Fraunhofer IME

Westfälische Wilhelms-Universität Münster
Institut für Anorganische und Analytische Chemie

Retrospektive Untersuchung aquatischer Organismen auf Organozinnverbindungen – Belastungsniveaus und Trends

Diplomarbeit

vorgelegt von

Georg Radermacher

1. Gutachter: Prof. Dr. Uwe Karst
2. Gutachter: Prof. Dr. Heiko Hayen

Schmallenberg, August 2015

Die vorgelegte Arbeit wurde von Januar bis August 2015 in der Abteilung Umweltprobenbank und Elementanalytik des Fraunhofer Instituts für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie unter der Betreuung von Dr. Burkhard Knopf ausgearbeitet.

Inhalt

Inhalt I

Abkürzungen IV

1. Einleitung und Zielsetzung 1

2 Grundlagen 2

2.1 Organozinnverbindungen 2

2.1.1 Chemische Eigenschaften 2

2.1.2 Herstellung von Organozinnverbindungen 2

2.1.3 Verwendung von Organozinnverbindungen 3

2.1.4 Eintrag in die Umwelt und Verhalten in der Umwelt 4

2.1.5 Toxizität 7

2.1.6 Rechtsgrundlagen 8

2.2 Die Umweltprobenbank des Bundes 9

2.2.1 Entstehung der Umweltprobenbank des Bundes 9

2.2.2 Die Aufgaben der Umweltprobenbank des Bundes 10

2.2.3 Probenahmegebiete 11

2.2.4 Probenarten 12

2.2.5 Probenahme und -bearbeitung 14

2.2.6 Untersuchte Probenarten 15

2.3 Grundlagen der GC/ICP-MS-Kopplung 22

3 Material und Methoden 24

3.1 Chemikalien 24

3.2 Geräte und Materialien 26

3.3 Allgemeine Angaben zur Arbeitsweise und vorzubereitende Reagenzien 28

3.4 Probenvorbereitung 31

3.4.1 Gefriertrocknung 31

3.4.2 Mikrowellenaufschluss der Gewebeproben 31

3.4.3 Derivatisierung und Extraktion 32

3.4.4 Aufreinigung der organischen Phase 33

3.5 Isotopenverdünnungsanalyse (IVA) 35

3.5.1 Herleitung der Isotopenverdünnungsgleichung 36

3.5.2 Vorteile der Isotopenverdünnungsanalyse und mögliche Fehlerquellen 37

3.5.3 Berechnung der optimalen Menge an Isotopenstandard 39

3.6 Messbedingungen der GC/ICP-MS-Kopplung 40

4 Ergebnisse 42

4.1 Bestimmung der Retentionszeiten 42

4.3 Validierung der Messmethode 43

4.3.1 Selektivität und Spezifität 43

4.3.2 Wiederfindungsrate und Wiederholbarkeit 44

4.3.3 Berechnung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze 45

4.3.4 Festlegung des Arbeitsbereiches 47

4.4 Berechnung der Messunsicherheit 47

4.5 Bestimmung der Butylzinngehalte 50

4.5.1 Auswertung der Rohdaten 50

4.5.2 Zeitreihen Aalmuttermuskulatur 2010-2013 53

4.5.3 Zeitreihen Miesmuschel/Weichkörper 2009-2013 54

4.5.4 Zeitreihen Brassenmuskulatur (2004-2013) 55

4.5.4 Monatshomogenate 2013 - Miesmuschel/Weichkörper 60

5 Diskussion der Ergebnisse 61

5.1 Überprüfung der Methode und Grundvalidierung des neuen Messsystems 61

5.2 Vergleich des Butylzinngehalts frisch getrockneter und alter Proben 62

5.3 Entwicklung der Butylzinnbelastung in Aalmutter und Miesmuschel..... 62

5.4 Entwicklung der Butylzinnbelastung in Brassenmuskulatur..... 65

5.5 Bestimmung von TBT in Miesmuschel-Monatshomogenaten..... 70

6 Zusammenfassung und Ausblick 72

6.1 Zusammenfassung 72

6.2 Ausblick 72

Anhang I

Anhang A: Beispielauswertung I

Anhang B: Beispielhafte tabellarische Zusammenstellung der Daten V

Anhang C Vollständige Zeitreihen 6

Plagiatserklärung..... 9

Danksagung 10

Literaturverzeichnis 11

Abkürzungen

°C	Grad Celsius
AcOH	Essigsäure
AD	Außendurchmesser
BMFT	Bundesministerium für Forschung und Technik
BMI	Bundesministerium des Inneren
BMUB	Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz, Bau und Reaktorsicherheit
BR	Biosphärenreservat
Bu	Butyl
BZV	Butylzinnverbindungen
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cm	Zentimeter
DBT	Dibutylzinn-
EG	Europäische Gemeinschaft
Et	Ethyl
EU	Europäische Union
g	Gramm
GC	Gaschromatographie
Gl.	Gleichung
h	Stunde
ICP-MS	Massenspektrometrie mit Anregung im induktiv gekoppelten Plasma (inductively coupled plasma - mass spectrometry)
ID	Innendurchmesser
IMO	International Maritime Organization
inkl.	inklusive
IVA	Isotopenverdünnungsanalyse
kg	Kilogramm
km^2	Quadratkilometer
L	Liter
m	Meter
m^3	Kubikmeter
M	molar
MAK	Maximale Arbeitsplatzkonzentration
MBT	Monobutylzinn-

Me	Methyl
MeOH	Methanol
mL	Milliliter
µL	Mikroliter
µm	Mikrometer
mind.	mindestens
ms	Millisekunde
m/z	Masse/Ladungsverhältnis
NaOAc	Natriumacetat
nat.	natürlich
ng	Nanogramm
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level
NP	Nationalpark
o. g.	oben genannte
OZV	Organozinnverbindungen
PNF	Probenahmefläche
PP	Polypropylen
RT	Raumtemperatur
s	Sekunde
S	Standardabweichung
S_{rel}	relative Standardabweichung
SEV	Sekundärelektronenvervielfacher
SOP	Standard operation protocol (Standardarbeitsanweisung)
t	Tonne
TBT	Tributylzinn-
TDI	Total Daily Intake
THF	Tetrahydrofuran
TMAH	Tetramethylammoniumhydroxid
u	Atomare Masseeinheit
UBA	Umweltbundesamt
UPB	Umweltprobenbank des Bundes
U/min	Umdrehungen pro Minute
UV	Ultraviolett
z. B.	zum Beispiel
ZRM	zertifiziertes Referenzmaterial

1. Einleitung und Zielsetzung

Seit den 1960er Jahren wurden Tributylzinnverbindungen (TBT) als biozider Wirkstoff in Antifouling-Anstrichen für Schiffsrümpfe zugesetzt. Um 1980 wurde TBT in Frankreich zum ersten Mal mit Schalenverformungen bei Austern in Verbindung gebracht, nachdem in der Bucht von Arcachon die Austernindustrie zusammengebrochen ist. In den folgenden Jahren wurden der Verkauf und die Verwendung von TBT-haltigen Antifouling-Farben zunächst in Frankreich, später in der ganzen EU und weiteren Ländern Schritt für Schritt eingeschränkt, was in einem vollständigen EU-weiten Verbot ab 2003 mündete. Die Umweltprobenbank des Bundes archiviert seit Mitte der 1980er Jahre Umweltproben aus Nord- und Ostsee sowie mehreren deutschen Flüssen. In früheren Arbeiten wurden bereits Zeitreihen von Brassenmuskulatur (1988-2003)[1] sowie Zeitreihen von Aalmuttermuskulatur und Miesmuscheln (1985-2008)[2-4] von TBT und dessen Abbauprodukten Di- und Monobutylzinn (DBT bzw. MBT) erstellt und bewertet.

Bisher wurde für die Bestimmung von Tri-, Di- und Monobutylzinn zunächst die Gaschromatographie (GC) in Kopplung mit einem Atomemissionsdetektor und später die speziesspezifische Isotopenverdünnungsanalyse mit GC/SF-ICP-MS-Kopplung als Trenn- und Detektionseinheit verwendet. Im Rahmen dieser Arbeit soll die bestehende Methode an einem GC/ICP-MS-System mit einem Quadrupol als Massentrenneinheit mittels einer Grundvalidierung etabliert werden. Des Weiteren sollen ausgewählte Zeitreihen mehrerer Probenahmeflächen von den im vorigen Abschnitt genannten biologischen Proben bis zum Jahr 2013 vervollständigt werden. Die Auswahl der Probenahmeflächen soll dabei so getroffen werden, dass die gewonnenen Daten einen möglichst breiten Überblick über den Zustand deutscher Gewässer bezüglich der Belastungen mit Butylzinnverbindungen liefern. Dazu soll die Auswahl der Probenahmeflächen folgende Kriterien erfüllen:

- unterschiedliche Gewässer (Nord-, Ostsee, verschiedene Flüsse)
- unterschiedliche Ökosysteme
- unterschiedliche Nutzung der Gewässer und der Umgebung

Zusätzlich soll am Beispiel der Miesmuschel gezeigt werden, ob und wie sich die Bioakkumulation von Butylzinnverbindungen (BZV) im Jahresverlauf ändert.

2 Grundlagen

2.1 Organozinnverbindungen

2.1.1 Chemische Eigenschaften

Organozinnverbindungen sind organometallische Verbindungen, die in der Regel vierwertiges Zinn als Zentralatom besitzen. Ihre allgemeine Strukturformel lautet:

$$R_nSnX_{(4-n)}$$

mit R = kovalent gebundener organischer Rest
X= anionisches Gegenion
n = natürliche Zahl zwischen 1 und 4

Die Sn-C-Bindung ist stabil gegenüber Reaktionen mit Wasser, Luftsauerstoff und Hitze. Gespalten werden kann die Bindung lediglich durch starke Säuren, stark elektrophile Reagenzien und UV-Strahlung.[5] Die chemischen und physikalischen Eigenschaften der Organozinnverbindungen (OZV) hängen von der Anzahl und der Art der organischen Substituenten und der Elektronegativität des Gegenions ab. Mit steigendem Alkylierungsgrad und steigender Kettenlänge des organischen Restes verringert sich die Wasserlöslichkeit der OZV, gleichzeitig steigt ihre Neigung an Sediment oder Schwebstoffe zu adsorbieren, ebenso nimmt die Bioakkumulation zu. Zusätzlich beeinflussen Faktoren wie der pH-Wert oder die Salinität der Umgebung das Ad- und Desorptionsverhalten der OZV.[6] Beispielsweise ist der pH-Wert ausschlaggebend dafür, in welcher Form hydrolysierte Butylzinnverbindungen in wässrigen Lösungen vorliegen. Ist der pH-Wert kleiner als der pK_a-Wert der BZV, liegt die Verbindung vorwiegend als Kation vor; im entgegengesetzten Fall bildet sich der neutrale Hydroxokomplex. Der pK_a-Wert von TBT wird in der Literatur mit 6,51angegeben.[7]

2.1.2 Herstellung von Organozinnverbindungen

Die industrielle Synthese von OZV verläuft hauptsächlich über das vierfach substituierte Sn-Derivat. Die älteste Methode zur Darstellung dieser Verbindungen ist die Umsetzung von metallischem Zinn (siehe Schema 1 a) oder einem Zinn(II)halogenid mit einer halogenierten organischen Verbindung. Die heutzutage üblicherweise angewandten Darstellungsverfahren basieren auf der Umsetzung von Zinn(IV)halogeniden zu Tetraorganozinnverbindungen. Dies

kann mit einer Grignard-Reaktion (siehe Schema 1 b), einer Transmetallierung mit Alkylaluminiumverbindungen (siehe Schema 1 c) oder der Wurtz-Synthese (siehe Schema 1 d) realisiert werden.[8]

a) $2\ RX + Sn \longrightarrow R_2SnX_2$

b) $SnCl_4 + 4\ RMgX \longrightarrow R_4Sn + 4\ MgXCl$

c) $3\ SnCl_4 + 4\ AlR_3 \longrightarrow 3\ R_4Sn + 4\ AlCl_3$

d) $SnCl_4 + 4\ RCl + 8\ Na \longrightarrow R_4Sn + 8\ NaCl$

Schema 1: Darstellungsverfahren von Organozinnverbindungen.

Im zweiten Reaktionsschritt reagieren die R_4Sn mit $SnCl_4$ in einer Kocheshkow-Reaktion zu Mono, Di- und Tributylzinn. Über die Stöchiometrie der Edukte lässt sich steuern, welche Reaktionsprodukte erhalten werden (siehe Schema 2).[9]

$3\ R_4Sn + SnCl_4 \longrightarrow 4\ R_3SnCl$

$R_4Sn + SnCl_4 \longrightarrow R_3SnCl + RSnCl_3 \longrightarrow 2\ R_2SnCl_2$

$R_4Sn + 3\ SnCl_4 \longrightarrow 4\ RSnCl_3$

Schema 2: Reaktionsgleichungen der Kocheshkow-Reaktionen zur Synthese von TBT, DBT und MBT (d. h. für R = C4H9).

2.1.3 Verwendung von Organozinnverbindungen

Schätzungen zu Folge betrug die Produktion an Organozinnverbindungen Mitte der 1990er Jahre etwa 50.000 t/Jahr. Die praktische Verwendung von OZV beschränkt sich auf Mono-, Di- und Triorganozinnverbindungen. Tetraorganozinnverbindungen dienen zwar als wichtiges Zwischenprodukt in der Synthese der geringer substituierten OZV, finden ansonsten aber keine weitere nennenswerte Anwendung. Ca. 60-70% der Jahresproduktion entfielen auf Mono- und Diorganozinnverbindungen, die hauptsächlich als Hitze- und Licht-Stabilisatoren in PVC eingesetzt werden. Die Verwendung von OZV als Biozid war das zweitgrößte Anwendungsgebiet. Die größte Wirksamkeit und infolgedessen auch die größten Auswirkungen auf die Umwelt gingen von Triorganozinnverbindungen aus. TBT-Verbindungen wurden als Antifouling-Mittel Schiffsfarben zugesetzt, um den Bewuchs der

Schiffsrümpfe durch Algen und/oder Muscheln zu unterbinden. Ferner wurden Triorganozinnderivate als Fungizid, Insektizid oder Akarizid in Landwirtschaft und in Holzschutzmitteln verwendet. Ein kleiner Teil der OZV-Produktion wird als Katalysator in der chemischen Industrie zur Beschichtung von Glas und im Materialschutz verwendet. Einen Überblick über die wichtigsten Anwendungen gibt Tabelle 1.[5,9-10]

Tabelle 1: Übersicht über die Anwendungen von OZV (Daten zusammengestellt aus [5] und [9]).

Anwendung	**Funktion**	**OZV**
PVC-Stabilisation	Licht- und Hitzestabilisator	R_2SnX_2, $RSnX_3$ mit R = Me, Bu, Oct
Antifouling-Anstrich	Biozid	R_3SnX mit R = Bu, Ph
Pflanzenschutzmittel	Fungizid, Insektizid, Akarizid, Antifraßmittel	R_3SnX mit R = Ph, Cy
Holzschutz	Fungizid, Insektizid	Bu_3SnX
Glasveredlung	Precursor für SnO_2-Filme	Me_2SnX_2, $RSnX_3$ mit R = Me, Bu
Materialschutz (Stein, Leder, Papier)	Fungizid, Algizid, Bakterizid	Bu_3SnX
Zusatz bei der Imprägnierung von Textilien	Insektizid, Antifraßmittel	Ph_3SnX
Silikon-, Polyurethan-herstellung	Katalysator	Bu_2SnX_2

2.1.4 Eintrag in die Umwelt und Verhalten in der Umwelt

Die einzigen natürlich vorkommenden Organozinnverbindungen sind methylierte Spezies, die durch Biomethylierung von anorganischem Zinn entstehen.[11] Wie alle übrigen OZV sind auch die BZV, die in der Umwelt auftreten, anthropogenen Ursprungs.[7] Die Hauptbelastung aquatischer Ökosysteme mit TBT entsteht durch den Eintrag aus Antifouling-Anstrichen, da die Verbindungen auf direktem Weg in das Ökosystem gelangen. Dies geschieht sowohl durch Auswaschung der Farben als auch bei der Reparatur und Wartung von Schiffen. Daher ist die Belastung in See- und Flussgebieten mit hohem Schiffsaufkommen mit am höchsten. Zusätzlich können OZV durch Industrieabwässer und durch Auswaschungen aus chemisch

behandelten landwirtschaftlichen Flächen in Gewässer eingetragen werden. Dies ist vor allem in Küstengebieten, für Flusssysteme und das Grundwasser von Bedeutung. Zusätzlich können OZV aus Kunststoffen freigesetzt werden. Hiervon sind besonders Gewässer in der Umgebung von Mülldeponien, kommunale Abwässer und Klärschlämme betroffen. In Abbildung 1 ist eine vereinfachte Darstellung des Eintrags und Verbleibs von OZV in aquatischen Systemen dargestellt. Die Hauptursache für die Kontamination von Böden ist das Aufbringen von Agrarchemikalien auf landwirtschaftliche Flächen. Auch das Ausbringen von belasteten Klärschlämmen trägt hierzu bei.[5,7,9]

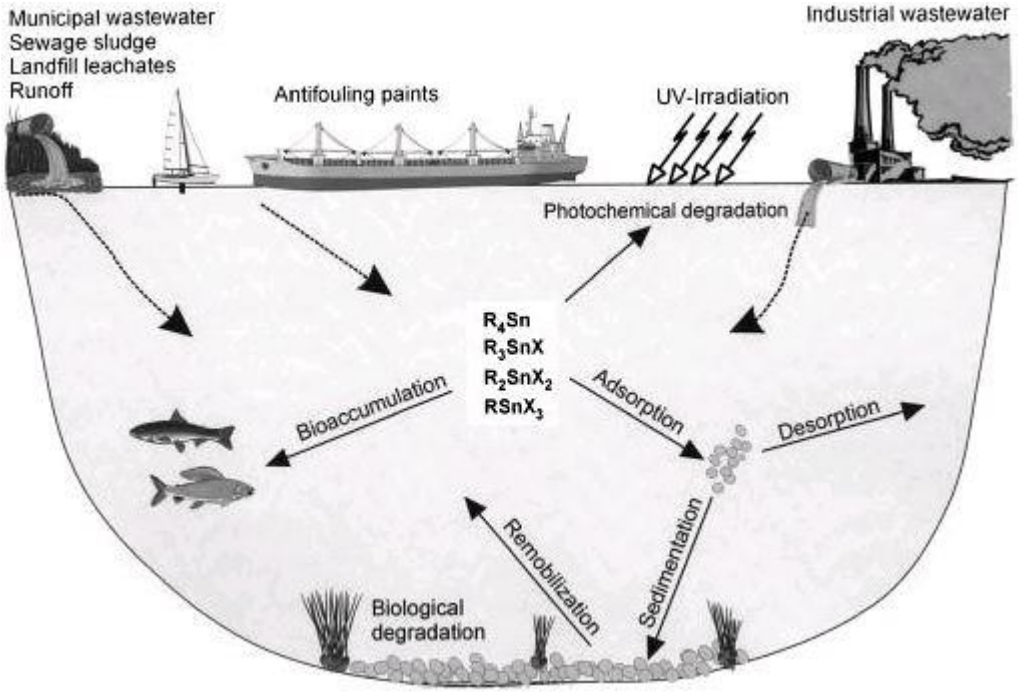


Abbildung 1: Eintrag und Verbleib von OZV in aquatischen Ökosystemen.[9]

Das Verhalten von OZV in der Umwelt kann in die Teilprozesse Abbau, Adsorptionsvorgänge und Bioakkumulation gegliedert werden. Der Abbau erfolgt dabei in schrittweiser Dealkylierung bis hin zum anorganischen Sn-Kation (siehe Schema 3).

Schema 3: Schrittweiser Abbau von OZV.

$$R_4Sn \longrightarrow R_3SnX \longrightarrow R_2SnX_2 \longrightarrow RSnX_3 \longrightarrow SnX_4$$

Das Einwirken von UV-Licht auf OZV ist der schnellste Weg die Sn-C-Bindung zu spalten. Die durch Sonneneinstrahlung induzierte Photolyse verliert jedoch mit zunehmender Wassertiefe an Bedeutung, da die Lichtintensität mit der Tiefe abnimmt. Daher können im Sediment oder in Böden gespeicherte OZV nicht durch UV-induzierte Spaltung abgebaut werden. In diesen beiden Kompartimenten sind vor allem Mikroorganismen, die in der Lage sind OZV zu metabolisieren, für den Abbau verantwortlich. Ferner kann die Sn-C-Bindung durch

natürlich vorkommende elektro- und nucleophile Verbindungen wie z. B. Mineralsäuren oder Carbonsäuren heterolytisch gespalten werden. Ebenfalls wird die Geschwindigkeit des Abbaus von Temperatur, Anwesenheit von Sauerstoff und anderen Umweltbedingungen beeinflusst.[5,9]

OZV können auf verschiedene Arten an Schwebstoffe, Sediment oder Mineralien adsorbiert oder gebunden werden. Tonmineralien und Mineraloxide, die eine negative Ladung an der Oberfläche tragen, sorbieren Triorganozinnverbindungen über Kationenaustauschprozesse. Komplexierende funktionelle Gruppen (z. B. Carboxylat- oder Phenolatgruppen) sind ebenso in der Lage Organozinnverbindungen zu binden. Wichtige Faktoren, welche die Adsorptionsprozesse kontrollieren, sind z. B. die Molekülstruktur der OZV, die vorhandenen Arten an Austauschkationen, der pH-Wert und Salzgehalt des Umgebungswassers sowie die mineralogische und chemische Zusammensetzung des Adsorptionsmaterials. Da Adsorption und Desorption im Gleichgewicht stehen, können Böden und Sedimente als Speicher von OZV dienen. Wenn sich äußere Parameter ändern oder wenn Sedimente durch äußere Einflüsse (z. B. Tidengang, Sturm, Aushebungen) resuspendiert werden, können die OZV wieder an die Wasserphase abgegeben werden.[5,12]

Allgemein kann die Bioakkumulation als ein Gleichgewicht zwischen Aufnahme in Organismen und Ausscheidung bzw. Abbau einer Verbindung angesehen werden. Daher ist sie abhängig von der Bioverfügbarkeit einer Verbindung und der Fähigkeit der Organismen, diese wieder auszuscheiden oder zu metabolisieren. Die Bioverfügbarkeit und folglich auch die Bioakkumulation von Organozinnverbindungen sind, ebenso wie die vorher beschriebenen Prozesse, von einer Vielzahl an Umweltfaktoren abhängig. Neben der Art und der Physiologie der Organismen haben natürlich auch die chemischen Eigenschaften der OZV, insbesondere der lipophile Charakter, der pH-Wert und der Gehalt an organischem Material in der Umgebung, einen großen Einfluss auf die Verfügbarkeit für Organismen. Beispielsweise steigt die Bioverfügbarkeit von TBT, wenn der pH-Wert größer als der pK_a-Wert von TBT ist. Eine Erklärung hierfür ist, dass die neutralen Hydroxokomplexe die Zellmembranen besser passieren können als die TBT-Kationen. Dagegen sinkt die Bioverfügbarkeit in Anwesenheit hoher Konzentrationen an Huminsäuren und anderen ungelösten organischen Verbindungen. Es wird angenommen, dass die gebildeten Komplexe zu groß oder zu polar sind, um über die Zellmembranen aufgenommen zu werden.[5,7,12]

2.1.5 Toxizität

Die Toxizität von OZV ist in erster Linie vom Substitutionsgrad und der Kettenlänge der organischen Reste abhängig. Die größten Auswirkungen auf Organismen werden von trisubstituierten OZV ausgeübt. Dabei ist zu beobachten, dass die Art des organischen Restes entscheidend dafür ist, welcher Organismus von der toxischen Wirkung betroffen ist (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: Wirkung unterschiedlicher Triorganozinnspezies auf Organismen (nach [8]).

Triorganozinnspezies	Organismus
Trimethylzinn	Insekten
Triethylzinn	Säugetiere
Tripropylzinn	gram-negative Bakterien
Tributylzinn	gram-positive Bakterien, Fische Pilze, Weichtiere
Triphenylzinn	Fische, Pilze, Weichtiere
Tricyclohexylzinn	Milben

Die akute Toxizität von OZV sinkt mit zunehmender Kettenlänge. Für Säugetiere sind die kurzkettigen Triethyl- und Trimethylverbindungen am toxischsten. Aus diesem Grund werden diese nicht kommerziell genutzt.[13]

TBT ist wegen seines Einsatzes in Antifouling-Anstrichen sowohl in marinen als auch in limnischen Systemen weit verbreitet. In Folge von Deformierungen und Populationsrückgängen von Muscheln in Arcachon (Frankreich) wurde schon Ende der 1970er und Anfang der 1980er Jahre eine toxische Wirkung von TBT auch auf Nichtzielorganismen angenommen.[14] Die Wirkmechanismen von TBT auf Organismen sind mittlerweile überwiegend aufgeklärt.[7] Die Auswirkungen äußern sich in verschiedenster Form. Zum Beispiel werden bei Austern Schalenverformungen und die Hemmung der Fortpflanzungsfähigkeit beobachtet.[15] Bei über einhundert Vorderkiemerschneckenarten wurde beobachtet, dass TBT die Vermännlichung weiblicher Schnecken schon bei Konzentrationen von 1 ng/L auslöst, die in der Unfruchtbarkeit der weiblichen Schnecke mündet.[5,7] Dieses Phänomen kann in zwei Arten auftreten. Vom Imposex-Phänomen ist die Rede, wenn die weibliche Schnecke zusätzlich zu den weiblichen Geschlechtsorganen männliche ausbildet.

Werden die weiblichen Geschlechtsorgane zu männlichen umgebildet, spricht man vom Intersex-Phänomen.

Informationen über die Toxizität von Organozinnverbindungen auf den menschlichen Organismus können nur aus Unfällen gewonnen werden. Dabei können die Verbindungen oral, durch Inhalation und über die Haut aufgenommen werden. Es ist bekannt, dass OZV bei oraler Aufnahme neurale und renale Schäden verursachen. Akut auftretende Symptome, die nach der Intoxikation mit Tri- und Dimethylzinn beobachtet wurden, sind Gedächtnisverlust, Orientierungslosigkeit, Sprachverlust, Krampfanfälle und Stimmungsschwankungen. In wenigen Fällen führte die Intoxikation zum Tod. Ein Unfall mit Triethylzinn, der für Menschen toxischsten Spezies, in Frankreich endete für mindestens einhundert von tausend Betroffenen tödlich. In etwa zweihundert weiteren Fällen wurden unter anderem Herz-und Atemversagen sowie Sehstörungen diagnostiziert. Hervorgerufen wurden die Symptome durch Hirnödeme.[9] In Tierversuchen wurde festgestellt, dass das Immunsystem am empfindlichsten gegenüber Expositionen von Organozinnverbindungen reagiert. Bei Expositionsversuchen mit TBT an Ratten wurde ein NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) von 0,025 mg/kg Körpergewicht bestimmt. Mit einem Sicherheitsfaktor von 100 wurde auf dieser Grundlage der TDI-Wert (Total Daily Intake) auf 0,00025 mg/kg Körpergewicht festgelegt. Der MAK-Wert (Maximale Arbeitsplatzkonzentration) wurde 2009 von der MAK-Kommission auf 0,02 mg/m^3 Luft für Octylzinnverbindungen und 0,1 mg/m^3 Luft für alle anderen zinnorganischen Verbindungen festgelegt.[16] Bei der Exposition von Versuchstieren wurde eine erhöhte Neigung zur Tumorbildung beobachtet; der genaue Mechanismus der Tumorbildung ist noch nicht bekannt, weshalb eine Extrapolation auf den Menschen schwierig ist.[17] Reproduktionstoxizität und toxische Wirkungen auf endokrine Organe sind in vielen Tierversuchen festgestellt worden. Für Di- und Tributylzinnverbindungen gibt es Anhaltspunkte, dass der Metabolismus menschlicher Steroidhormone beeinflusst wird.[18]

2.1.6 Rechtsgrundlagen

Nachdem in Frankreich die schädliche Wirkung von TBT auf Muscheln und Meeresschnecken festgestellt wurde, erließ die französische Regierung 1982 ein Verbot von TBT in Antifouling-Anstrichen für Schiffe $\leq$ 25 m. Großbritannien (1985), Kanada, Australien (beide 1989) und Japan (1990) waren die ersten Länder, die diesem Beispiel folgten.[5] Mit Verabschiedung der Richtlinie 89/677/EWG[19] gilt ein entsprechendes Verbot

in der EU seit 1989. In Deutschland wurde die Richtlinie in der Gefahrstoffverordnung (GefStoffV) vom 23. April 1990 in nationales Recht umgesetzt (BGBl. I S. 790). Am 9. Juli 2002 hatte die Europäische Union den Verkauf und die Verwendung von TBT-haltigen Schiffsanstrichen ab dem 1. Januar 2003 mit der Richtlinie 2002/62/EG[20] komplett verboten. Seit 2008 dürfen Schiffe mit TBT-haltigen Anstrichen, die unter EU-fremden Flaggen fahren, nicht mehr in europäische Häfen einlaufen. Mit der Richtlinie wurde außerdem die Nutzung von OZV für weitere Biozidanwendungen verboten.

Mit der *„International Convention on the Control of Harmful Anti-fouling Systems on Ships"* startete die International Maritime Organization (IMO) 2001 den Versuch ein weltweites Verbot von Organozinnverbindungen einzuführen. Das angestrebte Ziel der Konvention war ab 2003 TBT in Neuanstrichen und ab 2008 in allen Anstrichen zu verbieten. In Kraft treten konnte die Konvention aber erst am 17. September 2008, nachdem sie von mindestens 25 Staaten unterzeichnet wurde.[21]

Für Bis(tributyltin)oxid (CAS no. 56-35-9) und „Stannane, tributyl-, mono(naphthenoyloxy) derivs." (CAS 85409-17-2) lief zum 1. September 2006 in der EU die Verkehrsfähigkeit für die Nutzung als Holzschutzmittel aus (EU-Verordnung 1048/2005). Für andere Butylzinnverbindungen war die Nutzung als Biozid schon 1998 im Zuge der Einführung der EU-Biozidprodukterichtlinie 98/8/EG (inzwischen ersetzt durch die Biozidprodukteverordnung (EU) 528/2012) beendet worden.

2.2 Die Umweltprobenbank des Bundes

2.2.1 Entstehung der Umweltprobenbank des Bundes

Bereits Anfang der 1970er Jahre wurde die Idee zur Gründung einer Umweltprobenbank (UPB) von deutschen und amerikanischen Wissenschaftlern unterschiedlicher Fachrichtungen hervorgebracht. Die anschließenden Diskussionen führten dazu, dass 1977 und 1978 erste internationale Konferenzen abgehalten wurden. Vorrangige Ziele dieser Konferenzen waren zunächst die Entwicklung eines Konzeptes für die Archivierung von Umweltproben und die Einigung darauf, welche Organismen als Bioindikatoren herangezogen werden. Gleichzeitig starteten in Deutschland und den USA erste analytische Vorstudien. Das damalige Bundesministerium für Forschung und Technik (BMFT) und das Bundesministerium des Inneren (BMI) riefen 1979 ein Pilotprojekt ins Leben, um die Machbarkeit dieses Vorhabens zu untersuchen. Dazu wurde 1980 eine Probenbank für Humanproben in Münster eingerichtet,

die es erlaubte, Proben bei −85 °C zu lagern. Im folgenden Jahr wurde im Forschungszentrum Jülich mit der Entwicklung eines Systems zur Lagerung von Umweltproben unter cryogenen Bedingungen begonnen. Nachdem das Pilotprojekt erfolgreich abgeschlossen wurde, gründete das BMI im Januar 1985 die Umweltprobenbank des Bundes als dauerhafte Einrichtung unter der Leitung des Umweltbundesamtes (UBA). Seit dem Jahr 2000 befindet sich das Lager für Umweltproben im Fraunhofer Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie (IME) in Schmallenberg. Seit 1986 untersteht die UPB dem Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz, Bau und Reaktorsicherheit (BMUB).[22]

2.2.2 Die Aufgaben der Umweltprobenbank des Bundes

Die UPB wurde mit dem Ziel gegründet, ein Archiv für Human- und Umweltproben aufzubauen. Dafür werden Biotaproben in speziellen Behältern über flüssigem Stickstoff bei Temperaturen von −150 °C gelagert (cryogene Lagerung). Zusätzlich wird durch verdampfenden Stickstoff eine Inertgasatmosphäre in den Kühlbehältern erzeugt. Somit sind Veränderungen der Proben selbst und deren Chemikaliengehalte im Laufe der Zeit nahezu ausgeschlossen. Mittlerweile besteht das Archiv aus über 300.000 Biotaproben. Jährlich werden der Sammlung etwa 10.000 Umweltproben hinzugefügt.

Die Arbeit der UPB beschränkt sich jedoch nicht nur auf die Archivierung der Proben, ebenfalls gehört die Untersuchung der Proben und die Bewertung der Ergebnisse zu ihren Aufgaben. Bereits direkt nach der Probenahme werden biometrische Daten wie z. B. Alter, Größe und Gewicht erhoben. Auch wenn einige dieser Daten (z. B. das Alter von Fischen) zunächst nur abgeschätzt werden können und später im Labor genau ermittelt werden müssen, wird hierdurch sichergestellt, dass die Qualitätskriterien der UPB an die Proben eingehalten werden. Zusätzlich liefern biometrische Daten Anhaltspunkte zum allgemeinen Gesundheitszustand einer Art und werden zur Interpretation der chemischen Analyseergebnisse herangezogen. Die Proben werden für verschiedene Zwecke verwendet. Zum einen werden Routineparameter bestimmt wie z. B. ausgewählte organische Schadstoffe (Chlorkohlenwasserstoffe und polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe), toxische Metalle (Cadmium, Quecksilber) sowie deren Elementspezies (Methylquecksilber). Des Weiteren werden die Proben für retrospektive Monitoring Studien eingesetzt. Dazu werden ausgewählte Zeitreihen auf Bestellung aus der UPB entnommen und (teilweise nach Gefriertrocknung) auf den zu testenden Parameter (z. B. Element oder organische Verbindung) untersucht. Im Fall von organischen Verbindungen werden zumeist Fischproben für die Untersuchungen

herangezogen. Auf Grund ihres Lebensraumes unterliegen Fische sowohl Biokonzentration als auch Biomagnifikation. Dadurch stellen sie gute Indikatoren dar, um Erkenntnisse über die Bioakkumulation zu erlangen. Dadurch ergibt sich zum einen die Möglichkeit, die Daten aktueller Proben mit denen alter zu vergleichen. Zum anderen ist für den Fall, dass sich heute bedenkenlos benutzte Stoffe in der Zukunft als schädlich erweisen, Probenmaterial vorhanden, um die Belastung zurückliegender Jahre zu ermitteln. Somit können komplette Zeitreihen dargestellt werden, mit deren Hilfe die Verteilung und das Verhalten von Schadstoffen in der Umwelt über viele Jahre hinweg beobachtet werden können. Damit unterstützt die Umweltprobenbank das BMUB umweltpolitische Entscheidungen auf wissenschaftlicher Basis zu fällen. Zudem wird die Effektivität bereits getroffener gesetzlicher Umweltschutzmaßnahmen und freiwilliger Maßnahmen der Industrie kontrolliert.

2.2.3 Probenahmegebiete

Um den Zustand der Umwelt möglichst umfassend aufzuzeichnen, sind bundesweit insgesamt vierzehn Probenahmegebiete festgelegt worden, die die für Deutschland typischen Ökosysteme repräsentieren. Ferner ist die unterschiedliche Intensität der anthropogenen Flächennutzung und Beeinflussung als Auswahlkriterium mit einbezogen worden. Eine Übersicht über die Lage der Gebiete und die unterschiedlichen Ökosysteme ist in Abbildung 2 dargestellt. Innerhalb der Probenahmegebiete sind für die unterschiedlichen Probenarten meist mehrere kleinräumigere Probenahmeflächen (PNF) eingerichtet worden. Da die Gebietsausschnitte repräsentativ für das gesamte Ökosystem sein sollen, dürfen in ihrer Umgebung keine lokalen Schadstoffemittenten angesiedelt sein. Der einzuhaltende Abstand ist abhängig von der Art der Emission und mehreren natürlichen Faktoren. Daher werden die Probenahmeflächen für jede Probenart nach den Richtlinien zur Probenahme des UBA individuell definiert.

Auf Grund der in der heutigen Zeit zur Normalität gewordenen Mobilität und weitestgehend personalisierten Essgewohnheiten wird davon ausgegangen, dass die Schadstoffbelastung des Menschen standortunabhängig ist. Daher werden die Humanproben nur in den vier Universitätsstädten Greifswald, Halle a. d. Saale, Münster und Ulm genommen.

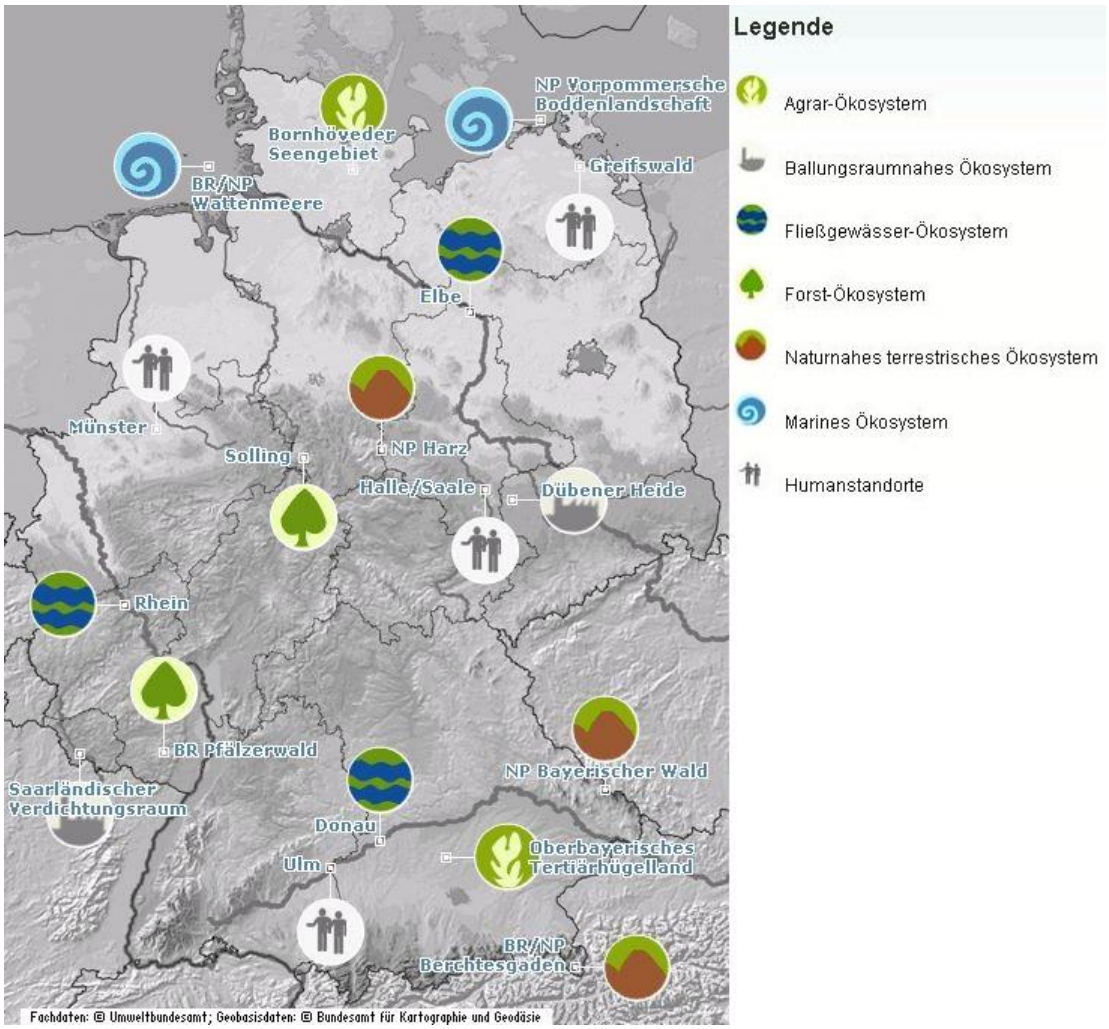


Abbildung 2: Geographische Lage und ökosystematische Zugehörigkeit der Probenahmegebiete.[23]

2.2.4 Probenarten

Ebenso wie die Probenahmegebiete werden die Probenarten nach bestimmten Kriterien ausgewählt. In erster Linie sollen die Spezies nicht vom Aussterben bedroht sein. Zum einen soll verhindert werden, dass durch das Sammeln der Proben Bestände gefährdet werden, zum anderen garantiert das Beproben ungefährdeter Arten den Aufbau eines lückenlosen Langzeitarchivs auch für die Zukunft. Des Weiteren sollen die Arten typisch für das betreffende Ökosystem und weit verbreitet sein, sodass Vergleiche zwischen mehreren Probenahmegebieten gezogen werden können. Zusätzlich ist das Probenspektrum für jedes Ökosystem so gefächert, dass möglichst mehrere Stufen der Nahrungskette (Trophiestufen) abgedeckt sind. Ein weiterer Parameter, der bei der Wahl der Spezies berücksichtigt wird, ist die möglichst hohe Standorttreue. Hiermit wird sichergestellt, dass verlässliche Daten für das Gebiet gewonnen werden, aus dem die Proben entnommen worden sind. Damit die Überprüfung nicht nur auf relativ unbelastete Regionen beschränkt ist, verfügen die als

Indikatoren ausgewählten biologischen Organismen über eine hohe Schadstoffresistenz. Darüber hinaus müssen die Arten zweifellos identifizierbar sein, um Verwechslungen und damit verfälschte Ergebnisse auszuschließen. Ferner vervollständigen Boden- und Schwebstoffproben die Aufzeichnungen über den Zustand der Probenahmegebiete. Tabelle 3 zeigt die unterschiedlichen Probenarten und ihre Eigenschaften.

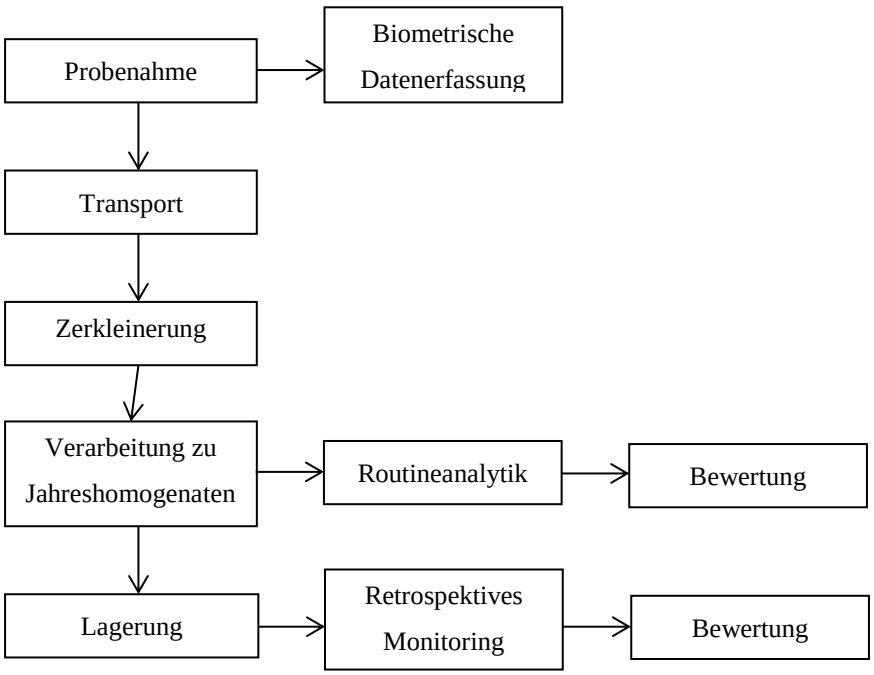
Tabelle 3: Übersicht über die Probenarten in der UPB.[22]

Probenart	Trophiestufe	Probenahme-intervall	Probenmaterial	Ökosystem-typ
Blasentang	Produzent	2 oder 6 pro Jahr	Thallus	M
Miesmuschel	Konsument	2 oder 6 pro Jahr	Weichkörper	M
Aalmutter	Konsument	jährlich	Muskulatur, Leber	M
Silbermöwe	Konsument	jährlich	Eiinhalt	M
Brasse	Konsument	jährlich	Muskulatur, Leber	A, F, B
Dreikant-muschel	Konsument	jährlich	Weichkörper	A, F, B
Schwebstoffe	Medium	monatlich	Partikel < 2 mm	F, B
Regenwurm	Destruent	jährlich	ganzer Körper (entkotet)	A, F, B,
Boden	Medium	alle 4 Jahre	3 Horizonte	A, B, F, N
Fichte, Kiefer	Produzent	jährlich	einjährige Triebe	A, B, F, N
Buche	Produzent	jährlich	Blätter	A, F, N
Pappel	Produzent	jährlich	Blätter	B
Stadttaube	Konsument	jährlich	Eiinhalt	B, A
Reh	Konsument	jährlich	Leber	A, B, F, N
Mensch	Konsument	Jährlich	Vollblut, Blutplasma, 24 h-Urin	B

Legende: M = marin, A = agrarisch, F = forstlich, B = ballungsraumnah, N = naturnah

2.2.5 Probenahme und -bearbeitung

Die einzuhaltenden Arbeitsabläufe werden für alle Teilschritte (siehe Schema 4) durch „Richtlinien zur Probenahme und Probenbearbeitung“[24-29] des UBA vorgegeben. Mit dem Hintergrund, dass die Umweltproben wertvolles Archivmaterial darstellen, dienen die in den Richtlinien festgehaltenen Bestimmungen vor allem der Sicherung der Proben- und Datenqualität. Die Anwendung standardisierter Methoden soll dabei gewährleisten, Verunreinigungen und den Verlust chemischer Informationen möglichst gering zu halten. Denn sowohl die räumliche als auch die zeitliche Vergleichbarkeit der Untersuchungsergebnisse ist eng verknüpft mit der Repräsentativität und Reproduzierbarkeit der Proben.



Schema 4: Schematische Darstellung der Probenahme und -bearbeitung (nach [30]).

Nach der Probenahme wird das Probenmaterial direkt in einen Laborwagen, der mit einer Reinluftwerkbank ausgestattet ist, gebracht. Von Mitarbeitern des Instituts für Biogeographie der Universität Trier werden dort die biometrischen Daten erfasst und die einzulagernden Zielkompartimente (siehe Tabelle 3) entnommen und sofort mit flüssigem Stickstoff auf mind. −150 °C tiefgefroren. Ab diesem Zeitpunkt wird die Kühlkette vom Transport der Proben über die Aufbereitung bis hin zur Einlagerung nicht mehr unterbrochen. Allerdings werden die Muscheln zum Entfernen der Schalen kurzzeitig oberflächlich angetaut. Zur Zerkleinerung und Homogenisierung unter Cryobedingungen wird eine Cryo-Schwingmühle (Probenmenge > 1 kg) oder bei kleineren Mengen eine Planetenkugelmühle verwendet. Dabei werden Korngrößen kleiner als 200 µm erreicht. Die zermahlenen Proben werden in

zweihundert Teilproben aufgeteilt und für die Langzeitlagerung in die Cryobehälter überführt. Um Verunreinigungen während des Mahlprozesses zu vermeiden, befindet sich die Cryo-Schwingmühle in einem Laminar-Flow-Feld. Die übrigen Probenbearbeitungsschritte werden in einer Reinluftwerkbank durchgeführt.

2.2.6 Untersuchte Probenarten



Abbildung 3: Aalmutter.
Foto: UPB-Projektgruppe Trier.[31]

Die in dieser Arbeit untersuchten marinen Proben stammen aus der Muskulatur der Aalmutter (*Zoarces viviparus*) und dem Weichkörper der Miesmuschel (*Mytilus edulis*). Die Aalmutter lebt hauptsächlich in flachen Küstengewässern. Da sie niedrige Salzgehalte toleriert, ist die Aalmutter auch in den stärker schadstoffbelasteten Ästuarregionen der großen Flüsse beheimatet. Ihre Nahrung besteht vorwiegend aus wirbellosen Bodentieren; damit gehört die Aalmutter zu den fleischfressenden Konsumenten. Als einziger lebendgebärender Fisch der deutschen Nord- und Ostseeküste ist die Aalmutter für Monitoring-Programme besonders interessant, da sie nicht nur als Akkumulationsindikator sondern auch als Indikator für Reproduktionsstörungen verwendet werden kann. Die Probenahme findet jährlich vor der Paarung der Elternfische im Mai und Juni statt. Beprobt werden Fische im Alter von eins bis vier Jahren mit einer Mindestlänge von 15 cm. Je nach Größe werden 30-200 Aalmuttern benötigt, um eine ausreichende Menge Muskulatur zu erhalten, die zu einem Jahreshomogenat verarbeitet werden kann.[24,31]



Abbildung 4: Miesmuscheln.
Foto: UPB-Projektgruppe Trier.[32]

Die Miesmuschel ist eine sesshafte marine Lebensform. Um Muschelbänke aufbauen zu können, braucht sie feste Untergründe. Diese können sowohl natürlichen Ursprungs (z. B. Muschelbänke, Felsen) als auch künstlich (z. B. Buhnen, Spundwände) angelegt sein. Die Miesmuschel gewinnt ihre Nahrung als Primärkonsument durch Filtration von vorbeifließendem Wasser. Gleichzeitig nimmt sie eine Vielzahl an gelösten und partikulären organischen und anorganischen Schadstoffen auf. Da sowohl Aufnahme- als auch Akkumulationsrate hoch sind, eignet sich die Miesmuschel sehr gut, die Bioverfügbarkeit chemischer Substanzen nachzuweisen. Das Interesse an ihr wird zusätzlich erhöht durch die Tatsache, dass sie als essbare Muschel Bestandteil der

menschlichen Nahrungskette ist. Da die Schadstoffkonzentration in der Miesmuschel von vielen Faktoren abhängt, wie z. B. der Schadstoffkonzentration im Umgebungswasser, der Jahreszeit, der Wassertemperatur oder der Salinität, wird die Beprobung der Miesmuschel in einem höheren Rhythmus durchgeführt. Wegen der hohen Dynamik des Ökosystems Wattenmeer, verursacht durch den Tidengang und des damit einhergehenden stetigen Stoffaustauschs, werden in der Nordsee ab Februar alle zwei Monate Proben gesammelt. Weil die Dynamik der Ostsee als geringer eingeschätzt wird, ist die Probenahme hier auf zwei Termine pro Jahr (Juni und November) beschränkt. In das Jahreshomogenat gehen alle Teilproben zu gleichen Gewichtsanteilen ein, sodass die durchschnittliche Belastung über den Jahresverlauf repräsentativ ermittelt werden kann.[25,32]

Die Nordsee-Probenahmeflächen von Aalmutter und Miesmuschel liegen im Biosphärenreservat (BR)/Nationalpark (NP) Wattenmeere. Mit ca. 8000 km^2 ist es die größte zusammenhängende Wattfläche der Erde. Mit seinen zahlreichen Lebensräumen bildet das Wattenmeer inklusive seiner Barriereinseln und Salzwiesen eines der wichtigsten Feuchtbiotope, welches eine Vielzahl an Tieren und Pflanzen beheimatet. Trotz intensiver fischereiwirtschaftlicher, landwirtschaftlicher und touristischer Nutzung werden toxische Metalle sowie organometallische und organische Schadstoffe vorrangig durch den Zufluss von Elbe, Ems und Weser in das Probenahmegebiet eingetragen. Daher sind die unterschiedlichen Probenahmeflächen so gewählt, dass den unterschiedlichen anthropogenen Einflüssen Rechnung getragen wird. Die Aalmutter wird auf den Flächen „Hauptprielsystem Meldorfer Bucht“ und „Transekt Varel Mellum“ beprobt (siehe Abbildung 5, Karten 3 und 4). Die Meldorfer Bucht, südlich der Stadt Büsum gelegen, ist auf Grund der Hauptwind- und Strömungsrichtung der Nordsee im Wesentlichen dem Einfluss des Elbästuars ausgesetzt. Einträge aus den Hafenanlagen und Industriestandorten der Region Wilhelmshaven sind maßgeblich für die Wasserqualität der PNF „Transekt Varel Mellum“, das den gesamten sublitoralen Bereich des Jade-Prielsystems umfasst, verantwortlich. Dazu sind hier noch Einflüsse der landwirtschaftlichen Nutzung der Umgebung des Jadebusens zu beobachten. Ebenso werden in der Nordsee Miesmuschelproben auf zwei unterschiedlichen Probenahmeflächen gesammelt. Die PNF „Eckwarderhörne“ (siehe Abbildung 5, Karte 2) befindet sich am Rand des Prielsystems des Jadebusens und ist damit den gleichen Belastungen ausgesetzt wie das „Transekt Varel Mellum“. Dadurch können die Auswirkungen identischer Umweltbedingungen auf unterschiedliche Probenarten untersucht werden. Die PNF „Königshafen“ liegt in einer Bucht im Norden der Insel Sylt. Im Gegensatz zu den anderen drei Gebieten ist sie weitestgehend von industriellen Einträgen und denen

großer Flüsse abgeschirmt. Die hier zu beobachtenden Schadstoffeinträge gehen hauptsächlich auf die land- und fischereiwirtschaftliche sowie touristische Nutzung der Region zurück.[33-36]



Abbildung 5: Karten der Probenahmeflächen in der Nordsee.[33-36]

In der Ostsee, dem größten Brackwassermeer der Erde, ist für Aalmutter- und Miesmuschelproben die PNF „Darßer Ort“ (siehe Abbildung 6) im NP Vorpommersche Boddenlandschaft eingerichtet worden. Sie erstreckt sich über die Küstengebiete im Norden der Halbinsel Fischland/Darß/Zingst bis zu zwei Seemeilen seewärts. Während der Schad- und Nährstoffgehalt in den Bodden in erster Linie von den Flüssen Barthe und Recknitz sowie der Landwirtschaft bestimmt wird, werden in den äußeren Küstenbereichen die geringsten Phosphat- und Stickstoffkonzentrationen der Ostsee gemessen. Daher kann davon ausgegangen werden, dass hier touristische und fischereiwirtschaftliche Nutzung für den maßgeblichen Anteil der Verschmutzung verantwortlich sind.[37-38]

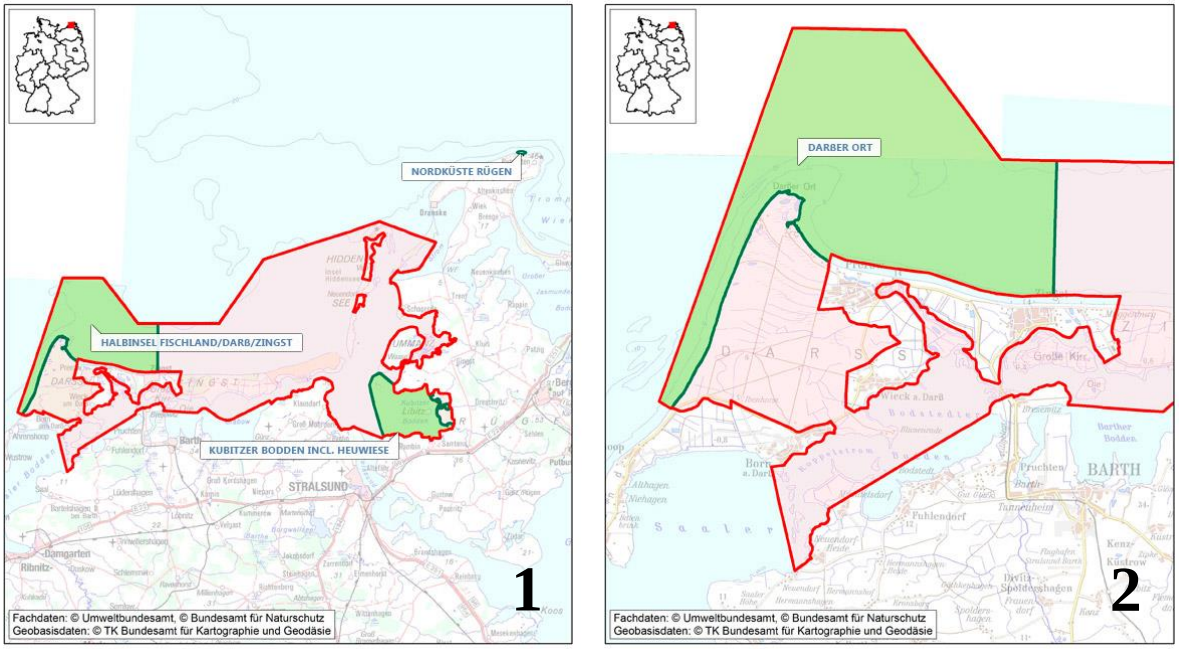


Abbildung 6: Karte Fischland/Darß/Zingst.[37-38]



Abbildung 7: Brasse.
Foto: UPB-Projektgruppe Trier.[39]

Um die Belastung von Frischwasserökosystemen mit Butylzinnverbindungen (BZV) zu dokumentieren, wird Brassenmuskulatur untersucht. Zum Lebensraum der Brasse (*Abramis brama*) zählen langsam fließende und stehende Gewässer. Die Eignung der Brasse als Bioindikator ergibt sich aus unterschiedlichen Gründen. Hohe Schadstoffresistenz in Verbindung mit Toleranz gegenüber unterschiedlich hohen Ausbaustufen von Gewässern verleihen Brassen eine weite ökologische Valenz. Als karnivorer Friedfisch rangiert die Brasse in der Mitte der Nahrungskette. Das Nahrungsangebot besteht zum größten Teil aus Würmern, Schnecken, Larven und kleinen Muscheln; daneben ernähren sie sich von

Plankton und Pflanzen. Bedingt durch die Nahrungsaufnahme tritt die Brasse häufig in Kontakt mit der Gewässersohle. Dadurch dient die Brasse als Indikator für die Belastung von Sediment und Freiwasserkörper. Zudem steht sie als potentieller Speisefisch in Zusammenhang mit der menschlichen Nahrungskette. Die Probenahme erfolgt jährlich nach der Laichperiode im August oder September; in Ausnahmefällen kann die Zeitspanne auf Juli bis Oktober ausgedehnt werden. Beprobt werden acht bis zwölfjährige Brassen, da in dieser Altersklasse die Verfügbarkeit und das Gewicht der einzelnen Tiere sowie ihrer Organe in den meisten Gewässern ausreichend hoch ist. Zudem zeigen Screenings, dass Metalle von Brassen dieses Alters nicht altersabhängig akkumuliert werden. Auch für organische Schadstoffe ist für diese Altersstufe bisher keine altersabhängige Akkumulation bekannt.[26,39]

Die in der vorliegenden Arbeit analysierten Brassenproben stammen aus verschiedenen Flüssen Deutschlands und dem Belauer See in Schleswig-Holstein (siehe Abbildung 8). Die Probenahmeflächen sind so gewählt, dass diverse Arten und Intensitäten der Gewässer- und Landschaftsnutzung sowie unterschiedliche Ausbaustufen kombiniert werden. Die Unterelbe bei Blankenese (siehe Abbildung 8, PNF E5) innerhalb des Ausbaugebietes des Hamburger Hafens wird dementsprechend von der Schifffahrt und der umliegenden Hafenindustrie beeinflusst. An dieser Probenahmestelle wird vor allem der Schadstoffeintrag der Elbe in die Nordsee aufgezeichnet. Die Mittelelbe im Raum Schnackenburg (siehe Abbildung 8, PNF E4) gehört auch zum schiffbaren Teil der Elbe, wegen der Lage der PNF im Landschafts-schutzgebiet Elbe-Aland-Niederung ist die Nutzung der Umgebung von Weidewirtschaft und Waldflächen geprägt. Die PNFs „Saale/Wettin“ und „Mulde/Dessau“ befinden sich im Probenahmegebiet „Dübener Heide“ an Nebenflüssen der Elbe. Es umfasst den Ballungsraum Leipzig/Halle/Bitterfeld und die umliegenden Waldgebiete der Dübener Heide. Chemische Industrie, Bergbau, ehemaliger Braunkohletagebau und landwirtschaftliche Nutzung sind dafür verantwortlich, dass die Region zu den immissionsbelastetsten Mitteleuropas gehört. Die Mulde durchfließt das Naturschutzgebiet „Untere Elbe“ und das BR „Mittlere Elbe“. Dementsprechend ist die Mulde sehr naturbelassen. Die Landschaft der PNF „Saale/Wettin“ hingegen ist stark durch industrielle und urbane Nutzung geprägt, mit dem Hafen Halle-Trotha ist der größte Umschlaghafen der Saale innerhalb der PNF angesiedelt.

Ebenso wird der Rhein, eine der Hauptwasserstraßen Deutschlands, beprobt. Die PNF „Koblenz“ (siehe Abbildung 8, PNF R3) liegt oberhalb der Moselmündung und umfasst das Hafengebiet Ehrenbreitstein. Die angrenzende Fläche unterliegt hier größtenteils der urbanen Nutzung. Dagegen wird die Umgebung der PNF „Bimmen“ (siehe Abbildung 8, PNF R4) an

der deutsch-niederländischen Grenze hauptsächlich landwirtschaftlich genutzt. Während der Flusslauf des kompletten Mittelrheins bis auf einige Ausnahmen, wie z. B. Hafenanlagen, naturbelassen ist, ist der Oberrhein durchgängig begradigt und befestigt. Trotzdem die Wasserqualität des Rheins in den letzten Jahren stark verbessert wurde, transportiert der Rhein immer noch toxische Metalle und organische Schadstoffe in die Nordsee und belastet somit auch die Trinkwasserversorgung des Rheingebiets.

Die PNF „Staustufe Rehlingen“ (siehe Abbildung 8, PNF S2) erfasst die Wasserbelastung der Saar nach dem Austritt aus dem saarländischen Verdichtungsraum. Dazu kommen Einflüsse durch die Schifffahrt und durch die Kläranlage Dillingen. Des Weiteren sind die Altlasten der Steinkohle- und Stahlindustrie noch in den Sedimenten vorhanden. Die PNF „Ulm“ (siehe Abbildung 8, PNF D1) liegt oberhalb der Illermündung in einem Naturschutzgebiet bestehend aus dem Hauptstrom, mehreren Stauhaltungen und Altarmen. Motorisierte Schifffahrt ist in diesem Flussabschnitt verboten, auch anderweitig ist er weitestgehend nutzungsfrei. Ähnlich stellt sich die Situation des Belauer Sees dar. Auf den Flächen rund um den See werden ausschließlich Land- und Forstwirtschaft betrieben, der See wird fischereiwirtschaftlich genutzt. Allerdings ist der Wasserhaushalt des gesamten Bornhöveder Seengebietes durch Dränage und Kies- und Sandabbau gestört.[23]

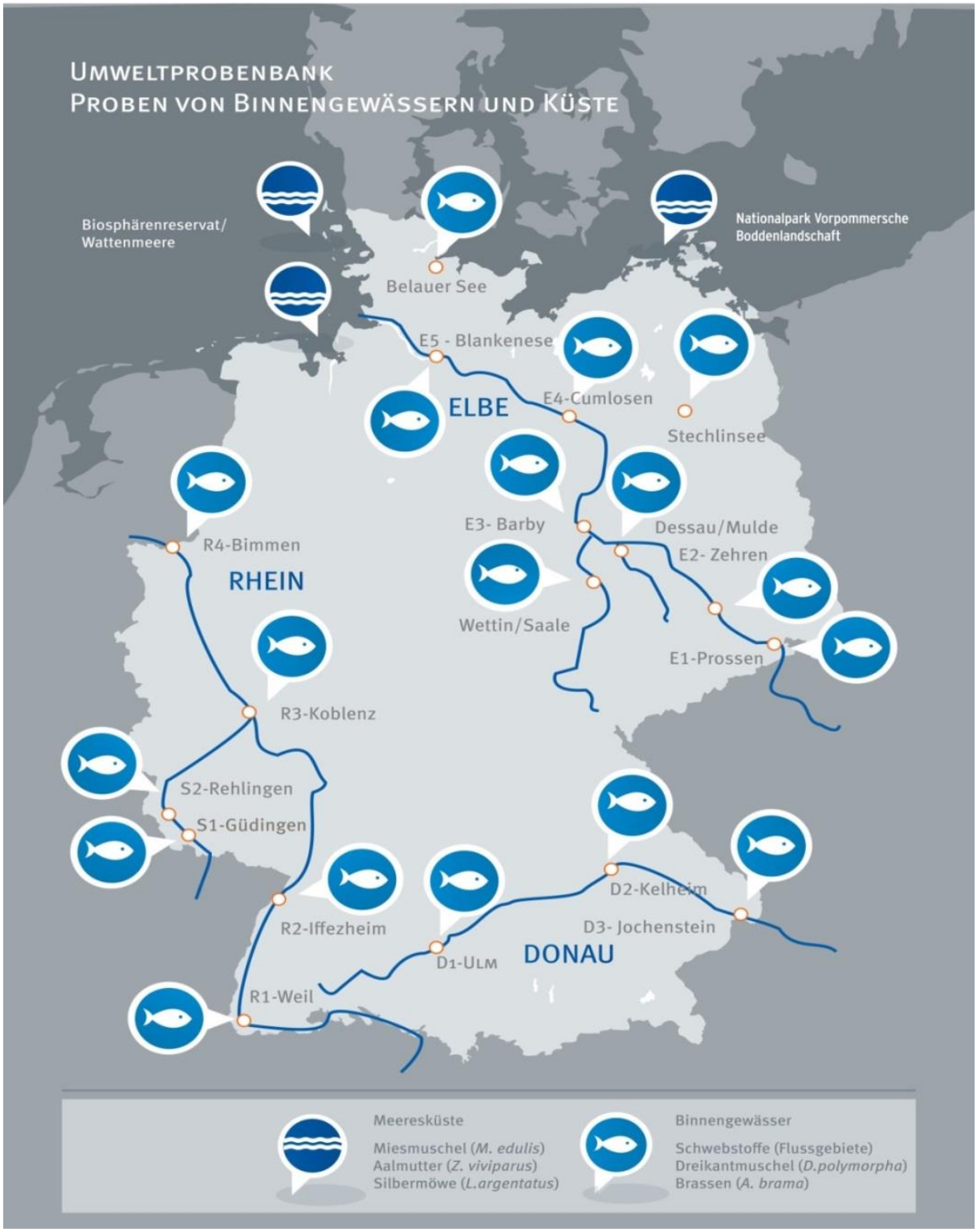


Abbildung 8: Übersichtskarte der Probenahmeflächen von Brassen**.**
Grafik zur Verfügung gestellt vom Umweltbundesamt.

2.3 Grundlagen der GC/ICP-MS-Kopplung

Bei der GC/ICP-MS-Kopplung wird die Probe zunächst gaschromatographisch getrennt. Dazu wird die Probe mittels automatischem Probengeber (Autosampler) in den Injektor eingespritzt, wo die Probe schlagartig verdampft und anschließend durch das Trägergas (mobile Phase) auf die Kapillarsäule (flüssige stationäre Phase) transportiert wird. Prinzipiell werden die Bestandteile in der GC anhand ihrer Siedepunkte getrennt. Daher befindet sich die Kapillarsäule in einem GC-Ofen, der reproduzierbare Betriebstemperaturen garantiert. Da die Trennleistung bei konstanter Temperatur häufig unzureichend ist, wird häufig mit Temperaturprogrammen gearbeitet. Somit werden zunächst stärker flüchtige Substanzen bei geringerer Temperatur basisliniengetrennt. Mit steigender Temperatur gehen dann vermehrt schwerer flüchtige Substanzen in die mobile Phase über. Zusätzlich kann mit Temperaturprogrammen Einfluss auf Retentionszeiten genommen und Peakverbreiterungen entgegengewirkt werden. Weitere Parameter, mit deren Hilfe die Trennleistung kontrolliert werden kann, sind die Polarität und Filmdicke der Kapillarsäule sowie die Länge und der

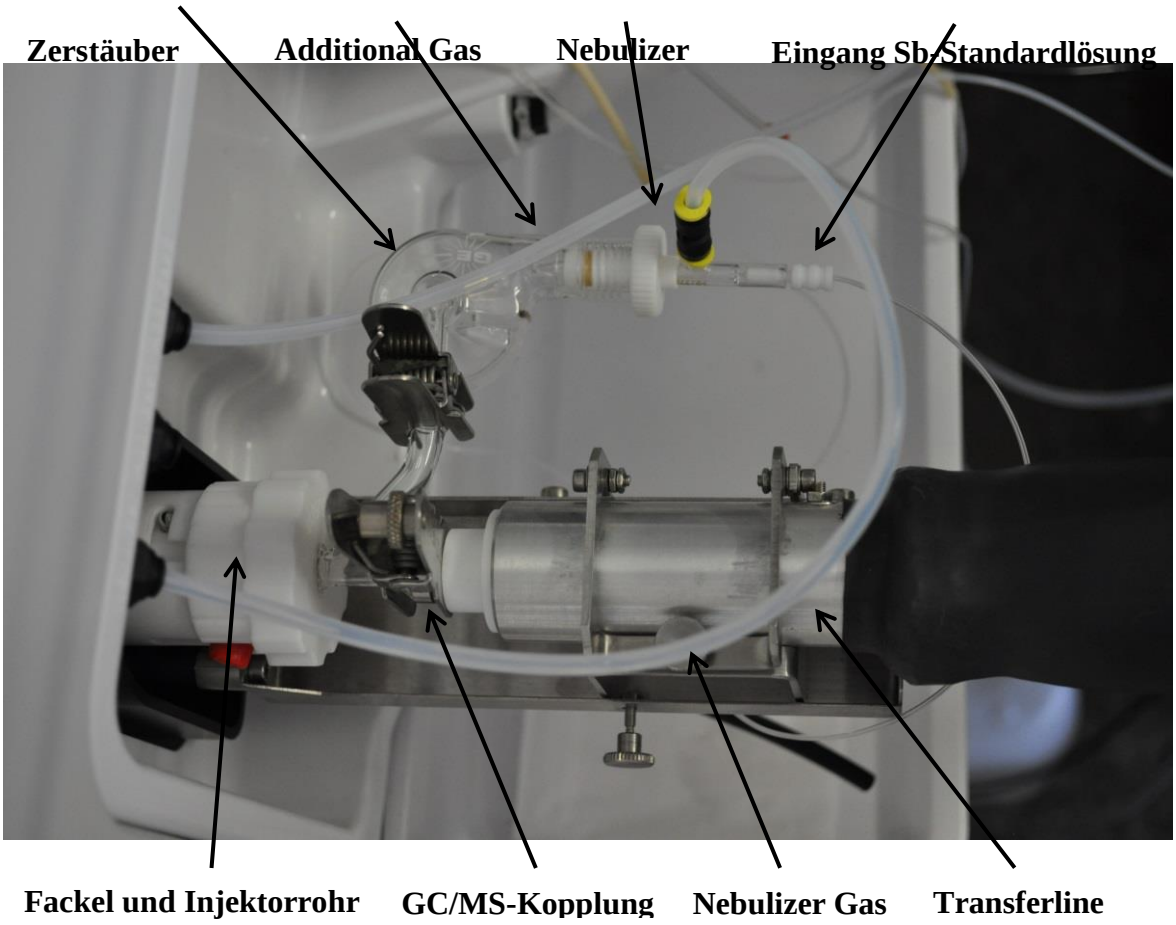


Abbildung 9: GC/ICP-MS-Kopplungseinheit.

Innendurchmesser der Säule. Eine beheizbare Transferleitung (Transferline) überführt die Analyten nach Verlassen der Säule zum GC/ICP-MS-Kopplungseinheit (Interface) (siehe Abbildung 9). Um einen konstanten und ausreichenden Gasstrom zu gewährleisten, wird ein zusätzlicher Argonstrom zugeschaltet. Über einen Zerstäuber mit einer „Twinnabar"-Sprühkammer wird eine Antimon-Standardlösung als Aerosol zum Probengasstrom zuaddiert. Mit Hilfe des Sb-Standards wird das Tuning des Massenspektrometers vorgenommen. Ferner kann durch die Messung des Isotopenverhältnisses $^{121}Sb/^{123}Sb$ die Massendiskriminierung korrigiert werden.[40]

Das Aerosol-Analyt-Gemisch wird im Plasma verdampft, atomisiert und anschließend ionisiert. Da das Plasma unter Normaldruck arbeitet, die Massenseparation und Detektion jedoch im Hochvakuum stattfindet, wird der Ionenstrahl über ein Interface zunächst in die Ionenoptik überführt. Das Interface besteht aus zwei kurz hintereinander angebrachten Metallkegeln mit runden Öffnungen, der Sampler- und der Skimmer-Cone, zwischen denen der Druck auf ca. 2 mbar gesenkt wird. In der Ionenoptik werden Partikel, neutrale Teilchen und Photonen, welche die Detektion stören würden, aus dem Ionenstrahl entfernt und dieser auf den Massenanalysator fokussiert. Im Rahmen dieser Arbeit wurde für die Massenseparation ein Quadrupol verwendet. An zwei gegenüberliegende Stäbe des Quadrupols wird eine Hochfrequenz-Wechselspannung und an die anderen beiden eine Gleichspannung angelegt. Durch die Spannungen werden die Ionen auf spiralförmige Bahnen gelenkt. In Abhängigkeit der Spannungen können nur Ionen mit einem bestimmten Masse zu Ladungsverhältnis (m/z) den Quadrupol durchfliegen und zum Detektor gelangen, alle anderen werden an die Stäbe des Quadrupols abgelenkt. Als Detektor wurde ein Sekundärelektronenvervielfacher (SEV) verwendet.[41-44]

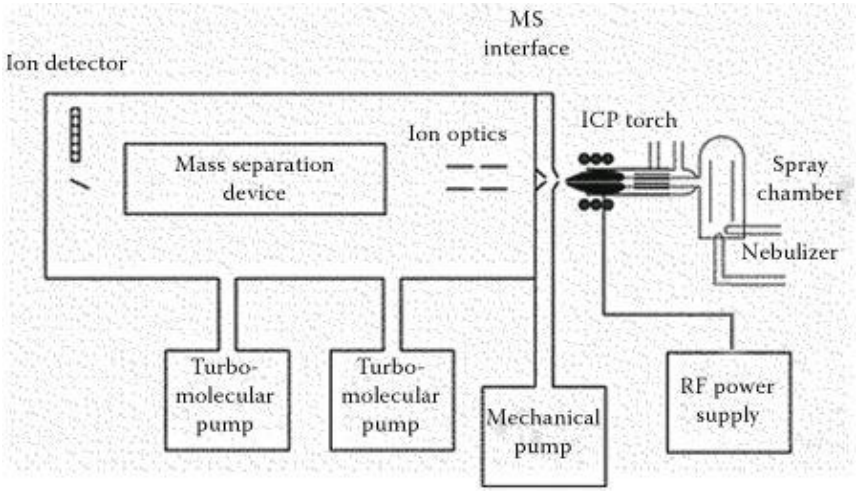


Abbildung 10: Schematischer Aufbau eines ICP-MS mit Quadrupol.[41]

3 Material und Methoden

3.1 Chemikalien

Das Fraunhofer Institut verfügt über jahrelange Erfahrung in der Organozinnanalytik. Um die Kontamination der Proben mit BZV durch die verwendeten Chemikalien möglichst gering zu halten, wurde daher ausschließlich auf Chemikalien zurückgegriffen, die im Haus getestet und als sauber eingestuft wurden. Aus diesem Grund konnten die verwendeten Chemikalien und Standardlösungen ohne weitere Aufreinigung verwendet werden. In Tabelle 4 sind alle für diese Arbeit verwendeten Substanzen unter Angabe der Reinheit und/oder Konzentration und des Herstellers aufgelistet.

Tabelle 4: Liste der verwendeten Chemikalien.

Chemikalien	**Reinheit/Konzentration**	**Hersteller**
^{119}Sn enriched Butyltin Mix	TBT: 1082 ng Sn/g DBT: 693 ng Sn/g MBT: 105 ng Sn/g in 1 mL AcOH/MeOH (3:1)	ISC Science Oviedo; ES
Aceton	für die Rückstandsanalytik, Reinheit ≥ 99,8%	ChemSolute, Th. Geyer GmbH Renningen, DE
$DBTCl_2$ (nat. Isotopen-häufigkeit)	Reinheit mind. 99,80%	Chiron AS Trondheim, NO
Natriumsulfat (Na_2SO_4)	wasserfrei, p. A.	Merck KGaA Darmstadt, DE
	wasserfrei, z. A., Reinheit ≥ 98,5%	ChemSolute, Th. Geyer GmbH Renningen, DE
Essigsäure (AcOH)	Suprapur	Merck KGaA Darmstadt, DE
	p. A., Reinheit ≥ 99,5%	ChemSolute, Th. Geyer GmbH Renningen, DE
HCl, 30%	BAKER INSTRA-ANALYZED Plus	J. T. Baker Deventer, NL

Chemikalien	Reinheit/Konzentration	Hersteller
Hexan	für die Rückstandsanalytik, Reinheit ≥ 95%	ChemSolute, Th. Geyer GmbH Renningen, DE
HNO_3, 69%	Rotipuran Supra 69%	Carl Roth GmbH Karlsruhe, DE
$MBTCl_3$ (nat. Isotopen-häufigkeit)	Reinheit ≥ 96,5%	Chiron AS Trondheim, NO
Methanol (MeOH)	HPLC Gradient Grade	J. T. Baker Deventer, NL
Natriumtetraethylborat ($NaBEt_4$)	Reinheit mind. 98%, Sn-Gehalt < 1 µg/g	ABCR Karlsruhe, DE
Pufferlösung (AcOH/NaOAc)	Certipur, pH = 4,66	Merck KGaA Darmstadt, DE
Sb-Standardlösung	Certipur, 1000 mg Sb/L (Sb_2O_3 in 7% HCl)	Merck KGaA Darmstadt, DE
Sn-Standardlösung	Certipur, 1000 Sn mg/L ($SnCl_4$ in 7% HCl)	Merck KGaA Darmstadt, DE
TBTCl (nat. Isotopen-häufigkeit)	Reinheit ≥ 98,5%	Chiron AS Trondheim, NO
Tetramethylammonium-hydroxid (TMAH)	25 wt% in H_20	Sigma Aldrich Steinheim, DE
THF, Low Water	BAKER ANALYZED HPLC-Solvent	J. T. Baker Deventer, NL
Referenzmaterial		
Mussel Tissue ERM-CE477	TBT: 2200 ng Sn/g DBT: 1540 ng Sn/g MBT: 1500 ng Sn/g	IRMM Geel, BE

Reinstwasser in hoher Qualität (charakterisiert über einem spezifischen Widerstand von mindestens 18,2 MΩcm) wurde mit der Reinstwasseranlage *PURELAB Ultra* der Firma *ELGA LabWater* hergestellt.

3.2 Geräte und Materialien

Gaschromatographie

Gaschromatograph:	Trace 1310	Thermo Fisher Scientific Bremen, DE
Autosampler:	TriPlus RSH	Thermo Fisher Scientific Bremen, DE
Transferline und Controlbox::		Thermo Fisher Scientific Bremen, DE
Software:	Dionex Chromeleon, Version 7.1.2.1713	Thermo Fisher Scientific Bremen, DE

Induktiv gekoppelte Plasmamassenspektrometrie

Massenspektrometer::	iCAP Qc	Thermo Fisher Scientific Bremen, DE
Sprühkammer:	Helix Twinnabar CSC	Glas Expansion West Melbourne, Vic, AUS
Zerstäuber:	MicroMist	Glas Expansion West Melbourne, Vic, AUS
Software:	Qtegra Version 2.2.1465.24	Thermo Fisher Scientific Bremen, DE

Sonstige Geräte

Tabelle 5: Übersicht über sonstige verwendete Geräte.

Gerät	Modell	Hersteller
Analysenwaage:	New Classic MS 304S/01, d = 0,0001 g	Mettler-Toledo GmbH Gießen, DE
Gefriertrocknung:	Christ-Alpha 1-2	Martin Christ Gefriertrocknungs-anlagen GmbH Osterode am Harz, DE
Horizontalschüttler:	GFL 3018	GFL Gesellschaft für Labor-technik mbH Burgwedel, DE
Mikrowelle:	MLS UltraClave II	MLS GmbH Leutkirch im Allgäu, DE
pH-Meter:	inoLab WTW pH720	WTW GmbH Weilheim, DE
pH-Elektrode:	senTix 41-3	WTW GmbH Weilheim, DE
Reinstwasseranlage:	PURELAB Ultra	ELGA LabWater Celle, DE
Ultraschallbad:	Ultrasonic Cleaner	VWR International GmbH Darmstadt, DE
Vortex-Schüttler:	Vortex Genie 2	Scientific Industries Bohemia, NY, USA
Zentrifuge:	Allegra X-15R Centrifuge	Beckmann Coulter GmbH Krefeld, DE
Zymark Turbovap:	TurboVap II Concentration Workstation	Zymark GmbH Idstein, DE

Verbrauchsmaterialien

SPE-Säulen:	Phenomenex Strata SI-1 Silica (1000 mg/6 mL)	Phenomenex Aschaffenburg, DE
Zentrifugenröhrchen:	CELLSTAR 15 mL PP-Zentrifugenröhrchen	greiner bio-one Frickenhausen, DE
Autosampler-Vials:	2 mL Braunglas mit 300 µL Einsatz und Bördelkappe oder Schraubverschluss	WICOM GmbH, Heppenheim, DE
PP-Einweg-Spatel:		VWR International GmbH Darmstadt, DE
Pipetten:	100 µL, 250 µL, 1 mL, 5 mL	Eppendorf Hamburg, DE Gilson International B.V. Limburg-Offheim, DE
Pipettenspitzen:	100 µL, 250 µL, 1 mL, 5 mL	Sarstedt Nürmbrecht, DE STARLAB GmbH Hamburg, DE VWR International GmbH Darmstadt, DE

3.3 Allgemeine Angaben zur Arbeitsweise und vorzubereitende Reagenzien

Sicherheitsmaßnahmen

Wegen der hohen akuten und chronischen Toxizität und der guten dermalen Resorbierbarkeit von OZV wurden bei allen Arbeiten *North Silver Shield*-Handschuhe getragen. Die Permeationszeit für über 280 getestete Chemikalien liegt bei mind. 4 h. Die Handschuhe erfüllen die EU-Normen EN 374, EN 388 und EN 420.

Reinigung der Glasgeräte

Die benutzen Glasgeräte wurden ausschließlich für diese Arbeit genutzt. Zur Reinigung der mikrowellengeeigneten Quarzgefäße (Vials) nach dem Aufschluss der Proben wurde ein Reinigungsaufschluss durchgeführt. Dazu wurden die Vials mit 5 mL 69%iger HNO_3 befüllt, in 25 min auf 220°°C erhitzt und die Temperatur für weitere 30 min gehalten. Der Ladedruck der Mikrowelle beträgt zu Beginn ca. 37 bar und steigt im Laufe des Programms auf ca. 90 bar an. Anschließend wurde dreimal mit Reinstwasser gespült, die Vials für mind. 24 h in 5%ige HCl gelegt, wiederum dreimal mit Reinstwasser gespült und über Nacht bei 60 °C im Trockenschrank getrocknet. Die Auffanggläser, die bei der Aufkonzentration mit dem *Zymark TurboVap II* gebraucht wurden, wurden zunächst mit der Spülmaschine gereinigt, danach ebenfalls für mind. 24 h mit 5%iger HCl befüllt, danach dreimal mit Reinstwasser gespült und über Nacht bei 60 °C in den Trockenschrank gelegt. Das Spülen der Glasgeräte mit Salzsäure war notwendig, weil Zinn(IV)-organische Verbindungen die Eigenschaft haben, an Glas zu adsorbieren[45], und es so zu einem unerwünschten Memory-Effekt kommen kann. Um diesen Effekt möglichst gering zu halten, wurden die aufgeschlossenen Proben vor der weiteren Vorbereitung in Zentrifugenröhrchen aus Polypropylen (PP) umgefüllt. In Vorversuchen konnte in den verwendeten Röhrchen der Firma *greiner bio-one* keine Verunreinigung mit BZV festgestellt werden.

Einwaage

Um Querkontaminationen bei der Einwaage zu vermeiden, wurde das Probenmaterial mit PP-Einwegspateln direkt in die Aufschlussgefäße eingewogen. Da ein Eintrag von BZV in die Proben über die Luft oder Staub nicht zu erwarten ist, wurde hier auf weitere vorbeugende Maßnahmen verzichtet.

Derivatisierungsreagenz

Als Derivatisierungsreagenz wurde 10 %-ige Lösung (gewichtsbezogen) von Natriumtetraethylborat ($NaBEt_4$) in THF verwendet. Im Gegensatz zu wässrigen $NaBEt_4$-Lösungen sind Lösungen in THF stabiler und bis zu vier Wochen haltbar.[46] Da $NaBEt_4$ an Luft selbstentzündlich ist, wurde das $NaBEt_4$ im unter Inertgas stehenden Originalbehälter gelöst und in eine braune Glasflasche überführt. Nachdem die gewünschte Konzentration eingestellt wurde, wurde die Lösung bei −25 °C gelagert.

Verdünnung des ^{119}Sn-angereicherten Butylzinn-Mix

Die ^{119}Sn-angereicherten Butylzinnspezies werden in einem Essigsäure/Methanol-Gemisch (Verhältnis 3:1) gelöst geliefert. Der Inhalt einer Glasampulle (1 mL) wurde mit einer Analysenwaage gewogen, mit der entsprechenden Menge Essigsäure/Methanol-Lösung (3:1) im Verhältnis 1:10 verdünnt und bei −25 °C in einer braunen Glasflasche gelagert. Die für die Messung benötigten Verdünnungen der Aufstockungslösung (Spike-Lösung) wurden anhand bereits vorliegender Daten abgeschätzt und vor jeder Messung in PP-Zentrifugenröhrchen frisch angesetzt.

Antimon-Standardlösung

Die Sb-Standardlösung (1 µg/L) für das Tuning des Massenspektrometers und zur Berechnung der Massendiskriminierung wurde durch Verdünnung der im Handel erhältlichen Sb-Stammlösung (1000 mg/L Sb_2O_3 in 7%iger HCl) mit 0,5 M HNO_3 hergestellt.

MBT, DBT und TBT-Standardlösung

Zur Bestimmung der Retentionszeiten von TBT, DBT und MBT wurde von jeder Spezies eine Lösung mit einem Sn-Gehalt von 4 µg/g hergestellt. Dazu wurden 96 mg $MBTCl_3$, 103 mg $DBTCl_2$ und 109 mg TBTCl eingewogen und mit 9,9 g eines AcOH/MeOH-Gemischs (3:1) versetzt und anschließend nochmals im Verhältnis 1:10 verdünnt.

0,5 M Salpetersäure und 5%ige Salzsäure

a) 32 mL 69%ige HNO_3 wurden mit Reinstwasser auf 1000 mL aufgefüllt.
b) 145 mL 30%ige Salzsäure wurden mit Reinstwasser auf 1000 mL aufgefüllt.

Natriumsulfat, wasserfrei

Wasserfreies Natriumsulfat wurde mind. für 12 h bei 200 °C im Trockenschrank getrocknet.

3.4 Probenvorbereitung

3.4.1 Gefriertrocknung

Die Trocknung der Proben wurde mittels Gefriertrocknung vorgenommen. In früheren Arbeiten wurde gezeigt, dass diese Methode sehr gut für biologische Matrices geeignet ist, da keine Verluste oder Umwandlungen von Butylzinnspezies festgestellt werden konnten.[47] Die Proben wurden ohne Unterbrechung der Kühlkette in die Gefriertrockenanlage gestellt und bis zur Gewichtskonstanz im Vakuum getrocknet. Nach Erfahrungswerten der UPB ist diese nach etwa fünf Tagen erreicht. Daher wurde am fünften Trocknungstag das Gewicht der Proben inkl. Glasflasche und Schraubverschluss bestimmt. Die Proben wurden für weitere 24 h getrocknet und anschließend erneut gewogen. Bei einer relativen Gewichtsdifferenz der beiden Wägungen kleiner als 0,5% wurden die Proben als trocken angesehen. Das getrocknete Material wurde bei 4 °C gelagert und schnellstmöglich weiterverarbeitet.[48]

3.4.2 Mikrowellenaufschluss der Gewebeproben

Wie in Kapitel 2.1.1 schon erwähnt wurde, sind OZV bzw. deren Kationen auf verschiedene Weise an organisches Material gebunden. Um die OZV aus dem Probenmaterial zu lösen, wurde in dieser Arbeit auf eine mikrowellenunterstützte alkalische Hydrolyse mit Tetramethylammoniumhydroxid (TMAH) zurückgegriffen. Frühere Studien belegen, dass diese Methode ein schnelles und effizientes Verfahren zur Freisetzung von Organozinnverbindungen aus biologischen Proben ist. [40,49-50] Durch den Einsatz von Mikrowellengeräten wird die Reaktionsdauer der Hydrolyse von mehreren Stunden auf wenige Minuten verkürzt. [40,49-50] Die genaue Vorgehensweise basiert auf einer von *Point et al.* entwickelten Methode zur Speziesanalyse von OZV[51] und internen Standardarbeitsanweisungen (SOP‘s, Standard Operating Procedure) des *Fraunhofer IME* zur Bestimmung von BZV und Methylquecksilberverbindungen in Umweltproben mittels GC/ICP-MS. Ebenso sind Derivatisierung und Extraktion (siehe Kapitel 3.4.4) und die Aufreinigung der organischen Phase (siehe Kapitel 3.4.5) an o. g. Quellen angelehnt. Ziel war es, möglichst milde Bedingungen für die Extraktion zu finden und damit Verfälschungen der Butylzinnkonzentrationen durch Speziesumwandlungen zu minimieren. Gemäß der Richtlinie zum Aufschluss von Umweltproben der UBA[48] wurden 200 mg Probenmaterial direkt in das Aufschlussgefäß eingewogen, mit 3 mL TMAH-Lösung versetzt und 30 s geschüttelt, um mögliches Verklumpen der Einwaage zu vermeiden. Anschließend wird die zuvor berechnete

Menge der ^{119}Sn-angereicherten Standardlösung (siehe Kapitel 3.5.3) mit einer Pipette hinzugegeben und die addierte Menge mit einer Analysenwaage ausgewogen. Nachdem für weitere 30 s mit dem Vortex-Schüttler equilibriert wurde, wurde das Gemisch nach folgendem Programm mit der Mikrowelle aufgeschlossen:

1) Aufheizen innerhalb von 10 min auf 60 °C
2) Halten der Temperatur von 60 °C für 5 min

Im Anschluss wurde die Aufschlusslösung 15 min im Ultraschallbad nachbehandelt. Auf diese Weise sollte sichergestellt werden, dass noch am organischen Material gebundene BZV in Lösung gebracht werden. Bei jedem Aufschluss wurden Blind- und Referenzproben mitgeführt, um Verunreinigungen durch eingesetzte Chemikalien und Fehler im Versuchsablauf anhand der Wiederfindungsrate zu erkennen.

3.4.3 Derivatisierung und Extraktion

Damit TBT, DBT und MBT gaschromatographisch getrennt werden können, müssen die nicht flüchtigen Kationen zu nicht polaren, leicht flüchtigen Tetraorganozinn-Derivaten umgesetzt werden, ohne dabei Informationen über die Spezies zu zerstören. Ethylierungen mit $NaBEt_4$ (siehe Schema 5) bei gleichzeitiger Extraktion in eine organische Phase haben sich hierfür als effektive und praktikable Verfahren erwiesen.[40,50]

$$(C_4H_9)_3SnCl + NaB(C_2H_5)_4 \longrightarrow (C_4H_9)_3SnC_2H_5 + NaCl + B(C_2H_5)_3$$

Schema 5: Ethylierungsreaktion am Beispiel von TBT.

Die Geschwindigkeit der Reaktion und die zu erreichende Ausbeute hängen vom Alkylierungsgrad der OZV und dem pH-Wert der Lösung ab. Weil MBT stärker polar ist als DBT und TBT, ist es stärker solvatisiert. Dadurch wird der nukleophile Angriff der Ethylgruppe erschwert. Der optimale pH-Wert, um gute Ausbeuten bei der Derivatisierung zu erhalten, liegt nach Literaturangaben zwischen 4 und 5.[46,52-53] Die pH-Wert-Abhängigkeit der Reaktion kann damit erklärt werden, dass das Hydrolysegleichgewicht in wässrigen Lösungen eine pH-Abhängigkeit aufweist (siehe Kapitel 2.2.1). Für niedrige pH-Werte wird angenommen, dass die Abspaltung und Protonierung einer Etyhlgruppe, gefolgt von der Hydrolyse des entstandenen Triethylborans, die Derivatisierung beeinflusst (siehe Schema 6).[52]

$$NaB(C_2H_5)_4 + AcOH \longrightarrow NaOAc + C_2H_6 + B(C_2H_5)_3$$

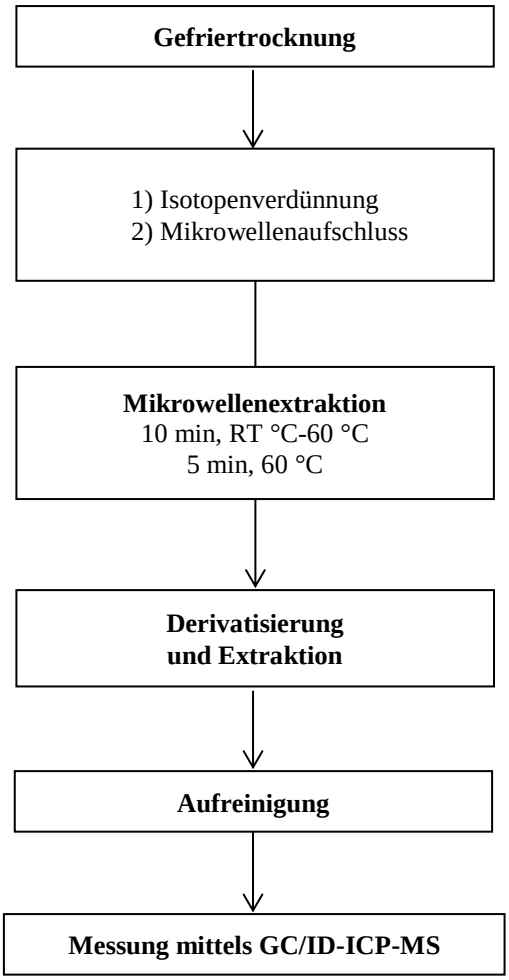
$$B(C_2H_5)_3 + AcOH \longrightarrow B(OAc)_3 + 3\,C_2H_6$$

Schema 6: Vermuteter Abbau-Mechanismus von NaBEt4 bei niedrigen pH-Werten.

Da eine wässrige TMAH-Lösung stark alkalisch ist, musste der pH-Wert gesenkt werden, um die Derivatisierung zu ermöglichen. Daher wurde durch Zugabe von 0,55 mL HNO_3 (69%ig) und 5,45 mL NaOAc/AcOH-Pufferlösung der pH-Wert auf 4,2 ± 0,2 eingestellt. Während der Zugabe der HNO_3 fiel ein weißer bis gelber Niederschlag aus, von dem angenommen wird, dass er aus freien Fettsäuren besteht.[50] Anschließend wurde die Aufschlusslösung mit 200 µL der 10%igen $NaBEt_4$-Lösung versetzt und für weitere 30 s mit dem Vortex-Mixer equilibriert, Dann wurden 2 mL des Extraktionsmittels Hexan hinzugefügt. Nachdem für 1 h mit der Horizontalschüttelmaschine geschüttelt wurde, um vollständige Derivatisierung und Extraktion zu erreichen, wurden die organische und die wässrige Phase mit 3500 U/min bei Raumtemperatur in der Zentrifuge getrennt.

3.4.4 Aufreinigung der organischen Phase

Mit in die organische Phase überführte Fette und Proteine beeinflussen die Qualität der GC/ICP-MS-Messung massiv. Sowohl die Auflösung der Peaks als auch die Sensitivität verschlechtert sich in ihrer Anwesenheit.[51] Daher wurde die organische Phase per Festphasenextraktion gereinigt. Zum Entfernen von H_2O aus der Hexanphase wurden in die Kieselgel-SPE-Kartuschen 3 g wasserfreies Na_2SO_4 eingewogen. Danach wurden die Kartuschen mit 5 mL Hexan konditioniert und die Probe aufgetragen. Anschließend wurden die BZV mit 2 × 2 mL eines Hexan/Aceton-Gemischs (95:5 Vol.-%) eluiert, im Stickstoffstrom auf 100 µL konzentriert und in GC-Autosampler-Vials überführt. Wenn die Messung erst am folgenden Tag durchgeführt wurde, wurden die Proben über Nacht bei −25 °C gelagert.



Schema 7: Fließschema der verwendeten Methode.

3.5 Isotopenverdünnungsanalyse (IVA)

Die Gehalte der drei Butylzinnspezies in den Gewebeproben wurden mit der Isotopenverdünnungsanalyse berechnet, die eine der präzisesten Methoden in der Spurenelementanalytik ist.[54] Das Prinzip der IVA beruht auf der Messung von Isotopenverhältnissen, in den meisten Fällen mit einem Massenspektrometer als Detektionseinheit. Durch das Vorschalten einer chromatographischen Trennmethode können zusätzlich unterschiedliche Elementspezies getrennt und gemessen werden. Die Erweiterung der Methode zur spezies-spezifischen Elementanalyse findet vor allem bei der Bestimmung von schädlichen Elementspezies in Umweltproben Anwendung. Ebenso können Erkenntnisse über Speziesumwandlungen oder den Metabolismus eines Stoffs gewonnen werden.[55-56] Grundvoraussetzung für die Bestimmung von Isotopenverhältnissen eines Elements ist das Vorhandensein von mindestens zwei stabilen bzw. langlebigen Isotopen. Das in dieser Arbeit betrachtete Zinn besitzt mit zehn natürlichen stabilen Isotopen die höchste Anzahl aller Elemente. In Tabelle 6 sind die Isotope mit ihrer relativen Häufigkeit aufgeführt.[57]

Tabelle 6: Die stabilen Isotope des Zinns und deren nat. rel. Häufigkeit.

Isotop	**nat. rel. Häufigkeit [%]**	**rel. Häufigkeit [%] der ^{119}Sn-angereicherten Lösung**
^{112}Sn	0,97	< 0,01
^{114}Sn	0,65	< 0,01
^{115}Sn	0,36	< 0,01
^{116}Sn	14,53	0,029
^{117}Sn	7,68	0,114
^{118}Sn	24,22	14,33
^{119}Sn	8,58	82,40
^{120}Sn	32,59	3,13
^{122}Sn	4,63	< 0,01
^{124}Sn	5,79	< 0,01

3.5.1 Herleitung der Isotopenverdünnungsgleichung

Um die Konzentration eines Elements oder einer Elementspezies zu berechnen, wird die zu bestimmende Verbindung in isotopenangereicherter Form zu der Probe hinzugefügt. Für die Quantifizierung der drei Butylzinnspezies TBT, DBT und MBT mittels Isotopenverdünnungsanalyse ist eine Lösung von ^{119}Sn-angereichertem TBT (c = 1082 ± 17 ng/g), DBT (c = 693 ± 9 ng/g) und MBT (c = 105 ± 2 ng/g) in AcOH/MeOH (Verhältnis 3:1) käuflich zu erwerben. Die Isotopenzusammensetzung, die für alle drei untersuchten Sn-Spezies gleich ist, wird in der rechten Spalte von Tabelle 6 widergegeben. Die Herleitung der Gleichung, mit der die Konzentrationen der drei Butylzinnspezies berechnet werden, wird am Beispiel der in dieser Arbeit verwendeten Isotope ^{119}Sn und ^{120}Sn gezeigt. Dabei ist zu beachten, dass die Berechnung für Tri-, Di- und Monobutylzinn einzeln durchgeführt werden muss. Die Gesamtzahl der Sn-Atome (N_G) nach Zugabe der Indikatorlösung ist die Summe der Sn-Atome in der Probe (N_P) und in der Indikatorlösung (N_{Sp}):

$$N_G = N_P + N_{Sp} \qquad (1)$$

Ebenso kann die Gesamtanzahl der ^{120}Sn-Atome (N_G^{120}) und der ^{119}Sn-Atome (N_G^{119}) in der Mischung durch ähnliche Gleichungen beschrieben werden:

$$N_G^{120} = N_P^{120} + N_{Sp}^{120} \qquad (2)$$

$$N_G^{119} = N_P^{119} + N_{Sp}^{119} \qquad (3)$$

mit N_P^{120} und N_{Sp}^{120}: Anzahl der ^{120}Sn-Atome in der Probe bzw. der Indikatorlösung und
N_P^{119} und N_{Sp}^{119}: Anzahl der ^{119}Sn-Atome in der Probe bzw. der Indikatorlösung.

Durch Division von Gl. (2) durch Gl. (3) wird das Isotopenverhältnis $R_{120/119}$ der Mischung aus Probe und angereichertem Isotopenstandard erhalten (siehe Gl. (4)):

$$R_{\frac{120}{119}} = \frac{N_G^{120}}{N_G^{119}} = \frac{N_P^{120} + N_{Sp}^{120}}{N_P^{119} + N_{Sp}^{119}} = \frac{N_P H_P^{120} + N_{Sp} H_{Sp}^{120}}{N_P H_P^{119} + N_{Sp} H_{Sp}^{119}} \qquad (4)$$

Mit $N_P^{120} = N_P H_P^{120}$, $N_{Sp}^{120} = N_{Sp} H_{Sp}^{120}$, $N_P^{119} = N_P H_P^{119}$ und $N_{Sp}^{119} = N_{Sp} H_{Sp}^{119}$ werden die relativen Häufigkeiten der beiden Isotope in der Probe (H_P^{120} und H_P^{119}) und im isotopenangereicherten Standard (H_{Sp}^{120} und H_{Sp}^{119}) in der Gleichung berücksichtigt. Durch Umformung von Gl. (4) nach N_P erhält man:

$$N_P = N_{Sp} \times \frac{R_{\frac{120}{119}} H_{Sp}^{119} - H_{Sp}^{120}}{H_P^{120} - R_{\frac{120}{119}} H_P^{119}} \qquad (5)$$

Durch Einsetzen von $N_P = N_A \times \frac{c_P m_P}{M_P}$ und $N_{Sp} = N_A \times \frac{c_{Sp} m_{Sp}}{M_{Sp}}$ in Gl. (5) und Umformung nach c_P kann mit Gl. (6) die Konzentration der Butylzinnspezies berechnet werden.

$$c_P = c_{Sp} \times \frac{m_{Sp} M_P (R_{\frac{120}{119}} \times H_{Sp}^{119} - H_{Sp}^{120})}{m_P M_{Sp} (H_P^{120} - R_{\frac{120}{119}} \times H_P^{119})} \qquad (6)$$

c_P und c_{Sp}: Konzentration der Butylzinnspezies in der Probe bzw. in der Indikatorlösung in ng/g als Sn.

m_P und m_{Sp}: Einwaage an Probe bzw. Indikatorlösung in g.

M_P und M_{Sp}: Durchschnittliches Atomgewicht in der Probe bzw. Indikatorlösung in g/mol.

Da Zinn keine natürlichen Schwankungen in seiner Isotopenzusammensetzung aufweist, entsprechen die relativen Häufigkeiten der Isotope H in der Probe den natürlichen relativen Häufigkeiten (siehe Tabelle 6); dementsprechend ist auch das durchschnittliche Atomgewicht gleich dem natürlichen. Ebenso sind die relativen Häufigkeiten und das durchschnittliche Atomgewicht der Indikatorlösung bekannt. Unter der Voraussetzung, dass sowohl die Probe als auch der Isotopenstandard genau eingewogen wurden, befindet sich in Gl. (6) mit dem Isotopenverhältnis $R_{\frac{120}{119}}$ nur noch eine unbekannte Variable, die experimentell mittels GC/ICP-MS bestimmt werden muss.[55] Zur Berechnung der TBT-, DBT- und MBT-Konzentrationen in den Umweltproben, die für diese Arbeit untersucht wurden, wurde Gl. (6) in eine Excel-Tabelle implementiert.

3.5.2 Vorteile der Isotopenverdünnungsanalyse und mögliche Fehlerquellen

Die experimentelle Bestimmung des Isotopenverhältnisses anstatt von Gehalten bietet einige Vorteile gegenüber herkömmlichen Kalibrationsmethoden. Sobald das Gleichgewicht zwischen Probe und Isotopenstandard hergestellt ist, liegt in jedem Aliquot der Probe das gleiche Isotopenverhältnis vor. Substanzverluste durch nicht-quantitative Schritte während der Probenvorbereitung haben somit keinen Einfluss auf das Messergebnis mehr. Zudem ist es nicht notwendig, Verdünnungs- oder Konzentrierungsfaktoren in der Berechnung zu

berücksichtigen. Aus diesen Gründen ist es wichtig, dass die Zugabe des Isotopenstandards und die Einstellung des Gleichgewichtes zwischen Probe und Indikatorlösung so früh wie möglich während der Probenvorbereitung durchgeführt werden. Weitere Vorteile der Isotopenverdünnungsmethode liegen darin, dass Matrixeffekte und instrumentelle Unregelmäßigkeiten wie z. B. Signaldrift das Messergebnis nicht beeinflussen.[55,58]

Im Umkehrschluss bedeutet dies, dass Substanzverluste vor der Gleichgewichtseinstellung und die Nichteinstellung des Gleichgewichts zwischen Probe und Indikatorlösung einen großen Einfluss auf das Isotopenverhältnis haben und eine der Hauptfehlerquellen der Methode sind. Weitere Fehlerquellen, die die Richtigkeit der Messung des Isotopenverhältnisses negativ beeinflussen, sind instrumenteller Natur bezüglich der Massenspektrometrie. Zum einen müssen Interferenzen, die z. B. durch die Matrix oder das Plasmagas hervorgerufen werden können, ausgeschlossen sein. Zum anderen wird durch den Effekt der Massendiskriminierung eine zu hohe Intensität an schwereren Isotopen gemessen. Diese Verfälschung („mass bias“) ist abhängig von der Massendifferenz der Isotope und kann mit Hilfe folgender Gleichung korrigiert werden:[55]

$$R_c = \frac{R_m}{1+F\Delta m} \qquad (7)$$

Dabei stehen R_c und R_m für das korrigierte und das gemessene Isotopenverhältnis, F ist der sogenannte „mass bias“-Korrekturfaktor und Δm die Massendifferenz der betrachteten Isotope. *Monperrus et a.* haben die Massenkorrektur für Butylzinnspezies bestimmt, indem der Probe durchgehend eine Sb-Lösung addiert und das Isotopenverhältnis $^{123}Sb/^{121}Sb$ gemessen wurde. Durch Umstellung von Gl. (7) und unter der Annahme, dass R_c dem natürlichen Isotopenverhältnis von Antimon entspricht, kann der Korrekturfaktor F berechnet werden.[40] Die „Detector Dead Time“ bringt einen zusätzlichen systematischen Messfehler bei der Messung des Isotopenverhältnisses ein. Die Größe dieses Fehlers kann ebenso experimentell ermittelt und korrigiert werden. Da die Detector Dead Time hier als weniger relevant angesehen und in dieser Arbeit nicht bestimmt wurde, werden die Korrekturmöglichkeiten hier nicht weiter erläutert.

3.5.3 Berechnung der optimalen Menge an Isotopenstandard

Wie im vorigen Kapitel erläutert wurde, hängt die richtige Quantifizierung der Butylzinnspezies von der Präzision der massenspektrometrischen Messung des Isotopenverhältnisses ab. Auf Grund der Tatsache, dass das Isotopenverhältnis bei der Isotopenverdünnungsanalyse die einzige experimentell bestimmt Messgröße ist, wurde der Ansatz entwickelt, den Fehlerfortpflanzungsfaktor f_R dieser Messung zu minimieren und auf diesem Weg das optimale Isotopenverhältnis für die isotopenverdünnte Probe zu berechnen. Wird von Gl. (8) durch Differentiation das Minimum bestimmt, gelangt man zu Gl. (9), mit der das optimale Isotopenverhältnis berechnet werden kann: [59-60]

$$f_R = \frac{\left(\frac{A_P^{120}}{A_P^{119}} - \frac{A_{Sp}^{120}}{A_{Sp}^{119}}\right) R_{\frac{120}{119}}}{\left(R_{\frac{120}{119}} - \frac{A_P^{120}}{A_P^{119}}\right)\left(\frac{A_{Sp}^{120}}{A_{Sp}^{119}} - R_{\frac{120}{119}}\right)} \qquad (8)$$

$$R_{\frac{120}{119}}(\text{Opt.}) = \sqrt{\frac{A_P^{120} A_{Sp}^{120}}{A_P^{119} A_{Sp}^{119}}} = \sqrt{\frac{0{,}3259 \times 0{,}0313}{0{,}0859 \times 0{,}8240}} = 0{,}380 \qquad (9)$$

Gl. (8) und (9) zeigen die Abhängigkeit des Fehlerfortpflanzungsfaktors von den relativen Häufigkeiten in der Probe und der Indikatorlösung. Aus Gl. (8) ist zu entnehmen, dass der Fehlerfortpflanzungsfaktor kleiner wird, je stärker der Isotopenstandard angereichert ist. Zudem ist zu erkennen, dass f_R wächst, je weiter sich das gemessene Isotopenverhältnis $R_{\frac{120}{119}}$ dem natürlichen oder dem Isotopenverhältnis der Indikatorlösung annähert. Neben diesem nur auf Grund der Fehlerfortpflanzung berechneten Wert, müssen weitere Faktoren berücksichtigt werden, die die Präzision der Messung beeinflussen. Zum Beispiel wird größte Präzision bei der massenspektrometrischen Bestimmung der Isotopenverhältnisse, die über die Integration der einzelnen Peakflächen verläuft, bei einem Isotopenverhältnis von $R \approx 1$ erreicht. Liegt die Konzentration der zu bestimmenden Verbindung nahe der Bestimmungsgrenze, kann es sinnvoll sein, das Isotopenverhältnis in Richtung des Spike-Isotops zu verschieben, um den Einfluss des Rauschens auf das Spike-Isotop zu verringern.[58,61]

Die Bestimmung von Konzentrationen in Umweltproben beinhaltet als zusätzlichen Unsicherheitsfaktor, dass die in der Probe vorliegende Konzentration nur anhand von bereits vorliegenden Daten von vergleichbaren Proben abgeschätzt werden kann. Zudem muss bei der simultanen Bestimmung von TBT, DBT und MBT darauf geachtet werden, dass das

Isotopenverhältnis für alle drei Butylzinnspezies auf einen möglichst akzeptablen Wert eingestellt wird.

3.6 Messbedingungen der GC/ICP-MS-Kopplung

Als Gaschromatograph wurde im Rahmen dieser Arbeit das Modell *Trace 1310* der Firma *Thermo Fisher Scientific* mit Autosampler (Modell *TriPlus RSH, Thermo Fisher Scientific*) eingesetzt. Die Trennung erfolgte auf einer niedrig polaren Quarzglas-Kapillarsäule (*Restek* RTX-5, 5% Polydiphenyl-/95% Polydimethylsiloxan, Länge 30 m, ID 0,32 mm, Filmdicke 0,25 µm). Die Betriebsparameter des Gaschromatographen werden in Tabelle 7 und das Temperaturprogramm in Tabelle 8 aufgeführt.

Tabelle 7: Verwendete GC-Betriebsparameter.

Injektor		splitless
Injektortemperatur		200 °C
Injektionsvolumen		2 µL
Carriergasfluss		He 2,00 mL/min
Additional-Gasfluss		Ar 70,01%
Transferline	innere Line	Silcosteel, Länge 1 m, ID 0,28 mm, AD 0,53 mm
	äußere Line	Silcosteel, Länge 1 m, ID 1,0 mm, AD 1,6 mm
	Temperatur	300 °C

Tabelle 8: Temperaturprogramm der GC.

Rate [°C/min]	Endtemperatur [°C]	Haltezeit [min]
0,0	60,0	1,20
80,0	100,0	0,00
20,0	160,0	0,00
80,0	300,0	0,00
90,0	310,0	1,00

Für alle Messungen wurde das induktiv gekoppelte Plasma-Massenspektrometer *iCAP Qc* der Firma *Thermo Fisher Scientific* benutzt. Die Messbedingungen sind in Tabelle 9 dargestellt.

Die Daten wurden mit der Software *Qtegra*, Version 2.2.1465.24 von *Thermo Fisher Scientific* aufgezeichnet. Nachdem die Rohdaten exportiert wurden, wurde die Integration der Peakflächen sowie die graphische Aufarbeitung der Chromatogramme mit der Software *OriginProLab 9.1* (*OriginLab Corporation*, MA, USA) durchgeführt. Die weitere Auswertung wurde mit der Software *Microsoft Excel 2010* (*Microsoft Corporation*, Redmond, WA, USA). Dazu wurden die Werte für die Peakflächen in ein Excel-Sheet kopiert, mit dem die Butylzinn-Gehalte berechnet werden.

Tabelle 9: Einstellungen des ICP-MS.

gemessene Isotope	^{118}Sn, ^{119}Sn, ^{120}Sn, ^{121}Sb, ^{123}Sb
Dwell Time	70 ms
Plasmaleistung	1550 W
Hilfsgasfluss	0,8 L/min
Zerstäubergasfluss	0,7 L/min
Kühlgasfluss	14 L/min

4 Ergebnisse

4.1 Bestimmung der Retentionszeiten

Die Retentionszeiten von TBT, DBT und MBT wurden bestimmt, indem Standardlösungen von $MBTCl_3$, $DBTCl_2$ und TBTCl mit einem Sn-Gehalt von 4 µg/g mit der entwickelten Methode vorbereitet und gemessen wurden. Um sicherzustellen, dass die drei Butylzinnverbindungen auch nebeneinander vorliegend gaschromatographisch trennbar sind, wurde zudem eine Lösung mit einem Gehalt von je 4 µg Sn/g als TBT, DBT und MBT hergestellt und untersucht. Aus den Chromatogrammen in Abbildung 10 können die einzelnen Retentionszeiten von TBT, DBT und MBT entnommen werden. Ebenso ist zu erkennen, dass die Spezies mit dem verwendeten GC-Temperaturprogramm basisliniengetrennt werden können.

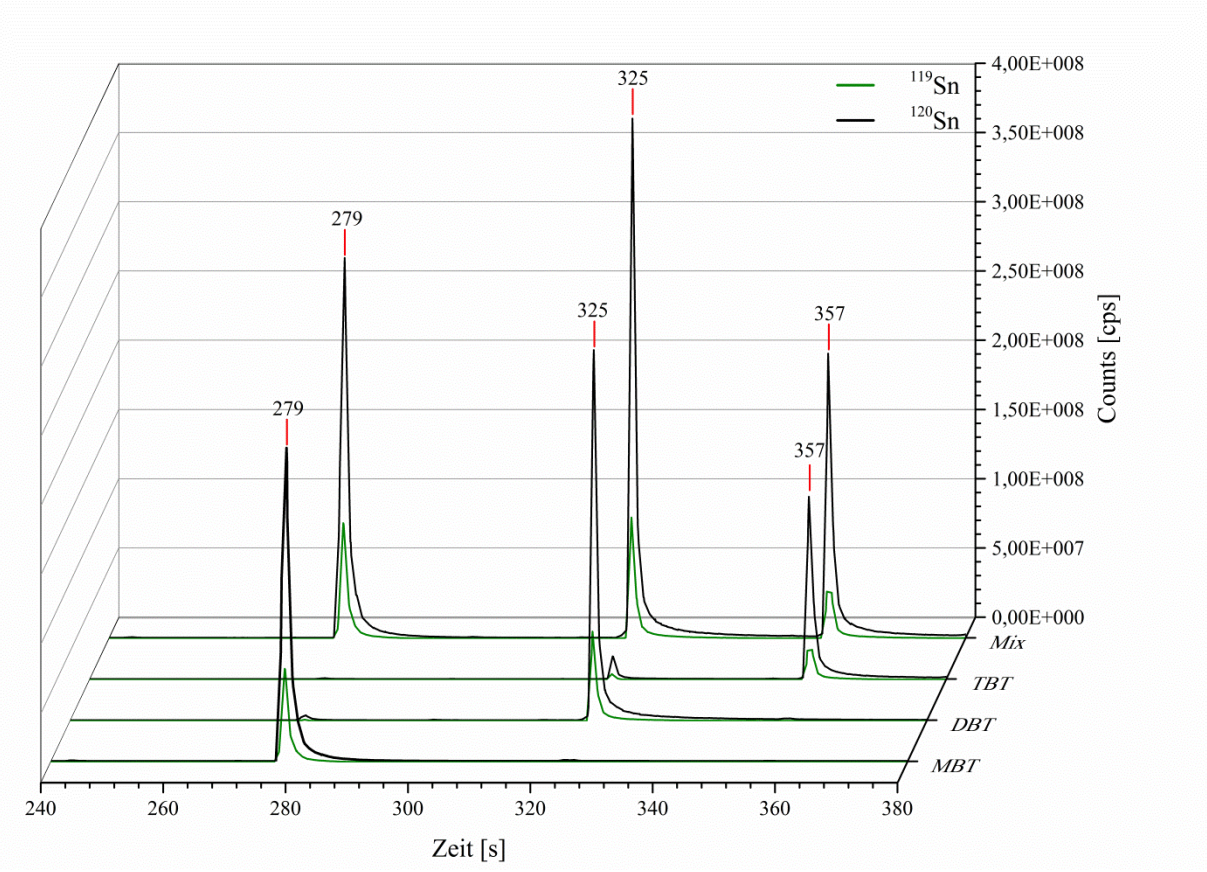


Abbildung 11: Chromatogramme der Einzelstandards und des Standard-gemisches zur Retentionszeitbestimmung.

4.3 Validierung der Messmethode

4.3.1 Selektivität und Spezifität

Das obere Chromatogramm in Abbildung 11 zeigt das Spektrum des reinen Isotopenstandards (Verdünnung 1:10), unten ist das Chromatogramm einer isotopenverdünnten Probe des verwendeten zertifiziertes Referenzmaterials (ZRM) dargestellt. Wie bei den Einzelstandards ist in beiden Messungen eine Basislinientrennung der Peaks gegeben. Ebenso stimmen die Retentionszeiten des Isotopenstandards mit denen des ZRMs überein. Bezieht man die Ergebnisse der Einzelstandardmessung mit ein, kann die Forderung nach Selektivität und Spezifität des Verfahrens als erfüllt angesehen werden.

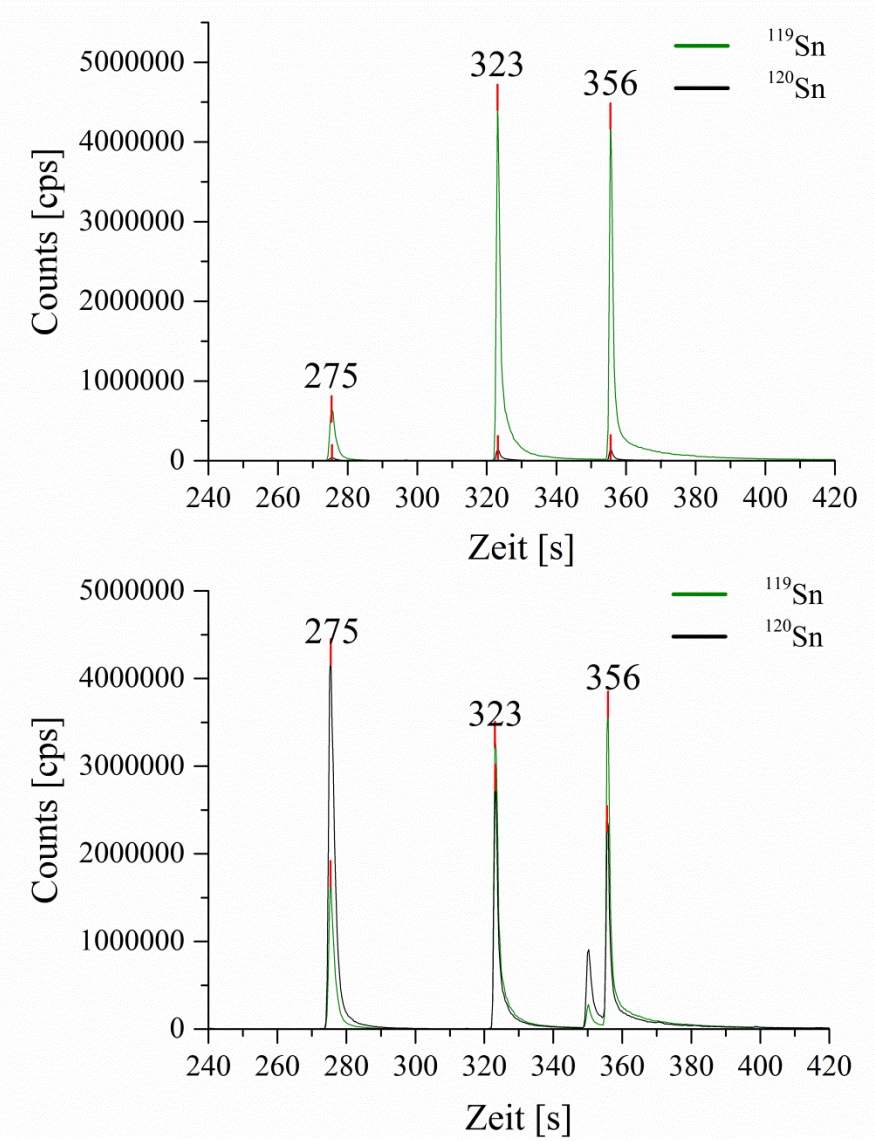


Abbildung 12: Beispielchromatogramm des Isotopenstandards (oben) und des isotopenverdünnten Referenzmaterials (unten).

4.3.2 Wiederfindungsrate und Wiederholbarkeit

Die Wiederfindungsrate wurde durch mehrfache Bestimmung des zertifizierten Referenzmaterials (ZRM) Mussel Tissue ERM-CE477 ermittelt. Es wurden 3 × 10 Proben des ZRM aufgeschlossen und diese zweimal nacheinander gemessen. Zudem wurden bei jeder Messserie von Umweltproben fünf Proben Referenzmaterial mitgeführt. Auf Grund der hohen Konzentration an Butylzinnverbindungen im ZRM wurden anstatt 200 mg (Einwaage für Umweltproben) nur 50 mg ZRM eingewogen. Auf Grund von regelmäßig überhöhten Wiederfindungen an MBT wurde das bereits vorhandene ZRM durch frisches Material ersetzt. In Tabelle 10 sind die durchschnittlichen Wiederfindungsraten über alle Messungen für beide Chargen separat aufgeführt. Es ist zu erkennen, dass mit der neuen Charge ERM-CE477 vor allem für MBT bessere und zuverlässigere Wiederfindungen erreicht werden konnten. Der auf Basis praxisrelevanter Anforderungen nach internen Richtlinien des *Fraunhofer IME* (interne Fraunhofer IME SOPs) aufgestellte Toleranzbereich von 80-120% Wiederfindung für feste Referenzmaterialien wurde damit über alle Messungen hinweg eingehalten.

Tabelle 10: Durchschnittliche Wiederfindungsraten (in %) und Standardabweichung für beide verwendeten ZRMs.

ERM-CE477	TBT	S	DBT	S	MBT	S
alt	102%	3%	93,0%	2,2%	116%	36%
frisch	100%	2%	91,3%	1,5%	91,9%	3,5%

Die *Fraunhofer IME*-interne Richtlinie zur Bestimmung der Wiederholbarkeit besagt, dass die relative Standardabweichung S_{rel} der Wiederfindungsmessungen kleiner 10% betragen soll (für Konzentrationen des ZRMs größer als 25 ng/g). Wie aus Tabelle 10 zu entnehmen ist, wurde diese Bedingung erfüllt.

Zur Bestimmung der Laborpräzision wurde die Probenvorbereitung zehn unabhängiger Referenzproben von einem Labormitarbeiter des *Fraunhofer IME* durchgeführt. Die Proben wurden von demselben Mitarbeiter mittels GC/ICP-MS-Messung zweimal bestimmt. Die durchschnittlichen Wiederfindungsraten und die dazugehörigen Standardabweichungen sind in Tabelle 11 aufgeführt.

Tabelle 11: Durchschnittliche Wiederfindungsraten (in %) und Standardabweichungen der Messung zur Bestimmung der Laborpräzision.

	TBT	**DBT**	**MBT**
Wiederfindungsrate	98,4%	90,3%	92,6%
S	2,1%	2,1%	6,1%

4.3.3 Berechnung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze

Die Nachweis- und Bestimmungsgrenze des Verfahrens wurde gemäß DIN 32645 nach der Leerwertmethode (Schnellschätzung) berechnet.[62] Zu beachten ist, dass durch die Schnellschätzung zwar vergleichbare Ergebnisse wie mit der direkten und der indirekten Methode erhalten werden, man jedoch mit der Schnellschätzung eher eine höhere Nachweisgrenze berechnet. Die Schnellschätzung der Nachweisgrenze (NG) wird hier als ein Vielfaches der Verfahrensstandardabweichung aufgefasst und es gilt:

$$NG = 3 \times \frac{s_L}{b} \quad \text{mit} \qquad (10)$$

s_L ist die Standardabweichung der Blindprobenmesswerte. Weil bei der Isotopenverdünnungsanalyse keine externe Kalibration durchgeführt wird, wird die Steigung der Kalibrationsgeraden b = 1 gesetzt. Somit ergibt sich nach Gleichung 10 für die Nachweisgrenze:

$$NG = 3 \times s_L \qquad (11)$$

Die Schnellschätzung der Bestimmungsgrenze (BG) nach der Leerwertmethode wird laut DIN 32645 folgender Gleichung berechnet:

$$BG = k \times \Phi_{n,\alpha/2} \times \frac{s_L}{b} \qquad (12)$$

Unter den gleichen Bedingungen wie bei der Berechnung der NG und zusätzlich k = 3 für eine relative Ergebnisunsicherheit von 33,33% erhält man

$$BG = 10 \times s_L \qquad (13)$$

Zur Bestimmung der NG und BG wurde ein Aufschluss von 20 Blindproben gemacht. Die Blindproben durchliefen alle analytischen Prozesse wie auch die Proben, nur ohne Zugabe von Probenmaterial. Um die Richtigkeit der Probenvorbereitung zu überprüfen, wurden ebenfalls Proben des ZRM mitgeführt. Aus den mittels Gl. 6 (siehe Kapitel 3.5.3) ermittelten Blindwerten, ergaben sich für die drei Butylzinnspezies folgende Standardabweichungen (angegeben als ng BuSn):

TBT: 0,014 ng/g
DBT: 0,011 ng/g
MBT: 0,009 ng/g

Durch Einsetzen in die Gleichungen 11 und 13 wurden für die Nachweis- und Bestimmungsgrenze folgende Werte berechnet:

Tabelle 12: Nachweis- und Bestimmungsgrenzen, ermittelt anhand von 20 Blindproben.

BuSn-Spezies	**Nachweisgrenze [ng BuSn/g]**	**Bestimmungsgrenze [ng BuSn/g]**
TBT	0,103	0,310
DBT	0,066	0,199
MBT	0,041	0,123

Zusätzlich wurden bei jeder Messung fünf unabhängige Blindproben mitgeführt, die jeweils zweimal gemessen wurden. Aus den Messwerten wurden die NG und BG für jede Messreihe separat bestimmt. Die durchschnittlichen Blindwerte für TBT, DBT und MBT über alle Messungen sind in Tabelle 12 zusammengefasst. Für die Auswertung der Messergebnisse werden die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der jeweiligen Messserien verwendet.

Tabelle 13: Durchschnittliche NGs und BGs über alle Messungen.

BuSn-Spezies	Nachweisgrenze [ng/g BuSn]	Bestimmungsgrenze [ng/g BuSn]
TBT	0,123	0,369
DBT	0,101	0,302
MBT	0,204	0,611

4.3.4 Festlegung des Arbeitsbereiches

Da die Isotopenverdünnungsanalyse eine absolute Methode ist, die keine weitere Kalibration benötigt, ist der Arbeitsbereich nur durch die Bestimmungsgrenze als untere Messgrenze beschränkt.

4.4 Berechnung der Messunsicherheit

Die Messunsicherheit und die daraus resultierende erweiterte Messunsicherheit des Verfahrens wurden nach dem NORDTEST-Verfahren abgeschätzt. Bei der Bestimmung der Messunsicherheit nach dem NORDTEST können mehrere Methoden angewendet werden, die auf verschiedenen Kriterien zum Abschätzen beruhen. Die für die Isotopenanalyse geeignete Methode stützt sich auf Vergleichsmessungen von Referenzmaterialen verschiedener Messserien, die den gesamten analytischen Prozess abdecken. Dabei werden für die Berechnung sowohl Messserien, die von einem Bearbeiter durchgeführt wurden als auch die Wiederfindungsdaten der Referenzmaterialien aus zwei Messserien, die von zwei unterschiedlichen Bearbeitern durchgeführt wurden, berücksichtigt. Die Berechnung der Messunsicherheit und der kombinierten Messunsicherheit wird nach den folgenden Formeln durchgeführt.

Unsicherheit der systematischen Messabweichung (*u*(*bias*)) – Abweichung anhand der Daten aus verschiedenen Messserien von einem Bearbeiter:

$$u(bias)=\sqrt{(bias)^2+\left(\frac{s_{bias}}{\sqrt{n}}\right)^2+u(x_{ref})^2} \qquad (14)$$

mit u(bias) = Unsicherheit der systematischen Messabweichung
bias = systematische Messabweichung
s_{bias} = Standardabweichung aus der Kontrollanalyse
$u(x_{ref})$ = Unsicherheit des zertifizierten Referenzmaterials

$$bias=\frac{100\times(\overline{x}-\overline{x}_{ref})}{\overline{x}_{ref}}$$

mit $\overline{x}$ = Mittelwert der Analysenwerte
$\overline{x}_{ref}$ = zertifizierter Wert des Referenzmaterials

$$s_{bias}=\frac{1}{n-1}\sum_{i=1}^{n}(x_i-\overline{x})^2$$

mit n = Anzahl der Messungen
$\overline{x}$ = Mittelwert der Analysenwerte
$\overline{x}_{ref}$ = Wert am i-ten Element der Messung

$$u(x_{ref})=\frac{100\times s_R}{\overline{x}_{ref}}$$

mit s_R = Standardabweichung des Referenzmaterials
$\overline{x}_{ref}$ = zertifizierter Wert des Referenzmaterials

Unsicherheit der Laborabweichung (*u*(*Rw*)) – Laborabweichung anhand der Daten aus zwei Messserien von zwei Bearbeitern:

Zur Berechnung der Unsicherheit der Reproduzierbarkeit ist es sinnvoll Kontrollproben zu verwenden. Da in diesem vorliegenden Fall keine sinnvollen Kontrollproben zur Verfügung standen, wurden zur Berechnung der Laborabweichung die Daten der Referenzmaterialien, die aus zwei unabhängigen Messserien gewonnen wurden, verwendet. Dabei wurden alle für die Analytik notwendigen Schritte (Aufschluss und Isotopenverdünnung, Derivatisierung und

Messung) von zwei Bearbeitern durchgeführt, um nur die Abweichung zu erhalten, die nicht auf das Referenzmaterial zurückzuführen ist.

$$u(R_W) = s_{rel}$$

Kombinierte Messunsicherheit u_c:

$$u_c = \sqrt{u(R_w)^2 + u(bias)^2} \qquad (15)$$

mit $u(R_w)$ Unsicherheit der Reproduzierbarkeit – berechnet aus den Daten des Referenzmateriales aus zwei Messserien von zwei Bearbeitern

$u(bias)$ Unsicherheit der systematischen Messabweichung - berechnet aus den Daten des Referenzmateriales aus verschiedenen Messserien von einem Bearbeiter

Erweiterte Messunsicherheit:

Die kombinierte Messunsicherheit multipliziert mit einem Faktor k = 2 liefert die erweiterte Messunsicherheit U:

$$U = k \times u_c \qquad (16)$$

Tabelle 14: Messunsicherheit und erweiterte Messunsicherheit für TBT, DBT und MBT (k = 2).

BuSn-Spezies	Messunsicherheit [%]	Erweiterte Messunsicherheit [%]
TBT	6,13	12,3
DBT	8,51	17,0
MBT	13,1	26,3

4.5 Bestimmung der Butylzinngehalte

4.5.1 Auswertung der Rohdaten

Wie schon in Kapitel 3.6 erwähnt, wurden die erhaltenen Rohdaten aus der ICP-MS Software *Qtegra* als CSV-Datei exportiert. Nachdem diese in eine Excel-Datei umgewandelt wurde, konnten die Daten in eine im Rahmen dieser Arbeit entwickelte *OriginLab*-Vorlage eingelesen und die dazugehörigen Chromatogramme erstellt werden. In Abbildung 13 sind die

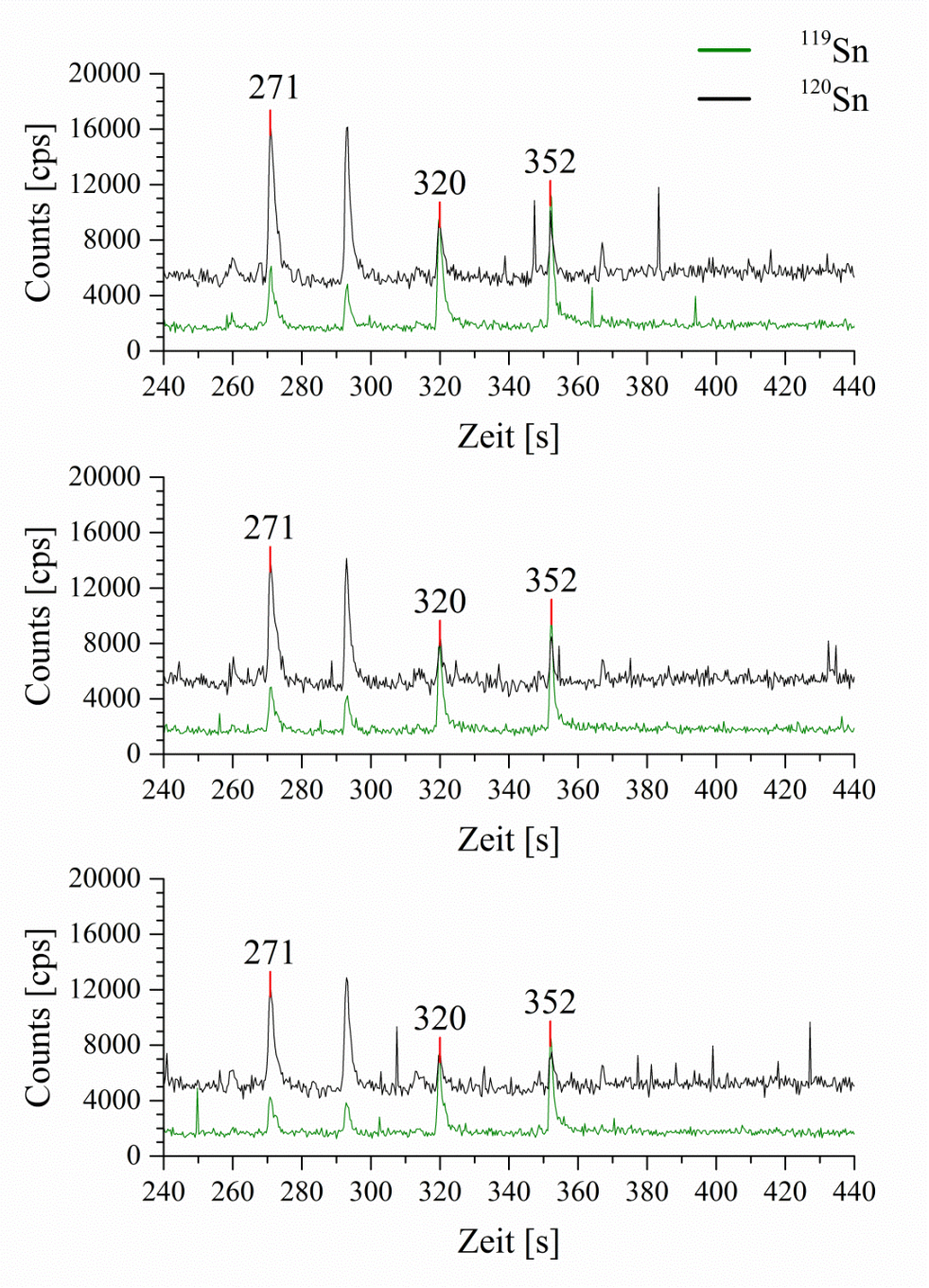


Abbildung 13: Chromatogramme der Dreifachbestimmung von Brassenproben aus dem Belauer See.

Chromatogramme der Dreifachbestimmung von Brassenmuskulatur aus dem Belauer See dargestellt. In den Abbildungen 14-16 sind beispielhaft für jeden untersuchten Organismus Chromatogramme von Brassen- und Aalmuttermuskulaturproben sowie das Chromatogramm einer Bestimmung von TBT, DBT und MBT im Weichkörper der Miesmuschel zu sehen. Die Chromatogramme inklusive des Chromatogramms der Messung des ZRM verdeutlichen, dass die Methode bis hin zu sehr hohen Konzentrationen anwendbar ist. Abbildung 13 verdeutlicht jedoch, dass die Integration zunehmend problematischer wird, je weiter sich die Konzentrationen der Nachweis- und Bestimmungsgrenze annähern, da das Signal-Rausch-Verhältnis zunehmend schlechter wird. Weitere Informationen zur Integration der Chromatogramme und zu der Excel-Arbeitsmappe zur Berechnung des Gehalts an Tri-, Di- und Monobutylzinn befinden sich in Anhang A. In den folgenden Unterkapiteln werden die Butylzinngehalte der in dieser Arbeit vervollständigten Zeitreihen tabellarisch angegeben. Der Gehalt an den jeweiligen Butylzinnspezies wird in [ng/g BuSn] bezogen auf das Frischgewicht der Gewebeproben angegeben. Die Umrechnung von Trocken- auf Frischgewicht wurde vorgenommen, weil sich die Gehalte der bereits vorliegenden Jahre der Zeitreihen ebenso auf das Frischgewicht beziehen und die Konzentrationen in Geweben typischerweise immer auf das Frischgewicht bezogen angeben werden. Der Wassergehalt der untersuchten Proben wurde der Datenbank des Umweltbundesamtes für chemische Belastungen entnommen.[63]

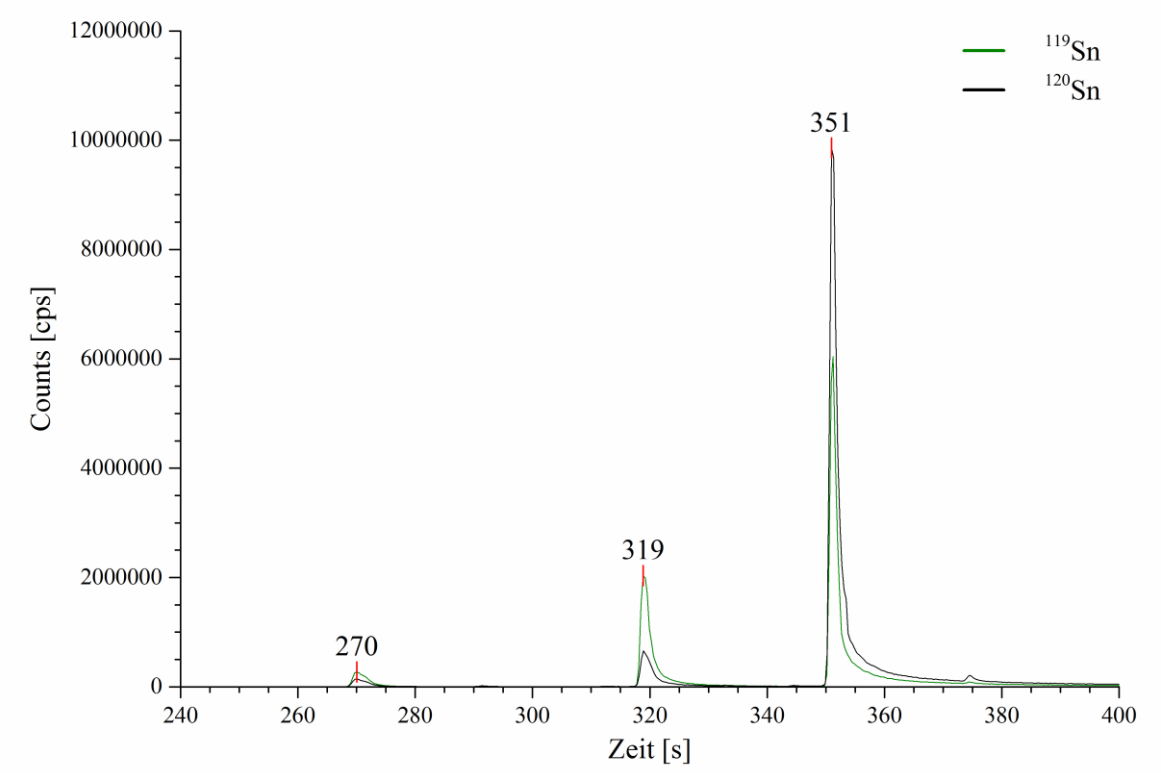


Abbildung 14: Chromatogramm einer Brassenprobe aus Blankenese.

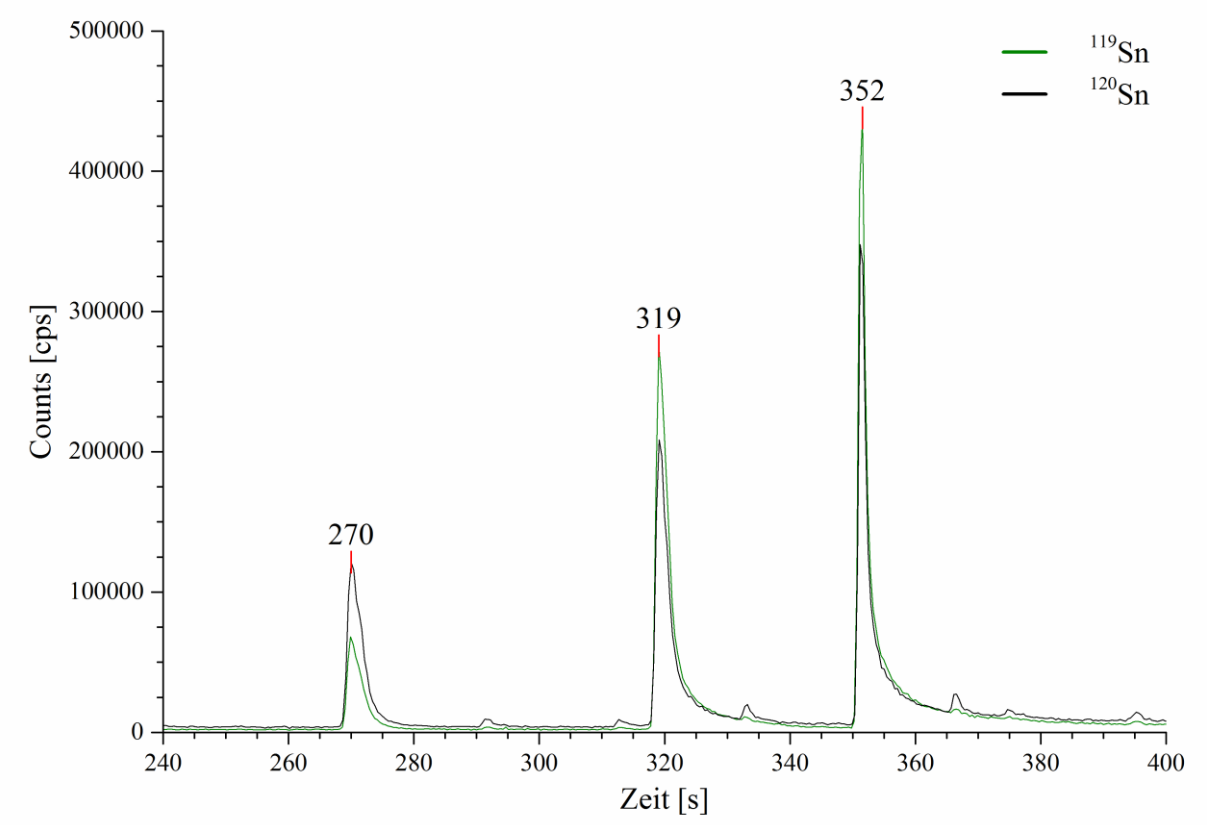


Abbildung 15: Chromatogramm einer Miesmuschelprobe aus Darßer Ort.

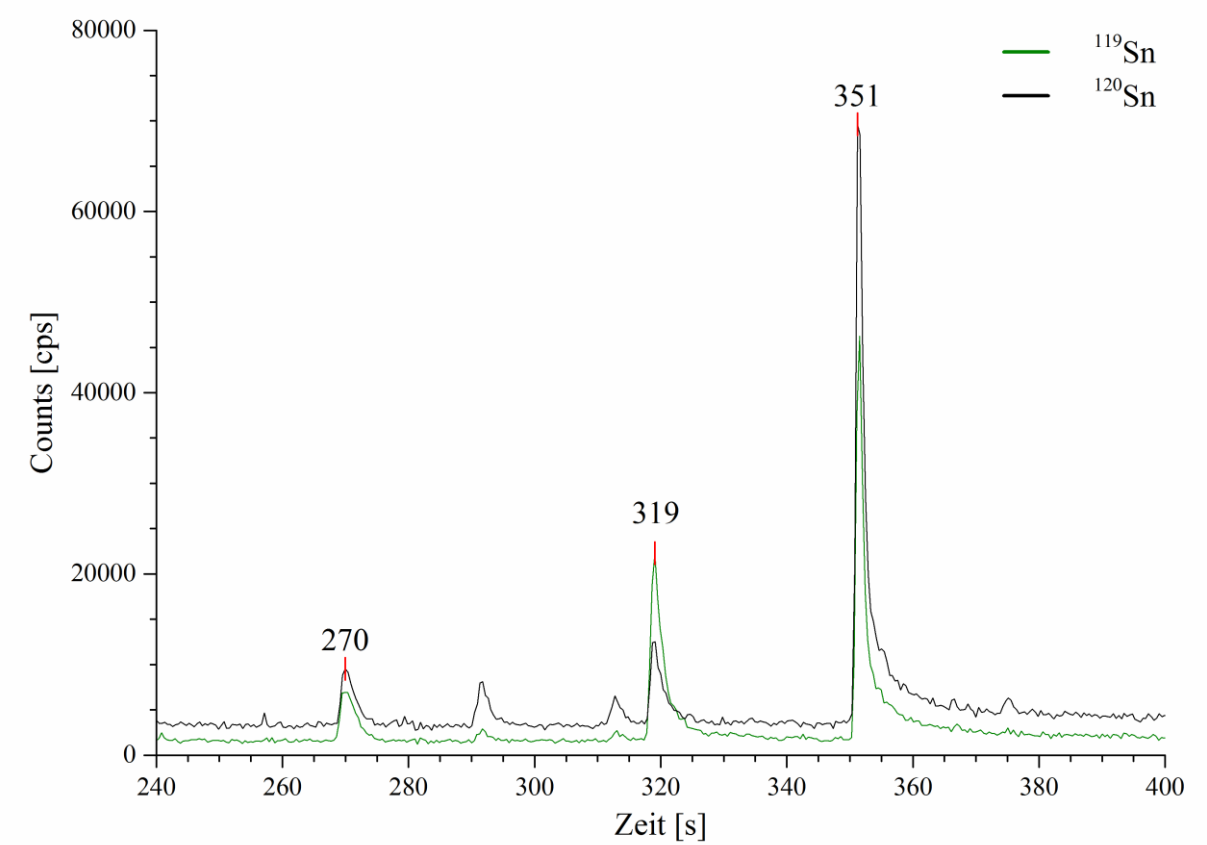


Abbildung 16: Chromatogramm einer Aalmutterprobe aus Varel Mellum.

4.5.2 Zeitreihen Aalmuttermuskulatur 2010-2013

Tabelle 15: Arithmetischer Mittelwert des Butylzinngehaltes aus drei unabhängigen Messungen, PNF Darßer Ort.

Jahr	TBT	S	DBT	S	MBT	S	BG [ng/g] ww		
	[ng/g] ww	[ng/g] ww	[ng/g] ww	[ng/g] ww	[ng/g] ww	[ng/g] ww	TBT	DBT	MBT
2010*	0,146	0,060	-0,014	0,001	-0,002	0,000	0,041	0,105	0,434
2011	0,317	0,001	0,045	0,031	0,028	0,013	0,091	0,062	0,158
2012	0,252	0,013	0,043	0,027	0,028	0,006	0,086	0,059	0,149
2013[a]	0,234	0,023	0,096	0,013	0,233	0,096	0,402	0,236	0,486

< NG < BG

Tabelle 16: Arithmetischer Mittelwert des Butylzinngehaltes aus drei unabhängigen Messungen, PNF Meldorfer Bucht.

Jahr	TBT	S	DBT	S	MBT	S	BG [ng/g] ww		
	[ng/g] ww	[ng/g] ww	[ng/g] ww	[ng/g] ww	[ng/g] ww	[ng/g] ww	TBT	DBT	MBT
2010*	3,37	0,02	0,215	0,034	0,057	0,016	0,045	0,117	0,481
2011	3,10	0,18	0,174	0,026	0,055	0,010	0,095	0,064	0,164
2012	3,51	0,10	0,102	0,038	0,033	0,028	0,092	0,063	0,160
2013[a]	2,50	0,06	0,220	0,083	0,366	0,087	0,407	0,236	0,488

< NG < BG

Tabelle 17: Arithmetischer Mittelwert des Butylzinngehaltes aus drei unabhängigen Messungen, PNF Transekt Varel Mellum.

Jahr	TBT	S	DBT	S	MBT	S	BG [ng/g] ww		
	[ng/g] ww	[ng/g] ww	[ng/g] ww	[ng/g] ww	[ng/g] ww	[ng/g] ww	TBT	DBT	MBT
2010*	1,68	0,02	0,152	0,018	0,066	0,028	0,045	0,116	0,479
2011	1,16	0,06	0,061	0,018	0,039	0,003	0,096	0,065	0,166
2012	1,39	0,09	0,113	0,023	0,066	0,023	0,089	0,060	0,154
2013[a]	1,50	0,07	0,158	0,035	0,254	0,059	0,412	0,240	0,495

< NG < BG

* mind. eine Probe musste auf Grund von Problemen bei der Gefriertrocknung vor der Einwaage gemörsert werden.

a Gefriertrocknung im September 2013, dann Lagerung bei 4 °C.

4.5.3 Zeitreihen Miesmuschel/Weichkörper 2009-2013

Tabelle 18: Arithmetischer Mittelwert des Butylzinngehaltes aus drei unabhängigen Messungen, PNF Darßer Ort.

Jahr	TBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	DBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	MBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	BG [ng/g] ww TBT	DBT	MBT
2009*	0,311	0,070	0,239	0,033	0,091	0,002	0,007	0,017	0,069
2010	0,599	0,012	0,259	0,006	0,115	0,005	0,020	0,014	0,035
2011[b, c]	0,111	0,008	0,061	0,001	0,091	0,001	0,071	0,041	0,085
2012*	0,428	0,014	0,198	0,004	0,089	0,004	0,015	0,039	0,159
2013	0,165	0,006	0,079	0,008	0,089	0,002	0,105	0,061	0,127

< BG

Tabelle 19: Arithmetischer Mittelwert des Butylzinngehaltes aus drei unabhängigen Messungen, PNF Eckwarderhörne.

Jahr	TBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	DBT [ng/g]	S [ng/g] ww	MBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	BG [ng/g] ww TBT	DBT	MBT
2009[d]	1,07		0,661		0,507		0,023	0,016	0,011
2010	0,934	0,004	0,615	0,011	0,521	0,001	0,033	0,023	0,058
2011[b]	0,650	0,022	0,526	0,044	0,610	0,059	0,148	0,087	0,179
2012*	0,582	0,270	0,615	0,050	0,441	0,019	0,018	0,046	0,192
2013[a, d]	0,796		0,399		0,394		0,146	0,085	0,177

* mind. eine Probe musste auf Grund von Problemen bei der Gefriertrocknung vor der Einwaage gemörsert werden.

a Gefriertrocknung im Oktober 2014, dann Lagerung bei 4 °C.

b Gefriertrocknung im April 2012, dann Lagerung bei 4 °C.

c nur 50 mg Probenmaterial vorhanden.

d nur zwei Proben standen zur Verfügung.

Tabelle 20: Arithmetischer Mittelwert des Butylzinngehaltes aus drei unabhängigen Messungen, PNF Königshafen.

Jahr	TBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	DBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	MBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	BG [ng/g] ww TBT	DBT	MBT
2009*	0,364	0,051	0,377	0,041	0,309	0,020	0,012	0,030	0,126
2010	0,478	0,047	0,239	0,012	0,143	0,002	0,034	0,023	0,059
2011[b]	0,163	0,045	0,105	0,016	0,174	0,027	0,177	0,103	0,213
2012*	0,120	0,029	0,129	0,023	0,084	0,026	0,019	0,048	0,199
2013	0,565	0,030	0,181	0,003	0,095	0,004	0,050	0,051	0,041

< BG

* mind. eine Probe musste auf Grund von Problemen bei der Gefriertrocknung vor der Einwaage gemörsert werden.

b Gefriertrocknung im April 2012, dann Lagerung bei 4 °C.

4.5.4 Zeitreihen Brassenmuskulatur (2004-2013)

Tabelle 21: Arithmetischer Mittelwert des Butylzinngehaltes aus drei unabhängigen Messungen, PNF Blankenese.

Jahr	TBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	DBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	MBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	BG [ng/g] ww TBT	DBT	MBT
2004[d]	283		19,1		3,52		0,066	0,043	0,083
2005	235	3	15,1	1,5	2,36	0,07	0,068	0,044	0,085
2006	214	6	14,0	2,0	2,29	0,03	0,068	0,044	0,085
2007	157	4	10,8	1,9	1,77	0,01	0,066	0,042	0,083
2008	119	4	9,77	0,41	1,45	0,03	0,064	0,041	0,080
2009	139	9	8,61	0,02	1,30	0,12	0,063	0,043	0,029
2010	137	13	8,56	0,27	1,48	0,50	0,071	0,049	0,032
2011	129	2	8,22	0,07	0,922	0,012	0,044	0,043	0,033
2012[b]	25,7	1,3	9,38	0,61	772	492	0,084	0,038	0,326
2013[a]	47,0	0,5	11,9	0,8	86,4	35,3	0,138	0,083	0,098

a Gefriertrocknung im Oktober 2013, dann Lagerung bei 4 °C.

b Gefriertrocknung im November 2012, dann Lagerung bei 4 °C.

d nur zwei Proben standen zur Verfügung.

Tabelle 22: Arithmetischer Mittelwert des Butylzinngehalte aus drei unabhängigen Messungen, PNF Cumlosen.

Jahr	TBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	DBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	MBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	BG [ng/g] ww TBT	DBT	MBT
2004	44,8	0,9	3,19	0,14	0,847	0,013	0,022	0,092	0,056
2005	22,9	0,5	2,37	0,04	0,746	0,018	0,023	0,096	0,059
2006	35,1	1,6	3,11	0,37	0,832	0,018	0,023	0,096	0,059
2007	25,1	0,9	3,26	0,67	0,682	0,034	0,023	0,096	0,059
2008	12,8	0,7	1,54	0,12	0,362	0,003	0,026	0,107	0,066
2009*	87,6	5,4	9,84	1,76	1,70	0,05	0,042	0,108	0,446
2010	22,9	0,4	3,01	0,31	0,576	0,084	0,054	0,037	0,025
2011	37,3	0,03	4,67	0,05	0,716	0,013	0,037	0,035	0,027
2012[b]	8,90	0,003	4,07	0,13	4,67	0,07	0,065	0,030	0,255
2013[a]	8,05	0,38	2,86	0,11	4,56	0,10	0,140	0,085	0,099

Tabelle 23: Arithmetischer Mittelwert des Butylzinngehaltes aus drei unabhängigen Messungen, PNF Bimmen.

Jahr	TBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	DBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	MBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	BG [ng/g] ww TBT	DBT	MBT
2004*	14,5	0,1	2,09	0,02	0,336	0,012	0,110	0,112	0,124
2005	11,3	0,1	1,66	0,04	0,283	0,015	0,024	0,099	0,061
2006	10,5	0,1	1,63	0,02	0,247	0,005	0,025	0,102	0,063
2007	16,5	1,3	2,15	0,05	0,292	0,014	0,022	0,090	0,055
2008	10,5	0,1	1,70	0,02	0,258	0,018	0,026	0,106	0,065
2009*	7,67	0,64	1,43	0,002	0,240	0,019	0,112	0,114	0,125
2010*	4,66	0,10	1,01	0,02	0,145	0,014	0,111	0,113	0,125
2011	6,44	0,09	1,66	0,01	0,263	0,013	0,045	0,043	0,033
2012[a]	3,18	0,34	1,82	0,10	3,27	1,02	0,152	0,070	0,334
2013[a]	3,59	0,17	1,44	0,03	1,55	0,11	0,124	0,075	0,088

* mind. eine Probe musste auf Grund von Problemen bei der Gefriertrocknung vor der Einwaage gemörsert werden.

a Gefriertrocknung im Januar 2013, dann Lagerung bei 4 °C.

b Gefriertrocknung im November 2012, dann Lagerung bei 4 °.C

Tabelle 24: Arithmetischer Mittelwert des Butylzinngehaltes aus drei unabhängigen Messungen, PNF Koblenz.

Jahr	TBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	DBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	MBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	BG [ng/g] ww TBT	DBT	MBT
2004*	8,52	0,29	0,691	0,231	0,314	0,082	0,035	0,026	0,095
2005	16,4	0,2	1,90	0,05	0,376	0,043	0,038	0,028	0,103
2006	12,1	0,2	1,59	0,02	0,262	0,013	0,067	0,043	0,084
2007	13,7	0,3	1,74	0,04	0,271	0,005	0,069	0,045	0,087
2008	8,23	0,11	1,16	0,03	0,204	0,011	0,069	0,044	0,086
2009	5,49	0,04	1,11	0,01	0,227	0,013	0,073	0,050	0,033
2010	5,08	0,11	0,917	0,028	0,167	0,011	0,073	0,050	0,033
2011	5,45	0,01	0,961	0,003	0,148	0,005	0,046	0,044	0,034
2012	1,56	0,11	1,22	0,17	3,29	1,21	0,089	0,040	0,348
2013	1,36	0,14	0,691	0,020	1,11	0,05	0,147	0,089	0,104

Tabelle 25: Arithmetischer Mittelwert des Butylzinngehaltes aus drei unabhängigen Messungen, PNF Saale.

Jahr	TBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	DBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	MBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	BG [ng/g] ww TBT	DBT	MBT
2004*	21,2	0,1	2,14	0,07	0,336	0,014	0,040	0,029	0,109
2005	19,2	0,1	1,98	0,07	0,418	0,030	0,037	0,027	0,101
2006	14,3	0,1	1,69	0,04	0,219	0,001	0,128	0,129	0,106
2007	kein Probenmaterial vorhanden								
2008	18,1	0,6	1,92	0,03	0,274	0,003	0,123	0,123	0,101
2009*	26,3	4,4	1,92	0,05	0,170	0,014	0,136	0,136	0,112
2010*	15,1	0,4	1,85	0,02	0,184	0,003	0,137	0,137	0,112
2011	14,8	0,2	2,13	0,03	0,217	0,032	0,049	0,047	0,037
2012[b]	3,02	0,20	1,64	0,08	4,47	0,29	0,151	0,084	0,080
2013[a]	3,68	0,04	1,41	0,03	2,07	0,27	0,130	0,073	0,069

* mind. eine Probe musste auf Grund von Problemen bei der Gefriertrocknung vor der Einwaage gemörsert werden.

a Gefriertrocknung im Januar 2013, dann Lagerung bei 4 °C.

b Gefriertrocknung im November 2012, dann Lagerung bei 4 °C.

Tabelle 26: Arithmetischer Mittelwert des Butylzinngehaltes aus drei unabhängigen Messungen, PNF Mulde.

Jahr	TBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	DBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	MBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	BG [ng/g] ww TBT	DBT	MBT
2004	59,4	9,2	4,97	0,08	0,755	0,007	0,107	0,109	0,120
2005	64,8	4,8	3,35	0,06	0,565	0,021	0,104	0,106	0,117
2006	39,7	2,3	3,16	0,01	0,545	0,014	0,100	0,102	0,112
2007	41,4	5,3	4,20	0,03	0,506	0,387	0,108	0,110	0,121
2008	15,9	1,1	2,10	0,03	0,315	0,048	0,101	0,102	0,113
2009	23,3	0,2	2,53	0,05	0,446	0,026	0,067	0,046	0,031
2010	106	17,9	4,75	0,14	0,819	0,060	0,067	0,046	0,031
2011	15,1	0,01	6,44	0,19	5,94	0,07	0,040	0,038	0,030
2012[a]	10,4	0,3	3,88	0,14	2,57	0,16	0,121	0,067	0,064
2013[b]	7,91	0,33	2,92	0,01	3,30	0,28	0,141	0,079	0,075

a Gefriertrocknung im Januar 2013, dann Lagerung bei 4 °C.

b Gefriertrocknung im Oktober 2013, dann Lagerung bei 4 °C.

Tabelle 27: Arithmetischer Mittelwert des Butylzinngehaltes aus drei unabhängigen Messungen, PNF Rehlingen.

Jahr	TBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	DBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	MBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	BG [ng/g] ww TBT	DBT	MBT
2004	8,71	0,06	1,24	0,08	0,139	0,024	0,133	0,133	0,109
2005	7,00	0,06	1,14	0,03	0,125	0,017	0,126	0,126	0,103
2006	5,54	1,24	1,15	0,04	0,144	0,029	0,128	0,128	0,105
2007	5,08	0,10	1,05	0,003	0,159	0,011	0,120	0,122	0,135
2008	4,07	0,02	0,902	0,005	0,128	0,012	0,118	0,120	0,132
2009	2,91	0,04	0,785	0,024	0,177	0,012	0,070	0,048	0,032
2010	3,20	0,30	0,812	0,039	0,140	0,012	0,048	0,125	0,515
2011	3,96	0,04	1,01	0,01	0,136	0,003	0,049	0,047	0,037
2012[b]	0,859	0,017	0,604	0,006	1,18	0,11	0,148	0,083	0,079
2013[a]	0,848	0,012	0,734	0,008	0,869	0,026	0,146	0,082	0,078

< NG < BG

a Gefriertrocknung im Oktober 2013, dann Lagerung bei 4 °C.

b Gefriertrocknung im November 2012, dann Lagerung bei 4 °C.

Tabelle 28: Arithmetischer Mittelwert des Butylzinngehaltes aus drei unabhängigen Messungen, PNF Ulm.

Jahr	TBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	DBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	MBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	BG [ng/g] ww TBT	DBT	MBT
2004	1,19	0,09	0,313	0,158	0,184	0,067	0,034	0,025	0,094
2005	1,01	0,04	0,240	0,040	0,125	0,023	0,036	0,027	0,100
2006	0,735	0,065	0,140	0,002	0,147	0,024	0,035	0,026	0,097
2007	0,713	0,081	0,210	0,078	0,126	0,061	0,035	0,026	0,097
2008	0,838	0,035	0,242	0,046	0,108	0,006	0,041	0,030	0,113
2009	0,829	0,033	0,325	0,026	0,073	0,019	0,129	0,130	0,106
2010	0,829	0,038	0,210	0,055	0,073	0,019	0,037	0,027	0,101
2011	0,305	0,015	0,317	0,001	0,323	0,007	0,046	0,044	0,034
2012[a]	0,317	0,016	0,314	0,023	0,476	0,047	0,155	0,086	0,082
2013[b]	0,274	0,012	0,313	0,020	0,487	0,118	0,155	0,087	0,083

< BG

a Gefriertrocknung im Januar 2013, dann Lagerung bei 4 °C.

b Gefriertrocknung im Oktober 2013, dann Lagerung bei 4 °C.

Tabelle 29: Arithmetischer Mittelwert des Butylzinngehaltes aus drei unabhängigen Messungen, PNF Belauer See.

Jahr	TBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	DBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	MBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	BG [ng/g] ww TBT	DBT	MBT
2005	0,417	0,069	0,257	0,048	0,413		0,057	0,037	0,072
2007	0,225	0,037	0,125	0,016	0,014	0,046	0,057	0,037	0,072
2009	0,135	0,134	0,047	0,089	0,089	0,128	0,066	0,046	0,030
2011	0,285	0,054	0,091	0,033	0,098	0,097	0,044	0,043	0,033
2013[a]	0,058	0,038	0,037	0,029	0,129	0,053	0,114	0,069	0,081

< NG < BG

a Gefriertrocknung im November 2013, dann Lagerung bei 4 °C.

4.5.4 Monatshomogenate 2013 - Miesmuschel/Weichkörper

Tabelle 30: Arithmetischer Mittelwert des Butylzinngehaltes aus drei unabhängigen Messungen, PNF Darßer Ort.

Monat	TBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	DBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	MBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	BG [ng/g] ww TBT	DBT	MBT
Juni	0,646	0,012	0,180	0,016	0,085	0,012	0,020	0,015	0,008
November	0,238	0,009	0,234	0,001	0,118	0,011	0,018	0,012	0,007

Tabelle 31: Arithmetischer Mittelwert des Butylzinngehaltes aus drei unabhängigen Messungen, PNF Eckwarderhörne.

Monat	TBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	DBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	MBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	BG [ng/g] ww TBT	DBT	MBT
Februar	0,942	0,094	0,414	0,047	0,440	0,147	0,009	0,017	0,092
April	1,56	0,07	0,470	0,042	0,692	0,360	0,010	0,019	0,103
Juni	0,969	0,022	0,409	0,024	0,316	0,055	0,010	0,020	0,110
August	0,591	0,016	0,433	0,020	0,405	0,142	0,013	0,025	0,136
Oktober	0,571	0,049	0,494	0,049	0,342	0,154	0,012	0,022	0,141
Dezember	0,664	0,052	0,509	0,020	0,458	0,173	0,010	0,020	0,108

Tabelle 32: Arithmetischer Mittelwert des Butylzinngehaltes aus drei unabhängigen Messungen, PNF Königshafen.

Monat	TBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	DBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	MBT [ng/g] ww	S [ng/g] ww	BG [ng/g] ww TBT	DBT	MBT
Februar	0,604	0,030	0,179	0,011	0,250	0,051	0,010	0,018	0,100
April	1,88	0,21	0,237	0,016	0,083	0,001	0,011	0,022	0,118
Juni	0,436	0,026	0,167	0,003	0,079	0,004	0,010	0,019	0,107
August	0,307	0,011	0,184	0,002	0,090	0,006	0,029	0,020	0,012
Oktober	0,290	0,015	0,157	0,017	0,085	0,009	0,036	0,026	0,014
Dezember	0,323	0,021	0,160	0,007	0,093	0,008	0,033	0,024	0,013

5 Diskussion der Ergebnisse

Im Rahmen dieser Arbeit sollte zum einen die GC/ICP-MS-Kopplung mit einem Quadrupol als Massenaseparator anstatt des hochauflösenden Sektorfeldes als neues Messsystem zur Bestimmung von Butylzinnverbindungen eingerichtet werden. Zum anderen sollte mit dem neuen System die Entwicklung der Belastung mariner und limnischer Organismen mit TBT und dessen Abbauprodukten DBT und MBT anhand von Aalmutter (Muskulatur), Miesmuschel (Weichkörper) und Brasse (Muskulatur) untersucht werden. Dazu wurde eine Auswahl von Zeitreihen, die von *Rüdel et al.* in früheren Arbeiten analysiert wurden, bis zum Jahr 2013 verlängert.[1-3]

5.1 Überprüfung der Methode und Grundvalidierung des neuen Messsystems

Da die Bestimmung von Butylzinnverbindungen am *Fraunhofer IME* zuletzt mittels Isotopenverdünnungsanalyse und GC/SF-ICP-MS-Kopplung durchgeführt wurde, konnte auf eine vorhandene Probenaufschluss- und Derivatisierungsmethode zurückgegriffen werden. Um zu überprüfen, ob das vorliegende GC-Temperaturprogramm in Kombination mit der neuen Detektionseinheit verwendet werden kann, wurden anhand der Messung von MBT-, DBT- und TBT-Einzelstandards sowie einer Lösung, die alle drei Komponenten beinhaltete, die einzelnen Retentionszeiten bestimmt und die Trennbarkeit der Butylzinnkomponenten untersucht. Anhand der Daten konnten die erhaltenen Peaks den einzelnen Spezies eindeutig zugeordnet werden. Ebenso zeigten die Chromatogramme eine deutliche Basislinientrennung der Peaks. Daher konnte das GC-Temperaturprogramm von der bereits vorliegenden Methode übernommen werden.

Die Ermittlung der Validierungsparameter wurde mit dem zertifizierten Referenzmaterial (ZRM) Mussel Tissue ERM-CE477 durchgeführt. Bei diesem Referenzmaterial liegen die zertifizierten Gehalte zwar über denen in den gemessenen Umweltproben, doch ist auf dem Markt kein anderes ZRM mit geringeren TBT-, DBT- und MBT-Belastungen erhältlich. Da für eine Grundvalidierung ein zertifiziertes Referenzmaterial - sofern verfügbar - genutzt werden sollte, wurde es hier als sinnvoll erachtet, dieses Material zu verwenden. Das ZRM ist von der Matrix mit den gemessenen Umweltproben vergleichbar und wird somit für die Validierung der Methode und zur Verifizierung der Messungen als geeignet angesehen. Die durchschnittlichen Wiederfindungsraten und Daten zur Wiederholbarkeit (frisches ZRM über alle Messungen) von 100% (TBT), 91,3% (DBT) und 91,9% (MBT) belegen, dass die

bestehende Methode der Probenvorbereitung in Verbindung mit dem neuen Messsystem zur Quantifizierung von Butylzinnverbindungen geeignet ist.

5.2 Vergleich des Butylzinngehalts frisch getrockneter und alter Proben

Für die Erstellung der Zeitreihen wurden neben frisch getrockneten Proben für einige Jahrgänge auf zusätzliche Proben, die in den Jahren 2012 und 2013 gefriergetrocknet und nach der Trocknung bei 4 °C gelagert wurden, zurückgegriffen. Hierbei handelt es sich um die Jahrgänge 2012 und 2013 der Brassenproben, den Jahrgang 2013 der Aalmutterproben sowie die Miesmuschelproben aus dem Jahr 2011. In den Zeitreihen der Brassenproben ist zu erkennen, dass der Butylzinngehalt zwischen 50% und 80% geringer ist als der Gehalt in frisch getrockneten Proben aus den Jahren davor. Zugleich ist ein bis zu 20mal höherer MBT-Gehalt (z. B. PNFs Saale und Koblenz) als in den Vorjahren gemessen worden. Dieses Verhalten stellt einen deutlichen Unterschied zu dem ansonsten beobachteten Trend, dass sich die TBT-Gehalte auf einen gewissen Wert einzupendeln scheinen, dar (siehe Abbildungen 17-22). Untersuchungen zur Stabilität von Organozinnverbindungen in Umweltproben von Gomez-Ariza aus dem Jahr 1999 haben gezeigt, dass Butylzinnverbindungen in Biotaproben bei 4 °C und Lagerung unter Lichtausschluss etwa fünf Monate stabil sind. In der Folgezeit wurde der Abbau von TBT und eine entsprechende Anreicherung von zunächst DBT und später MBT beobachtet.[47] Aus zeitlichen Gründen war es nicht mehr möglich, die fraglichen Messungen mit frisch getrockneten Proben zu wiederholen. Da das beobachtete Verhalten jedoch mit den von Gomez-Ariza berichteten Ergebnissen übereinstimmt, werden die entsprechenden Daten bei der Bewertung der Ergebnisse nicht berücksichtigt. Zudem scheint es sinnvoll zu sein, Butylzinn-Bestimmungen möglichst zeitnah nach der Gefriertrocknung durchzuführen.

5.3 Entwicklung der Butylzinnbelastung in Aalmutter und Miesmuschel

Das Interesse und auch die Notwendigkeit für ein retrospektives Monitoring von Organozinnverbindungen in Gewässern, in diesem Fall von TBT, DBT und MBT, beruht auf dem Verbot von TBT-haltigen Antifouling-Farben. Die oben erwähnten Arbeiten von *Rüdel et al.* haben gezeigt, dass das 1989 eingeführte Verbot von TBT als Antifouling-Mittel in Schiffsanstrichen für Schiffe ≤ 25 m keinen großen Einfluss auf die Wasserqualität bezüglich BZV hatte.[1-2] Nachdem das Verbot 2003 in der EU auf alle Schiffslängen ausgedehnt wurde, wurden die Zeitreihen von Miesmuschel und Aalmutter zunächst bis 2005 bzw. 2006

fortgesetzt. Bereits in den ersten Jahren nach dem Verbot wurde hier ein signifikanter Rückgang der Belastungen festgestellt, der von unveröffentlichten Daten des *Fraunhofer IME* aus den Jahren 2007 bis 2009 (Aalmutter) bzw. 2006 bis 2008 (Miesmuschel) bestätigt wird (Beispiele für vollständige Zeitreihen sind in Anhang C abgebildet). *Verhaegen et al.* berichteten einen zehnfachen TBT-Rückgang von 368 und 259 µg/kg dw auf 29 µg/kg dw in Nordseegarnelen (*Crangon crangon*) aus der südwestlichen Nordsee zwischen den Jahren 2003 und 2009.[64]

Allgemein zeigen die in dieser Arbeit erhobenen Daten, dass unabhängig von der Probenart, je nach Probenahmegebiet ab 2008 bis 2010, der Butylzinngehalt nicht weiter zurückging und sich mit kleinen Schwankungen auf einen gewissen Wert eingestellt hat (siehe Abbildungen 17-22). Bei genauer Betrachtung der Zeitreihen sind jedoch Unterschiede sowohl zwischen den beiden Probearten als auch zwischen den unterschiedlichen Probenahmeflächen zu erkennen.

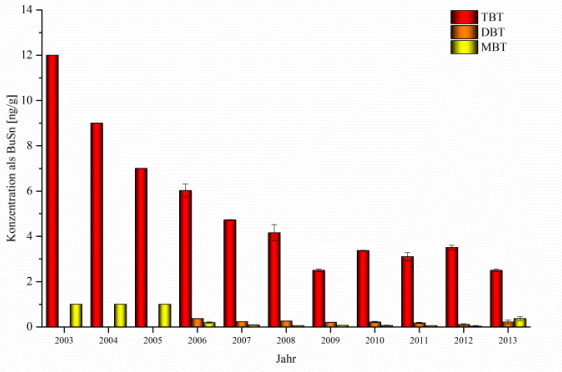


Abbildung 17: Aalmutter Meldorfer Bucht.

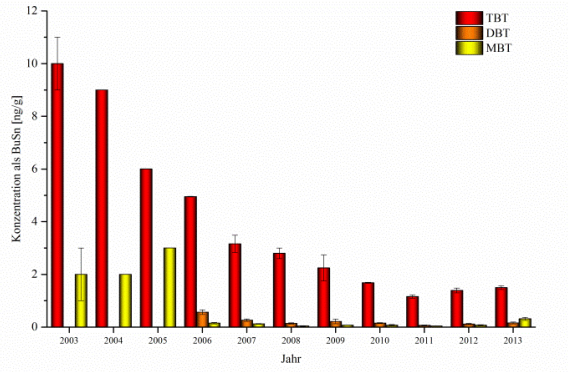


Abbildung 18: Aalmutter Varel Mellum.

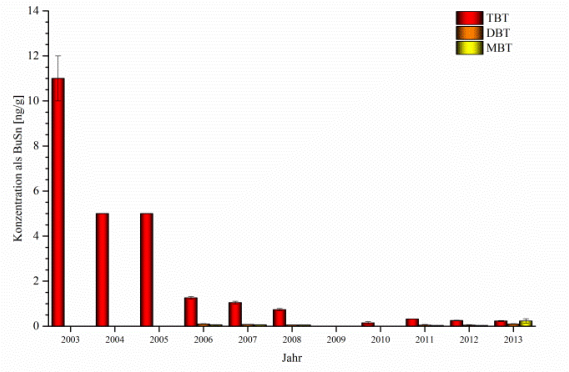


Abbildung 19: Aalmutter Darßer Ort.

Ein deutlicher Unterschied zwischen den beiden Probenarten ist bei den Gehalten der TBT-Abbauprodukte DBT und MBT im Verhältnis zum TBT-Gehalt zu erkennen. In Aalmuttern wurde in den Jahren 2010 bis 2012 ein durchschnittlicher DBT-Gehalt von 0,029 ng/g (Darßer Ort), 0,164 ng/g (Meldorfer Bucht) und 0,109 ng/g (Varel Mellum) gemessen. Im

Verhältnis dazu ist der TBT-Gehalt der PNFs Darßer Ort und Varel Mellum zehnmal und der der PNF Meldorfer Bucht zwanzigmal höher. MBT konnte in Aalmuttern in diesem Zeitraum nicht nachgewiesen werden.

Im Gegensatz dazu wird in Miesmuscheln bei einem durchschnittlichen TBT-Gehalt von 0,846 ng/g (Eckwarderhörne), 0,382 ng/g (Königshafen) und 0,376 ng/g (Darßer Ort) ein DBT-Gehalt von 50-67% des TBT-Gehaltes gefunden, der MBT-Gehalt liegt zwischen 25% und 41%. Die geringen DBT-Gehalte in Aalmuttern stimmen mit den 2009 von *Rüdel et al.* berichteten Ergebnissen überein, jedoch wurden dort MBT-Gehalte von 1-3 ng/g gefunden. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung ist, dass Aalmuttern DBT und MBT schneller metabolisieren oder ausscheiden können als Miesmuscheln[3]

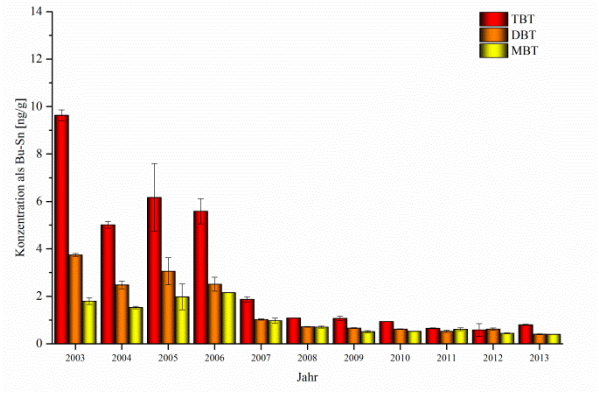


Abbildung 20: Miesmuschel Eckwarderhörne.

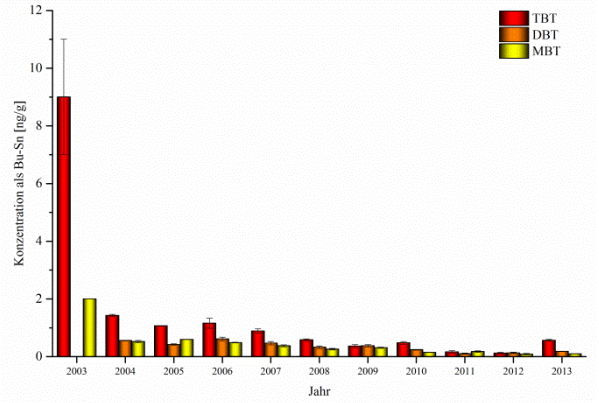


Abbildung 21: Miesmuschel Königshafen.

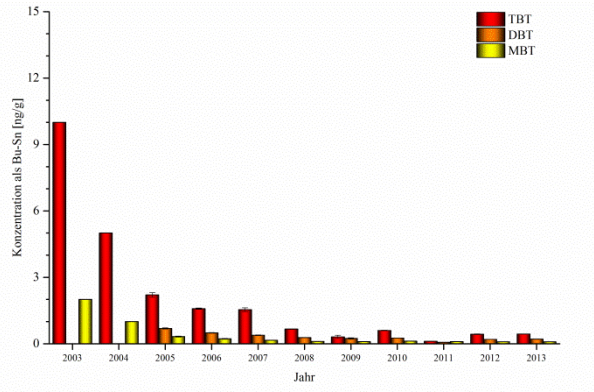


Abbildung 22: Miesmuschel Darßer Ort.

Die absoluten Gehalte an BZV in Aalmutter und Miesmuschel zeigen eine starke Abhängigkeit von der Probenahmefläche oder, genauer formuliert, von der Art und Intensität ihrer Nutzung und äußeren Beeinflussung. Wie zu erwarten finden sich in Aalmutter und Miesmuschel die höchsten Butylzinngehalte in der PNF Meldorfer Bucht und in den PNFs des Jadebusens. Das in den Jahren 2010 bis 2012 am stärksten belastete Gebiet mit einem

gefundenen TBT-Gehalt von rund 3 ng/g in Aalmuttermuskulatur ist die Meldorfer Bucht. Die Belastung der PNF Transekt Varel Mellum ist mit ca. 1,5 ng/g TBT etwa halb so hoch. Der Schadstoffeintrag der Elbe und die Nähe zu den Schifffahrtswegen des Hamburger Hafens können eine Erklärung hierfür sein. Die von Schifffahrt und Einträgen aus Flüssen nicht direkt betroffene PNF Darßer Ort weist mit etwa 0,25 ng/g den geringsten TBT-Gehalt für Aalmuttern auf. Dieser Befund wird von den Untersuchungen an Miesmuscheln bestätigt. Die TBT-Gehalte in den Gebieten Darßer Ort und Königshafen, die durch Nutzung und sonstige Einträge ähnlich beeinflusst sind, bewegen sich zwischen 2009 und 2013 um ~0,4 ng/g TBT. Dagegen liegt der durchschnittliche Wert der PNF Eckwarderhörne mehr als doppelt so hoch (~0,85 ng/g TBT).

Betrachtet man die Zeitreihen von Aalmutter und Miesmuschel der PNF Darßer Ort und der PNFs des Jadebusens, ist zu beobachten, dass der TBT-Gehalt in der Aalmuttermuskulatur im Jadebusen 1,5fach höher ist als in der Miesmuschel. In den entsprechenden Proben der PNF Darßer Ort ist der TBT-Gehalt dagegen nahezu gleich hoch. Da Lee (1985) und Fent (1996) zeigen konnten, dass der TBT-Abbau in Fischen schneller abläuft als in Muscheln, scheint die TBT-Belastung in der Probenahmefläche Darßer Ort mittlerweile auf ein Niveau gesunken zu sein, auf dem eine Bioakkumulation in Aalmuttern nicht mehr nachzuweisen ist.[7,65]

5.4 Entwicklung der Butylzinnbelastung in Brassenmuskulatur

Das zuletzt durchgeführte retrospektive Monitoring von Brassenmuskulatur datiert aus dem Jahr 2006. Es umfasst die deutschen Flüsse Elbe, Saale, Mulde, Rhein und Saar sowie den Belauer See. Die aufgestellten Zeitreihen erstrecken sich über den Zeitraum von 1993 bis 2003 (siehe Anhang C) bzw. 1988 bis 2003 (Belauer See). Damit decken sie den Zeitraum zwischen dem Verbot von TBT als Antifouling-Zusatz für Kleinschiffe < 25 m und dem kompletten Verbot ab. Diese Studie kommt zu dem Ergebnis, dass der TBT-Gehalt in nahezu allen untersuchten PNF bis 2003 sinkt.[1] Die Fortsetzung der Zeitreihen bis 2013 beleuchtet nun den Zeitraum nach dem Inkrafttreten des EU-weiten TBT-Verbotes für alle Schiffsgrößen. Untersucht wurden im Rahmen dieser Arbeit die Flüsse Elbe (PNFs Blankenese und Cumlosen), Rhein (PNFs Bimmen und Koblenz), Saale (bei Wettin), Mulde (bei Dessau), Saar (PNF Rehlingen) und Donau (PNF Ulm). Zusätzlich wurde der Belauer See als Referenzort für ein Gebiet mit sehr geringen anthropogenen Einflüssen untersucht.

Allgemein ist in den Zeitreihen zu beobachten, dass mit Ausnahme der Probenahmeflächen Belauer See und Ulm der TBT-Gehalt von 2003 auf 2004 ansteigt, um in den nachfolgenden Jahren wieder auf oder unter das Level von 2003 zu sinken. In Bimmen ist dieses Phänomen bereits von 2002 auf 2003, in Koblenz ist diese Entwicklung über zwei Jahre von 2003 bis 2005 zu beobachten. Eine Begründung für den erneuten Anstieg der TBT-Belastung im Vergleich zu den Vorjahren könnte das bevorstehende Verbot der TBT-haltigen Antifouling-Farben sein, weil Schiffe vor dem Verbot noch einmal frisch beschichtet und Restbestände an Farben aufgebraucht wurden. Für diese These spricht, dass es einige Jahre dauert bis der TBT-Gehalt auf das alte Niveau zurückgegangen ist, da aus den Schiffsfarben weiterhin TBT ausgewaschen wird. Des Weiteren ist aus den Zeitreihen abzulesen, dass der DBT-Gehalt in den Brassen abhängig vom TBT-Gehalt ist. D. h., dass in den Gebieten mit den höchsten TBT-Gehalten auch höhere DBT-Gehalte gefunden werden. *Rüdel et al.* stellten in den Jahren vor 2003 den gleichen Zusammenhang fest. Daraus wurde gefolgert, dass das gefundene DBT ein TBT-Abbauprodukt der Fische ist und nicht aus externen Quellen stammt.[1]

Der höchste TBT-Gehalt wurde 2004 in der Brassenmuskulatur der PNF Blankenese (siehe Abbildung 23) mit 283 ng/g gefunden. Bis 2008 sinken die gefundenen Werte kontinuierlich bis auf 119 ng/g TBT. In den Jahren 2008 bis 2011 scheint sich die TBT-Konzentration auf diesem Niveau zu stabilisieren. Ebenso werden in Blankenese die höchsten Konzentrationen des TBT-Abbauprodukts DBT gefunden. Diese Konzentration nimmt von 19,1 ng/g DBT im Jahr 2004 bis 2011 um 10,9 ng/g DBT ab. Mit der Nähe zu den Hamburger Hafenanlagen und dem damit verbundenen intensiven Schiffsverkehr ist dieser Befund zu erklären. In Cumlosen, dem zweiten untersuchten Gebiet der Elbe, konnte von 2004 bis 2008 eine Abnahme der Tributylzinnverschmutzung nachgewiesen werden. Hier nahm die Konzentration von 44,8 ng/g auf 12,8 ng/g ab, dies entspricht einem Rückgang von ca. 75% (siehe

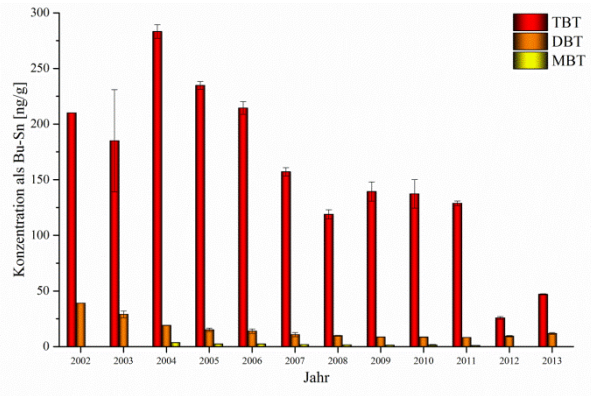


Abbildung 23: Blankenese.

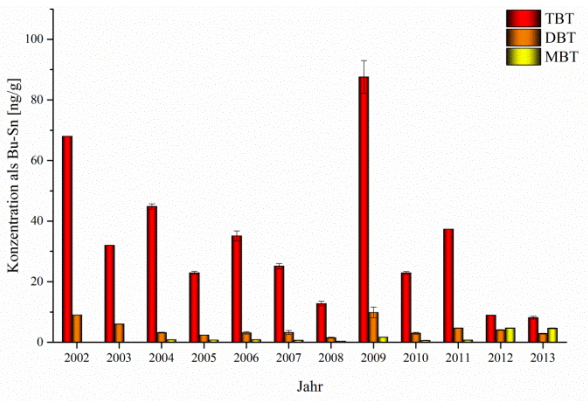


Abbildung 24: Cumlosen.

Abbildung 24). Jedoch liegt hier kein stetiger Abfall der Gehalte vor. Im Jahr 2009 ist ein schlagartiger Anstieg des TBT-Gehalts auf 87,6 ng/g zu beobachten. Ein besonderer Vorfall, der diesen Anstieg erklärt, konnte nicht gefunden werden. Jedoch scheint der Anstieg einem einmaligen Ereignis geschuldet zu sein, denn in den Jahren 2010 und 2011 werden wieder Werte auf dem Niveau der Vorjahre ermittelt.

Eine mögliche Erklärung für den zu anderen Flusssystemen vergleichsweise hohen TBT-Gehalt könnte sein, dass die beiden Nebenflüsse Saale und Mulde (siehe Abbildung 25 und 26) von 2004 bis 2011 durchschnittlich 18 ng/g TBT (Saale) bzw. 46 ng/g TBT (Mulde) hohe TBT-Lasten in die Elbe eintragen. Die Saale weist dabei nur einen geringen TBT-Rückgang von 21,2 ng/g (2004) auf 14,8 ng/g (2011) aus. In der Mulde ist ein signifikanter Rückgang um 50 ng/g vom Höchststand der TBT-Belastung von 64,8 ng/g TBT (2005) auf 15,1 ng/g (2011) zu beobachten. Allerdings muss hier beachtet werden, dass die TBT-Belastung schon im Jahr 2003 bei nur 20 ng/g TBT lag und erst mit dem Inkrafttreten des TBT-Verbots auf zunächst 59,4 ng/g TBT im Jahr 2004 angestiegen ist.

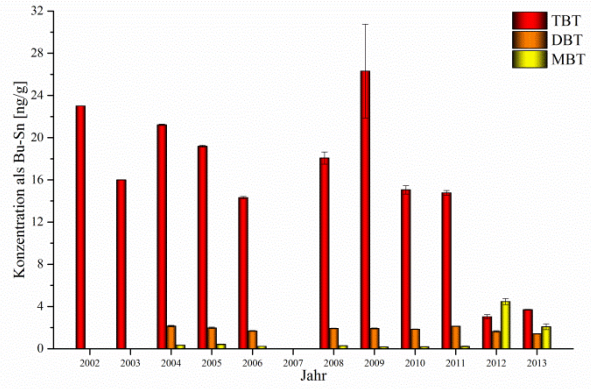


Abbildung 25: Saale.

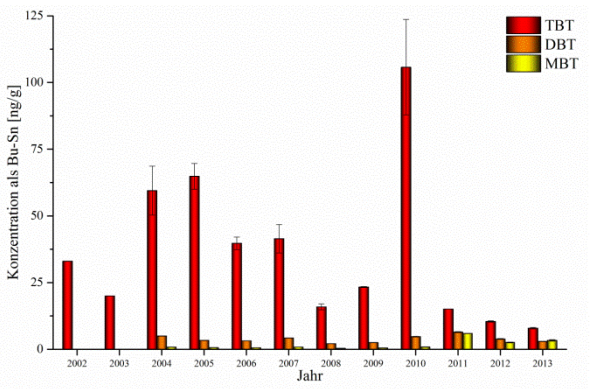


Abbildung 26: Mulde.

Der Ballungsraum Halle/Leipzig/Bitterfeld als Standort der chemischen Industrie, darunter auch die Produktion von Organozinnverbindungen, kann als Erklärung für die relativ hohe Belastung von Saale und Mulde herangezogen werden. Wie in Cumlosen werden die Zeitreihen beider Elbnebenflüsse von einem einmaligen Sprung der gefundenen TBT-Menge unterbrochen. 2009 ist bei der Saale ein erkennbarer Anstieg von 7,8 ng/g innerhalb eines Jahres zu beobachten. Die Mulde zeigt einen solchen Anstieg von 2009 auf 2010, hier ist der Gehalt 2010 mit 106 ng/g etwa viermal so hoch wie im Vorjahr. Auffällig ist, dass ebenso wie in Cumlosen, die TBT-Gehalte schon im nächsten Jahr wieder das Niveau wie vor dem Anstieg erreichen. Eine eindeutige Erklärung konnte auch für diese beiden Sprünge in der Zeitreihe nicht gefunden werden. Da auch hier kein dauerhafter Anstieg an TBT eingetreten

ist, scheinen auch hier äußere Einflüsse verantwortlich zu sein. Für den erhöhten Gehalt könnten verschiedene Faktoren eine Rolle spielen. Zum einen könnten Hochwasserereignisse in diesen Regionen für einen Eintrag aus alten belasteten Böden in das Gewässer verantwortlich sein. Zum anderen könnte auch die Verwendung von alten butylzinnhaltigen Farben oder das Entfernen von alter Farbe in Marinas ein Grund für diese Erhöhung sein. Da jedoch keine Informationen zu Marinas in der Umgebung der PNFs vorliegen, ist ein möglicher Zusammenhang nicht nachweisbar. Auf Basis der Ergebnisse wäre es empfehlenswert diese erhöhten Werte mittels Schwebstoffproben, die ebenfalls für die jeweiligen PNFs vorliegen, zu bestätigen.

Für den Rhein wurden Brassenmuskulaturproben der PNF Bimmen und Koblenz untersucht. Die gemessenen TBT-Gehalte liegen für beide Probenahmeflächen in der gleichen Größenordnung. Koblenz weist die höchste Menge TBT 2005 mit 16,4 ng/g auf (siehe Abbildung 27). In den folgenden Jahren fällt der Gehalt bis 2009 auf 5,49 ng/g. In den Jahren 2010 und 2011 ist kein weiterer Rückgang zu verzeichnen. Die Entwicklung in Bimmen verläuft ähnlich, jedoch um zwei Jahre zeitversetzt. Von 2003 an sinkt die TBT-Belastung von 17 ng/g auf 6,44 ng/g (2011). 2007 ist in beiden Gebieten ein Anstieg von TBT zu verzeichnen, jedoch beträgt dieser Anstieg für die PNF Koblenz nur 1,6 ng/g von 12,1 ng/g auf 13,7 ng/g. Für die PNF Bimmen beträgt der Anstieg des TBT-Gehalts 6 ng/g von 10,5 ng/g auf 16,5 ng/g. Aufgrund der gesunkenen Konzentration im folgenden Jahr auf 8,23 ng/g (Koblenz) bzw. 10,5 ng/g (Bimmen) ist eine einmalige, nicht klar definierte Freisetzung von TBT anzunehmen. Da der Rhein eine sehr stark befahrene Wasserstraße ist, ist eine mögliche Abgabe von Tributylzinn aus Farben von z. B. EU-fremden Schiffen wahrscheinlich.

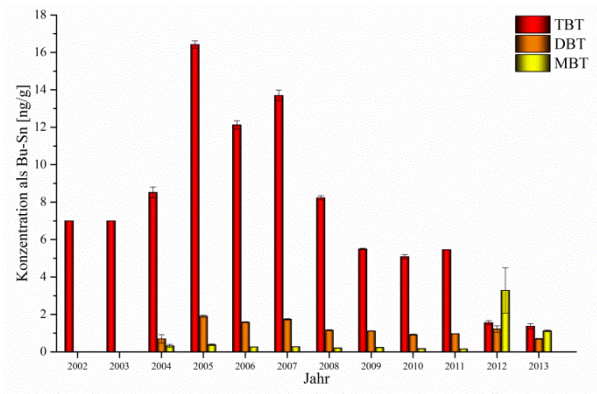


Abbildung 27: Koblenz.

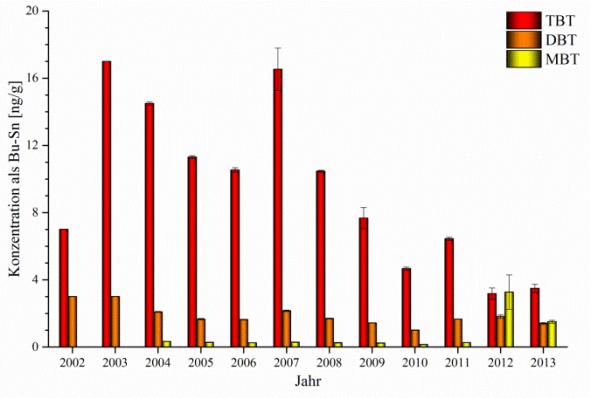


Abbildung 28: Bimmen.

Abbildung 29 zeigt die Zeitreihe der Probenahmefläche Rehlingen (Saar). Der Tributylzinn-gehalt nimmt von 2004 bis 2009 stetig von 8,71 ng/g auf 2,91 ng/g ab. In den beiden folgenden Jahren ist ein leichter Anstieg auf 3,96 ng/g zu beobachten. Ein Grund für die gleichmäßige Abnahme des TBT-Gehaltes könnte sein, dass die Saar außer durch Schifffahrt durch keine weiteren nennenswerten TBT-Einträge beeinträchtigt wird.

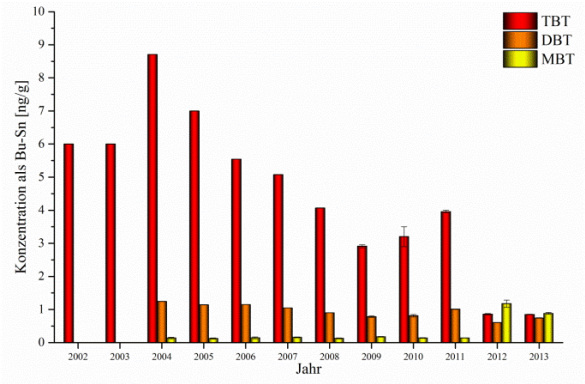


Abbildung 29: Rehlingen.

Wegen seiner Lage in einem Naturschutzgebiet und dem Verbot motorisierter Bootsfahrt wird für die Probenahmefläche Ulm, im Vergleich zu den anderen untersuchten PNF, die geringste Konzentration an TBT festgestellt. In diesem Gebiet ist gewerbliche Schifffahrt stark eingeschränkt, somit war für den Eintrag von Tributylzinn hauptsächlich die Freizeitschifffahrt verantwortlich. Das Verbot für tributylzinnhaltigen Farben zeigt auch hier seine Wirkung. Von 2003 auf 2004 sinkt der TBT-Gehalt von ca. 2,00 ng/g auf ca. 1,19 ng/g. Im weiteren Verlauf der Zeitreihe scheint sich der Gehalt bis 2010 auf ca. 0,8 ng/g einzustellen. 2010 ist eine weitere starke Abnahme von ~0,5 ng/g auf 0,305 ng/g zu erkennen. Für den Referenzstandort Belauer See wurden die niedrigsten TBT-Gehalte nachgewiesen. Für die untersuchten Brassenmuskulaturproben von 2007 (nur MBT) und 2013 (TBT und DBT) liegen die Konzentrationen unterhalb der Bestimmungsgrenze der jeweiligen Messserie.

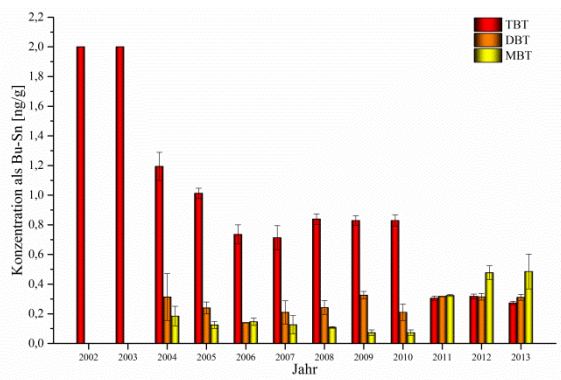


Abbildung 30: Ulm.

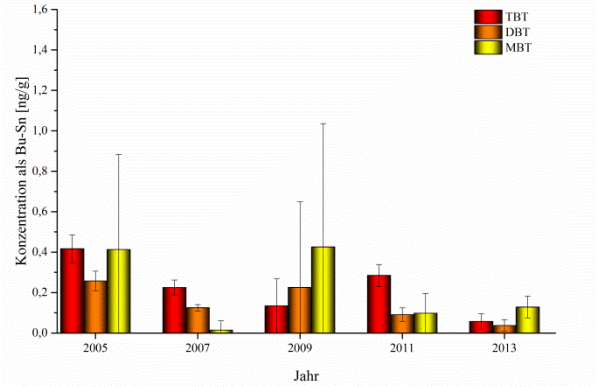


Abbildung 31: Belauer See.

5.5 Bestimmung von TBT in Miesmuschel-Monatshomogenaten

Da Bioakkumulation von Schadstoffen bei Miesmuscheln von vielen äußeren Faktoren abhängt (siehe Kapitel 2.2.6), wurden 2013 von der UPB erstmals Monatshomogenate von den sechs bzw. zwei Probenahmen des Jahres angefertigt. Hiermit sollten die möglichen Schwankungen der Bioakkumulation im Jahresverlauf erstmals quantifiziert werden. Die Ergebnisse der Untersuchung sind in den Abbildungen 32 bis 34 dargestellt. Die TBT-Akkumulation der beiden Nordsee-Probenahmeflächen Eckwarderhörne und Königshafen (siehe Abbildungen 32 und 33) über das Jahr verläuft ähnlich. Der höchste TBT-Gehalt wurde mit 1,56 ng/g (Eckwarderhörne) und 1,88 ng/g (Königshafen) jeweils im April gemessen. Bis zum Oktober sinkt die Konzentration von TBT in den Muscheln beider Gebiete, in Eckwarderhörne auf 0,571 ng/g TBT und in Königshafen auf 0,290 ng/g TBT. Es ist jedoch zu beobachten, dass der TBT-Gehalt in Königshafen von Juni bis Februar fast konstant ist und es nur im April zu einer dreifachen Zunahme kommt. In den Proben der PNF Eckwarderhörne ist dagegen eher eine Fluktuation der TBT-Gehalte im Jahresverlauf zu beobachten.

Für die Butylzinnspezies DBT und MBT ist für die beiden PNFs Eckwarderhörne und Königshafen über das Jahr hinweg kaum ein Unterschied der Konzentration zu beobachten. Bei MBT ist für die PNF Eckwarderhörne ähnlich zu TBT ein Anstieg der Konzentration von Februar (0,446 ng/g) zu April (0,692 ng/g) zu beobachten. Für die Proben der PNF Königshafen ist der höchste Wert für MBT im Februar (0,250 ng/g) zu verzeichnen. Bei den gemessenen Monatshomogenaten zeigt sich ein saisonaler Unterschied.

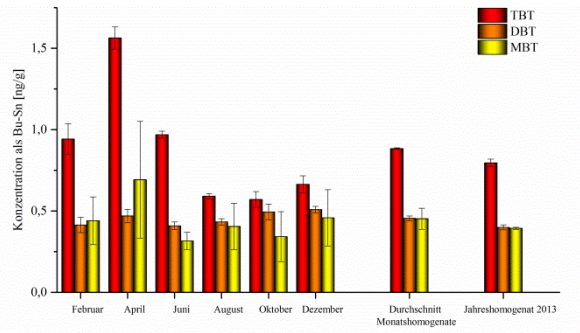


Abbildung 32: Eckwarderhörne.

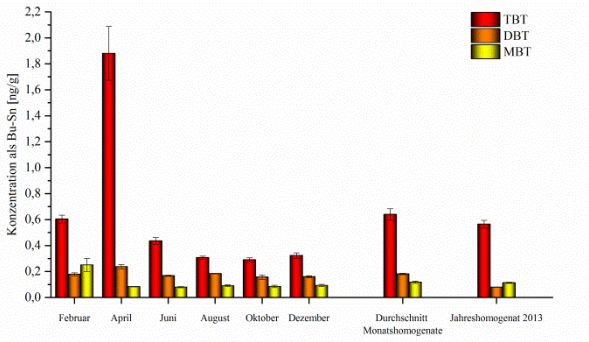


Abbildung 33: Königshafen.

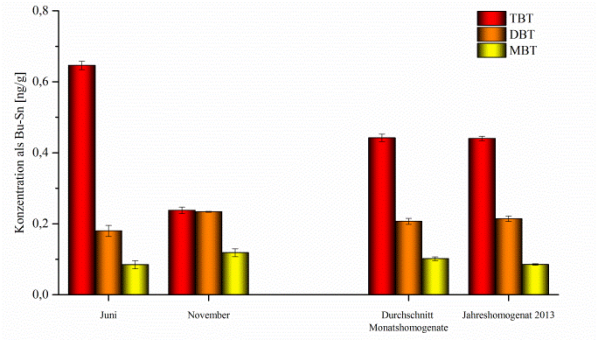


Abbildung 34: Darßer Ort.

In den rechten beiden Spalten der Diagramme in Abbildung 32 bis 34 sind die Mittelwerte der BZV-Gehalte der Monatshomogenate sowie die BZV-Gehalte des Jahreshomogenats 2013 aufgetragen. Für beide PNF stimmen der berechnete Mittelwert der Monatshomogenate und die aus den Jahreshomogenaten bestimmten BZV-Gehalte sehr gut überein.

In der Ostsee wird die Miesmuschel nur im Juni und November beprobt. Über den kompletten Jahresverlauf können daher keine detaillierten Aussagen getroffen werden. Aber auch hier ist eine deutliche Differenz zwischen den beiden Probenahmemonaten von ca. 0,4 ng/g TBT zu erkennen. Ebenfalls wird eine Übereinstimmung des Mittelwertes der beiden Monatsgehalte mit dem ermittelten Jahresgehalt beobachtet. Es zeigt sich, dass eine Vereinigung der Monatsproben zu einem Jahreshomogenat einen realistischen Jahresmittelwert wiedergibt.

6 Zusammenfassung und Ausblick

6.1 Zusammenfassung

In dieser Arbeit konnte die im *Fraunhofer IME* für die Bestimmung von Butylzinngehalten verwendete Methode (GC/SF-ICP-Kopplung) erfolgreich auf einem neuen Messsystem (GC/Quadrupol-ICP-MS) adaptiert werden. Dieses Messsystem wurde anschließend zur Bestimmung der Butylzinngehalte in Biotaproben verwendet. Es wurden je drei Zeitreihen von Aalmuttermuskulatur und dem Weichkörper der Miesmuschel aus Nord- und Ostsee sowie neun Zeitreihen von Brassenmuskulatur aus unterschiedlichen deutschen Flüssen bis 2013 erweitert. Für alle Probenahmeflächen in Nord- und Ostsee konnte nach dem vollständigen TBT-Verbot ab 2003 ein Rückgang der TBT-Konzentrationen in den Biotaproben nachgewiesen werden. Die gleiche Entwicklung wurde mit einer Verzögerung von ein bis zwei Jahren auch für die Brassenmuskulatur aus den untersuchten Flussgebieten beobachtet. Somit kann zusammenfassend festgehalten werden, dass die Schifffahrt einen großen Teil zu dem TBT-Eintrag in aquatische Systeme beiträgt. Zudem zeigen die Zeitreihen, dass die Maßnahme, Tributylzinnverbindungen als Antifouling-Mittel für Schiffe zu verbieten, eine Verbesserung der Wasserqualität bezüglich der BZV-Belastung bewirkt hat. Neben der Schifffahrt gibt es besonders bei Flüssen weitere Faktoren, die für den TBT-Eintrag in Gewässer verantwortlich sein können. Zum Beispiel werden in der Saale und der Mulde, die im Einflussgebiet der Industrieregion Leipzig/Halle/Bitterfeld und alten Bergbau- und Braunkohletagebauen liegen, höhere BZV-Konzentrationen gefunden als in den anderen untersuchten Flüssen. Des Weiteren hat die Auswertung der Zeitreihen der Brassenmuskulatur gezeigt, dass in Flüssen durchaus kurzzeitige Anstiege des TBT-Gehalts auftreten. Obwohl die Herkunft des Tributylzinns nicht mehr nachzuvollziehen ist, wird beobachtet, dass solche einmaligen Ereignisse keine langfristigen Belastungen für die untersuchten Organismen zur Folge haben.

6.2 Ausblick

Um die Butylzinnbelastung in deutschen Gewässern mit den Möglichkeiten der UPB vollständig zu erfassen, könnten zukünftige Arbeiten zunächst die Zeitreihen der Proben aus den übrigen deutschen Flüsse, die im Rahmen dieser Arbeit nicht untersucht wurden, vervollständigen. Zudem sollten die Messserien der Proben aus den Jahren 2012 und 2013 mit Proben wiederholt werden, die frisch gefriergetrocknet wurden. Aufgrund der erhaltenen

Ergebnisse konnte gezeigt werden, dass die Konzentration an BZV in den Proben sich nach einer gewissen Lagerzeit, sofern diese nicht über flüssigem Stickstoff erfolgt, verändern. In der Publikation von Gomez-Ariza ist ein ähnliches Verhalten der Konzentration von BZV in Proben beschrieben. Nach dieser sind Butylzinnverbindungen in Biotaproben bei 4 °C und Lagerung unter Lichtausschluss etwa 5 Monate stabil.[47] Somit konnte auch bestätigt werden, dass die Lagerbedingungen der Umweltprobenbank des Bundes, in der die Proben bei -150°C über flüssigem Stickstoff gelagert werden, die am besten geeignetste Methode ist, die Stabilität von Proben zu gewährleisten.

Da Butylzinnverbindungen eine starke Neigung haben, an Schwebstoffe, Sedimente oder Mineralien zu adsorbieren (siehe Kapitel 2.1.4), könnten durch die Untersuchung von entsprechenden Proben die Informationen über den Zustand der Gewässer vervollständigt werden. Vor dem Hintergrund, dass sich die als Bioindikatoren eingesetzten Fische Aalmutter und Brasse unter anderem von Bodentieren ernähren und sie daher häufig in Kontakt mit den Kompartimenten Boden bzw. Sediment sind, könnten hier weitere Informationen über die Herkunft der Butylzinnbelastung in diesen Arten gewonnen werden. Für Miesmuscheln sind in diesem Zusammenhang besonders Erkenntnisse über BZV-Gehalte in Schwebstoffen von Interesse, da Miesmuscheln sich durch Filtration des Umgebungswassers ernähren und daher zwangsläufig auch Schwebstoffe mitaufgenommen werden. Zudem könnten Untersuchungen von Schwebstoffen und Sedimenten dabei helfen, Ursachen für plötzliche Veränderungen wie die TBT-Gehaltsanstiege in Elbe, Saale und Mulde 2009/2010 zu finden.

Die Bestimmung des Butylzinngehaltes in den Monatshomogenaten von Miesmuscheln zeigte, dass auch saisonale Schwankungen in den BZV-Konzentrationen auftreten könnten (siehe Kapitel 2.2.6). Hierbei muss jedoch beachtet werden, dass die Untersuchungen nur mit Monatshomogenaten eines Jahres durchgeführt wurden. Um zu bestätigen, dass es sich tatsächlich um eine saisonale Schwankung handelt, ist es notwendig, diese Untersuchungen an Monatshomogenaten auf weitere Jahre auszudehnen. Ebenfalls könnte die Erhebung weiterer Parameter wie Salzgehalt, pH-Wert oder Temperatur des Umgebungswassers helfen, solche Schwankungen zu erklären.

Anhang

Anhang A: Beispielauswertung

1) Integration der Peaks mit *OriginLab*

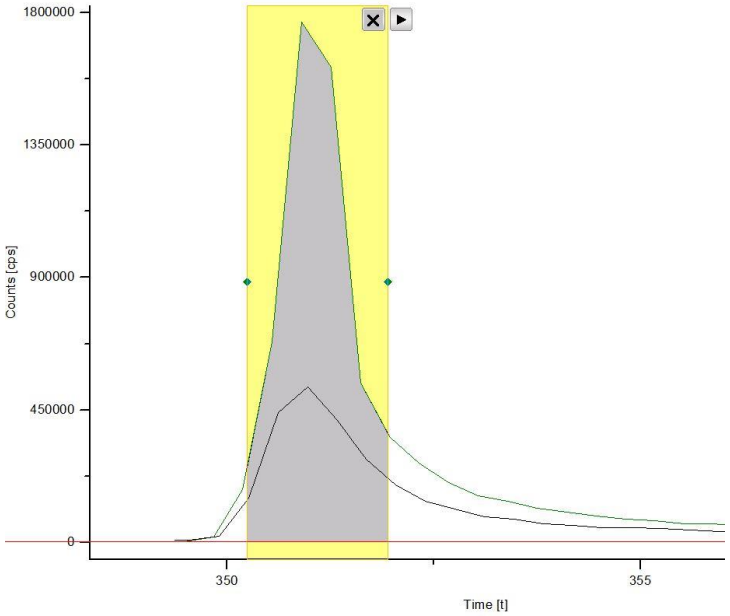


Abbildung 35: Ausschnitt aus einem Chromatogramm mit Anzeige des Integrationsbereichs.

Langname	Datensatzidentifizierer	Anfangs-X	End-X	Max. Höhe	X bei YMax	Fläche über Basislinie
F(x)						
1	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]119Sn! B1(X), C1(Y)	350,12186	352,04766	1841,49352	351,96632	3.013,51065
2	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]120Sn! B1(X), C1(Y)	350,12186	352,04766	11303,85111	351,68159	18.284,00703
3	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]119Sn! B2(X), C2(Y)	350,12186	352,04766	14938,92797	350,89646	18.730,00887
4	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]120Sn! B2(X), C2(Y)	350,12186	352,04766	4362,87129	350,9678	5.816,71405
5	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]119Sn! B3(X), C3(Y)	350,12186	352,04766	19162,272	351,25572	23.986,52673
6	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]120Sn! B3(X), C3(Y)	350,12186	352,04766	3558,06496	350,97099	4.522,88918
7	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]119Sn! B4(X), C4(Y)	350,12186	352,04766	13465,12803	350,90202	16.074,01456
8	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]120Sn! B4(X), C4(Y)	350,12186	352,04766	2430,40756	350,6172	2.594,8759
9	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]119Sn! B5(X), C5(Y)	350,12186	352,04766	19297,4266	350,90119	22.487,2765
10	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]120Sn! B5(X), C5(Y)	350,12186	352,04766	2725,56406	350,61646	4.109,68552
11	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]119Sn! B6(X), C6(Y)	350,12186	352,04766	47078,04833	351,25398	53.995,52711
12	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]120Sn! B6(X), C6(Y)	350,12186	352,04766	3537,65395	350,61312	4.778,73537
13	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]119Sn! B7(X), C7(Y)	350,12186	352,04766	2,1844E7	350,90045	28.061.827,51685
14	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]120Sn! B7(X), C7(Y)	350,12186	352,04766	3,12113E7	350,97178	41.185.733,70743
15	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]119Sn! B8(X), C8(Y)	350,12186	352,04766	2,60961E7	350,90033	31.708.591,44078
16	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]120Sn! B8(X), C8(Y)	350,12186	352,04766	3,30724E7	350,97165	41.156.578,34308
17	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]119Sn! B9(X), C9(Y)	350,12186	352,04766	2,72985E7	350,90266	32.802.859,46117
18	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]120Sn! B9(X), C9(Y)	350,12186	352,04766	3,08005E7	350,974	38.660.541,29614
19	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]119Sn! B10(X), C10(Y)	350,12186	352,04766	-674,3294	350,54441	402,81607
20	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]120Sn! B10(X), C10(Y)	350,12186	352,04766	-1184,61498	350,25966	150,13739
21	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]119Sn! B11(X), C11(Y)	350,12186	352,04766	222950,04362	350,89998	280.884,14956
22	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]120Sn! B11(X), C11(Y)	350,12186	352,04766	198685,50733	350,97135	236.958,5815
23	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]119Sn! B12(X), C12(Y)	350,12186	352,04766	191065,03514	350,9	252.956,73086
24	[150812_MM13Kö+...9neu_Raw.xlsx]120Sn! B12(X), C12(Y)	350,12186	352,04766	161261,31608	350,61524	214.316,77273

Abbildung 36: Ausgabe-Tabelle der Peak-Integration in *OriginLab*.

Die in der Spalte „Fläche über Basislinie“ ausgegebenen Daten werden in die *Microsoft Excel*-Tabelle zur Auswertung kopiert.

2) Auswertung der Integrationsergebnisse mit Microsoft Excel

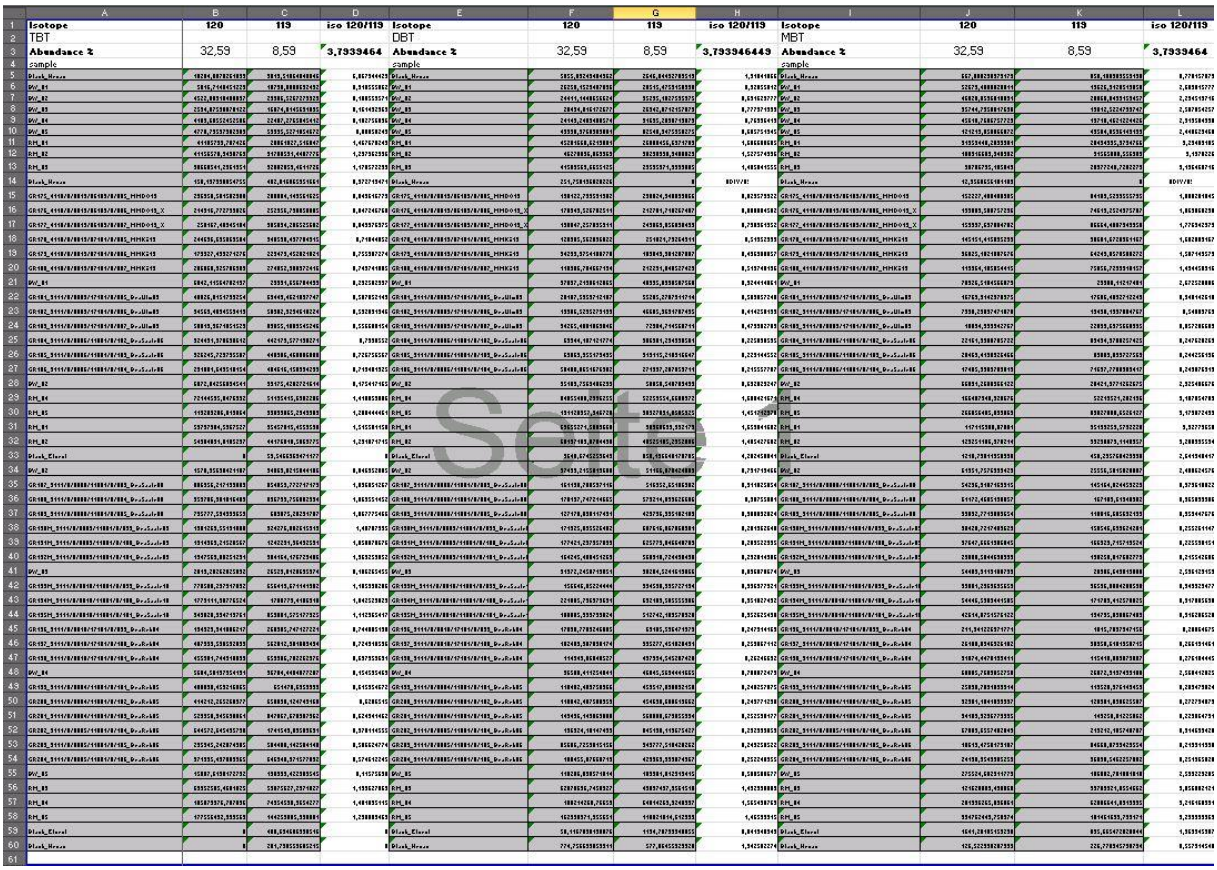
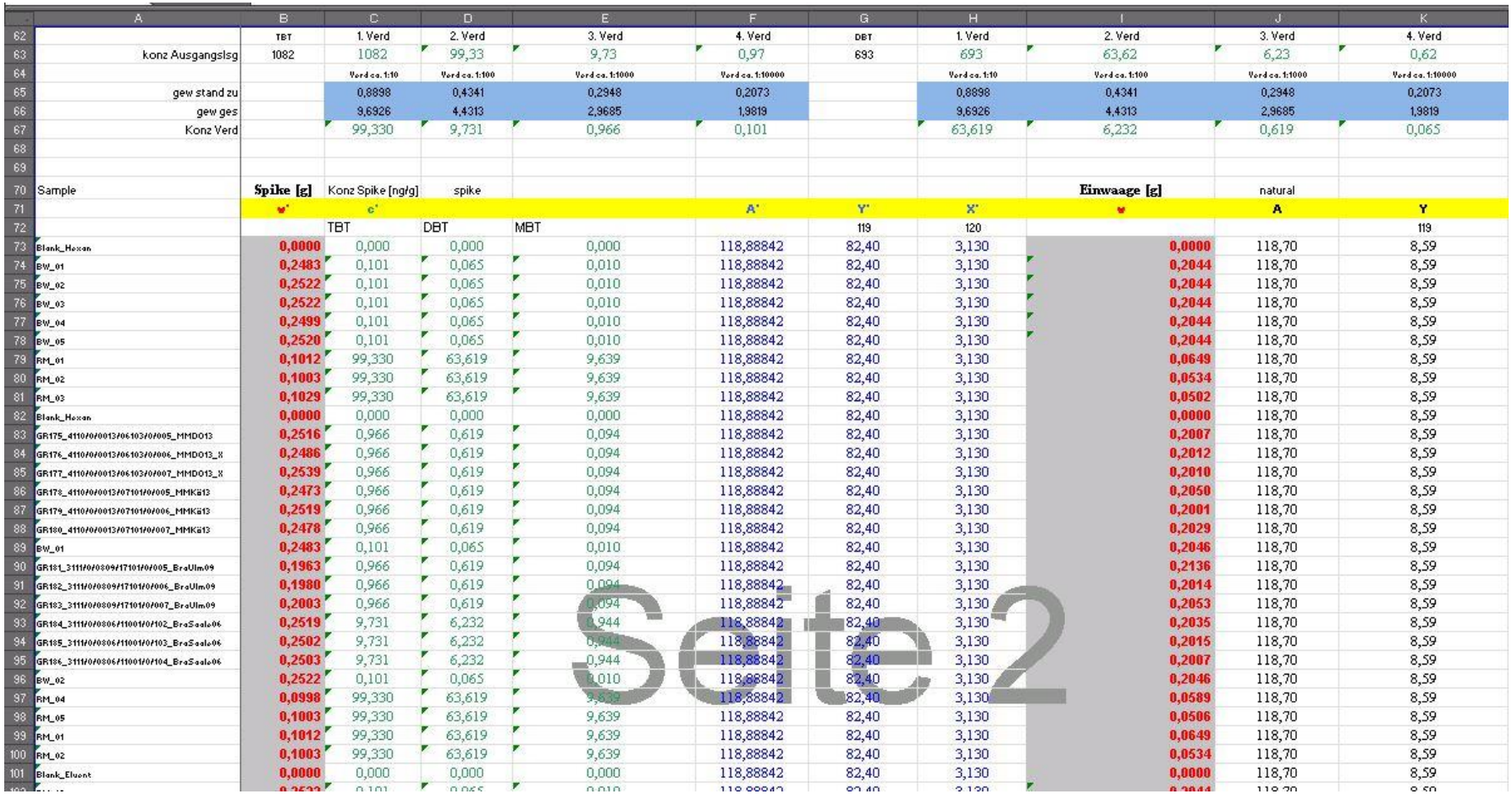


Abbildung 37: Ausschnitt der *Microsoft Excel*-Tabelle, Eingabe der Daten aus *OriginLab*.

Berechnung des $^{120}Sn/^{119}Sn$-Isotopenverhältnisses für TBT:

- Spalte A: Probenbezeichnung
- Spalte B: Eingabe der ^{120}Sn-Peakfläche von TBT
- Spalte C: Eingabe der ^{119}Sn-Peakfläche von TBT
- Spalte D: Berechnetes Isotopenverhältnis $^{120}Sn/^{119}Sn$

In die Spalten E-G und I-K werden in gleicher Weise die Daten von DBT bzw. MBT eingefügt.



	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
62		TBT	1. Verd	2. Verd	3. Verd	4. Verd	DBT	1. Verd	2. Verd	3. Verd	4. Verd
63	konz Ausgangslsg	1082	1082	99,33	9,73	0,97	693	693	63,62	6,23	0,62
64			Verd ca. 1:10	Verd ca. 1:100	Verd ca. 1:1000	Verd ca. 1:10000		Verd ca. 1:10	Verd ca. 1:100	Verd ca. 1:1000	Verd ca. 1:10000
65	gew stand zu		0,8898	0,4341	0,2948	0,2073		0,8898	0,4341	0,2948	0,2073
66	gew ges		9,6926	4,4313	2,9685	1,9819		9,6926	4,4313	2,9685	1,9819
67	Konz Verd		99,330	9,731	0,966	0,101		63,619	6,232	0,619	0,065
68											
69											
70	Sample	**Spike [g]**	Konz Spike [ng/g]	spike					**Einwaage [g]**	natural	
71		w	c			A	Y	X	w	A	Y
72			TBT	DBT	MBT		119	120			119
73	Blank_Hexan	0,0000	0,000	0,000	0,000	118,88842	82,40	3,130	0,0000	118,70	8,59
74	BW_01	0,2483	0,101	0,065	0,010	118,88842	82,40	3,130	0,2044	118,70	8,59
75	BW_02	0,2522	0,101	0,065	0,010	118,88842	82,40	3,130	0,2044	118,70	8,59
76	BW_03	0,2522	0,101	0,065	0,010	118,88842	82,40	3,130	0,2044	118,70	8,59
77	BW_04	0,2499	0,101	0,065	0,010	118,88842	82,40	3,130	0,2044	118,70	8,59
78	BW_05	0,2520	0,101	0,065	0,010	118,88842	82,40	3,130	0,2044	118,70	8,59
79	RM_01	0,1012	99,330	63,619	9,639	118,88842	82,40	3,130	0,0649	118,70	8,59
80	RM_02	0,1003	99,330	63,619	9,639	118,88842	82,40	3,130	0,0534	118,70	8,59
81	RM_03	0,1029	99,330	63,619	9,639	118,88842	82,40	3,130	0,0502	118,70	8,59
82	Blank_Hexan	0,0000	0,000	0,000	0,000	118,88842	82,40	3,130	0,0000	118,70	8,59
83	GR175_4110/0/0013/06103/0/0005_MMDO13	0,2516	0,966	0,619	0,094	118,88842	82,40	3,130	0,2007	118,70	8,59
84	GR176_4110/0/0013/06103/0/0006_MMDO13_K	0,2486	0,966	0,619	0,094	118,88842	82,40	3,130	0,2012	118,70	8,59
85	GR177_4110/0/0013/06103/0/0007_MMDO13_K	0,2539	0,966	0,619	0,094	118,88842	82,40	3,130	0,2010	118,70	8,59
86	GR178_4110/0/0013/07101/0/0005_MMKi13	0,2473	0,966	0,619	0,094	118,88842	82,40	3,130	0,2050	118,70	8,59
87	GR179_4110/0/0013/07101/0/0006_MMKi13	0,2519	0,966	0,619	0,094	118,88842	82,40	3,130	0,2001	118,70	8,59
88	GR180_4110/0/0013/07101/0/0007_MMKi13	0,2478	0,966	0,619	0,094	118,88842	82,40	3,130	0,2029	118,70	8,59
89	BW_01	0,2483	0,101	0,065	0,010	118,88842	82,40	3,130	0,2046	118,70	8,59
90	GR181_3111/0/0309/17101/0/0005_BraUlm09	0,1963	0,966	0,619	0,094	118,88842	82,40	3,130	0,2136	118,70	8,59
91	GR182_3111/0/0309/17101/0/0006_BraUlm09	0,1980	0,966	0,619	0,094	118,88842	82,40	3,130	0,2014	118,70	8,59
92	GR183_3111/0/0309/17101/0/0007_BraUlm09	0,2003	0,966	0,619	0,094	118,88842	82,40	3,130	0,2053	118,70	8,59
93	GR184_3111/0/0306/11001/0/0102_BraSaale06	0,2519	9,731	6,232	0,944	118,88842	82,40	3,130	0,2035	118,70	8,59
94	GR185_3111/0/0306/11001/0/0103_BraSaale06	0,2502	9,731	6,232	0,944	118,88842	82,40	3,130	0,2015	118,70	8,59
95	GR186_3111/0/0306/11001/0/0104_BraSaale06	0,2503	9,731	6,232	0,944	118,88842	82,40	3,130	0,2007	118,70	8,59
96	BW_02	0,2522	0,101	0,065	0,010	118,88842	82,40	3,130	0,2046	118,70	8,59
97	RM_04	0,0998	99,330	63,619	9,639	118,88842	82,40	3,130	0,0589	118,70	8,59
98	RM_05	0,1003	99,330	63,619	9,639	118,88842	82,40	3,130	0,0506	118,70	8,59
99	RM_01	0,1012	99,330	63,619	9,639	118,88842	82,40	3,130	0,0649	118,70	8,59
100	RM_02	0,1003	99,330	63,619	9,639	118,88842	82,40	3,130	0,0534	118,70	8,59
101	Blank_Eluent	0,0000	0,000	0,000	0,000	118,88842	82,40	3,130	0,0000	118,70	8,59

Seite 2

Abbildung 38: Ausschnitt der *Microsoft Excel*-Tabelle, Eingabe der Einwaagen.

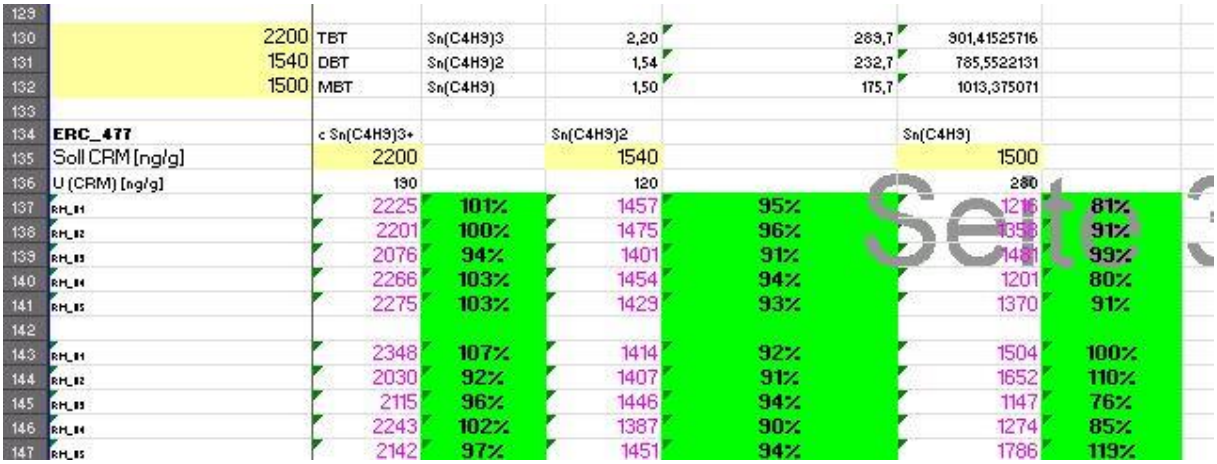
- blau unterlegte Zellen: Einwaagen Verdünnung des Isotopenstandards
- linke grau unterlegte Spalte: Einwaage des Isotopenstandards
- rechte grau unterlegte Spalte: Einwaage Probe



M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X
		Konz Probe [ng/g]				Konz Probe [ng/g]				Konz Probe [ng/g]	
8+120/119	2,000398		TBT als Sn				DBT als Sn				MBT als Sn
Rz/g	ALPHA	Rcorr	c	Rz/g	ALPHA	Rcorr		Rz/g	ALPHA	Rcorr	
6,067344423		6,067344	#DIV/0!	1,9104		1,9104	#DIV/0!	0,7782		0,7782	#DIV/0!
0,310555862		0,310556	0,092008949	0,9206		0,9206	0,231321311	2,6838		2,6838	0,271959
0,188559571		0,18856	0,049879303	0,6916		0,6916	0,161169637	2,2945		2,2945	0,174421
0,161432969		0,161433	0,040587944	0,778		0,778	0,187682605	2,5879		2,5879	0,245031
0,182756036		0,182756	0,047443097	0,7634		0,7634	0,181421073	2,3135		2,3135	0,17652
0,08850243		0,088502	0,016269514	0,6058		0,6058	0,136115715	2,4486		2,4486	0,207514
1,467678243		1,467678	911,6819274	1,6866		1,6866	743,2756175	3,2341		3,2341	821,8043
1,297962996		1,297963	901,9975696	1,5276		1,5276	752,1863408	3,197		3,197	917,6606
1,178572293		1,178572	850,4147329	1,405		1,405	714,7097342	3,1965		3,1965	1000,341
0,372719471		0,372719	#DIV/0!	#DIV/0!		#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!		#DIV/0!	#DIV/0!
0,843616779		0,843617	3,168127951	0,8296		0,8296	1,984308311	1,8083		1,8083	1,00378
0,847246768		0,847247	3,140506547	0,8009		0,8009	1,866827536	1,8631		1,8631	1,048906
0,843976375		0,843976	3,19413181	0,7984		0,7984	1,90061162	1,7769		1,7769	0,978103
0,71844852		0,718449	2,470205173	0,5135		0,5135	1,036585668	1,6021		1,6021	0,773137
0,755307274		0,755307	2,750360614	0,4964		0,4964	1,037328128	1,5071		1,5071	0,726373
0,749741805		0,749742	2,642715514	0,5197		0,5197	1,065190107	1,4945		1,4945	0,69474
0,292502397		0,292502	0,085400445	0,9244		0,9244	0,232450095	2,6725		2,6725	0,267846
0,587852143		0,587852	1,458726339	0,5099		0,5099	0,782722388	0,9481		0,9481	0,263977
0,592831946		0,592832	1,577070164	0,4143		0,4143	0,648785624	0,5481		0,5481	0,138765
0,556600154		0,5566	1,446509604	0,4739		0,4739	0,759332324	0,8573		0,8573	0,244466
0,7338552		0,733855	26,23255299	0,2259		0,2259	3,89098898	0,2476		0,2476	0,661776
0,726756567		0,726757	25,98542018	0,2231		0,2231	3,843092035	0,2443		0,2443	0,652536
0,719401925		0,719402	25,75897302	0,2156		0,2156	3,693945632	0,2439		0,2439	0,654122
0,175417165		0,175417	0,045922502	0,692		0,692	0,116115239	2,3254		2,3254	0,180377
1,410853806		1,410854	928,5981254	1,6084		1,6084	741,8402205	3,1871		3,1871	811,6576
1,280444461		1,280444	932,1329087	1,4517		1,4517	728,9810076	3,1739		3,1739	925,452
1,515581158		1,515581	962,0389766	1,659		1,659	721,416298	3,3278		3,3278	1015,939
1,231071715		1,231072	831,8187972	1,4854		1,4854	717,5596808	3,289		3,289	1116,389
0		0	#DIV/0!	4,2825		4,2825	#DIV/0!	2,6419		2,6419	#DIV/0!
0,046352885		0,046353	0,002666628	0,7317		0,7317	0,173293977	2,4006		2,4006	0,19653
1,036851267		1,036851	32,71488789	0,3118		0,3118	4,548292478	0,3736		0,3736	0,859903
1,063551452		1,063551	35,00429678	0,3076		0,3076	4,61505228	0,3659		0,3659	0,865086
1,067775466		1,067775	35,09716219	0,3001		0,3001	4,464322037	0,3594		0,3594	0,843927

Abbildung 39: Ausschnitt der *Microsoft Excel*-Tabelle, Ausgabe der BuSn-Gehalte in [ng/g] Sn.

In den Spalten mit P, T und X werden die Konzentrationen von TBT, DBT und MBT in ng/g bezogen auf Zinn ausgegeben.



129										
130	2200	TBT	Sn(C4H9)3	2,20		289,7	301,41525716			
131	1540	DBT	Sn(C4H9)2	1,54		232,7	785,5522131			
132	1500	MBT	Sn(C4H9)	1,50		175,7	1013,375071			
133										
134	ERC_477	c Sn(C4H9)3+		Sn(C4H9)2			Sn(C4H9)			
135	Soll CRM [ng/g]	2200		1540			1500			
136	U (CRM) [ng/g]	190		120			280			
137	RM_01	2225	101%	1457	95%		1216	81%		
138	RM_02	2201	100%	1475	96%		1358	91%		
139	RM_03	2076	94%	1401	91%		1481	99%		
140	RM_04	2266	103%	1454	94%		1201	80%		
141	RM_05	2275	103%	1429	93%		1370	91%		
142										
143	RM_01	2348	107%	1414	92%		1504	100%		
144	RM_02	2030	92%	1407	91%		1652	110%		
145	RM_03	2115	96%	1446	94%		1147	76%		
146	RM_04	2243	102%	1387	90%		1274	85%		
147	RM_05	2142	97%	1451	94%		1786	119%		

Abbildung 40: Ausschnitt der *Microsoft Excel*-Tabelle, Ausgabe der Wiederfindungen des Referenzmaterials.

Anhang B: Beispielhafte tabellarische Zusammenstellung der Daten

Tabelle 33: Butylzinngehalte Aalmuttermuskulatur Darßer Ort.

Jahr	Probe Nr.	m (Probe) [g]	m (Spike) [g]	Verd. Spike-Lsg.	Wasser-gehalt [%]	dry weight TBT [ng/g]	wet weight TBT [ng/g]	dry weight DBT [ng/g]	wet weight DBT [ng/g]	dry weight MBT [ng/g]	wet weight MBT [ng/g]
2010	1*	0,204	0,128	1:1000	80	0,423	0,084	-0,071	-0,014	-0,008	-0,002
	2*	0,205	0,142	1:1000	80	0,771	0,153	-0,079	-0,016	-0,009	-0,002
	3	0,202	0,123	1:1000	80	1,02	0,203	-0,069	-0,014	-0,008	-0,002
	Mean					0,739	0,146	-0,073	-0,014	-0,008	-0,002
	SD					0,245	0,049	0,004	0,001	0,000	0,000
	RSD%					33,23%	33,23%	-5,70%	-5,70%	-5,70%	-5,70%
2011	1	0,202	0,103	1:1000	78	1,45	0,317	0,122	0,027	0,119	0,026
	2	0,202	0,109	1:1000	78	1,45	0,317	0,368	0,081	0,193	0,042
	3	0,201	0,105	1:1000	78	1,45	0,318	0,131	0,029	0,078	0,017
	Mean					1,450	0,317	0,207	0,045	0,130	0,028
	SD					0,003	0,001	0,114	0,025	0,047	0,010
	RSD%					0,19%	0,19%	54,94%	54,94%	36,50%	36,50%
2012	1	0,200	0,105	1:1000	79	1,15	0,237	0,184	0,038	0,138	0,029
	2	0,200	0,106	1:1000	79	1,22	0,254	0,087	0,018	0,107	0,022
	3	0,201	0,108	1:1000	79	1,27	0,264	0,346	0,072	0,161	0,033
	Mean					1,213	0,252	0,206	0,043	0,135	0,028
	SD					0,052	0,011	0,107	0,022	0,022	0,005
	RSD%					4,28%	4,28%	51,93%	51,93%	16,28%	16,28%
013	1	0,200	0,251	1:5000	78	1,19	0,258	0,490	0,106	1,57	0,342
	2	0,207	0,252	1:5000	78	1,06	0,231	0,376	0,082	0,728	0,159
	3	0,200	0,250	1:5000	78	0,980	0,213	0,462	0,100	0,909	0,198
	Mean					1,075	0,234	0,443	0,096	1,071	0,233
	SD					0,086	0,018	0,049	0,010	0,364	0,079
	RSD%					7,96%	7,86%	10,96%	10,82%	34,01%	33,85%

< NG
< BG

* Probe musste auf Grund von Problemen bei der Gefriertrocknung vor der Einwaage gemörsert werden.

Anhang C Vollständige Zeitreihen

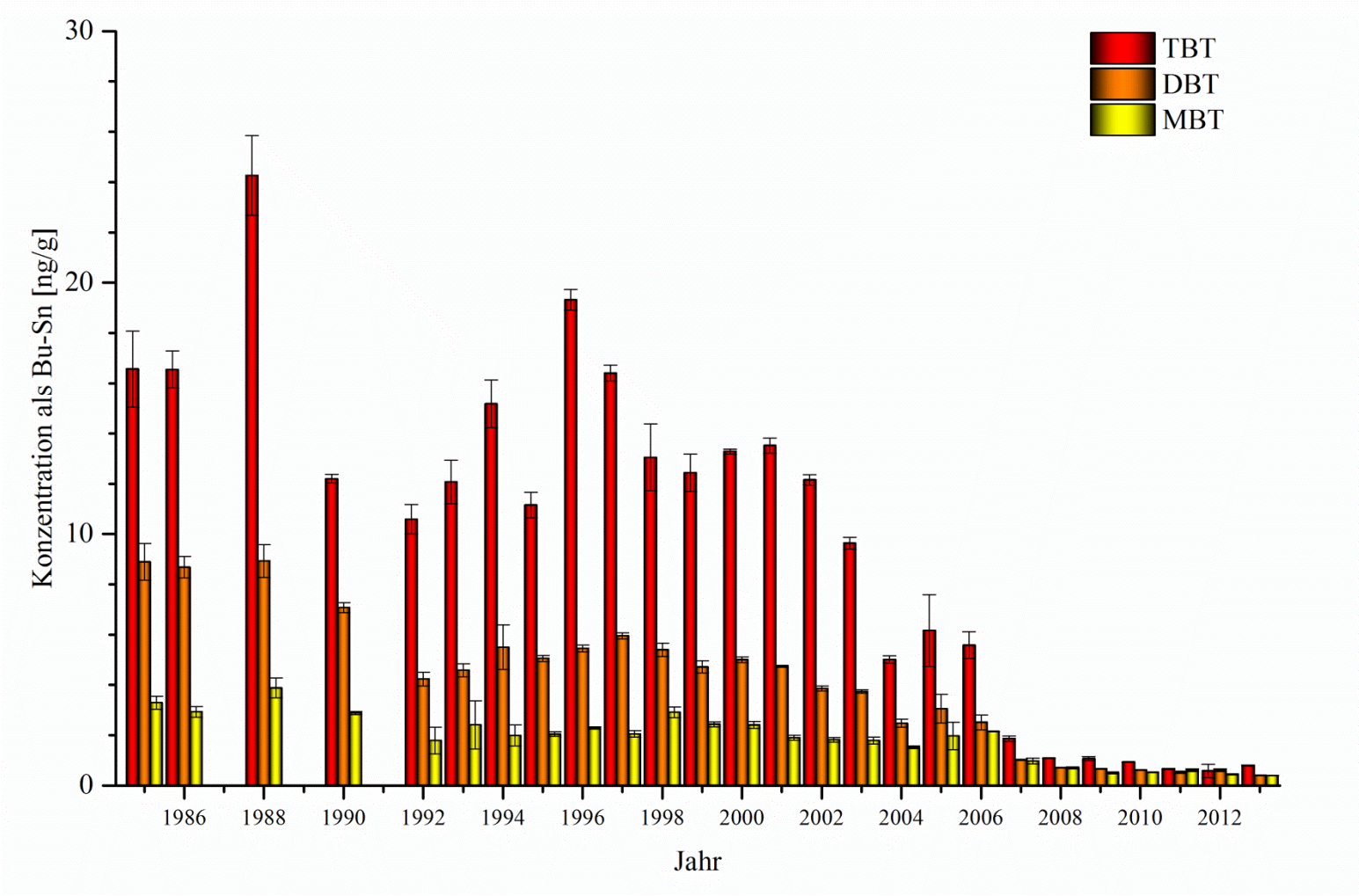


Abbildung 41: Zeitreihe Miesmuschel Eckwarderhörne 1985 bis 2013.

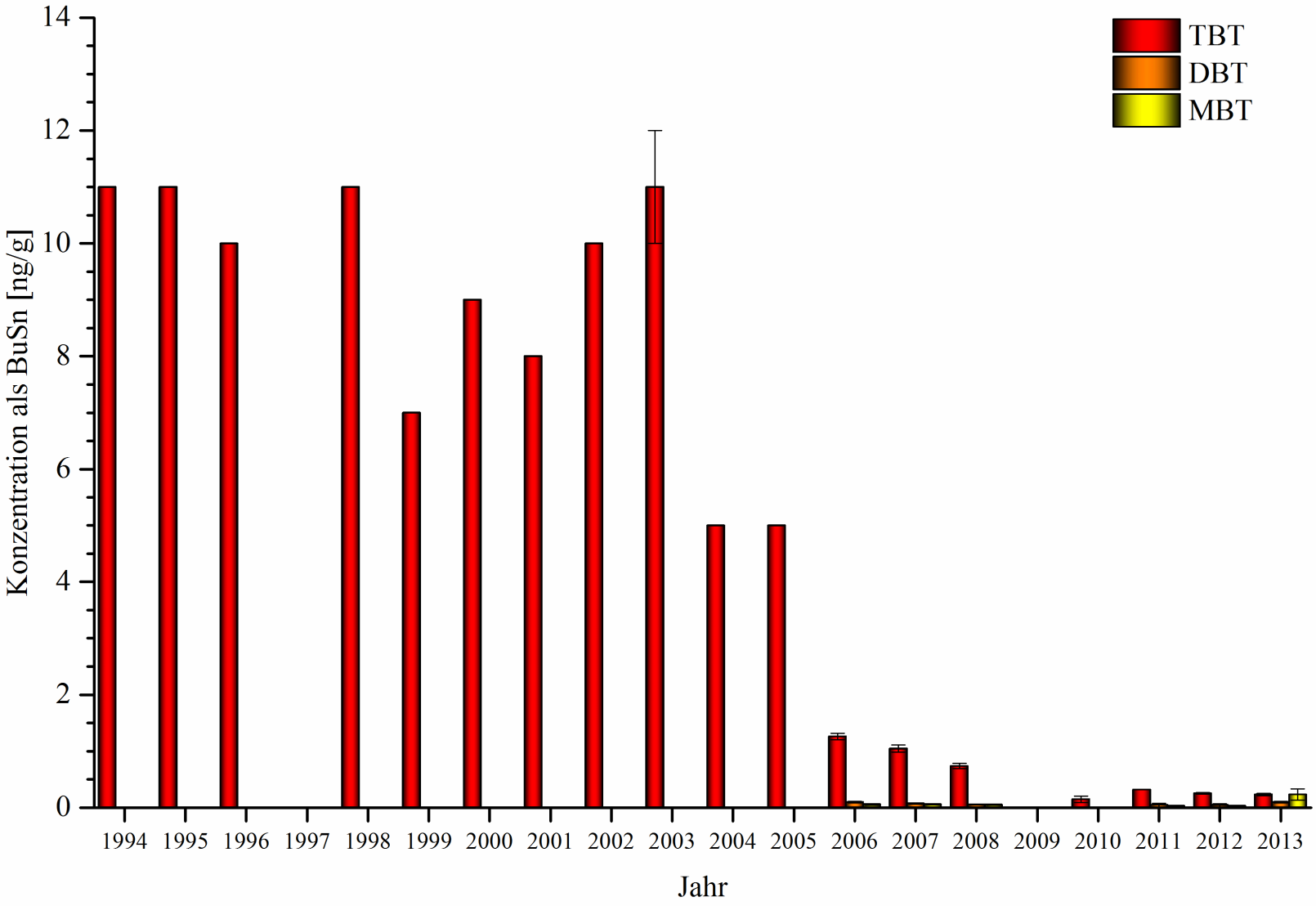


Abbildung 42: Zeitreihe Aalmutter Darßer Ort 1994 bis 2013.

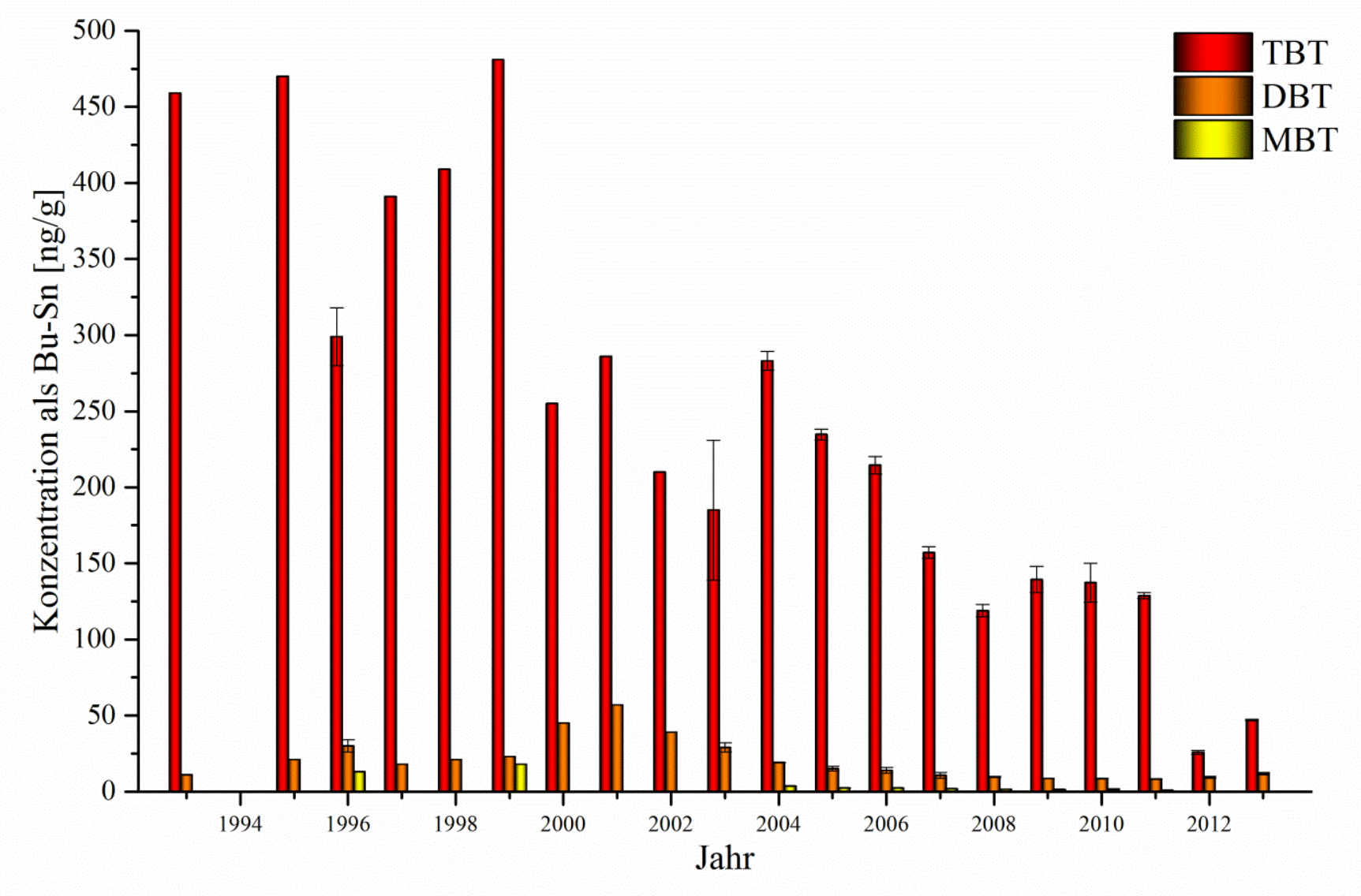


Abbildung 43: Zeitreihe Brassenmuskulatur Blankenese 1993 bis 2013.

Plagiatserklärung

Hiermit versichere ich , dass ich die Diplomarbeit in der Zeit vom 21. Januar 2015 bis zum 31. August 2015 am Fraunhofer Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Wörtliche oder sinngemäße Zitate habe ich in der Arbeit unter Angabe der Fundstelle kenntlich gemacht.

Schmallenberg, 30.08.2015

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei Personen bedanken, die mich bei der Fertigstellung dieser Diplomarbeit unterstützt haben.

Ich bedanke mich beim Fraunhofer Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie dafür, dass mir die Möglichkeit geboten wurde, diese Diplomarbeit anzufertigen. Besonders bedanke ich mich bei Dr. Burkhard Knopf für die hervorragende Betreuung während der der Arbeit. Mein Dank gilt auch Dr. Heinz Rüdel für die Hilfe und Unterstützung beim Verfassen dieser Arbeit.

Ich danke Prof. Dr. Uwe Karst vom Institut für Anorganische und Analytische Chemie der Universität Münster für die Übernahme der Erstbetreuung dieser externen Diplomarbeit und Prof. Dr. Heiko Hayen für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Mein Dank gilt auch dem Umweltbundesamt, hier besonders Herr Jan Koschorreck, für die Freigabe der in dieser Arbeit verwendeten Umweltproben und für das zur Verfügung gestellte Bild- und Kartenmaterial.

Bedanken möchte ich mich bei Dirk Hansknecht für die Einarbeitung in die Laborarbeit und die Durchführung der Messungen zur Bestimmung der Laborpräzision und bei Sonja Uhlig für das Raussuchen der Proben aus der Umweltprobenbank.

Weiterhin bedanke ich mich bei allen namentlich nicht genannten Kolleginnen und Kollegen vom Fraunhofer IME, besonders denen der Abteilung Umweltprobenbank und Element-analytik, für die gute Zusammenarbeit und angenehme Arbeitsatmosphäre.

Ganz besonders danke ich meinen Eltern und meinen Geschwistern bei Martin, Vera und Dorothe. Ohne eure Unterstützung in schwierigen Zeiten wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Literaturverzeichnis

[1] Rüdel, H.; Muller, J.; Steinhanses, J.; Schröter-Kermani, C., Retrospective monitoring of organotin compounds in freshwater fish from 1988 to 2003: results from the German environmental specimen bank. *Chemosphere* **2007,** *66* (10), 1884-1894.

[2] Rüdel, H.; Lepper, P.; Steinhanses, J., Retrospective monitoring of organotin compounds in marine biota from 1985 to 1999: Results from the German Environmental Specimen Bank. *Environmental science & technology* **2003,** *37* (9), 1731-1738.

[3] Rüdel, H.; Steinhanses, J.; Müller, J.; Schröter-Kermani, C., Retrospektives Monitoring von Organozinnverbindungen in biologischen Proben aus Nord- und Ostsee – sind die Anwendungsbeschränkungen erfolgreich? *Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung* **2009,** *21* (3), 282-291.

[4] unveröffentlichte Daten des Fraunhofer IME.

[5] Hoch, M., Organotin compounds in the environment - an overview. *Appl Geochem* **2001,** *16* (7-8), 719-743.

[6] Langston, W. J.; Pope, N. D., Determinants of Tbt Adsorption and Desorption in Estuarine Sediments. *Mar Pollut Bull* **1995,** *31* (1-3), 32-43.

[7] Fent, K., Ecotoxicology of organotin compounds. *Crit Rev Toxicol* **1996,** *26* (1), 3-117.

[8] Blunden, S. J.; Evans, C. J., Organotin Compounds. In: *The Handbook of Environmental Chemistry*, Ed.: Hutzinger, O., Springer Verlag Berlin Heidelberg New York, **1990**; Vol. 3, Part E: Anthropogenic Compounds, 2-44.

[9] Gajda, T.; Jancso, A., Organotins. Formation, Use, Speciation, and Toxicology. In: *Metal Ions in Life Sciences*, Eds.: Sigel, A.; Sigel, H.; Sigel, R. K. O., RSC Publishing, **2010**; Vol. 7 Organometallics in Environment and Toxicology, 113-118.

[10] Davies, A. G., *Organotin Chemistry*, 2. Ed.; WILEY VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2004**.

[11] Schmidt, A.; Wolfgang, B., *Zinn-organische Verbindungen*. Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart, **2015**. https://roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-26-00440 (aufgerufen 19.08.2015).

[12] Rüdel, H., Case study: bioavailability of tin and tin compounds. *Ecotoxicol Environ Saf* **2003,** *56* (1), 180-189.

[13] Fent, K., Organotin compounds in municipal wastewater and sewage sludge: Contamination, fate in treatment process and ecotoxicological consequences. *Sci Total Environ* **1996,** *185* (1-3), 151-159.

[14] Ruiz, J. M.; Bachelet, G.; Caumette, P.; Donard, O. F., Three decades of tributyltin in the coastal environment with emphasis on Arcachon Bay, France. *Environmental pollution* **1996,** *93* (2), 195-203.

[15] Alzieu, C.; Sanjuan, J.; Deltreil, J. P.; Borel, M., Tin Contamination in Arcachon Bay - Effects on Oyster Shell Anomalies. *Mar Pollut Bull* **1986,** *17* (11), 494-498.

[16] *Organozinnverbindungen in verbrauchernahen Produkten*, BfR - Bundesinstitut für Risikobewertung, **2011**.

[17] Appel, K. E., Organotin compounds: Toxicokinetic aspects. *Drug Metab Rev* **2004,** *36* (3-4), 763-786.

[18] Nakanishi, T., Endocrine disruption induced by organotin compounds; organotins function as a powerful agonist for nuclear receptors rather than an aromatase inhibitor. *J Toxicol Sci* **2008,** *33* (3), 269-276.

[19] Richtlinie des Rates vom 21.Dezember 1989 zur achten Änderung der Richtlinie 76/769/EWG zur Angleichung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften der Mitgliedsstaaten für Beschränkungen des Inverkehrbringens und der Verwendung gewisser gefährlicher Stoffe und Zubereitungen [ABl. Nr. L 398/19 vom 30.12.89].

[20] Richtlinie 2002/62/EG der Kommission vom 9. Juli 2002 zur neunten Anpassung von Anhang I der Richtlinie 76/769/EWG des Rates zur Angleichung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften der Mitgliedstaaten für Beschränkungen des Inverkehrbringens und der Verwendung gewisser gefährlicher Stoffe und Zubereitungen an den technischen Fortschritt (zinnorganische Verbindungen)

[21] International Maritime Organization (IMO), *International Convention on the Control of Harmful Anti-fouling Systems on Ships* **2001**. http://www.imo.org/en/About/Conventions/ListOfConventions/Pages/International-Convention-on-the-Control-of-Harmful-Anti-fouling-Systems-on-Ships-%28AFS%29.aspx (aufgerufen 19.08.2015).

[22] Koschorrek, J.; Conrad, A.; Körner, A.; Rüther, M.; Schröter-Kermani, C.; Volker, M.; Kolossa-Gehring, M.; Annette, F.; Rüdel, H., *Die Umweltprobenbank Umweltbeobachtung mit Proben von Mensch und Umwelt*, Umweltbundesamt, **2012**.

[23] *Probenahmegebiete*. Umweltbundesamt, http://www.umweltprobenbank.de/de/documents/profiles/sampling_areas (aufgerufen 18.07.2015).

[24] Klein, R.; Bartel, M.; Paulus, M.; Quack, M.; Tarricone, K.; Teubner, D.; Wagner, G., *Richtlinie zur Probenahme und Probenbearbeitung - Aalmutter*, Umweltprobenbank des Bundes; Umweltbundesamt, **2010**.

[25] Wagner, G.; Bartel, M.; Klein, R.; Paulus, M.; Quack, M.; Tarricone, K.; Teubner, D., *Richtlinie zur Probennahme und Probenbearbeitung - Miesmuschel -Entwurf-*, Umweltprobenbank des Bundes; Umweltbundesamt, **2011**.

[26] Klein, R.; Paulus, M.; Tarricone, K.; Teubner, D., *Richtlinie zur Probennahme und Probenbearbeitung - Brassen*, Umweltprobenbank des Bundes; Umweltbundesamt, **2012**.

[27] Rüdel, H.; Weingärtner, M., *Richtlinie zur Probenahme und Probenbearbeitung Transport von Umweltproben unter Cryobedingungen*, Umweltprobenbank des Bundes; Umweltbundesamt, **2009**.

[28] Rüdel, H.; Uhlig, S.; Weingärtner, M., *Richtlinie zur Probenahme und Probenbearbeitung Zerkleinerung und Homogenisierung von Umweltproben durch Cryomahlung*, Umweltprobenbank des Bundes; Umweltbundesamt, **2008**.

[29] Rüdel, H.; Weingärtner, M., *Richtlinie zur Probenahme und Probenbearbeitung Lagerung von Umweltproben unter Cryobedingungen*, Umweltprobenbank des Bundes; Umweltbundesamt, **2008**.

[30] *The German Environmental Specimen Bank*, Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz, Bau und Reaktorsicherheit, Bonn, **2003**.

[31] *Aalmutter*. Umweltbundesamt, http://www.umweltprobenbank.de/de/documents/profiles/specimen_types/10159 (aufgerufen 19.07.2015).

[32] *Miesmuschel*. Umweltbundesamt, http://www.umweltprobenbank.de/de/documents/profiles/specimen_types/10164 (aufgerufen 19.07.2015).

[33] *BR/NP Wattenmeere*. Umweltbundesamt, http://www.umweltprobenbank.de/de/documents/profiles/sampling_areas/10176 (aufgerufen 22.08.2015).

[34] *Jadebusen incl. Mellum*. Umweltbundesamt, http://www.umweltprobenbank.de/de/documents/profiles/sampling_areas/10181 (aufgerufen 22.08.2015).

[35] *Sylt-Romö-Watt*. Umweltbundesamt, http://www.umweltprobenbank.de/de/documents/profiles/sampling_areas/10175 (aufgerufen 19.07.2015).

[36] *Meldorfer Bucht incl. Trischen*. Umweltbundesamt, http://www.umweltprobenbank.de/de/documents/profiles/sampling_areas/10178 (aufgerufen 22.08.2015).

[37] *NP Vorpommersche Boddenlandschaft*. Umweltbundesamt, http://www.umweltprobenbank.de/de/documents/profiles/sampling_areas/10162 (aufgerufen 22.08.2015).

[38] *Halbinsel Fischland/Darß/Zingst*. Umweltbundesamt, https://www.umweltprobenbank.de/de/documents/profiles/sampling_areas/10161 (aufgerufen 22.08.2015).

[39] *Brassen*. Umweltbundesamt, http://www.umweltprobenbank.de/de/documents/profiles/specimen_types/10037 (aufgerufen 19.07.2015).

[40] Monperrus, M.; Zuloaga, O.; Krupp, E.; Amouroux, D.; Wahlen, R.; Fairman, B.; Donard, O. F. X., Rapid, accurate and precise determination of tributyltin in sediments and biological samples by species specific isotope dilution-microwave extraction-gas chromatography-ICP mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **2003,** *18* (3), 247-253.

[41] Thomas, R., *Practical Guide to ICP-MS A tutorial for Beginners*, 3. Ed.; CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, **2013**.

[42] Thomas, R., Beginner's guide to ICP-MS - Part VI - The mass analyzer. *Spectroscopy* **2001,** *16* (10), 44-48.

[43] Thomas, R., A beginner's guide to ICP-MS - Part IV: The interface region. *Spectroscopy* **2001,** *16* (7), 26-+.

[44] Thomas, R., Spectroscopy tutorial - A beginner's guide to ICP-MS - Part II: The sample-introduction system. *Spectroscopy* **2001,** *16* (5), 56-+.

[45] Meinema, H. A.; Burgerwiersma, T.; Versluisdehaan, G.; Gevers, E. C., Determination of Trace Amounts of Butyl-Tin Compounds in Aqueous Systems by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Environmental science & technology* **1978,** *12* (3), 288-293.

[46] Schubert, P.; Rosenberg, E.; Grasserbauer, M., Comparison of sodium tetraethylborate and sodium tetra(n-propyl)borate as derivatization reagent for the speciation of organotin and organolead compounds in water samples. *Fresenius' journal of analytical chemistry* **2000,** *366* (4), 356-360.

[47] Gomez-Ariza, J. L.; Giraldez, I.; Morales, E.; Ariese, F.; Cofino, W.; Quevauviller, P., Stability and storage problems in organotin speciation in environmental samples. *J Environ Monitor* **1999,** *1* (2), 197-202.

[48] Rüdel, H.; Kösters, J.; Homrighausen, D.; D., H., *Richtlinie zur chemischen Analyse - Aufschluss von Umweltproben*, Umweltprobenbank des Bundes; Umweltbundesamt, **2011**.

[49] Ceulemans, M.; Witte, C.; Lobinski, R.; Adams, F. C., Simplified Sample Preparation for Gc Speciation Analysis of Organotin in Marine Biomaterials. *Appl Organomet Chem* **1994,** *8* (5), 451-461.

[50] Szpunar, J.; Schmitt, V. O.; Lobinski, R.; Monod, J. L., Rapid speciation of butyltin compounds in sediments and biomaterials by capillary gas chromatography - Microwave-induced plasma atomic emission spectrometry after microwave-assisted leaching digestion. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **1996,** *11* (3), 193-199.

[51] Point, D.; Davis, W. C.; Christopher, S. J.; Ellisor, M. B.; Pugh, R. S.; Becker, P. R.; Donard, O. F.; Porter, B. J.; Wise, S. A., Development and application of an ultratrace method for speciation of organotin compounds in cryogenically archived and homogenized biological materials. *Analytical and bioanalytical chemistry* **2007,** *387* (7), 2343-2355.

[52] Rapsomanikis, S., Derivatization by Ethylation with Sodium Tetraethylborate for the Speciation of Metals and Organometallics in Environmental-Samples - a Review. *Analyst* **1994,** *119* (7), 1429-1439.

[53] Ceulemans, M.; Lobinski, R.; Dirkx, W. M. R.; Adams, F. C., Rapid Sensitive Speciation Analysis of Butyltin and Phenyltin Compounds in Water by Capillary Gas-Chromatography Atomic-Emission Spectrometry (Gc-Aes) after in-Situ Ethylation and in-Liner Preconcentration. *Fresen J Anal Chem* **1993,** *347* (6-7), 256-262.

[54] Heumann, K. G.; Gallus, S. M.; Rädlinger, G.; Vogl, J., Precision and accuracy in isotope ratio measurements by plasma source mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **1998,** *13*, 1001-1008.

[55] Rodríguez-González, P.; Marchante-Gayón, J. M.; García Alonso, J. I.; Sanz-Medel, A., Isotope dilution analysis for elemental speciation: a tutorial review. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* **2005,** *60* (2), 151-207.

[56] Rodriguez-Gonzalez, P.; Alonso, J. I. G., Recent advances in isotope dilution analysis for elemental speciation. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **2010,** *25* (3), 239-259.

[57] Hartwig, A., *Zinn*. Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart, **2015**. https://roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-26-00417 (aufgerufen 11.08.2015).

[58] Fassett, J. D.; Paulsen, P. J., Isotope-Dilution Mass-Spectrometry for Accurate Elemental Analysis. *Analytical chemistry* **1989,** *61* (10), A643-&.

[59] Riepe, W.; Kaiser, H. E., Massenspektrometrische Spurenanalyse von Calcium, Strontium und Barium in Natriumazid durch Isotopenverdünnungstechnik. *Fresen Z Anal Chem* **1966,** *223* (5), 321-335.

[60] Heumann, K. G.; Kubassek, E.; Schwabenbauer, W., Mass-Spectrometric Isotope Dilution Analysis of Small Calcium Concentrations in Minerals. *Fresen Z Anal Chem* **1977,** *287* (2-3), 121-127.

[61] Watters, R. L.; Eberhardt, K. R.; Beary, E. S.; Fassett, J. D., Protocol for isotope dilution using inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of inorganic elements. *Metrologia* **1997,** *34* (1), 87-96.

[62] DIN 32645 Chemische Analytik - Nachweis- Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen - Begriffe, verfahren, Auswertung. *DIN Deutsches Institut für Normung e. V.* **2008**.

[63] *Chemische Belastungen*. Umweltbundesamt, **2015**. https://www.umweltprobenbank.de/de/documents/investigations/analytes (aufgerufen 22.06.2015).

[64] Verhaegen, Y.; Monteyne, E.; Neudecker, T.; Tulp, I.; Smagghe, G.; Cooreman, K.; Roose, P.; Parmentier, K., Organotins in North Sea brown shrimp (Crangon crangon L.) after implementation of the TBT ban. *Chemosphere* **2012,** *86* (10), 979-984.

[65] Lee, R. F., Metabolism of Tributyltin Oxide by Crabs, Oysters and Fish. *Marine environmental research* **1985,** *17* (2-4), 145-148.