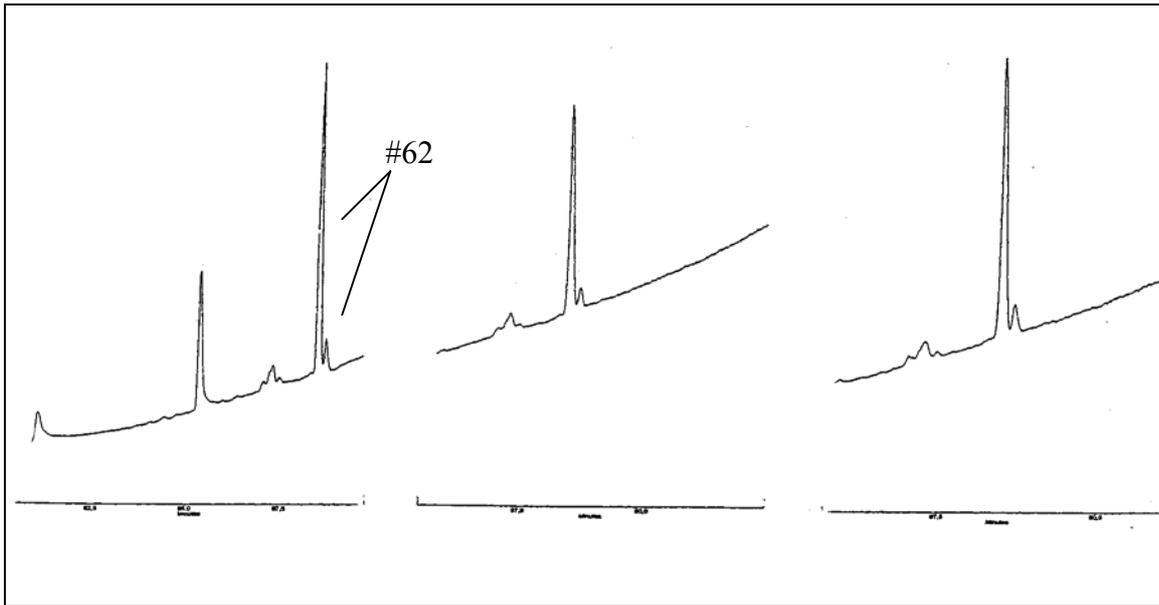


Abb. 30 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf der β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #62 im Körperfett von Legehennen während der Fütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Fettprobe nach 18. Versuchswoche
Mittleres Chromatogramm	Fettprobe nach 28. Versuchswoche
Linkes Chromatogramm	Fettprobe nach 38. Versuchswoche

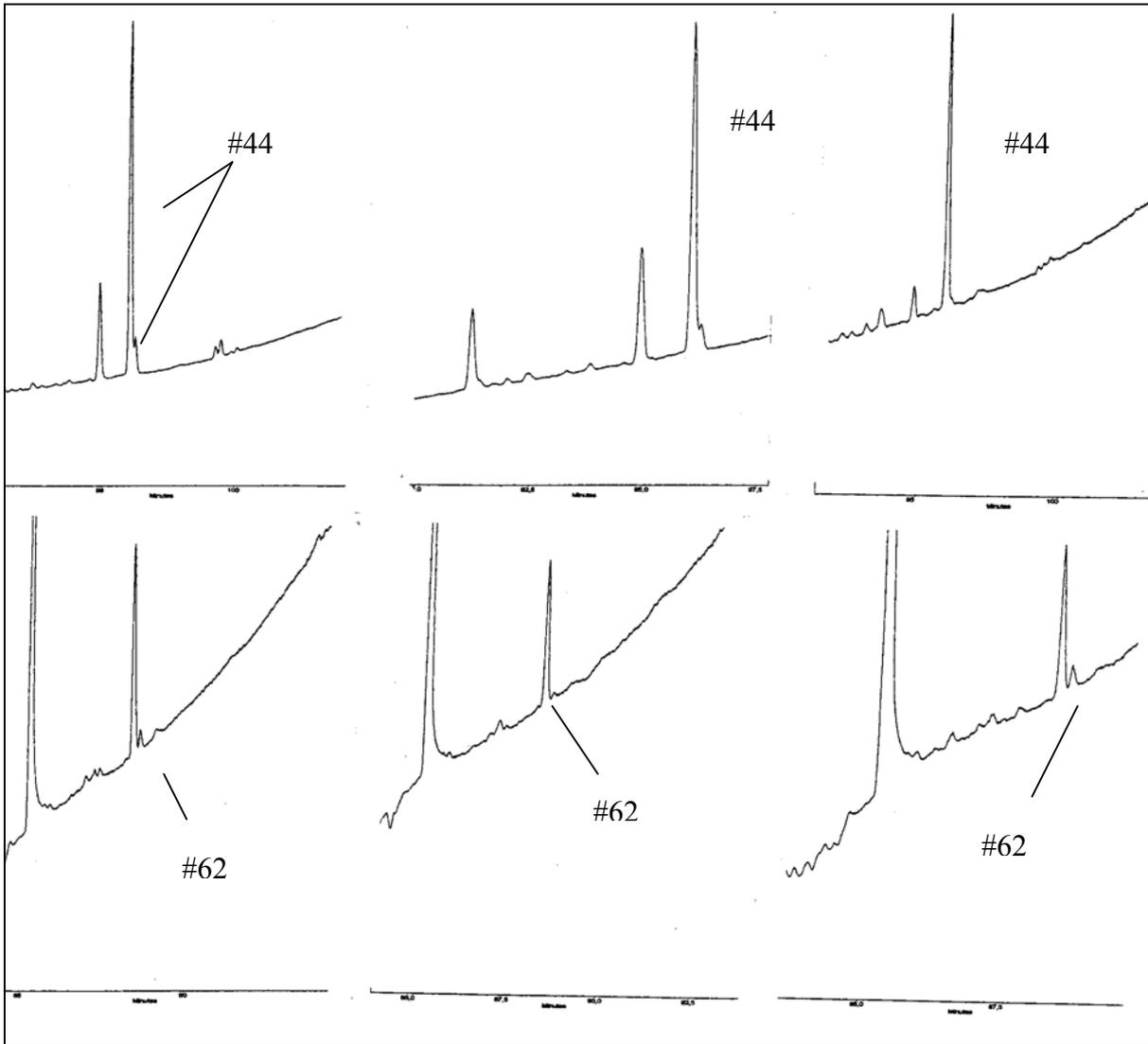


Abb. 31 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomertrennung auf der β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #44 und #50 in der Leber von Legehennen während der Fütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Leberprobe nach 18 Versuchswochen
Mittleres Chromatogramm	Leberprobe nach 28 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Leberprobe nach 38 Versuchswochen

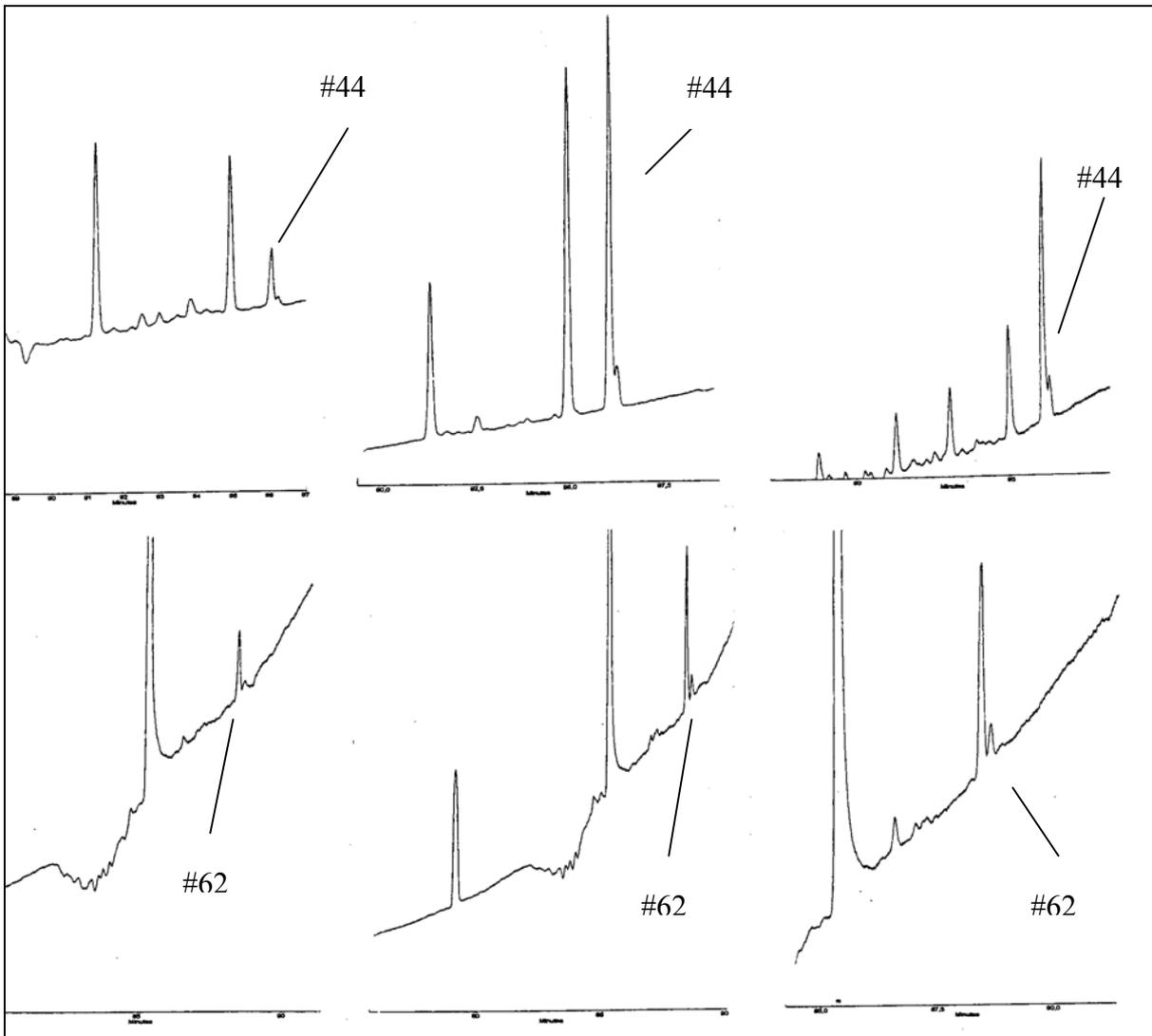


Abb. 32 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomertrennung auf der β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #44 und #62 in den Nieren von Legehennen während der Fütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Nierenprobe nach 18 Versuchswochen
Mittleres Chromatogramm	Nierenprobe nach 28 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Nierenprobe nach 38 Versuchswochen

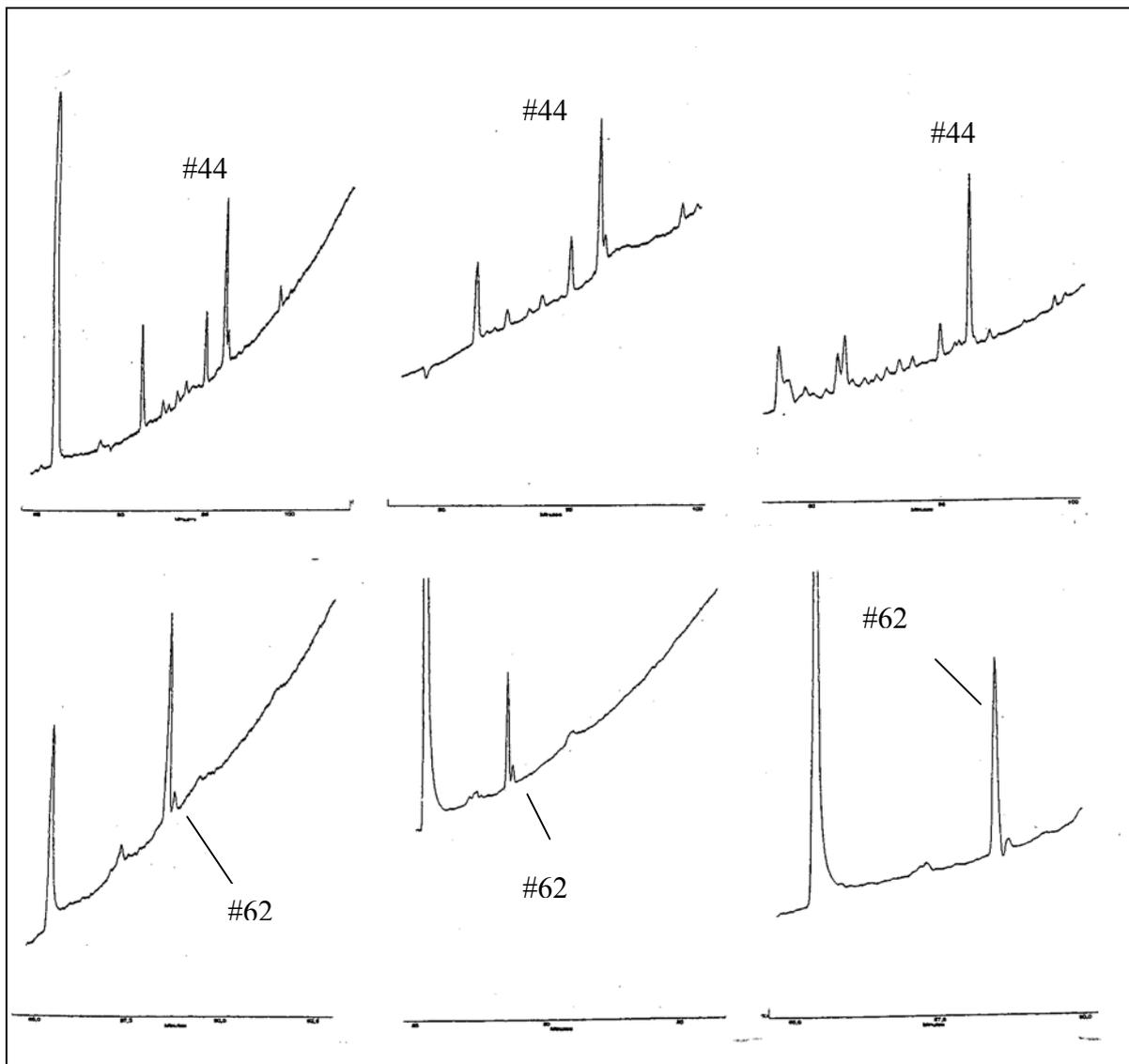


Abb. 33 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf der β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar#44 und #62 im Fleisch von Legehennen während der Fütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Fleischprobe nach 18 Versuchswochen
Mittleres Chromatogramm	Fleischprobe nach 28 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Fleischprobe nach 38 Versuchswochen

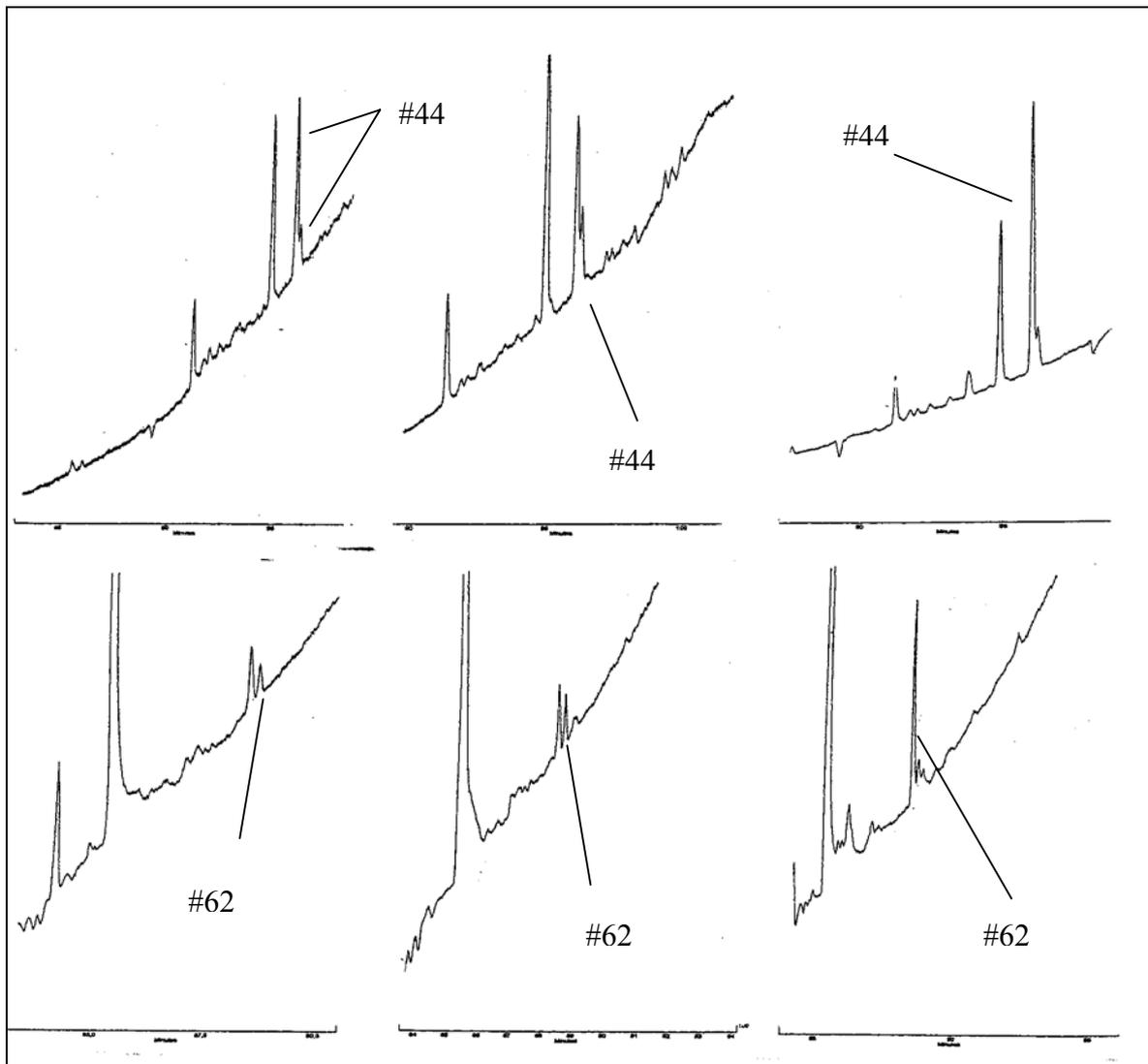


Abb. 34 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomertrennung auf der β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #44 und #62 im Blut von Legehennen während der Fütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Blutprobe 18. Versuchswoche
Mittleres Chromatogramm	Blutprobe 28. Versuchswoche
Linkes Chromatogramm	Blutprobe 38. Versuchswoche

4. Ergebnisse und Diskussion

Tab. 19 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse ($ER_{1/2}$), Enantiomerenfraktion (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphenkomponenten (CTTs) in Fettproben von Legehennen während der Fütterungsphase mit 0,5 ppm technischem Toxaphen

Toxaphenkomponente Parlar #	18 Wochen				28 Wochen				38 Wochen			
	$ER_{(1/2)}^1$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER_{(1/2)}^1$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER_{(1/2)}^1$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$
11	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
12	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
15	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
26	0,81	44,6	10,8	0,45	0,75	42,9	14,2	0,43	0,73	42,3	15,4	0,42
31	9,4	90,4	80,8	0,90	6,45	86,6	73,2	0,87	8,55	89,6	79,2	0,90
32	0,52	34,3	31,4	0,34	0,77	43,4	13,2	0,43	0,63	38,7	22,6	0,39
40	0,94	48,5	3,0	0,49	1,33	57,1	14,2	0,57	1,87	65,1	30,2	0,65
41	1,02	50,4	0,8	0,50	1,28	56,2	12,4	0,56	0,93	48,1	3,8	0,48
42(a,b)	0,62	38,2	23,6	0,38	0,46	31,6	36,8	0,32	0,45	31,1	37,8	0,31
44	4,49	81,8	63,6	0,82	5,0	83,3	66,6	0,83	4,5	81,8	63,6	0,82
50	1,23	55,2	10,4	0,55	1,19	54,3	8,6	0,54	1,15	53,5	7,0	0,54
56	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
62	9,61	90,6	81,2	0,91	10,24	91,1	82,2	0,91	9,63	90,6	81,4	0,91

$ER^1 = S / R$ (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; $ER < 1$, wenn $S < R$; $ER > 1$, wenn $S > R$ und $ER = 1$ beim racemischen Gemisch);

$EF^2 = \text{Peakfläche des Enantiomers 1} / (\text{Peakfläche des Enantiomers 1} + \text{Peakfläche des Enantiomers 2}) \times 100 \%$;

$ee^3 = \% S - \% R$;

EF^4 (Zusammenhang zwischen ER und EF) = $1 / (1 + 1/ER)$, EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemische Gemisch;

$EF > 0,5$ oder $< 0,5 \rightarrow$ enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

4. Ergebnisse und Diskussion

Tab. 20 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse ($ER_{1/2}$), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphenkomponenten (CTTs) in Hühnchenleber während der Fütterungsphase mit 0,5 ppm technischem Toxaphen

Toxaphenkomponente Parlar #	18 Wochen				28 Wochen				38 Wochen			
	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$
11	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
12	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
15	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
25	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
26	0,60	37,5	25,0	0,38	0,98	49,6	0,8	0,50	0,80	44,4	11,2	0,44
31	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
32	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
40	0,68	40,5	19,0	0,41	1,23	55,2	10,4	0,55	1,72	63,2	26,4	0,63
41	1,92	65,8	31,6	0,66	1,68	62,6	25,2	0,63	1,27	55,9	11,8	0,56
42(a,b)	0,68	40,6	18,8	0,41	0,24	19,5	61,0	0,20	0,18	15,4	69,2	0,15
44	36,4	97,3	94,6	0,97	12,63	92,7	85,4	0,93	11,58	92,1	84,2	0,92
50	2,25	69,2	38,4	0,69	2,1	67,8	35,6	0,68	1,16	51,5	3,0	0,52
56	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
62	8,04	88,9	77,8	0,89	31,2	96,9	93,8	0,97	11,89	92,2	84,4	0,92

$ER^1 = S / R$ (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; $ER < 1$, wenn $S < R$; $ER > 1$, wenn $S > R$ und $ER = 1$ beim racemischen Gemisch);

$EF^2 = \text{Peakfläche des Enantiomers 1} / (\text{Peakfläche des Enantiomers 1} + \text{Peakfläche des Enantiomers 2}) \cdot 100$;

% ee³ = % S - % R;

EF^4 (Zusammenhang zwischen ER und EF) = $1 / (1 + 1/ER)$, EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemische Gemisch, EF >(0,5) oder < 0,5 → enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

4. Ergebnisse und Diskussion

Tab. 21 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse (ER_{1/2}), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphenkomponenten (CTTs) in Hühncheniere während der Fütterungsphase mit 0,5 ppm technischem Toxaphen

Toxaphenkomponente Parlar #	18 Wochen				28 Wochen				38 Wochen			
	ER ¹ _(1/2)	EF ²	% ee ³	ER&EF ⁴	ER ¹ _(1/2)	EF ²	% ee ³	ER&EF ⁴	ER ¹ _(1/2)	EF ²	% ee ³	ER&EF ⁴
11	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
12	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
15	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
25	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
26	0,92	47,8	4,4	0,48	0,91	47,7	4,6	0,48	1,05	51,1	2,2	0,51
31	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
32	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
40	1,26	55,8	11,6	0,56	1,35	57,4	14,8	0,57	1,11	52,7	5,4	0,53
41	0,61	37,8	24,4	0,38	0,69	40,9	18,2	0,41	0,42	29,5	41,0	0,30
42(a,b)	0,69	40,9	18,2	0,41	0,53	34,6	30,8	0,35	0,64	38,9	22,2	0,39
44	6,46	86,6	73,2	0,87	8,8	89,8	79,6	0,90	2,18	68,5	37,0	0,69
50	1,4	58,8	17,6	0,59	1,1	51,1	2,2	0,51	0,82	44,8	10,4	0,45
62	6,34	86,4	72,8	0,86	6,58	86,8	73,6	0,87	9,37	90,4	80,8	0,90

ER¹ = S / R (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; ER < 1, wenn S < R; ER > 1, wenn S > R und ER = 1 beim racemischen Gemisch);

EF² = Peakfläche des Enantiomers 1 / (Peakfläche des Enantiomers 1 + Peakfläche des Enantiomers 2) .x 100;

% ee³ = % S - % R;

EF⁴ (Zusammenhang zwischen ER und EF) = 1 / (1+1/ER) , EF (Bereich von 0 - 1) , EF = 0,5 für das racemischen Gemisch, EF >(0,5) oder < 0,5 → enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

Tab. 22 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse (ER_{1/2}), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphenkomponenten (CTTs) in Hühnerfleisch während der Fütterungsphase mit 0,5 ppm technischem Toxaphen

Toxaphenkomponente Parlar #	18 Wochen				28 Wochen				38 Wochen			
	ER ¹ _(1/2)	EF ²	% ee ³	ER&EF ⁴	ER ¹ _(1/2)	EF ²	% ee ³	ER&EF ⁴	ER ¹ _(1/2)	EF ²	% ee ³	ER&EF ⁴
11	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
12	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
15	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
25	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
26	0,66	39,6	20,8	0,40	1,08	52,0	4,0	0,52	0,78	43,9	12,2	0,44
31	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
32	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
40	1,73	63,4	26,8	0,63	1,45	59,1	18,2	0,59	1,44	60,1	20,2	0,60
41	1,65	62,3	24,6	0,62	0,96	49,1	1,5	0,49	0,77	43,5	13,0	0,44
42(a,b)	0,55	35,7	28,6	0,36	0,72	41,9	16,2	0,42	0,54	35,1	29,8	0,35
44	18,9	94,9	89,8	0,95	3,69	78,7	57,4	0,79	5,62	84,9	69,8	0,85
50	1,61	61,7	23,4	0,62	1,1	52,0	4,0	0,52	1,08	52,0	4,0	0,52
56	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
62	14,69	93,6	87,2	0,94	5,75	85,2	70,2	0,85	9,5	90,5	81,0	0,91

ER¹ = S / R (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; ER < 1, wenn S < R; ER > 1, wenn S > R und ER = 1 beim racemischen Gemisch);

EF² = Peakfläche des Enantiomers 1 / (Peakfläche des Enantiomers 1 + Peakfläche des Enantiomers 2) x 100;

% ee³ = % S - % R;

EF⁴ (Zusammenhang zwischen ER und EF) = 1 / (1 + 1/ER), EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemische Gemisch, EF > (0,5) oder < 0,5 → enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

4. Ergebnisse und Diskussion

Tab. 23 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse (ER_{1/2}), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphenkomponenten (CTTs) in Hühncheneidotter während der Fütterungsphase mit 0,5 ppm technischem Toxaphen

Toxaphenkomponente Parlar #	18 Wochen				28 Wochen				38 Wochen			
	ER ¹ _(1/2)	EF ²	% ee ³	ER&EF ⁴	ER ¹ _(1/2)	EF ²	% ee ³	ER&EF ⁴	ER ¹ _(1/2)	EF ²	% ee ³	ER&EF ⁴
11	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
12	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
15	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
25	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
26	0,96	49,0	2,0	0,49	0,91	47,7	4,6	0,48	0,81	44,6	10,8	0,45
31	4,0	80,1	60,2	0,80	10,15	91,0	82,0	0,91	8,35	89,3	78,6	0,89
32	0,80	44,4	11,2	0,44	0,41	29,1	41,8	0,29	0,80	44,3	11,4	0,44
40	1,28	56,2	12,4	0,56	1,46	59,4	18,8	0,59	1,44	58,9	17,8	0,59
41	0,65	39,3	21,4	0,39	1,22	55,0	10,0	0,55	0,90	47,2	5,6	0,47
42(a,b)	1,2	54,5	9,0	0,55	0,46	31,6	36,8	0,32	0,76	43,3	13,4	0,43
44	3,92	79,7	59,4	0,80	6,1	85,9	71,8	0,86	5,1	83,5	67,0	0,84
50	1,25	55,6	11,0	0,56	1,4	58,3	16,6	0,58	1,27	56,0	12,0	0,56
56	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
62	7,4	88,1	76,2	0,88	12,83	92,8	85,6	0,93	11,49	91,9	83,8	0,92

ER¹ = S / R (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; ER < 1, wenn S < R; ER > 1, wenn S > R und ER = 1 beim racemischen Gemisch);

EF² = Peakfläche des Enantiomers 1 / (Peakfläche Enantiomer 1 + Peakfläche Enantiomer 2) x 100;

% ee³ = % S - % R;

EF⁴ (Zusammenhang zwischen ER und EF) = 1 / (1 + 1/ER), EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemische Gemisch, EF > (0,5) oder < 0,5 → enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

4. Ergebnisse und Diskussion

Tab. 24 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse ($ER_{1/2}$), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphen-komponenten (CTTs) in Hühnchenblut während der Fütterungsphase mit 0,5 ppm technischem Toxaphen

Toxaphen- komponente Parlar #	18 Wochen				28 Wochen				38 Wochen			
	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$
11	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
12	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
15	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
25	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
26	0,82	45,0	10,0	0,45	1,18	54,0	8,0	0,54	0,81	44,6	10,8	0,45
31	5,85	85,4	70,8	0,85	1,4	58,4	16,8	0,58	2,35	70,1	40,2	0,70
32	∞	100	100	1,0	1,03	50,7	1,4	0,51	0,96	48,9	2,2	0,49
40	1,96	66,2	32,4	0,66	1,16	53,7	7,4	0,54	1,27	56,0	12,0	0,56
41	0,87	46,5	7,0	0,47	0,26	20,9	58,2	0,21	0,37	26,9	46,2	0,27
42(a,b)	0,92	47,9	4,2	0,48	2,5	71,4	42,8	0,71	1,92	65,7	31,4	0,66
44	6,58	85,1	70,2	0,85	2,48	71,3	42,6	0,71	4,58	82,1	64,2	0,82
50	1,51	60,1	20,2	0,60	1,40	58,4	16,8	0,58	1,54	60,6	21,2	0,61
56	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
62	4,72	82,5	65,0	0,83	2,06	67,3	34,6	0,67	2,64	72,5	45,0	0,73

$ER^1 = S / R$ (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; $ER < 1$, wenn $S < R$; $ER > 1$, wenn $S > R$ und $ER = 1$ beim racemischen Gemisch);

$EF^2 = \text{Peakfläche des Enantiomers 1} / (\text{Peakfläche Enantiomer 1} + \text{Peakfläche Enantiomer 2}) \times 100$;

% ee³ = % S - % R;

EF^4 (Zusammenhang zwischen ER und EF) = $1 / (1 + 1/ER)$, EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemischen Gemisch, EF >(0,5) oder < 0,5 → enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

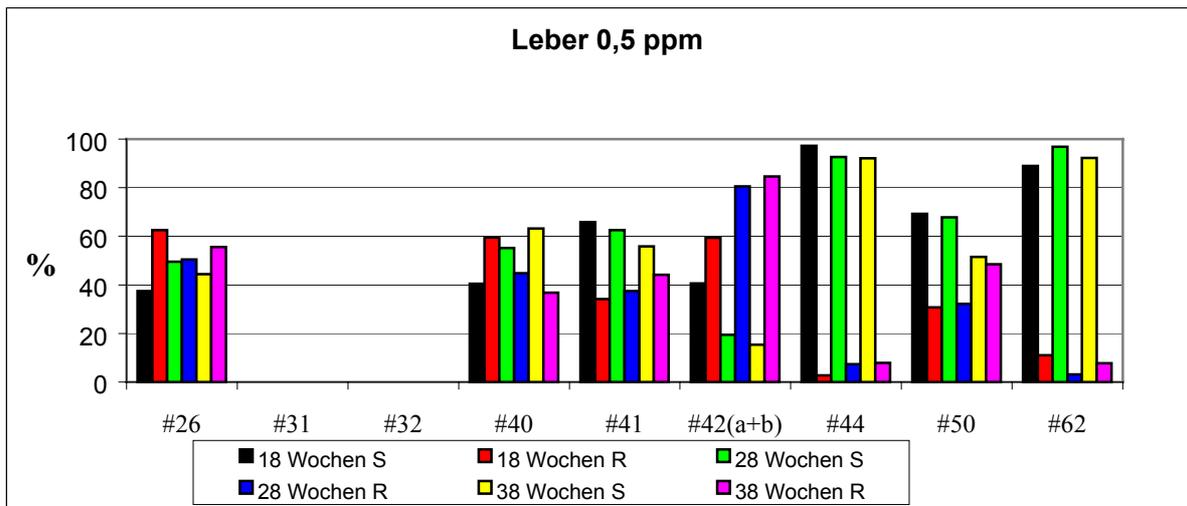


Abb. 35 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenere in der Leber von Legehennen während der Anfütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen)

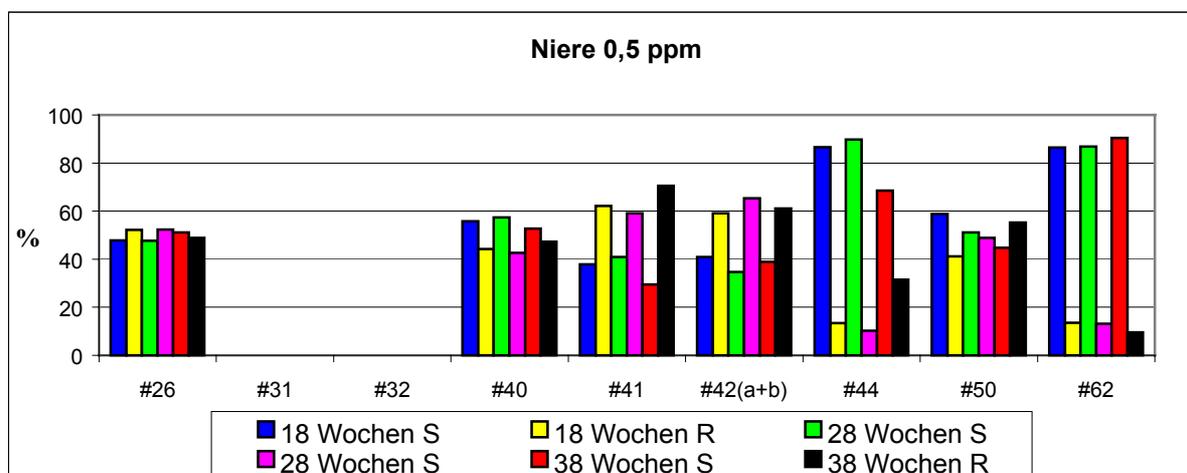


Abb. 36 Enantiomerenverhältnis se der Toxaphenkongenere in den Nieren von Legehennen während der Anfütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen)

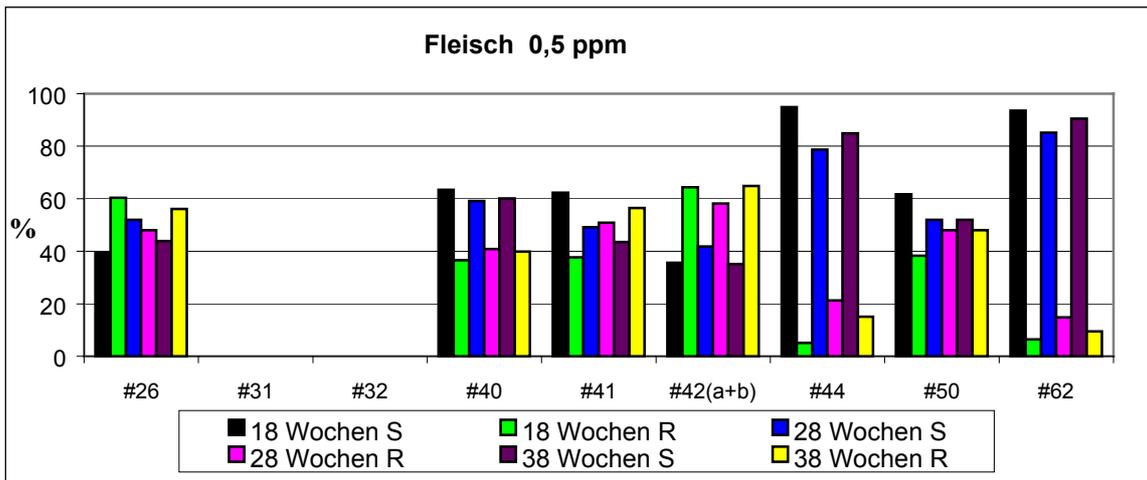


Abb. 37 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenere im Fleisch von Legehennen während der Anfütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen)

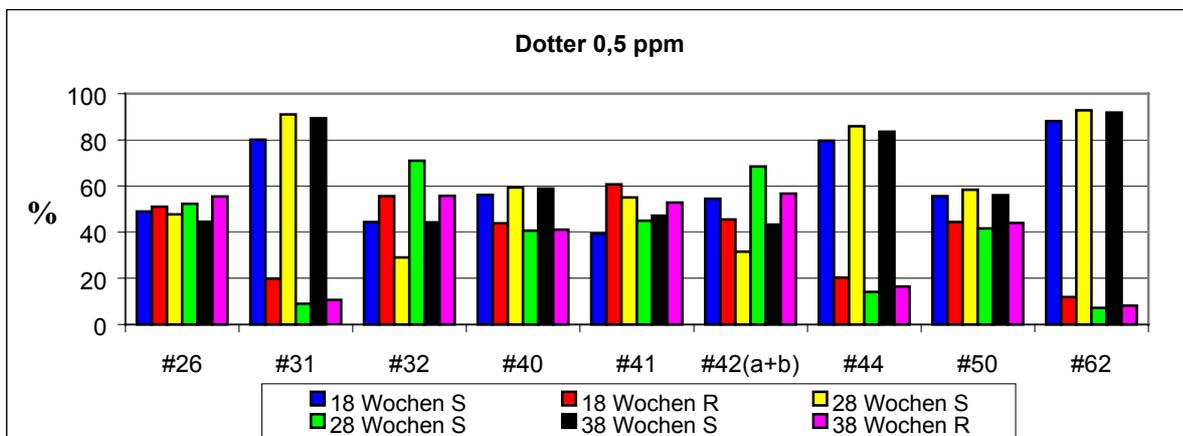


Abb. 38 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenere im Eidotter von Legehennen während der Anfütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen)

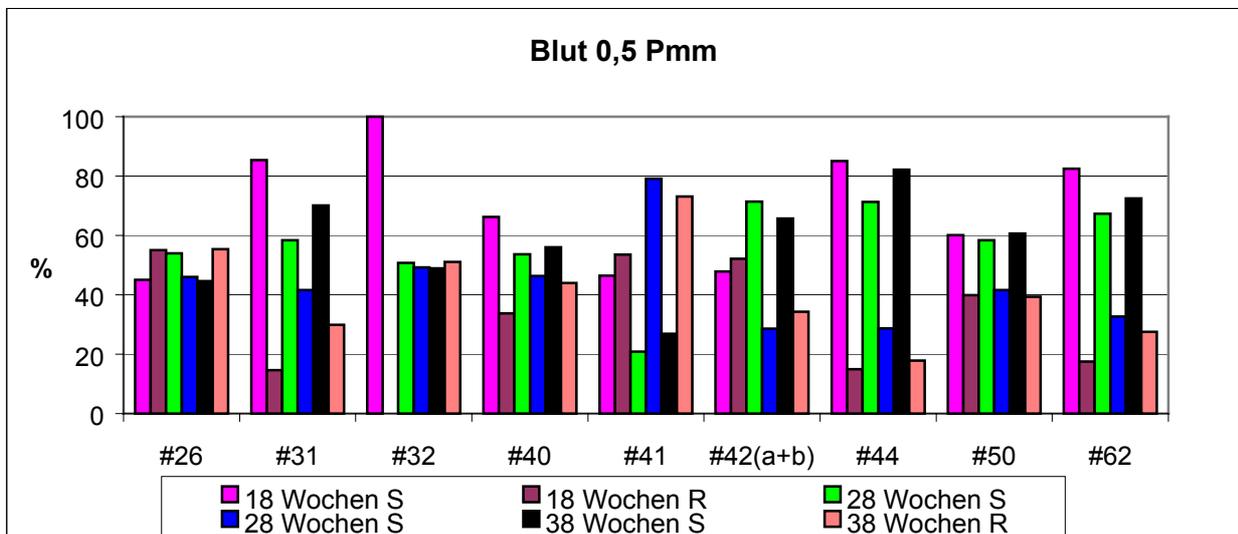


Abb. 39 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenerere im Blut von Legehennen während der Anfütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen)

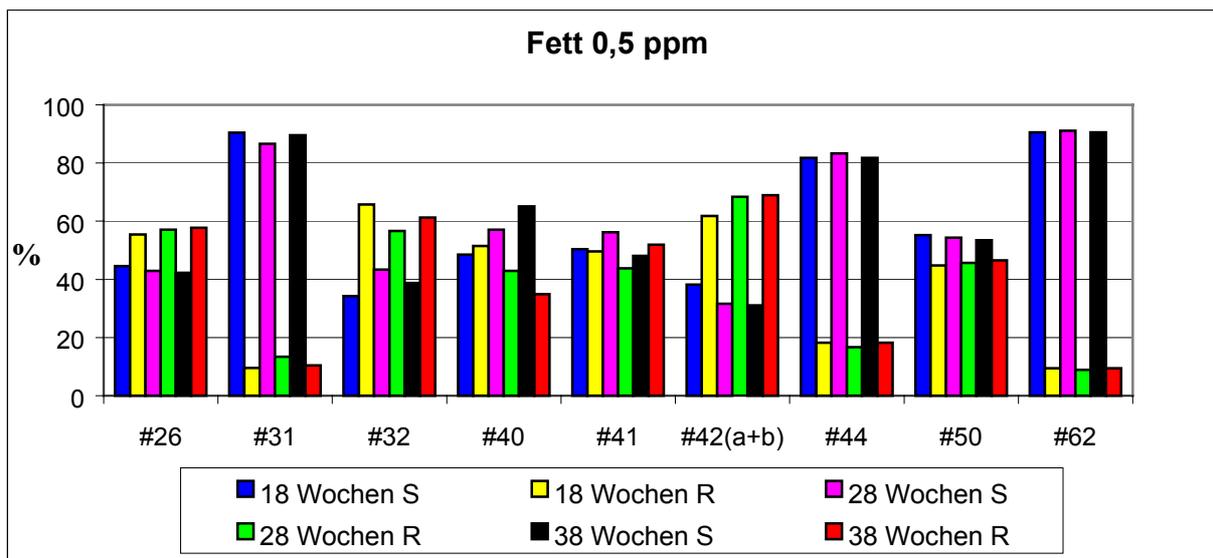


Abb. 40 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenerere im Fett von Legehennen während der Anfütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen)

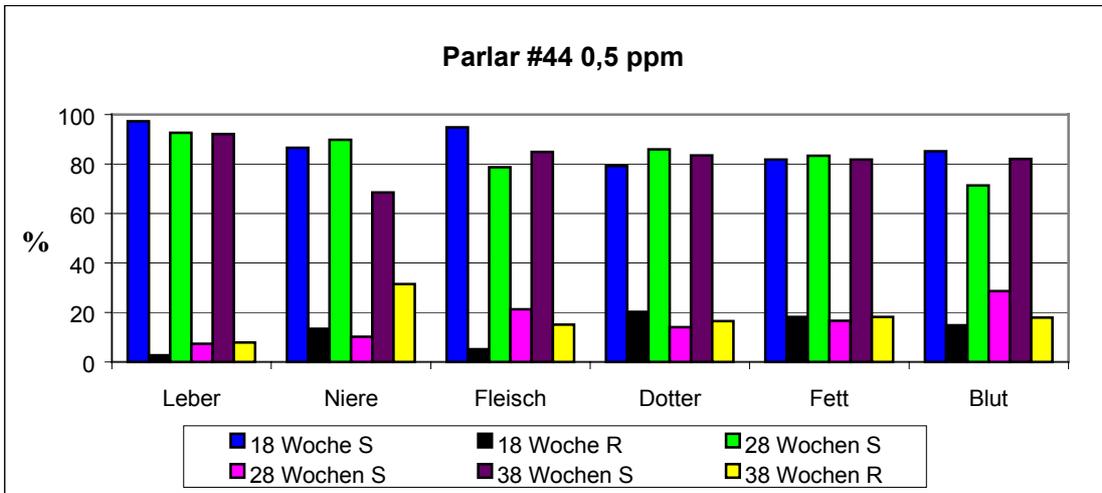


Abb. 41 Enantiomerenverhältnisse des Kongeners Parlar #44 in den verschiedenen Proben von Legehennen während der Anfütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen)

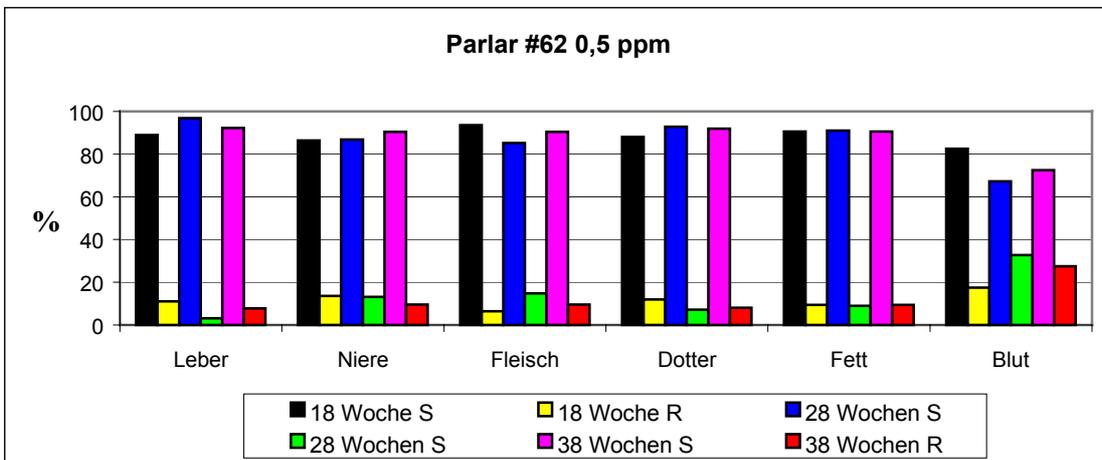


Abb. 42 Enantiomerenverhältnisse des Kongeners Parlar #62 in den verschiedenen Proben von Legehennen während der Anfütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen)

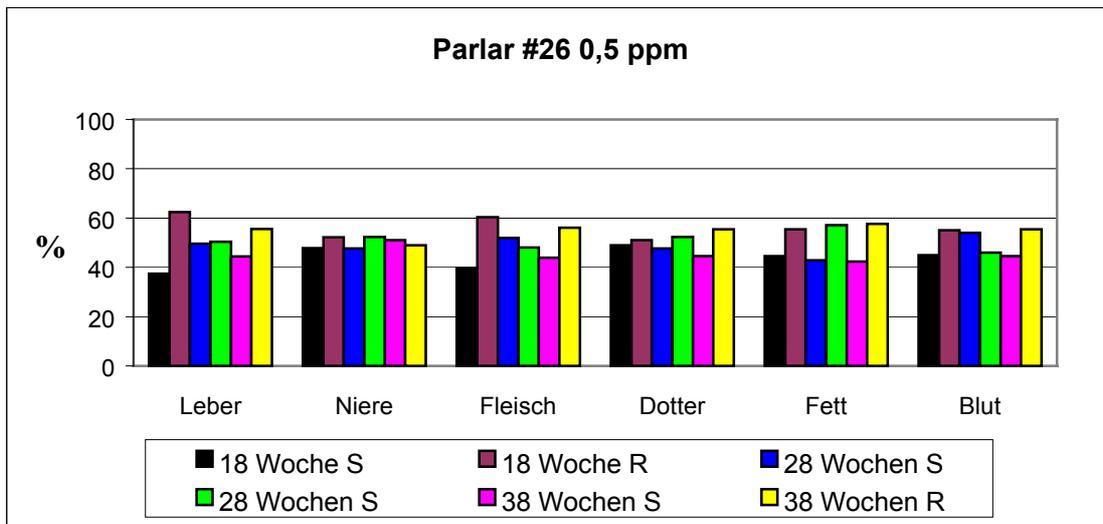


Abb. 43 Enantiomerenverhältnisse des Kongeners Parlar #26 in den verschiedenen Proben von Legehennen während der Anfütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen)

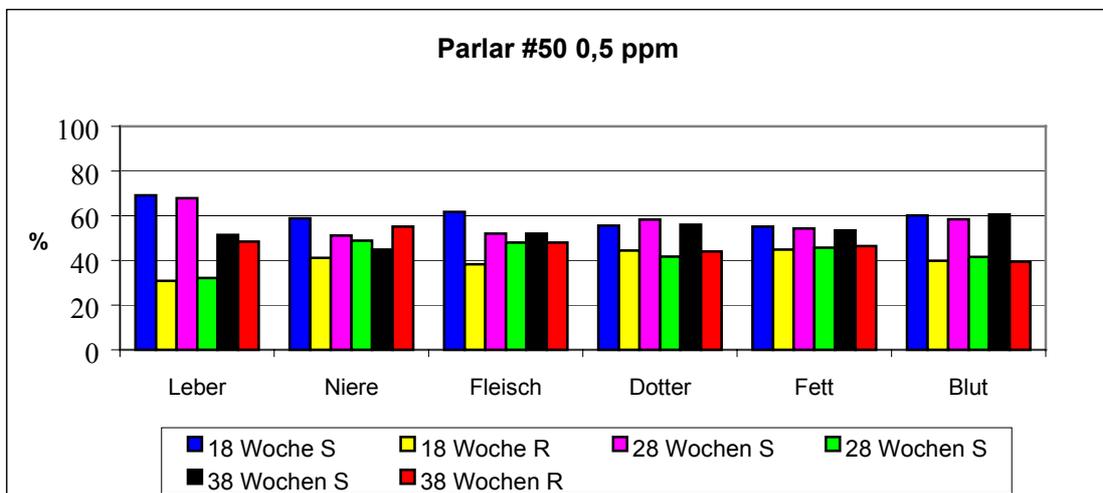


Abb. 44 Enantiomerenverhältnisse des Kongeners Parlar #50 in den verschiedenen Proben von Legehennen während der Anfütterungsphase (0,5 ppm techn. Toxaphen)

4.4.2 Fütterungsversuche während 18, 28 und 38 Wochen mit 1,0 ppm technischem Toxaphen

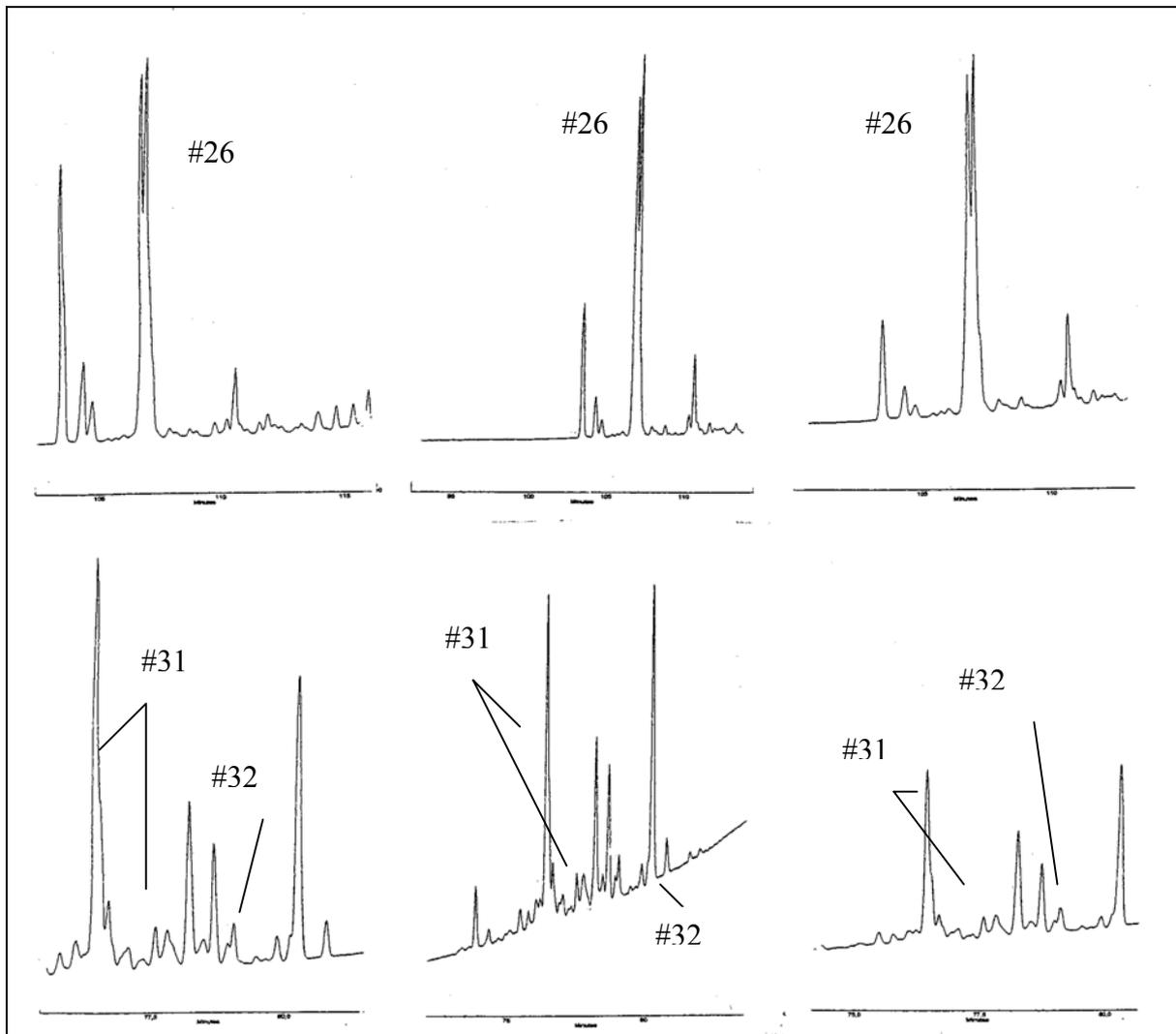


Abb. 45 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf der β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #26 und #31+#32 in Eidotterproben von Legehennen während der Fütterungsphase (1,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Eidotterprobe nach 18 Versuchswochen
Mittleres Chromatogramm	Eidotterprobe nach 28 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Eidotterprobe nach 38 Versuchswochen

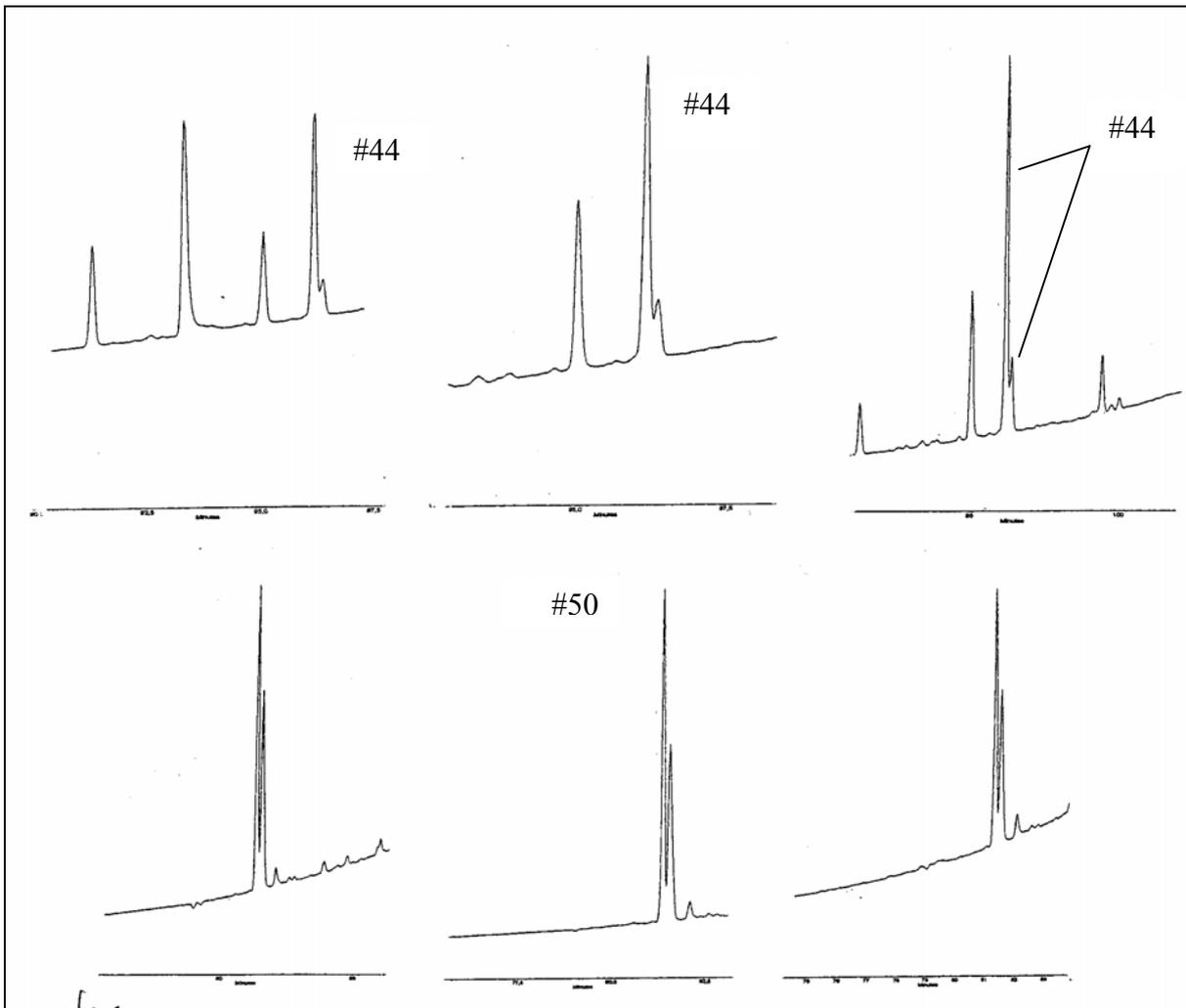


Abb. 46 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #44 und #50 in Eidotterproben von Legehennen während der Anfütterungsphase (1,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Eidotterprobe nach 18. Versuchswoche
Mittleres Chromatogramm	Eidotterprobe nach 28. Versuchswoche
Linkes Chromatogramm	Eidotterprobe nach 38. Versuchswoche

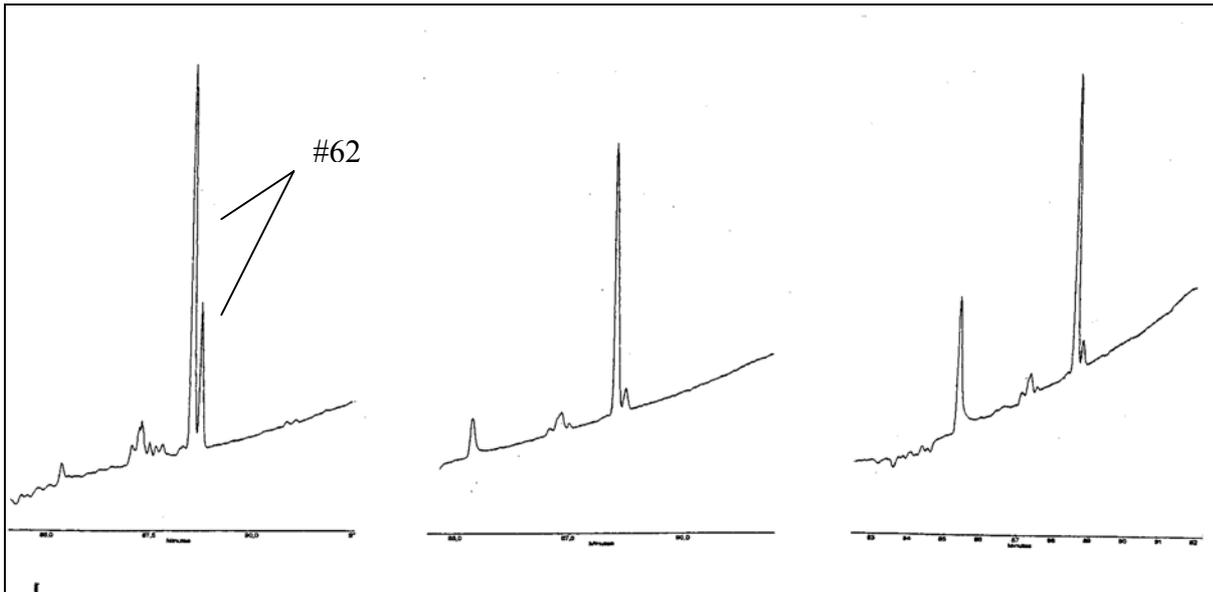


Abb. 47 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #62 im Eidotter von Legehennen während der Fütterungsphase (1,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Eidotterprobe nach 18. Versuchswoche
Mittleres Chromatogramm	Eidotterprobe nach 28. Versuchswoche
Linkes Chromatogramm	Eidotterprobe nach 38. Versuchswoche

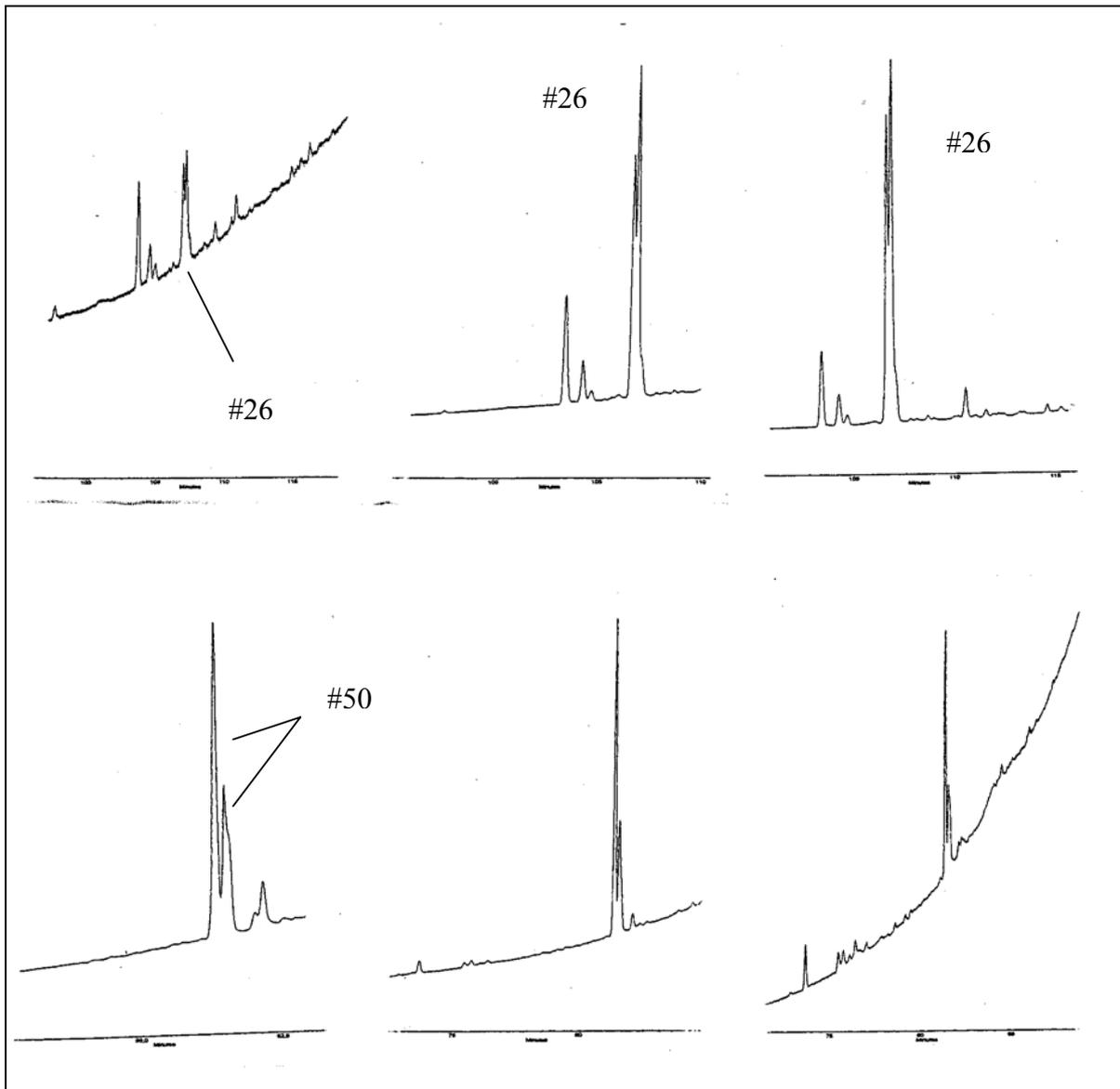


Abb. 48 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #26 und #50 in Hautproben von Legehennen während der Fütterungsphase (1,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Hautprobe nach 18. Versuchswoche
Mittleres Chromatogramm	Hautprobe nach 28. Versuchswoche
Linkes Chromatogramm	Hautprobe nach 38. Versuchswoche

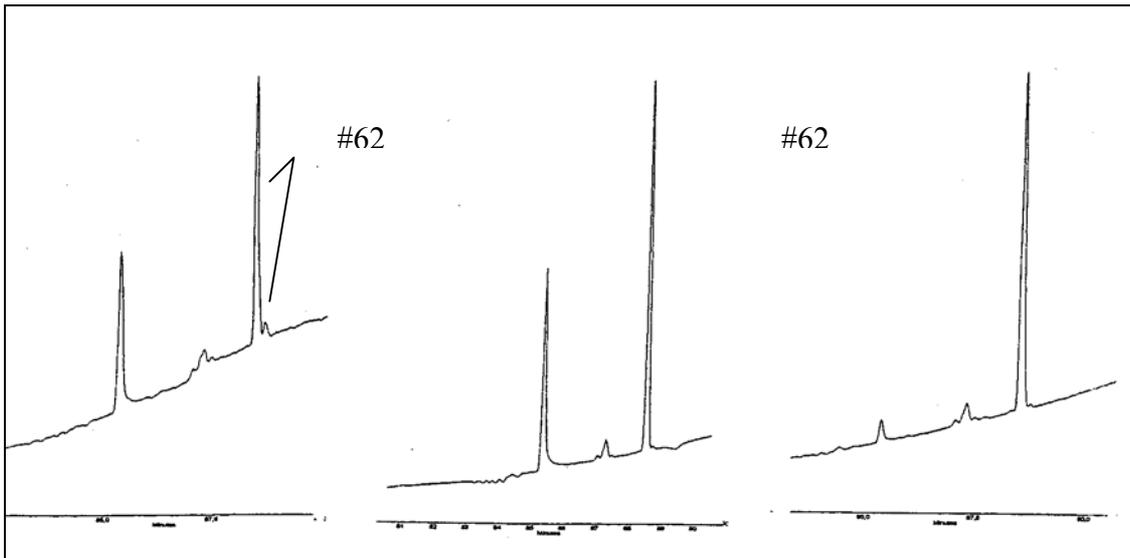


Abb. 49 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #62 in Hautproben von Legehennen während der Fütterungsphase (1,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Hautprobe nach 18. Versuchswoche
Mittleres Chromatogramm	Hautprobe nach 28. Versuchswoche
Linkes Chromatogramm	Hautprobe nach 38. Versuchswoche

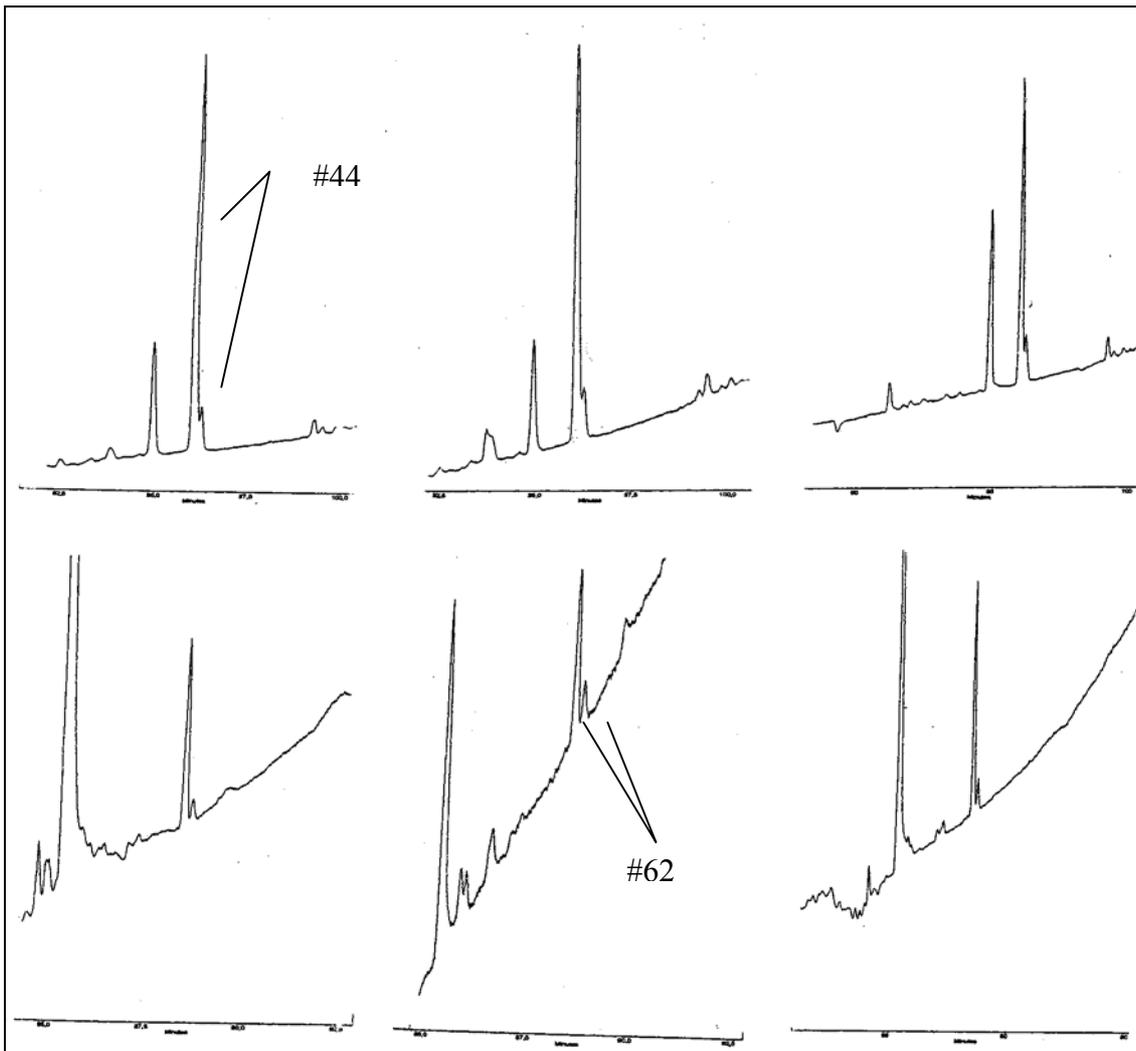


Abb. 50 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #44 und #62 im Blut von Legehennen während der Fütterungsphase (1,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Blutprobe nach 18 Versuchswochen
Mittleres Chromatogramm	Blutprobe nach 28 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Blutprobe nach 38 Versuchswochen

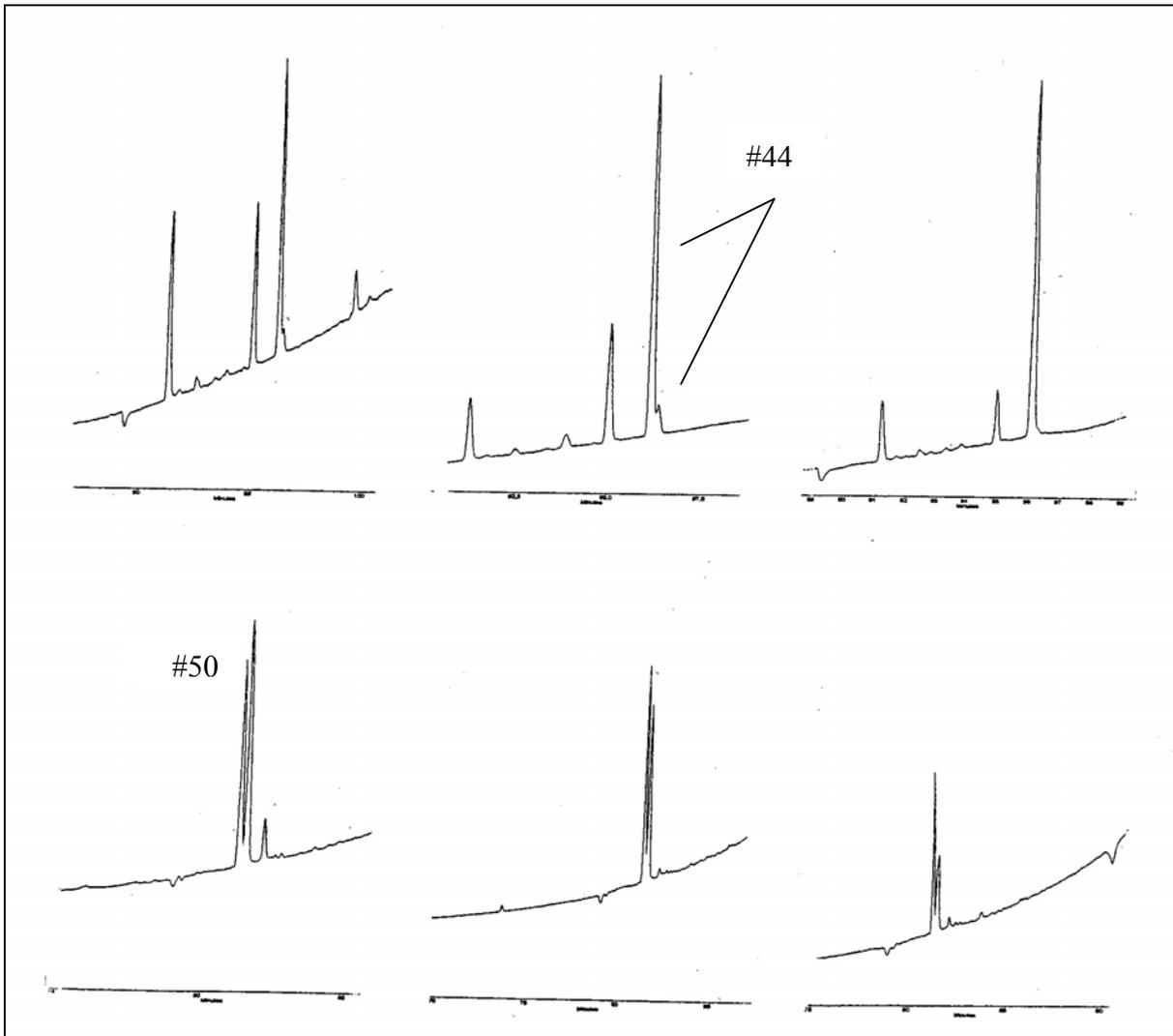


Abb. 51 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #44 und #50 in der Leber von Legehennen während der Fütterungsphase (1,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Leberprobe nach 18 Versuchswochen
Mittleres Chromatogramm	Leberprobe nach 28 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Leberprobe nach 38 Versuchswochen

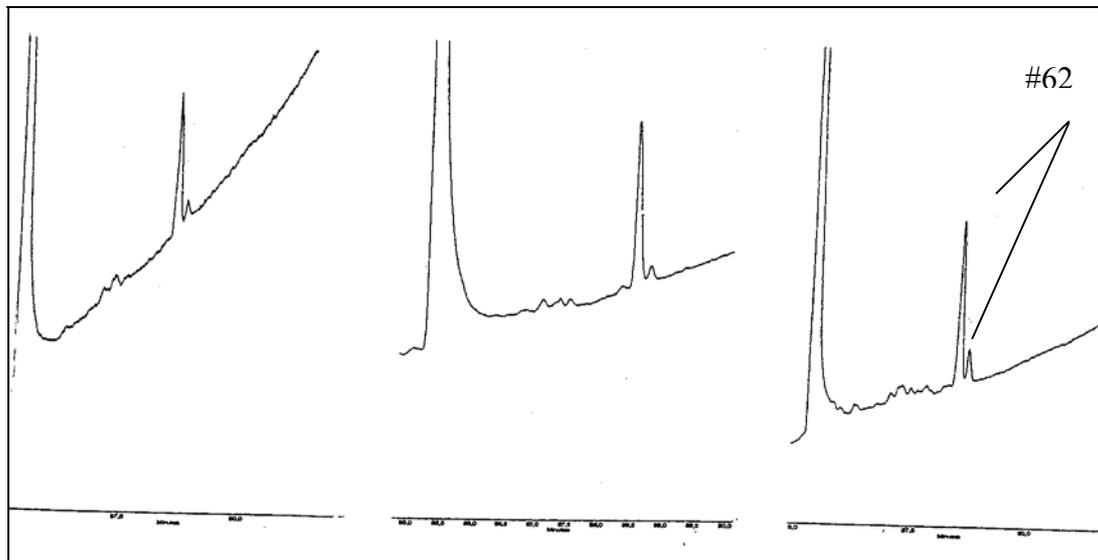


Abb. 52 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #62 in der Leber von Legehennen während der Fütterungsphase (1,0 pm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Leberprobe nach 18 Versuchswochen
Mittleres Chromatogramm	Leberprobe nach 28 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Leberprobe nach 38 Versuchswochen

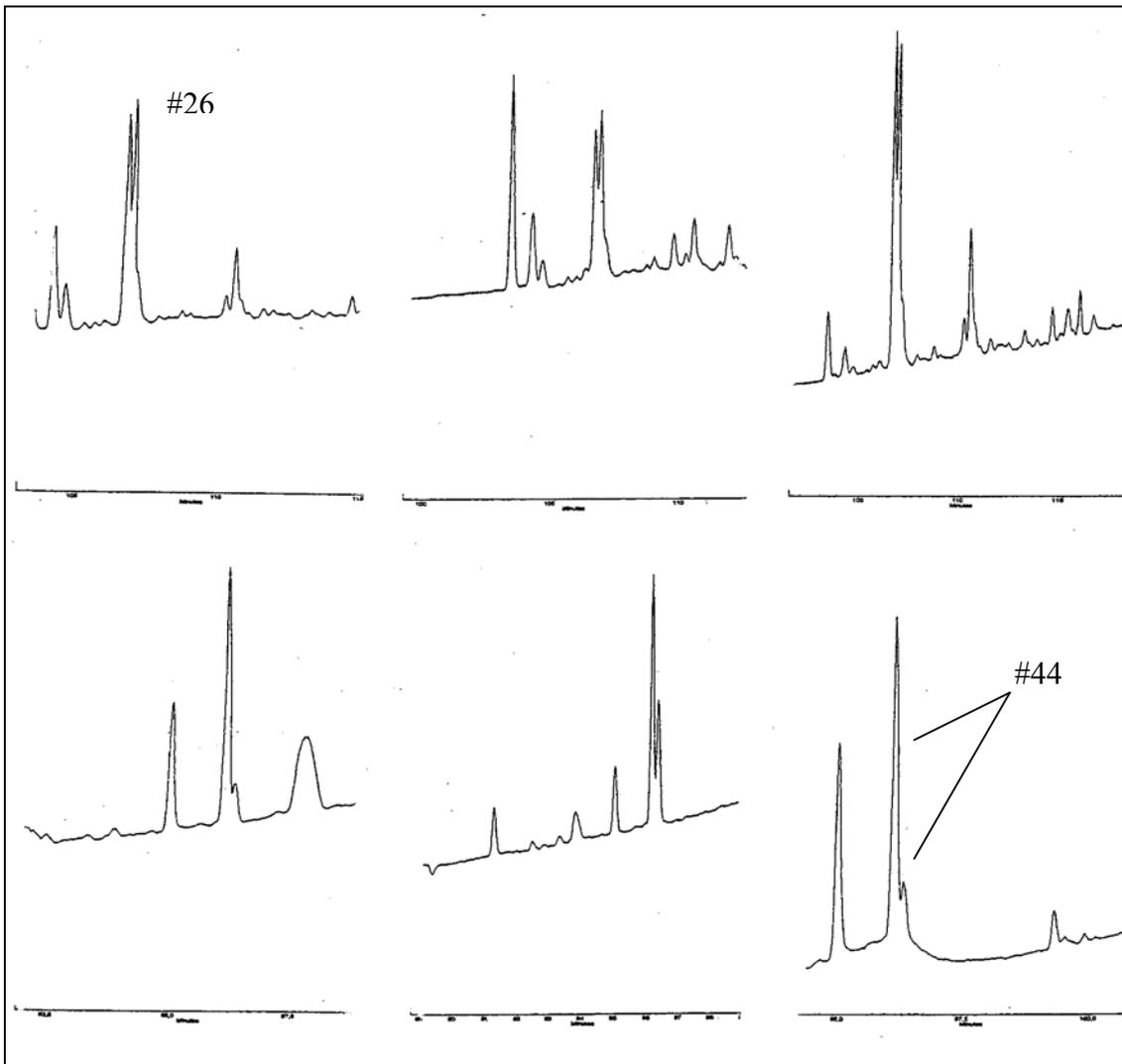


Abb. 53 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlax #26 und #44 im Fleisch von Legehennen während der Fütterungsphase (1,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Fleischprobe nach 18 Versuchswochen
Mittleres Chromatogramm	Fleischprobe nach 28 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Fleischprobe nach 38 Versuchswochen

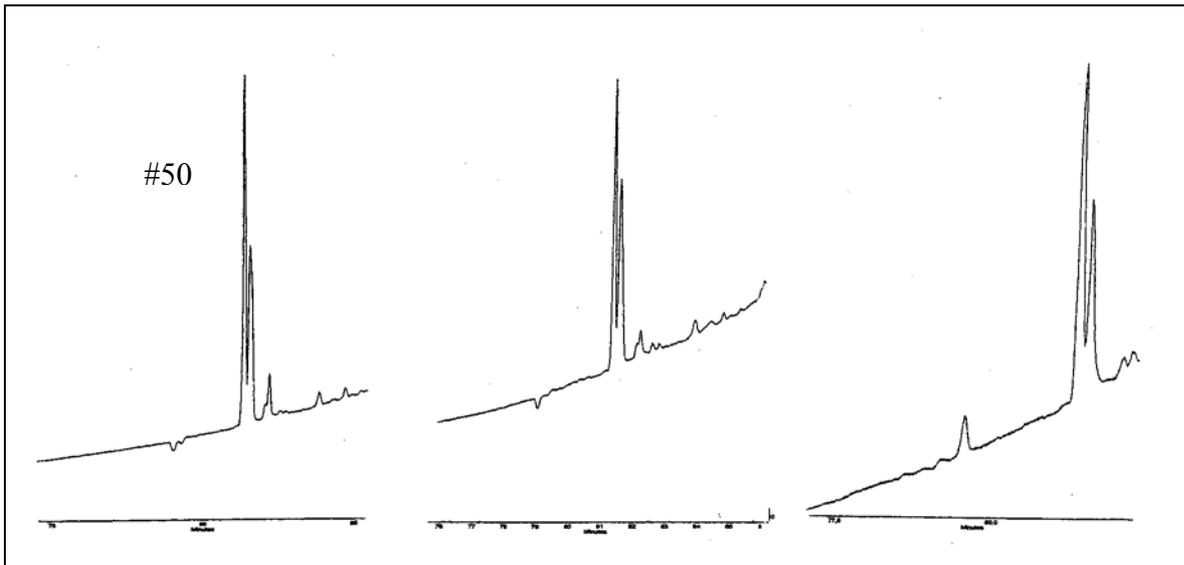


Abb. 54 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #50 im Fleisch von Legehennen während der Fütterungsphase (1,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Fleischprobe nach 18 Versuchswochen
Mittleres Chromatogramm	Fleischprobe nach 28 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Fleischprobe nach 38 Versuchswochen

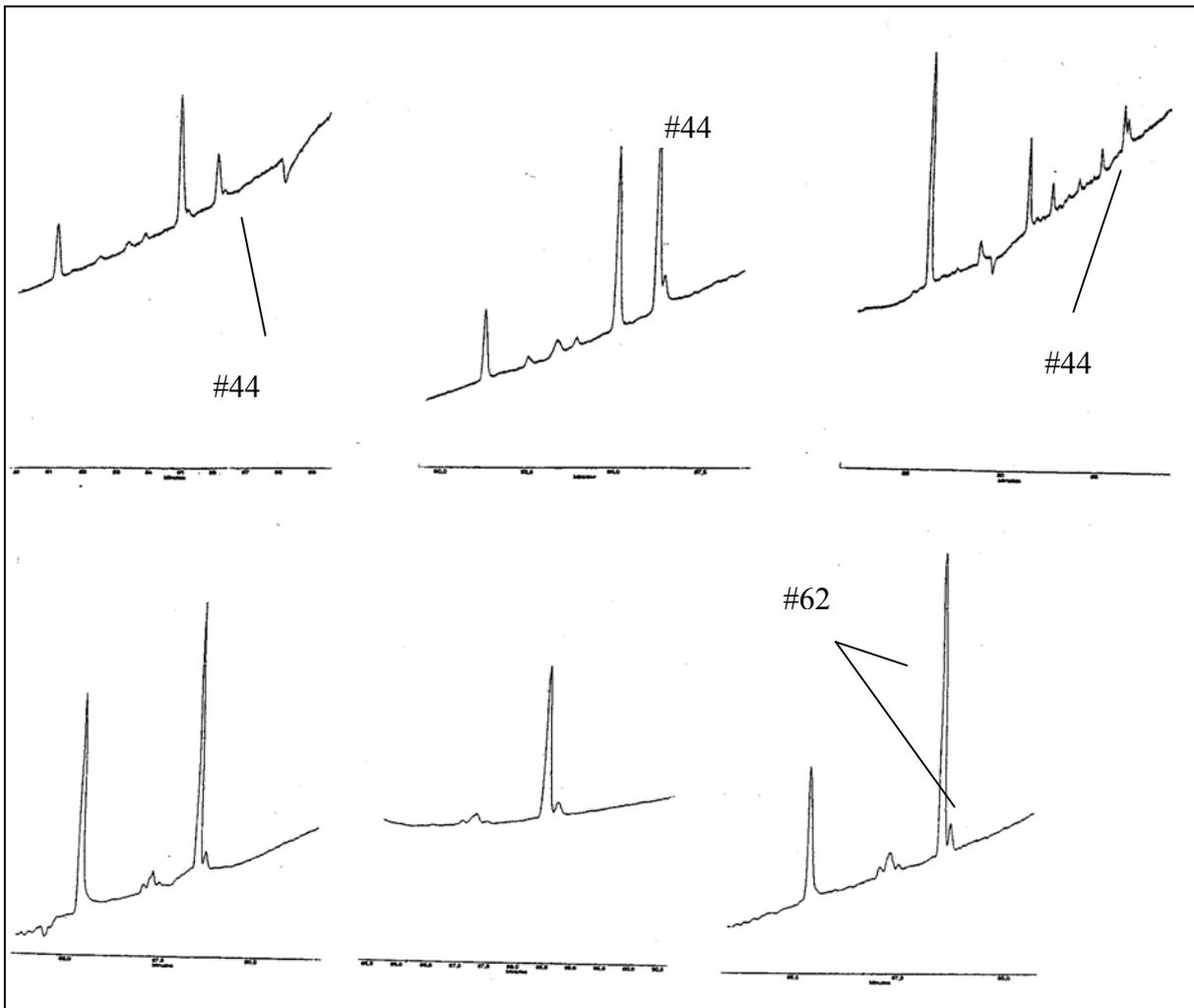


Abb. 55 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomertrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #44 und #62 in den Nieren von Legehennen während der Fütterungsphase (1,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Nierenprobe nach 18 Versuchswochen
Mittleres Chromatogramm	Nierenprobe nach 28 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Nierenprobe nach 38 Versuchswochen

Tab. 25 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse ($ER_{1/2}$), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphenkomponenten (CTTs) in Hühnchenleber während der Anfütterungsphase mit 1,0 ppm technischem Toxaphen

Toxaphenkomponente Parlar #	18 Wochen				28 Wochen				38 Wochen			
	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$
11	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
12	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
15	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
26	0,49	32,9	34,2	0,33	0,60	37,5	25,0	0,38	0,59	37,0	26,0	0,37
31	2,79	73,6	47,2	0,74	4,65	82,3	64,6	0,82	4,6	82,2	64,4	0,82
32	1,57	61,1	22,2	0,61	1,94	65,9	31,8	0,66	2,8	73,9	47,8	0,74
40	0,89	47,0	6,0	0,47	1,68	62,7	25,4	0,63	1,46	59,3	18,6	0,59
41	2,57	72,0	44,0	0,72	1,48	59,7	19,4	0,58	0,80	44,3	11,4	0,44
42(a,b)	0,4	28,6	42,8	0,29	0,18	15,4	69,2	0,15	0,45	31,1	37,8	0,31
44	∞	100	100	1,0	12,1	92,4	84,8	0,92	12,0	92,3	84,6	0,92
50	1,78	64	27,0	0,64	1,08	51,9	3,80	0,52	0,88	46,7	6,6	0,47
56	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
62	5,06	83,5	67,0	0,84	9,81	90,8	81,6	0,91	11,7	92,1	84,2	0,92

$ER^1 = S / R$ (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; $ER < 1$, wenn $S < R$; $ER > 1$, wenn $S > R$ und $ER = 1$ beim racemischen Gemisch);

$EF^2 = \text{Peakfläche des Enantiomers 1} / (\text{Peakfläche Enantiomer 1} + \text{Peakfläche Enantiomer 2}) \times 100$;

% ee³ = % S - % R;

EF^4 (Zusammenhang zwischen ER und EF) = $1 / (1 + 1/ER)$, EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemische Gemisch, EF >(0,5) oder < 0,5 → enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

Tab. 26 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse (ER_{1/2}), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphenkomponenten (CTTs) in Hühncheniere während der Anfütterungsphase mit 1,0 ppm technischem Toxaphen

Toxaphenkomponente Parlar #	18 Wochen				28 Wochen				38 Wochen			
	ER ¹ _(1/2)	EF ²	% ee ³	ER&EF ⁴	ER ¹ _(1/2)	EF ²	% ee ³	ER&EF ⁴	ER ¹ _(1/2)	EF ²	% ee ³	ER&EF ⁴
11	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
12	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
15	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
25	1,42	58,7	17,4	0,59	2,25	69,3	38,6	0,69	2,6	72,1	44,2	0,72
26	0,70	41,1	17,8	0,41	0,72	41,7	16,6	0,42	0,75	44,3	11,4	0,44
31	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
32	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
40	0,97	49,1	1,8	0,49	1,23	55,2	10,4	0,55	0,83	45,3	9,4	0,45
41	0,56	35,8	28,4	0,36	0,73	42,3	15,4	0,42	0,47	31,7	36,6	0,32
42(a,b)	1,12	52,6	5,2	0,53	0,47	31,9	36,2	0,32	0,77	43,5	13,0	0,44
44	1,97	66,3	32,6	0,66	5,65	84,9	69,8	0,85	4,4	81,4	62,8	0,81
50	1,06	51,4	2,8	0,51	1,36	57,7	15,4	0,58	2,1	67,4	34,8	0,67
62	2,16	68,3	36,3	0,68	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n

ER¹ = S / R (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; ER < 1, wenn S < R; ER > 1, wenn S > R und ER = 1 beim racemischen Gemisch);

EF² = Peakfläche des Enantiomers 1 / (Peakfläche Enantiomer 1 + Peakfläche Enantiomer 2) x 100;

% ee³ = % S - % R;

EF⁴ (Zusammenhang zwischen ER und EF) = 1 / (1 + 1/ER), EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemische Gemisch, EF > (0,5) oder < 0,5 → enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

Tab. 27 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse ($ER_{1/2}$), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphen-komponenten (CTTs) in Hühnchenfleisch während der Anfütterungsphase mit 1,0 ppm technischem Toxaphen

Toxaphen- komponente Parlar #	18 Wochen				28 Wochen				38 Wochen			
	$ER_{(1/2)}^1$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER_{(1/2)}^1$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER_{(1/2)}^1$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$
11	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
12	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
15	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
25	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
26	0,78	43,7	12,6	0,44	0,72	41,9	16,2	0,42	0,72	41,7	16,6	0,42
31	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
32	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
40	1,62	61,8	23,6	0,62	1,78	64,1	28,2	0,64	1,17	54,0	8,0	0,54
41	1,06	51,4	2,8	0,51	1,15	53,5	7,0	0,54	0,79	44,2	11,6	0,44
42(a,b)	0,82	45,1	9,8	0,45	1,03	50,8	1,6	0,51	0,50	33,3	33,4	0,33
44	2,84	73,9	47,8	0,74	1,88	65,3	30,6	0,65	6,47	86,6	73,2	0,87
50	1,63	61,9	23,8	0,62	1,24	55,4	10,8	0,55	1,33	57,2	14,4	0,57
56	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
62	11,1	91,7	83,4	0,92	8,12	89,1	78,2	0,89	9,49	90,5	81,0	0,91

$ER^1 = S / R$ (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; $ER < 1$, wenn $S < R$; $ER > 1$, wenn $S > R$ und $ER = 1$ beim racemischen Gemisch);

$EF^2 = \text{Peakfläche des Enantiomers 1} / (\text{Peakfläche Enantiomer 1} + \text{Peakfläche Enantiomer 2}) \times 100$;

% ee³ = % S - % R;

EF^4 (Zusammenhang zwischen ER und EF) = $1 / (1 + 1/ER)$, EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemische Gemisch, EF > (0,5) oder < 0,5 → enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

Tab. 28 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse ($ER_{1/2}$), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphen-komponenten (CTTs) in Hühnchenhaut während der Anfütterungsphase mit 1,0 ppm technischem Toxaphen

Toxaphen- komponente Parlar #	18 Wochen				28 Wochen				38 Wochen			
	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$
11	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
12	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
15	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
25	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
26	0,66	39,6	20,8	0,40	0,59	37,4	25,2	0,37	0,71	41,6	16,8	0,42
31	17,0	94,5	89,0	0,95	24,8	96,1	92,2	0,96	19,97	95,2	90,4	0,95
32	14,9	93,7	87,4	0,94	0,81	44,6	20,8	0,45	∞	100	100	1,0
40	1,56	60,9	21,8	0,61	1,83	64,6	29,2	0,65	0,80	44,4	11,2	0,44
41	6,54	86,7	73,4	0,87	7,1	87,7	75,4	0,88	1,48	59,7	19,0	0,60
42(a,b)	0,16	14,1	71,8	0,14	0,19	15,7	68,6	0,16	0,57	36,5	27,0	0,37
44	43,1	97,7	95,4	0,98	19,63	95,2	90,4	0,95	6,14	85,9	71,8	0,86
50	2,02	66,9	33,8	0,67	1,59	61,5	32,0	0,62	1,44	59,0	18,0	0,59
56	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
62	38,1	97,5	95,0	0,98	36,5	97,3	94,6	0,97	9,85	90,8	81,6	0,91

$ER^1 = S / R$ (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; $ER < 1$, wenn $S < R$; $ER > 1$, wenn $S > R$ und $ER = 1$ beim racemischen Gemisch);

$EF^2 = \text{Peakfläche des Enantiomers 1} / (\text{Peakfläche Enantiomer 1} + \text{Peakfläche Enantiomer 2}) \times 100$;

% ee³ = % S - % R;

EF^4 (Zusammenhang zwischen ER und EF) = $1 / (1 + 1/ER)$, EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemische Gemisch, EF > (0,5) oder < 0,5

→ enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

Tab. 29 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse ($ER_{1/2}$), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphen-komponenten (CTTs) in Hühnchenblut während der Anfütterungsphase mit 1,0 ppm technischem Toxaphen

Toxaphen- komponente Parlar #	18 Wochen				28 Wochen				38 Wochen			
	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$
11	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
12	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
15	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
25	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
26	0,96	49,1	1,80	0,49	0,92	48,0	4,0	0,48	0,91	47,5	5,0	0,48
31	6,18	86,1	72,2	0,86	4,58	82,1	64,2	0,82	7,25	87,9	75,8	0,88
32	0,80	44,4	11,2	0,44	1,2	54,6	9,2	0,55	∞	100	100	1,0
40	2,47	71,2	42,4	0,71	1,95	66,1	32,2	0,66	2,55	71,8	28,2	0,72
41	1,18	54,1	8,2	0,54	0,71	41,5	17,0	0,42	1,15	53,5	7,0	0,54
42(a,b)	0,82	45,1	9,8	0,45	1,04	51,0	2,0	0,51	0,72	41,7	16,6	0,72
44	5,69	85,1	70,2	0,85	7,9	88,7	77,4	0,89	9,67	90,6	81,2	0,91
50	1,10	52,2	4,4	0,52	1,24	55,3	10,6	0,55	1,72	63,3	26,6	0,63
62	8,62	89,6	79,2	0,90	7,12	87,7	75,4	0,88	3,24	76,4	52,8	0,76

$ER^1 = S / R$ (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; $ER < 1$, wenn $S < R$; $ER > 1$, wenn $S > R$ und $ER = 1$ beim racemischen Gemisch);

$EF^2 = \text{Peakfläche des Enantiomers 1} / (\text{Peakfläche des Enantiomer 1} + \text{Peakfläche Enantiomer 2}) \times 100$;

% ee³ = % S - % R;

EF^4 (Zusammenhang zwischen ER und EF) = $1 / (1 + 1/ER)$, EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemische Gemisch, EF >(0,5) oder < 0,5 → enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

Tab. 30 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse ($ER_{1/2}$), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphen-komponenten (CTTs) in Hühnchendetter während der Anfütterungsphase mit 1,0 ppm technischem Toxaphen

Toxaphen- komponente Parlar #	18 Wochen				28 Wochen				38 Wochen			
	$ER_{(1/2)}^1$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER_{(1/2)}^1$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER_{(1/2)}^1$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$
11	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
12	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
15	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
26	0,80	44,4	11,2	0,44	0,76	43,2	13,2	0,43	0,77	43,6	12,8	0,44
31	10,7	90,5	82,0	0,91	10,5	91,3	82,6	0,91	11,76	92,2	84,4	0,92
32	0,42	29,5	41,0	0,30	0,50	33,4	33,2	0,33	0,57	36,4	27,2	0,36
40	1,90	65,5	31,0	0,66	1,35	57,5	15,0	0,58	1,29	56,3	12,6	0,56
41	1,1	52,4	4,8	0,52	1,38	57,9	15,8	0,58	1,41	58,5	17,0	0,59
42(a,b)	0,55	35,4	29,2	0,35	0,54	34,9	30,6	0,35	0,59	37,1	25,8	0,37
44	4,82	82,8	65,6	0,83	5,64	84,9	69,8	0,85	5,17	83,8	67,8	0,84
50	1,36	57,5	15,0	0,58	1,47	59,5	19,0	0,60	1,26	55,8	11,6	0,56
56	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
62	10,73	91,5	83,0	0,92	12,8	92,8	85,6	0,93	13,33	93,0	86,0	0,93

$ER^1 = S / R$ (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; $ER < 1$, wenn $S < R$; $ER > 1$, wenn $S > R$ und $ER = 1$ beim racemischen Gemisch);

$EF^2 = \text{Peakfläche des Enantiomers 1} / (\text{Peakfläche Enantiomer 1} + \text{Peakfläche Enantiomer 2}) \times 100$;

% ee³ = % S - % R;

EF^4 (Zusammenhang zwischen ER und EF) = $1 / (1 + 1/ER)$, EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemische Gemisch, EF >(0,5) oder < 0,5 → enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

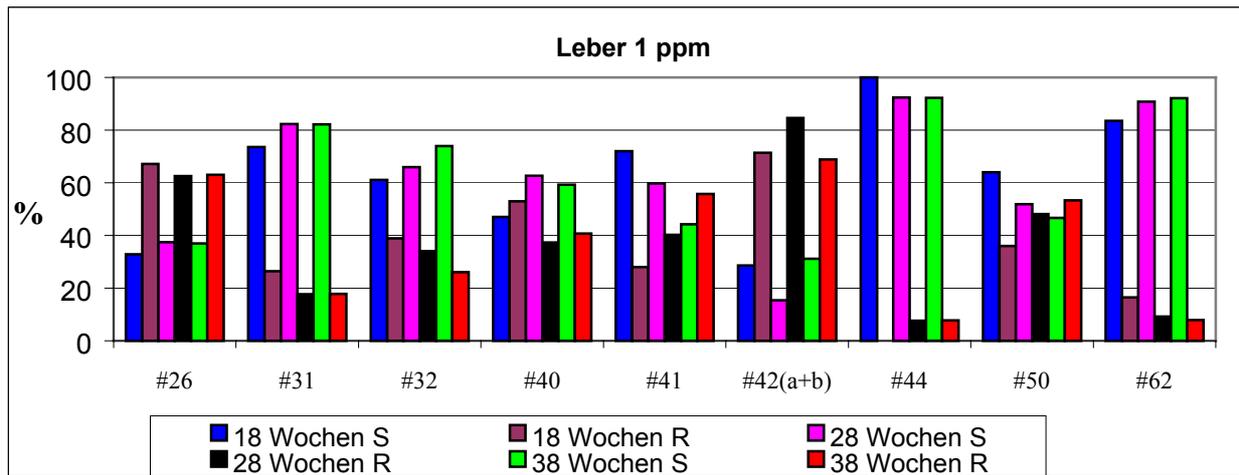


Abb. 56 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenerie in der Leber von Legehennen während der Anfütterungsphase (1,0 ppm techn. Toxaphen)

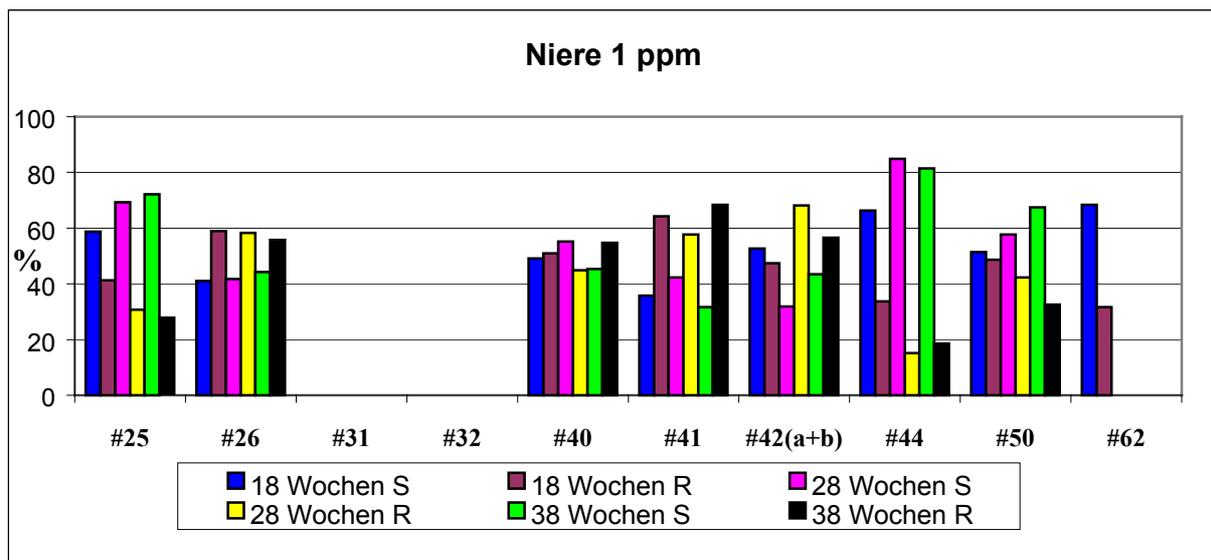


Abb. 57 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenerie in der Niere von Legehennen während der Anfütterungsphase (1 ppm techn. Toxaphen)

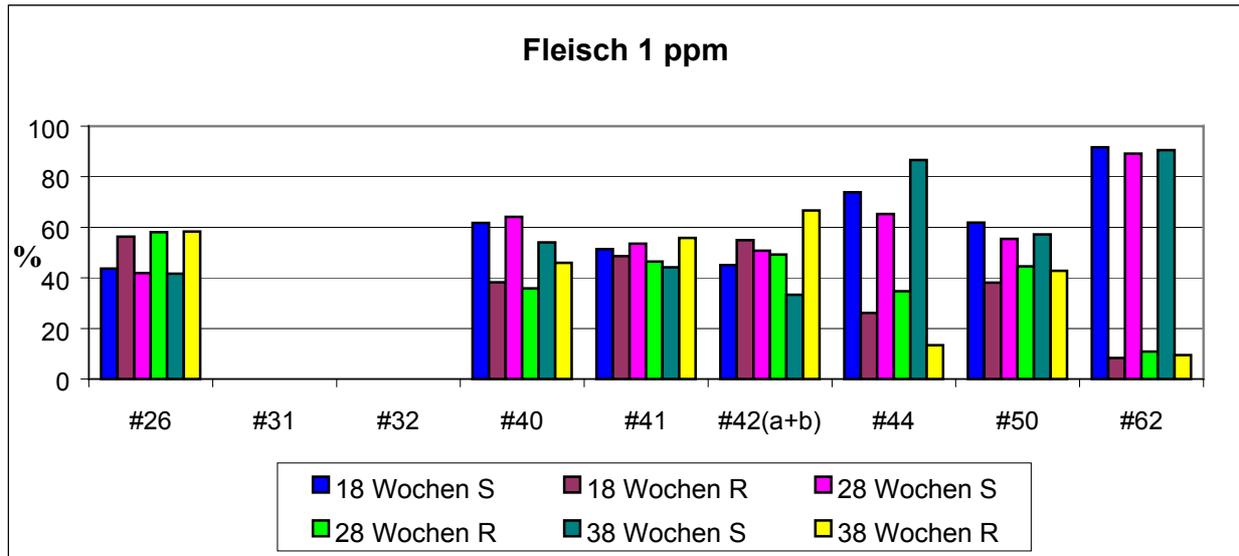


Abb. 58 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenere im Fleisch von Legehennen während der Anfütterungsphase (1 ppm techn. Toxaphen)

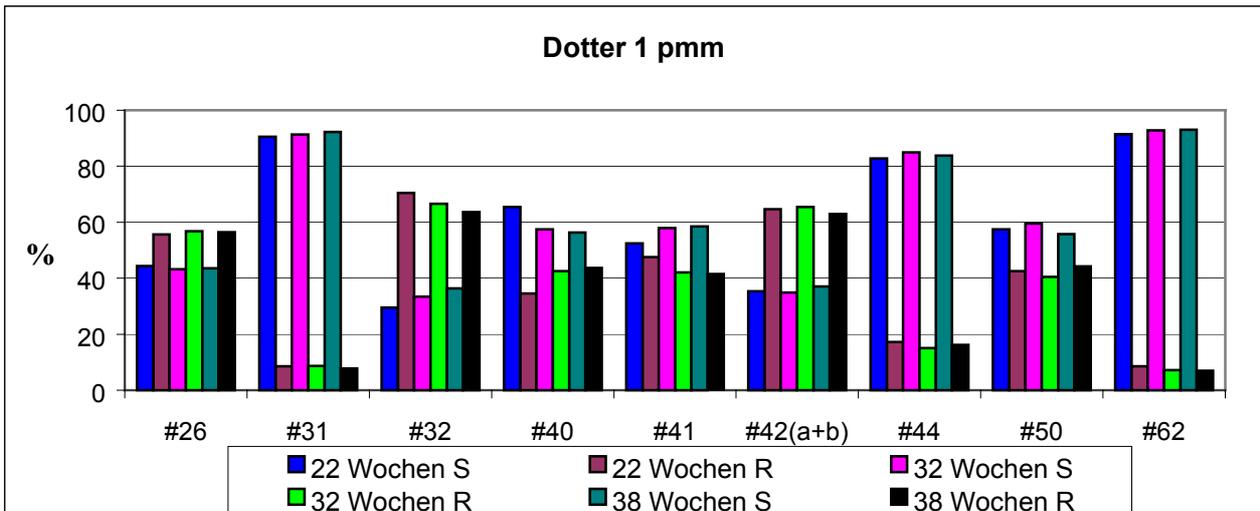


Abb. 59 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenere im Eidotter von Legehennen während der Anfütterungsphase (1 ppm techn. Toxaphen)

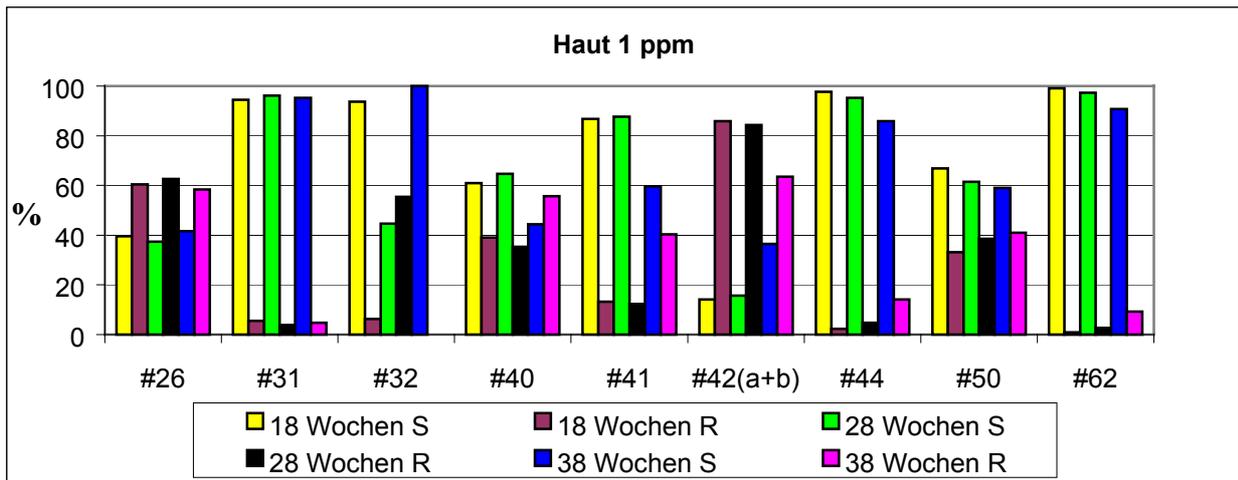


Abb. 60 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenere in der Haut von Legehennen während der Anfütterungsphase (1 ppm techn. Toxaphen)

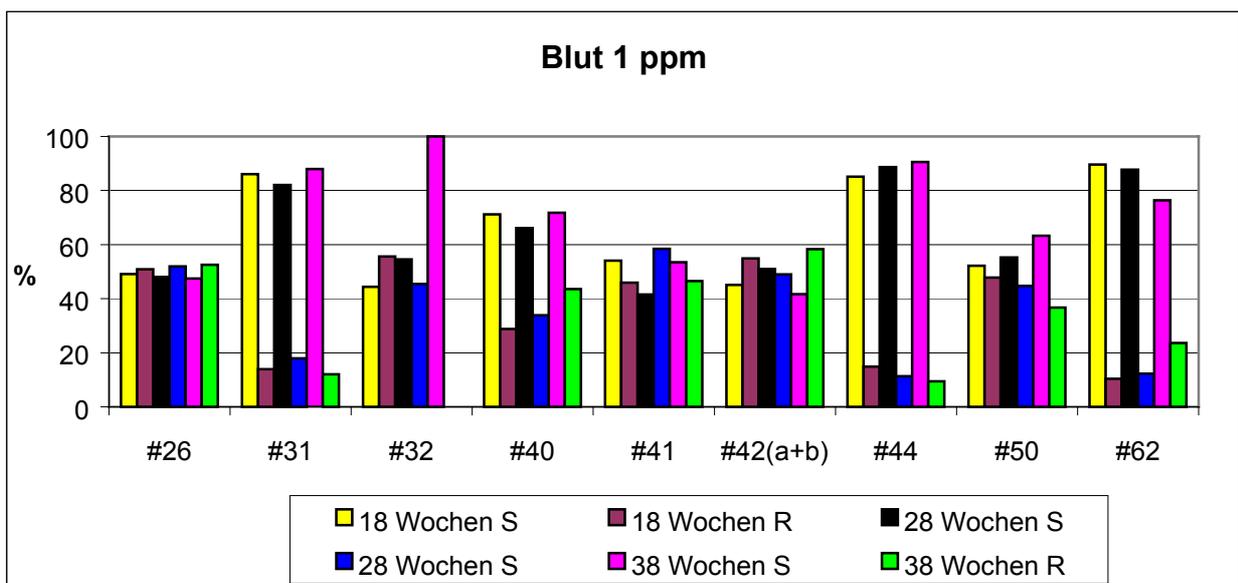


Abb. 61 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenere im Blut von Legehennen während der Anfütterungsphase (1 ppm techn. Toxaphen)

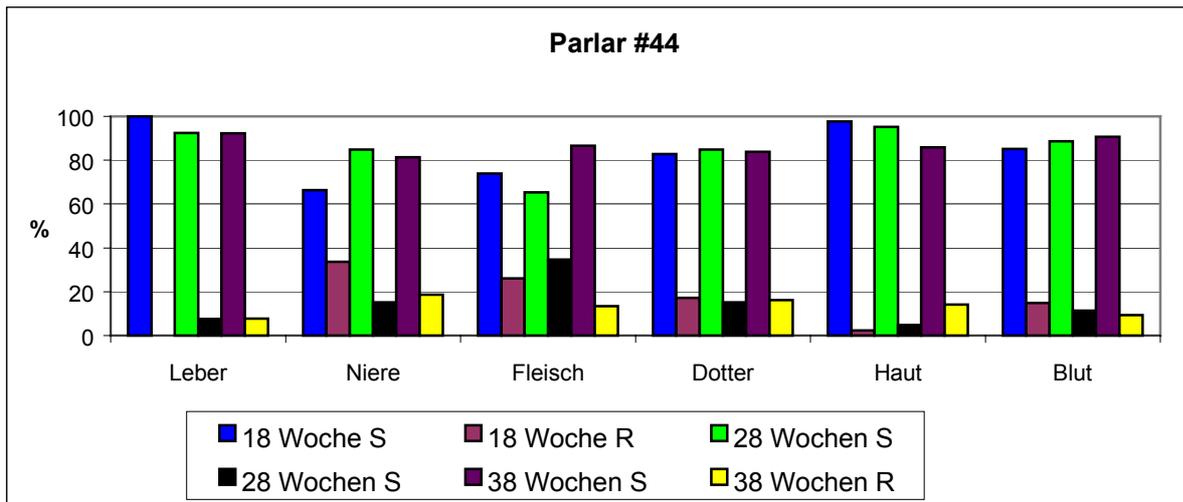


Abb. 62 Enantiomerenverhältnisse des Kongeners Parlar #44 in verschiedenen Proben von Legehennen während der Anfütterungsphase (1 ppm techn. Toxaphen)

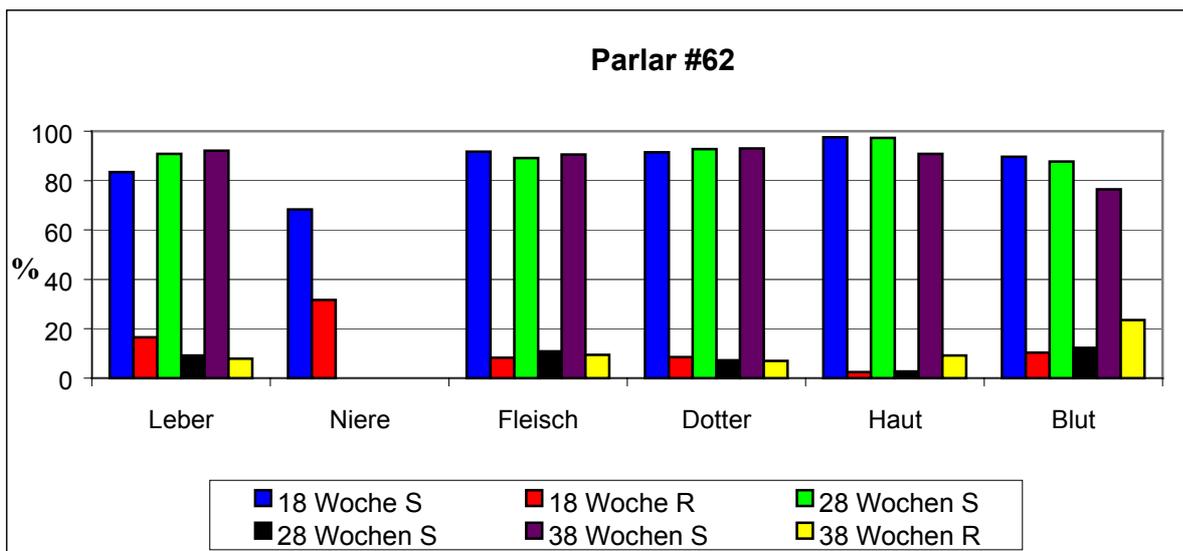


Abb. 63 Enantiomerenverhältnisse des Kongeners Parlar # 62 in verschiedenen Proben von Legehennen während der Anfütterungsphase (1 ppm techn. Toxaphen)

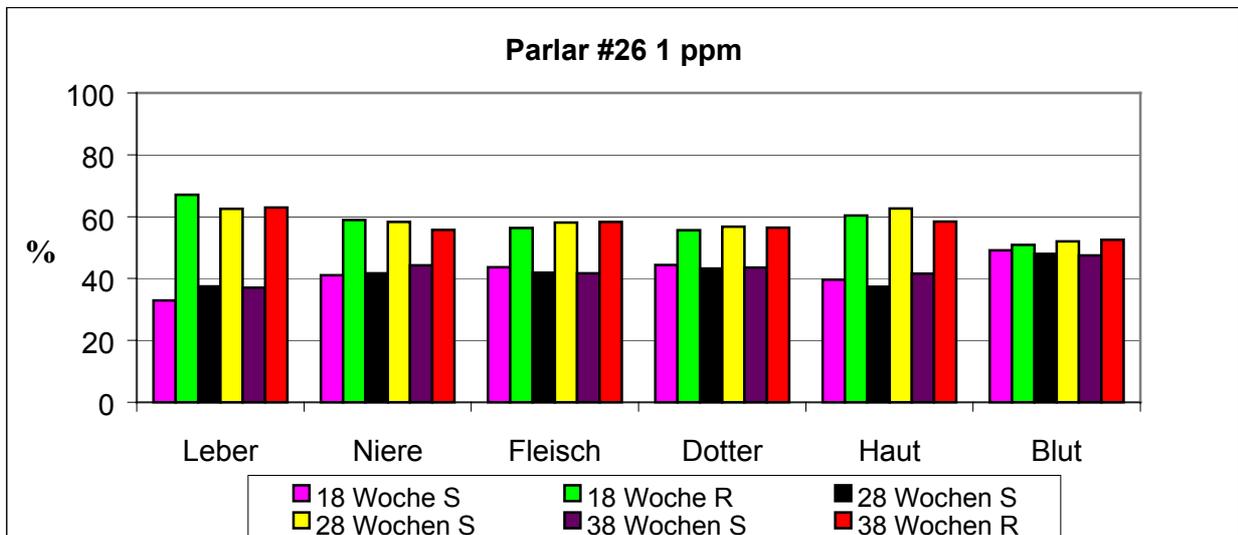


Abb. 64 Enantiomerenverhältnisse des Kongeners Parlar #62 in verschiedenen Proben von Legehennen während der Anfütterungsphase (1 ppm techn. Toxaphen)

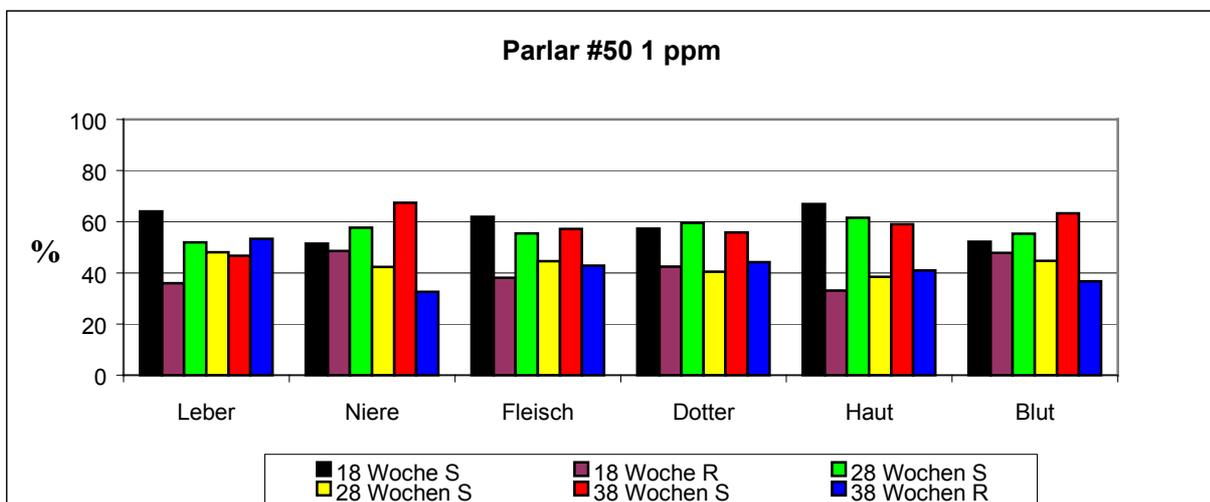


Abb. 65 Enantiomerenverhältnisse des Kongeners Parlar #50 in verschiedenen Proben von Legehennen während der Anfütterungsphase (1 ppm techn. Toxaphen)

4.4.3 Fütterungsversuche während 18, 28, und 38 Wochen mit 5 ppm technischem Toxaphen

Die Abb. 67-77 zeigen Ausschnitte aus den GC/ECD-Chromatogrammen der Extrakte von verschiedenen Gewebeproben der Versuchshühner. Zur Enantiomerentrennung von Toxaphenkongeneren wurde auch hier die bewährte β -BSCD-Säule eingesetzt. Fast in allen Probenextrakten ist das ersteluiierende Enantiomer deutlich angereichert gegenüber dem zweiten, d.h. die Metabolisation des zweiteluiierten Enantiomers ist stärker als die des ersten.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die Enantiomerenverhältnisse von #31, #32, # 44 und #62 in allen analysierten Proben, mit Ausnahme von #32 im Eidotter während der gesamten Fütterungsperiode stark von der racemischen Zusammensetzung abwichen (s. Tab. 31-36 und Abb. (78-87). Es hat sich auch herausgestellt, dass Parlar #31 und #32 in Nieren- und Fleischproben nicht nachgewiesen werden können. Im Gegensatz dazu variierten für Parlar # 26 die Werte von $ER_{1/2}$ zwischen 0,74-0,99 (EFs 42,6-49,8) in allem Proben, das bedeutet, dass sich die als sehr persistent geltenden Kongenere von Parlar #26 in Legehühnern anreichern.

Anhand der Abb. 77-86 wird deutlich, dass auch für #44 und #62 in allen Proben starke Abweichungen vom $ER_{1/2}$ des Racemates auftraten (EFs bei #44 81,9-91,5%; bei Parlar #62 80,09-97,4%) während der gesamten Fütterungsdauer.

In Abb. 66 wird deutlich, wenn man die Strukturen von #44 und #62 miteinander vergleicht, dass sie sich lediglich im Chloratom an Position 2 unterscheiden. Die Wahrscheinlichkeit, dass #62 zu #44 dechloriert wird, ist groß, da die Enantiomerenverhältnisse beider Komponenten fast nie racemisch sind. Dies wäre ein Beweis, dass ein unsubstituiertes Ring-C-Atom eine Dechlorierung des Nachbar-C-Atoms begünstigen kann.

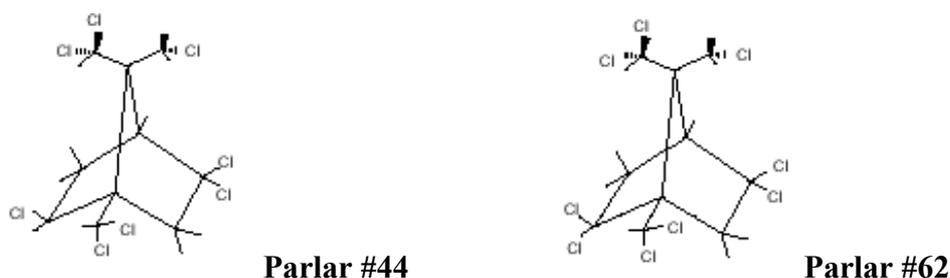


Abb. 66 Strukturen der Toxaphenkomponenten #44 und #62

Weiterhin war zu beobachten, dass eine Metabolisierung der Toxaphenkongener #26 und #50 in Fleisch-, Dotter-, Nieren- und Hautproben während der 18, 28 und 38 Wochen dauernden Fütterungsperioden kaum stattfindet. Dagegen wurde Parlar #50 in den Lebermikrosomen der Legehennen metabolisiert.

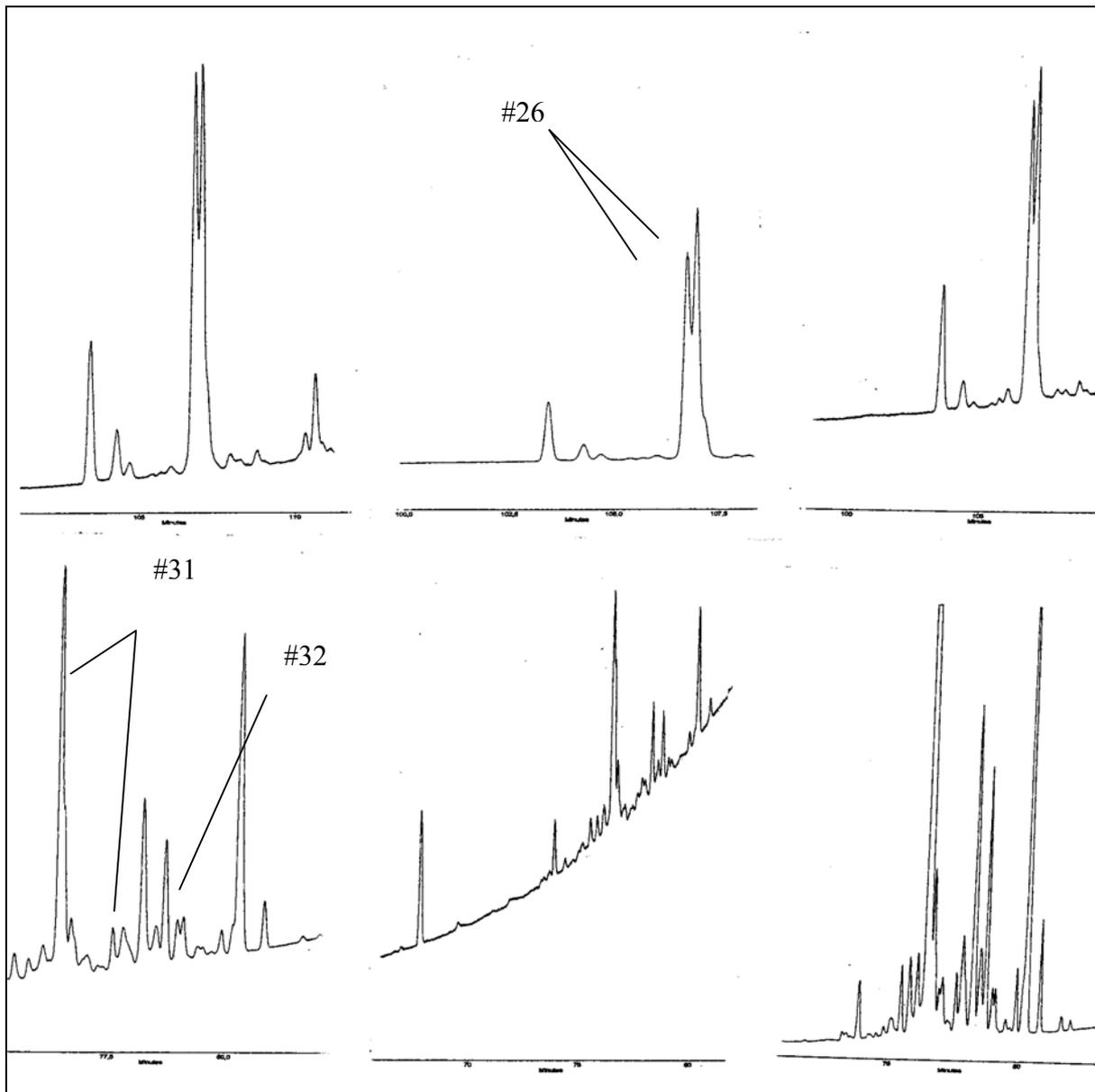


Abb. 67 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomertrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlars #26 und #31+32 in Hautproben von Legehennen während der Fütterungsphase (5,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Hautprobe nach 18 Versuchswochen
Mittleres Chromatogramm	Hautprobe nach 28 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Hautprobe nach 38 Versuchswochen

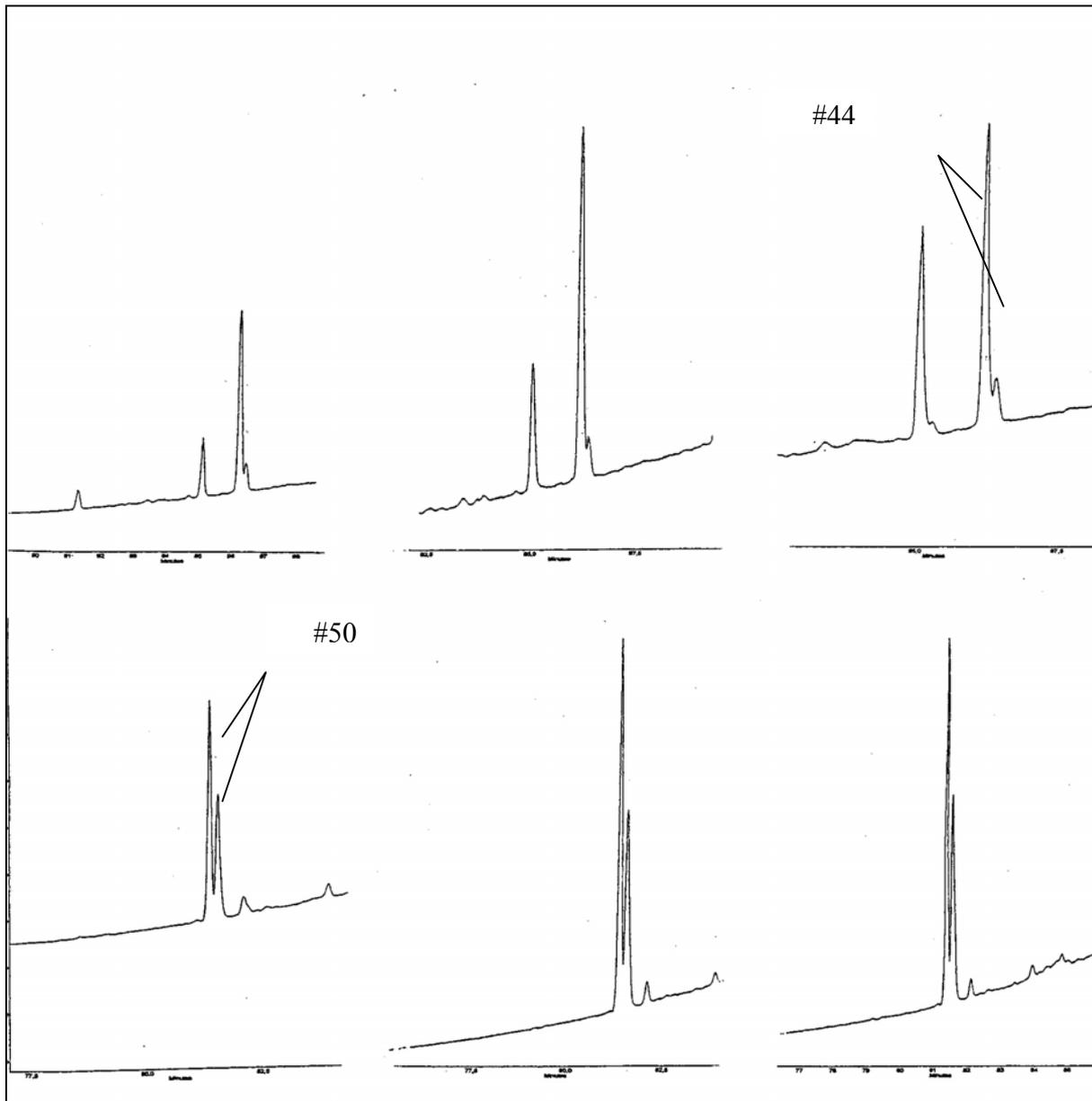


Abb. 68 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #44 und #50 in Hautproben von Legehennen während der Fütterungsphase (5,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Hautprobe nach 18 Versuchswochen
Mittleres Chromatogramm	Hautprobe nach 28 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Hautprobe nach 38 Versuchswochen

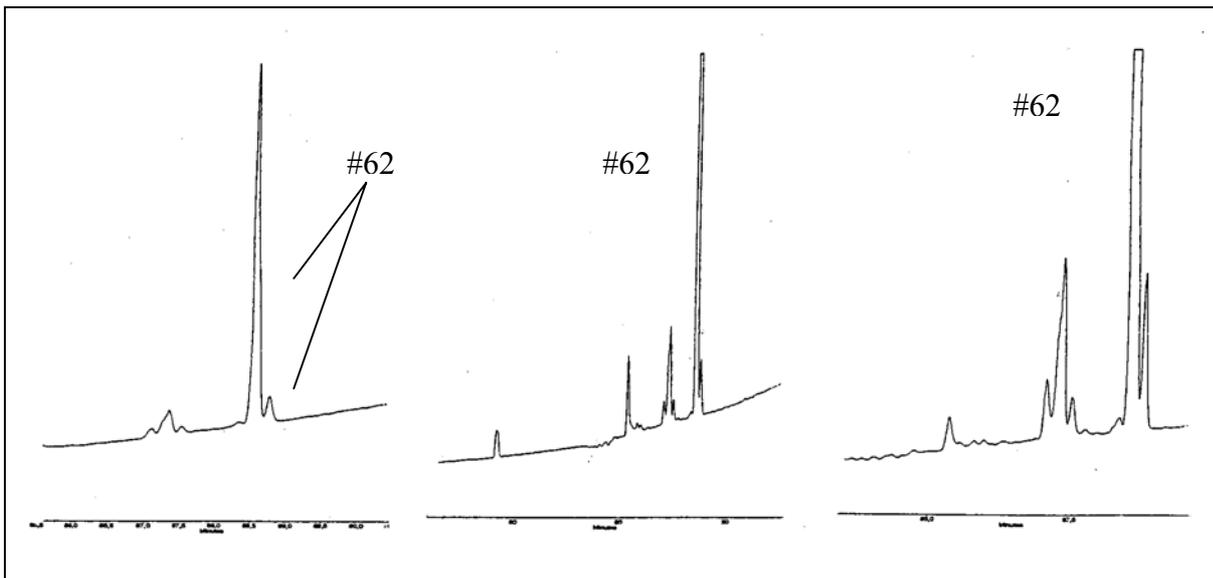


Abb. 69 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #62 in Hautproben von Legehennen während der Fütterungsphase (5,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Hautprobe nach 18 Versuchswochen
Mittleres Chromatogramm	Hautprobe nach 28 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Hautprobe nach 38 Versuchswochen

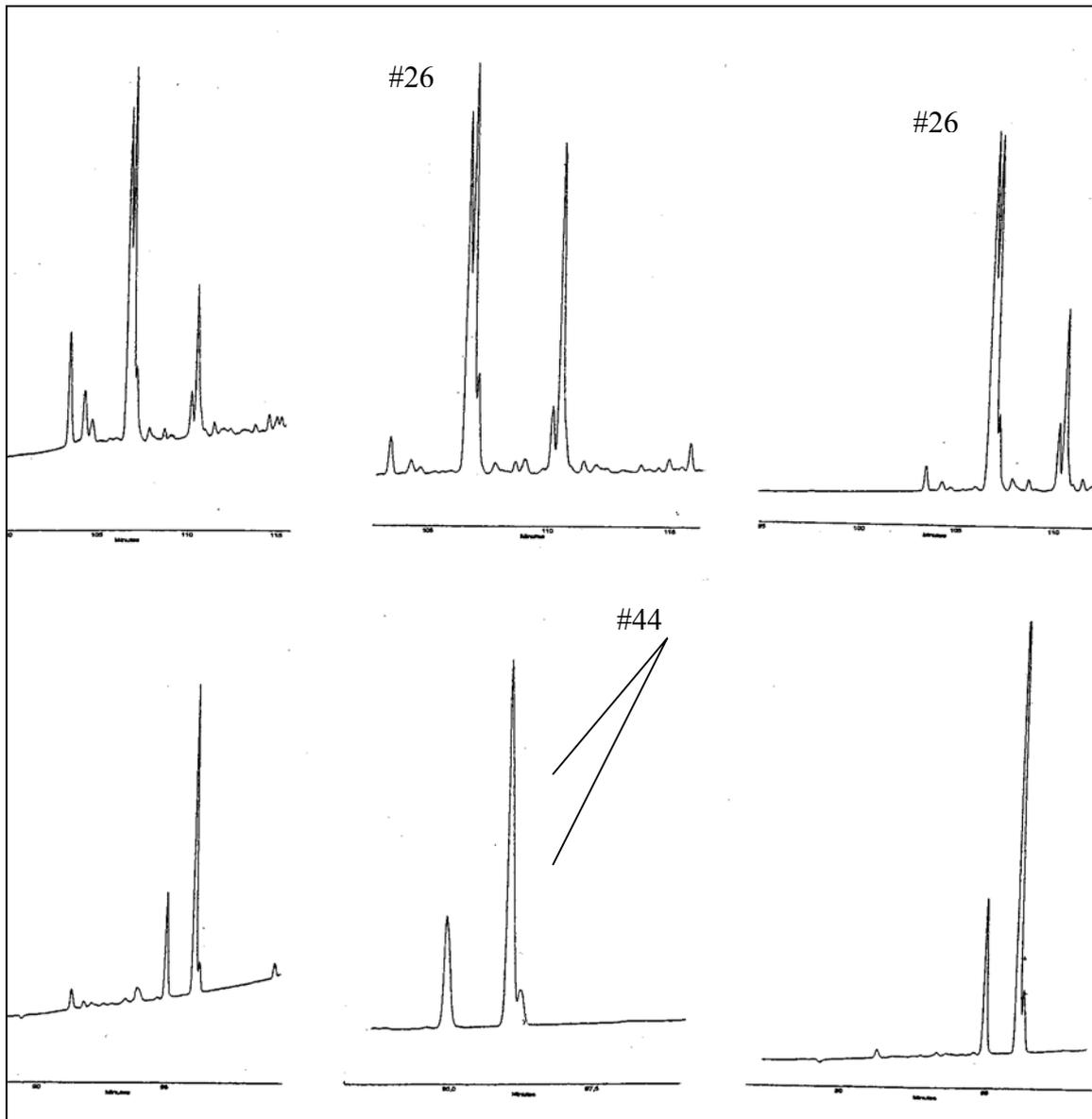


Abb. 70 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomertrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #26 und #44 im Blut von Legehennen während der Fütterungsphase (5,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Blutprobe nach 18 Versuchswochen
Mittleres Chromatogramm	Blutprobe nach 2. Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Blutprobe nach 38 Versuchswochen

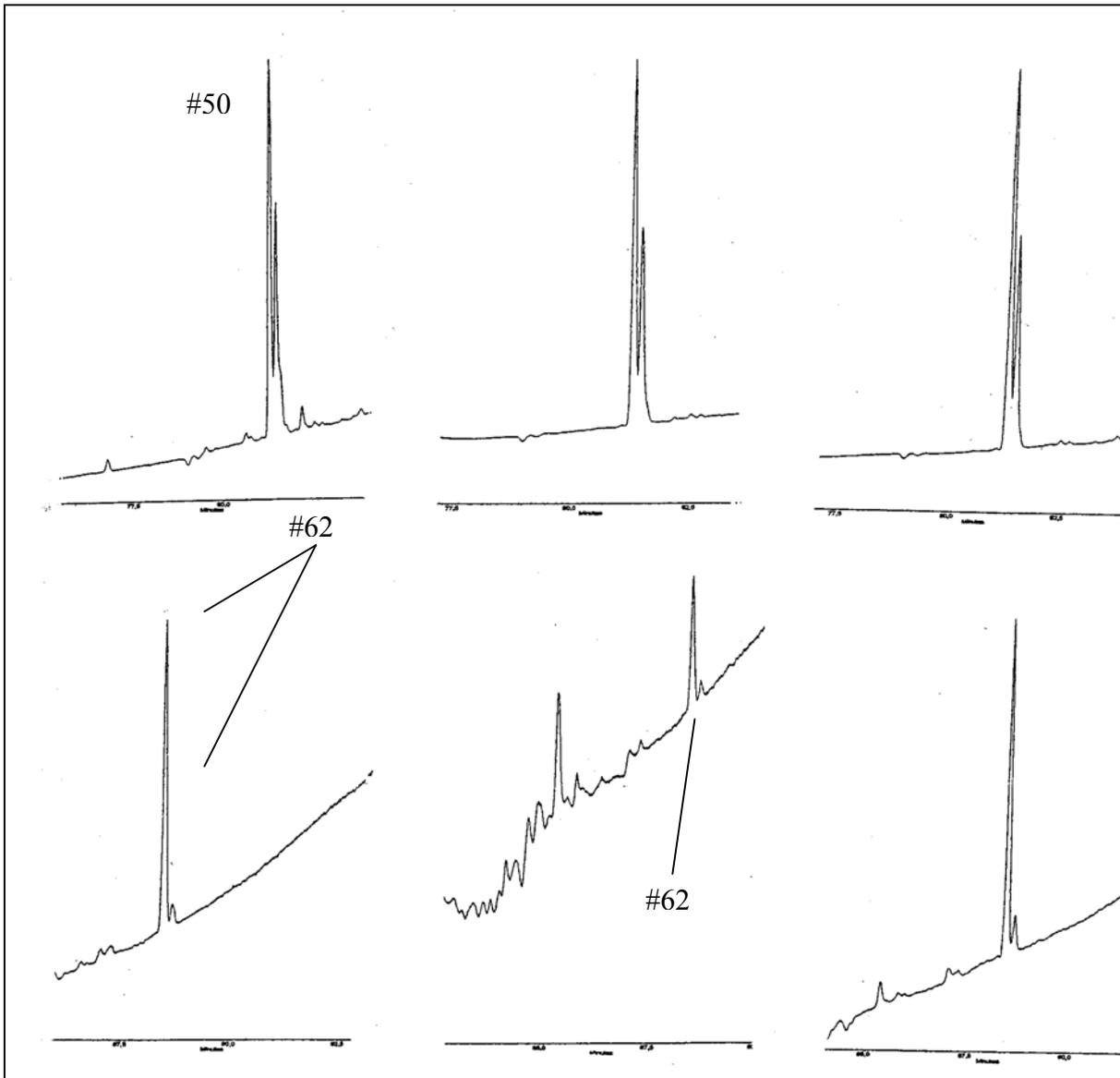


Abb. 71 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #50 und #62 im Blut von Legehennen während der Fütterungsphase (5,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Blutprobe nach 18 Versuchswochen
Mittleres Chromatogramm	Blutprobe nach 28 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Blutprobe nach 38 Versuchswochen

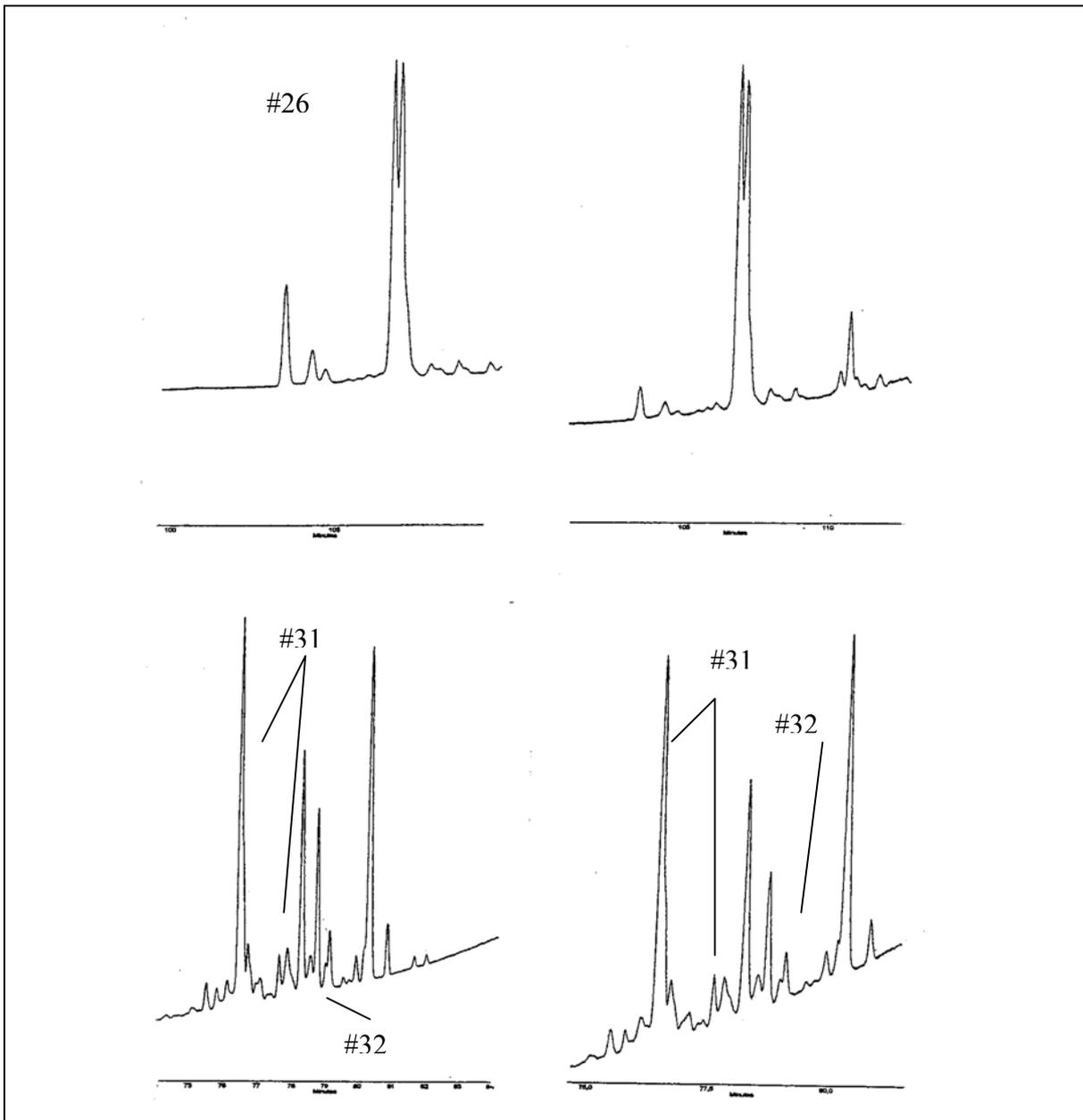


Abb. 72 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #26 und #31+32 im Eidotter von Legehennen während der Fütterungsphase (5,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Eidotterprobe nach 22 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Eidotterprobe nach 30 Versuchswochen

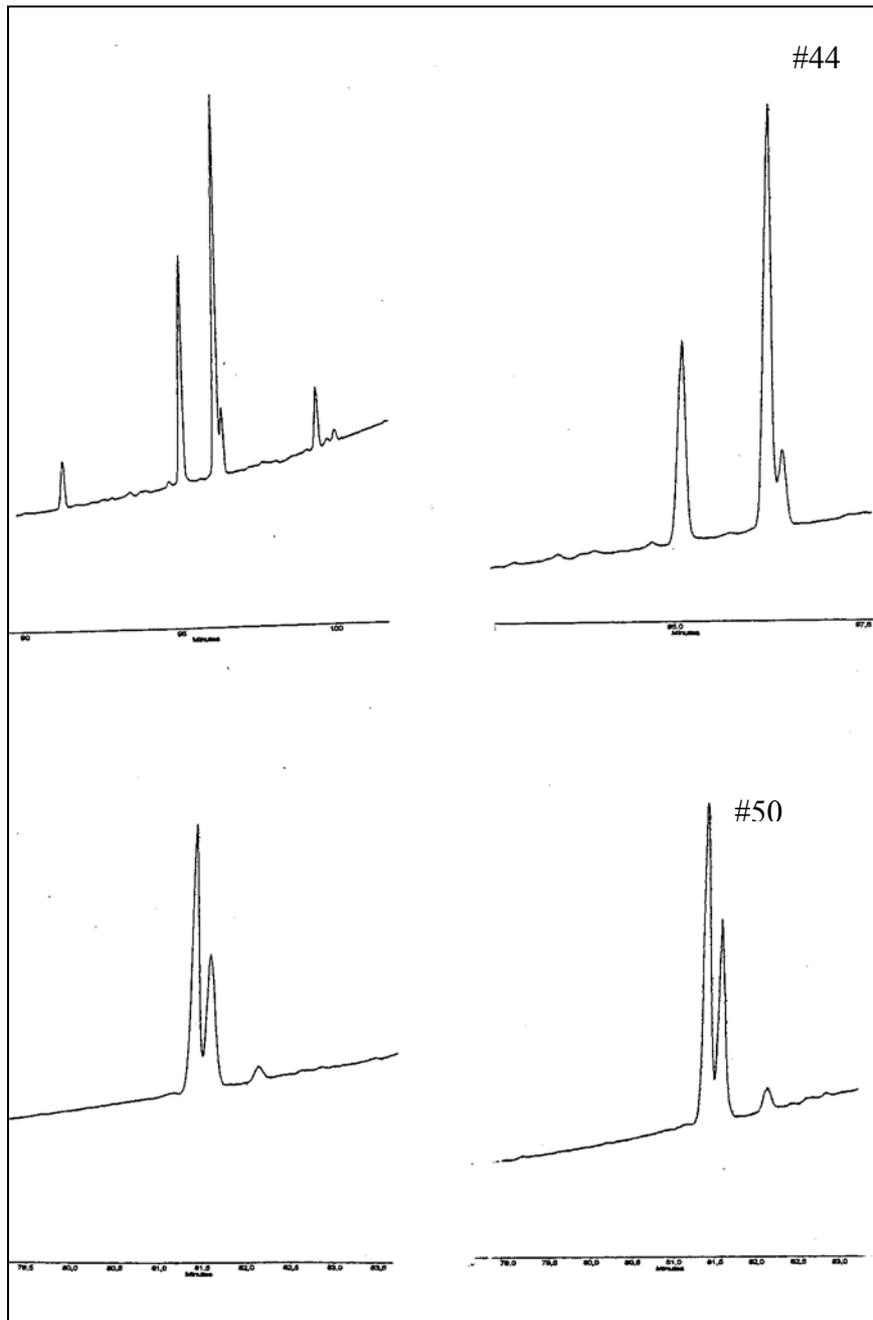


Abb. 73 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #44 und #50 im Eidotter von Legehennen während der Fütterungsphase (5,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Eidotterprobe nach 22 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Eidotterprobe nach 30 Versuchswochen

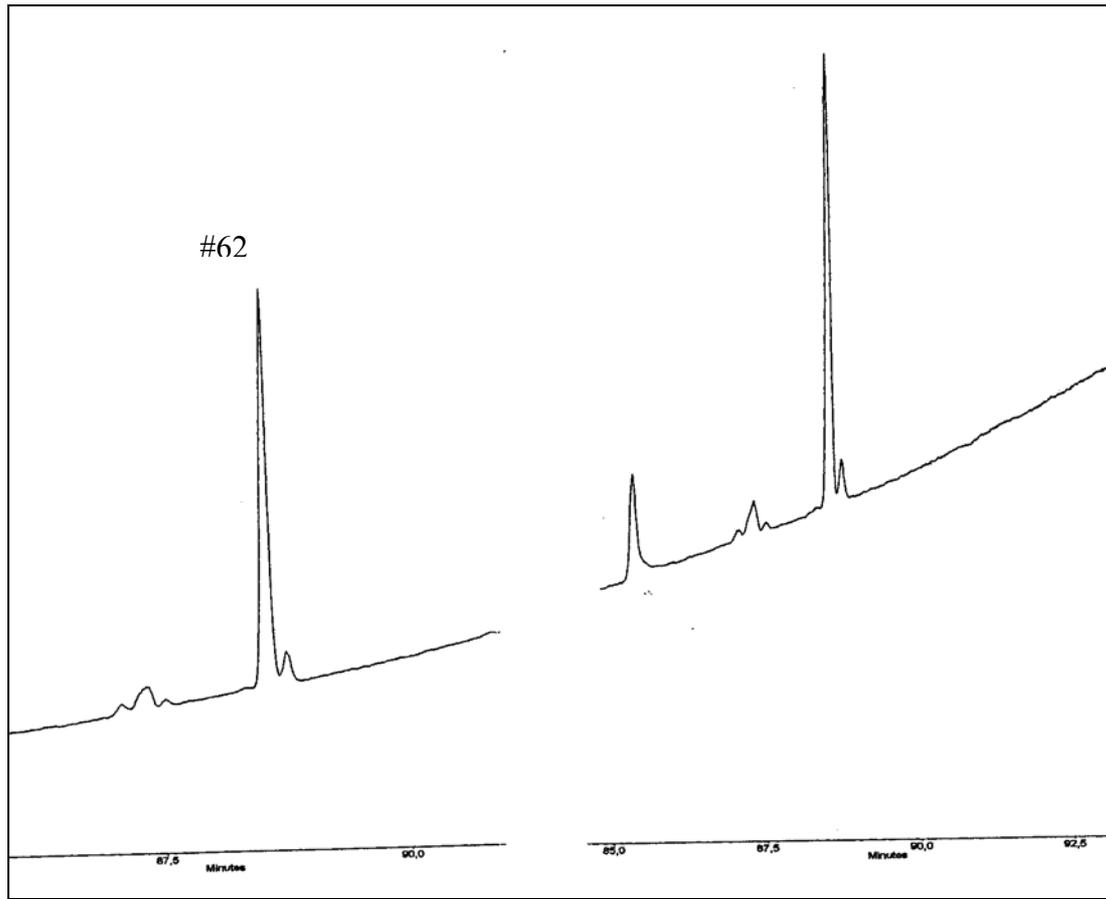


Abb. 74 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #62 im Eidotter von Legehennen während der Fütterungsphase (5,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Eidotterprobe nach 22 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Eidotterprobe nach 30 Versuchswochen

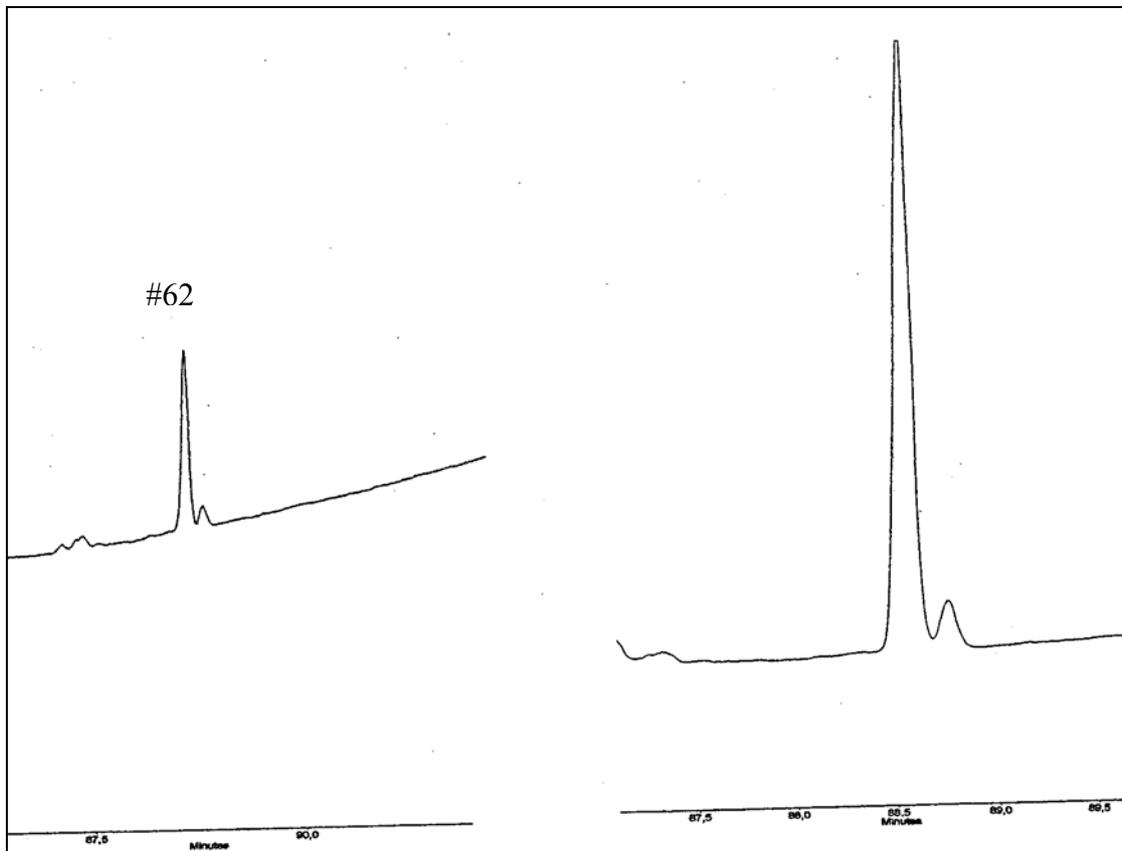


Abb. 75 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #62 in den Nieren von Legehennen während der Fütterungsphase (5,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Nierenprobe nach 28 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Nierenprobe nach 38 Versuchswochen

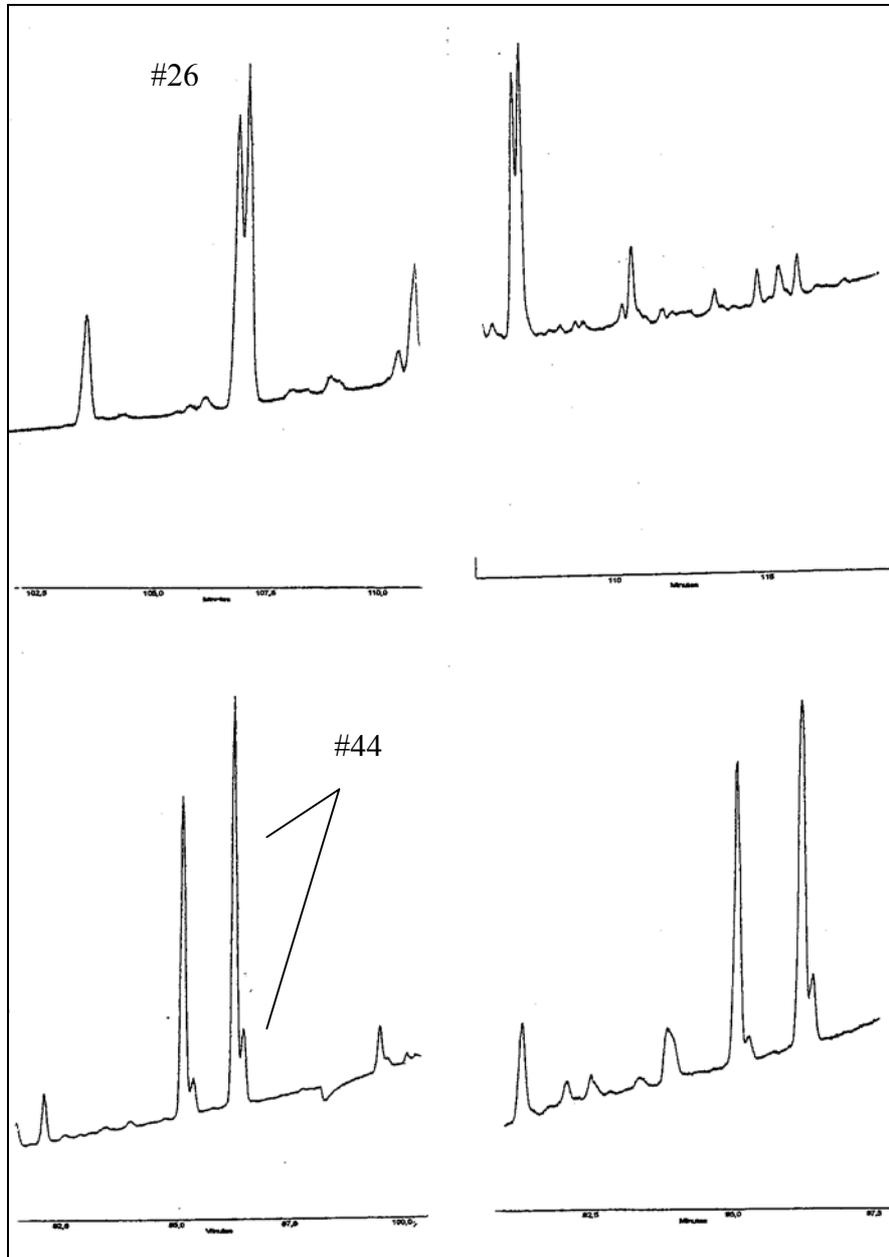


Abb. 76 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #26 und #44 im Fleisch von Legehennen während der Fütterungsphase (5,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Fleischprobe nach 18 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Fleischprobe nach 28 Versuchswochen

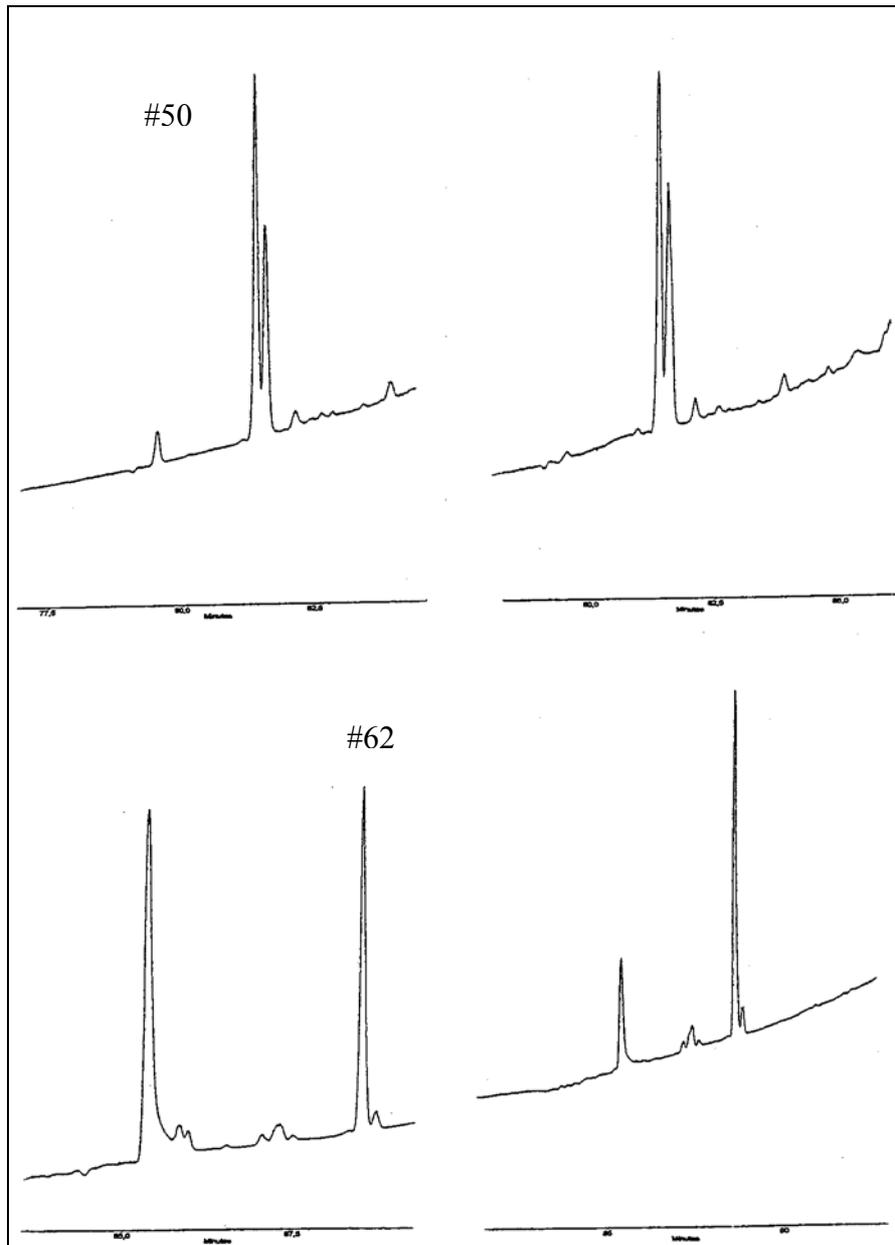


Abb. 77 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #50 und #62 im Fleisch von Legehennen während der Fütterungsphase (5,0 ppm techn. Toxaphen)

Rechtes Chromatogramm	Fleischprobe nach 18 Versuchswochen
Linkes Chromatogramm	Fleischprobe nach 28 Versuchswochen

Tab. 31 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse ($ER_{1/2}$), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphen-komponenten (CTTs) in Hühnchenleber während der Anfütterungsphase mit 5,0 ppm technischem Toxaphen

Toxaphen- komponente Parlar #	18 Wochen				28 Wochen				38 Wochen			
	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$
11	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
12	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
15	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
26	0,93	48,1	3,8	0,48	0,87	46,6	6,8	0,47	0,87	46,6	6,8	0,47
31	4,9	82,9	65,8	0,83	6,3	86,6	72,6	0,87	6,46	86,6	73,2	0,87
32	3,6	76,4	52,8	0,76	2,7	73	46	0,73	2,33	69,96	39,92	0,70
40	1,43	58,8	17,6	0,59	1,37	57,8	15,6	0,58	1,62	61,79	23,58	0,62
41	0,95	48,7	2,6	0,49	1,04	51,1	2,2	0,51	1,04	50,9	1,8	0,51
42(a,b)	0,38	27,5	45,0	0,28	0,89	49,6	0,8	0,50	0,73	42,3	15,4	0,42
44	7,1	87,6	75,2	0,88	10,7	91,5	83	0,92	10,3	91,2	82,4	0,91
50	2,13	68,0	36,0	0,68	1,3	56,6	13,2	0,57	1,34	57,3	14,6	0,57
56	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
62	37,1	97,4	94,8	0,97	13,1	92,9	85,8	0,93	12,98	92,8	85,6	0,93

$ER^1 = S / R$ (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; $ER < 1$, wenn $S < R$; $ER > 1$, wenn $S > R$ und $ER = 1$ beim racemischen Gemisch);

$EF^2 = \text{Peakfläche des Enantiomers 1} / (\text{Peakfläche Enantiomer 1} + \text{Peakfläche Enantiomer 2}) \times 100$;

% ee³ = % S - % R;

EF^4 (Zusammenhang zwischen ER und EF) = $1 / (1 + 1/ER)$, EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemische Gemisch, EF > (0,5) oder < 0,5 → enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

Tab. 32 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse ($ER_{1/2}$), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphen-komponenten (CTTs) in Hühncheniere während der Anfütterungsphase mit 5,0 ppm technischem Toxaphen

Toxaphen- komponente Parlar #	18 Wochen				28 Wochen				38 Wochen			
	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$
11	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
12	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
15	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
21	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
26	0,89	47,2	5,6	0,47	0,86	46,3	7,4	0,46	0,99	49,8	0,4	0,498
31	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
32	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
40	1,39	58,3	16,6	0,58	1,52	60,2	20,4	0,60	0,97	49,2	1,6	0,49
41	0,72	42,1	15,8	0,42	0,88	46,7	6,6	0,47	0,299	23,1	53,8	0,23
42(a,b)	0,69	40,9	18,2	0,41	0,67	40,3	19,4	0,40	1,22	54,9	9,8	0,55
44	7,64	88,4	76,8	0,88	9,16	90,2	80,4	0,90	6,49	86,6	73,2	0,87
50	1,93	65,9	31,8	0,66	2,6	72,3	44,6	0,72	1,06	51,4	2,8	0,52
62	10,9	91,6	83,2	0,92	12,5	92,6	85,2	0,93	9,85	90,8	81,6	0,91

$ER^1 = S / R$ (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomes; $ER < 1$, wenn $S < R$; $ER > 1$, wenn $S > R$ und $ER = 1$ beim racemischen Gemisch);

$EF^2 = \text{Peakfläche des Enantiomers 1} / (\text{Peakfläche Enantiomer 1} + \text{Peakfläche Enantiomer 2}) \times 100$;

% ee³ = % S - % R;

EF^4 (Zusammenhang zwischen ER und EF) = $1 / (1 + 1/ER)$, EF Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemischen Gemisch, EF >(0,5) oder < 0,5
→ enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

Tab. 33 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse ($ER_{1/2}$), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphen-komponenten (CTTs) in Hühnchenfleisch während der Anfütterungsphase mit 5,0 ppm technischem Toxaphen

Toxaphen- komponente Parlar #	18 Wochen				28 Wochen				38 Wochen			
	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$
11	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
12	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
15	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
25	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
26	0,76	43,1	13,8	0,43	0,91	47,5	5,0	0,48	0,84	45,6	8,8	0,46
31	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
32	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
40	1,52	60,3	20,6	0,60	1,74	63,5	27,0	0,64	2,19	68,6	37,2	0,69
41	1,11	52,7	5,4	0,53	0,90	47,5	5,0	0,48	1,22	54,98	9,96	0,55
42(a,b)	0,86	46,2	76,0	0,46	1,55	60,8	21,6	0,61	1,26	55,8	11,6	0,56
44	5,68	85,0	70,0	0,85	4,64	82,3	65,0	0,82	4,74	82,6	65,2	0,83
50	1,26	55,7	11,3	0,56	1,65	62,2	24,4	0,62	1,6	61,4	22,8	0,61
56	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
62	10,7	91,4	82,8	0,92	12,1	92,4	84,8	0,92	16,7	94,3	88,6	0,94

$ER^1 = S / R$ (S = Peakfläche des zu erst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; $ER < 1$, wenn $S < R$; $ER > 1$, wenn $S > R$ und $ER = 1$ beim racemischen Gemisch);

$EF^2 = \text{Peakfläche des Enantiomers 1} / (\text{Peakfläche Enantiomer 1} + \text{Peakfläche Enantiomer 2}) \times 100$;

% ee³ = % S - % R;

EF^4 (Zusammenhang zwischen ER und EF) = $1 / (1 + 1/ER)$, EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemische Gemisch, EF > (0,5) oder < 0,5 → enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

Tab. 34 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse (ER_{1/2}), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphen-komponenten (CTTs) in Hühncheneidotter während der Anfütterungsphase mit 5,0 ppm technischem Toxaphen

Toxaphen- komponente Parlar #	22 Wochen				30 Wochen				38 Wochen			
	ER ¹ _(1/2)	EF ²	% ee ³	ER&EF ⁴	ER ¹ _(1/2)	EF ²	% ee ³	ER&EF ⁴	ER ¹ _(1/2)	EF ²	% ee ³	ER&EF ⁴
11	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
12	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
15	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
26	0,83	45,5	9,0	0,46	0,85	45,8	8,4	0,46	0,90	47,5	5,0	0,53
31	11,27	91,9	83,8	0,92	11,96	92,3	84,6	0,92	7,22	88,5	77,0	0,89
32	0,51	33,9	32,2	0,34	0,53	34,4	31,2	0,35	0,89	47,2	5,6	0,47
40	1,31	56,6	13,2	0,57	1,53	60,4	20,7	0,61	1,22	54,98	9,96	0,55
41	1,33	57,1	14,2	0,57	1,33	57,1	14,2	0,57	0,96	49,01	1,84	0,49
42(a,b)	0,73	42,3	15,4	0,42	0,83	45,5	9,1	0,46	1,299	56,5	13,01	0,57
44	5,56	84,8	69,2	0,85	5,62	84,9	69,8	0,85	4,4	81,9	62,98	0,81
50	1,42	63,0	26,0	0,63	1,59	61,5	23,0	0,62	1,36	57,6	15,0	0,58
56	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
62	10,35	91,2	82,4	0,91	11,4	91,9	83,8	0,92	9,0	90,0	80,0	0,90

ER¹ = S / R (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; ER < 1, wenn S < R; ER > 1, wenn S > R und ER = 1 beim racemischen Gemisch);

EF² = Peakfläche des Enantiomers 1 / (Peakfläche Enantiomer 1 + Peakfläche Enantiomer 2) x 100;

% ee³ = % S - % R;

EF⁴ Zusammenhang zwischen ER und EF) = 1 / (1 + 1/ER), EF (Bereich von 0 zu 1), EF = 0,5 für das racemischen Gemisch, EF > (0,5) oder < 0,5 → enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

Tab. 35 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse ($ER_{1/2}$), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphenkomponenten (CTTs) in Hühnchenhaut während der Anfütterungsphase mit 5,0 ppm technischem Toxaphen

Toxaphenkomponente Parlar #	18 Wochen				28 Wochen				38 Wochen			
	$ER_{(1/2)}^1$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER_{(1/2)}^1$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER_{(1/2)}^1$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$
11	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
12	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
15	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
25	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
26	0,78	43,7	12,6	0,44	0,74	42,6	14,8	0,43	0,79	44,1	11,8	0,44
31	14,4	93,5	87,0	0,94	17,99	94,7	89,2	0,95	13,92	93,3	86,6	0,93
32	2,39	70,5	41,0	0,71	1,34	57,2	14,4	0,57	1,003	50,1	0,2	0,50
40	2,26	69,3	38,6	0,69	1,85	64,9	29,8	0,65	1,26	55,7	11,4	0,56
41	2,15	64,4	28,8	0,64	1,51	60,1	20,2	0,60	1,29	56,3	12,6	0,56
42(a,b)	0,91	47,7	4,8	0,48	0,53	34,8	30,4	0,34	0,52	34,1	31,8	0,34
44	6,6	86,8	73,3	0,87	9,1	90,1	80,2	0,91	6,3	86,3	72,6	0,86
50	1,47	59,5	19,0	0,60	1,49	59,9	19,8	0,60	1,52	60,3	20,6	0,60
56	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
62	4,69	82,4	64,8	0,82	11,2	91,8	9,8	0,92	12,5	92,6	85,2	0,93

$ER^1 = S / R$ (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; $ER < 1$, wenn $S < R$; $ER > 1$, wenn $S > R$ und $ER = 1$ beim racemischen Gemisch);

$EF^2 = \text{Peakfläche des Enantiomers 1} / (\text{Peakfläche Enantiomer 1} + \text{Peakfläche Enantiomer 2}) \times 100$;

% ee³ = % S - % R;

EF^4 (Zusammenhang zwischen ER und EF) = $1 / (1 + 1/ER)$, EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemische Gemisch, EF >(0,5) oder < 0,5 → enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

Tab. 36 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse (ER_{1/2}), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphen-komponenten (CTTs) in Hühnchenblut während der Anfütterungsphase mit 5,0 ppm technischem Toxaphen

Toxaphen- komponente Parlar #	18 Wochen				28 Wochen				38 Wochen			
	ER ¹ _(1/2)	EF ²	% ee ³	ER&EF ⁴	ER ¹ _(1/2)	EF ²	% ee ³	ER&EF ⁴	ER ¹ _(1/2)	EF ²	% ee ³	ER&EF ⁴
11	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
12	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
15	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
25	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
26	0,99	49,9	0,2	0,50	0,82	45,2	9,6	0,45	0,91	47,6	4,8	0,48
31	14,73	93,6	87,2	0,94	9,6	90,6	81,2	0,91	13,46	93,1	86,2	0,93
32	0,91	47,6	4,8	0,48	1,59	61,4	22,8	0,61	∞	100	100	1,0
40	2,5	71,5	43,0	0,72	2,39	70,5	41,0	0,71	2,1	67,5	35,0	0,68
41	1,21	54,7	9,4	0,55	1,05	51,2	2,4	0,51	1,42	58,7	17,4	0,59
42(a,b)	0,51	33,6	32,8	0,34	0,91	47,5	5,0	0,48	0,42	29,8	40,4	0,30
44	8,16	89,1	78,2	0,89	9,49	90,5	81,0	0,91	10,4	91,2	82,4	0,91
50	1,67	62,5	25,0	0,63	1,95	66,1	32,2	0,66	1,36	57,6	15,2	0,58
62	8,58	89,6	79,2	0,90	8,68	89,7	79,1	0,90	12,96	92,8	85,7	0,93

ER¹ = S / R (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; ER < 1, wenn S < R; ER > 1, wenn S > R und ER = 1 beim racemischen Gemisch);

EF² = Peakfläche des Enantiomers 1 / (Peakfläche Enantiomer 1 + Peakfläche Enantiomer 2) x 100;

% ee³ = % S - % R;

EF⁴ (Zusammenhang zwischen ER und EF) = 1 / (1 + 1/ER), EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemische Gemisch, EF > (0,5) oder < 0,5 → enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

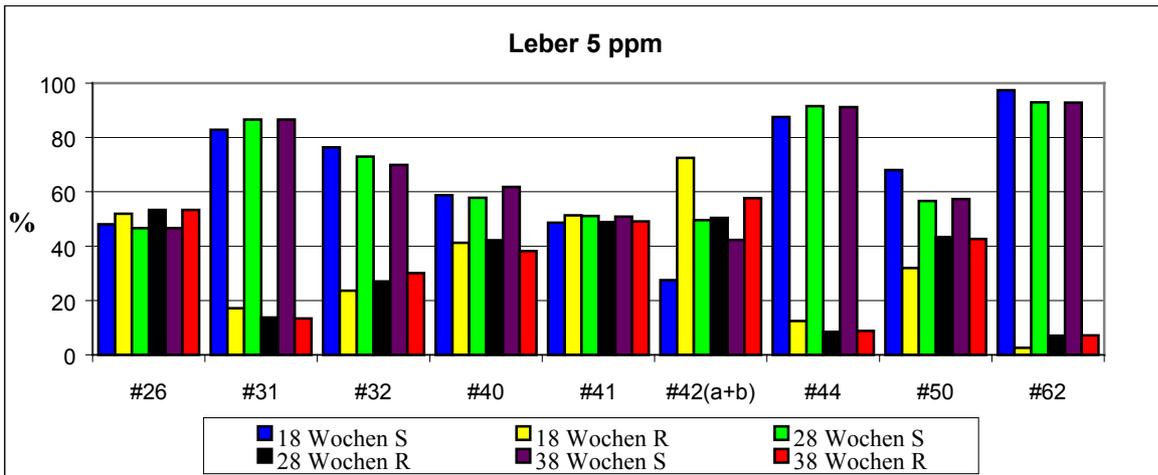


Abb. 78 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenere in der Leber von Legehennen während der Anfütterungsphase (5 ppm techn. Toxaphen)

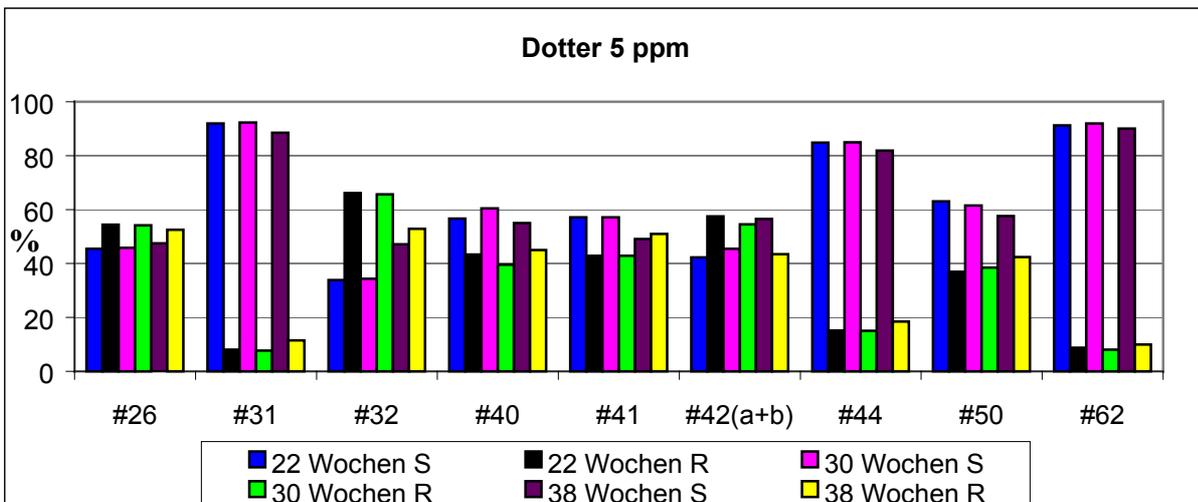


Abb. 79 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenere im Eidotter von Legehennen während der Anfütterungsphase (5 ppm techn. Toxaphen)

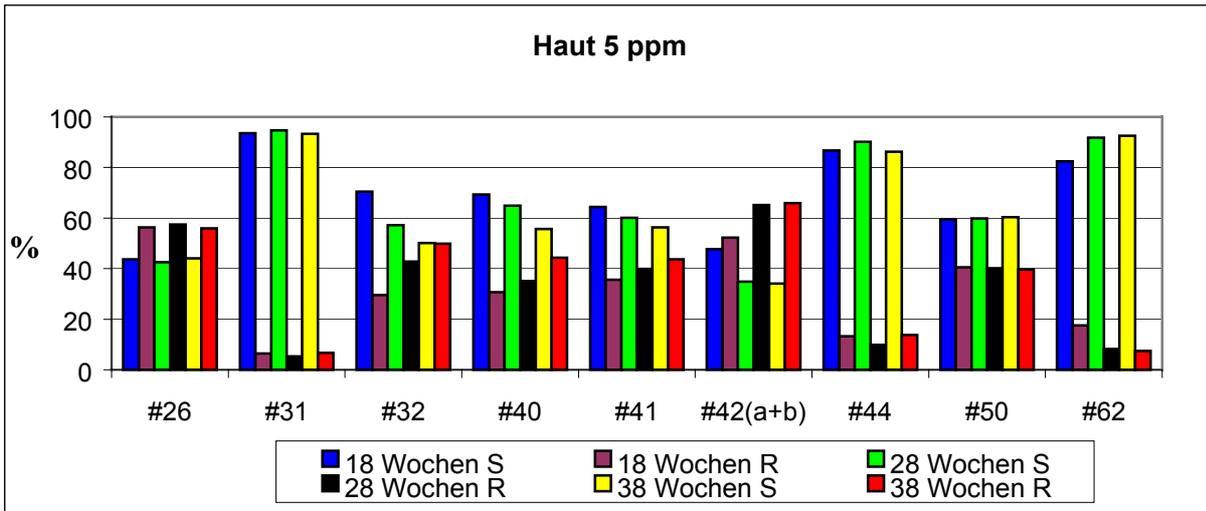


Abb. 80 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenere in der Haut von Legehennen während der Anfütterungsphase (5 ppm techn. Toxaphen)

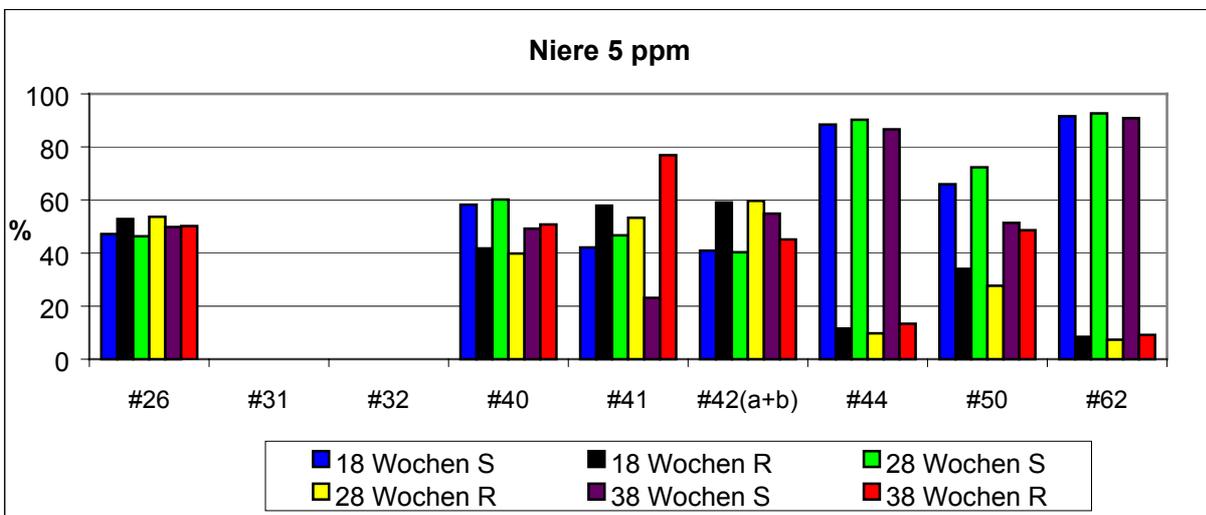


Abb. 81 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenere in den Nieren von Legehennen während der Anfütterungsphase (5 ppm techn. Toxaphen)

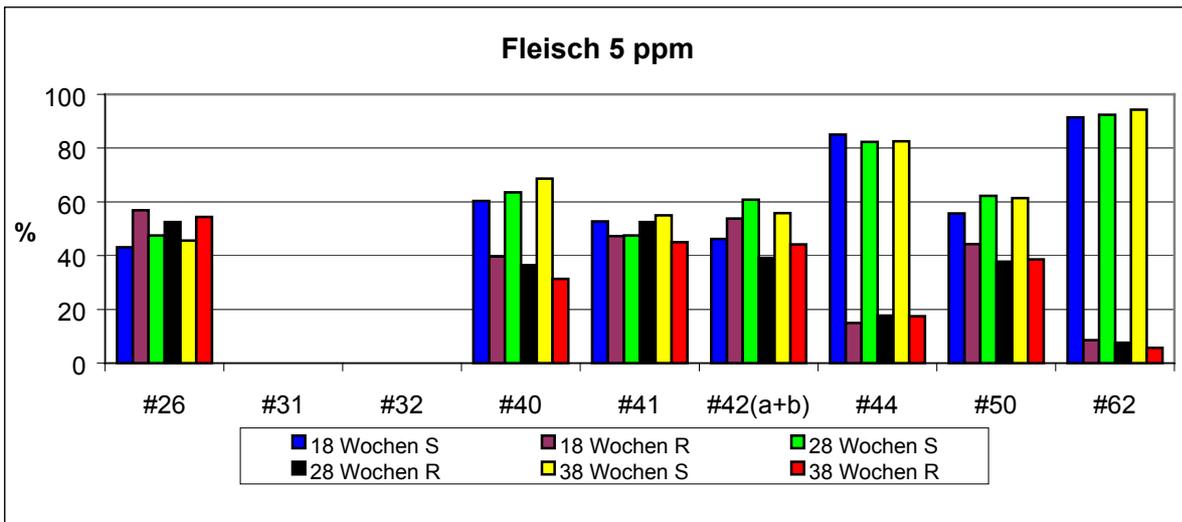


Abb. 82 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenere im Fleisch von Legehennen während der Anfütterungsphase (5 ppm techn. Toxaphen)

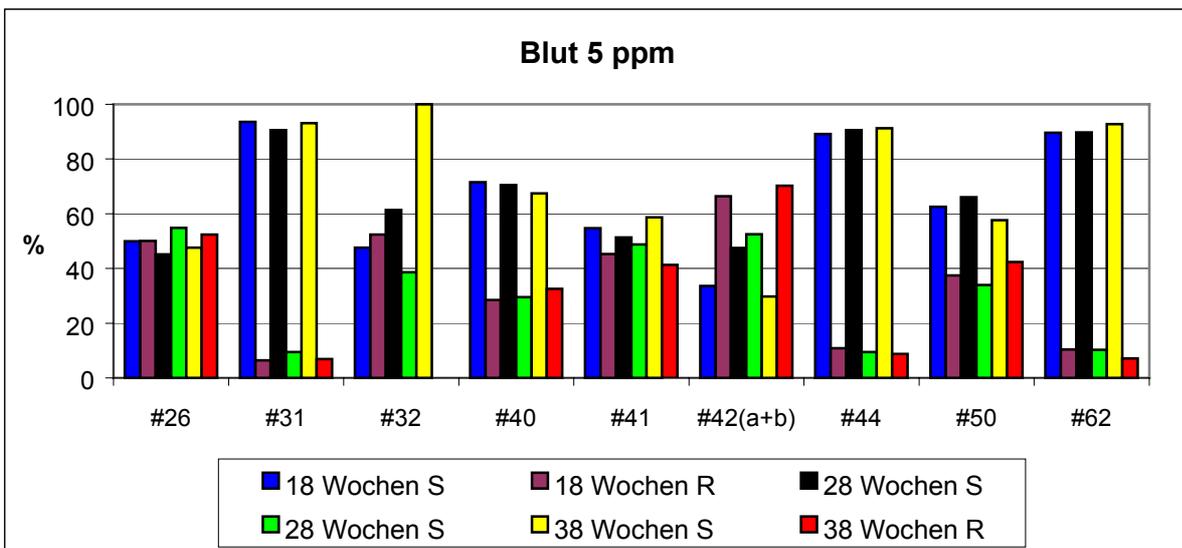


Abb. 83 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenere im Blut von Legehennen während der Anfütterungsphase (5 ppm techn. Toxaphen)

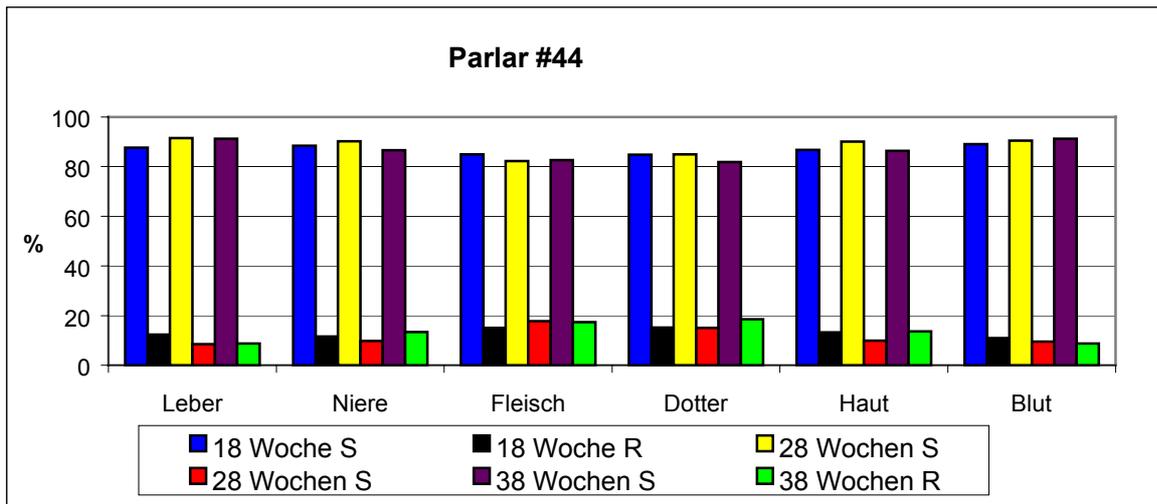


Abb. 84 Enantiomerenverhältnisse des Kongeners Parlar #44 in verschiedenen Proben von Legehennen während der Anfütterungsphase (5 ppm techn. Toxaphen)

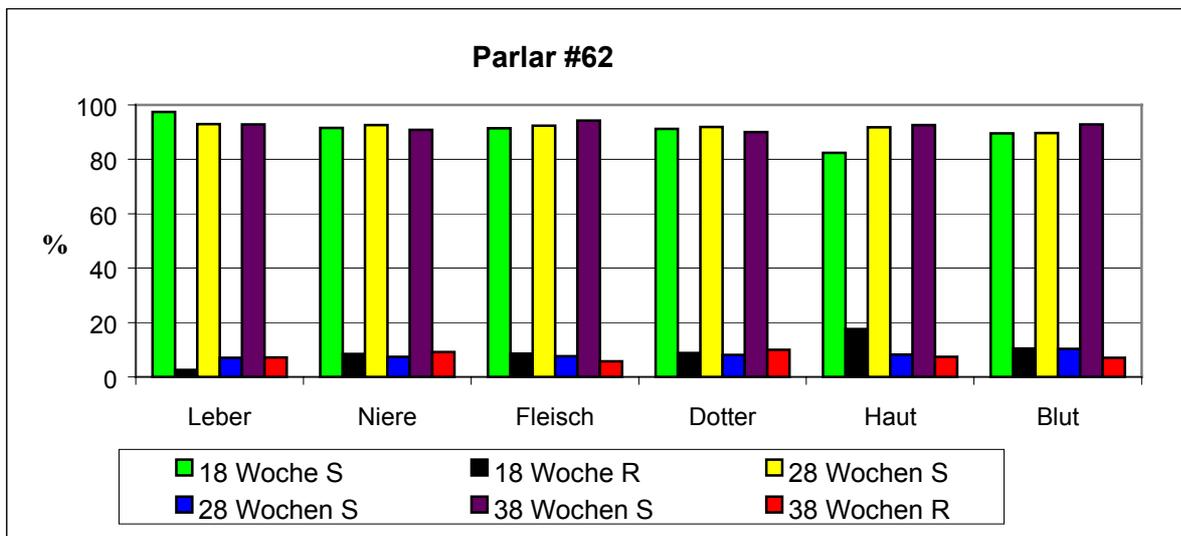


Abb. 85 Enantiomerenverhältnisse des Kongeners Parlar #62 in verschiedenen Proben von Legehennen während der Anfütterungsphase (5 ppm techn. Toxaphen)

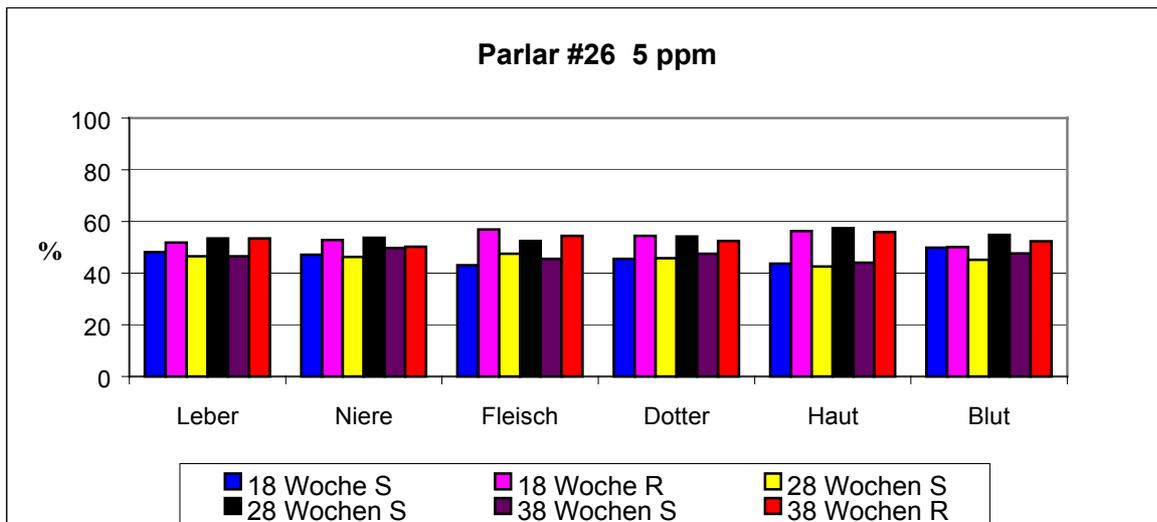


Abb. 86 Enantiomerenverhältnisse des Kongeners Parlar #26 in verschiedenen Proben von Legehennen während der Anfütterungsphase (5 ppm techn. Toxaphen)

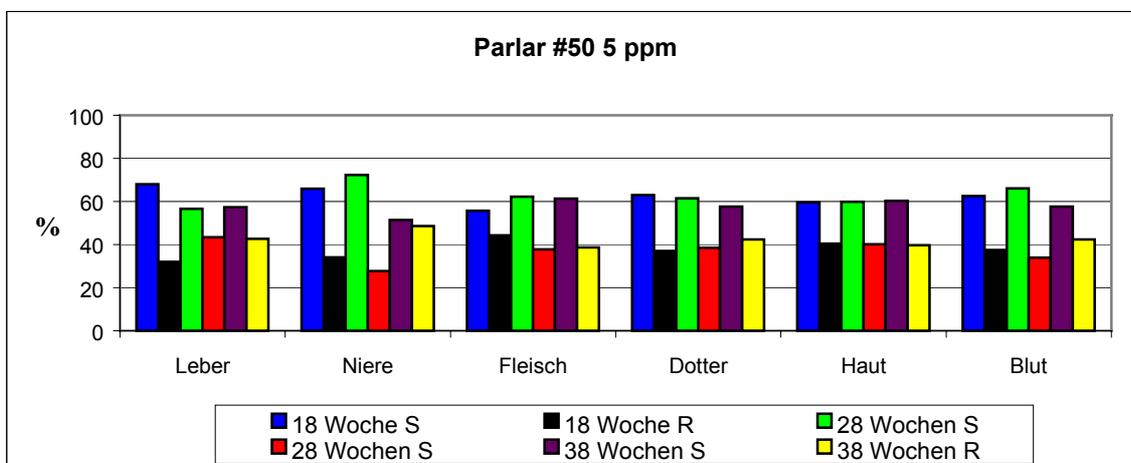


Abb. 87 Enantiomerenverhältnisse des Kongeners Parlar #50 in verschiedenen Proben von Legehennen während der Anfütterungsphase (5 ppm techn. Toxaphen)

4.4.4 Abklingversuche: 1, 5, 8 und 16 Wochen nach Fütterung mit 5 ppm (unkontaminiert)

Die Abb. 89-93 zeigen GC/ECD-Chromatogramme der entsprechenden Extrakte von Blut für #26, #44, #50 und #62 nach Ausschnittsdosierung während der Abklingphase. In allen Probenextrakten ist das ersteluiierende Enantiomer deutlich angereichert gegenüber dem zweiteluierten.

In den Tab. 37-42 und Abb. 94-103 sind die Ergebnisse der HRGC/ECD-Analysen von Legehennenproben während der Abklingphase zusammengefasst. Parlar #44 und #62 wiesen starke Abweichungen vom $ER_{1/2}$ des Racemates in den verschiedenen Legehennenproben auf während der 1, 5, 8 und 16 Wochen dauernden Phasen der Abklingperiode. Diese Abweichungen waren deutlich größer als 1, so dass die EF-Werte für Parlar #44 und #62 sogar 100% für beide nach 16 Wochen betragen, d.h., das zuerst eluierende Enantiomer wird stets stärker angereichert als das zweite. Eine ähnliche Anreicherung des ersten Enantiomers von #31 konnte in Eidotter- und Hauptproben beobachtet werden. Dieser erneut festzustellende Anreicherungseffekt ($ER \neq 1$) bei #44 und #62 unterstützt die Vermutung, dass beide dechloriert werden, weil sie sich lediglich im Chloratom an Position 2 unterscheiden und ein unsubstituiertes C-Atom im Ring eine Dechlorierung des benachbarten C-Atoms begünstigen kann (vgl. Abb 66).

Enantiomere von #31 und #32 können in Leber, Niere und Fleisch auf der β -BSCD-Säule nicht nachgewiesen werden, während die EF_{S_1} von Parlar #32 in Eidotter, Haut und Blut 100, 60,7 und 52,3% betragen.

Dies lässt vermuten, dass ein Metabolismus dieser Verbindung in beiden Organen (Leber, Niere) keine Rolle spielt. Parlar #26 stellt gewissermaßen einen Grenzfall dar, weil Enantiomerverhältnisse gefunden wurden, die stets < 1 sind, d.h. es ist keine gravierende Veränderung der ursprünglich racemischen Gemische in der Umwelt festzustellen. Die für Parlar #50 in den Probenextrakten gemessenen $ER_{1/2}$ betragen 0,14-2,1. Betrachtet man die ERs von #26 und #50, dann scheint möglicherweise eine freie Methylgruppe an der 9-Position Einfluß auf die Stabilität der Bornane auszuüben, denn #26 weist im Gegensatz zu #50 auch ERs auf, die gering von eins abweichen. Entweder findet an der Methylgruppe ein enantioselektiver Angriff statt, und durch eine Chlorsubstitution wird dieser Angriff erschwert, oder die Chlorsubstituenten an dieser Gruppe, wie in #50, #44 und #62, erschweren den Angriff auf den Ring (vgl. Abb 88).

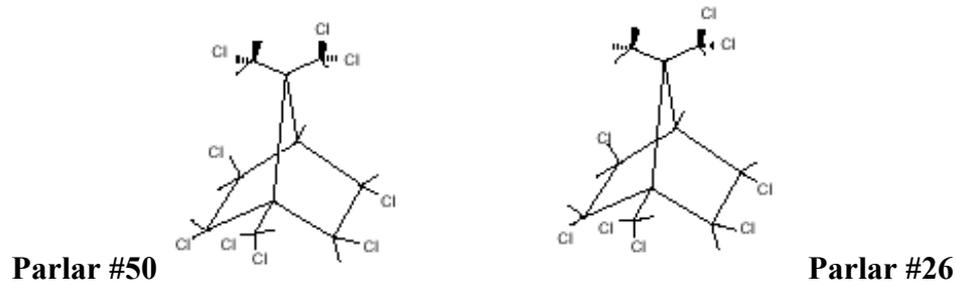


Abb. 88 Strukturen der Toxaphenkomponenten #50 und #26

Diese Ergebnisse unterstreichen, dass die enantioselektive Bestimmung von chiralen CTTs ein wichtiges Aufgabengebiet der Rückstandsanalytik im Zusammenhang mit der Gewinnung von Informationen über die Beziehung zwischen chemischer Struktur und Persistenz sowie zwischen enantioselektivem Metabolismus und toxischer Wirkung dieser Klasse anthropogener Verbindungen in der Umwelt darstellt.

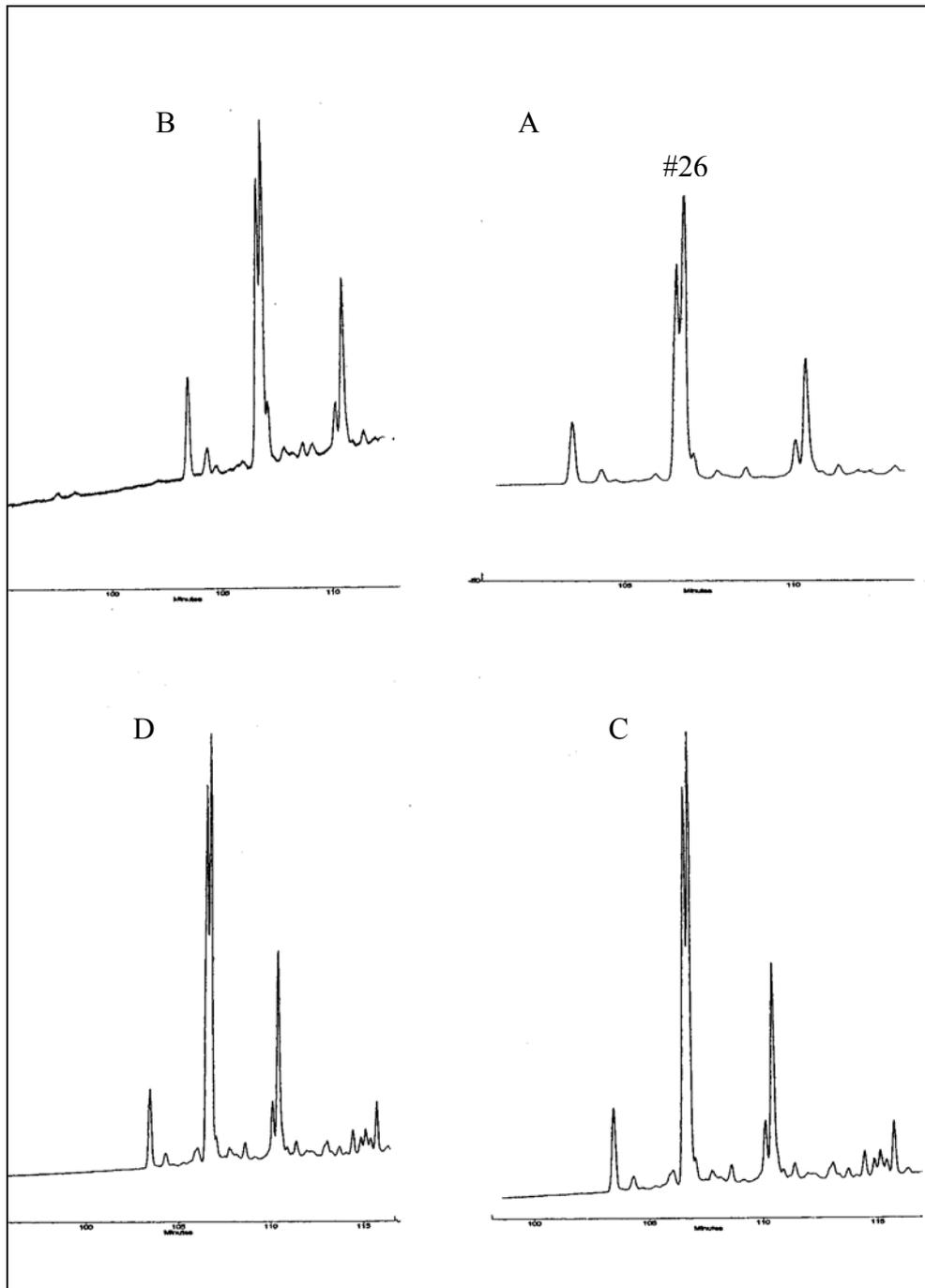


Abb. 89 GC/ECD-Ausschnitts chromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #26 im Blut von Legehennen während der Abklingphase (Dekontaminationsphase)

A. Chromatogramm	Blutprobe nach 2 Wochen
B. Chromatogramm	Blutprobe nach 5 Wochen
C. Chromatogramm	Blutprobe nach 8 Wochen
D. Chromatogramm	Blutprobe nach 16 Wochen

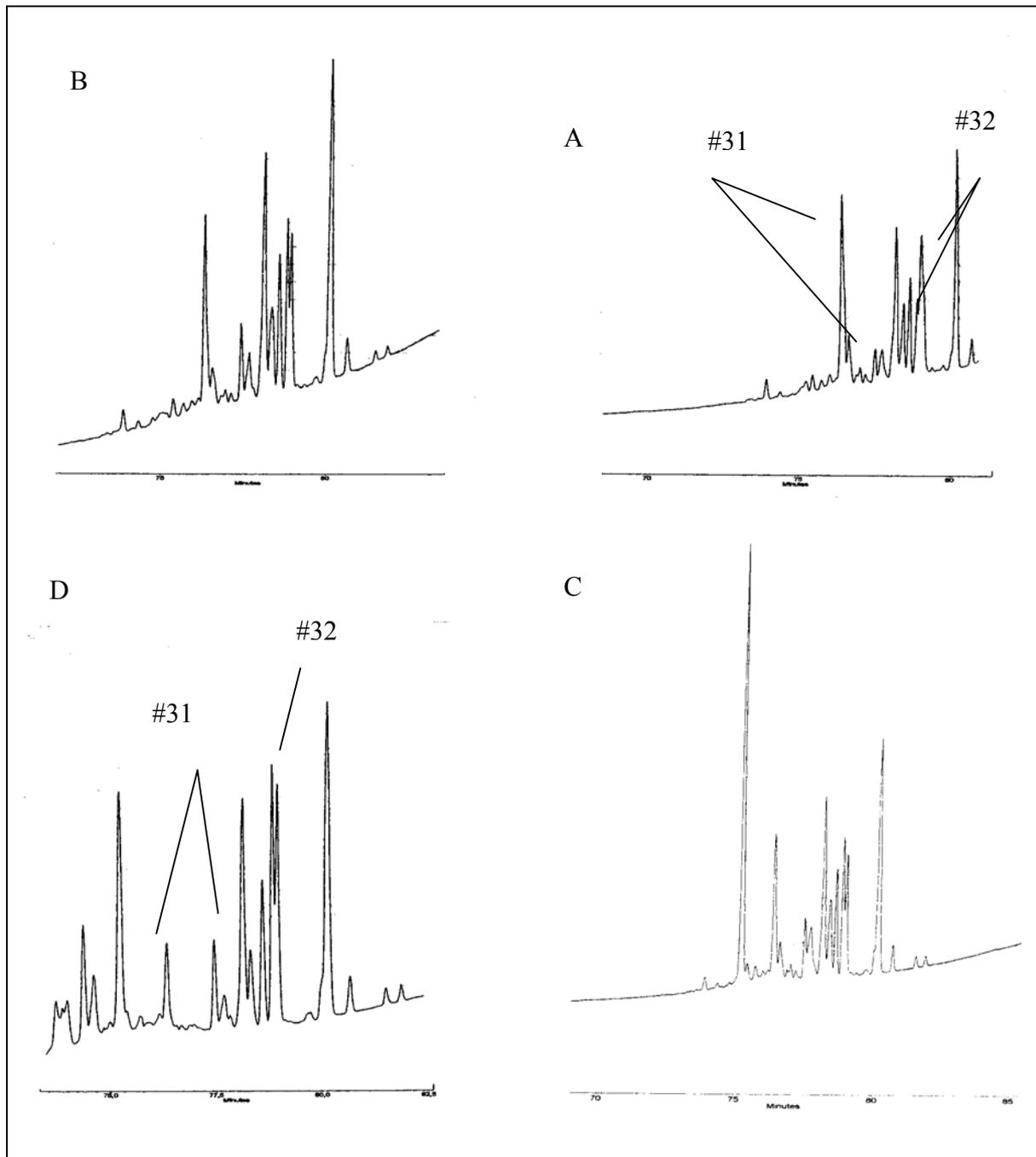


Abb. 90 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #31+32 im Blut von Legehennen während der Abklingphase (Dekontaminationsphase)

A. Chromatogramm	Blutprobe nach 2 Wochen
B. Chromatogramm	Blutprobe nach 5 Wochen
C. Chromatogramm	Blutprobe nach 8 Wochen
D. Chromatogramm	Blutprobe nach 16 Wochen

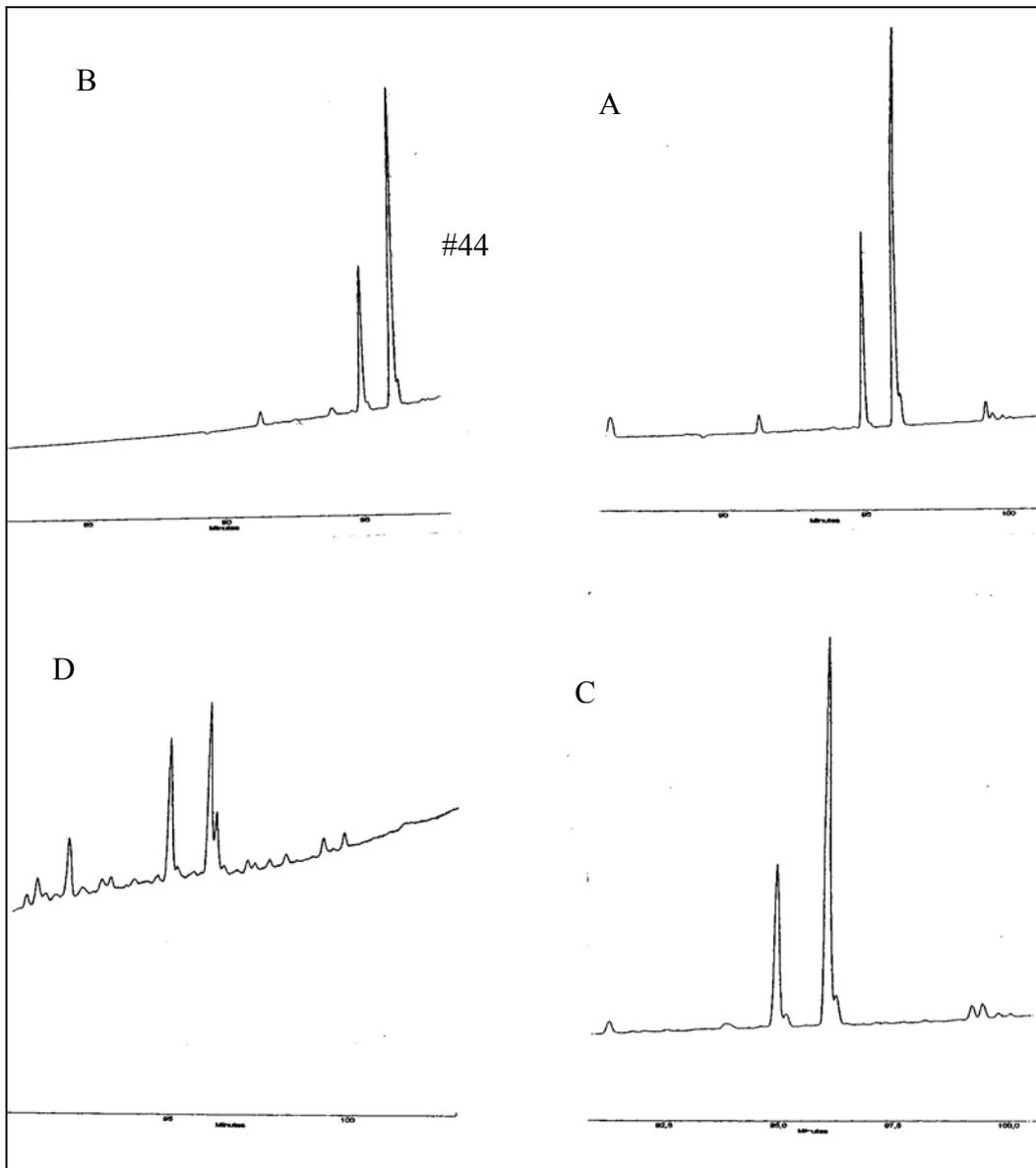


Abb. 91 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #44 im Blut von Legehennen während der Abklingphase (Dekontaminationsphase)

A. Chromatogramm	Blutprobe nach 2 Wochen
B. Chromatogramm	Blutprobe nach 5 Wochen
C. Chromatogramm	Blutprobe nach 8 Wochen
D. Chromatogramm	Blutprobe nach 16 Wochen

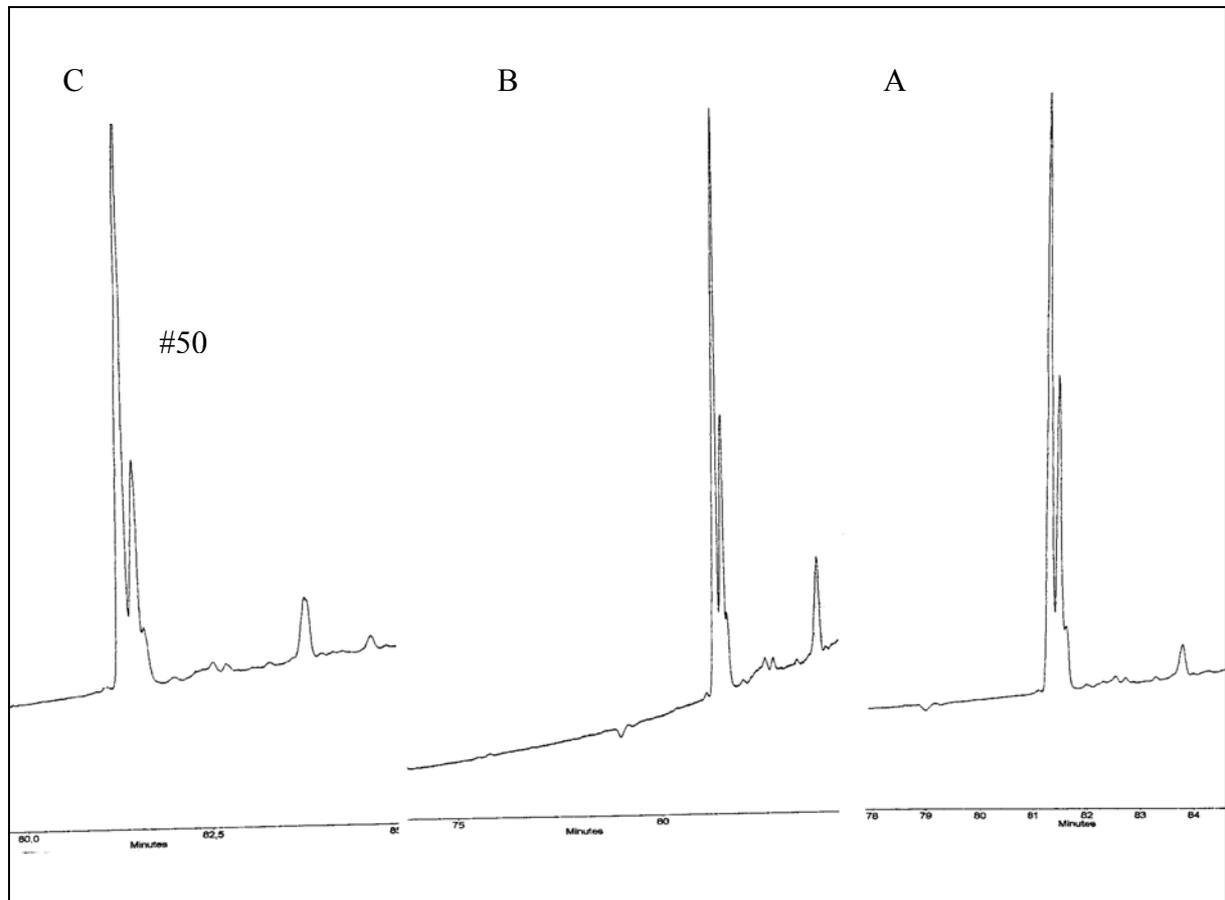


Abb. 92 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (chiral) von Parlar #50 im Blut von Legehennen während der Abklingphase (Dekontaminationsphase)

A. Chromatogramm	Blutprobe nach 2 Wochen
B. Chromatogramm	Blutprobe nach 5 Wochen
C. Chromatogramm	Blutprobe nach 8 Wochen

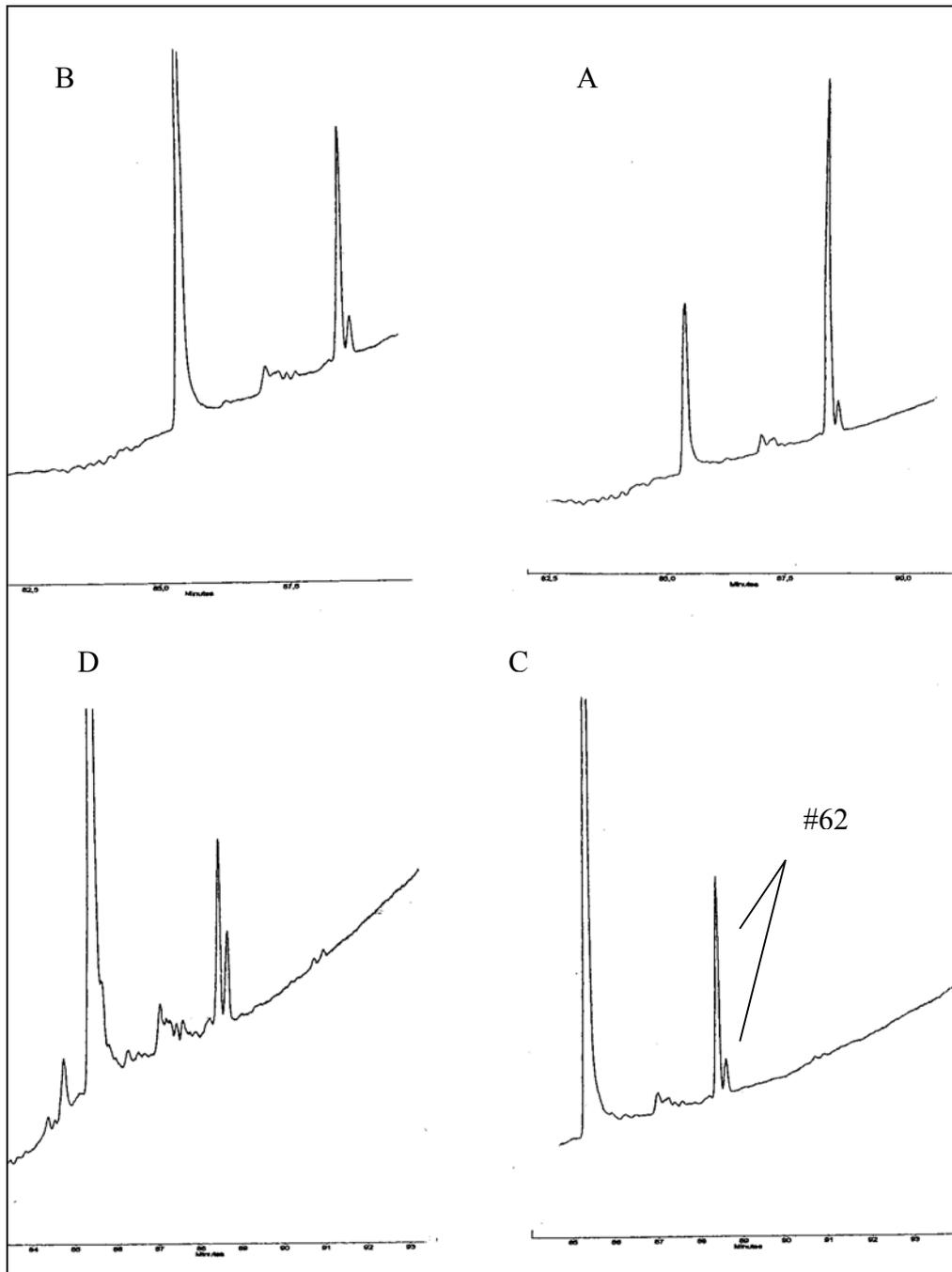


Abb. 93 GC/ECD-Ausschnittschromatogramme der Enantiomerentrennung auf β -BSCD-Säule (isotherm) von Parlar #62 im Blut von Legehennen während der Abklingphase (Dekontaminationsphase)

A. Chromatogramm	Blutprobe nach 2 Wochen
B. Chromatogramm	Blutprobe nach 5 Wochen
C. Chromatogramm	Blutprobe nach 8 Wochen
D. Chromatogramm	Blutprobe nach 16 Wochen

Tab. 37 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse ($ER_{1/2}$), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphenkomponenten (CTTs) in Hühnchenleber während der Abklingphase

Toxaphen- komponente Parlar #	1. Woche				5 Wochen				8 Wochen				16 Wochen			
	$ER_{(1/2)}^1$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER_{(1/2)}^1$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER_{(1/2)}^1$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER_{(1/2)}^1$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$
11	n.n	n.n	n.n	n.n												
12	n.n	n.n	n.n	n.n												
15	n.n	n.n	n.n	n.n												
21	n.n	n.n	n.n	n.n												
25	n.n	n.n	n.n	n.n												
26	0,77	43,5	13,0	0,44	0,72	42	16	0,42	0,62	38,2	23,6	0,38	0,62	38,3	33,4	0,38
31	n.n	n.n	n.n	n.n												
32	n.n	n.n	n.n	n.n												
40	1,49	59,9	19,8	0,60	1,22	54,9	9,8	0,55	1,13	53,1	6,2	0,53	0,99	49,98	0,04	0,50
41	2,71	73,1	47,0	0,73	1,74	63,5	27	0,64	4,53	81,9	63,8	0,82	2,67	72,8	45,6	0,73
42(a,b)	0,297	22,9	54,2	0,23	0,85	46,1	7,8	0,46	0,1	9,2	81,6	0,92	0,0	-	100	0,0
44	∞	100	100	1,0	∞	100	100	1,0	∞	100	100	1,0	∞	100	100	1,0
50	1,92	65,8	31,6	0,66	1,80	64,2	28,4	0,64	1,83	64,7	29,4	0,65	1,94	65,9	31,8	0,66
56	n.n	n.n	n.n	n.n												
62	46,4	97,9	95,8	0,98	25,2	96,2	92,4	0,96	63,8	98,5	97,0	0,99	∞	100	100	1,0

$ER^1 = S / R$ (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; $ER < 1$, wenn $S < R$; $ER > 1$, wenn $S > R$ und $ER = 1$ beim racemischen Gemisch);

$EF^2 = \text{Peakfläche des Enantiomers 1} / (\text{Peakfläche Enantiomer 1} + \text{Peakfläche Enantiomer 2}) \times 100$;

% ee³ = % S - % R;

EF^4 (Zusammenhang zwischen ER und EF) = $1 / (1 + 1/ER)$, EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für racemisches Gemisch, EF > (0,5) oder < 0,5

→ enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

Tab. 38 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse ($ER_{1/2}$), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphenkomponenten (CTTs) in Hühncheniere während der Abklingphase

Toxaphen- komponente Parlar #	1 Woche				5 Wochen				8 Wochen				16 Wochen			
	$ER^1_{(1/2)}$	EF^2	$\%ee^3$	$ER\&EF^4$												
11	n.n	n.n	n.n	n.n												
12	n.n	n.n	n.n	n.n												
15	n.n	n.n	n.n	n.n												
21	n.n	n.n	n.n	n.n												
26	0,92	47,9	4,2	0,48	0,85	45,8	8,4	0,46	0,76	43,2	13,6	0,43	0,63	38,5	2,3	0,39
31	n.n	n.n	n.n	n.n												
32	n.n	n.n	n.n	n.n												
40	1,05	51,1	2,2	0,51	0,89	47,3	5,4	0,47	0,65	39,5	21,0	0,40	0,69	41,2	17,6	0,41
41	0,46	32,4	44	0,32	1,04	50,9	1,8	0,51	0,97	49,1	1,8	0,49	1,55	60,8	21,6	0,61
42(a,b)	0,85	45,8	8,4	0,46	0,61	37,7	24,6	0,38	1,79	64,1	28,2	0,64	1,05	51,2	2,4	0,51
44	3,2	76,1	52,2	0,76	∞	100	100	1,0	∞	100	100	1,0	∞	100	100	1,0
50	2,1	67,6	35,2	0,68	1,34	57,6	15,2	0,58	1,63	61,9	23,8	0,62	2,0	66,8	33,6	0,67
62	10,3	91,2	82,4	0,91	20,44	95,3	90,6	0,20	10,63	91,4	82,8	0,91	38,5	97,5	95,0	0,98

$ER^1 = S / R$ (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; $ER < 1$, wenn $S < R$; $ER > 1$, wenn $S > R$ und $ER = 1$ beim racemischen Gemisch);

$EF^2 = \text{Peakfläche des Enantiomers 1} / (\text{Peakfläche Enantiomer 1} + \text{Peakfläche Enantiomer 2}) \times 100$;

$\% ee^3 = \% S - \% R$;

EF^4 (Zusammenhang zwischen ER und EF) = $1 / (1 + 1/ER)$, EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemische Gemisch, EF $>(0,5)$ oder $< 0,5$ → enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, 63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

Tab. 39 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse ($ER_{1/2}$), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphenkomponenten (CTTs) in Hühnerhaut während der Abklingphase

Toxaphen- komponente Parlar #	1 Woche				5 Wochen				8 Wochen				16 Wochen			
	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$
11	n.n	n.n	n.n	n.n												
12	n.n	n.n	n.n	n.n												
15	n.n	n.n	n.n	n.n												
25	n.n	n.n	n.n	n.n												
26	0,89	47,2	5,6	0,47	0,39	28,1	43,8	0,28	0,75	42,98	9,04	0,43	0,54	34,8	30,4	0,35
31	2,41	70,7	41,4	0,71	2,55	71,8	43,6	0,72	17,8	94,7	89,4	0,95	13,6	93,2	86,4	0,93
32	1,14	53,4	6,8	0,54	1,43	58,9	17,8	0,59	∞	100	100	1,0	n.n	n.n	n.n	n.n
40	4,24	80,9	61,8	0,81	9,07	90,1	80,2	0,90	1,34	57,2	14,4	0,57	0,73	42,3	15,4	0,42
41	0,32	24,3	51,4	0,24	0,35	25,9	18,2	0,26	5,01	83,4	66,8	0,83	3,39	77,2	54,4	0,77
42(a,b)	1,27	56,01	12,03	0,56	0,99	49,9	0,2	0,50	0,56	36,1	27,8	0,36	0,46	31,6	36,8	0,32
44	3,09	75,5	51,0	0,76	5,1	83,6	67,2	0,84	∞	100	100	1,0	∞	100	100	1,0
50	0,14	11,86	76,28	0,12	0,68	40,3	19,4	0,40	1,26	55,8	11,6	0,56	2,07	67,4	34,8	0,67
56	n.n	n.n	n.n	n.n												
62	5,81	85,3	70,6	0,85	5,9	85,5	71,0	0,86	58,1	98,3	96,06	0,98	∞	100	100	1,0

$ER^1 = S / R$ (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; $ER < 1$, wenn $S < R$; $ER > 1$, wenn $S > R$ und $ER = 1$ beim racemischen Gemisch);

$EF^2 = \text{Peakfläche des Enantiomers 1} / (\text{Peakfläche Enantiomer 1} + \text{Peakfläche Enantiomer 2}) \times 100$;

% ee³ = % S - % R;

EF^4 (Zusammenhang zwischen ER und EF) = $1 / (1 + 1/ER)$, EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemische Gemisch, EF > (0,5) oder < 0,5

→ enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

Tab. 40 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse ($ER_{1/2}$), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphenkomponenten (CTTs) in Hühnchendotter während der Abklingphase

Toxaphen- komponente Parlar #	1 Woche				5 Wochen				8 Wochen				16 Wochen			
	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$
11	n.n	n.n	n.n	n.n												
12	n.n	n.n	n.n	n.n												
15	n.n	n.n	n.n	n.n												
25	n.n	n.n	n.n	n.n												
26	0,68	40,6	18,8	0,41	0,81	44,9	10,2	0,45	0,77	43,6	12,8	0,44	0,79	44,1	11,8	0,44
31	7,03	87,54	75,1	0,88	11,5	91,97	83,97	0,92	16,15	94,2	88,4	0,94	n.n	n.n	n.n	n.n
32	0,78	43,9	12,2	0,44	1,4	58,4	16,8	0,58	1,54	60,7	21,4	0,61	n.n	n.n	n.n	n.n
40	6,6	86,88	73,76	0,87	2,35	70,2	40,4	0,70	3,86	79,4	58,8	0,79	1,07	51,7	3,4	0,52
41	0,26	20,9	58,2	0,21	3,7	78,7	57,4	0,79	2,76	73,4	46,8	0,73	3,72	78,8	57,6	0,79
42	1,25	55,6	11,2	0,56	0,84	45,6	8,8	0,46	0,75	42,9	14,2	0,43	0,46	31,4	37,2	0,31
44	8,73	89,7	79,4	0,90	6,72	87,1	74,2	0,87	9,29	90,3	80,6	0,90	∞	100	100	1,0
50	1,46	59,3	18,6	0,59	1,99	66,63	33,25	0,67	2,07	67,4	34,8	0,67	2,12	67,95	35,9	0,68
56	n.n	n.n	n.n	n.n												
62	13,13	92,92	85,8	0,93	14,8	93,7	87,4	0,94	20,46	86,5	73,0	0,69	∞	100	100	1,0

$ER^1 = S / R$ (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; $ER < 1$, wenn $S < R$; $ER > 1$, wenn $S > R$ und $ER = 1$ beim racemischen Gemisch);

$EF^2 = \text{Peakfläche des Enantiomers 1} / (\text{Peakfläche Enantiomer 1} + \text{Peakfläche Enantiomer 2}) \times 100$;

% ee³ = % S - % R;

EF^4 (Zusammenhang zwischen ER und EF) = $1 / (1 + 1/ER)$, EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemische Gemisch, $EF > (0,5)$ oder $< 0,5$

→ enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

Tab. 41 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse ($ER_{1/2}$), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphenkomponenten (CTTs) in Hühnchenblut während der Abklingphase

Toxaphen- komponente Parlar #	1 Woche				5 Wochen				8 Wochen				16 Wochen			
	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$
11	n.n	n.n	n.n	n.n												
12	n.n	n.n	n.n	n.n												
15	n.n	n.n	n.n	n.n												
25	n.n	n.n	n.n	n.n												
26	0,67	40,2	19,6	0,40	0,78	43,7	12,6	0,44	0,89	47,1	5,3	0,47	0,97	49,2	1,6	0,49
31	8,09	81,0	70,0	0,81	3,42	77,4	54,8	0,77	3,28	76,7	53,4	0,77	1,9	65,5	31,0	0,66
32	0,29	22,7	54,6	0,23	1,1	52,3	5,0	0,52	1,07	51,7	3,4	0,52	1,1	50,2	0,7	0,50
40	1,84	64,8	22,6	0,65	1,38	57,9	15,8	0,58	1,43	58,8	17,6	0,59	1,11	52,5	5,0	0,53
41	0,98	49,5	1,0	0,50	0,68	40,3	19,4	0,40	0,76	43,3	13,3	0,43	0,26	20,7	58,6	0,21
42	0,89	47,1	5,8	0,47	1,29	56,6	13,2	0,57	1,34	57,2	14,4	0,43	2,72	73,1	46,2	0,73
44	12,2	92,4	84,8	0,92	10,9	91,6	83,2	0,92	11,9	92,2	84,4	0,92	1,76	73,4	46,8	0,74
50	1,54	60,7	21,4	0,61	1,47	59,5	19,0	0,60	1,75	63,6	27,2	0,64	1,82	64,5	39,0	0,66
56	n.n	n.n	n.n	n.n												
62	12,2	92,4	84,8	0,92	5,9	85,5	71,0	0,86	5,96	85,6	71,2	0,86	1,97	66,3	32,6	0,66

$ER^1 = S / R$ (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; $ER < 1$, wenn $S < R$; $ER > 1$, wenn $S > R$, und $ER = 1$ beim racemischen Gemisch);

$EF^2 = \text{Peakfläche des Enantiomers 1} / (\text{Peakfläche Enantiomer 1} + \text{Peakfläche Enantiomer 2}) \times 100$;

% ee³ = % S - % R;

EF^4 (Zusammenhang zwischen ER und EF) = $1 / (1 + 1/ER)$, EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemische Gemisch, EF >(0,5) oder < 0,5
→ enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, 63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

Tab. 42 Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse ($ER_{1/2}$), Enantiomerenfraktionen (EF) und des Enantiomerenüberschusses (ee) von Toxaphenkomponenten (CTTs) in Hühnchenfleisch während der Abklingphase

Toxaphen- komponente Parlar #	1 Woche				5 Wochen				8 Wochen				16 Wochen			
	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	%ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	%ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	% ee ³	$ER\&EF^4$	$ER^{1(1/2)}$	EF^2	%ee ³	$ER\&EF^4$
11	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
12	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
15	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
25	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
26	0,87	46,6	6,8	0,47	0,72	41,9	16,2	0,42	0,75	74,8	49,6	0,75	0,71	41,5	17,0	0,42
31	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
32	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
40	2,18	68,6	37,2	0,69	0,98	49,5	1,0	0,50	1,12	52,6	5,2	0,53	1,12	52,8	5,6	0,53
41	1,76	63,8	27,6	0,64	1,48	60,1	20,12	0,60	2,31	69,8	39,6	0,70	1,82	64,5	29,0	0,65
42	0,89	47,1	5,8	0,47	0,39	27,8	44,4	0,28	0,64	38,8	22,4	0,39	1,47	59,6	19,2	0,60
44	∞	100	100	1,0	∞	100	100	1,0	∞	100	100	1,0	∞	100	100	1,0
50	1,73	63,4	26,8	0,63	1,01	50,2	0,4	0,50	1,85	64,9	29,8	0,65	1,82	64,6	29,2	0,65
56	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n	n.n
62	21,4	95,5	91,0	0,96	22,9	95,8	91,6	0,96	48,97	97,99	95,98	0,98	25,6	96,2	92,4	0,96

$ER^1 = S / R$ (S = Peakfläche des zuerst eluierenden Enantiomers, R = Peakfläche des zweiteluierenden Enantiomers; $ER < 1$, wenn $S < R$; $ER > 1$, wenn $S > R$ und $ER = 1$ beim racemischen Gemisch);

$EF^2 = \text{Peakfläche des Enantiomers 1} / (\text{Peakfläche Enantiomer 1} + \text{Peakfläche Enantiomer 2}) \times 100$;

% ee³ = % S - % R;

EF^4 (Zusammenhang zwischen ER und EF) = $1 / (1 + 1/ER)$, EF (Bereich von 0 - 1), EF = 0,5 für das racemische Gemisch, EF >(0,5) oder < 0,5
→ enzymatische Veränderung in der Umwelt (keine Trennung für Parlar #38, #58, #59, #63 und #69);

n.n = nicht nachgewiesen.

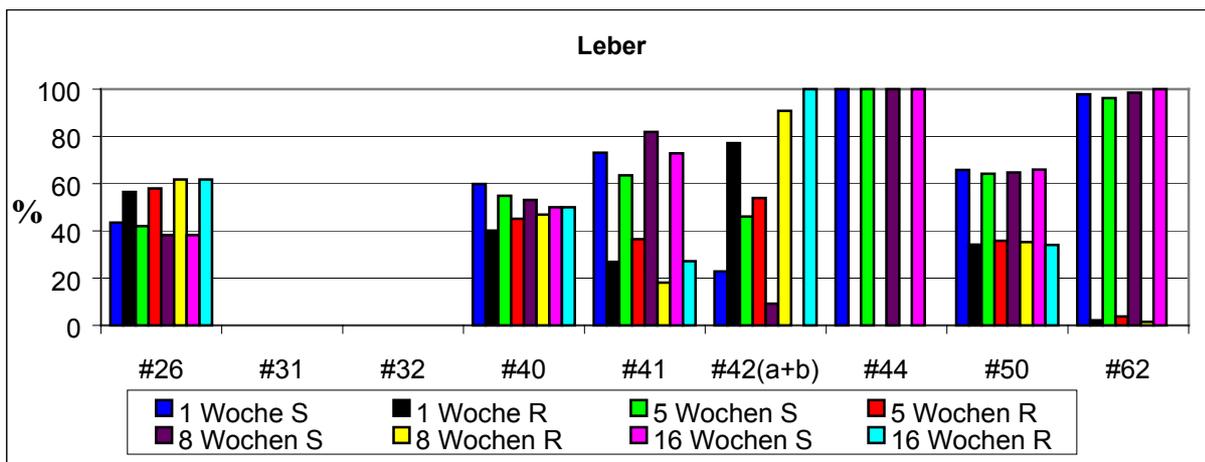


Abb. 94 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenerere in der Leber von Legehennen während der Abklingphase (Dekontaminationsphase).

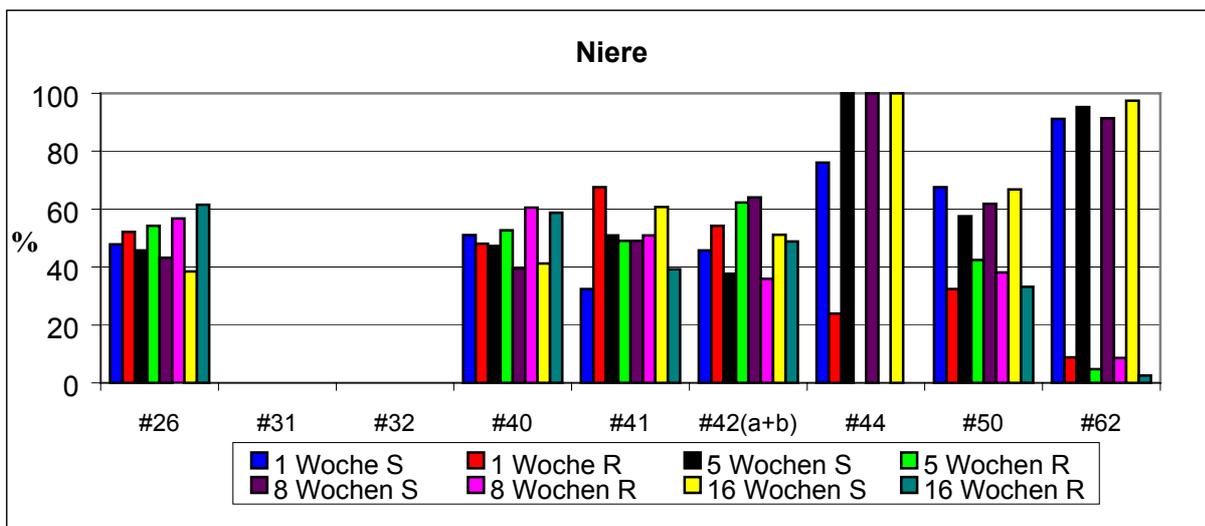


Abb. 95 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenerere in den Nieren von Legehennen während der Abklingphase (Dekontaminationsphase).

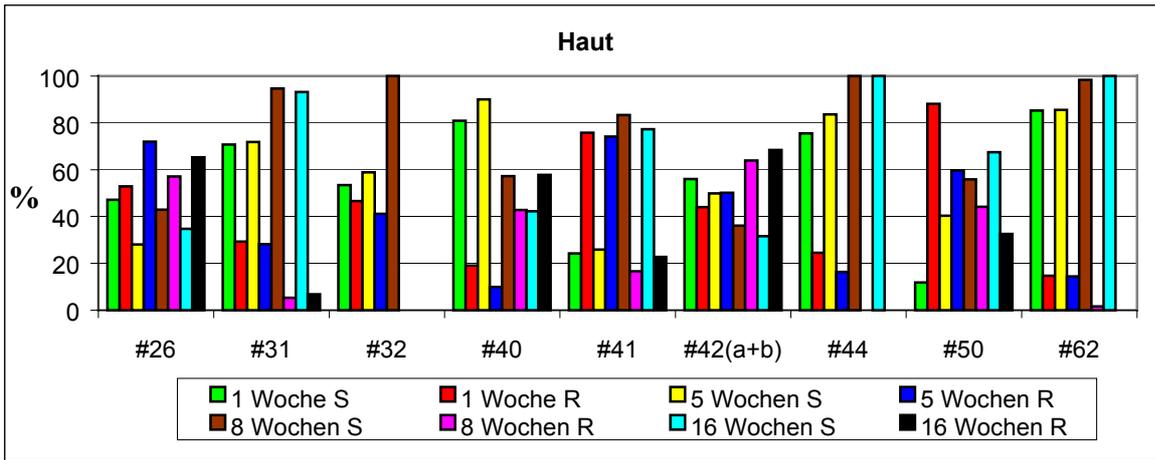


Abb. 96 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenere in Haut von Legehennen während der Abklingphase (Dekontaminationsphase).

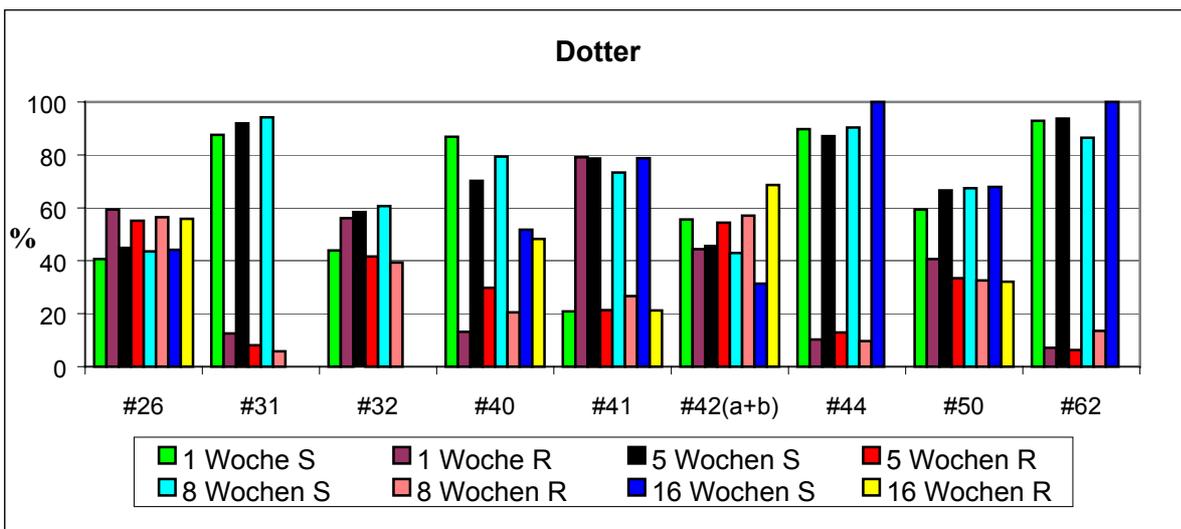


Abb. 97 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenere im Eidotter von Legehennen während der Abklingphase (Dekontaminationsphase).

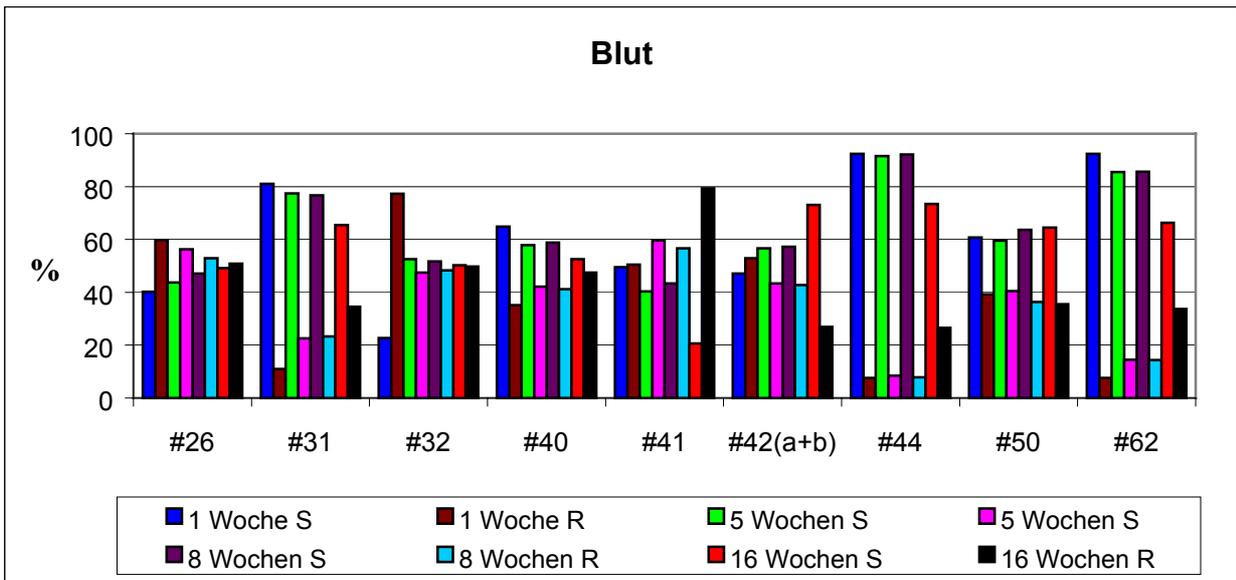


Abb. 98 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenere im Blut von Legehennen während der Abklingphase (Dekontaminationsphase).

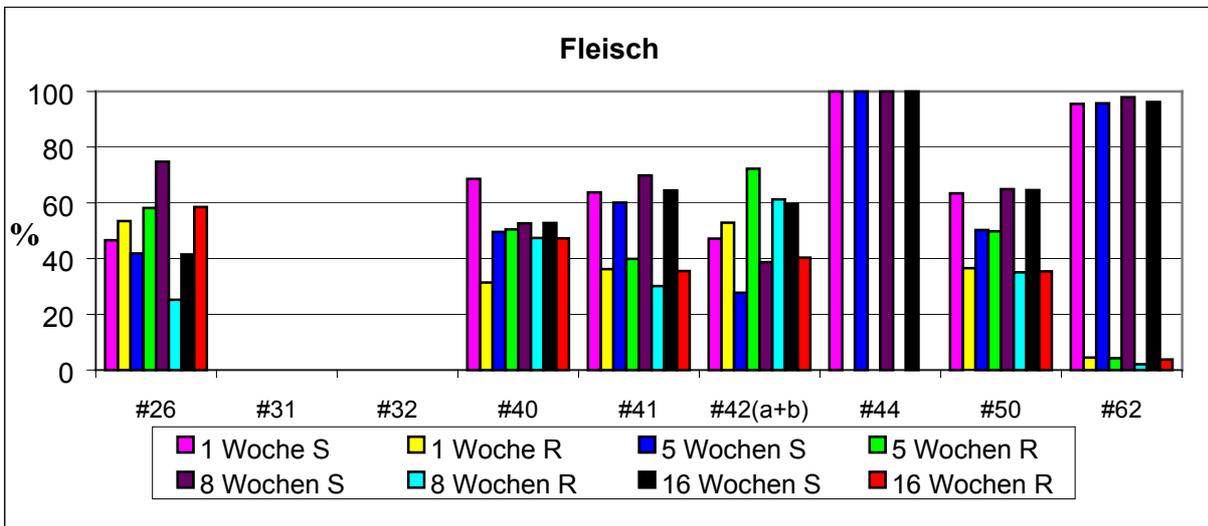


Abb. 99 Enantiomerenverhältnisse der Toxaphenkongenere im Fleisch von Legehennen während der Abklingphase (Dekontaminationsphase).

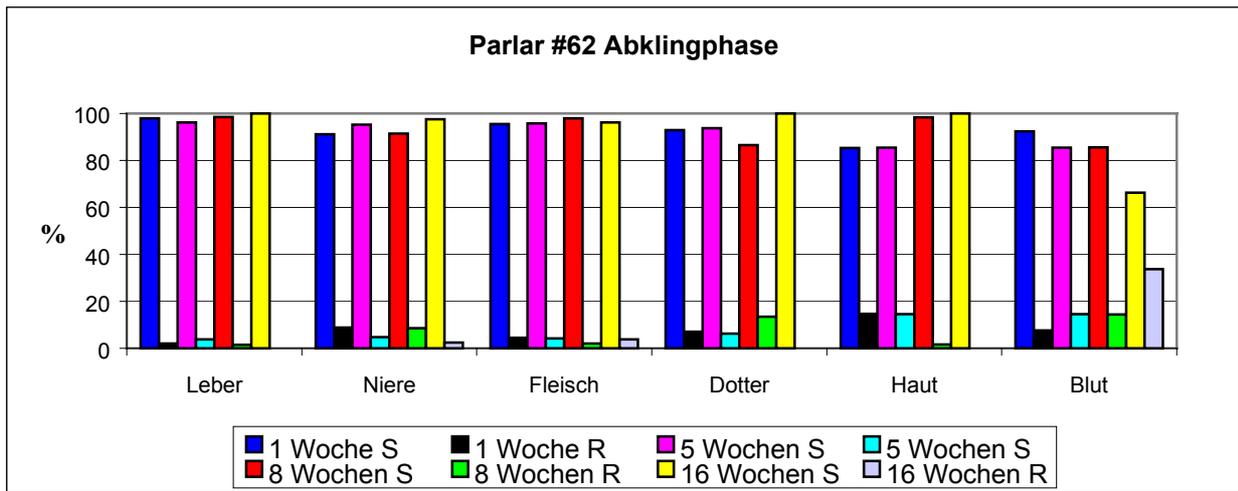


Abb. 100 Enantiomerenverhältnisse des Kongeners Parlar # 62 in verschiedenen Proben von Legehennen während der Abklingphase (Dekontaminationsphase).

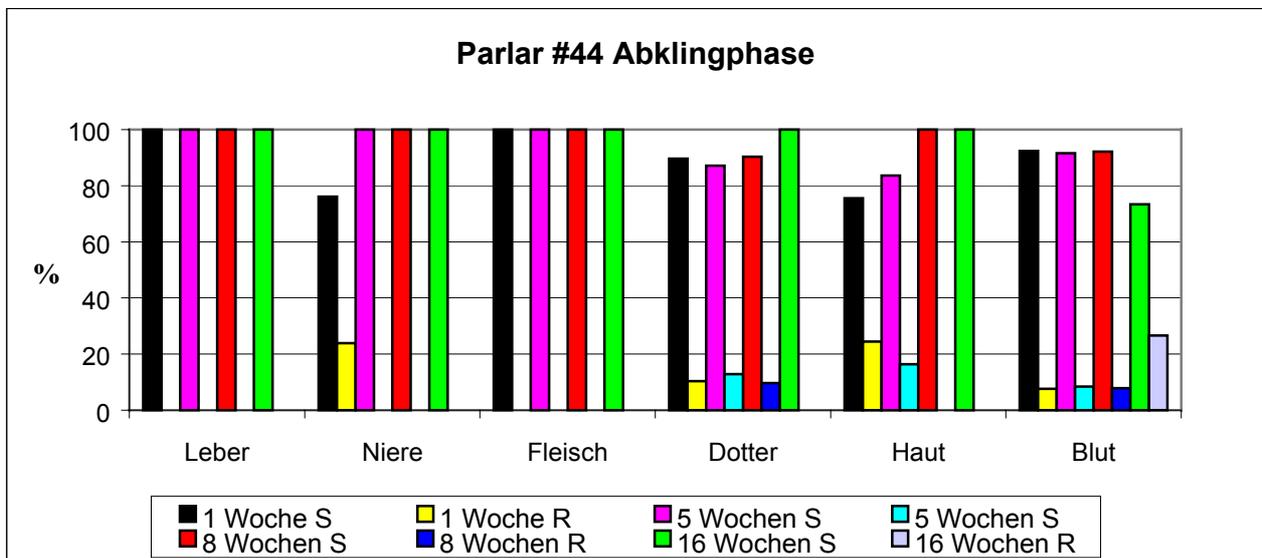


Abb. 101 Enantiomerenverhältnisse des Kongeners Parlar # 44 in verschiedenen Proben von Legehennen während der Abklingphase (Dekontaminationsphase).

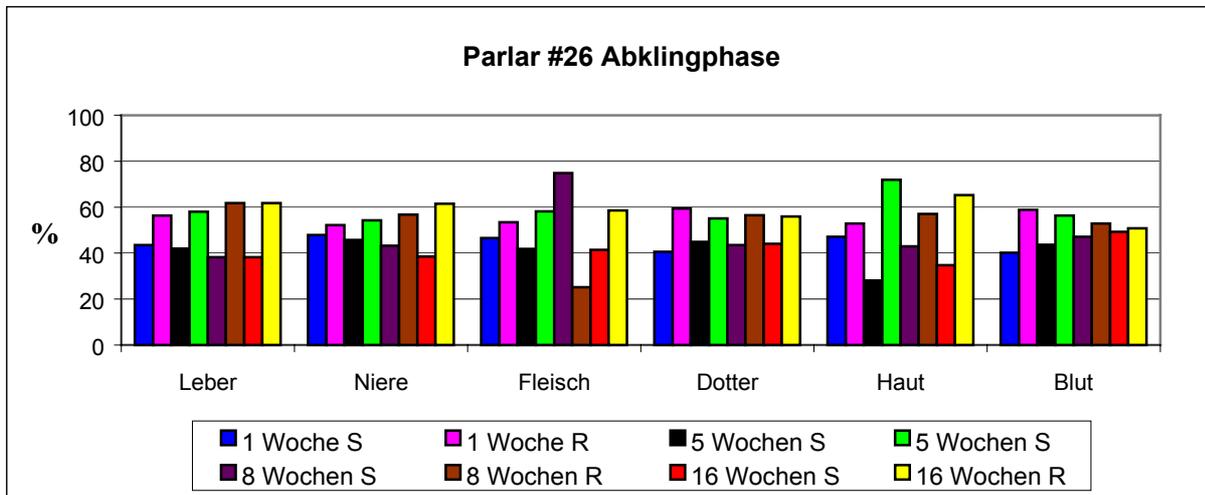


Abb. 102 Enantiomerenverhältnisse des Kongeners Parlar # 26 in verschiedenen Proben von Legehennen während der Abklingphase (Dekontaminationsphase).

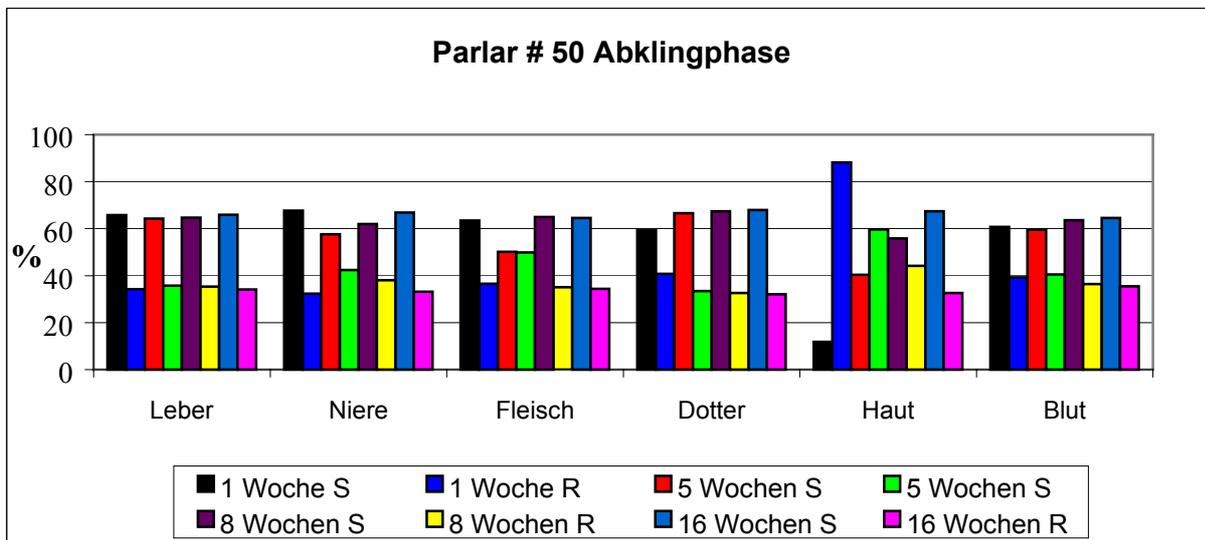


Abb. 103 Enantiomerenverhältnisse des Kongeners Parlar # 50 in verschiedenen Proben von Legehennen während der Abklingphase (Dekontaminationsphase).

5. Zusammenfassung

Die chirale Analytik der Rückstände in Blut-, Ei- und Gewebeproben nach Fütterungsversuchen von Legehennen mit Toxaphen mittels Tandem-HRGC/ECD, wobei die Enantiomerenverhältnisse bestimmt werden, dient dazu, zu entscheiden, ob und inwieweit Kongenere metabolisiert werden. Dabei ist zu berücksichtigen, dass (+)- und (-)-Antipoden durch die Enzymsysteme unterschiedlich schnell abgebaut werden, d.h., wenn ein Enantiomerenüberschuss festgestellt wird, kann die gesicherte Aussage gemacht werden, dass ein biologischer Abbau stattgefunden hat.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden in einer systematischen Studie zeit-, proben- und kongenerabhängig die Enantiomerenverhältnisse wichtiger Toxaphenrückstände bestimmt. Als analytische Nachweismethode wurde ein multidimensionales gaschromatographisches Doppellofensystem eingesetzt, die aus einer nicht-chiralen und einer chiralen Säule bestand. Nach Vorreinigung der Proben und Vortrennung der Kongenere mit der ersten achiralen Säule wurden sie verlust- und totvolumenfrei in eine geeignete chirale Kollektorsäule transferiert und quantitativ in die Enantiomere getrennt. Leber-, Nieren-, Haut-, Eidotter-, Blut- und Fleischproben der Legehennen dienten dabei als Modellgewebe. Zahlreiche Verbindungen, die im 22-Komponenten-Standardgemisch nach Parlar enthalten sind, wurden dabei analysiert, und zwar sowohl während der Fütterungs- als auch in der Abklingphase der Legehennen.

Als wichtigste Komponenten wurden dabei #26, #31, #32, #40, #41, #42, #44, #50 und #62 identifiziert. Berücksichtigt man die analysierten Enantiomerenverhältnisse dieser Toxaphen-kongenere während der Abklingphase, so stellt man zweifelsfrei fest, dass signifikante Unterschiede bei den Verbindungen #44 und #62 bestehen. Unter Berücksichtigung der Strukturen beider Verbindungen – Dehalogenierung von #62 führt direkt zu #44 – ist eindeutig klar, dass auch hier Parlar #62 direkt zu #44 metabolisiert wird. Bei beiden Verbindungen bleibt am Ende nur einer der Antipoden übrig. Klar ist auch, dass #42 und #42 (a + b) schneller metabolisiert werden als die Verbindungen #26, #40 und #50. Die zuletzt genannten Verbindungen, insbesondere #26 und #50, gehören zu den stabilsten Toxaphenkomponenten auch in anderen Umweltkompartimenten. Diese weisen in ihrem Ringsystem alternierende Monochlorsubstitutionen auf und können deshalb nur unter drastischen Bedingungen dehalogeniert oder dehydrohalogeniert werden.

In den Haut-, Dotter- und Blutproben tauchen die Verbindungen #31 und #32 auf, die ein unterschiedliches Abbauverhalten zeigen. Während die Verbindung 31 stark unterschiedliche Enantiomerenverhältnisse aufweist, zeigt die Verbindung 32 stets ein Enantiomerenverhältnis von ca. 1, d.h. nur geringe Unterschiede in den Antipoden.

Als wichtigstes Ergebnis dieser Arbeit kann die Aussage gemacht werden, dass einige der analysierten Toxaphenkomponenten lediglich als eine Antipode vorlagen. Da sich die Enantiomere toxikologisch unterschiedlich verhalten, existieren zur Zeit keine zuverlässigen Daten über deren Wirkung. Alle bisherigen toxikologischen Experimente sind mit Racematen durchgeführt worden. Über die Wirkung einzelner Antipoden ist nichts Näheres bekannt. Aus diesem Grunde besteht die Notwendigkeit, die Enantiomeren der wichtigsten Toxaphenkongonere systematisch und einzeln toxikologisch und ökotoxikologisch zu untersuchen. Als Rückstände kommen hier vor allem die Kongenere 44 und 62 in Betracht, da sie sehr häufig und in hohen Konzentrationen vorliegen. Diese Tatsache untermauert letztendlich die Unentbehrlichkeit solcher Untersuchungen in nächster Zukunft.

6. Summary

The chiral analysis of residues in cleaned-up blood, egg, viscera and tissue samples of laying hens, that were fed with toxaphene-spiked food over a certain period of time, was performed using a multidimensional high resolution gas chromatographic system equipped with an electron capturing detector (MD-HRGC/ECD). For this special and time-consuming technique skilled personnel is necessary, but it can be successfully applied to elucidate the possible metabolisation of (+)- and (-)-antipodes of different toxaphene congeners. Both antipodes may be differently degraded by the varying enzymatic systems and an enantiomeric excess (ee) analytically determined would affirm that biological degradation has occurred.

Therefore, within the scope of this thesis, a time-, sample- and congener-dependent systematic study of the enantiomeric ratios of relevant toxaphene residues was conducted. The remarkable advantage of the MD-HRGC/ECD two-oven system used for analysis is that a valveless pneumatic module called “live T-piece” allows the quantitative and reproducible transfer of a small fraction or even a single peak from the eluate of the first achiral capillary column, that is monitored by a control ECD, to the second chiral one by means of the so-called “heart-cut”. As chiral stationary phase 25% tert.-butyldimethylsilylated β -cyclodextrin diluted in 85% dimethyl and 15% diphenyl polysiloxane (BGB Analytik, Adliswil, Switzerland; abbrev. β -BSCD) was used because of its low-bleeding effects at the high operation temperatures which are needed for enantiomer separation. Liver, kidney, skin, egg yolk, blood and meat of laying hens were used as model matrices.

Numerous congeners of the 22 component standard mixture (named after Parlar) could be identified during the feeding with toxaphene-contaminated food as well as the following depuration period.

The enantiomeric ratios of the congeners #26, #31, #32, #40, #42, #44, #50 and #62 as the most important components could be quantitatively determined. #44 and #62 showed significant differences with respect to the initial racemic ratios. Considering their chemical structure – dehalogenation of #62 directly leads to #44 – makes it clear that in these experiments Parlar #62 was metabolized to #44. At the end of the feeding period one of the antipodes of both congeners was completely decomposed. Parlar #42 and 42 (a + b) were preferentially metabolized compared to #26, #40 and #50. The latter, especially #26 and #50, belong to the most persistent toxaphene congeners found in environmental compartments. Alternating monochlor substitutions in their ring system enable dehalogenation or dehydrohalogenation processes only under extreme conditions. Parlar #31 with varying enantiomeric ratios and #32 with an almost racemic ratio of the antipodes found in the skin, yolk and blood samples of the laying hens showed a totally different degradation behaviour.

The most important result of this thesis is that only one of the antipodes of some congeners analyzed could be finally detected. Because all the previous toxicological experiments have been carried out with toxaphene racemates and the impact of the single antipodes still requires a much larger data set, no clear correlation can be inferred. These above-mentioned facts underline that it is necessary to isolate and evaluate the toxicology and ecotoxicology of the most environmentally important toxaphene enantiomers in the near future. According to our results the enantiomers of the congeners #44 and #62, which have been frequently found in high concentrations, should be primarily taken into consideration.

7. Abkürzungsverzeichnis

#	Numerierung nach Parlar
α -Wert	Trennfaktor: t_R / t_S
β -BSCD	Tert.-butyldimethylsilyliertes β -Cyclodextrin
22-Komp.-Standard	22-Komponenten-Standard (Numerierung nach Parlar,)
AV-Code	Nomenklatur nach Andrews und Vetter
CB	Chlorbornane
CB-Standard	Camphechlor bestrahlt, d. h. technisches Toxaphen 2 h bei 254 nm bestrahlt
CD	Cyclodextrin
CHBs	chlorinated bornanes
CSP	Chirale stationäre phase
CTTs	Compounds of Technical Toxaphene
ECD	Electron Capture Detector (Elektroneneinfangdetektor)
ECNI	electron capture negative ionization
EF	Enantiomerenfraktion
EI	Elektronenstoßionisation
ER(1/2)	Enantiomerenverhältnis
GC/ECNI-MS	gaschromatographic electron capture negative ionisation-mass spectrometry
Hp-Sed	Heptachlorbornan im Sediment (Boden)
HR	High Resolution (MS)
Hx-Sed	Hexachlorbornan im Sediment (Boden)
MS	Massenspektrometer
NCI	Negative Chemical Ionization (Chemische Ionisation mit Nachweis negativer Ionen)
R-Wert	$(t_1 - t_2) / (w_1 + w_2)$,
SC	Säulenchromatographie
SFC	Supercritical fluid chromatography
Tox A	Toxicant A (Tox A1 u. A2, Parlar #42a/b, B8-806/9)
Tox Ac	Toxicant Ac (Parlar #50, B9-1679, TOX9, T 12)
Tox B	Toxicant B (Parlar #32, B7-515)
Tox C	Toxicant C (B9-1327)
TOX7	Toxaphen 7 (B7-1453)
TOX8	Toxaphen 8 (Parlar #26, B8-1413, T 2)

8. Literaturverzeichnis

- [1] Parlar, H. (1991): Chlorierte Bornan-Derivate – eine neue Klasse umweltrelevanter Chemikalien. *Nachr. Chem. Tech. Lab.* 39: 26-37
- [2] Vetter, W., Luckas, B. und M. Oehme (1992): Isolation and purification of the two main toxaphene congeners in marine organisms. *Chemosphere* 25: 1643-1652
- [3] Vetter, W. (1993): Toxaphene: Theoretical aspects of the distribution of chlorinated bornanes including symmetrical aspects. *Chemosphere* 26: 1079- 1084 en *Compd.* 33: 47-52
- [4] Tombo, G.M.R., Bellus, D.; Chiralität und Pflanzenschutz; *Angew. Chem.* 1991, 103, 1219-1241
- [5] Vetter, W.; Eantioselektive Bestimmung chiraler Chlorpestizide und PCBs in Meerestieren; *GIT-Labor_Fachzeitschrift* 1998, 42/10,992-995
- [6] Kallenborn; H Hühnerfuss und W.König, *Angew.Chem.*103 (1991) 328, *Angew. Chem. Int.Ed.Engl.*30(1991) 20
- [7] Faller.J; H.Hühnerfuss; W.A.König; R.Krebber und P. Ludwig; *Environ.Sci. Technol.* 25 (1991) 676
- [8] König, W.A.; Eine neue Generation chiraler Trennphasen für die Gaschromatographie; *Nachr.Chem.Tech.Lab.*1989,37,471-476
- [9] Vetter, W., Schuring, V.; Eantioselektive detetmination of chiral organochlorine compound in biota by gas chromatography on modified cyclodextrins ; *J. Chromatography. A.*1997.774,143-175
- [10] Saleh, M. A. (1991): Toxaphene: chemistry/biochemistry, toxicity and environmental fate. *Rev. Environ. Cont. Toxicol.* 118: 1-85
- [11] Hainzl, D., Burhenne, J. und H. Parlar (1994): Isolierung von Einzelsubstanzen für die Toxaphenanalytik. *GIT-Labor-Fachzeitschrift* 4: 285-294
- [12] Landrum, P. F., Pollock, G., Seiber, J., Hope, H. und L. Swanson. (1976): Toxaphene insecticide: Identification and toxicity of a dihydrocamphen component. *Chemosphere* 2: 63-69

8. Literaturverzeichnis

- [13] Krock, B., Vetter, W., Luckas, B. und G. Scherer (1999): Total synthesis of a trichlorocamphene and a tetrachlorodihydrocamphene, and structural feature leading to chlorinated bornanes, camphenes, and dihydrocamphenes. *Chemosphere* 39: 133-142
- [14] Vetter, W., Klobes, U. und B. Luckas (1999): GC/MS analysis of 5-exo,6- exo,8,10-Tetrachlorodihydrocamphene and a heptachloro isolate from *Melipax*. *Organohalogen Compd.* 41: 621-624
- [15] Fürst, P., Fürst, C. und W. Groebel (1989): Zur Analytik polychlorierter Terpene in fetthaltigen Lebensmitteln am Beispiel von Fischölen. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 85: 273-279 8,11,621.
- [16] Saleh, M. A. (1983): Capillary gas chromatography-electron impact and chemical ionization mass spectroscopy of toxaphene. *J. Agric. Food Chem.* 31: 748-751
- [17] Kimmel, L. (1999): Charakterisierung von technischem Toxaphen und rückstandsanalytische Erfassung von relevanten Toxaphenkomponenten in Fischprodukten. Dissertation, TU München
- [18] Parlar, H., Gäb, S., Nitz, S. und F. Korte (1976): Zur Photochemie des Toxaphens: Reaktionen von chlorierten Bornanderivaten in Lösung und adsorbierten Kieselgel. *Chemosphere* 5: 333-338
- [19] Saleh, M. A. und J. E. Casida (1978): Reductive dechlorination of the toxaphene compound 2,2,5-endo,6-exo,8,9,10-heptachlorobornane in various chemical, photochemical, and metabolic systems. *J. Agric. Food Chem.* 26: 583-59
- [20] Vetter, W. und B. Luckas (1995): Theoretical aspects of polychlorinated bornanes and the composition of toxaphene in technical mixtures and environmental samples. *Sci. Total Environ.* 160/161: 505-510
- [21] Turner, W. V., Engel, J. L. und J. E. Casida (1977): Toxaphene components and related compounds: Preparation and toxicity of some hepta-, octa- and nonachlorobornanes, hexa- and heptachlorobornenes, and a hexachlorobornadiene. *J. Agric. Food Chem.* 25: 1394.
- [22] Parlar, H. (1985): Analysis of toxaphene. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 20: 141-158
- [23] U.S. PAT. 2546174 (04.08.1945/27.03.1951), Hercules Powder CO./W. Stonecipher, U.S. PAT. 2545471 (06.09.1947/28.08.1951), Hercules Powder CO./G. A. Buntin, U.S. PAT. 2547164 (08.09.1950/27.10.1953), Hercules Powder CO./G. A. Buntin.

8. Literaturverzeichnis

- [24] Jennings, B. H. und G. H. Herschlach (1965): The chlorination of camphene. *J. Org. Chem.* 30: 3902
- [25] Richey, H. G., Grant, J. E., Garbacik, T. J. und D. L. Dull (1965): Chlorination products of camphene. *J. Org. Chem.* 30: 3909
- [26] Ballschmitter, K. und M. Zell (1980): Baseline studies of the global pollution. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 8: 15-35
- [27] Bidleman, T. F., Falconer R. L. und M. D. Walla (1995): Toxaphene and other organochlorine compounds in air and water at Resolute bay, N.W.T., Canada. *Sci. Total Environ.* 160/161: 55-63
- [28] Bidleman, T. F. and D. C. G. Muir (1993): Analytical and environmental chemistry of toxaphene. Workshop held at Burlington. Ontario, Canada, 4-6 Februar 1993 *Chemosphere* 27: 10 , ISBN 0045-6535
- [29] Alawi, M., Barlas, H., Hainzl, D., Burhenne, J., Coelhan, M. und H. Parlar (1994): A contribution to the HRGC-MS and HRGC-ECD response factors of the environmental relevant toxaphene congeners. *Fresenius Environ. Bull.* 3: 350-357
- [30] Vetter, W., Luckas, B., Heidemann, G. und K. Skirnisson (1996): Organochlorine residues in marine mammals from the northern hemisphere – A consideration of the composition of organochlorine residues in the blubber of marine mammals. *Sci. Total Environ.* 186: 29-39
- [31] Rigaudy, J. und S. P. Klesney (1979): Nomenclature of organic chemistry, sections A, B, C, D, E, F and G. International Union of Pure and Applied Chemistry; Pergamon Press, Oxford
- [32] Frenzen, G., Hainzl, D., Burhenne, J. und H. Parlar (1994): Structure elucidation of the three most important toxaphene congeners by X-ray analysis. *Chemosphere* 28: 2067-2074
- [33] Chandurkar, P. S., Matsumara, F. und T. Ikeda (1978): Identification and toxicity of toxicant Ac, a toxic component of toxaphene. *Chemosphere* 7: 123-130
- [34] Stern, G., Muir, D. C. G., Ford, C. A., Grift, N. P., Dewailly, E., Bidleman, T. F. und M. D. Walla (1992): Isolation and identification of two major recalcitrant toxaphene congeners in aquatic biota. *Environ. Sci. Technol.* 26: 1838-1840

8. Literaturverzeichnis

- [35] Vetter, W., Scherer, G., Schlabach, M., Luckas, B. und M. Oehme (1994): An unequivocal ¹H-NMR structural assignment of TOX8 and TOX9, the most abundant toxaphene congeners in marine mammals. *Fresenius J. Anal. Chem.* 34: 552-558
- [36] Nikiforov, V. A., Tribulovich, V. G. und V. S. Karavan (1995): On the nomenclature of toxaphene congeners. *Organohalogen Compd.* 26: 393-396
- [37] Oehme, M. und R. Kallenborn (1995): A simple numerical code for polychlorinated compound classes allowing an unequivocal derivation of the steric structure, I: Polychlorinated biphenyls and bornanes. *Chemosphere* 30: 1739-1750
- [38] Andrews, P. und W. Vetter (1995): A systematic nomenclature system for toxaphene congeners, part 1: chlorinated bornanes. *Chemosphere* 31: 3879-3886
- [39] Wester, P. G., de Geus, H. -J., de Boer, J. und U. T. Brinkman (1997): Simplenomenclature for chlorinated bornanes, bornenes and bornadienes from which structural information can be directly deduced. *Organohalog*
- [40] anonymous ftp auf folgendem Server: [hpb1.hwc.ca in/pub/tox](ftp://hpb1.hwc.ca/in/pub/tox)
- [41] Vetter, W. und G. Scherer (1998): Variety, structures, GC properties, and persistence of compounds of technical toxaphene (CTTs). *Chemosphere* 37: 2525-2543
- [42] U.S.EPA: United States Environmental Protection Agency (1982): Notice of intent to cancel or restrict registrations of pesticide products containing toxaphene. *Fed. Regis.* 47: No. 229, 53784
- [43] Hainzl, D., Burhenne, J., Barlas, H. und H. Parlar (1995): Spectroscopic characterization of environmentally relevant C₁₀-chloroterpenes from a photochemically modified toxaphene standard. *Fresenius J. Anal. Chem.* 351: 271-285
- [44] Nikiforov, V. A., Karavan, V. A. und S. A. Miltsov (1999): Relative retention times of chlorinated terpenes. *Organohalogen Compd.* 41: 605-609
- [45] Parlar, H., Nitz, S., Michna, A. und F. Korte (1978): Ein Beitrag zur Zusammensetzung des Insektizides „Toxaphen“. Gaschromatographischmassenspektrometrische Charakterisierung eines öligen und eines kristallinen Anteils des technischen Toxaphens und dessen insektizide Wirkung. *Z. Naturforschung* 33b: 915-923
- [46] Streit, B. (1991): *Lexikon der Ökotoxikologie*. VCH Weinheim

8. Literaturverzeichnis

- [47] Oehme, M., Schlabach, M., Kallenborn, R. und J. E. Haugen (1996): Sources and pathways of persistent polychlorinated pollutants to remote areas of the North Atlantic and levels in the marine food chain: A research update. *Sci. Total Environ.* 186: 13-24
- [48] Murphy, T., Mullin, M. D. und J. A. Meyer (1987): Equilibration of polychlorinated biphenyls and toxaphene with air and water. *Environ. Sci. Technol.* 21: 155-162
- [49] Bidleman, T. F., Wideqvist, U., Jansson, B. und R. Soderlund (1987): Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in the atmosphere of Southern Sweden. *Atmos. Environ.* 21: 641-654
- [50] Sanborn, J. R., Metcalf, R. L., Bruce, W. N. und P. Y. Lu (1976): The fate of chlordane and toxaphene in a terrestrial aquatic model ecosystem. *Environ. Entomol.* 5: 533-538
- [51] Magnuson, V., Harris, D., Maanum, W. und M. Fulton (1979): ISHOW user's manual. Information system for hazardous organics in water. Department of Chemistry, Univ. of Minnesota, Duluth, USA
- [52] Matsumura, F. (1985): Toxicology of insecticides. 2. Aufl., Plenum Press, New York, USA
- [53] IARC - International Agency for Research on Cancer (1979): Toxaphene (polychlorinated camphenes). IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans 20: 327-348, IARC, Lyon, Frankreich
- [54] Merck Index (1989): An encyclopedia of chemicals, drugs, and biological: 11. Aufl., Merck & Co., Rahway, New Jersey, USA
- [54] Saleh, M. A., Turner, W. V. und J. E. Casida (1977): Polychlorobornane components of toxaphene, structure toxicity relations and metabolic reductive dechlorination. *Science* 198: 1256-1258
- [55] Paris, D. F., Lewis, D. L. und J. T. Barnett (1977): Bioconcentration of toxaphene by microorganisms. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 17: 564-572
- [56] Isnard, P. und S. Lambert (1989): Aqueous solubility and n-octanol/water partition coefficient correlations. *Chemosphere* 18: 1837-1857
- [57] Hainzl, D. (1994): Isolierung und Identifizierung von C10-Chlorterpenen aus dem Insektizid Toxaphen. Dissertation, GH Kassel

8. Literaturverzeichnis

- [58] Burhenne, J. (1993): Darstellung ökotoxikologisch relevanter Chlorbornane als Referenzsubstanzen für die rückstandsanalytische Bestimmung des Insektizides Toxaphen. Dissertation, Gh Kassel
- [59] Landrum, P. F., Pollock, G., Seiber, J., Hope, H. und L. Swanson. (1976): Toxaphene insecticide: Identification and toxicity of a dihydrocamphen component. *Chemosphere* 2: 63-69
- [60] Burhenne, J., Hainzl, D., Xu, L., Vieth, B., Alder, L. und H. Parlar (1993): Preparation and structure of high-chlorinated bornane derivatives for the quantification of toxaphene residues in environmental samples. *Fresenius J. Anal., Chem.* 346: 779-785
- [62] Hainzl, D., Burhenne, J. und H. Parlar (1993): Isolation and characterization of environmental relevant single toxaphene components. *Chemosphere* 27: 1857-1863
- [63] Casida, J. E., Holmstead, R. L., Khalifa, S., Palmer, K. J., Knox, J. R., Oshawa, T. und R. Y. Wong (1974): Toxaphene insecticide: A complex biodegradable mixture. *Science* 183: 520-521
- [65] Anagnostopoulos, M. L. und H. Parlar (1974): Isolierung, Identifizierung und Toxikologie einiger Toxaphenkomponenten. *Chemosphere* 3: 65-70
- [66] Krock, B., Vetter, W. und B. Luckas (1996): Structure elucidation of a main heptachloro congener of toxaphene in marine organisms after isolation from Melipax.. *Chemosphere* 33: 1005-1019
- [67].Krock,B;Vetter,W; Luckas, B; Scherer, G; (1996): Zur Isolierung und Charakterisierung von TOX7, einem Tpxaphenkongeneren in technischen Gemischen und Umweltproben; Dissertation, Friedrich-Schiller-Universität Jena
- [69] Vetter, W., Klobes, U., Krock, B., Luckas, B., Glotz, D. und G. Scherer (1997): Isolation, structure elucidation and identification of a further major toxaphene compound in environmental samples. *Environ. Sci. Technol.* 31: 3023-3028
- [70] Morison. J.D.: *Asymmetric Synthesis*, 1985, 1, Academic, Orlando.
- [71] Krustilovic, A.M.: *Chiral Separation by HPLC*, Ed., Wiley, New York. 1989.
- [72] Allenmark, S.: *Chromatographic Enantioseparation: Methods and application*, Ellis Horwood, 1991

8. Literaturverzeichnis

- [73] Snopck, J., Jelinck, I., Smolkova-kuelemansova, E.: J. Chromatogr., 1992, 609,1.
- [74] Terabe, S., Otuska, K., Nishi, H. : J. Chromatogr A., 1994, 666, 295; Juvancz, Z., Markides, K.E.. LCGC int, 1992, 5,44.
- [75] Schleimer, M., Schuring, V. Wenclawiak, B. (Hrsg): Analysis with Supercritical Fluids, Ed., Springer, Berlin, 1992.
- [76] Petersson, P., Markides, K.E.: J. Chromatogr. A., 1994,666,381.
- [77] König, W.A.: The Practice of Enantiomer Separation by Capillary Gas Chromatography, Hüthig, Heidelberg, 1987
- [78] Gil-Av, E., Freibush, B., Charles-Sigler, R.: Tetrahedron Lett., 1966, 1009; J. Mol. Evol. 1975,6,131; Liu,R.H.,Ku,W.W.:J. Chromatogr.,1983,271,309.
- [79] Frank, H., Nicholson, G.J.,Bayer, E.: J. Chromatogr. Sci. 1977,15,174; Angew. Chem., 1978, 90, 396; Angew. Chem. Int. Ed. Engel., 1978,17,363; J. Chromatogr. Libr., 1985,32,1.
- [80] Kagan, H.B.: Recueil Trav. Chim. Pays-Bas,1995,114,203.
- [81] Schuring, V., Betschinger,F.: Chem. Rev., 1992,92,873.
- [82] König, W.A., Icheln, D., Runge, T., Pfaffenberger, B.,Ludwig, P. Hühnerfuss, H.: J. High Resolut. Chromatogr., 1991,14,530.
- [83] Watabe, K., Charles, R., Gil-Av, E.: Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1989, 28,194.
- [84] Schring, V., Ossig, J., Link, R.: Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1989,28,194.
- [85] Koppenhöfer, B., Lin, B.: J. Chromatogr. 1989, 481,17.
- [86] Schring, V., Bürkle, W.J.:Am. Chem. Soc., 1982,104,7573.
- [87] Gil-Av, E., Feibush, B., Chrles-Sigler, R., Littlewood, A.B. (Hrsg.): Gas Chromatography, 1966, Institute of petroleum, London, 1967.
- [88] Jung, M., Schmalzing, D., Schuring, V.: J. Chromatogr., 1991,552,.
- [89] Schuring, V.: Angew. Chem., 1984,96,733; Angew. Chem.Int. Ed. Engl., 1984,23,747.
- [90] König, W.A.; ; Sievers, S., Schulze, U.: Angew. Chem.,1980,92,93; Angew. Chem. Int. Ed. Engel., 1980,19,910.

8. Literaturverzeichnis

- [91] König, W.A.; Sievers, S.; J. chromatogr., 1980,200,189.
- [92] König, W.A.; Benecke, I.; Sievers, S.; J. chromatogr., 1981,217,71.
- [93] Oi, N.,Doi, T., Kitahara, H., Inda, Y.: J. chromatogr., 1982,239,493.
- [94] Oi, N., Kitahara, H., Doi, T.: J. chromatogr., 1983,254,282.
- [95] Oi, N.,Doi, T., Kitahara, H., Inda, Y.: J. chromatogr., 1981,208,404.
- [96] Benecke, I., König, W.A.: Angew. Chem. Int. Ed. Engel., 1982,21,709.
- [97] König, W.A., Steinbach, E., Ernst, K.: Angew. Chem. Int. Ed. Engel., 1984,23,527.
- [98] Schuring, V.: Angew. Chem. Int. Ed. Engel., 1977,16,110, Angew. Chem., 1977,89,113.
- [99] Schleimer, M., Schuring, V.: J. chromatogr., 1993,638,85.
- [100] Schuring, V.: Kontakte, 1986,1,3.
- [101] Schuring, V., Wistuba, D.: Tetrahedr. Lett., 1984,25,5633.
- [102] Schuring, V., Schmalzing, D., Schleimer, M.: Angew. Chem. Int. Ed. Engel., 1991,30,987.
- [103] Koscielski, T., Sybilska, D., Jurczak, J.: J. chromatogr., 1983,280,1.
- [104] Juvancz, J., Petersson, P.: J. Microcolumn Separations, 1996,8(2), 99-114.
- [105] Koppenhoefer, B., Graf, R., Holzschuh, H, Nothdurft, A., Trettin, U., Piras, P., Roussel,C.: J. chromatogr., 1994,666,557.
- [106] Schuring, V., Nowothny, H, P.: J. chromatogr., 1988,441,155.
- [107] Fischer, P., Aichholz, R., Bölz, U.,Juza, M., Krimmer, S.: Angew. Chem. Int. Ed. Engel., 1990,29,427.
- [108] Schuring, V., Schmalzing, D., Mühleck, U., Jung, M.,Schleimer, M., Mussche, P., Duvekot, C., Buyten, J.C.: J . High Resolut. Chromatogr./ Chromatogr. Commun., 1990,13,713.
- [109] Mayer, S., Schmalzing, D., Mühleck, U., Jung, M., Schleimer, M.: LC GC Int., 1992,5,58.
- [110] Aichholz, R., Bölz, U. Fischer, P.: High Resolut. Chromatogr., 1990,13,234.
- [111] Schmarr, H., Mosandl, A., Kaunzinger, A.: J. Microcol. Sep., 1991,3,3,395

8. Literaturverzeichnis

- [112] Mosandl, A., Rettinger, K., Fischer, K., Schubert, V., Schmarr, H. G., Maas, B.: High Resolut. Chromatogr., 1990,13,382.
- [113] Bicchi, C., Artuffo, G., Damato, A., Pellegrino, G., Galli, M.: High Resolut. Chromatogr., 1991,14,701.
- [114] Dietrich, A., Maas, B., Karl, V., Kreis, P., Lehmann, D., Weber, B., Mosandl, A.: High Resolut. Chromatogr., 1992,15,176.
- [115] Jung, M., Schuring, V.: Microcol. Sep., 1993,5,11.
- [116] Francotte, E., Grolimund, K., Juvancz, Z.: Chirality, 1993, 5, 232.
- [117] Hobo, T., Suzuki, S., Watabe, K., Gil-Av, E.: Anal. Chem. 1985,57,362.
- [118] Petersson, P., Reese, S.L., Yi, G., Yun, H., Malik, A., Bradshaw, J.S., Rossiter, B.E., Lee, M.L., Markides, K.: J. Chromatogr., 1994,684,297.
- [119] Juvancz, Z., Grolimund, K., Schurig, V.: High Resolut. Chromatogr., 1993,16,202.
- [120] Yi, G., Bradshaw, J.S., Rossiter, B.E., Malik, A., Li, W., Lee, M.L.: J. Org. Chem., 1993,58,4844.
- [121] Schuring, V., Juvancz, Z., Nicholson, G.J., Schmalzing, D.: High Resolut. Chromatogr., 1991,14,58.
- [122] Mayer, S., Schuring, V.: High Resolut. Chromatogr., 1992,15,129.
- [123] Tang, Y., Zhou, Y., Armstrong, D. W.: J. chromatogr. A., 1992,666,147.
- [124] Jung, M., Schuring, V.: High Resolut. Chromatogr., 1993,16,289.
- [125] Lai, G., Nicholson, G., Bayer, E.: Chromatographia, 1988,26,229.
- [126] Villeirs, A.: C. R. Acad. Sci. 1891,112,539.
- [127] Schardinger, F.: Wien. Klein. Wochenschr., 1904,17,207; Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskrankh. Hyg., Abt. 2, 1911,29,188.
- [128] Freudenberg, K., Cramer, F.: Z. Naturforsch. B, 1948,3,969.
- [129] Schuring, V., Nowothny, H., P.: Angew. Chem. 1990,9,969.
- [130] Cramer, F.: Einschlussverbindungen, Springer, Berlin, 1954.
- [131] Clark, R.J., Coates, J.H., Lincoln, S.F.: Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., 198,46,205.
- [132] Seenger, W.: Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1980,19,344, Zit. Lit.

8. Literaturverzeichnis

- [133] Bender, M. L., Komiyama, M.: Cyclodextrin chemistry, Springer, Berlin, 1978, Zit. Lit.
- [134] Szejtli, J.: Kontakte (Darmstadt), 1988,1,31.
- [135] Jones, S.P., Grant, J. W., Hadgraft, J., Parr, G. D. : Acta Pharm. Technol. 30,1984, 213, 263
- [136] Cramer, F., Hettler, H.: Naturwissenschaften, 1967,54,625.
- [137] Saenger, W. in Atwood, J.L., Davies, J.E.D., MacNicol,D.D. (Hrsg.): Inclusion Compounds, 1984,2,Acafemic, London.
- [138] Wojcik, J.F.: Bioorg. Chem., 1984,12,130.
- [139] Szejtli, J.: Cyclodextrin and their Inclusion Complexes, 1982, Akad. Kiado, Budapest; Cyclodextrin Technology, 1988; Duchene, D. (hrsg.): Cyclodextrin and their Uses in Various Industries, 1987, Les Editions de Sante, Paris; Patington, J. S.: Chem. Br., 1987,23,455.
- [140] Szejtli, J.: Staerke, 1977,29,26.
- [141] Juvancz, J., Alexander, G., Szejtli, J.: High Resolut. Chromatogr./ Chromatogr. Commun., 1987,10,105.
- [142] Betts, T.J.: J. chromatogr., 1993,639,366.
- [143] Bicchi, C. Artuffo, G., Damato, A. , Manzin, V., Galli, A., Galli, M.: High Resolut. Chromatogr., 1992,15,710.
- [144] Schmalzing, D., Jung, M., Mayer, S., Rickert, J., Schuring, V.: High Resolut. Chromatogr., 1992,15,723.
- [145] Keim, W., Köhnes, A. Meltzow, W., Römer; H.: High Resolut. Chromatogr., 1991,14, 507.
- [146] Bicchi, C., Aruffo, G., Damato, A. Manzin, V., Galli, A., Galli, M.: High Resolut. Chromatogr., 1993,16,209.
- [147] Bicchi, C., Damato, A. Manzin, V., Galli, A., Galli, M.: J. Chromatogr. A, 1994,666,137.
- [148] König, W.A., Gehrcke, B.: High Resolut. Chromatogr., 1993,16,175.
- [149] König, W.A, Icheln, D., Runge, T., Pforr, I., Krebs, A.: High Resolut. Chromatogr., 1990,13,207.

8. Literaturverzeichnis

- [150] König, W.A., Krüger, A., Icheln, D., Runge, T.: High Resolut. Chromatogr., 1992,15, 184.
- [151] König, W.A., Lutz, S., Wenz, G.: Angew. Chem. 1988,100,989.
- [152] König, W.A.: Carbohydr. Res., 1989,192,51.
- [153] Wenz, G., Mischnick, P., Krebber, R., Richters, M., König, W.A.: High Resolut. Chromatogr., 1990,13,724.
- [154] Armstrong, D. W., Li, W., Stalcup, A. M., Secor, H.V., Izac, R.R., Secman, J.I.: Anal. Chem. Acta, 1990,234,365.
- [155] Berthold, A., Li, W.Y., Armstrong, D. W.: Carbohydr. Res., 1990,201,175.
- [156] Armstrong, D. W., Li, W., Pitha, J.: Anal. Chem., 1990,62,214.
- [157] Armstrong, D. W., Li, W., Chand, C. D., Pitha, J.: Anal. Chem., 1990,62,914.
- [158] König, W.A., Lutz, S., Wenz, G., von der Bey, E.: High Resolut. Chromatogr., 1988,11,506.
- [159] König, W.A., Lutz, S., Colberg, C., Schnidt, N., Wenz, G., von der Bey, E., Mosandl, A., Günther, C., Kustermann, A.: High Resolut. Chromatogr., 198
- [160] Jung, M., Schuring, V.: High Resolut. Chromatogr., 1993,16,289.
- [161] Nowothny, H. P., Schmalzing, D., Wistuba, D., Schuring, V.: High Resolut. Chromatogr., 1989,12,383.
- [162] Jung, M., Schuring, V.: High Resolut. Chromatogr., 1993,16,215.
- [163] König, W.A., Krebber, R., Mischnick, P.: High Resolut. Chromatogr., 1989,12,732.
- [164] Mosandl, A., Askari, C., Hener, U., Juchelka, D., Lechmann, D., Kreis, P., Motz, C., Plam, U., Schmarr, H. G.: Chirality, 1992,4,50.
- [165] Li, W. Y., Jin, H.L., Armstrong, D.W.: J. chromatogr., 1990,509,303.
- [166] Smith, I.D., Simpson, C.F.: High Resolut. Chromatogr., 1993,16,530.
- [167] Kobor, F., Schomburg, G.: High Resolut. Chromatogr., 1993,16,693.
- [168] Dietrich, A. Maas, B., Messer, W., Bruche, G. Karl, V., Kaunzinger, A., Mosandl, A.: High Resolut. Chromatogr., 1992,16,590.
- [169] Kobor, F., Angermund, K., Schomburg, G.: High Resolut. Chromatogr., 1993,16,299.

8. Literaturverzeichnis

- [170] Mosandl, A.: High Resolut. Chromatogr., 1995,18,152.
- [171] Maas, B., Dietrich, A. Beck, T., Börner, S., Mosandl, A., J. Microcol. Sep., 1995,7,65.
- [172] Runge, T., Lange, M., König, W.A.: Proceedings of 15th Int.Symp.on Capillary Chrom., Riva del Garda, Italy, 24-27.May,1993,(Hüthig, Heidelberg, Germany,1993), 279
- [173] Koscielski, T., Sybilska, D., Jurczak,J.: J. chromatogr., 1983,280,131.
- [174] Smolkova, E., Kralova, H., Krysl, S., Felzl, L.: J. chromatogr., 1982,241,3; Smolkova-Keulemansova, E., ibid., 1982,251,17; Koscielski, T., Sybilska, D., Felzl, L., Smolkova-Keulemansova, E. ibid., 1984,286,23; Krysl, S. Smolkova-Keulemansova, E., ibid., 1985,349,167.
- [175] Sybilska, D., Koscielski, T.: J. chromatogr., 1983,261,357; Koscielski, T., Sybilska, D., Felzl, L. Smolkova-Keulemansova, E.: ibid., 1984,286,23; Smolkova-Keulemansova, E., Pokorna, S., Felzl, L., Tesarik, K.: HRC&CC, J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr.Comm., 1988,11,670.
- [176] Andera, L., Smolkova-Keulemansova, E.: J. Inclusion Phenom., 1987,5,397.
- [177] Hinze, W.L., Riehl, T.E., Armstrong, D.W., DeMond, W., Alak, A., Ward, T.: Anal. Chem., 1985,57,237.
- [178] Alexander, G., Juvancz, Z., Szejtli, J.: High Resolut. Chromatogr., Chromatogr. Commun., 1987,10,105.
- [179]. Venema, A., Tolsma, P.J. A.: High Resolut. Chromatogr., 1989,12,32.
- [180] Schuring, V., Nowotheny, H, P., in Zlathis, A.: Advances in Chromatography, 1987, Berlin, 8-10 September, 1987; J. Chromatogr., 1988, 441, 155
- [181] Nowotheny, H, P., Schmalzing, D., Wistuba, D., Schuring, V.,: Angew. Chem. Int. Ed. Engel., 1989,12,383.
- [182] Schuring, V., Nowotheny, H, P., Schmalzing, D.: Angew. Chem. Int. Ed. Engel., 1989, 28,736.
- [183] Schuring, V., Jung, M., Schmalzing, D., Schleimer, M., Duvekot, J., Buyten, J.C., Peen, J.A., Mussche, P.: J. High Resolut. Chromatogr., 1990,13,470.
- [184] König, W.A.: Gas Chromatographic Enantiomer Separation with Modified Cyclodextrins, Hüthig, Heidelberg, 1992.

8. Literaturverzeichnis

- [185] König, W.A., Lutz, S., Mischnick-Lübbecke, P., Brassat, B. Wenz, G.: J. Chromatogr. 1988,447,23.
- [186] König, W.A., Lutz, S., Wenz, G.: Angew. Chem. Int. Ed. Engel., 1988,27,979.
- [187] König, W.A., Lutz, S., Wenz, G., von der Bey, E.: J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun., 1988,11,506.
- [188] König, W.A., Krebber, R., Wenz, G.: J. High Resolut. Chromatogr., 1989,12,641.
- [189] Armstrong, D.W. Jin, H.L.: J. Chromatogr. 1990,502,154.
- [190] Blum, W., Aichholz, R.: High Resolut. Chromatogr., 1990,13,515.
- [191] Harata, K., Uekama, K. Otagiri, M., Hirayama, F.: J. Inclusion Phenom., 1984,1,279.
- [192] Harata, K., Uekama, K. Otagiri, M., Hirayama, F.: Bull. Chem. Soc. Jpn., 1987,60,497.
- [193] König, W.A., Lutz, S., Evers, P. Knabe, J.: J. Chromatogr. 1990,503,256.
- [194] König, W.A., Krebber, R., Mischnick, P.: High Resolut. Chromatogr., 1989,12,203,723.
- [195] Stezowski, J.J. Czugler, M., Eckle, E.: Proc. Int. Symp. Cyclodextrins 1st, 1981,151.
- [196] Tokuoka, R., Fujiwara, T., Tomita, K.: Acta Crystallogr. Sect., 1981, B27, 1158.
- [197] Czugler, M. Eckle, E., Stezowski, J.J.: J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1981,1291.
- [198] Juvancz, Z., Schurig, V., Grolimund, K.: J. Microcol. Sep. 1993,5,459.
- [199] Vetter, W., Luckas, B., Oehme, M.: Chemosphere, 1996,33,1005.
- [200] Schurig, V.: J. Chromatogr. 1988,441,135.
- [201] Jung, M., Schurig, V.: J. Am. Chem. Soc., 1992,114,529.
- [202] Jung, M., Fluck, M., Schurig, V.: Chirality, 1994, 6, 510.
- [203] Schomburg, G.: J. Chromatogr. Sci., 1983,21,97.
- [204] Vetter, W. (1998): Beiträge zur kongenerspezifischen und enantioselektiven Bestimmung von Rückständen des Organochlorpestizides Toxaphen in marinen Organismen. Habilitationsschrift, Biologisch-Pharmazeutische Fakultät, Friedrich-Schiller-Universität Jena
- [205] Holmstead, R. S., Kalifa S. und J. E. Casida (1974): Toxaphene composition analyzed by combined gas chromatography-chemical ionization mass spectroscopy. J. Agric. Food Chem. 24: 620-624

8. Literaturverzeichnis

- [206] de Boer, J., de Geus, H. J. und U. A. T. Brinkmann (1998): Multidimensional gas chromatographic analysis of toxaphene. *Environ. Sci. Technol.* 31: 873-879
- [207] Zhu, J., Mulvihill, M. J. und R. J. Norstrom (1994): Characterization of technical toxaphene using combined high-performance liquid chromatography-gas chromatography-electron capture negative ionization mass spectrometry techniques. *J. Chromatogr. A* 669: 103-117
- [208] Jansson, B. und U. Wideqvist (1983): Analysis of toxaphene (PCC) and chlordane in biological samples by NCI mass spectrometry. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 13: 309-321
- [209] Swackhamer, D. L., Charles, M. J. und R. A. Hites (1987): Quantification of toxaphene in environmental samples using negative chemical ionization mass spectrometry. *Anal. Chem.* 59: 913-917
- [210] Nikiforov, V. A., Karavan, V. A. und S. A. Miltsov (1999): Composition of Camphechlor. *Organohalogen Compd.* 41: 601-604
- [211] Möller, K.; Bretzke, C., Hühnerfuss, H., Kallenborn, R., Kinkel, J.N., Kopf J., Rimkus, G.; *Angew.Chem.*(1194),106,911-912
- [212] Beyer, H., Walter, W., (1991) *Lehrbuch der Organischen Chemie* ; S. Hirzel Verlag, Stuttgart
- [213] Ettre, L.S. Hinshaw, J.V., Rohrschneider, L.; (1996): *Grundbegriffe und Gleichungen in der Gasschromatographie*; Hüthig Verlag, Heidelberg
- [214] Kallenborn, R., Oehme, M., Vetter, W. und H. Parlar (1994): Enantiomer selective separation of toxaphene congeners isolated from seal blubber and obtained by synthesis. *Chemosphere* 28: 89-98
- [215] Buser, H. R.; Müller, M.D.; (1194): Isomer- and enantiomer-selective analysis of toxaphene components using chiral high-resolution gas chromatography and detection by mass spectrometry/mass spectrometry; *Environ.Sc. Technol.* 28, 119-128
- [216] Blum, W.; Aichholz, R.; (1990): Gas chromatographic enantiomer separation on tert-butyl dimethylsilylated β -cyclodextrin diluted in PS-086. A simple method to prepare enantioselective glass capillary columns *J. High Reso. Chromatogr.* 13, 515-518

8. Literaturverzeichnis

- [217] Vetter, W., Klobes, U., Luckas, B., Hotteringe, G. (1997): Enantiomeric resolution of persistent compound of technical toxaphenen (CCTs) on on tert-butyldimethylsilylated β -cyclodextrinphases. *Chromatographia*. 45,255-262
- [218] Vetter, W., Luckas, B., Hottinger, G.: *High Resolut. Chromatogr.*, 1997.
- [219] Korte, F. (1992): *Lehrbuch der ökologischen Chemie*. 3. Aufl., Thieme Verlag, Stuttgart, ISBN 3-13-586703-X
- [220] Parlar, H., Michna, A., Korte, F. und D. Kotzias (1983): Ökochemische Bewertung des Insektizids Toxaphen. *Chemosphere* 12: 913-934 u. 1443-1458
- [221] Christen, H. R. Vögtle, F.: *Organische Chemie*, Bd. I und II, Ott Salle Verlag, Frankfurt am Main , 1. auflage, 1990.
- [221] Khalifa, S., Holmstead, R. L. und J. E. Casida (1976): Toxaphene degradation by iron(II) protoporphyrin systems. *J. Agric. Food Chem.* 24: 277-282
- [223] Becker, F. (1987): *Entwicklung einer Arbeitsmethode zur Bestimmung von Toxaphen-Rückständen in Umweltproben*. Dissertation, TU München
- [224] Lach, G. (1990): *Zur Problematik der rückstandsanalytischen Bestimmung von Multikomponenten-Gemischen in der Umwelt - aufgezeigt am Beispiel des Insektizides „Toxaphen“*. Dissertation, Gh Kassel
- [225] Lach, G., Ständecke, U., Pletsch, B., Xu, L. und H. Parlar (1991): Ein Beitrag zur Quantifizierung von Toxaphenrückständen in Fischölen. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 192: 440-444
- [226] Korte, R., Scheuner, I. und H. Parlar (1979): Toxaphene (Camphechlor): A special report. *Pure Appl. Chem.* 51: 1583-1601
- [227] Parlar, H. (1988): Photoinduced reactions of two toxaphene compounds in aqueous medium and adsorbed on silica gel. *Chemosphere* 17: 2141-2150
- [228] Parlar, H. und D. Angerhöfer (1991): *Chemische Ökotoxikologie*. Springer Verlag, Berlin
- [129] Clark, J. M. und Matsurmura (1979): Metabolism of Toxaphene by Aqatic sediment and a camphor degradingpseudomonad. *Arch. Environ. Toxicol.* 8: 285-298
- [230] Parlar, H., Fingerling, G., Angerhöfer, D., Christ, G. und M. Coelhan (1997): Toxaphene residue composition as an indicator of degradation pathways. In: Eganhouse,

8. Literaturverzeichnis

- R. (Hrsg.): Molecular markers in environmental geochemistry: Source indicators and process probes. American Chemical Society (ACS), Washington, 346-364
- [231] Saleh, M. A., Skinner, R. F. und J. E. Casida (1979): Comparative metabolism of 2,2,5-endo,6-exo,8,9,10-heptachlorobornane and toxaphene in six mammalian species and chickens. *J. Agric. Food Chem.* 27: 731-737
- [232] Parr, J. F. und S. Smith (1976): Degradation of toxaphene in selected anaerobic soil environments. *Soil Sci.* 121: 52-57
- [233] Mirsatari, S., McChesney, M., Craigmill, A., Winterlin, W. und J. Seiber (1987): Anaerobic microbial dechlorination: An approach to on-site treatment of toxaphene contaminated soil. *J. Environ. Sci. Health* 22: 663-690
- [234] Bouwer, H. (1984): Elements of soil science and groundwater hydrology. G. Bitton und C. P. Gerba (Hrsg.), *Groundwater pollution microbiology*. Wiley & Sons, New York, S. 9.
- [235] Gantzer, C. J. und L. P. Wackett (1991): Reductive dechlorination catalyzed by bacterial transition-metal coenzymes. *Environ. Sci. Technol.* 25: 715-722
- [236] Fingerling, G. (1995): Umwandlung von isolierten Toxaphenkomponenten unter abiotischen und biotischen Bedingungen. Dissertation, Gh Kassel
- [237] Ortiz de Montellano, P. R. (Hrsg.) (1986): *Cytochrom P450. Structure, mechanism and biochemistry*. Plenum Press, New York
- [238] Ritter, R. A. und P. Werner (1991): HWK-Abbau im Boden-Abbau und Biotransformation von leichtflüchtigen Halogenkohlenwasserstoffen im Untergrund. Ecomed, Landsberg
- [239] Korte, F., Ludwig, G. und J. Vogel (1962): Umwandlung von Aldrin (¹⁴C) und Dieldrin (¹⁴C) durch Mikroorganismen, Leberhomogenisate und Moskitolarven. *Liebigs Ann. Chem.* 656: 135-140
- [240] Lichtenstein, E. P. und K. R. Schulz (1960): Epoxidation of aldrin and heptachlor in soils as influenced by autoclaving, moisture and soil types. *J. Econ. Entomol.* 53: 192-197
- [241] Murthy, N. B. K., Lushy, W. L., Liver, J. E. und P. C. Kearney (1984): Degradation of toxaphene fractions in anaerobic soil. *J. Nuclear Agric. Biol.* 13: 16-17
- [242] Maiorino, R. (1980): Toxaphene metabolism by the bovine. Dissertation, Universität von Arizona

8. Literaturverzeichnis

- [243] Fingerling, G., Hertkorn, N. und H. Parlar (1996): Formation and spectroscopic investigation of two hexachlorobornanes from six environmentally relevant toxaphene components by reductive dechlorination in soil under anaerobic conditions. *Environ. Sci. Technol.* 30: 2984-2992
- [244] Fingerling, G., Coelhan, M., Angerhöfer, D. und H. Parlar (1997): Structure stability of chlorinated bornanes in the environment. *Organohalogen Compd* 33: 17-21
- [245] Fingerling, G. und H. Parlar (1997): Spectroscopic characterization of 7b,8c,9-trichlorocamphene-2-one formed from toxaphene components in an anaerobic soil. *J. Agric. Food Chem.* 45: 4116-4121
- [246] Lau, B. P. -Y., Weber, D. und P. Andrews (1994): A potential problem in the analysis of toxaphene by electron-capture negative-ion mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 8: 849-853
- [247] Vetter, W., Krock, B. und B. Luckas (1997): Congener specific determination of compounds of technical toxaphene (CTTs) in different Antarctic seal species. *Chromatographia* 44: 65-73
- [248] Vetter, W. und B. Luckas (1998): On the significance of [M-HCl]- fragment ions in gas chromatography/electron capture negative ionization mass spectra of octachloro compounds of technical toxaphene. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 12: 312-316
- [249] Vetter, W. und G. Scherer (1998): Molecular modeling: an interesting tool to explain persistence and lability of compounds of technical toxaphene. *Organohalogen Compd.* 35: 235-238
- [250] Vetter, W. und G. Scherer (1999): Persistency of toxaphene components in mammals that can be explained by molecular modeling. *Environ. Sci. Technol.* 33: 3458-3461
- [251] Vetter, W., Klobes, U., Krock, B., Luckas, B., Glotz, D. und G. Scherer (1997): Isolation, structure elucidation and identification of a further major toxaphene compound in environmental samples. *Environ. Sci. Technol.* 31: 3023-3028
- [252] Miskimmin, B. M., Muir, D. C. G., Schindler, D. W., Stern, G. A. und N. P. Grift (1995): Chlorobornanes in sediments and fish after toxaphene treatment of lakes. *Environ. Sci. Technol.* 29: 2490-2495
- [253] Bidleman, T.F., Muir, D.C.G.. *Chemosphere*,1993,27,1825.

8. Literaturverzeichnis

- [254] Vetter, W., Klobes, U., Luckas, B., Hottinger, G.: *Chromatographia*, 1997,45,255.
- [255] Vetter, W., Klobes, U., Hummert, K., Luckas, B.: *High Resolut. Chromatogr.*, 1997,20,85.
- [256] Oehme, M. (1999): Toxaphene, a different environmental problem. Vortrag auf der Dioxin 99, Venedig
- [257] Kallenborn, R., Oehme, M., Vetter, W., Parlar, H.: *Chemosphere*, 1993,28,89.
- [258] Buser, H.R., Müller, M.D.: *Environ. Sci. Technol.* 1994,28,119.
- [259] Karlsson, H., Oehme, M., Müller, L.: *Organohal. Compounds*, 1996,28,410.
- [260] Alder, L., Palavinska, R., Andrews, P.: *Organohal. Compounds*, 1996,28,410.
- [261] Alder, L., Palavinskas, R. und P. Andrews (1996): Enantioselective determination of toxaphene components in fish, monkey adipose tissue from a feeding study and in human milk. *Organohalogen Compd.* 28: 410-415
- [262] Vetter, W., Klobes, U., Kroock, B., Luckas, B.: *J. Microcol.Sep.*, 1997,9, 29
- [263] Buser, H. –R., Oehme, M., Vetter, W. und B. Luckas (1993): Partial structure elucidation of the most abundant octa and nonachlorotoxaphene congeners in marine mammals by using conventional electron ionization mass spectrometry and mass spectrometry/mass spectrometry. *Fresenius J. Anal. Chem.* 347: 502-512
- [264] Parlar, H., Schulz-Jander, D., Fingerling, G., Koske, G., Angerhöfer, D. und J. Burhenne (1998): The role of biotic and abiotic degradation processes during the formation of typical toxaphene patterns in aquatic biota. *Organohalogen Compd.* 35: 221.
- [265] Vetter, W., Klobes, U., Luckas, B. und G. Hottinger (1997): Enantioselective determination of toxaphene and other organochlorines on tert.-butyldimethylsilylated β -cyclodextrin. *Organohalogen Compd.* 33: 63-67
- [266] Kallenborn, R., Oehme, M., Vetter, W. und H. Parlar (1994): Enantiomer selective separation of toxaphene congeners isolated from seal blubber and obtained by synthesis. *Chemosphere* 28: 89-98
- [267] Buser, H –R. und M. D. Müller (1994): Isomeric and enantiomeric composition of different commercial toxaphenes and chlorination products of (+)- and (-) –camphenes. *J. Agric. Food Chem.* 42: 393-400

8. Literaturverzeichnis

- [268] Klobes, U., Vetter, W., Luckas, B. und G. Hottinger (1998): Enantioselective determination of 2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8,8,9,10-octachlorobornane (B8-1412) in environmental samples. *Organohalogen Compd.* 35: 359-362
- [269] Baycan-Keller, R. und M. Oehme (1997): Isomer and enantiomer specific separation of 16 toxaphene congeners by HRGC on different stationary phases. *Organohalogen Compd.* 33: 1-6
- [270] Karlsson, H., Muir, D. C. G., Strachan, W., Backus, S., De Vault, D. und D. M. Whittle (1999): Enantiomer ratios of toxaphene in abiotic and biological samples from Lake Superior. *Organohalogen Compd.* 41: 597-600
- [271] Andrews, P., Headrick, K., Pilon, J. -C., Bryce, F. und F. Iverson (1996): Capillary GC-ECD and ECNI-GCMS characterization of toxaphene residues in primate tissues during a feeding study. *Chemosphere* 32: 1043-1053
- [272] Gill, U. S., Schwartz, H. M., Wheatley, B. und H. Parlar (1996): Congener specific analysis of toxaphene in serum using ECNI-MS. *Chemosphere* 33: 1021-1025
- [273] Niessen, K. H., Helbich, H. M., Teufel, M., Witt, K., Böhn, I. und J. Sartorius (1998): Altbekannte Schadstoffe und neuentdeckte Toxaphene im Fettgewebe von Kindern. *Monatsschr. Kinderheilkd.* 146: 235-240
- [275] Klobes, U. (1998): Isolierung und Strukturaufklärung von 2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8,8,9,10-Octachlorbornan und Dokumentation der Umweltrelevanz dieses persistenten Toxaphenkongeners. Dissertation, Friedrich-Schiller-Universität Jena
- [276] Paasivirta, J. und T. Rantio (1991): Chloroterpenes and other organochlorines in Baltic, Finnish and Arctic wildlife. *Chemosphere* 22: 47-55
- [277] Schramm, K. -W., Marth, P., Lattmann, L., Oxynus, K. und A. Kettrup (1995): A new semiautomatic method based on GPC/HPLC techniques for GC-ECD and GC-MS analysis of toxaphene in environmental samples. *Organohalogen Compd.* 26: 351-356
- [278] Kallenborn, R., Haugen, J. -E. und S. Nybø (1996): Toxaphenes and other organochlorines in Dippers (*Cinclus cinclus* L.) from southern Norway. *Organohalogen Compd.* 28: 469-472
- [279] Vetter, W., Klobes, U. und B. Luckas (1999): Levels of eight toxaphene congeners in different tissues of marine organisms. *Organohalogen Compd.* 41: 587-590

8. Literaturverzeichnis

- [280] Vetter, W. (1999): Persönliche Mitteilungen. Dioxin 99, Venedig und E-mail Schriftverkehr
- [281] Boon, J. P., Sleiderink, H. M., Helle, M. S., Dekker, M., van Schanke, A., Roex, E., Hillebrand, M. T. J., Klamer, H. J. C., Govers, B., Pastor, D., Morse, D., Wester, P. G. und J. de Boer (1998): The use of a microsomal in vitro assay to study phase I biotransformation of chlorobornanes (toxaphene®) in marine mammals and birds. *Comp. Biochem. Physiol. C* 121: 385-403
- [282] Chandra, J. und G. Durairaj (1993): Effect of toxaphene toxicity on enzyme activity & residue levels in vital organs of guinea pig. *Indian J. Med. Res.* 98: 193-198
- [283] Chaturvedi, A. K., Kuntz, D. J. und N. G. S. Rao (1991): Metabolic aspects of the toxicology of mixtures of parathion, toxaphene and/or 2,4-D in mice. *J. Appl. Toxicol.* 11: 245-251
- [284] Hedli, C. C., Snyder, R., Kinoshita, F. K. und M. Steinberg (1998): Investigation of hepatic cytochrome P450 enzyme induction and DNA adduct formation in male CD/1 mice following oral administration of toxaphene. *J. Appl. Toxicol.* 18: 173-178
- [285] Pollock, G. A., Kranec, J. P. und P. R. Niemann (1983): Rat hepatic microsomal enzyme induction by pretreatment with toxaphene and toxaphene fractions. *J. Toxicol. Environ. Health* 6: 115-125
- [286] Kuntz, D. J., Rao, N. G. S., Berg, I. E., Khattree, R. und A. K. Chaturvedu (1990): Toxicity of mixtures of parathion, toxaphene, and/or 2,4-D in mice. *J. Appl. Toxicol.* 10: 257-266
- [287] Drenth, H. -J., Kramer, H. J., Fleuren, R. H. J., Hengeveld, S. G. G., Oehme, M. und M. van den Berg (1999): Metabolism of four toxaphene congeners by rat hepatic microsomes: extrapolation of kinetic data to humans. *Organohalogen Compd.* 41: 591-595
- [288] Xu, L. (1994): Quantifizierung von Toxaphenrückständen mit Hilfe eines neuen Standards und umweltrelevanten Toxaphenkomponenten in Fisch und Fischprodukten. Dissertation, Gh Kassel
- [289] Müller, R. (1998): Bestimmung von Toxaphen- und PCB-Rückständen in ausgewählten Nahrungsmitteln und Umweltproben. Dissertation, TU München
- [290] Koske, G: Dissertation, Tu-München, 1998.