

Stefanie Schulze

Persistente und mobile Industrie- chemikalien im Trinkwasserkreislauf – Priorisierung und Analytik mittels superkritischer Fluidchromatographie

DISSERTATION 9 | 2021

Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung – UFZ
Department Analytik

**Persistente und mobile Industriechemikalien im
Trinkwasserkreislauf –
Priorisierung und Analytik mittels superkritischer
Fluidchromatographie**

Von der Fakultät für Chemie und Mineralogie

der Universität Leipzig

genehmigte

D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung des akademischen Grades

DOCTOR RERUM NATURALIUM

(Dr. rer. nat.)

vorgelegt

von

Diplom-Lebensmittelchemikerin Stefanie Schulze

geboren am 24. Mai 1985 in Görlitz

Angenommen aufgrund der Gutachten von:

Prof. Dr. Thorsten Reemtsma

Prof. Dr. Wilhelm Georg Lorenz

Tag der Verleihung: 15. Oktober 2021

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von August 2015 bis März 2021

am

Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH – UFZ

Department Analytik

Permoserstraße 15

04318 Leipzig

unter der Betreuung von Prof. Dr. Thorsten Reemtsma angefertigt.

Vorwort

Die vorliegende Dissertation basiert auf drei veröffentlichten Fachartikeln als Erstautorin in den Zeitschriften *Science of the Total Environment*, *Water Research* sowie *Analytical and Bioanalytical Chemistry* und wird durch bisher nicht veröffentlichte, entsprechend kenntlich gemachte Ergebnisse ergänzt.

Publikation 1

Schulze, St.; Sättler, D.; Neumann, M.; Arp, H. P. H.; Reemtsma Th.; Berger, U., Using REACH registration data to rank the environmental emission potential of persistent and mobile organic chemicals, *Sci. Total Environ.*, **2018**, 625, 1122-1128.

Publikation 2

Schulze, St.; Zahn, D.; Montes, R.; Rodil, R.; Quintana, J. B.; Knepper, Th. P.; Reemtsma, Th.; Berger, U., Occurrence of emerging persistent and mobile organic contaminants in European water samples, *Water Res.*, **2019**, 153, 80-90.

Publikation 3

Schulze, St.; Paschke, H.; Meier, T.; Muschket, M.; Reemtsma, Th.; Berger, U., A rapid method for quantification of persistent and mobile organic substances in water using supercritical fluid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2020**, 412, 4941-4952.

Bibliographische Beschreibung

Schulze, Stefanie

Persistente und mobile Industriechemikalien im Trinkwasserkreislauf – Priorisierung und Analytik mittels superkritischer Fluidchromatographie

Universität Leipzig, Dissertation

280 Seiten, 26 Abbildungen, 8 Tabellen, 202 Referenzen

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, ohne deren Hilfe und Unterstützung diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Als Erstes möchte ich mich bei Prof. Dr. Thorsten Reemtsma für das spannende Thema bedanken sowie für die Möglichkeit, diese Arbeit in seinem Arbeitskreis durchführen zu können. Seine Diskussionen und Denkansätze im Rahmen der Projekttreffen von PROMOTE haben mir eine motivierende Unterstützung gegeben.

Mein besonderer Dank gilt Dr. Urs Berger, der mich in der kompletten Zeit am UFZ und darüber hinaus betreut und unterstützt hat. Seine überaus engagierte Art und die zahlreichen fachlichen Diskussionen mit ihm haben mir sehr geholfen.

Außerdem gilt mein Dank dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) für die Förderung des Verbundprojektes PROMOTE sowie dem Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung (UFZ) und dem Graduiertenprogramm HIGRADE für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Meinen Kollegen aus dem PROMOTE-Projekt danke ich für die Zusammenarbeit und ihren wissenschaftlichen Input sowie die Diskussionen im Rahmen unserer Projekttreffen und Telefonkonferenzen.

Für die Zeit am Umweltbundesamt (UBA) und die umfassende Einführung in die REACH-Thematik danke ich Dr. Michael Neumann und Daniel Sättler.

Für die Aufnahme im Department Analytik möchte ich allen Kolleginnen und Kollegen danken. Besonderer Dank für die Unterstützung im Labor und für das große Engagement und Interesse an dem Thema gilt Coretta Bauer, Heidrun Paschke, Till Meier und Dr. Bettina Seiwert.

Für die schönen Jahre im Büro mit unseren Schokoladenexzessen, Lachanfällen und offenen Worten danke ich Franzi Lehmann und Kathi Halbach.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinem kleinen Alfi und Otti, die mich in der Zeit des Schreibens entbehren mussten, auch wenn es manchmal nicht so einfach war.

Abkürzungsverzeichnis

APCI	Chemische Ionisation bei Atmosphärendruck (<i>engl. Atmospheric Pressure Chemical Ionization</i>)
AZEVAP	Azeotropes Eindampfverfahren (<i>engl. Azeotropic Evaporation</i>)
BCF	Biokonzentrationsfaktor (<i>engl. Bioconcentration Factor</i>)
BPR	Rückdruckregulator (<i>engl. Back Pressure Regulator</i>)
CAD	Geladene Aerosoldetektor (<i>engl. Charged Aerosol Detector</i>)
CAS	Internationaler Bezeichnungsstandard für chemische Stoffe (<i>engl. Chemical Abstracts Service</i>)
CE	Kapillarelektrophorese (<i>engl. Capillary Electrophoresis</i>)
CLP	Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen (<i>engl. Classification, Labelling and Packaging</i>)
CNT	Kohlenstoff-Nanoröhrchen (<i>engl. Carbon Nanotubes</i>)
decaBDE	Decabromdiphenylether
DLLME	Dispersive Flüssig/Flüssig-Mikroextraktion (<i>engl. Dispersive Liquid-Liquid Microextraction</i>)
DNEL	Expositionsgrenzwert (<i>engl. Derived No-Effect Level</i>)
EC	Aufkonzentrierung durch Verdunsten (<i>engl. Evaporative Concentration</i>)
ECHA	Europäische Chemikalienagentur
EC-Nummer	Identifizierungscode für Chemikalien des Europäischen Chemikalienrechts (<i>engl. European Community Number</i>)
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELSD	Lichtstreuendetektor (<i>engl. Evaporative Light-Scattering Detector</i>)
EME	Aufkonzentrierung über eine Elektromembran (<i>engl. Electromembrane Concentration</i>)
ERC	Umweltfreisetzungskategorie (<i>engl. Environmental Release Category</i>)
E-Score	Emissionsscore
ESI	Elektrospray-Ionisation
EU	Europäische Union
FID	Flammenionisationsdetektor
GCB	Graphitized carbon black
GC-MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
HILIC	Hydrophile Interaktionschromatographie (<i>engl. Hydrophilic Interaction Chromatography</i>)
HLB	Stark hydrophiles, wasserbenetzbares Polymer (<i>engl. Hydrophilic-Lipophilic Balance</i>)
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (<i>engl. High Performance Liquid Chromatography</i>)

HRMS	Hochauflösende Massenspektrometrie (<i>engl. High Resolution Mass Spectrometry</i>)
IC	Ionenchromatographie
JPI	<i>Joint Programming Initiatives</i>
LC	Flüssigchromatographie (<i>engl. Liquid Chromatography</i>)
LED	Leuchtdiode (<i>engl. Light-Emitting Diode</i>)
LOD	Nachweisgrenze (<i>engl. Limit of Detection</i>)
log K_{oc}	Verteilungskoeffizient zwischen organischem Kohlenstoff und Wasser, Logarithmus des Verteilungskoeffizienten zwischen organischem Kohlenstoff im Boden und Wasser
LOQ	Bestimmungsgrenze (<i>engl. Limit of Quantification</i>)
MCX	Starker Kationenaustauscher (<i>engl. Moderate Cation Exchanger</i>)
MMLC	Mixed-Mode-Flüssigchromatographie (<i>engl. Mixed-Mode Liquid Chromatography</i>)
MRM	Multiple Reaction Monitoring
NACE	Nichtwässrige Kapillarelektrophorese (<i>engl. Nonaqueous Capillary Electrophoresis</i>)
NOEC	Endpunkt in der Toxizitätsbestimmung (<i>engl. No Observed Effect Concentration</i>)
NPLC	Normalphasenflüssigkeitschromatographie (<i>engl. Normal Phase Liquid Chromatography</i>)
OECD	Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (<i>engl. Organisation for Economic Co-operation and Development</i>)
PAK	Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe
PBT	Persistent, bioakkumulierend, toxisch
PFAS	Per- und polyfluorierte Alkylsubstanzen
PGC	Poröses Grafit (<i>engl. Porous Graphitic Carbon</i>)
PLRP-S	Polymere Umkehrphasensäulen (<i>engl. Polymeric Reversed Phase Columns containing rigid macroporous spherical particles of polystyrene and divinylbenzene</i>)
PM	Persistent, mobil
PMOC	Persistente, mobile, organische Chemikalien (<i>engl. Persistent Mobile Organic Chemicals</i>)
PMT	Persistent, mobil, toxisch
POP	Persistente organische Schadstoffe (<i>engl. Persistent Organic Pollutants</i>)
PROMOTE	Protecting Water Resources from Mobile Trace Chemicals
QqQ-MS	Triple-Quadrupol-MS
QSAR	Quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehung (<i>engl. Quantitative Structure-Activity Relationship</i>)

QTOF	Flugzeitmassenspektrometer mit vorgeschaltetem Quadrupol-Filter (<i>engl. Quadrupole Time-of-flight Mass Spectrometry</i>)
QuEChERS	Probenvorbereitungsmethode (<i>engl. Quick, Easy, Cheap, Efficient, Rugged, Safe</i>)
REACH	Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (<i>engl. Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals</i>)
RPLC-MS	Umkehrphasenflüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie (<i>engl. Reversed Phase Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i>)
S/N	Signal-zu-Rausch-Verhältnis (<i>engl. Signal-to-Noise</i>)
SFC	Superkritische Fluidchromatographie
SPE	Festphasenextraktion (<i>engl. Solid Phase Extraction</i>)
SPIN	Datenbank für Stoffe in Zubereitungen der nordischen Länder (<i>engl. Substances in Preparations in Nordic Countries</i>)
SPME	Festphasen-Mikroextraktion (<i>engl. Solid Phase Micro Extraction</i>)
SVHC	Besonders besorgniserregender Stoff (<i>engl. Substance of Very High Concern</i>)
TCP	Tris(2-chlorisopropyl)phosphat
TFMSA	Trifluormethansulfonsäure (<i>engl. Trifluoromethanesulfonic Acid</i>)
THF	Tetrahydrofuran
TQ-S	Triple-Quadrupol-Massenspektrometer
TWW	Trinkwasserwerk
U.S. EPA	Umweltschutzbehörde der Vereinigten Staaten (<i>engl. United States Environmental Protection Agency</i>)
UBA	Umweltbundesamt
UV-Strahlen	Ultraviolettstrahlen
UV-VIS	Ultraviolette/ Sichtbare Strahlung (<i>engl. Ultraviolette/Visible</i>)
vPvB	Sehr persistent, sehr bioakkumulierend (<i>engl. very Persistent, very Bioaccumulative</i>)
WAX	Schwacher Anionenaustauscher (<i>engl. Weak Anion Exchanger</i>)

Kurzfassung

Hochpolare, persistente organische Spurenstoffe, kurz *PMOCs* (persistente und mobile organische Chemikalien), können aufgrund ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften natürliche und technische Barrieren im Wasserkreislauf durchbrechen. Sie besitzen daher besondere Relevanz in Bezug auf die Wasserqualität bis hin zur Trinkwassergewinnung. Allerdings stellen sie bisher eine Gruppe wenig untersuchter Chemikalien dar, deren Konzentrationen und Verhalten in der aquatischen Umwelt weitestgehend unbekannt sind. Für *PMOCs* bestehen Wissenslücken in den Bereichen der Analytik aufgrund fehlender analytischer Methoden und im Monitoring, da es bislang kaum nutzbare Daten von *PMOCs* in der aquatischen Umwelt gibt. Daraus schlussfolgernd entstehen Lücken im regulatorischen Bereich, denn ohne Befunddaten in der Umwelt gibt es auch keine Regulation in der Zulassung der betroffenen Spurenstoffe unter REACH.

Ziel dieser Arbeit ist es, *PMOCs* in trinkwasserrelevanten Gewässern zu identifizieren, deren Konzentrationen zu bestimmen und erste Aussagen über deren Verhalten während der Trinkwasseraufbereitung zu treffen.

Hierzu wurden zunächst mit Hilfe eines entwickelten Stoffpriorisierungssystems persistente und mobile Industriechemikalien auf Basis ihrer potenziellen Umweltemission bewertet (siehe Publikation 1 unter 5.1). Für 1.110 *PMOCs* wurde eine potenzielle Emission in die Umwelt berechnet. Diese Emissionsabschätzung diente der Auswahl an Analyten für das spätere Screening und Gewässermonitoring.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde mit 20 verschiedenen analytischen Methodenkombinationen im Rahmen des PROMOTE-Projektes ein Screening nach 64 *PMOCs* in 20 rohwasserrelevanten Proben durchgeführt. Dabei wurden 43 *PMOCs* in mindestens einer Probe nachgewiesen (siehe Publikation 2 unter 5.2).

Auf Grundlage dieser Screening-Arbeit wurde im dritten Teil der Arbeit für eine ausgewählte analytische Methode, der azeotropen Anreicherung und der superkritischen Fluidchromatographie gekoppelt mit hochauflösender Massenspektrometrie, eine gezielte Methodenentwicklung mit anschließender Validierung für 17 *PMOCs* mit einem $\log D$ zwischen -3,06 und 1,23 durchgeführt (siehe Publikation 3 unter 5.3).

Im vierten Teil der Arbeit wurde die entwickelte Methode angewandt und für ein Monitoring genutzt, das das Verhalten von 15 *PMOCs* in fünf europäischen Regionen in der konventionellen Trinkwasseraufbereitung sowie innerhalb einer Umkehrosmoseanlage untersuchte. Hier konnte nachgewiesen werden, dass sich einige Stoffe, wie z. B. Trifluormethansulfonsäure, Cyanoguanidin und Melamin sowie die Süßstoffe Saccharin und Acesulfam, nicht durch die herkömmlichen Wasseraufbereitungsverfahren aus dem Wasserkreislauf entfernen ließen. Die Umkehrosmose erwies sich jedoch als ein alternatives Verfahren in der Wasseraufbereitung mit Potenzial, um gewisse *PMOCs*, wie z. B. die Trifluormethansulfonsäure, aus belastetem Wasser zu entfernen (siehe unveröffentlichte Arbeit unter 6).

Abstract

Highly polar, persistent organic trace chemicals (*PMOCs* - persistent and mobile organic chemicals) can break through natural and technical barriers in the water cycle due to their physicochemical properties. Therefore, they are of particular relevance with regard to water quality and even drinking water production. However, so far there has been little research on this group of chemicals. Their concentrations and behavior in the aquatic environment are largely unknown. This has resulted in knowledge gaps for *PMOCs* within the PROMOTE project. These gaps were found in three areas. First, there was the analytical gap due to the lack of analytical methods for such highly polar compound. Second, there was the monitoring gap, since there are hardly any usable data of *PMOCs* in the aquatic environment. Finally, there was the regulatory gap because without data in the environment there is no regulation in the authorization of the trace chemicals concerned under REACH.

The aim of this work was to identify *PMOCs* in drinking water relevant waters, to determine their concentrations and to give first impressions about their behavior during drinking water treatment.

For this purpose, persistent and mobile industrial chemicals were evaluated based on their potential environmental emission using a developed substance prioritization system in the first part of thesis (see publication 1 at chapter 5.1). The potential emission to the environment was calculated for 1,110 *PMOCs*. This emission estimate was used to select analytes for subsequent screening and water monitoring.

In the second part of the project, a target screening for 64 *PMOCs* in 20 raw water relevant samples was performed using 20 different analytical method combinations within the PROMOTE project. As a result, 43 *PMOCs* were detected in at least one sample (see publication 2 at chapter 5.2).

Based on this screening work, for which numerous methods were used, a targeted method development with subsequent validation for 17 *PMOCs* with a log *D* between -3.06 and 1.23 was subsequently performed for a selected analytical method. Azeotropic enrichment was performed by supercritical fluid chromatography and high-resolution mass spectrometry (see publication 3 at chapter 5.3).

In the fourth part of the study, this analytical method was applied and used for a monitoring. The behavior of 15 *PMOCs* in five European regions was investigated in conventional drinking water treatment as well as inside a reverse osmosis pilot plant. It was demonstrated that some substances, such as trifluoromethanesulfonic acid, cyanoguanidine, and melamine as well as the sweeteners saccharin and acesulfame could not be removed by conventional water treatment processes. However, reverse osmosis represented an alternative process in water treatment with potential to remove certain *PMOCs*, such as trifluoromethanesulfonic acid, from contaminated water (see unpublished work at chapter 6).

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	i
Bibliographische Beschreibung	ii
Danksagung	iii
Abkürzungsverzeichnis	v
Kurzfassung	ix
Abstract	xi
Inhaltsverzeichnis	xiii
1 Einführung und Ziele der Arbeit	1
2 Allgemeine Grundlagen	3
2.1 <i>PMOCs</i> im Wasserkreislauf.....	3
2.1.1 Persistente, mobile, organische Chemikalien	3
2.1.2 Wasserkreislauf.....	5
2.1.3 Vorkommen von <i>PMOCs</i> in der Umwelt & deren Bedeutung für den Wasserkreislauf in der Trinkwassergewinnung und Abwasseraufbereitung	6
2.2 Analytische und Monitoring - Lücke.....	11
2.3 <i>PMOCs</i> und <i>PMT</i> -Stoffe in der Regulatorik – Regulatorische Lücke	12
2.4 Analytische Ansätze für <i>PMOCs</i>	14
2.4.1 Probenvorbereitung.....	15
2.4.2 Nachweis und Quantifizierung von <i>PMOCs</i> mittels HILIC, MMLC, RPLC	18
2.4.3 Nachweis und Quantifizierung mittels SFC-MS	22
2.4.4 <i>Non-Target</i> Screening, <i>Suspected</i> Screening und <i>Target</i> Screening	36
3 Ergebnisse und Diskussion	39
3.1 Publierte Arbeiten.....	39
3.1.1 Stoffauswahl – Nutzen von REACH-Registrierungsdaten zur Emissionsabschätzung von <i>PMOCs</i> in die Umwelt.....	39
3.1.2 Screening europäischer Wasserproben hinsichtlich des Vorhandenseins von <i>PMOCs</i>	50

3.1.3	Entwicklung einer schnellen Methode zur quantitativen Bestimmung von <i>PMOCs</i> im Wasser	57
3.2	Unveröffentlichte Ergebnisse – <i>PMOC</i> -Screening in verschiedenen Trinkwasseraufbereitungsprozessen	65
4	Zusammenfassung und Ausblick	69
5	Publikationen	75
5.1	Using REACH registration data to rank the environmental emission potential of persistent and mobile organic chemicals	75
5.2	Occurrence of emerging persistent and mobile organic contaminants in European water samples	83
5.3	A rapid method for quantification of persistent and mobile organic substances in water using supercritical fluid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry	95
6	Unveröffentlichte Arbeit des <i>PMOC</i>-Screenings	109
6.1	Einleitung	109
6.2	Material und Methoden	109
6.2.1	Zielanalyten	109
6.2.2	Wasserproben	110
6.2.3	Probenvorbereitung	110
6.2.4	Instrumentelle Analytik	110
6.2.5	Bestimmung von Methodenparametern zur Qualitätssicherung und Abschätzung der Analytkonzentrationen	111
6.3	Ergebnisse und Diskussion	111
6.3.1	Bestimmung der Gesamtwiederfindungen	111
6.3.2	<i>PMOC</i> -Konzentrationen in Wasserproben verschiedener Trinkwasseraufbereitungsanlagen	112
6.4	Schlussfolgerung	119
7	Literaturverzeichnis	121
	Abbildungsverzeichnis	I
	Tabellenverzeichnis	III
	Anhang	V

A1	Ergänzende Informationen zur Publikation „Using REACH registration data to rank the environmental emission potential of persistent and mobile organic chemicals“ in der Fachzeitschrift <i>Science of the Total Environment</i>	V
A2	Ergänzende Informationen zur Publikation „Occurrence of emerging persistent and mobile organic contaminants in European water samples“ in der Fachzeitschrift <i>Water Research</i>	LI
A3	Ergänzende Informationen zur Publikation „A rapid method for quantification of persistent and mobile organic substances in water using supercritical fluid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry“ in der Fachzeitschrift <i>Analytical and Bioanalytical Chemistry</i>	XCI
A4	Ergänzende Informationen zum Kapitel 6 „PMOC-Screening in verschiedenen Trinkwasseraufbereitungsprozessen“	CIII
Angaben zur Person		CXXI
Publikationen und Tagungsbeiträge		CXXII
Selbstständigkeitserklärung		CXXV

1 Einführung und Ziele der Arbeit

In Deutschland wird Trinkwasser zu 70 % aus Quell- und Grundwasser entnommen. Für die restlichen 30 % wird auf Talsperren, Flusswasser, Uferfiltrate oder künstlich angereichertes Grundwasser zurückgegriffen (Bartel *et al.*, 2010). Auf dem Weg in unseren Wasserhahn gibt es verschiedene Barrieren, die das Rohwasser der Trinkwassergewinnung in Deutschland vor diversen Verunreinigungen schützen – neben den technischen Möglichkeiten des Klärwerkes (vor allem Sorption und biologischer Abbau) auch die natürliche Reinigungsleistung des Bodens (zum Beispiel Uferfiltration). Dieses System eines teilweise geschlossenen Wasserkreislaufes darf allerdings nicht über seine Kapazität hinaus belastet werden, denn besonders für Salze und gut wasserlösliche Spurenstoffe, wie nicht biologisch abbaubare (persistente) und hoch polare (mobile) organische Verbindungen (*PMOC*), sind die Wirkungen dieser Barrieren begrenzt. Beim Versagen der Barrieren wird lediglich durch Verdünnung eine Konzentrationsverminderung der unerwünschten Stoffe bis hin zum Trinkwasser erzielt (Bartel *et al.*, 2010; Reemtsma *et al.*, 2016). *PMOCs* sind daher von besonderer Relevanz in Bezug auf die Wasserqualität bis hin zur Trinkwassergewinnung, da für sie eine potenzielle Schutzlücke für unsere Trinkwasserressourcen besteht.

Im regulatorischen Umfeld finden *PMOCs* bereits Beachtung und werden dort auch als sogenannte *PM*-Substanzen (persistente und mobile Substanzen) geführt. Bei der hier neu diskutierten Klasse der *PMOCs* wird zunächst der Aspekt der Toxizität nicht mit in die Betrachtung einbezogen. Toxische Chemikalien, die die Eigenschaften der hohen Mobilität und Persistenz aufweisen, werden daher auch als *PMT*-Stoffe eingeordnet. Es gibt Bestrebungen, diese Stoffe im Rahmen von REACH zu regulieren (Arp; Hale, 2019; Kalberlah *et al.*, 2014; Neumann; Schliebner, 2017). Allerdings existieren bisweilen aufgrund der gravierenden Wissenslücken über *PMOCs* für Spurenstoffe dieser Klasse noch keine Regularien in Verordnungen und Leitsätzen im EU- oder nationalen Recht (Reemtsma *et al.*, 2016). Jedoch gibt es erste Bemühungen der Europäischen Kommission in Form einer Ende 2020 konzipierten Chemikalienstrategie für Nachhaltigkeit, die vorsieht, dass persistente und mobile Stoffe zukünftig in die CLP- und REACH-Verordnung aufgenommen werden sollen (EK, 2020). Um jedoch auch für bestimmte Stoffe gezielt regulatorisch tätig zu werden, muss die Diskrepanz um das Wissen der *PMOCs* beseitigt werden. Dafür bedarf es Monitoring-Methoden und Screening-Verfahren, um das Vorhandensein und Verhalten von *PMOCs* im Wasserkreislauf nachzuweisen und genauer zu bestimmen. Die hohe Polarität der *PMOCs* erschwert allerdings die Überprüfung der Wasserqualität mit den derzeit gängigen Methoden, welche meist auf Umkehrphasen-Flüssigchromatographie und vorheriger Anreicherung bzw. Direktinjektion beruhen.

Eine gut geeignete Analysemethode, um *PMOCs* zunächst chromatographisch zu trennen, ist die superkritische Fluidchromatographie (SFC) mit anschließender Detektion durch

hochauflösende Massenspektrometrie (HRMS); (Bieber *et al.*, 2017). Die Anreicherung dieser hochpolaren Chemikalien aus wässrigen Proben stellt allerdings das größere Problem dar, da eine direkte Injektion größerer Probevolumina in der SFC-Analytik problematisch hinsichtlich anschließender Chromatographie ist. Mittels verschiedener Festphasenmaterialien sowie durch Evaporation kann die erforderliche Anreicherung erzielt werden.

In dieser Arbeit werden Industriechemikalien betrachtet, die im Gegensatz zu Pestiziden und Pharmaka in der Umweltanalytik bisher weniger im Fokus stehen.

Hierfür wurden folgende übergeordnete Ziele und Fragen formuliert:

- 1) Es sollte ein System entwickelt werden, welches Industriechemikalien und *PMOCs* im Speziellen hinsichtlich ihrer potenziellen Umweltemission bewertet und priorisiert.
- 2) Welche dieser neuartigen und bisher wenig beschriebenen *PMOCs* sind tatsächlich in europäischen, trinkwasserrelevanten Gewässern von Wichtigkeit und lassen sich darin identifizieren und mittels analytischer Methoden quantifizieren?

Die obengenannten Zielstellungen der hier vorliegenden Arbeit wurden im Rahmen des PROMOTE-Projekts mit dem vorangestellten Ziel, Wissenslücken über hochpolare, persistente Industriechemikalien zu schließen, bearbeitet. Das PROMOTE-Projekt war ein im Zeitraum von 2015 bis 2017 durch die Water JPI gefördertes Projekt, dessen Konsortium sich aus sieben Partnern verschiedener europäischer Länder zusammensetzte.

In der vorliegenden Dissertation konnte somit ein aktuelles Thema von erheblichem Forschungsbedarf mit Hilfe von modernster, instrumenteller Analytik bearbeitet werden.

2 Allgemeine Grundlagen

2.1 PMOCs im Wasserkreislauf

2.1.1 Persistente, mobile, organische Chemikalien

Der Fokus der europäischen REACH-Verordnung liegt nicht beim Trinkwasserschutz, sondern diese dient dem Schutz der menschlichen Gesundheit und der Umwelt vor den Risiken, die durch Chemikalien entstehen können. Unter diese Regulation fallen auch *PBT*-Stoffe (persistente (P), bioakkumulierende (B) und toxische (T) Substanzen). Per Definition wird deren Persistenz über die Halbwertszeit (zwischen 40 und 180 Tagen) im entsprechenden Kompartiment (Meerwasser, Süßwasser, Flussmündungen, deren Sedimente, Boden) beschrieben. Die Bioakkumulation beschreibt die Aufnahme bzw. Anreicherung eines Stoffes in einem lebenden Organismus nach Aufnahme über die Nahrung oder z. B. das Wasser. Zur Abschätzung dient der Biokonzentrationsfaktor (BCF), der gemäß REACH-Verordnung < 2.000 sein sollte, um nicht als bioakkumulierend zu gelten. Dabei handelt es sich um einen dimensionslosen Parameter, der das Verhältnis zwischen Stoffkonzentration im aquatischen Organismus und in dem umgebenden Wasser beschreibt. Alternativ lässt sich auch der *n*-Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizient K_{ow} heranziehen. Das Kriterium der Toxizität wird anhand folgender Eigenschaften erfasst: des *No-Observed Effect Level* (NOEC), seiner Karzinogenität, der Mutagenität sowie der fortpflanzungsgefährdenden Wirkung (VO (EG) Nr. 1907/2006, 2006; Stempel *et al.*, 2012). In den letzten Jahrzehnten waren und sind *PBT*-Stoffe also bereits im Fokus der umweltanalytischen Wissenschaft und verschiedener Trinkwassermonitoringprogramme (Buck *et al.*, 2011; Jensen *et al.*, 1969; Zarfl; Matthies, 2013). Durch ihre Beschreibung der Bioakkumulation gelten *PBT*-Stoffe allerdings als unpolar und eher schlecht wasserlöslich. Mit Blick auf die Trinkwasserqualität sind sie somit gut entfernbar im Prozess der Wasseraufbereitung oder der natürlichen Sorptionsprozesse in der Umwelt (Reemtsma *et al.*, 2016).

Substanzen, die von ihren intrinsischen Eigenschaften aber zusätzlich zu ihrer Persistenz in der aquatischen Umwelt mobil sind, stellen mit größerer Wahrscheinlichkeit ein Problem für die Trinkwasserqualität dar, da sie nicht durch Sorptionsprozesse aus dem Wasser zu entfernen sind und aufgrund der hohen Polarität als bestens wasserlöslich gelten. Somit können diese Stoffe schlussendlich ungehindert in das Trinkwasser gelangen. Die durch das PROMOTE-Konsortium klassifizierten *PMOCs* lassen sich durch ihre chemisch-physikalischen Eigenschaften der hohen Persistenz und hohen Mobilität beschreiben. Arp *et al.* definierten unter Zuhilfenahme der REACH-Kriterien die Begrifflichkeit *PMOC* (VO (EG) Nr. 1907/2006, 2006; Kalberlah *et al.*, 2014). Durch Arp *et al.* erfolgte folgende Einteilung für die Persistenz eines Stoffes, ermittelt bei 12 °C:

<i>Very Persistent</i> (vP)	Halbwertszeit in Frischwasser mehr als 60 Tage
<i>Persistent</i> (P)	Halbwertszeit in Frischwasser mehr als 40 Tage
<i>Possible Persistent</i> (pP)	Halbwertszeit in Frischwasser mehr als 20 Tage
<i>Not Persistent</i> (nP)	Halbwertszeit in Frischwasser weniger als 20 Tage

Unter REACH gibt es keine Definition für die Eigenschaft der Mobilität. Arp *et al.* orientierten sich an früheren Forschungsarbeiten des Umweltbundesamtes (siehe dazu auch Abschnitt 2.3). Demzufolge gilt ein Stoff als mobil, wenn sein $\log K_{OC} < 4,5$ ist und die Wasserlöslichkeit (L) $> 150 \mu\text{g L}^{-1}$ (Kalberlah *et al.*, 2014). Allerdings lässt sich der $\log K_{OC}$ lediglich für Substanzen korrekt angeben, dessen Ionisierungszustand sich nicht bei pH-Verschiebungen verändert. Für ionisierbare und ionisierte Verbindungen wurde unter Berücksichtigung des pK_a der pH-abhängige $\log D_{OC}$ verwendet. Für die Mobilität wurde folgende Einteilung angegeben:

<i>M1</i>	keine Mobilität im Wasser
<i>M2</i>	$\log K/D_{OC} < 4,5$ bzw. $L > 150 \mu\text{g L}^{-1}$
<i>M3</i>	$\log K/D_{OC} < 3$ bzw. $L > 50 \text{mg L}^{-1}$
<i>M4</i>	$\log K/D_{OC} < 2$ bzw. $L > 1 \text{g L}^{-1}$
<i>M5</i>	$\log K/D_{OC} < 1$ bzw. $L > 10 \text{g L}^{-1}$

Die dafür erforderlichen Datengrundlagen wurden vorzugsweise aus OECD- oder REACH-Daten herangezogen, gefolgt von experimentellen Daten aus wissenschaftlichen Veröffentlichungen oder anderen Quellen sowie aus QSAR-basierten Vorhersagen. Aufgrund dieser Definition klassifizierte das PROMOTE-Konsortium Industriechemikalien als *PMOCs* mit Forschungsbedarf, die entweder als mindestens *M2* und *Very Persistent* einzuordnen sind oder aber mindestens *Persistent* und *M3* (Arp *et al.*, 2017). Diese entwickelte *PMOC*-Klassifizierung, angewandt auf Industriechemikalien unter REACH, war Grundlage für die folgende Arbeit im Rahmen der vorliegenden Dissertation. Nach der Charakterisierung durch Arp *et al.* befanden sich unter den betrachteten 7313 REACH-Chemikalien (Datengrundlage der ECHA von Dezember 2014 mit einer eindeutigen CAS-Nummer) 1811 Substanzen, die als persistent und mobil in der aquatischen Umwelt einzuschätzen sind. Weitere 356 Substanzen haben ein hohes Potenzial, ein *PMOC*-Vorläufer zu sein und zu einem *PMOC* zu hydrolysieren. Wie auch durch Arp *et al.* und das PROMOTE-Konsortium teilweise durch Betrachtung der Hydrolyse berücksichtigt wurde, können *PMOCs* auch durch Transformation anderer Chemikalien entstehen, die zuvor selbst nicht als solche einzuordnen waren. So kann es also dazu kommen, dass ein Stoff, der zunächst nicht persistent oder mobil ist, durch abiotische (Hydrolyse, Photolyse, Redoxreaktionen) oder biotische (aerober/anaerober

Abbau) Prozesse in der Natur oder während der Abwasserbehandlung und Trinkwasseraufbereitung zu einem persistenten und mobilen Stoff umgewandelt wird und womöglich auch eine höhere Toxizität aufweist als noch seine Vorläuferverbindung. Ein in aktuellen Arbeiten präsent Beispiel ist die Trinkwasserkontaminante Trifluoressigsäure, eine REACH-registrierte Chemikalie, die u. a. als Lösungsmittel für Proteine und in der Peptidsynthese als Ionenpaarreagenz bei der Aufreinigung mittels HPLC eingesetzt wird und als persistent und mobil einzustufen ist. Die Trifluoressigsäure kann darüber hinaus auch durch die Transformation (Photooxidation) von fluorierten Kohlenwasserstoffen, wie 1,1,1,2-Tetrafluorethan und 1,1,1,2,3,3,3-Heptafluorpropan, beides Kältemittel in Klimaanlage und Brandbekämpfungsmittel, gebildet werden und so ihren Eintrag in die Umwelt finden (Scheurer *et al.*, 2017). Somit wird aus zwei weniger persistenten und mobilen Vorläuferverbindungen ein *PMOC* gebildet, der eine zunächst nicht auf den ersten Blick sichtbare Gefahr für den Wasserkreislauf darstellt.

2.1.2 Wasserkreislauf

Das in Deutschland über die Trinkwasserverordnung geschützte Trinkwasser ist ein Naturprodukt und wird zu 70 % aus Grund- und Quellwasser gewonnen. 13 % werden direkt aus See-, Talsperren- oder Flusswasser genutzt. Die übrigen 17 % sind eine Art Mischung – seinen Ursprung hat das Trinkwasser im Oberflächenwasser, aber durch eine Bodenpassage oder Uferfiltration ist es ähnlich dem Grundwasser (Bartel *et al.*, 2010). In urbanen Gebieten ist aufgrund der geologischen Voraussetzungen und der historischen Entwicklung ein teilweise geschlossener Wasserkreislauf ausgebildet, der direkt oder indirekt mit dem Meer verbunden ist. Das anfallende Abwasser wird zunächst in die Kläranlage transportiert, um als geklärtes Abwasser anschließend in das Oberflächengewässer eingeleitet zu werden. So kann das Oberflächenwasser in das Grundwasser infiltrieren und von dort aus über die Trinkwasserwerke wieder in die Haushalte gelangen oder industriell genutzt werden (Massmann *et al.*, 2007). Vereinfacht ist solch ein zum Teil geschlossener Wasserkreislauf mit seinen Kompartimenten Grundwasser, Uferfiltrat, Oberflächengewässer, seinen Eintragsquellen und Aufbereitungsstationen für Abwasser und Trinkwasser in **Abbildung 1** dargestellt.

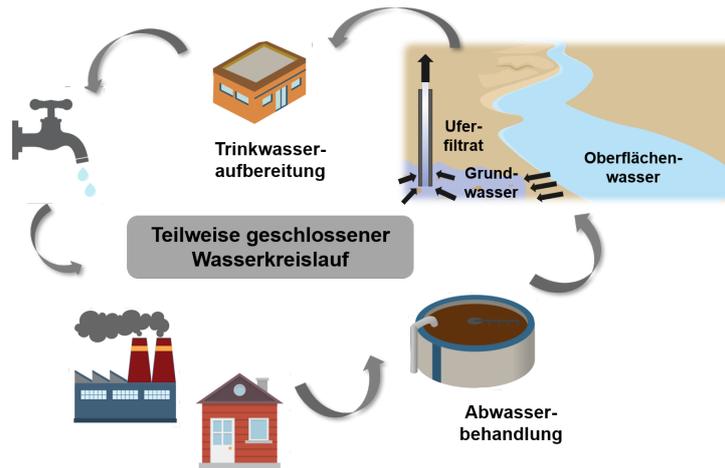


Abbildung 1: Schematische Darstellung eines teilweise geschlossenen Wasserkreislaufs, modifiziert nach Reemtsma *et al.*, 2016, Teile der Vektorgraphik von freepik.com.

2.1.3 Vorkommen von *PMOCs* in der Umwelt & deren Bedeutung für den Wasserkreislauf in der Trinkwassergewinnung und Abwasseraufbereitung

Obwohl der Begriff *PMOC* in der Vergangenheit in der Literatur nicht existent war, gab es bereits früher Bestrebungen, polare Substanzen in trinkwasserrelevantem Wasser zu untersuchen, da sie auch da schon als Problem in der Wasseraufbereitung erkannt wurden (Loos *et al.*, 2009; Loos *et al.*, 2013; Reemtsma *et al.*, 2006). Dabei war der Fokus nicht wie in dieser Arbeit lediglich auf Industriechemikalien im Speziellen gerichtet, sondern erstreckte sich darüber hinaus beispielsweise auf Pharmaka wie Carbamazepin (Carballa *et al.*, 2004; Reemtsma *et al.*, 2006), Kosmetika (Daughton, 2001; Kolpin *et al.*, 2002), Pestizide (Skark *et al.*, 1998), Flammschutzmittel wie TCPP (Li *et al.*, 2014), Lebensmittelzusatzstoffe wie Acesulfam und Saccharin (Buerge *et al.*, 2009; Scheurer *et al.*, 2009), aber auch bereits umfassend untersuchte Industriechemikalien wie PFAS (Kjølholt *et al.*, 2015), EDTA (Knepper, 2003), Melamin (Ruff *et al.*, 2015) oder Bisphenol A (Loos *et al.*, 2010). Diese Stoffe ließen sich selbst nach dem Klär- und Trinkwasserwerk noch im behandelten bzw. aufbereiteten Wasser nachweisen, womit sich zeigt, dass mobile und persistente Chemikalien ein Problem für die herkömmlichen Entfernungstechniken, wie sie nachfolgend vorgestellt werden, darstellen. Den Umwelteintrag finden solch anthropogenen Spurenstoffe in urbanen Lebensräumen u. a. über Haushalte, industrielle Prozesse, Krankenhausabwässer, Oberflächenabflüsse von Straßen und landwirtschaftlich genutzten Flächen auf direktem Weg und durch Migration der Chemikalien aus entsprechenden Materialien, in denen sie zum Einsatz kommen (Schwarzenbach *et al.*, 2006). Werden die möglichen Verwendungen für einen Stoff herangezogen, wie sie bei einer Registrierung unter REACH durch den Registranten in den technischen Dossiers anzugeben sind, gibt es eine große Anzahl an möglichen Produktkategorien allein für Industriechemikalien, die zum Eintrag in die Umwelt führen können – von Kleb- und Dichtstoffen über Kraftstoffe, Tinten und Toner,

Laborchemikalien bis hin zu Wasch- und Reinigungsmitteln, womit nur eine kleine, exemplarische Anzahl an Produktkategorien genannt sei (ECHA R.12, 2015). Durch die zahlreichen Verwendungen und möglichen Eintragswege von industriell hergestellten *PMOCs* bedarf es Verfahren in der Wasseraufbereitung, um diese aus trinkwasserrelevantem Wasser zu entfernen. Andernfalls bewegen sich die Stoffe ungehindert durch den teilweise geschlossenen Wasserkreislauf und drohen in ihrer Konzentration immer weiter anzusteigen und können lediglich durch die Öffnung des Wasserkreislaufs zum Meer in ihrer Konzentration durch Verdünnungseffekte gesenkt werden (Cousins *et al.*, 2016; Filipovic; Berger, 2015). Reemtsma *et al.* stellten die Hypothese auf, dass bei einer unzureichenden Entfernung der *PMOCs* aus dem Wasserkreislauf aufgrund ihrer chemisch-physikalischen Eigenschaften der Wasserkreislauf dem Kreislauf der *PMOCs* entspricht (Reemtsma *et al.*, 2016). Sind die Verunreinigungen trotz Präventionsmaßnahmen in den Wasserkreislauf gelangt, ist es ein Ziel, diese daraus zu eliminieren. Die dafür vorgesehenen Instrumente sind in der Abwasserbehandlung und Trinkwasseraufbereitung zu finden.

Die Güteeigenschaften für Trinkwasser, in dem *PMOCs* demnach eine bisher weniger untersuchte potenzielle Bedrohung darstellen, sind in Deutschland basierend auf der EU-Trinkwasserrichtlinie in der Trinkwasserverordnung festgelegt (TrinkwV, 2001). Die Trinkwasseraufbereitung beinhaltet Maßnahmen zur Verbesserung der Trinkwasserbeschaffenheit und umfasst die Behandlung von Rohwasser mit biologischen, chemischen und physikalischen Methoden. Dabei ist es das übergeordnete Ziel, den Anforderungen der Trinkwasserverordnung zu genügen. Je nach Zusammensetzung und Zustand des Rohwassers werden unterschiedliche Verfahren, oft auch in Kombination miteinander, gewählt. In Europa stellen in der Regel Grundwasser, Oberflächenwasser, künstlich angereichertes Oberflächenwasser oder Uferfiltrat das Rohwasser dar (Bartel *et al.*, 2010). Für die Aufbereitung der Rohwässer werden grundlegend vier verschiedene Aufbereitungsvarianten betrieben: keine Aufbereitung, konventionelle Aufbereitung, moderne Aufbereitungsverfahren oder eine Kombination aus konventioneller Aufbereitung mit modernen Aufbereitungsverfahren. **Tabelle 1** beschreibt die vier grundlegenden Aufbereitungsvarianten für die unterschiedlichen Rohwasserarten auf dem Weg zum Trinkwasser. Der Großteil des so gewonnenen Trinkwassers wird im Anschluss einer Desinfektion unterzogen (z. B. Behandlung mit Chlor, Hypochlorit, Chlordioxid, Chloramin, Ozonung, UV-Strahlen, Permanganat); (van der Hoek *et al.*, 2014). Die in **Tabelle 1** vorgestellten konventionellen als auch modernen (*advanced treatment*) Aufbereitungsverfahren des Rohwassers zum sicheren Trinkwasser scheinen allerdings beim Entfernen von persistenten und mobilen Chemikalien an ihre Grenzen zu stoßen, da diese nicht vollständig eliminiert werden können. Inwieweit genau die modernen Aufbereitungsverfahren allerdings in der Lage sind, *PMOCs* zu entfernen, ist noch nicht gänzlich geklärt und bedarf aufgrund der Vielfalt der Stoffe in ihren Eigenschaften einer Einzelfallbetrachtung. Es stellt sich generell dennoch die Frage, ob es überhaupt eine

nachhaltige Lösung ist, zum Schutz unseres Trinkwassers auf nachgeschaltete, kostenintensive Trinkwasseraufbereitungsverfahren zu setzen, wenn diese offenbar nicht wirksam genug sind, um alle kritischen Verbindungen einer breiten Stoffklasse zu entfernen (Rüdel *et al.*, 2020).

Laut dem deutschen Wasserhaushaltsgesetz ist Abwasser das durch den häuslichen, gewerblichen, landwirtschaftlichen oder sonstigen Gebrauch in seinen Eigenschaften veränderte Wasser sowie das durch Niederschläge aus dem Bereich von bebauten bzw. befestigten Flächen gesammelt abfließende Wasser. Die aus Anlagen zum Lagern und Behandeln von Abfällen austretende Flüssigkeit ist ebenfalls dem Abwasser zuzuschreiben (WHG, 2009). Konventionelle kommunale Kläranlagen, mit denen der überwiegende Teil des kommunalen Abwassers aufbereitet wird, verfügen über eine dreistufige Abwasserbehandlungstechnik, die die mechanische, biologische und chemische Behandlung umfasst (siehe **Abbildung 2**). Diese Prozesse sind jedoch nicht darauf ausgelegt, jegliche Art von Chemikalien, wie z. B. persistente und polare Substanzen, vollständig zu entfernen, wie durchgeführte Monitoring-Programme zeigen (Bernhard *et al.*, 2006; Jekel; Ruhl, 2016; Joss *et al.*, 2005; Kahl *et al.*, 2018; Loos *et al.*, 2013; Reemtsma *et al.*, 2006; Universität Dortmund, 2003). Daher stellt das behandelte Abwasser für PMOCs sowie für Spurenstoffe generell einen Eintragsweg in die Oberflächengewässer dar.

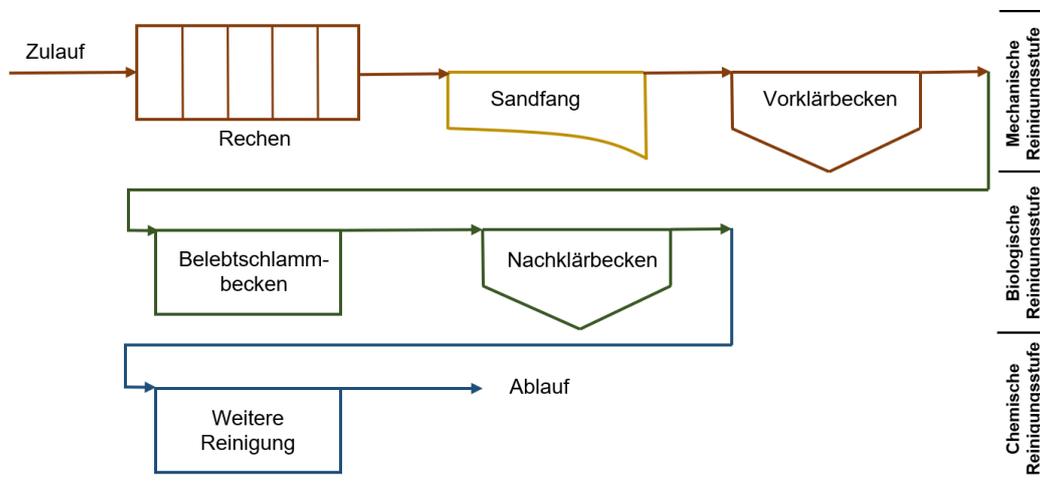


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Abwasseraufbereitungsschritte einer exemplarischen, konventionellen kommunalen Kläranlage mit drei Reinigungsstufen, modifiziert nach Bliefert, 2012.

Tabelle 1: Rohwasserarten und ihre verschiedenen Aufbereitungsverfahren auf dem Weg zum Trinkwasser, modifiziert nach van der Hoek *et al.*, 2014.

	Grundwasser	Oberflächen- wasser	Oberflächen- wasser + künstliche Anreicherung	Uferfiltrat
keine Aufbereitung	-	-	Oberflächenwasser + künstliche Anreicherung ohne weitere Aufbereitung	Keine weitere Nachbehandlung
Konventionelle Aufbereitung	Belüftung und/ oder schnelle Sandfiltration	Flockung, Sedimentation, Filtration	Oberflächenwasser + künstliche Anreicherung mit Aufbereitung durch Belüftung und/oder Flockung, Sedimentation, Filtration	Nachbehandlung: Belüftung und/ oder schnelle Sandfiltration
Moderne Aufberei- tungsverfahren	Aktivkohle- filtration, moderne Oxidations- verfahren (z. B. Ozon), Umkehrosiose, Entsalzung (Nitratentfernung)	Aktivkohle- filtration, moderne Oxidations- verfahren (z. B. Ozon), Umkehrosiose, Entsalzung (Nitratentfernung)	Oberflächenwasser + künstliche Anreicherung mit Aufbereitung durch moderne Verfahren wie Aktivkohlefiltration, moderne Oxidations- verfahren (z. B. Ozon), Umkehrosiose, Entsalzung	Nachbehandlung: Aktivkohle- filtration, moderne Oxidations- verfahren, Umkehrosiose, Entsalzung
Konventionelle Aufbereitung + moderne Aufbereitung	Belüftung und/ oder schnelle Sandfiltration + moderne Aufbereitungs- verfahren	Flockung, Sedimentation, Filtration + moderne Aufbereitungs- verfahren	Oberflächenwasser + künstliche Anreicherung mit Aufbereitung durch Belüftung und/oder Flockung, Sedimentation, Filtration	Nachbehandlung: Belüftung und/ oder schnelle Sandfiltration + moderne Aufbereitungs- verfahren

Bei der mechanischen (physikalischen) Stufe der Abwasseraufbereitung dient der Rechen der Entfernung von sperrigen Feststoffen. Im Sandfang setzen sich feinkörnige, mineralische Feststoffe ab. Zusätzlich kann durch eine Belüftung der Auftrieb kleinerer Teilchen verbessert werden, um diese im Anschluss abzuziehen. Im Vorklärbecken werden durch Reduktion der Wasserfließgeschwindigkeit organische Stoffe durch Sedimentation abgeschieden. Im Rahmen der biologischen Reinigungsstufe werden im Belebtschlammbecken gelöste organische und anorganische Stoffe durch Mikroorganismen umgesetzt. In dieser Stufe können unter genau eingestellten Sauerstoffbedingungen (anaerob, anoxisch, aerob) auch Phosphate und Stickstoffverbindungen mikrobiell eliminiert werden. Das entstehende Wasser-Schlammgemisch gelangt zur Absetzung in das Nachklärbecken, um den belebten Schlamm vom Abwasser durch Sedimentation abzutrennen. Bei der chemischen Reinigungsstufe kommen Verfahren wie die Flockung mit anschließender Fällung zur Phosphatentfernung (mit z. B. Eisen- oder Aluminiumsalzen oder Kalk), die oxidative Entfernung organischer Bestandteile (durch z. B. Wasserstoffperoxid) oder Adsorption an Aktivkohle zum Einsatz (Bliefert, 2012). Um allerdings den Eintrag eines größeren Spektrums an anthropogenen Spurenstoffen in das Oberflächenwasser zu verringern, wird heute in einigen Kläranlagen mit der vierten Reinigungsstufe gearbeitet (Rechenberg, 2015). Dabei wird bisweilen in der Praxis großtechnisch auf zwei Verfahren zurückgegriffen: die Oxidation mit Ozon und die Adsorption an Aktivkohle (Pulveraktivkohle oder granuliert Aktivkohle) mit jeweils einer darauffolgenden Nachbehandlungsstufe, um einige mögliche entstehende Reaktionsprodukte, wie z. B. elektronenreiche Verbindungen, abzutrennen. Bei der Ozonung reagiert bei der direkten Reaktion das Ozonmolekül mit elektronenreichen Molekülstrukturen. Bei der indirekten Reaktion werden über eine Kettenreaktion Hydroxyl-Radikale gebildet, die unselektiv mit den Inhaltsstoffen reagieren, wodurch es zur Transformation in andere Substanzen kommt. Die Nachbehandlung erfolgt durch Sand- oder Biofilter oder eine adsorptive Stufe (Ahting *et al.*, 2017; Jekel; Ruhl, 2016; Schaar; Kreuzinger, 2017). Die Aktivkohlebehandlung beruht auf der Adsorption der Stoffe an die Aktivkohle, hervorgerufen durch elektrostatische Wechselwirkungen, Van-der-Waals-Wechselwirkungen, Besetzen der porösen Strukturen und π - π -Wechselwirkungen (Hanai, 2003). Bei einer Aktivkohlebehandlung folgt eine nachgeschaltete Filtration. Weitere, weniger gängige Verfahren für eine vierte Reinigungsstufe sind sogenannte *Advanced Oxidation Processes* (erweiterte Oxidationsverfahren) sowie weitere Membranfiltrationsmethoden (Biebersdorf; Kaub, 2013). Zu den erweiterten Oxidationsverfahren zählen u. a. die Oxidation mit Wasserstoffperoxid und Titandioxid mit zugeführter Energie durch UV-Bestrahlung oder Ultraschall sowie die Oxidation durch Eisen-II + Wasserstoffperoxid (*Fenton*-Reaktion) und die elektrochemische Oxidation (Poyatos *et al.*, 2010). Mögliche Verfahren der Membranfiltration sind die Mikro- und Ultrafiltration über mechanisch wirkende Feinsiebe sowie Nanofiltration und Umkehrosmose, bei denen dichte, diffusionsoffene Membranen eingesetzt werden (Garcia *et al.*, 2013; Wenten; Khoiruddin, 2016). Wie auch bereits bei der Betrachtung der modernen Verfahren der

Trinkwasseraufbereitung bieten diese genannten Verfahren der vierten Reinigungsstufe, die über die bisherige konventionelle Abwasserbehandlung der meisten Klärwerke hinausgehen, womöglich ebenfalls Potenzial für die Entfernung persistenter und mobiler Chemikalien.

2.2 Analytische und Monitoring - Lücke

Um das bisher noch ungewisse Ausmaß an *PMOCs* in unseren Trinkwasserressourcen abzuschätzen und folglich auch Verfahren der Wasseraufbereitung zu etablieren, die diese Stoffe – sollten sie einmal in den Wasserkreislauf gelangt sein – sicher entfernen, bedarf es analytischer Methoden. Die hohe Polarität erschwert eine Anreicherung der Substanzen aus wässriger Matrix sowie die anschließende chromatographische Retention und Trennung an der Säule mit den gängigen Methoden der Spurenanalytik wie RPLC-MS und GC-MS (Reemtsma *et al.*, 2016). Somit können selbst in *Non-Target* Screenings solch hochpolare Substanzen ggf. nicht entdeckt werden, da sie weder mit angereichert noch im Anschluss detektiert werden (Schymanski *et al.*, 2015). Es besteht demzufolge eine Wissenslücke darüber, welche hochpolaren Substanzen sich tatsächlich in der Umwelt befinden. Dies betrifft nicht nur die hier untersuchten und thematisierten REACH-Chemikalien, sondern auch alle weiteren Substanzen, die nach ihren chemisch-physikalischen Eigenschaften zu den *PMOCs* zählen können, wie z. B. Pharmaka, Pestizide, Wasch- und Reinigungsmittel sowie Kosmetika, aber auch hochpolare Transformationsprodukte von Nicht-*PMOCs*. Ohne Vorhandensein stabiler, analytischer Methoden für die Klasse der *PMOCs* können auch keine quantitativen Monitoring-Daten generiert werden, um im Anschluss regulatorisch tätig zu werden (siehe **Abbildung 3**).

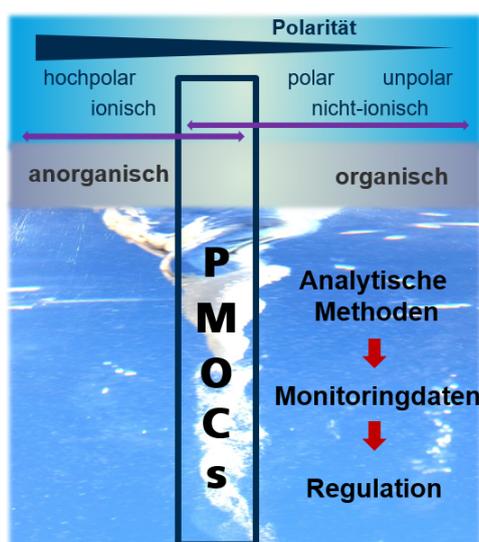


Abbildung 3: Analytische Lücke der *PMOCs*, das Nichtvorhandensein von Monitoring-Daten und die daraus einhergehende fehlende Regulation für *PMOCs*.

2.3 *PMOCs* und *PMT*-Stoffe in der Regulatorik – Regulatorische Lücke

Die REACH-Verordnung der EU, die seit dem 01. Juni 2007 in Kraft ist, wurde zum Schutz der menschlichen Gesundheit und der Umwelt vor den Risiken, die durch Chemikalien entstehen können, erlassen. Zugleich soll sie aber auch die Wettbewerbsfähigkeit der chemischen Industrie der EU gewährleisten. Die REACH-Verordnung steht für die Registrierung durch die Unternehmen und die Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe durch die ECHA. Alle anthropogen hergestellten Verbindungen, die in Mengen ab einer Tonne pro Jahr in Europa hergestellt oder importiert werden, müssen unter REACH registriert werden. Die Verordnung verlangt von den registrierenden Unternehmen sicherzustellen, dass die Herstellung und Verwendung der Chemikalien zu keinem Zeitpunkt eine negative Wirkung auf die menschliche Gesundheit oder die Umwelt haben. Unter REACH ist für die zu registrierenden Stoffe durch den Registranten eine Risikobeurteilung durchzuführen, die die zu erwartenden Einträge in die Umwelt und ihre intrinsischen Stoffeigenschaften umfasst. Dieser Schutzgedanke unter REACH geht im Übrigen auch mit der nationalen Trinkwasserverordnung, die in Deutschland gilt, einher. Die Trinkwasserverordnung gibt jedoch gemäß des Minimierungsgebots, unter Angabe von Grenzwerten für bestimmte Stoffe, konkret vor, den Eintrag rohwassergängiger Chemikalien in Oberflächengewässer und Grundwasser zu vermeiden bzw. so niedrig zu halten, wie es vernünftig erreichbar ist (TrinkwV, 2001). Dass es unser Wasser u. a. vor unerwünschtem Chemikalieneintrag zu schützen gilt, ist also bereits durch Gesetze und Verordnungen in der Regulatorik verankert. Besonders relevant für den Wasserkreislauf sah in der Vergangenheit das Umweltbundesamt bisher Stoffe mit human- oder ökotoxischen Eigenschaften und Stoffe, die persistent, bioakkumulierend, toxisch (*PBT*) oder sehr persistent und sehr bioakkumulierend (*vPvB*) sind, an (Ahting *et al.*, 2017). Nach Artikel 57 und Anhang XIII der REACH-Verordnung gelten *PBT*- und *vPvB*-Stoffe als besonders besorgniserregende Stoffe (VO (EG) Nr. 1907/2006, 2006).

Das Umweltbundesamt schätzt aber mittlerweile auch Stoffe, die persistent, im Wasserkreislauf mobil und toxisch (*PMT*) sind, als kritisch ein. Das Potenzial, dass diese Stoffe Rohwasser für die Trinkwasserherstellung verunreinigen und sich schwer durch technische Verfahren entfernen lassen, wurde auch hier erkannt. Eine Kenntlichmachung von *PM*- und *PMT*-Stoffen ist allerdings bisher bei einer Registrierung einer Chemikalie unter REACH nicht gefordert. Daher gab es auch lange durch die ECHA kaum Anhaltspunkte, wie eine solche Bewertung durchführbar wäre (Ahting *et al.*, 2017). Im Rahmen eines Forschungsvorhabens wurde am Umweltbundesamt zur Stärkung des vorbeugenden Schutzes der Gewässer und Trinkwasserressourcen ein mögliches Bewertungskonzept für *PMT*-Stoffe entwickelt (Kalberlah *et al.*, 2014). Dieses Konzept sieht Kriterien vor, mit denen REACH-Substanzen als *PMT*-Substanzen und damit als rohwasserkritisch identifiziert werden sollen. Für diese Bewertung werden unter REACH generierte Daten genutzt. Die Beurteilung der Persistenz (*P*) beruht dabei auf den Persistenzkriterien der REACH-Verordnung aus Anhang XIII. Demnach

gilt ein Stoff als persistent, wenn die Halbwertszeit im Meerwasser mehr als 60 Tage beträgt bzw. in Süßwasser oder Flussmündungen mehr als 40 Tage, im Meeressediment mehr als 180 Tage, in Süßwassersediment oder Flussmündungssediment mehr als 120 Tage oder im Boden mehr als 120 Tage (VO (EG) Nr. 1907/2006, 2006). Die Mobilitätsbewertung (M) erfolgte durch Kalberlah *et al.* mit Hilfe einer Modellierung und es wurde der auf den organischen Kohlenstoffgehalt normalisierte Adsorptionskoeffizient $\log K_{OC}$ von $< 4,5$ abgeleitet. Zusätzlich wurde eine Mindestlöslichkeit von $> 150 \mu\text{g L}^{-1}$ für eine mögliche Mobilität herangezogen. In neueren Arbeiten des Umweltbundesamtes wurde allerdings auf die Verwendung der Wasserlöslichkeit als Mobilitätskriterium verzichtet, da das UBA die Korrelation der Wasserlöslichkeit mit der Mobilität in Frage stellt. Gründe hierfür sind zudem Schwierigkeiten in der Anwendbarkeit der Löslichkeit für ionische und ionisierbare Substanzen sowie Bedenken in der Datenqualität für den Parameter der Wasserlöslichkeit (Neumann; Schliebner, 2019). Arbeiten von Smith *et al.* zeigten hingegen auf, dass nur die Verwendung des $\log K_{OC}$ nicht ausreicht, um als alleiniges Maß für die Mobilität genutzt werden zu können. Denn trotz ähnlicher $\log K_{OC}$ -Werte können die chemischen Strukturen derart verschieden sein, dass anzunehmen ist, dass die Substanzen im Trinkwasserkreislauf unterschiedlich mobil sein werden (Smith *et al.*, 2020). Kalberlah *et al.* nutzten in ihrer Arbeit für das Kriterium der Toxizität die unter REACH im Anhang XIII festgelegten Kriterien der humanen Toxizität (NOEC von $< 0,01 \text{ mg/L}$, Karzinogenität, Mutagenität und chronische Toxizität) sowie der DNEL von $< 9 \mu\text{g kg}^{-1}$ Körpergewicht und Tag als Maß für die Effektstärke. Die Autoren stellten während ihrer Arbeit insgesamt Mängel in den Registrierungsdokumenten unter REACH fest, die die Anwendbarkeit ihres Ansatzes limitierten. Wie bereits unter 2.1.1 erwähnt, können Transformationsprodukte aufgrund ihrer *PMT*-Eigenschaften ebenfalls von großer Relevanz sein, allerdings fehlen diese Hinweise auf die Identität von Reaktionsprodukten und ihren Eigenschaften in den Registrierungsdossiers völlig. Als weitere Diskrepanz wird gesehen, dass die Exposition des Menschen über das Trinkwasser aktuell unter REACH nur berechnet wird. Dabei kann es sich aber nur um eine grobe Abschätzung der Exposition auf das Rohwasser handeln, da eine Trinkwasseraufbereitung nicht berücksichtigt wird. Der Begriff Rohwasser findet unter REACH allerdings keine Verwendung, demnach wird, wie eingangs erwähnt, die Belastung des Rohwassers durch *PMT*-Stoffe im Registrierungsdossier unter REACH nicht erfasst. In diesem Ansatz von Kalberlah *et al.* geht die Höhe der Exposition nicht in den Ansatz der *PMT*-Kriterien ein. Sie diente in den Untersuchungen aber als Abschneidekriterium, wann eine bzw. keine *PMT*-Bewertung vorgenommen werden sollte. Anhand dieses Konzeptes wurden 93 Beispielsubstanzen betrachtet, um daraus *PM*- oder *PMT*-Stoffe zu ermitteln. Dabei wurden entsprechend des Bewertungskonzeptes 21 Substanzen als *PM*-Substanzen und 12 als *PMT*-Substanzen eingestuft. Die 12 *PMT*-Stoffe wurden weiter bezüglich ihrer Exposition geprüft. Unter REACH muss der Inverkehrbringer einer Substanz den Stoff hinsichtlich des Systems der Verwendungsdeskriptoren einstufen. Eine der fünf Verwendungsdeskriptoren ist die Umweltfreisetzungskategorie (ERC), die die

allgemeinen Verwendungsbedingungen aus Sicht des Umweltschutzes beschreibt. Neun dieser 12 *PMT*-Stoffe wurden nach Prüfung der ERC in den Registrierungs dossiers als rohwasserkritisch eingeordnet. Wenngleich mit dieser Methode eine gewisse Anzahl an *PM*- und *PMT*-Stoffen identifiziert werden konnte, bemängelten auch hier Kalberlah *et al.* die z. T. schlecht aufgearbeiteten Daten in den REACH-Dokumenten. Eine schnelle, routinemäßige Prüfung war demnach nicht möglich. Häufig waren zusätzliche Einzelstudien und vergleichende Prüfungen verschiedener Einzeldaten erforderlich, um eine Aussage treffen zu können (Kalberlah *et al.*, 2014).

Da bisher *PM*- und *PMT*-Stoffe nicht der REACH-Regulierung unterliegen, fallen auch *PMOCs* nicht in diese und die analytische Lücke und das damit verbundene Fehlen von Monitoring-Daten erweitert sich zu einer regulatorischen Lücke (siehe **Abbildung 3**). Aufgrund der Möglichkeit dieser Stoffe ins Trinkwasser zu gelangen, kann es ratsam sein, eine Regulatorik für diese Stoffe anzustreben, um ihrer Freisetzung in die Umwelt vorzubeugen oder diese gar zu vermeiden. Dafür stehen die unter den REACH-Dossiers gebündelten Informationen zur Verfügung, die standardmäßig bei der Registrierung einer Industriechemikalie vorliegen müssen. REACH würde hier demzufolge vorbeugend auf den Trinkwasserschutz wirken (Reemtsma *et al.*, 2016). Es gibt bereits neueste Bestrebungen der Europäischen Kommission, die vorsehen, persistente und mobile Chemikalien in die EU-weiten Verordnungen zu implementieren. Dabei ist geplant, neue Gefahrenklassen- und Kriterien in die CLP-Verordnung, welche die korrekte Kennzeichnung und Einstufung von Chemikalien vorgibt, aufzunehmen, die die umwルトpersistenten und -mobilen Stoffe betreffen. Weiterhin sollen die persistenten und mobilen Stoffe als besonders besorgniserregende Stoffe (*SVHC*) unter REACH Berücksichtigung finden (EK, 2020).

2.4 Analytische Ansätze für *PMOCs*

Die Ursachen der bestehenden Wissenslücken (siehe Kapitel 2.2) bezüglich der *PMOCs* sind vorrangig in den unzulänglich verfügbaren Methoden in der *PMOC*-Analytik zu suchen. Diese sollten für stark polare Stoffe zur Verfügung stehen, um überhaupt Monitoringdaten generieren zu können, um eine Abschätzung der tatsächlichen Relevanz für die einzelnen Stoffe in der Umwelt durchführen zu können. Um Spurenstoffe in kleinsten Konzentrationen sicher nachweisen zu können, ist heute die Flüssigchromatographie, vor allem die Umkehrphasenchromatographie, gekoppelt an ein Massenspektrometer nach vorheriger Probenanreicherung mittels SPE oder per Direktinjektion, die Methode der Wahl in der routinemäßigen Wasseranalytik. Beim Sichten einschlägiger Literatur auf diesem Anwendungsgebiet scheint es so, als wären vermeintlich nahezu alle analytischen Fragestellungen mittels RPLC-MS in der Wasseranalytik bearbeitbar. Jedoch kommt für stark polare Stoffe mit vorrangig negativen log *D*-Werten die RPLC-MS offenbar an ihre Grenzen.

Die Substanzen sind häufig so polar, dass sie nicht oder kaum vom Säulenmaterial durch unpolare Wechselwirkungen zurückgehalten werden und dazu tendieren, im Totvolumen gemeinsam mit hochpolaren Matrixbestandteilen wie den Huminstoffen des Grund- und Oberflächenwassers zu eluieren, was im Anschluss zu einer schlechten Ionisierung im LC-MS-Interface führen kann. So können also hochpolare, wasserrelevante Spurenstoffe wie beispielsweise das Herbizid Glyphosat und sein Transformationsprodukt Aminomethylphosphonsäure oder auch der Komplexbildner EDTA nicht mit der routinemäßigen RPLC-MS analysiert werden, ohne sich weiterer analytischer Umwege zu bedienen (Ibáñez *et al.*, 2006; Knepper *et al.*, 2005). Zusätzlich zu diesen chromatographischen Herausforderungen in der *PMOC*-Analytik ergibt sich mit einer erforderlichen Probenanreicherung hochpolarer Spurenstoffe eine weitere Aufgabe, die es zu lösen gilt. Denn auch bei der Probenanreicherung mit der gängig genutzten Festphasenextraktionsmethode kommt es häufig zum Durchbruch oder einer unvollständigen Elution der Analyten (Reemtsma *et al.*, 2016).

Die folgenden Kapitel gehen auf die beiden Bereiche der Probenvorbereitung und der instrumentellen Messung ein. Auf die Probenahme von Wasserproben, die ebenfalls ein wichtiger Teil des analytischen Prozesses ist, wird nicht näher eingegangen.

2.4.1 Probenvorbereitung

Um Spurenstoffe beim gleichzeitigen Vorhandensein von anderen physikalisch-chemisch ähnlichen Störstoffen in der Probe bestimmen zu können, ist häufig eine Abtrennung dieser aus der Probe notwendig. In den Fällen, in denen der Analyt ausreichend konzentriert in der Probe vorliegt und somit die anschließende Detektionsmethode empfindlich genug ist oder eine Injektion eines großen Probevolumens möglich ist, die Matrix nicht bei der Analyse stört und die Folgemethode mit der wässrigen Lösung verträglich ist, kann eine wässrige Probe auch direkt injiziert werden (Busetti *et al.*, 2012; Ingelse *et al.*, 2001; Reemtsma *et al.*, 2013). Die störende Matrix liegt in der Regel in der Probe im Überschuss vor. Es braucht aber immer eine detektierbare Mindestmenge an Analyten in der späteren Chromatographie, weswegen es ohne Abtrennung der Störsubstanzen im Anschluss auf der chromatographischen Säule zu einer Überladung kommen würde, die das Trennvermögen erheblich reduziert. In direkter Nähe zu weiteren sehr großen chromatographischen Peaks, herrührend von anderen Hauptkomponenten, ist eine empfindliche Detektion des Spurenstoffes kaum möglich. Das macht somit eine Abtrennung der störenden Matrix bzw. des interessanten Analyten sowie eine Analytenanreicherung erforderlich. Dies ist ein generelles Problem bei der Analytik von Spurenstoffen und trifft auch auf *PMOCs* zu. Mögliche generelle Verfahren der Abtrennung organischer Analyten aus wässrigen Umweltproben für eine anschließende chromatographische Analytik sind die Flüssig/Flüssig-Extraktion, die Festphasenextraktion (SPE), die Festphasen-Mikroextraktion (SPME) sowie die überkritische Fluidextraktion. Gängige Methoden der anschließenden Aufkonzentrierung sind z. B. für nicht-flüchtige

Analyten, wie es die *PMOCs* sind, die Lösemittelentfernung am Verdampfer (Rotationsverdampfer, Kuderna-Danish-Apparatur oder Laborverdampfer), mit Hilfe von Stickstoff an einer Einblasvorrichtung, mit einer Vakuumzentrifuge oder durch Lyophilisierung (Camman, 2010; Kataoka, 2002; Montes *et al.*, 2017).

Bei der Flüssig/Flüssig-Extraktion wird die wässrige Analysenprobe mit einem organischen Lösungsmittel, welches dementsprechend nicht mit Wasser mischbar sein darf, ausgeschüttelt. Es erfolgt eine Verteilung des Analyten gemäß dem Nernst'schen Verteilungsgesetz. Die Effizienz der Verteilung kann durch Elektrolytzugabe (z. B. NaCl) über den Aussalzeffekt erhöht werden. Welsch *et al.* haben diesen Effekt für die Flüssig/Flüssig-Mikroextraktion von polaren Stoffen in durch Rüstungsalzlasten kontaminierten Grundwässern genutzt und eine spezielle Apparatur konstruiert, um die Nachteile (hoher Verbrauch organischer Lösungsmittel, ökonomische und ökologische Probleme) der klassischen Flüssig/Flüssig-Extraktion zu umgehen und polare Stoffe aus wässriger Umgebung zu extrahieren (Welsch; Block, 1997). Generell ist die herkömmliche Flüssig/Flüssig-Extraktion aber nicht für stark polare Substanzen wie den *PMOCs* geeignet, da die unpolare Phase der Extraktion nicht mit Wasser mischbar sein darf, aber dennoch ausreichend stark polar sein müsste, um den *PMOCs* eine entsprechend gute Löslichkeit zu bieten.

Eine der gängigsten Methoden zur Anreicherung organischer Stoffe aus Wasserproben ist die Festphasenextraktion (SPE). Darüber hinaus können durch SPE störende, interferierende Matrixbestandteile abgetrennt sowie ein Lösungsmittelwechsel für die anschließende Chromatographie vorgenommen werden. Die Festphasenextraktion kann als separater Analyseschritt durchgeführt werden oder aber bereits gekoppelt (Online-SPE) an die nachfolgende Chromatographiemethode sein (Hernández *et al.*, 2001; Mann *et al.*, 2016). Gewöhnlich werden, wie aus der Flüssigkeitschromatographie bekannt, z. B. Normalphasen-Kieselgele, Aluminiumoxid, modifizierte Kieselgele mit Umkehrphasensorbentien, Ionentauscher oder funktionalisierte Harze basierend auf Styren-Divinylbenzen verwendet. Die interessierenden Analyten werden durch Wechselwirkungskräfte, die je nach Sorbensmaterial variieren, an der Festphasenoberfläche zurückgehalten und angereichert. Dabei handelt es sich um hydrophobe Wechselwirkungen wie Van-der-Waals-Kräfte, hydrophile Wechselwirkungen wie Dipol-Dipol-Wechselwirkungen, Wasserstoffbrückenbindungen und π - π -Wechselwirkungen sowie zusätzlich zwischen den geladenen Gruppen elektrostatische Anziehungen (Buszewski; Szultka, 2012). Neben den gängigen SPE-Materialien, die vorrangig für unpolare oder mäßig polare Analyten Anwendung finden, wie der Umkehrphase (C18, C8), soll **Tabelle 2** einen Überblick über verschiedene Sorbensmaterialien geben, wie sie in der Literatur zur Extraktion polarer Analyten aus wässrigem Medium zum Einsatz kommen. Denn die Herausforderung bei der Anreicherung stark polarer Spurenstoffe besteht unter Verwendung der herkömmlichen Umkehrphasenmaterialien darin, ausreichend Retention der polaren Analyten während der

Probenaufgabe auf dem SPE-Material zu erhalten. Dennoch stoßen auch diese in **Tabelle 2** aufgeführten Materialien bei der Extraktion hochpolarer Spurenstoffe an ihre Grenzen, da diese in der Regel nicht durch das Sorbensmaterial zurückgehalten werden können, bevor die eigentliche Elution stattfindet. Ionenaustauschermaterialien sind zudem nur eingeschränkt für die Anreicherung einer großen Vielfalt von *PMOCs* nutzbar, da sie nur für Substanzen eines bestimmten Ladungszustandes verwendet werden können (Köke *et al.*, 2018).

Eine weitere Möglichkeit, polare Analyten über gängige SPE-C18-Phasen extrahieren zu können, ist es, den Analyten vorher zu derivatisieren, wie es in der Glyphosat-Analytik bereits durchgeführt wird. Dies ist allerdings ein zeitraubender und ebenso fehleranfälliger Zusatzschritt im Rahmen der durchgeführten Analytik. Eine Anwendung nur eines Derivatisierungsverfahrens im Rahmen einer Multimethode für unterschiedliche polare Substanzgruppen ist ebenfalls nicht möglich, sodass die Derivatisierungsmethode mit anschließender SPE auf einer C18-Phase für eine große Vielzahl an *PMOCs* nicht zielführend ist (Kolpin *et al.*, 2006; Olivo *et al.*, 2015).

Um die Extraktion einer breiten Anzahl polarer Analyten mit unterschiedlichen chemisch-physikalischen Eigenschaften abzudecken, kommen in der Literatur auch gemischte Festphasenextraktionen zum Einsatz. Hierbei wird die SPE-Kartusche mit verschiedenen Materialien befüllt, um so eine Vielzahl an chemisch diversen Analyten aus der wässrigen Probe extrahieren zu können. Beispielsweise werden Ionenaustauschermaterialien und polymere Sorbensmaterialien oder weitere chemisch funktionalisierte Materialien in eine Kartusche gefüllt, um darüber ein breites Analytspektrum anzureichern (Castillo *et al.*, 1999; Huntscha *et al.*, 2012; Kern *et al.*, 2009; Köke *et al.*, 2018; Zahn *et al.*, 2016). Dieses Verfahren der gemischten SPE ist somit eine der wenigen Methoden, die bislang dazu geeignet scheint, eine große Bandbreite an polaren Stoffen mit unterschiedlichen chemisch-physikalischen Eigenschaften anzureichern. Allerdings ist sie damit auch ein sehr aufwändiges und kostenintensives Verfahren, da die Kartuschen per Hand mit den verschiedenen Sorbensmaterialien gefüllt werden müssen. Für einen Hochdurchsatz an Proben, z. B. im Rahmen eines Monitorings, stellen diese Kartuschen, solange sie nicht kommerziell verfügbar sind, keine relevante Variante in der Probenvorbereitung von *PMOCs* dar. Hinsichtlich der vorgestellten Verfahren mit ihren Nachteilen bei der Anreicherung polarer Chemikalien besteht demzufolge weiterhin Bedarf an einer schnellen, kostengünstigen Probenanreicherungs-methode, die für eine Vielzahl chemisch verschiedener *PMOCs* genutzt werden kann.

Tabelle 2: SPE-Materialien zur Extraktion polarer Analyten aus wässrigem Medium (Buszewski; Szultka, 2012; Fontanals *et al.*, 2005; Hennion *et al.*, 1995; Masqué *et al.*, 1998).

Sorbensklasse	Beispielhafte Sorbensmaterialien
Polymere Sorbensmaterialien mit einer großen spezifischen Oberfläche	<ul style="list-style-type: none"> • Styrol-Divinylbenzen (St-DVB), makroporös oder hyperquervernetzt • Poly-N-vinylpyrrolidondivinylbenzen (wie Oasis[®] HLB, Amberlite[®] XAD) • St-DVB-CN • St-DVB-OH (wie ISOLUTE[®] ENV+)
Ionenaustauschermaterialien auf Kieselgel- oder Polymerbasis	<ul style="list-style-type: none"> • Anionenaustauscher (mit Aminogruppe quaternär, sekundär, primär) • Kationenaustauscher (Carboxyl- oder Sulfonsäuregruppe)
Aktivkohle	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Graphitized Carbon Black</i> (GCB) (ENVI-Carb[™]) mit Mechanismus der Umkehrphase und Anionenaustauscher durch leicht positive Ladung • Poröse immobilisierte Aktivkohle (PGC): Grafit ist auf Kieselgel immobilisiert und dadurch stabiler als GCB

2.4.2 Nachweis und Quantifizierung von *PMOCs* mittels HILIC, MMLC, RPLC

Als mögliche chromatographische Methoden der Umweltanalytik sind die Gaschromatographie (GC) und verschiedene Varianten der Flüssigchromatographie (LC) mit der Umkehrphasenchromatographie (RPLC), Mixed-Mode-Flüssigchromatographie (MMLC), Ionenchromatographie (IC), hydrophile Interaktionschromatographie (HILIC) sowie die zwischen GC und LC anzusiedelnde überkritische Fluidchromatographie (SFC) zu benennen. Eine grundlegende Herausforderung ist, dass sich die hohe Polarität der *PMOCs*, wie auch bereits bei der zuvor diskutierten Anreicherung (siehe Abschnitt 2.4.1), erschwerend auf die anschließende chromatographische Retention und Trennung auswirkt. Nachfolgend werden die chromatographischen Techniken vorgestellt und inwieweit sie für die Trennung polarer Moleküle eingesetzt werden können.

Die GC ist eine Trennmethode, bei der die Verbindungen eine genügend hohe Flüchtigkeit mitbringen müssen, um einen ausreichend großen Anteil an Molekülen in der Gasphase vorzufinden. Die Gaschromatographie ist somit generell für eher flüchtige unpolare Verbindungen sehr gut geeignet, zunächst nicht aber für hochpolare Stoffe wie den *PMOCs*.

Es lassen sich aber auch polare Stoffe, die die genannten Bedingungen nicht erfüllen, nach Modifikation gaschromatographisch analysieren. Polare Substanzen können derivatisiert und in eine Form überführt werden, die eine ausreichende Flüchtigkeit besitzt. Somit lassen sich z. B. auch Perfluorcarbonsäuren, wie die stark polare Perfluorbutansäure mit einem $\log D = -1,13$ bei $\text{pH} = 7,4$ oder die Perfluorpentansäure ($\log D = -0,34$ bei $\text{pH} = 7,4$), die für gewöhnlich per LC getrennt werden, gaschromatographisch analysieren (Shafique *et al.*, 2017). Eine Derivatisierung ist aber stets mit einem zusätzlichen Arbeitsaufwand, einem höheren Chemikalieneinsatz und einer gewissen Fehleranfälligkeit im analytischen Prozess verbunden (Reemtsma; Jekel, 2008).

In der Spurenstoffanalytik findet die Flüssigkeitschromatographie (LC), häufig in Kombination mit anschließender massenspektrometrischer Detektion (MS), weite Verbreitung. Diese wird auch für die Analyse im Spurenbereich von polaren Analyten genutzt (Reemtsma, 2003). Sie kann komplementär zur GC für solche Stoffe verwendet werden, die aufgrund ihrer hohen Polarität, der geringen Flüchtigkeit oder ihrer Thermolabilität nicht GC-gängig sind. Im Gegensatz zur GC, in der mit unterschiedlichen stationären Phasen und der Temperatur getrennt wird, kann in der HPLC der Chromatographiemechanismus über die stationäre Phase und die Zusammensetzung der mobilen Phase stark variiert und dem Trennproblem entsprechend angepasst werden. Generell gelten dieselben Prinzipien der Phasenauswahl wie für die Festphasenextraktion. Die Säure- bzw. Basenstärke, die Molekülgröße und die Polarität des Analyten entscheiden über den LC-Modus. Einige Varianten der Flüssigkeitschromatographie, wie sie zur Trennung polarer Verbindungen genutzt werden, sind im Folgenden beschrieben.

Die Trennung ionischer Substanzen (bzw. stark basischer oder saurer Analyten) kann durch die Ionenchromatographie (IC) ermöglicht werden, die auf den Trennmechanismen des Ionenaustausches, der Ionenpaarbildung oder des Ionenausschlusses beruhen. Verantwortlich für die Retention zwischen den geladenen Analyten und der ebenfalls geladenen stationären Phase sind elektrostatische Wechselwirkungen. In der organischen Umweltanalytik fand die IC vermehrt Einzug, nachdem sie erfolgreich unter Einsatz eines Suppressors mit dem MS gekoppelt werden konnte (Bauer *et al.*, 1999; Camman, 2010). Auf der apparativen Seite wird allerdings dieser zusätzlicher Suppressor vor dem MS benötigt, der die Ionen aus dem benötigten Puffer im Eluenten vermindert, um die Empfindlichkeit der Analyten im MS zu erhöhen. Knepper *et al.* bestimmten mittels IC-MS auf einer Anionenaustauschersäule die beiden stark polaren, persistenten Chelatbildner Diethylentriaminpentaessigsäure und Ethylendiamintetraessigsäure in Oberflächen- und Abwasser (Knepper *et al.*, 2005). Auch wenn die IC-MS für einige polare Analyten ein brauchbares analytisches Werkzeug darstellt, ist sie aufgrund ihrer Wirkungsweise für das gleichzeitige Screenen eines breiten Analytspektrums mit neutralen, positiv und auch negativ geladenen Substanzen nicht geeignet.

Für die Analyse schwach saurer oder basischer Verbindungen kommt die Umkehrphasenchromatographie (RPLC) als eine weitere Variante der LC zum Einsatz. Die RPLC ist eine gute Methode zur Analytik von Verbindungen mit geringer bis mittlerer Polarität. Klassische C18-Umkehrphasenmaterialien werden für den Einsatz in der Analytik polarer Verbindungen an den Silanolgruppen speziell modifiziert und mit einem hydrophilen Endcapping versehen, sodass mit vollständig wässrigen Phasen gearbeitet werden kann. Für hochpolare Substanzen stößt die RPLC allerdings hinsichtlich unzureichender Retention an der stationären Phase und somit einer Elution in oder nahe der Totzeit an ihre Grenzen (Bieber *et al.*, 2017; Jandera; Hájek, 2018). Auch wenn mit der klassischen Normalphasenchromatographie (NPLC) stark polare Moleküle retardiert und getrennt werden können, spielt sie in der Regel in der Umweltanalytik eine eher untergeordnete Rolle. Zum einen muss der Analyt im verwendeten unpolaren Eluenten löslich sein und zum anderen sind lange Konditionierungs- und Equilibrierungszeiten erforderlich. Will man auf einer Anlage zwischen NP und RP wechseln, ist solch ein Wechsel in der Praxis aufgrund des Zeitaufwandes und eines häufig erforderlichen Umbaus der Anlage durch das unterschiedliche Lösungsmittel zu aufwendig. Die hydrophile Interaktionschromatographie (HILIC) als eine Variante der NPLC, aber mit anderen Retentionsmechanismen, gewinnt allerdings zunehmend an Bedeutung in der Analytik polarer Verbindungen (Boulard *et al.*, 2018). In den 1970er Jahren eingeführt, wurde sie als „umgekehrte Umkehrphasenflüssigchromatographie“ bezeichnet, denn die Elutionsstärke von Wasser und Acetonitril ist umgekehrt zu der in der RPLC – die Elution wird demzufolge durch Erhöhung des Wassergehaltes induziert. Als stationäre Phasen kommen sehr polare Materialien wie unmodifizierte Silicapartikel oder polar modifizierte Phasen (neutrale, geladene oder zwitterionische Phasen; Beispiele und die sich daraus ergebenden Wechselwirkungen dafür siehe **Tabelle 3**), die Wasser stark auf der Oberfläche der Partikel adsorbieren können, zum Einsatz.

Tabelle 3: Beispiele für polar modifizierte HILIC-Phasen mit ihren Wechselwirkungen (Kromidas, 2016).

Polar modifizierte HILIC-Phasen	Modifikation, funktionelle Gruppen mit Wechselwirkungen
Neutrale Phasen	Amid (Verteilung + Adsorption) Diol (Verteilung + Adsorption) Cross-linked Diol (Verteilung + Adsorption)
Geladene Phasen	Aminopropyl (Verteilung, Anionenaustausch + Adsorption) Silica (Verteilung, Kationenaustausch bei pH > 4/5 + Adsorption)
Zwitterionisch geladene Phasen	Sulfobetain (Verteilung, schwache elektrostatische Wechselwirkungen + Adsorption) Phosphorylcholin (Verteilung, schwache elektrostatische Wechselwirkungen + Adsorption)

Polare Verbindungen werden hauptsächlich auf den HILIC-Phasen zurückgehalten, weil sie sich in der immobilisierten Wasserschicht lösen können. Diese wasserreiche Schicht und die mobile Phase (acetonitrilreich) stellen ein Flüssig-Flüssig-Verteilungssystem dar. Beim Vorhandensein eines bestimmten Wassergehaltes in der mobilen Phase löst sich zunehmend die Wasserschicht auf und die Verteilung findet nur noch zwischen mobiler Phase und der polaren Oberfläche der stationären Phase statt (Alpert, 1990). Dieser Retentionsmechanismus ist auch Grund dafür, dass ein Lösungsmittelaustausch unabdingbar ist und keine größeren Mengen an wässriger Probe direkt injiziert werden können, da der Wassergehalt das Verteilungsgleichgewicht an der wasserreichen Schicht der stationären Phase bereits zu früh beeinflussen und damit auflösen würde. Eine zusätzliche Rolle zu der beschriebenen Verteilung spielen weitere nichtkovalente Wechselwirkungen, wie beispielsweise Wasserstoffbrückenbindungen und elektrostatische Wechselwirkungen, die die Retention der Analyten beeinflussen können (Greco; Letzel, 2013). Einfluss auf die Retention haben nicht nur der Wassergehalt bzw. der Gehalt an organischem Lösungsmittel, sondern auch der Salzgehalt, der pH-Wert der mobilen Phase und die Säulentemperatur. In der Umweltanalytik stark polarer Substanzen kommt das Verfahren der HILIC bereits alternativ zur RPLC zum Einsatz. Anwendungsfelder stellen z. B. die Analytik folgender polarer Verbindungen dar: Pharmazeutika wie Metformin oder Gabapentin, der Süßstoff Acesulfam oder die Industriechemikalie Trifluormethansulfonsäure (Boulard *et al.*, 2018; Buszewski; Noga, 2012; Zahn *et al.*, 2016). Als nachteilig in einer Hochdurchsatzanalytik sind die langen Equilibrierungszeiten von oft mehreren Säulenvolumina anzusehen und die eventuell auftretenden Löslichkeitsprobleme hochpolarer Analyten bei hohem Acetonitrilgehalt (Kromidas, 2016).

Mit der Mixed-Mode-Chromatographie (MMLC) ergibt sich eine weitere Spielart in der HPLC. Wohingegen bei der klassischen stationären Phase in der HPLC vorrangig nur ein Hauptmechanismus zur Retention genutzt wird, vereinen Mixed-Mode-Säulen mehrere Mechanismen in nur einer stationären Phase (Zhang *et al.*, 2016). Typische Kombinationen für Mixed-Mode-Phasen sind RPLC mit Ionenaustauscher- und/oder HILIC-Materialien oder HILIC mit Ionenaustauschermaterialien. Darüber hinaus wird MMLC bereits mit neuartigen Monolith-Materialien auf Silicabasis betrieben. Diese Säulen bündeln etliche mögliche Wechselwirkungen auf nur einer Säule wie den Ionenaustausch, Größenausschluss, hydrophile Interaktionen, π - π -Wechselwirkungen, Dipol-Dipol-Wechselwirkungen, die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen und hydrophobe Wechselwirkungen (Wang *et al.*, 2016). Auch wenn die Verwendung von Mixed-Mode-Säulen in der Wasseranalytik noch keine weite Verbreitung gefunden hat, konnte sie bereits erfolgreich in der PMOC-Analyse von Wasserproben angewandt werden (Montes *et al.*, 2017). Weiterhin wurden Mixed-Mode-Säulen beispielsweise zur Trennung polarer Pilztoxine, freier Aminosäuren und kleiner polarer Peptide in komplexen Lebensmitteln sowie kleiner

arzneimittelrelevanter, polarer Peptide genutzt (Chung *et al.*, 2007; Schlichtherle-Cerny *et al.*, 2003; Strege *et al.*, 2000).

Ein weiteres zu erwähnendes Säulenmaterial für die Flüssigkeitschromatographie polarer Verbindungen sind kohlenstoffbasierte Trennsäulen wie der HypercarbTM. Dabei handelt es sich um porösen Grafit, wobei die kristalline Oberfläche der sphärischen Teilchen keine Mikroporen oder weitere Modifizierungen und Beschichtungen aufweist. Dadurch gelten sie als chemisch- und temperaturstabiler als andere Phasen. Der Retentionsmechanismus lässt sich durch Eluent-Analyt-Interaktionen (dispersive Wechselwirkungen, Dipol-Dipol-Wechselwirkungen, Wasserstoffbrückenbindungen), hydrophobe Eluent-Analyt-Abstoßungen zwischen hydrophilem Eluenten und allen unpolaren Bereichen des Analyten, dispersive Wechselwirkungen zwischen der Grafitoberfläche und dem Analyten (London-Kräfte) sowie ladungsinduzierte Wechselwirkungen von polaren Verbindungen mit der polarisierbaren Oberfläche des Grafits erklären (Hennion *et al.*, 1995; Pereira, 2008; West *et al.*, 2010). Einsatz für die Trennung polarer Verbindungen finden die Grafitsäulen u. a. in der Analytik von Zuckern, Guanidinverbindungen, Nukleosiden/Nukleotiden, Aminosäuren und Peptiden (Hanai, 2003; Pereira, 2008).

2.4.3 Nachweis und Quantifizierung mittels SFC-MS

In den letzten Jahren findet sich auf Konferenzen und in Publikationen im Rahmen etlicher Beiträge vermehrt der Begriff „SFC“, eine konvergente Chromatographiemethode, die die Vorteile von GC und LC vereinen soll (Giddings *et al.*, 1968). Bei der Literaturrecherche nach wissenschaftlichen Arbeiten zur superkritischen Fluidchromatographie seit 1960 lässt sich vor allem ein starker Anstieg an Veröffentlichungen in den letzten 30 Jahren erkennen (siehe **Abbildung 4**). Auch im Zusammenhang mit der Analytik von polaren Verbindungen gilt die SFC als eine relevante Technik, die es hier im Rahmen dieser Arbeit daher genauer zu betrachten gilt.

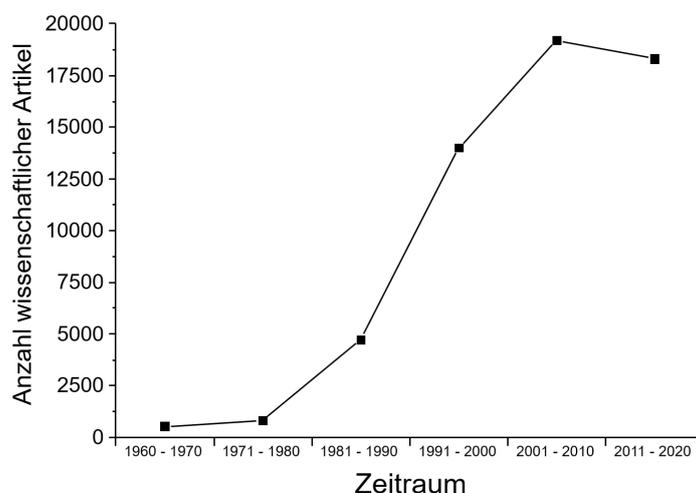


Abbildung 4: Entwicklung der Anzahl an wissenschaftlichen Arbeiten zum Thema "Supercritical Fluid Chromatography" mittels Google Scholar vom 03.11.2020.

2.4.3.1 Geschichte der SFC

Ende der 1950er Jahre ist der Beginn der SFC. Die Gaschromatographie hat sich zu dieser Zeit bereits als ein analytisches Verfahren zur Trennung unpolarer, flüchtiger Substanzen in manchen Laboren durchgesetzt. Allerdings wurde da bereits an die Grenzen der GC gestoßen, z. B. für nicht eluierbare Substanzen oder bei der Trennung von thermolabilen Substanzen, die sich bei GC-gängigen Temperaturen zersetzen. James Lovelock schlug 1958 die Nutzung von Gasen oberhalb des kritischen Punktes als mobile Phase für die Chromatographie vor. 1962 präsentierte Ernst Klesper einen Alternativansatz, thermolabile Metall-Porphyrine über eine gepackte Säule mit einem verdichteten Gas als mobile Phase zu trennen. Er benannte sie als Hochdruck-Gaschromatographie (Giddings *et al.*, 1968; Gouw; Jentoft, 1972). Allerdings ist dies nicht völlig korrekt, da als mobile Phase ein Lösungsmittel und kein Trägergas diente. Zudem war sie nicht, wie in der GC erforderlich, inert. In der folgenden Zeit setzten Sie und Rijnders erstmals auf Kohlenstoffdioxid und führten den heutigen, gängigen Begriff der superkritischen Fluidchromatographie ein (Sie; Rijnders, 1967). Damit entstand die Annahme, dass das Fluid generell superkritisch sein muss. Später zeigte sich, dass dies nicht immer der Fall ist. Weitere Annahmen waren, dass komprimiertes CO₂ ähnlich polar sei wie Isopropanol und SFC-Trennungen nur wenig effizient seien (< 20.000 theoretische Böden). Dadurch hatte die SFC lange das Image, eine Technologie zu sein, die nichts leisten kann. Mit Beginn der 1980er Jahre wurde versucht, die Kapillar-SFC für die Trennung polarer Verbindungen zu etablieren. Die Elution der Substanzen wurde nun nicht allein nur über einen Druckgradienten gefahren, sondern der mobilen Phase wurden organische Lösungsmittel zugesetzt, sogenannte Modifier (Taylor, 2009). Aber auch das reichte nicht, um sich als analytische Technik durchzusetzen. Die Robustheit und Reproduzierbarkeit mit den damalig verfügbaren SFC-Geräten waren nicht markttauglich, denn zu dieser Zeit setzte sich bereits

die LC durch. Bald wurde aber ein Vorteil der SFC gegenüber der LC erkannt – die schnelle und lösungsmittelsparende Trennung chiraler Moleküle, vor allem im präparativen Maßstab. Mit der Verfügbarkeit robuster SFC-Geräte, die reproduzierbare Ergebnisse liefern, rückte die SFC aus ihrem Nischendasein vor etwa 10 Jahren in den ernstgenommenen Fokus der analytisch interessierten Szene (Bieber; Letzel, 2015; Giddings *et al.*, 1968; Gouw; Jentoft, 1972; Saito, 2013; Sie; Rijnders, 1967; Taylor, 2009).

2.4.3.2 Funktionsweise und Aufbau der SFC

Als superkritisch wird der thermodynamische Zustand eines Fluides definiert, wenn es sich oberhalb des kritischen Punktes befindet. Wenn der kritische Druck und die kritische Temperatur überschritten werden, stellt sich der superkritische Zustand ein. Dabei besitzt das Fluid eine hohe, flüssigkeitsähnliche Dichte bei zugleich geringer Viskosität und dem Diffusionsvermögen ähnlich eines Gases. Wird der Druck verringert, wird das Fluid gasförmig. Bei Verringerung der Temperatur wird eine Verflüssigung des Fluids erzielt. Die Lage des kritischen Punktes ist fluidabhängig und sollte bei der Fluidwahl für die SFC mit den im Labor gegebenen Mitteln erreichbar sein. CO₂ zeigt sich mit $T_{\text{krit}} = 31 \text{ °C}$ und $p_{\text{krit}} = 73,8 \text{ bar}$ als besonders geeignet. Im Phasendiagramm (p - T -Diagramm) kann der thermodynamische Zustand eines Fluids als Funktion von Druck und Temperatur dargestellt werden (siehe **Abbildung 5**).

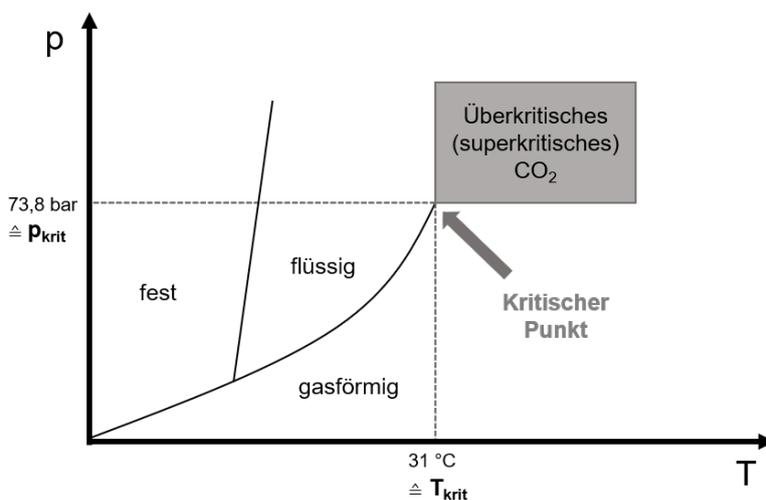


Abbildung 5: p - T -Diagramm von CO₂.

Oberhalb dieser kritischen Werte befindet sich CO₂ im überkritischen Zustand mit besonderen physikalischen Eigenschaften: Es weist eine niedrige Viskosität auf, was hohe Flussraten bei geringem Druckabfall ermöglicht. Die Lösemittelkraft ist hoch, was die Analyten gut löslich werden lässt. Die Polarität ist niedrig, wodurch ein Normalphasen-Charakter zu beobachten ist. Der Diffusionskoeffizient ist hoch, was zu einem schnellen Massentransfer und einer zügigen Equilibrierung führt.

Die herkömmliche SFC ist in der Normalphasen-Chromatographie beheimatet. Aber auch RP-Trennungen sind mit der SFC möglich. Durch die vielen möglichen Trennsäulen und auch Zumischungen von Modifiern und Additiven zur mobilen Phase, wie Säuren, Basen, Puffern, flüchtigen Salzen oder Wasser lassen sich Polarität und Elutionskraft stark regulieren. Daher stellt sich zurecht die Frage, ob SFC wirklich unter überkritischen Bedingungen stattfindet und sie diesen Namen wert ist zu tragen. Durch die Zumischung von Cosolventien zur mobilen Phase verschieben sich Druck und Temperatur des kritischen Punktes, sodass häufig keine überkritische Flüssigkeit mehr vorliegt, was das Prinzip aber dennoch funktionieren lässt.

Der apparative Aufbau einer SFC ähnelt zunächst dem einer LC. Pumpe, Probengeber (Autosampler), Säulenofen mit Trennsäule und Detektor finden auch in der SFC Anwendung (siehe **Abbildung 6** und **Abbildung 7**). Es wird eine binäre Pumpe zur Förderung von (verflüssigtem) CO₂ und einem Cosolvent benötigt. Über den Autosampler wird die Probe in das System injiziert und mit der mobilen Phase auf die Trennsäule, die sich im Säulenofen zum Einstellen einer definierten Temperatur befindet, gebracht. Die anschließende Detektion kann z. B. über UV-VIS-Spektroskopie, Lichtstreuung (ELSD), Flammenionisation (FID), geladene Aerosole (CAD) oder Massenspektrometrie (MS) erfolgen. Darüber hinaus werden in einer SFC noch ein Verdichter und ein Rückdruckregler benötigt. Der Verdichter komprimiert das sehr reine CO₂ und verflüssigt es somit, um es zu einem pumpfähigen Fluid zu machen, welches die binäre Pumpe fördern kann. Der Rückdruckregulator ist am Ende der Anlage verbaut und hält einen definierten Druck aufrecht, um den thermodynamischen Zustand der mobilen Phase entlang der Säule gleich zu halten (Waters Corporation, 2014).

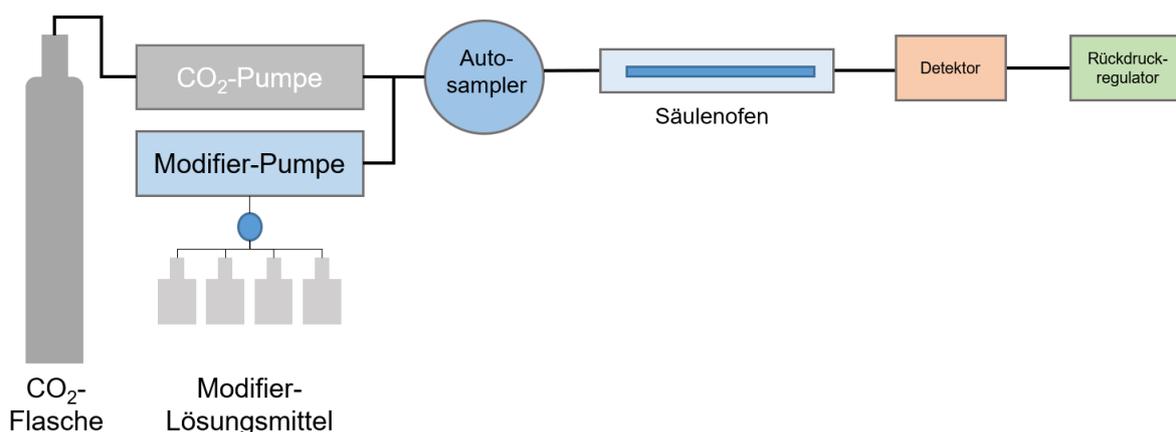


Abbildung 6: Schematischer Aufbau eines SFC-Systems.

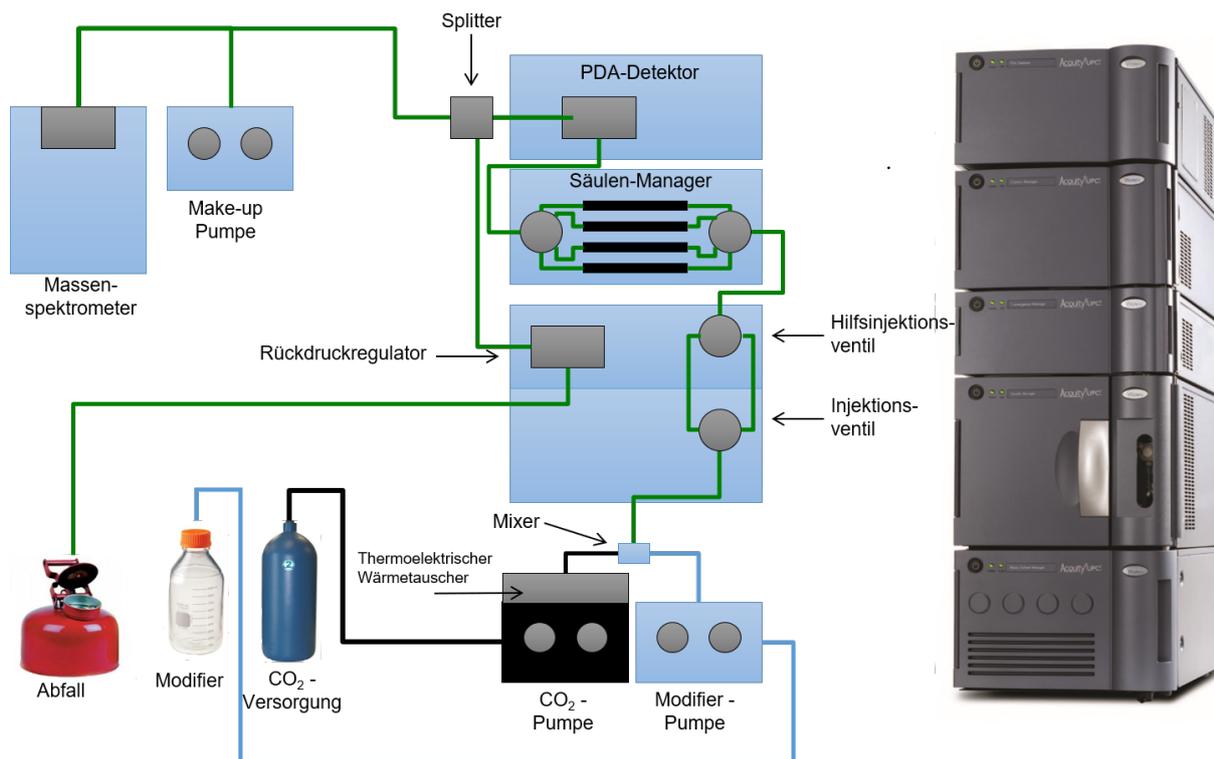


Abbildung 7: Waters UPC²-System mit massenspektrometrischer Detektion nach Carsten Wess, wie es in der vorliegenden Arbeit genutzt wurde (Waters Corporation, 2014).

2.4.3.3 SFC gekoppelt mit Massenspektrometrie und ihre Herausforderungen

Im Rahmen der Methodenentwicklung während des analytischen Prozesses ist die Wahl des richtigen Detektors hinsichtlich Selektivität, Spezifität und Empfindlichkeit ein sehr entscheidender Punkt. Mögliche koppelbare Detektoren der SFC wurden bereits unter 2.4.3.2 benannt. Die Nutzung massenspektrometrischer Detektionsmethoden hat, wie schon seit den 1980er und frühen 1990er Jahren in der LC, routinemäßigen Einzug gefunden. Auch in der SFC-Analytik setzt sich die nahezu universelle Massenspektrometrie als Detektionsmethode aufgrund ihrer hohen Selektivität, Spezifität und Empfindlichkeit immer mehr durch. Die gute kommerzielle Verfügbarkeit solcher optimierter SFC-MS-Lösungen ist ein Grund dafür. Die Kopplung von SFC mit MS stellte im Vergleich zur Kopplung von MS mit LC oder GC einige besondere Herausforderungen dar, die spezielle Lösungen erfordern.

Im Gegensatz zur LC erfordert die Kopplung der SFC an ein MS die Verwendung eines separaten Interfaces, um effizient mit der Dekompression von überkritischem CO₂ umzugehen. Denn überkritische Fluide besitzen eine viel höhere Kompressibilität als Flüssigkeiten. Diese gilt es zu kontrollieren, insbesondere dann, wenn das Fluid nicht mehr unter einem definierten Rückdruck steht. Denn wenn der Druck fällt, können die Analyten ausfallen, bevor sie überhaupt in das MS gelangen. Neben der Kontrolle des Rückdruckes sollte das Interface auch die Ionenausbeute bei der Elektrospray-Ionisation (ESI) verbessern,

vor allem dann, wenn sich die mobile Phase aus einem hohen Teil an CO₂ zusammensetzt. Mögliche Interfaces von der SFC zum MS sind in **Abbildung 8** dargestellt.

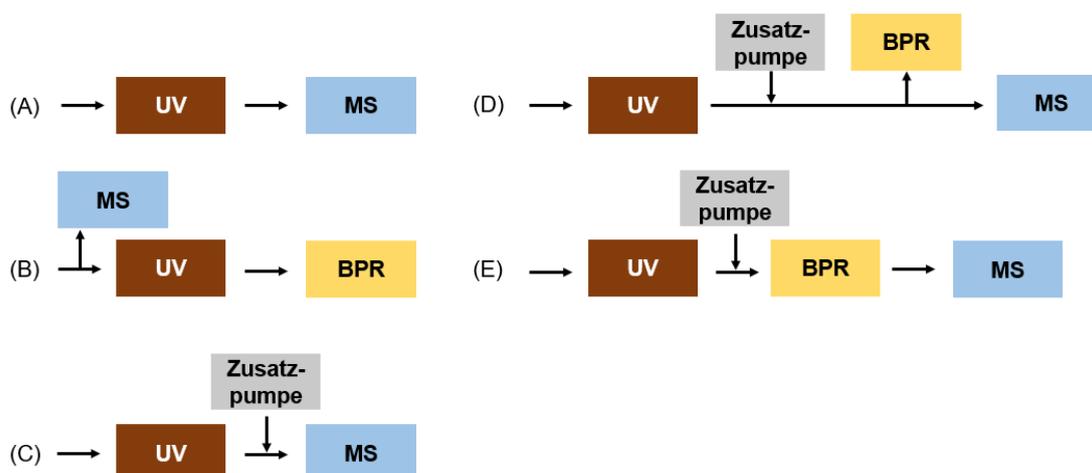


Abbildung 8: SFC-MS Interfaces, modifiziert nach Losacco *et al.*, 2019.

(A) Direkte Kopplung SFC an MS, (B) Nachgeschalteter UV-Detektor und Rückdruckregulator (BPR) ohne Zusatzpumpe, (C) Regulierende Zusatzpumpe zur Förderung eines Make-Up-Flusses vor MS, (D) Rückdruckregulator und Zusatzpumpe zur Förderung eines Make-Up-Flusses mit Splitter vor MS, (E) Rückdruckregulator und Zusatzpumpe zur Förderung eines Make-Up-Flusses ohne Splitter vor MS.

Die häufigsten genutzten Möglichkeiten zur Kopplung der SFC mit einem MS sind die in **Abbildung 8** dargestellten Varianten D und E. Das Interface „(D)“, wie es auch in der vorliegenden Arbeit verwendet wurde, ermöglicht mit Hilfe einer zusätzlichen Pumpe einen Make-Up-Fluss und durch einen Rückdruckregulator (BPR) wird ein aktiver Gegendruck (typischerweise > 100 bar) erzeugt. Ein T-Stück leitet einen begrenzten Teil des Flusses in die Ionisationsquelle des MS, während der restliche Fluss in den Abfall gelangt. Durch die Zusatzpumpe ist es möglich, ein weiteres Lösungsmittel einzubringen, welches die Ionisation in der Quelle verbessert und somit die Empfindlichkeit erhöht. Die zweite verbreitete Schnittstelle „(E)“ umfasst einen Rückdruckregulator und eine zusätzliche Make-Up-Fluss-Pumpe ohne einen verbauten Splitter. Hierbei wird der Volumenstrom nicht aufgeteilt, bevor er in die Quelle des MS gelangt. Dieses Interface ist besonders für die APCI-MS geeignet, da sie die gesamte Probe ins MS liefert. Werden die speziellen Anforderungen an das Interface vernachlässigt, kann es zu schwerwiegenden Problemen kommen, wie einem Temperaturabfall nach dem Rückdruckregulator mit verbundener Ausfällung des Analyten, Löslichkeitsproblemen der Analyten durch falsche Wahl des Make-Up-Lösungsmittels oder aber einer möglichen Peakverbreiterung durch Dekompression des CO₂. Eine anschließende Phasentrennung von flüssigem, organischem Modifier und gasförmigem CO₂ durch unkontrollierte Druck- und Temperaturveränderungen sollte ebenfalls vermieden werden (Guillarme *et al.*, 2018). Die Geometrie (Länge, Innendurchmesser) der zur ESI führenden Kapillare spielt eine bedeutende Rolle, um eine konstante Dichte der mobilen Phase durch Vermeidung eines Druckabfalls zu erhalten (Tarafer, 2018). Durch den eingesetzten Make-

Up-Fluss wird über eine Pumpe eine kontinuierliche Zugabe von z. B. Methanol, Methanol + Puffer oder Methanol + einer kleinen Menge Wasser gefördert, die der Problematik des Ausfallens entgegenwirkt. Die Verwendung des methanolreichen Make-Up-Flusses minimiert eine Ausfällung polarer Analyten, ohne die Leistung von SFC und MS stark zu beeinträchtigen. Darüber hinaus kann es je nach Zusammensetzung zu einer verbesserten Ionisierbarkeit führen. Der zu erwartende Effekt einer zu starken Verdünnung und damit verbundenen negativen Beeinflussung der MS-Empfindlichkeit, vor allem bei Verwendung konzentrationsabhängiger Ionisierungsquellen wie der ESI, bleibt bei Verwendung eines Rückdruckregulators in angemessenem Rahmen (Akbal; Hopfgartner, 2017).

Ähnlich wie bei der LC-MS stellen für die SFC-MS die am häufigsten verwendeten Ionisationsmethoden die chemische Ionisation bei Atmosphärendruck (APCI) und die Elektrospray-Ionisation (ESI), wie sie auch in der vorliegenden Arbeit genutzt wurde, dar (Sjöberg; Markides, 1997). Wie bereits erwähnt, wird in der SFC der Systemdruck über den Rückdruckregler aufrechterhalten. Die Zerstäubung und Verdampfung während der APCI und ESI finden bei nahezu atmosphärischem Druck statt. Nachdem der Druck der SFC also abfällt, kommt es durch die CO₂-Dekompression zur Aerosolbildung, was die Vernebelung des Analyten unterstützt (Chen, 2009). Die CO₂-Dekompression ist ein stark endothermer Prozess, sodass es eine höhere Zerstäuber- und Quelltemperatur benötigt als bei der LC-Kopplung. Die APCI ist für niedrige bis mittelpolare Verbindungen geeignet. Bei der APCI werden die Analytionen durch eine chemische Ion-Molekül-Reaktion bei atmosphärischem Druck erzeugt. Es wird dasselbe Interface wie bei der ESI verwendet, weswegen ESI-Quellen problemlos auf APCI-Betrieb umgestellt werden können. Im Gegensatz zur ESI wird für die APCI ein höherer Probenfluss benötigt (0,2 bis 2 mL min⁻¹); (Gross; Beifuss, 2013). Die SFC-APCI-MS wurde erfolgreich in der Analytik von PAKs mit 100 % CO₂ als mobile Phase (Anacleto *et al.*, 1991), in der Steroid-Analytik (Sjöberg, 1999), Atropin-Analytik (Dost; Davidson, 2003) und auch im Pharmaka-Screening (Ventura *et al.*, 1999) eingesetzt. Ventura *et al.* zeigten in ihrer Arbeit, dass in der Hochdurchsatzanalyse von etlichen 100en Proben innerhalb 24 h die SFC-MS effizienter arbeitete als die LC-MS. Die Elektrospray-Ionisation ist die wohl bekannteste und am weitesten verbreitete Methode aus der Gruppe der Atmosphärendruck-Ionisationsmethoden. In der Regel stellt sie die erste Wahl in der LC dar, wenn es sich um ionische Analyten handelt (Thurman *et al.*, 2001). Als ein weiches Ionisationsverfahren besitzt sie die Fähigkeit, das Molekül-Ion bzw. Quasimolekül-Ion ([M+H]⁺, [M-H]⁻ und Addukte des Moleküls mit NH₄⁺, Na⁺, K⁺, HCO₂⁻, CH₃CO₂⁻) im positiven wie auch im negativen Ionisationsmodus intakt zu lassen. Die Methode eignet sich für große, nichtflüchtige, leicht ladungsannehmende Moleküle sowie für kleine polare Moleküle, ionische Metallkomplexe und auch für lösliche anorganische Analyten (Gross; Beifuss, 2013). Bereits Mitte der 1990er Jahre nutzten Sadoun *et al.* die ESI in Kombination mit der SFC zur Pyridin-Analytik im unteren pg-Bereich (Sadoun *et al.*, 1993). Bei der Hochdurchsatzanalytik komplexer chiraler Pharmaka-

Gemische konnte ebenfalls die Stärke der SFC-ESI-MS aufgezeigt werden (Garzotti; Hamdan, 2002).

Bei der an die möglichst reproduzierbare und matrixunabhängige Ionisation anschließenden Massenaufftrennung werden die erzeugten Analytionen nach ihrem Masse-zu-Ladungs-Verhältnis (m/z) getrennt. Ein Single-Quadrupol-Massenspektrometer stellt dabei sicher den häufigsten, preisgünstigsten und am einfachsten zu verwendenden Massenanalysator dar. Es gibt aber hinsichtlich der Art des eingesetzten MS bei der Kopplung an die SFC keine Einschränkungen. Je nach analytischer Fragestellung kann der Analysator gewählt werden. Durch ihren grundlegend unterschiedlichen Aufbau unterscheiden sie sich in ihren Eigenschaften, wie beispielsweise der Nachweisstärke und der Massenauflösung (R). Für die quantitative Analytik spielen die Empfindlichkeit und Wiederholpräzision eine entscheidende Rolle. Daher werden hier meist Triple-Quadrupol-Massenspektrometer (QqQ-MS) genutzt. Gilt es qualitative Fragestellungen zu bearbeiten, geht es um die Identifizierung und Strukturaufklärung von Verbindungen, so sind die Massengenauigkeit und -auflösung das Entscheidungskriterium. Schon Ende der 1990er Jahre wurde die SFC erfolgreich an eine Ionenfalle sowie an ein QqQ-MS zur Analyse eines Testgemisches, u. a. bestehend aus Isothiocyanat, Diphenylamin und Nitrobenzol, gekoppelt (Morgan *et al.*, 1998). Auch die Kopplung der SFC mit einem weiteren Hybrid-Massenspektrometer, wie dem hochauflösenden QTOF ($R \sim 10.000 - 40.000$), kann zur schnellen und eindeutigen Peakidentifizierung genutzt werden (Garzotti *et al.*, 2001; Garzotti; Hamdan, 2002). Hierbei handelt es sich um die Kombination eines Quadrupol-Massenanalysators mit einem Flugzeitmassenspektrometer, besonders geeignet für die Erzeugung von Fragmentspektren zur erleichterten Identifizierung von Verbindungen. Die Isolation erfolgt dabei im Quadrupol, die Fragmentierung in der zwischengeschalteten Kollisionszelle und die eigentliche Massenspektrometrie im TOF-Analysator. In der vorliegenden Arbeit wurde in Kombination mit der SFC ein Flugzeitmassenspektrometer (TOF) verwendet. Der grundlegende Aufbau des genutzten Massenspektrometers besteht aus einer Ionenquelle, einer Stepwave[®]-Ionenführung, einem Quadrupol zur Massenisolierung, der Triwave[®]-Zelle, wenn Ionenmobilität gewünscht wird, und einem Flugzeitmassenspektrometer. **Abbildung 9** gibt einen schematischen Überblick über dessen Aufbau. Der eingetragene Pfeil kennzeichnet den Verlauf der Ionen.

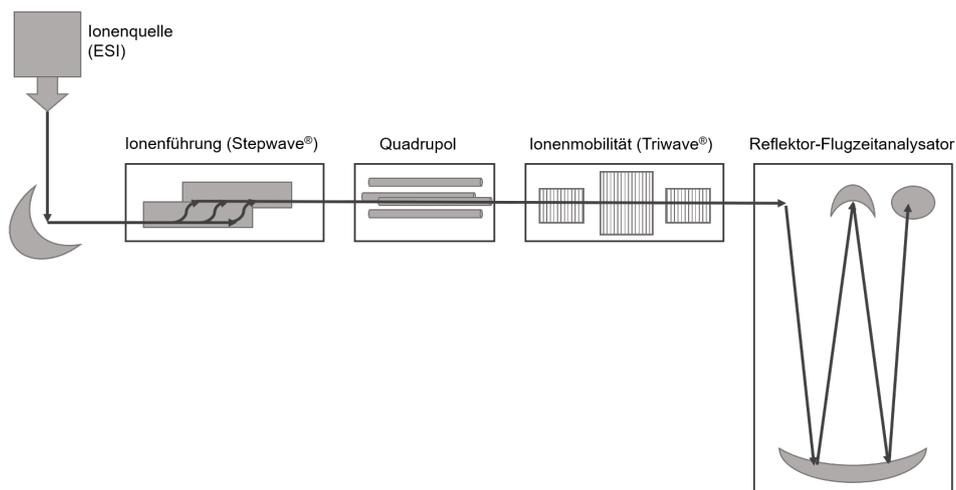


Abbildung 9: Schematische Darstellung des genutzten Synapt G2S Massenspektrometers mit seinen wichtigsten Komponenten.

Eine bekannte Problematik in der quantitativen Spurenanalytik mittels Massenspektrometrie sind Matrixeffekte. Diese führen durch Unterdrückungs- (Suppression) und Verstärkungseffekte (Enhancement) bei der Ionisation zur Veränderung der eigentlichen Signalintensität und somit zu Unter- (bei Suppressions-Effekten) bzw. Überbefunden (bei Enhancement-Effekten). Als ein Grund dafür wird die Konkurrenz der Analytionen mit Matrixmolekülen beim Ionisationsprozess gesehen. Bei der Ladungsübertragung sowie auch beim Übergang in die Gasphase kommt es zu Konkurrenzsituationen zwischen Analyten und der Matrix. Matrixeffekte sind somit auch von der Ionisationsmethode abhängig (Dams *et al.*, 2003). Durch Abtrennung der Matrix (siehe auch Kapitel 2.4.1) können konkurrierende Prozesse verringert werden (Chambers *et al.*, 2007). Bei entsprechend hoher Sensitivität der Detektionsmethode für einen Analyten kann bereits eine einfache Probenverdünnung zum Erfolg führen (Deventer *et al.*, 2014). Dies ist allerdings in der Spuren- und Rückstandsanalytik seltener möglich. Um Matrixeffekte herauszurechnen, können interne Standards genutzt werden. Deren Konzentration ist bekannt, sie besitzen am besten ähnliche oder dieselben physikalisch-chemischen Eigenschaften wie der Analyt und erfahren somit denselben Effekt, sodass im Anschluss die Peakfläche des Analyten um den Matrixeffekt korrigiert werden kann. Idealerweise werden bei entsprechender Verfügbarkeit isotope markierte Standards verwendet, die zusätzlich den Verlust bei der Probenvorbereitung berücksichtigen, sofern sie zuvor in die Probe dotiert werden (Benijts *et al.*, 2004). Weitere Möglichkeiten sind die externe Kalibrierung in der Matrix (*matrix-matched calibration*) oder die Quantifizierung mittels Standardadditionsverfahren, wobei die Probe einmal undotiert und anschließend unter Dotierung des Analyten in verschiedenen Konzentrationen untersucht wird. Das Standardadditionsverfahren führt jedoch zu einer erheblichen Steigerung der Probenzahl. Eine weitere Möglichkeit, um Matrixeffekte zu kompensieren, ist die Echo-Peak-Technik. Dabei wird ein Gemisch an Standards der Analyten kurz nach der Probe injiziert, wodurch das Standardsignal mit einer kleinen Verzögerung durch das MS erfasst wird. Somit kann das

Signal des Standards als ein interner Standard verwendet werden, um die Unterschiede der Empfindlichkeit, hervorgerufen durch Matrixeffekte, auszugleichen (Alder *et al.*, 2004).

All die vorgestellten Methoden können zwar die Empfindlichkeitsverluste durch Matrixeffekte korrigieren, nicht aber den Verlust der Empfindlichkeit verhindern. Der wohl beste Weg wäre demnach eine gute Probenvorbereitung, die in der Lage ist, die störenden Matrixbestandteile zu entfernen. In der *PMOC*-Analytik ist aber gerade das ein Problem, da die Analyten ähnliche physikochemische Eigenschaften aufweisen können, wie sie auch störende Matrixbestandteile besitzen können.

Ob die Matrix unter Kopplung der MS an die SFC bei der Analytquantifizierung nun einen anderen Einfluss hat und es zu einem anderen Verhalten der Analyten führt, wurde bereits in einigen Arbeiten zum Thema gemacht. Chen *et al.* zeigten in ihrer Arbeit, dass kaum ein Unterschied in den Matrixeffekten bei ihren Nachsäuleninfusionsversuchen im Vergleich zur LC-MS/MS zu beobachten war. Sie untersuchten eine Mischung der Enantiomeren Propranolol und Pindolol (beides β -Blocker) in einer phospholipidhaltigen Matrix mit Lecithin und Lysolecithin (Chen *et al.*, 2006). Andere Arbeiten, wie beispielsweise von Svan *et al.*, verglichen die Matrixeffekte einer Reihe Pharmaka in einer Vielzahl verschiedener Matrices, u. a. auch Abwasserzufluss und -abfluss, gemessen über SFC-HRMS und RPLC-HRMS. Beide Methoden waren von Matrixeffekten betroffen. Bei der RPLC-HRMS wurden überwiegend Signalverstärkungen beobachtet, wohingegen bei der SFC-HRMS Signalunterdrückungen überwogen haben (Svan *et al.*, 2018). Eine weitere Studie verglich die Matrixeffekte zwischen SFC-MS/MS und RPLC-MS/MS von Dopingwirkstoffen und Pharmaka im Urin. Im Allgemeinen wurde dabei beobachtet, dass die SFC zu geringeren Matrixeffekten führte als die RPLC, insbesondere dann, wenn die Probe einfach nur verdünnt injiziert wurde (Desfontaine *et al.*, 2018). Es lässt sich sagen, dass in der SFC-MS andere Matrixeffekte zu beobachten sind als in der LC-MS, wobei die Signalunterdrückung die vorherrschende Form zu sein scheint. Eine Untersuchung der Matrixeffekte für das jeweilige analytische Problem ist somit auch in der SFC-MS unabdingbar (Losacco *et al.*, 2019).

Eine weitere Herausforderung besteht in der Sicherstellung, dass ein detektiertes Signal auch wirklich korrekt zum vermuteten Zielanalyten zugeordnet wird – einen falsch-positiven Befund gilt es unbedingt zu vermeiden. Da es sich bei der Analytik von Umweltproben z. T. um sehr komplexe, mitunter matrixreiche Proben handelt, sollte darauf geachtet werden, dass die verwendete Methode eine ausreichende Selektivität gewährleistet und entsprechend Identifikationskriterien festgelegt werden. Insbesondere bei der Verwendung von einfachen Massenspektrometern mit geringer Auflösung, wie z. B. einem Single-Quadrupol, kann bei sehr ähnlichen Retentionszeiten nicht sichergestellt werden, dass das detektierte Ion tatsächlich dem Molekül- bzw. Fragmentation der Verbindung entspricht, welches nachgewiesen werden wollte. Der Einsatz eines hochauflösenden QTOF-MS-Gerätes kann in solchen Fällen nützlich sein. Um falsch-positive Befunde zu vermeiden, ist es ratsam, Kriterien festzulegen,

die eingehalten werden müssen, um einen Befund wirklich als positiv bewerten zu können. Diese können das Übereinstimmen der Retentionszeit vom Analyt in der Probe mit einer Standardverbindung sein und einer streng festgelegten, möglichst geringen Abweichung dieser (z. B. < 1 %). Außerdem kann das Vorhandensein von beispielsweise zwei Fragmentationen neben dem Molekülion mit einem entsprechenden Intensitätsverhältnis zueinander gefordert werden (Rodriguez; Orescan, 1998). Beim Verwenden von Triple-Quadrupol-Geräten kann im *Multiple Reaction Monitoring*-Modus (MRM) im Rahmen der Befundabsicherung festgelegt werden, dass je Analyt mindestens zwei Ionenübergänge zusätzlich zum Vorläuferion vorhanden sein müssen, bevor ein Ergebnis als positiv gedeutet werden darf.

2.4.3.4 Stationäre und mobile Phasen in der SFC

In der Regel ist in der SFC CO₂ der primäre Eluent. CO₂ lässt sich unter geringem Aufwand in den überkritischen Zustand versetzen. Alternativ werden auch Lachgas (Oxidationsmittel), Ammoniak (stark korrosiv), Schwefeldioxid oder überkritisches Wasser (extreme Bedingungen am kritischen Punkt) verwendet. Vorteilhaft zeigt sich CO₂, da es gut verfügbar und preiswert ist, einen moderat zu erreichenden kritischen Punkt besitzt, recht sicher (nicht brennbar und nicht toxisch) und mischbar mit vielen polaren Cosolventien ist. Die Polarität von CO₂ ist vergleichbar mit der von n-Hexan, es ist somit recht unpolare. Um nun die Polarität regulieren und so die Elutionskraft und Selektivität beeinflussen zu können, werden Cosolventien eingesetzt. Beispielhaft seien Alkohole (Methanol, Ethanol, Isopropanol), Acetonitril, THF, Dichlormethan und Methylenchlorid genannt. Das unpolare CO₂ ist gut mit den polaren Lösungsmitteln mischbar. Um deren Eigenschaften anzupassen und die Peakschärfe zu optimieren, können darüber hinaus sogenannte Additive beigemischt werden, wie beispielsweise Säuren (Ameisensäure, Trifluoressigsäure, Essigsäure), Basen (Ammoniak, Diethylamin) oder Ammoniumsalze. Ein kleiner Anteil an Wasser kann ebenfalls hinzugegeben werden, um eine Solvatisierung hervorzurufen, die der SFC-Trennung einen Umkehrphasencharakter geben kann. Somit ergeben sich im Rahmen der Methodenentwicklung eine Vielzahl von Kombinationsmöglichkeiten. Zu beachten ist, dass sich bei Verwendung von Cosolventien und Additiven sowohl der kritische Punkt als auch die kritische Temperatur der mobilen Phase verändert (Waters Corporation, 2014).

Wie eingangs erwähnt, ist die SFC vergleichbar mit der Normalphasen-Chromatographie. Daher sind vom Grunde her die stationären Phasen geeignet, die auch bei der NP genutzt werden, wie eine Silicapartikel-Säule mit Silanoloberflächen. Bei weiteren typischen Phasen der SFC sind die Silanole beispielsweise durch Diol-, Cyano- und Aminogruppen modifiziert. Für basische Analyten gelten Pyridin-, 2-Picolylamin-, Diethylamin-, 2- und 4-Ethylpyridin-Phasen als besonders geeignet. Aber auch Phenyl-, Bi-Phenyl-, Hexyl-Phenyl- und Pentafluor-Phenyl-Phasen gelten als brauchbar. Für kleine, polare Analyten werden Polymerphasen empfohlen, wie PLRP-S oder Nucleogel. Ebenfalls können Phasen, die aus der RP oder HILIC

bekannt sind, in der SFC Verwendung finden. Chirale Trennungen können mit bewährten Polysaccharid-Phasen durchgeführt werden (Galea *et al.*, 2015; Lesellier, 2009). **Tabelle 4** zeigt verschiedene stationäre Phasen, wie sie für die SFC als konvergente Chromatographie eingesetzt werden, und ihre Limitierung für NP oder RP im Vergleich zur SFC. Die SFC erlaubt die Verwendung all dieser verschiedenen Säulen und ist somit variabler in ihrer Selektivität.

Tabelle 4: Möglichkeiten stationärer Phasen für RP, NP und SFC (Waters Corporation, 2014).

Stationäre Phase	Bereich der Chromatographie
Silica / BEH	NP / SFC
2-Ethylpyridin	NP / SFC
Aminopropyl	NP / SFC
Diol	NP / SFC
Amid	NP / SFC
Pentafluorphenyl	RP / SFC
Phenyl	RP / SFC
C ₁₈ < C ₈	RP / SFC

In der LC lässt sich das Retentionsverhalten bei Verwendung der jeweiligen stationären und mobilen Phase auf Basis der Polarität eines Analyten vorhersagen. Solch eine Vorhersage ist in der SFC seltener möglich (Noll-Borchers; Hölscher, 2015). Die Retentionsmechanismen der SFC sind noch nicht vollständig verstanden. Das Wissen der Trennmechanismen aus der RP oder NP reicht für die SFC nicht aus. Ein Grund liegt auch in der Kompressibilität der mobilen Phase, die es so in der LC nicht gibt. Durch Veränderung von Druck und Temperatur lässt sich die Dichte des Fluides ändern (Lesellier; West, 2015). Die Zugabe von Cosolventien und Additiven oder eine Flussratenänderung wirken sich stark auf die Trennung aus (Lesellier, 2009). Lesellier und West haben ein Klassifizierungsschema auf Basis der linearen Solvatations-Energie-Beziehungen entwickelt, das bei der Entwicklung neuer SFC-Methoden zum Einsatz kommen kann. Um einen möglichst breiten Selektivitätsbereich abzudecken, empfiehlt es sich hierbei, ca. fünf stationäre Phasen zu testen, die im Spider-Diagramm möglichst weit voneinander entfernt liegen (siehe **Abbildung 10**). Die Phase mit der besten Trennung wird im Anschluss für die weitere Optimierung genutzt. Sollte dies nicht zum Erfolg führen, kann auf eine nahe gelegene Phase im Spider-Diagramm zurückgegriffen werden (Lesellier; West, 2015).

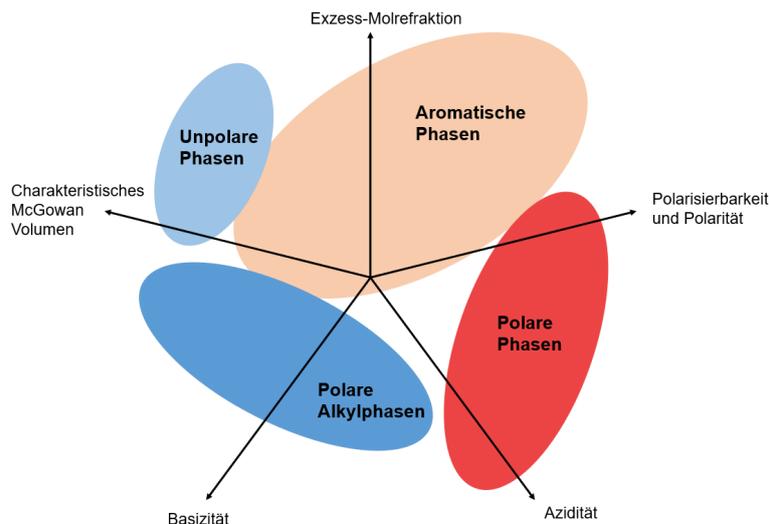


Abbildung 10: Klassifizierungsschema stationärer Phasen in der SFC in Form eines Spider-Diagramms, nach Lesellier und West, 2015.

2.4.3.5 Anwendungsgebiete und Vorteile der SFC

Die nachfolgend genannten Anwendungsgebiete der SFC werden zunächst in die zwei Chiralitätsfelder der Stereochemie eingeteilt – in die chirale und die achirale Trennung – und darüber hinaus auch nach dem Umfang der getrennten bzw. aufgereinigten Menge einer Substanz – dem analytischen oder präparativen Maßstab. Die präparative Trennung findet derzeit vor allem in der Pharmaindustrie für die Aufreinigung pharmazeutisch aktiver Substanzen statt. Folgende **Tabelle 5** soll einen Überblick über die verschiedenen Anwendungsfelder der SFC geben. In **Tabelle 5** wurde die chirale Trennung, die sich mittels SFC bereits in den 1980er Jahren etabliert hat, als ein separater Bereich aufgeführt. Die weiteren, in dieser Tabelle aufgeführten, Anwendungsbereiche beziehen sich auf die achirale SFC.

Tabelle 5: Anwendungsbeispiele der SFC.

Anwendungsbereich der SFC	Anwendungsbeispiele
Chirale Trennungen	<ul style="list-style-type: none"> • Arzneimittelentwicklung und -produktion zur Isolierung von Enantiomeren aus Racematen (Desfontaine <i>et al.</i>, 2015) • Trennung von (R)- und (S)-Clenbuterol (Fountain, K.J.; Wess, C., 2012) • Trennung verschiedener β-Blocker (Phinney <i>et al.</i>, 1998; Svan <i>et al.</i>, 2015) • Trennung von Ibuprofen-Enantiomeren (Johannsen, 2001) • Trennung von Naproxen-Enantiomeren (Yang <i>et al.</i>, 2005) • Enantiomerenanalytik von Fenbuconazol als Pflanzenschutzmittel in Obst und Gemüse (Tao <i>et al.</i>, 2018) • Bestimmung der Enantiomerenreinheit von Provitamin B5 in Kosmetika (Khater; West, 2015)

	<ul style="list-style-type: none"> • Einsatz in der Forensik (Plotka <i>et al.</i>, 2014)
Pharmaka	<ul style="list-style-type: none"> • Trennung von Benzodiazepinen und deren Metabolite und trizyklischen Antidepressiva (Berger, 1995) • Trennung von Opioiden und Barbituraten (Berger, 1995; Smith; Sanagi, 1989) • Trennung von Antidepressiva wie Amitriptylin, Desipramin, Imipramin, ... (Lemasson <i>et al.</i>, 2016) • Quantitativer Nachweis mehrerer Veterinär-Pharmaka wie Levamisol, Lincomycin, Chloramphenicol, ... (Perkins <i>et al.</i>, 1991)
Forensik und Dopinganalytik	<ul style="list-style-type: none"> • Polare Dopingsubstanzen im Urin (Parr <i>et al.</i>, 2016) • Cannabinoide in Cannabisprodukten (Wang <i>et al.</i>, 2017) • Forensische Analytik von z. B. Meldonium (Xhaferaj <i>et al.</i>, 2020)
Petrochemie	<ul style="list-style-type: none"> • Gehaltsbestimmung aromatischer Verbindungen in Dieselmotoren (Berger, 1995) • Nachweis von Verunreinigungen in Biodieselprodukten (Ashraf-Khorassani; Combs, 2017)
Lebensmittel	<ul style="list-style-type: none"> • Trennung von Fettsäuren, Triacylglyceriden, Phospholipiden und Carotinoiden (Bernal <i>et al.</i>, 2013) • Lipidanalyse in Sojabohnen (Lee <i>et al.</i>, 2012) • Trennung eines Gemisches aus Koffein, Fruktose, Glukose, Saccharose und Neohesperidin-Dihydrochalcon (Bernal <i>et al.</i>, 2013) • Kohlenhydratanalytik (Lafosse <i>et al.</i>, 1996)
Naturprodukte	<ul style="list-style-type: none"> • Isolierung von Tocopherol aus Palmöl, Antioxidantien aus Rosmarin, Spirostanol-Saponinen aus Bockshornklee im präparativen Maßstab (Hartmann; Ganzera, 2015) • Nachweis von Vitamin A und K, Coenzym A, Vitamin E (Choo <i>et al.</i>, 2005; Hartmann; Ganzera, 2015)
Life Sciences	<ul style="list-style-type: none"> • Peptidanalytik (Tognarelli <i>et al.</i>, 2010)
Umweltanalytik	<ul style="list-style-type: none"> • Nachweis polarer Verbindungen in Gewässerproben (Bieber <i>et al.</i>, 2017) • Analytik von Umweltkontaminanten wie Carbamazepin, Bisphenol A und Triclosan in Wasserproben (Del Carmen Salvatierra-Stamp <i>et al.</i>, 2015) • Analytik von Pestiziden, Polyzyklischen, aromatischen Kohlenwasserstoffen und Phenolen in Gewässerproben (Toribio <i>et al.</i>, 1998)

Es geht hervor, dass die SFC bereits in vielen und sehr verschiedenen Bereichen zum Einsatz kommt. Viele dieser Anwendungen werden allerdings ebenfalls durch gut funktionierende GC- oder LC-Methoden abgedeckt. Wann kann nun die SFC genutzt werden und in welchen Bereichen lohnt es sich tatsächlich, auf diese Technologie im Labor zu setzen?

Zusammenfassend kann generell in folgenden Fällen über eine SFC-Methodenentwicklung nachgedacht werden:

- Trennung chiraler Moleküle (hohe Trenneffizienz, geringer Lösungsmittelverbrauch, Möglichkeit des präparativen Einsatzes)
- GC oder LC liefern kein zufriedenstellendes Ergebnis, wie zu geringe Trennung oder ungenügende Retention der Zielsubstanzen (SFC besitzt breite Selektivität, Erweiterung des Polaritätsspektrums)
- Notwendigkeit schneller und effizienter Trennungen
- Einsparung von Lösungsmitteln
- Austesten von etwas Neuem in der Forschung zum besseren Verständnis der Ursachen einiger bisher unzureichend erklärbarer Eigenschaften der SFC

Im Rahmen dieser Dissertation war vor allem der zweitgenannte Grund ausschlaggebend dafür, weshalb sich für eine analytische Methodenentwicklung mittels SFC entschieden wurde.

2.4.4 *Non-Target* Screening, *Suspected* Screening und *Target* Screening

Beim Wasserscreening nach unbekanntem oder zu erwartenden Chemikalien lässt sich zwischen drei Strategien unterscheiden: *Non-Target* Screening, *Suspected* Screening und *Target* Screening. „*Known Unknowns*“ und „*Unknown Unknowns*“ sind Begrifflichkeiten, die dabei in diesem Rahmen immer wieder auftauchen. Gerade durch den Einzug ausgereifter chromatographischer Methoden, gekoppelt mit massenspektrometrischer Detektion, sind diese kaum mehr aus der Literatur wegzudenken. Auch wenn eine komplett ungerichtete Analytik nicht möglich ist, so kann sie ohne zuvor bekanntes Ziel durchgeführt werden. Dabei werden zwei Arten von Zielmolekülen, die „*Unknown Unknowns*“ und die „*Known Unknowns*“, erhalten. Die „*Unknown Unknowns*“ lassen sich nicht eindeutig identifizieren und einem Molekül zuordnen, sondern die Struktur kann nur durch Ähnlichkeitsvergleiche ermittelt werden. Die „*Known Unknowns*“ wurden als eine Klasse der in der Literatur und in Referenzdatenbanken bekannten Substanzen, nicht aber bekannt für den Untersuchenden, beschrieben. Mit den „*Known Unknowns*“ liegen zunächst keine realen Referenzstandards vor, sondern die Identifizierung erfolgt über Stoffdatenbanken. **Abbildung 11** stellt die Begrifflichkeiten graphisch dar (Letzel, 2013) und **Tabelle 6** gibt einen Überblick über die verschiedenen drei Screening-Methoden in der Wasseranalytik. Im Rahmen des gewählten analytischen Prozesses mit Probenahme, Probenvorbereitung, chromatographischer Trennung, Ionisation und Ionentransfer sowie massenspektrometrischer Detektion werden die so gewonnenen Daten im Anschluss je nach Screening-Verfahren weiterverarbeitet. Die Daten können beim *Non-Target* Screening z. B. für einen direkten Vergleich der Retentionszeiten gegen die Molekularmasse zu verschiedenen Zeitpunkten genutzt werden. Neben der Identifizierung eines Analyten können auch die erzeugten Analyt-Daten untereinander verglichen und die Unterschiede im sogenannten „*Imaging*“ deutlich gemacht werden. Beim

Suspected Screening wird mit einer Liste zu messender Analyten gestartet. Die hieraus generierten Ergebnisse können dann mit Datenbanken, wie z. B. STOFF-IDENT, FOR-IDENT, Chemspider, MassBank, EPI Suite, MetFrag, Norman MassBank oder mzCloud, abgeglichen werden. Die Identifizierungen aus dem *Non-Target* und *Suspected* Screening führen zur möglichen Herstellung und/oder Nutzung von Referenzstandards (ggf. auch isotope markierter Standards zur Quantifizierung), um diese im *Target* Screening einsetzen zu können. Um *PMOCs* in Wasserproben identifizieren und quantifizieren zu können, wurde die Strategie des *Target* Screenings in der vorliegenden Arbeit gewählt.

Tabelle 6: Übersicht der verschiedenen Screening-Strategien, nach (Kromidas *et al.*, 2015).

<i>Non-Target</i> Screening	<i>Suspected</i> Screening	<i>Target</i> Screening
<ul style="list-style-type: none"> • keine erwarteten Substanzen • keine Vorabinformationen der elementaren Zusammensetzung • Bestimmung der Summenformel • Eingrenzung der möglichen chemischen Strukturen nach Auswertung der Fragmentmuster 	<ul style="list-style-type: none"> • Liste erwarteter Substanzen • Summenformel und/oder Fragmentmuster bekannt • Abgleich des Vorläufer-Ions, der Summenformel und der MS/MS-Spektren mit Datenbanken 	<ul style="list-style-type: none"> • Direkter Vergleich mit Referenzstandard • Identifizierung über Retentionszeit, Vorläufer- und/oder Fragmention • Quantifizierung möglich

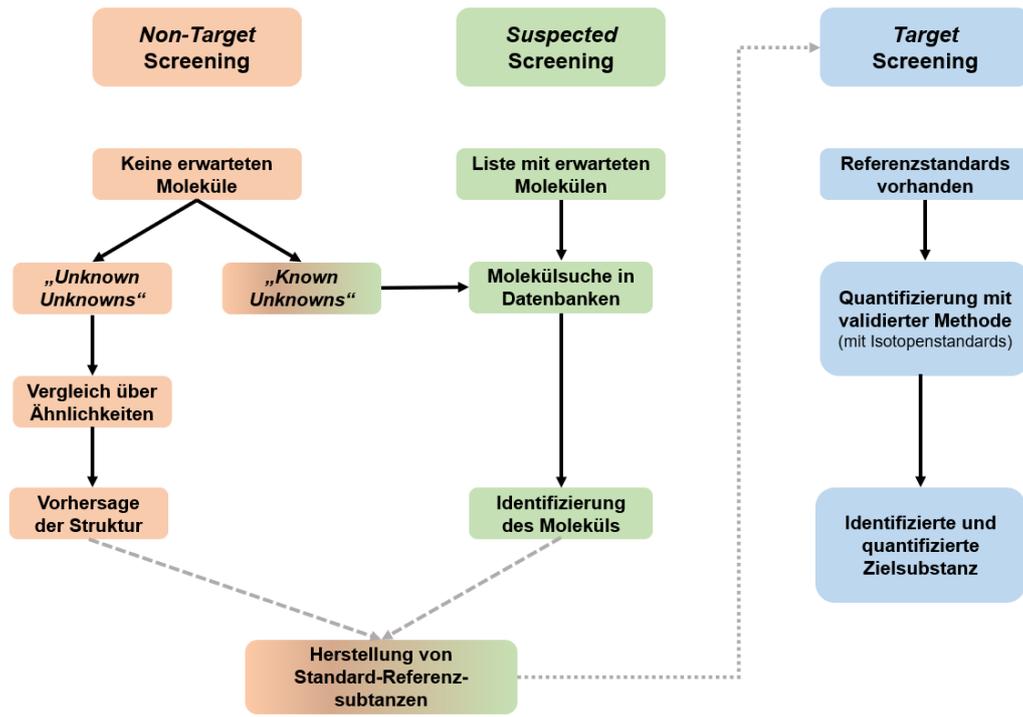


Abbildung 11: Screening-Strategien in der Wasseranalytik, modifiziert nach Letzel, 2013.

Diese drei vorgestellten Herangehensweisen während des Screenings werden umfänglich in der Forschung genutzt und stehen im aktuellen Fokus der Analytik. Zahlreiche Publikationen beschäftigen sich mit den verschiedenen Screening-Techniken in der Wasseranalytik (Farré *et al.*, 2012).

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Publierte Arbeiten

3.1.1 Stoffauswahl – Nutzen von REACH-Registrierungsdaten zur Emissionsabschätzung von *PMOCs* in die Umwelt

3.1.1.1 Zusammenfassung und Ergebnisse der Substanzpriorisierung

Die Stoffauswahl an *PMOCs* für diese Dissertation wurde mit einem eigens dafür entwickelten Priorisierungsverfahren hinsichtlich einer möglichen Umweltemission durchgeführt. Die dafür zugrunde liegenden Daten beruhen auf weitestgehend automatisiert abrufbaren REACH-Registrierungsdaten. Es wurde eine für viele verschiedene Fragestellungen und Stoffauswahlen leicht anwendbare Methode entwickelt. Das Emissionsscore-Modell und die Ergebnisse der Arbeit sind in der Publikation „Using REACH registration data to rank the environmental emission potential of persistent and mobile organic chemicals“ (Abschnitt 5.1) ausführlich beschrieben. Die wichtigsten Aspekte werden hier zusammengefasst und diskutiert.

In einem ersten Schritt der vorliegenden Arbeit, die im Rahmen des PROMOTE-Projekts angefertigt wurde, galt es, umweltrelevante *PMOCs* und mögliche *PMOC*-Vorläuferverbindungen zu identifizieren, um in späteren Schritten für die hier priorisierten Stoffe gezielt analytische Methoden entwickeln zu können. Solch eine Identifizierung von Stoffen kann computerbasiert und mit Hilfe von Modellen (*in-silico*) oder direkt in den betreffenden Proben (*in-situ*) durchgeführt werden. In der hier zusammengefassten Publikation wurde das *in-silico*-Verfahren gewählt. Es wurde ein Emissionsscore entwickelt, der für die Bewertung und relative Priorisierung von zunächst 13.159 Stoffidentitäten, registriert unter REACH, verwendet werden kann. Dieses Priorisierungsverfahren wurde im Anschluss auf die durch Arp *et al.* identifizierten, unter REACH registrierten 2.167 *PMOCs* und *PMOC*-Vorläuferverbindungen angewendet (siehe auch 2.1.1); (Arp *et al.*, 2017). In der Veröffentlichung unter 5.1 erfolgten die Ergebnisaufarbeitung und Diskussion für das angewandte Fallbeispiel der *PMOCs*, wobei 1.110 der betrachteten 2.167 *PMOCs* eine potenzielle Emission in die Umwelt zugeordnet wurde. Dabei handelte es sich um 936 Verbindungen, die bereits selbst *PMOCs* sind und um 174 Vorläuferverbindungen, die durch Hydrolyse *PMOCs* bilden können. Eine Stoffliste mit der relativen Sortierung der *PMOCs* und ihren Vorläuferverbindungen hinsichtlich ihrer Wahrscheinlichkeit, in die Umwelt zu emittieren, ist im Anhang A1 (Table S1 und S2) zu finden.

Das in dieser Arbeit entwickelte Stoffpriorisierungssystem nutzt Registrierungsdaten wie die Gesamttonnage und gemäß Art. 10 der REACH-VO generische, strukturierte Verwendungsbeschreibungen, die die Hersteller und Importeure bei der Registrierung eines

Stoffes darzulegen haben. Durch die Verwendungsdeskriptoren werden im Zusammenhang die Branche der Verwendung, die Stufe im Lebenszyklus der Chemikalie, die Verwendungsbedingungen aus Sicht des Umwelt- und Gesundheitsschutzes sowie die Art des Produktes, in dem der Stoff enthalten ist, beschrieben (ECHA R.12, 2015). Somit ist unter REACH theoretisch eine Vielzahl von nützlichen Daten automatisiert abrufbar, die eine Beurteilung der Emission des Stoffes in die Umwelt erlauben. Diese abgerufenen Verwendungsbeschreibungen pro Stoff flossen, genannt nach der Reihenfolge ihrer Wichtung hinsichtlich einer potenziellen Emission in die Umwelt, in die in dieser Arbeit entwickelte Scoring-Formel ein (siehe Formel (1)): *High Release to Environment, Wide Dispersive Use, Closed System Use, Intermediate Use, Consumer Use, Professional Use, Substance in Article*.

$$E\text{-Score} = \log(\text{Gesamttonnage} + 1,1) \times \sum \text{Verwendungsbeschreibungen} \quad (1)$$

Den jeweiligen Verwendungsbeschreibungen wurden numerische Scores zugeteilt. Die Höhe des numerischen Wertes für den Score erfolgte nach Einschätzung, wie stark eine bestimmte Verwendungsbeschreibung voraussichtlich mit dem Emissionspotenzial korreliert. Demnach wurde einem „*High Release to Environment*“ die höchste Priorität gegeben, da dies einer direkten Umweltemission gleichzusetzen ist. Auf der anderen Seite wurde einer Beschreibung wie „*Consumer Use*“ eine niedrige Priorität zugewiesen, da sie zwar eine Umweltemission implizieren könnte, diese aber nicht zwangsläufig der Fall sein muss.

Bei den in dieser Formel genutzten Verwendungsbeschreibungen handelt es sich um kurze allgemeine Angaben zum Einsatz eines Stoffes, wie sie unter REACH vom Registranten innerhalb des Dossiers gefordert sind. Da das entwickelte System somit auf Angaben beruht, die verbindlicher Bestandteil des an die ECHA übermittelten Registrierungsdossiers sind, kann es auch auf neuere abrufbare Chemikalienlisten, registriert unter REACH, angewandt werden und ist somit zeitlos, solange die bisher geforderten und hier genutzten Verwendungsbeschreibungen in der Form Bestandteil einer Registrierung bleiben.

Das so entwickelte E-Scoring wurde auf insgesamt 13.159 REACH-registrierte Stoffe angewendet, um sie hinsichtlich einer potenziellen Umweltemission zu priorisieren, bevor die Anwendung auf PMOCs erfolgte (siehe 5.1). Dabei wurden drei Klassen der Emissionswahrscheinlichkeit gebildet (siehe **Abbildung 12**). Der einheitenlose E-Score erlaubte es für insgesamt 8.912 REACH-Substanzen der Klassen 2 und 3, die Emission relativ zueinander in die aquatische Umwelt abzuschätzen, aber ermöglichte keine Vorhersage konkreter Umweltkonzentrationen. Den einzelnen Substanzen, denen eine potenzielle Umweltemission zugeteilt wurde (Klasse 2), wurde nach Kalkulation jeweils ein E-Score von 0 bis 100 vergeben, wobei ein steigender Wert ein steigendes Risiko bedeutet, in die Umwelt zu emittieren. **Abbildung 13** zeigt die Emissionsscore-Verteilung der Industriechemikalien, die in Klasse 2 fallen.

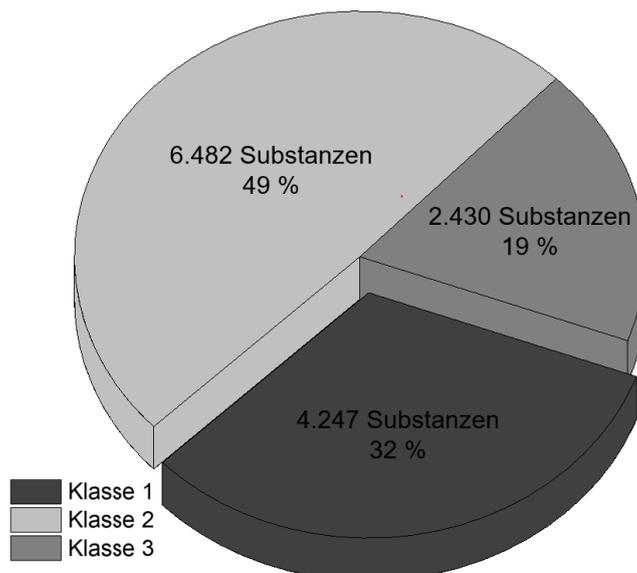


Abbildung 12: Klassenverteilung des Emissionsscores für die bewerteten REACH-registrierten Stoffe.

Klasse 1: Stoffe, bei denen aufgrund eines Informationsmangels keine Abschätzung über die Emission möglich war, Klasse 2: Stoffe mit zuteilbarem Emissionsscore, Klasse 3: Stoffe, bei denen keine Emission in die Umwelt angenommen wird.

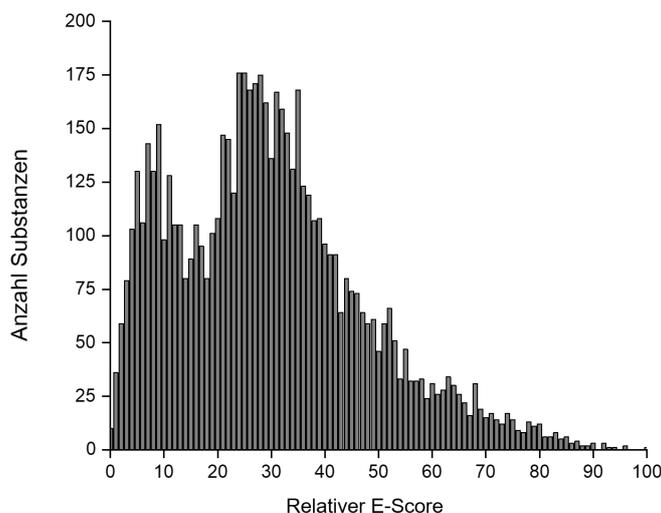


Abbildung 13: Verteilung der Substanzen der Klasse 2 über den dimensionslosen E-Score von 0-100. Für Substanzen mit höherem E-Score ist die Wahrscheinlichkeit höher, in die Umwelt zu emittieren.

Allerdings konnte für etwa 32 % der zu bewertenden Stoffe kein Emissionsscore vergeben werden (siehe **Abbildung 12**, Klasse 1). In diesen Fällen war ein Fehlen an relevanten Informationen zur Beschreibung der Verwendungsbedingungen in den Registrierungs dossiers die Ursache. Aufgrund des großen Umfanges dieser Gruppe von 4.247 Stoffen wurden diese Fälle nicht wie im *PMOC*-Fallbeispiel in der Publikation unter 5.1 manuell nachbearbeitet (über: <https://echa.europa.eu/de/information-on-chemicals/registered-substances>). Bei den nicht priorisierbaren Stoffen der Klasse 1 handelt es sich hauptsächlich (89 %) um Neustoffanmeldungen (Anmeldeverfahren entsprechend Richtlinie 67/548/EWG für Stoffe, die

nach dem 18.09.1981 erstmalig auf den Markt gebracht wurden). Grund dafür ist, dass diesen Stoffen automatisch eine REACH-Registrierung zugewiesen wurde, deren damals gültige Systematik der Verwendungsbeschreibungen aber zum Deskriptorensystem unter REACH nicht kompatibel war.

Die teilweise schlechte Datenqualität, wie sie in den Registrierungs dossiers für einige Stoffe vorkommt, ist ein Problem, das bereits über diese Arbeit hinaus bekannt ist. Generell erfolgt jedoch eine behördliche Überprüfung der Registrierungsunterlagen im Gegensatz zu anderen Chemikalienvollzügen (Pflanzenschutzmittel, Biozide, Arzneimittel) nur in Form von Stichproben. Die zum Zeitpunkt dieser Arbeit durchgeführten Überprüfungen von Registrierungen durch die ECHA im Rahmen der Dossierbewertung (REACH-VO Art. 41 ff) zeigten für eine nicht unerhebliche Anzahl an Dossiers das Fehlen von mindestens einer bis mehrerer Standardinformationen (European Chemical Agency (ECHA), 2015). Somit entzogen sich diese Stoffe komplett der hier durchgeführten Priorisierung. Eine weitere Unsicherheit, die das E-Scoring anfällig für Fehler macht, ist die allgemeine Datenunsicherheit. In mehreren aufeinander folgenden UBA-Projekten der letzten Jahre wurden 1.814 Registrierungs dossiers hinsichtlich ihrer Konformität überprüft. Je nach ausgewertetem Endpunkt wurden die Dossiers zwischen 12 % und 61 % als „nicht konform“ bewertet. Dabei wurden entweder gezielt Daten nicht durch den Registranten geliefert oder durch Verwendung von beispielsweise ungeeigneten Studien erhoben und waren somit unbrauchbar. Dieser bewusste Verzicht auf Angaben von Daten durch den Inverkehrbringer lässt eine umfassende Risikobewertung für die Umwelt und die menschliche Gesundheit nahezu unmöglich erscheinen. Es stellt sich die Frage, ob die sichere Verwendung dieser Chemikalien mit solch vorhandenen Datenlücken überhaupt garantiert werden kann (Oertel *et al.*, 2018; Springer *et al.*, 2015).

Zum Zeitpunkt der Datenerhebung (Ende 2014 bis Anfang 2015) waren 13.159 Stoffidentitäten, registriert unter REACH (definiert über CAS- bzw. EC-Nummer), für dieses Projekt verfügbar und konnten ausgewertet werden. Allerdings steigt die Zahl der neu registrierten Substanzen stetig und würde beim jetzigen Stand (November 2020) 23.186 Substanzen, die ein hergestelltes oder importiertes Volumen von mindestens 1 t a⁻¹ besitzen, liefern. Dabei handelt es sich aber lediglich um die REACH-registrierten Substanzen aller Länder des europäischen Wirtschaftsraumes. Eine weltweite Betrachtung würde weitaus höhere Zahlen an in Verkehr gebrachte Industriechemikalien ergeben. Das heißt auch, die Zahl der zu betrachtenden potenziellen Stoffe, die in die Umwelt emittieren können, ist stark gestiegen. Einen Überblick der Entwicklung der Zahlen an Registrierungen von Industriechemikalien auf dem Markt der Länder des europäischen Wirtschaftsraumes sowie die Anzahl an Firmen, die Substanzen innerhalb der letzten 11 Jahre registrieren ließen, gibt **Abbildung 14**. Dabei ist zu erwähnen, dass die Registrierung seit 2016 auf dem Grundsatz „ein Stoff, eine Registrierung“ beruht. Das heißt, dass Hersteller und Importeure des gleichen

Stoffs ihre Registrierung zusammen einreichen müssen (European Chemical Agency (ECHA), 2020).

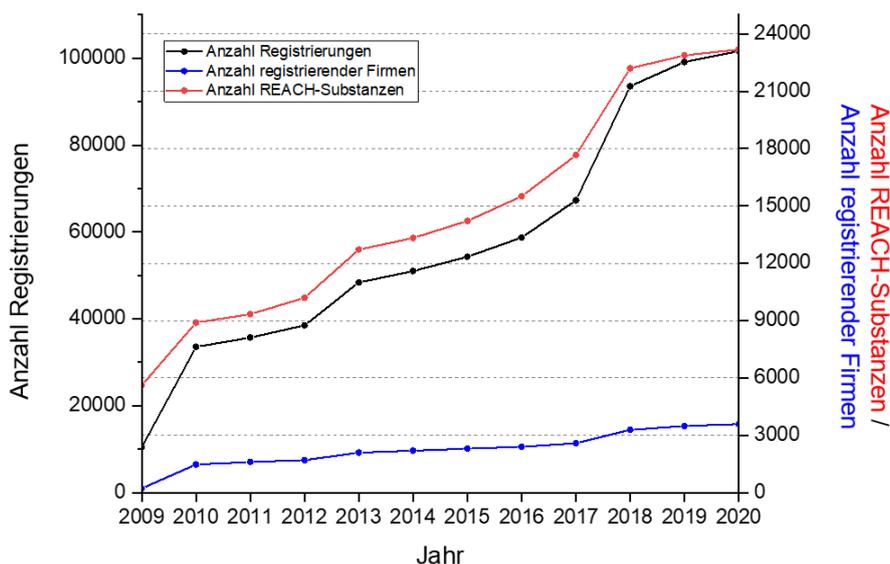


Abbildung 14: Entwicklung der Anzahl an REACH-Registrierungen, Anzahl registrierender Firmen und Anzahl an registrierten Substanzen von 2009-2020.

3.1.1.2 Einordnung der Ergebnisse in die aktuelle Literatur

Mit dem hier entwickelten und vorgestellten *in-silico*-Verfahren zur Stoffpriorisierung wurde im Vergleich zu den bis dato durchgeführten Priorisierungsarbeiten der Fokus auf das Umweltfreisetzungspotenzial anstelle auf das Expositionspotenzial von Substanzen für den Menschen gelegt. Vorangegangene Studien beschäftigten sich zudem gehäuft mit persistenten und bioakkumulativen Substanzen. Die hier durchgeführte Studie kann sowohl auf *PBT*-Stoffe als auch auf hochpolare Stoffe, wie in der Fallstudie der *PMOCs*, durchgeführt (siehe Arbeit unter 5.1) und auf viele weitere stoffliche Fragestellungen hinsichtlich der Umweltemission angewendet werden. Zum Zeitpunkt der hier publizierten Forschungsarbeit gab es keine Arbeiten, die in einem solchen Umfang automatisiert ausgelesene Daten aus REACH-Registrierungsdossiers verwendeten, vor allem auch mit dem Nutzen exakter Gesamttonnagen pro Jahr, um Chemikalien untereinander hinsichtlich ihrer potenziellen Umweltemission zu vergleichen (siehe dazu auch Literaturdiskussion unter 1. *Introduction* der Veröffentlichung unter 5.1); (Schulze *et al.*, 2018).

Im Rahmen des PROMOTE-Projektes wurde parallel zu dem hier beschriebenen *in-silico*-Verfahren durch Montes *et al.* ein weiterer Weg zur Identifizierung von *PMOCs* in der Umwelt gewählt. Sie führten mit der hochauflösenden QTOF-MS und vorheriger MMLC in 15 realen Wasserproben ein *Suspected* Screening durch. Dabei detektierten die Autoren 22 Chemikalien mit log *D*-Werten zwischen -4 und 3,74 (Ergebnisse siehe Table S2 in Montes *et al.*, 2017). 14 Verbindungen sind davon als Industriechemikalien registriert. Bei den weiteren Substanzen

handelte es sich um Arznei- oder Pflanzenschutzmittel (Montes *et al.*, 2017). Diese 14 Verbindungen wurden mit der im Rahmen dieser Arbeit entstandenen *PMOC-E-Score*-Liste verglichen und brachten folgendes Ergebnis (siehe **Tabelle 7**):

Tabelle 7: Substanzen, durch Montes *et al.* (2017) im Rahmen eines *Suspected Screenings* in Gewässerproben detektiert, und Abgleich mit *PMOC-E-Score*.

Substanz	CAS-Nr.	log <i>D</i> (bei pH 7.4)	E-Score	Verwendung	Bemerkung
Tris(2-butoxyethyl)phosphat	78-51-3	3,46	42	Flammschutzmittel	
Saccharin	81-07-2	-3,01	22	Süßstoff	
Trifluormethansulfonsäure	1493-13-6	-3,88	25	Synthese-Reagenz	
m-Dimethylbenzol-sulfonäure	88-61-9	-3,03	48	Synthese-Reagenz	
p-Dimethylbenzol-sulfonäure	104-15-4	-3,36	48	Synthese-Reagenz	
1-Naphthalinsulfonsäure	85-47-2	-2,7	nicht in Listen enthalten	Synthese-Reagenz	
2-Amino-4,5-Dichlorbenzen-sulfonsäure	6331-96-0	-2,45	8	Synthese-Reagenz	
1,3-Di-o-tolylguanidin	97-39-2	2,31	25	Vulkanisierungsmittel	
Azithromycin	83905-01-5	1,36	Klasse 3	Zwischenprodukt (REACH), Antibiotikum	Registrierung als Zwischenprodukt
Venlafaxin	93413-69-5	1,43	Klasse 3	Zwischenprodukt (REACH), Antidepressivum	Registrierung als Zwischenprodukt
Trichloressigsäure	650-51-1	-2,23	15	verschiedene industrielle Anwendungen	
Acesulfam	55589-62-3	-4	31	Süßstoff	
Perfluorbutansulfonsäure	78-51-3	-1,56	nicht in Listen enthalten	Tensid	Bereits ein <i>PBT</i> - Stoff unter REACH (<i>SVHC</i>)
Perfluoroktansulfonsäure	81-07-2	0,66	nicht in Listen enthalten	Tensid	Verbot in Stoffen und Gemischen

11 der 14 durch Montes *et al.* detektierten Verbindungen wurden auch im *PMOC*-E-Score hinsichtlich der Umweltemission betrachtet. 9 Verbindungen wurde ebenfalls durch das Scoring eine potenzielle Umweltemission zugeteilt. Dabei reichten die E-Scores von 8 bis 48. Dies ist so zu deuten, dass nach dem E-Score-Priorisierungsmodell davon auszugehen ist, dass die Dimethylbenzolsulfonsäure (E-Score 48) eine höhere Wahrscheinlichkeit besitzt, in die Umwelt zu gelangen als z. B. 2-Amino-4,5-Dichlorbenzensulfonsäure (E-Score 8) oder auch Trichloressigsäure (E-Score 15). Bei den beiden Verbindungen Perfluorbutansulfonsäure und Perfluoroktansulfonsäure, denen keine potenzielle Umweltemission zugesprochen wurde, handelt es sich unter REACH lediglich um Zwischenprodukte. Erklärbar sind die Befunde in der Umwelt dadurch, dass die beiden Substanzen auch als Arzneimittel zum Einsatz kommen oder dass ggf. während der industriellen Verwendung das Zwischenprodukt, entgegen der REACH-Beschreibung, in die Umwelt gelangt. Durch die Arbeit von Montes *et al.* konnte der für diese Arbeit genutzte Ansatz zur Identifizierung von *PMOCs* über das E-Scoring-System bereits zu Projektbeginn in kleinem Umfang bestätigt werden.

Zahn *et al.* führten ebenfalls im Rahmen des PROMOTE-Projektes ein *Non-Target* Screening über 19 Wasserproben aus Europa mittels HILIC-HRMS durch (Zahn *et al.*, 2016). Ziel war es, wie auch schon bei Montes *et al.*, persistente und mobile Kontaminanten zu identifizieren, die im Roh- und Trinkwasser eine bisher unentdeckte Rolle spielen. In 84 % der untersuchten Proben konnte Trifluormethansulfonsäure (TFMSA) durch Abgleich mit einem Referenzstandard eindeutig identifiziert werden. Im Rahmen der *PMOC*-E-Score-Identifizierung wurde TFMSA ebenfalls als *PMOC* mit potenzieller Wahrscheinlichkeit, in die Umwelt zu emittieren (E-Score 25), bewertet. TFMSA ist eine REACH-Chemikalie, die in Vulkanisations- und Polymerisationsprozessen als Prozessregler verwendet wird und Inhaltsstoff ionischer Flüssigkeiten ist (Zahn *et al.*, 2016).

Diese beiden Beispiele von Montes *et al.* und Zahn *et al.* waren neben der in dieser Arbeit durchgeführten Evaluation per *Web of Science* (siehe Publikation unter 5.1 „3.3. *Evaluation of the E-Score model and sensitivity analysis*“) eine erste Validierung des gewählten *in-silico*-Ansatzes, durch den diese Substanzen größtenteils ebenfalls erkannt wurden. Als eine weitere Validierung des gewählten Ansatzes ist das spätere Screening von europäischen Wasserproben zu sehen (siehe Kapitel 3.1.2 und Publikation unter 5.2 „3.5. *Evaluation of the prioritization and analytical strategy*“).

Um die vorliegende Arbeit weiter einzuordnen und den aktuellen Forschungsstand zu betrachten, werden nachfolgend weitere, projektübergreifende aktuelle Arbeiten aus der Literatur diskutiert. Zum Zeitpunkt des Entstehens der eigenen Publikation waren diese noch nicht verfügbar.

In der Studie von Bolinius *et al.* wurde mit Hilfe von Handels- und Produktionsdaten der Trend über den Verbrauch und den in Gebrauch befindlicher Chemikalien (für 768 Chemikalien in

der EU von 2003-2016) berechnet (Bolinus *et al.*, 2018). Dabei nutzten die Autoren nicht wie in der vorliegenden Arbeit REACH-Daten, sondern Handels- und Produktionsdaten aus der Eurostat-Datenbank (genauer über PRODCOM, die Statistiken über die Herstellung von Industrieerzeugnissen durch Unternehmen liefert) und Produktionszusammensetzungsdaten aus einer Datenbank über den Chemikaliengehalt in Materialien. Die berechneten Lagerbestände an in Gebrauch befindlichen Chemikalien zeigten über die Zeit einen Trend, der darauf hindeutet, dass die Menge an Chemikalien, die möglicherweise in die Umwelt freigesetzt werden könnte, zunimmt. Allerdings zeigten die Autoren, wie auch in der hier vorgestellten Arbeit, auf, dass die quantitativen Ergebnisse von großer Unsicherheit sind, da die verfügbaren Daten mit einer großen Unsicherheit verbunden waren. Eine besonders große Wissenslücke bestand darüber, welche Chemikalien in welchen Produkten enthalten sind. Denn bisher sind bestehende Datenbanken mit solchen Informationen auf Chemikalien ausgerichtet, die bereits als problematisch identifiziert wurden. Bolinius *et al.* fordern ebenfalls, dass in Zukunft mehr und vollständigere Datensätze für die Gesellschaft zur Verfügung stehen (Bolinus *et al.*, 2018).

Dürig *et al.* entwickelten ein öffentlich zugängliches *in-silico*-Tool (SusTool), zugeschnitten auf verschiedene Umweltkompartimente und Fragestellungen zur Erstellung von *Suspected* Screening-Listen für die hochauflösende Massenspektrometrie organischer Verbindungen (Dürig *et al.*, 2019). Die entwickelte Datenbank enthält ca. 32.000 umweltrelevante organische Verbindungen und ihre Daten zu chemisch-physikalischen Eigenschaften, Merkmale über den Verbleib in der Umwelt, endokrine Disruptoren und Daten zur Emission und zu Mengen. Je nach Verwendungswunsch können, wie auch in der hier vorgestellten Arbeit, daraus Screening-Listen erstellt werden, die entsprechend ein systematisches Ranking generieren. Datengrundlage in dieser Studie war ebenfalls nicht die REACH-Datenbank, sondern eine Datenbank der U.S. EPA mit Chemikalien, die ein potenzielles Risiko für den Menschen darstellen, sowie eine schwedische Liste medizinischer Pharmaka und die Norman-Liste neu auftretender Substanzen. Im Vergleich zur hier vorliegenden Stoffpriorisierungs-Studie ist diese Studie mit dem Fokus auf die Mobilität und Bioakkumulation gerichtet und konzentriert sich somit nicht auf REACH-Stoffe mit einem abgeschätzten Potenzial der Umweltemission, sondern auf einen breiteren Stofffokus und dessen Verteilung in verschiedenen Umweltkompartimenten. Die Autoren nutzten zudem keine EU-weiten Tonnagen der Chemikalienproduktion, sondern lediglich Tonnagen bezogen auf den schwedischen Markt (SPIN Datenbank, SPIN Toolbox). Ähnlich wie in der vorliegenden Studie wird ein Scoring-Ansatz verwendet, der Verbindungen nicht verwirft, wenn sie die einzelnen Kriterien nicht erfüllen, sondern lediglich an eine andere Position in der Priorisierung einordnet (Dürig *et al.*, 2019).

Im Rahmen des „Arctic Monitoring and Assessment Programme“ (AMAP) wurde ein Priorisierungsmodell für POPs und *vPvBs* entwickelt, um potenzielle Kontaminanten in der

Arktis zu identifizieren. Bei diesem Modell wurden chemisch-physikalische Daten genutzt, wie z. B. $\log K_{ow}$, der Bioakkumulationsfaktor und die Molmasse (Reppas-Chrysovitsinos *et al.*, 2017). Verwendungsbeschreibungen oder die Tonnage wurden hier im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit nicht zur Identifizierung verwendet. Die Arbeit der Autoren wurde für eine weitere Liste angewendet. 8.648 Chemikalien einer Screening-POP-Datenbank wurden damit gescreent, um einerseits potenzielle POPs, *vPvBs* und persistente Luftschadstoffe zu identifizieren, und andererseits, wie auch in der vorliegenden Arbeit, persistente Wasserschadstoffe ausfindig zu machen. Bei den Autoren lag das Augenmerk allerdings nicht im Speziellen auf den mobilen Stoffen (Reppas-Chrysovitsinos *et al.*, 2018).

In den letzten 12 Jahren wurden in der EU, USA und Kanada etliche Priorisierungsstudien durchgeführt, die ihren Fokus im Gegensatz zu der vorliegenden Arbeit allerdings auf persistente, bioakkumulierbare und toxische Stoffe legten. Die Arbeit von Muir *et al.* setzte ihr Augenmerk auf die Durchsicht neuerer Literatur zum Thema des *in-silico*-Screenings von POPs (Muir *et al.*, 2019). Außerdem überprüften die Autoren weitere Ansätze zum Identifizieren bisher nicht in der Umwelt entdeckter Chemikalien durch *Target* und *Non-Target* Screenings, die solche *in-silico*-Screening-Listen als Ausgangspunkt nutzten. Dies entspricht auch dem Vorgehen der hier vorliegenden Arbeit und der anschließenden Nutzung der Priorisierungsliste. Nach der Sichtung und Überprüfung von acht verschiedenen Studien ergab sich eine Liste von 3.421 Substanzen, auf die im Anschluss der POP-Score berechnet wurde. Dieser umfasste den Transport und dessen Effizienz sowie die Akkumulation in die Arktis unter Verwendung von Verteilungskoeffizienten, der Persistenz und des Bioakkumulationsfaktors. Daraus ergab sich eine verkürzte Liste von 25 Substanzen mit signifikanter kommerzieller Nutzung. Allerdings wurden die Substanzen, im Gegensatz zu den in der hier vorliegenden Arbeit priorisierten Stoffen, bisher noch nicht in verschiedenen Umweltmedien analysiert (Muir *et al.*, 2019).

Ein weiteres neu publiziertes Screening-Verfahren, welches der Methode der vorliegenden Arbeit sehr ähnlich ist und sich ebenfalls mit REACH-registrierten Verbindungen beschäftigt, ist das von Oltmanns *et al.* (Oltmanns *et al.*, 2020). Das Verfahren wurde auf 15.021 REACH-Substanzen angewendet, um potenziell neue risikobehaftete Stoffe in der Lebens- und Futtermittelkette zu identifizieren. Zwischenprodukte, sogenannte „*Intermediates*“, Substanzen mit fehlenden wichtigen Daten und Substanzen, die außerhalb des Anwendungsbereiches des Modells lagen, wurden von der Betrachtung ausgeschlossen, was zu einer Reduzierung auf 2.336 Substanzen führte. Wie auch in der vorliegenden Arbeit von Schulze *et al.* wurden „*Intermediates*“ gesondert betrachtet und ein Auftreten fehlerhafter Daten festgestellt. Die Stoffe wurden ebenfalls mit Hilfe eines Scoring-Systems bewertet. Die Bewertung erfolgte neben der Nutzung des biologischen Abbaus, der Bioakkumulation in Lebens- und Futtermitteln und der Toxizität für den Menschen auch hinsichtlich der Freisetzung in die Umwelt. Ebenso wie in dem Ansatz in der vorliegenden Arbeit wurden die

Tonnage und die Verwendungsbeschreibungen aus den REACH-Dossiers herangezogen. Mit Hilfe dieses Ansatzes wurden 212 Substanzen identifiziert, die Potenzial haben, ein Risiko für die Lebensmittelkette zu sein (Oltmanns *et al.*, 2020). Beim Abgleich dieser 212 priorisierten Substanzen mit den Stoffen aus der vorliegenden Arbeit, die als *PMOCs* eingestuft wurden, mit potenzieller Wahrscheinlichkeit, in die Umwelt zu emittieren, ergab sich eine Überschneidung von 88 Substanzen, bei denen es sich u. a. um die hochpriorisierten Stoffe Melamin, p-Toluidin, Methylendiphenylisocyanat, Trioxane, Bisphenol A oder 4-Nitrotoluol handelt. **Abbildung 15** zeigt exemplarisch einige Strukturformeln dieser hochpriorisierten Verbindungen, die durch beide Priorisierungsverfahren zum einen als Risiko für die Lebensmittelkette und zum anderen als umweltrelevant bewertet wurden.

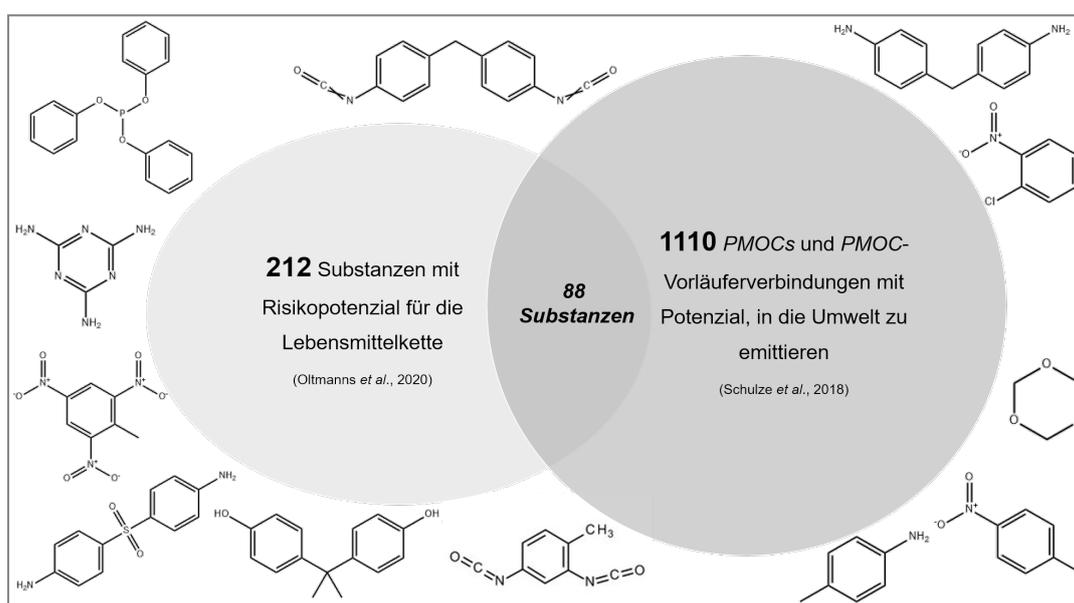


Abbildung 15: Übereinstimmung an Substanzen aus Priorisierungsarbeiten von Oltmanns *et al.* und Schulze *et al.*

Ein *SVHC*-Stoff ist unter REACH ein Stoff, der besonders gefährliche Eigenschaften aufweist und schwerwiegende Auswirkungen auf den Menschen und die Umwelt hat. Ein Stoff, der als *SVHC*-Stoff identifiziert ist, wird auf die europäische Kandidatenliste gesetzt. In einem aufwendigen Verfahren wird entschieden, ob der Stoff dann tatsächlich in den Anhang XIV der REACH-Verordnung aufgenommen wird, um danach schrittweise durch geeignete Alternativstoffe substituiert zu werden (VO (EG) Nr. 1907/2006, 2006). In der Arbeit von Sackmann *et al.* wurde gezeigt, dass innerhalb eines Zeitraumes von 14 Jahren (2000 bis 2014) die Tonnagen von 10 exemplarischen, wasserrelevanten *SVHCs*, die unter REACH reguliert sind, stark zurückgegangen sind (um 90 %); (Sackmann *et al.*, 2018). Um die Unterschiede der Regulation deutlich zu machen, kreierte die Autoren eine Kontrollgruppe, die aus unregulierten Stoffen bestand (im Gegensatz zu den regulierten *SVHCs*). Für die Schaffung der Kontrollgruppe wurde die Arbeit unter 5.1 und die dabei priorisierten Stoffe genutzt, da es sich im Gegensatz zu der Arbeit von Sackmann *et al.* um unregulierte

Substanzen handelt. Alle aus der vorliegenden Arbeit publizierten *PMOCs* wurden durch die Autoren mit der schwedischen SPIN-Datenbank abgeglichen und für alle darin enthaltenen Stoffe wurden zeitliche Trends der Tonnagen abgerufen. Die Gesamttonnage der *PMOC*-Kontrollgruppe nahm in Schweden im genannten Zeitraum lediglich um 20 % ab (siehe **Abbildung 16**). Diese Studie zeigt also, dass eine Regulierung und die damit verbundene Diskussion, die zwangsläufig aufkommt, sobald ein Stoff als *SVHC*-Stoff auf die Kandidatenliste gelangt, bewirken kann, dass der betreffende Stoff weniger in Verkehr gebracht und nach Alternativen gesucht wird. In der Arbeit von Sackmann *et al.* konnte aufgezeigt werden, dass regulierte Stoffe aufgrund ihrer geringen Produktionsvolumina die Umwelt weit weniger belasten als unregulierte Stoffe (Sackmann *et al.*, 2018). Ein Screening von Chemikalien, z. B. hinsichtlich ihrer potenziellen Emission in die Umwelt, kann somit ein allererster Schritt auf dem langen Weg zu einer möglichen späteren Identifizierung als *SVHC*-Stoff sein, der dazu führt, über Alternativen nachzudenken.

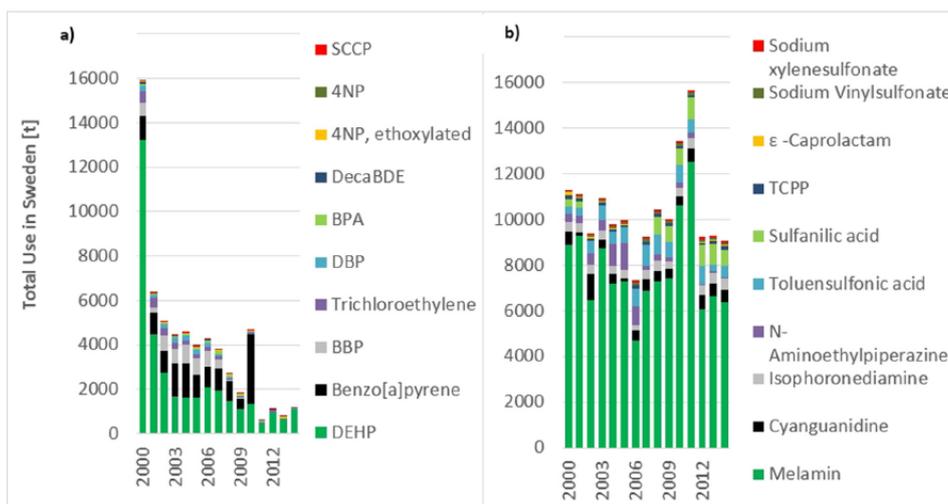


Abbildung 16: Auswirkungen der Regulierung ausgewählter Industriechemikalien auf die zeitliche Entwicklung der Verwendung in Schweden.

a) *SVHC* regulierte REACH-Chemikalien. b) nicht *SVHC* regulierte REACH-Chemikalien (*PMOCs*), übernommen aus Sackmann *et al.*, 2018

Auch wenn durch Schaffung von Alternativen die ursprünglichen *SVHC*-Substanzen vermeintlich ersetzt werden können, müsste allerdings auch geprüft werden, ob mit ihrem Einsatz nicht die nächste gefährliche Substanz in Verkehr gebracht wird. Zheng *et al.* haben ein Verfahren zur Bewertung von Alternativen entwickelt, welches auf experimentellen sowie *in-silico*-Daten und multikriteriellen Entscheidungsanalysen beruht (Zheng *et al.*, 2019). Auch in dieser Studie wurde, wie auch in der vorliegenden Arbeit, erneut auf die teilweise lückenhafte Datengrundlage und die qualitativ minderwertigen Daten hingewiesen. In einer folgenden Fallstudie wurde das durch die Autoren entwickelte Scoring-System unter den Gesichtspunkten der Persistenz (verschiedene Halbwertszeiten), Bioakkumulation (BCF), Toxizität (Human- und Ökotoxizität) und Mobilität ($\log K_{OC}$) auf 17 Alternativ-Chemikalien zu

einem als SVHC identifizierten bromierten Flammschutzmittel (*decaBDE*) angewandt (Zheng *et al.*, 2019).

REACH ist eine wertvolle Datenquelle für Chemikalieninformationen, die über die behördliche Sicherheitsbewertung Anwendung findet und auch Anwendung finden sollte. Daten können einfach extrahiert und in Abhängigkeit der Fragestellung direkt angewendet werden. Aufgrund verschiedener Herausforderungen wie der mitunter schlechten Datenqualität, Komplexität und schlechten Aufarbeitung der vorhandenen Daten wird dies in der Praxis kaum genutzt und auch behördlich wenig unterstützt. Um REACH-Daten umfänglich zu nutzen, müssen diese zunächst transformiert und kuratiert werden, wie in der vorliegenden Arbeit und auch durch Arp *et al.* geschehen (Arp *et al.*, 2017). Um REACH-Daten umfänglich und sinnvoll nutzen zu können, sollten diese, wenn möglich, einfach automatisiert abrufbar sein, um manuelle Fehler, die in der Übertragung von Freitexten geschehen können, zu verhindern. REACH-Daten sollten ebenfalls um Daten erweitert werden, die beispielsweise ergänzende Angaben zur Bewertung der Gesundheit von Verbrauchern machen und auch zur Substitution von Chemikalien in Konsumgütern beitragen. Um diesen Datenzugang der Wissenschaft und Politik möglich zu machen, bedarf es allerdings eines engen Austauschs mit der ECHA, um dafür die technischen, rechtlichen und strukturellen Grundlagen zu schaffen (Fantke *et al.*, 2020).

3.1.2 Screening europäischer Wasserproben hinsichtlich des Vorhandenseins von *PMOCs*

3.1.2.1 Zusammenfassung und Ergebnisse des Screenings

Das Ziel dieser Studie war es, das Vorhandensein von zuvor priorisierten REACH-Chemikalien (siehe Abschnitt 3.1.1) in der wässrigen Umwelt nachzuweisen. Dafür sollten voneinander unabhängigen Analysemethoden, hinsichtlich der Probenvorbereitung und anschließender chromatographischer Methoden, dreier Labore (Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung, Hochschule Fresenius, University of Santiago de Compostela) genutzt werden. Dabei ging es vorrangig darum, zunächst qualitative Aussagen zu treffen, welche *PMOCs* tatsächlich in welcher Häufung in der Umwelt von Relevanz sind, um auch ggf. die zuvor getätigte *PMOC*-E-Score-Priorisierung zu bestätigen. Daher war zum Zeitpunkt der Veröffentlichung der Studie keine der Methoden in vollem Umfang validiert. Semi-quantitativ erzeugte Daten dienten in erster Linie dazu, die Größenordnung der Konzentrationen abzuschätzen. Die Ergebnisse der Arbeit sind in der Publikation „*Occurrence of emerging persistent and mobile organic contaminants in European water samples*“ (Abschnitt 5.2) ausführlich beschrieben. Die wichtigsten Aspekte der Arbeit werden hier zusammengefasst und diskutiert.

Mit Hilfe des unter Abschnitt 3.1.1 beschriebenen E-Scores wurde, wie im Paper „*Using REACH registration data to rank the environmental emission potential of persistent and mobile*

organic chemicals“ (siehe 5.1) dargestellt, eine Priorisierung von *PMOCs* vorgenommen, die diesem Screening zugeführt wurden. Es wurden 64 potenziell in die Umwelt emittierende *PMOCs* ausgewählt, deren Referenzsubstanzen kommerziell verfügbar waren. Es wurden acht voneinander unabhängige Methoden der Probenvorbereitung (verschiedene SPE-Verfahren sowie Eindampfen) und vier verschiedene chromatographische Techniken (HILIC, MMLC, RPLC, SFC) genutzt. Durch unterschiedliche Kombination der Methoden ergaben sich daraus 20 Methoden (siehe Figure S5 unter A2), die zur Analyse von 14 Wasserproben angewandt wurden. Es hing von der jeweiligen Methodenkombination ab, welche und wie viele *PMOCs* erfasst werden konnten. Einige Substanzen waren für eine große Anzahl an Methoden zugänglich und einige andere *PMOCs* nur mit sehr wenigen Methoden messbar (siehe auch Table S9 unter A2). Das zeigt auch noch einmal die hohe Vielfalt dieser Substanzklasse hinsichtlich ihrer Strukturen (siehe Table S1 unter A2) und dass es bislang mehrerer sich z. T. gegenseitig ergänzender Methoden bedarf, um diese zu analysieren. Nach 57 der priorisierten Analyten konnte mit Hilfe dieser Methoden in den Proben gescreent werden. **Abbildung 17** zeigt, welche Methoden im Rahmen der vorliegenden Arbeit für dieses Screening genutzt wurden. Daraus resultierten 16 der 20 genutzten Methodenkombinationen. Jede Probe wurde allen Aufarbeitungsmethoden (SPE: WAX, MCX, ENV+, ENVI-Carb) unterzogen und im Anschluss mit jeder chromatographischen Methode (LC: HSS T3, Hypercarb™; SFC: Torus Diol, BEH) analysiert.

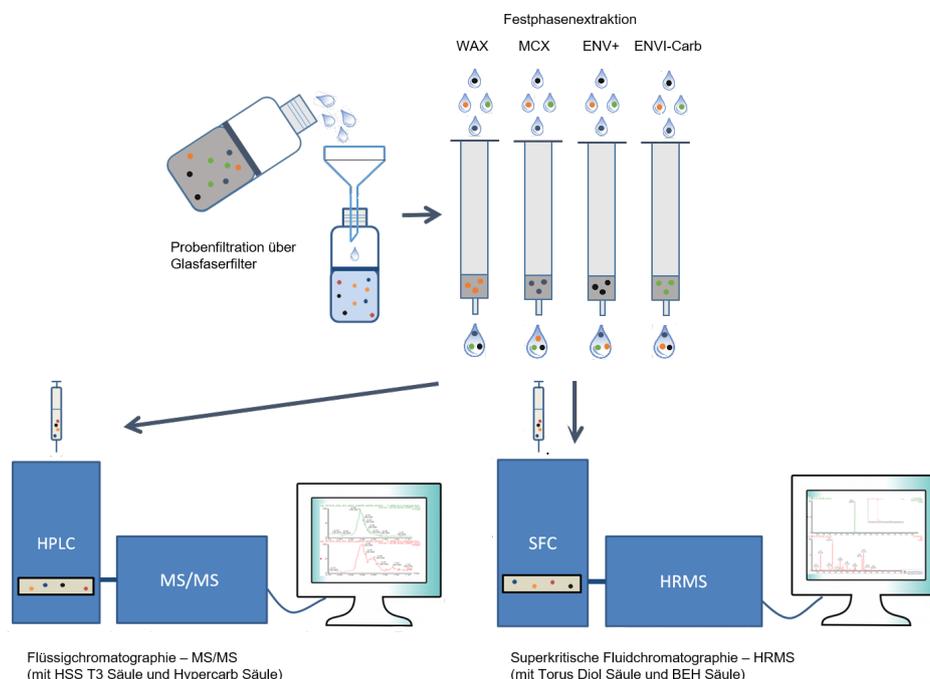


Abbildung 17: Durchführung der Probenvorbereitung mittels SPE sowie anschließender Analyse über LC-MS/MS und SFC-HRMS.

Mittels aller Methodenkombinationen wurden 14 rohwasserrelevante Proben unterschiedlicher Gewässer (Oberflächenwasser, Grundwasser, Permeate und Konzentrate aus einer

Umkehrosroseanlage) aus Spanien, Deutschland und den Niederlanden auf das Vorhandensein der priorisierten *PMOCs* untersucht. Dabei wurden 43 der 57 *PMOCs* in mindestens einer der Proben nachgewiesen. Die detektierten *PMOCs* wurden aufgrund ihrer Nachweishäufigkeit in den Proben und ihres „Neuheitencharakters“ in sechs Klassen eingeteilt. 23 davon (Klasse 1 und 3) galten als bisher nicht in Gewässern nachgewiesen (außerhalb des PROMOTE-Projektes) – sieben davon (Klasse 1) mit hoher Nachweishäufigkeit (in mindestens sieben Proben nachgewiesen): Methylsulfat, 2-Acrylamino-2-methyl-1-propansulfonsäure, Benzyltrimethylammonium, Trifluormethansulfonsäure, 6-Methyl-1,3,5-Triazin-diamin, Benzoldimethylamin und 1,3-Di-o-tolylguanidin. **Abbildung 18** zeigt die Häufigkeit des Vorkommens der *PMOCs* innerhalb der gescreenten Proben in Abhängigkeit des $\log D_{OW}$ -Wertes (ein Punkt entspricht dabei einem *PMOC*). Es ist zwar erkennbar, dass nicht alle analysierten und detektierten Substanzen als hochpolar einzustufen sind, dennoch konnte gezeigt werden, dass die analytische Lücke („*The Analytical Gap*“) nach Reemtsma *et al.* durch die angewandten Methoden bedient werden konnte und Substanzen in der Umwelt detektiert wurden, die in diese Lücke fallen (Reemtsma *et al.*, 2016).

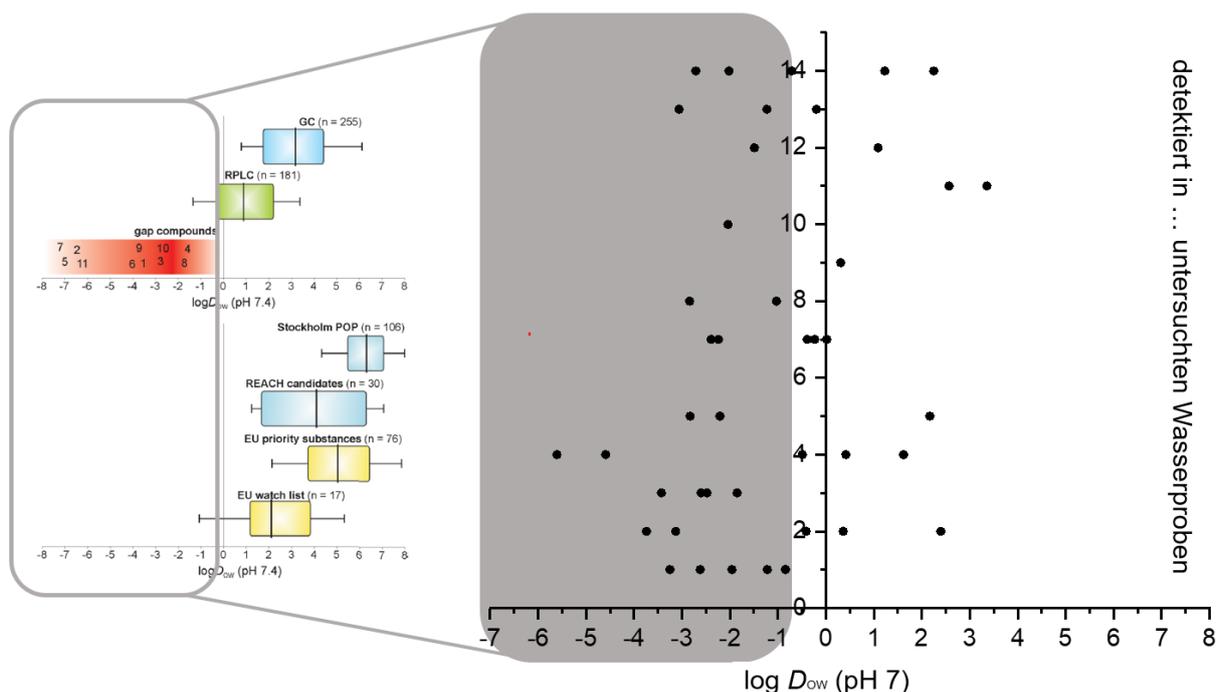


Abbildung 18: Darstellung der Detektionshäufigkeit der *PMOCs* in den Wasserproben in Abhängigkeit des $\log D_{OW}$ und Einordnung in die analytische Lücke, modifiziert nach Reemtsma *et al.*, 2016.

Durch die in dieser vorliegenden Arbeit genutzten Methoden (siehe **Abbildung 17**) konnten insgesamt 34 *PMOCs* in jeweils mindestens einer Wasserprobe identifiziert werden. Eine sichere Identifizierung erfolgte mit Hilfe der Retentionszeiten, den exakten *m/z* im Falle von HRMS und mindestens zwei MRM-Übergängen bei Verwendung von MS/MS. 25 *PMOCs* konnten durch die SFC-Methoden und 33 *PMOCs* durch die LC-Methoden in den Proben detektiert werden. Fünf *PMOCs* konnten nur durch die in dieser Arbeit beschriebenen

Methoden in den Proben nachgewiesen werden. Diese sind: 1,5-Naphthalindisulfonsäure (SPE mit WAX, LC mit Hypercarb™), 2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl]ethansulfonsäure (SPE mit ENVI-Carb, LC mit Hypercarb™), 4-Hydroxy-1-(2-hydroxyethyl)-2,2,6,6-tetramethylpiperidin (SPE mit ENV+, LC mit Hypercarb™, SFC mit BEH), Ethylsulfat (SPE mit WAX, LC mit Hypercarb™, SFC mit Torus Diol) und Dimethyl 5-sulfoisophthalat (SPE mit WAX, LC mit HSS T3). Auch dieses Ergebnis zeigt wieder den komplementären Charakter all dieser Methoden und die Diversität der zu analysierenden *PMOCs*. Auf der Basis dieser Ergebnisse gibt es bislang keine Methode, die in der Lage ist, alle Substanzen analytisch abzudecken (siehe dazu auch Table S10 unter A2). Daher gilt es, je nachdem welche *PMOC* analysiert werden soll, später auch in Abhängigkeit der vorhandenen Konzentrationen und der Nachweisempfindlichkeiten der Methoden zu entscheiden, welche Methode eingesetzt werden soll. Auch wenn dieses Ergebnis zunächst vermuten lässt, dass die beiden LC-Methoden effektiver genutzt werden können und ein Mehraufwand der Implementierung von SFC-Methoden nicht gerechtfertigt scheint, ist dies jedoch nicht der Fall. Denn die Verbindungen eluierten beim Einsatz der HSS T3 Säule (modifizierte C18 Säule, wie sie oft in der Routineanalytik eingesetzt wird) häufig im Totvolumen, was sich in kleinen Retentionskapazitätsfaktoren k' widerspiegelt. 17 der detektierten *PMOCs* wiesen einen k' von ≤ 1 auf, wohingegen bei der SFC keine der detektierten *PMOCs* im Totvolumen eluierte (siehe auch Table S8 und Figure S3 in A2). Hinsichtlich einer späteren Quantifizierung der *PMOCs* spielt dieses Verhalten womöglich eine größere Rolle, denn Substanzen, die im Totvolumen eluieren, wird eine erschwerte Quantifizierung, verursacht durch Matrixeffekte und eine dadurch beeinflusste Ionisierbarkeit der Analyten, nachgesagt (Patel, 2011). Zum anderen fehlt die Selektivität der Retention in der sicheren Analytidentifizierung.

Die Konzentrationen der detektierten *PMOCs* wurden semiquantitativ in den Proben abgeschätzt. Es ist zu betonen, dass in dieser Arbeit noch keine umfänglich validierten Methoden genutzt wurden. D. h. beispielsweise, dass noch keine Matrixeffekte berücksichtigt wurden, die später mitunter eine sehr große Rolle hinsichtlich einer genauen Quantifizierung spielen. Der detektierte Konzentrationsbereich reichte vom unteren ng L^{-1} -Bereich für bspw. Ametryn bis hin zum zweistelligen $\mu\text{g L}^{-1}$ -Bereich für Cyanoguanidin oder Acesulfam.

Bisher lässt sich aufgrund des hier noch zu geringen Beprobungsumfanges keine Aussage darüber tätigen, ob Oberflächenwasser einer stärkeren Belastung als Grundwasser oder umgekehrt durch *PMOCs* ausgesetzt sind. In dieser Studie scheint es zunächst so zu sein, dass das Grundwasser nicht wesentlich weniger belastet ist als das untersuchte Oberflächenwasser. Dies könnte ein Hinweis auf die Persistenz und Mobilität der untersuchten Verbindungen sein, was auch den *PMOC*-Priorisierungsansatz von Arp *et al.* bestätigen würde (Arp *et al.*, 2017). Im Rahmen des Screenings war ein Probensatz aus den Niederlanden enthalten, der aus einem Oberflächenwasser, dem dazugehörigen Uferfiltrat und dem aufgereinigten Uferfiltrat mittels Umkehrosiose bestand (siehe Table S2 unter A2). In dem

Oberflächenwasser wurden 25 *PMOCs* detektiert, im Uferfiltrat 17 und nach der Aufreinigung mittels Umkehrosmose noch 9 *PMOCs*. Dieses Ergebnis lässt darauf schließen, dass die Umkehrosmose ein Verfahren sein kann, welches zum Abhalten von *PMOCs* geeignet zu sein scheint und genauer betrachtet werden sollte.

In dieser Arbeit wurden nicht nur bisher unbekannte polare, mobile Chemikalien in trinkwasserrelevantem Wasser detektiert, sondern auch gleichzeitig ein Priorisierungsansatz validiert, wie er unter Abschnitt 3.1.1 beschrieben und unter 5.1 publiziert wurde. 54 der hier analysierten Substanzen stammten aus dieser Priorisierungsarbeit. Davon wurden 34 *PMOCs* in mindestens einer Probe nachgewiesen. Dies entspricht 65 %. In der Studie des *PMOC-E-Score-Ansatzes* wurden 1.110 Stoffe priorisiert. Mittels der hier diskutierten Screening-Studie ist es nun naheliegend, erfahren zu wollen, wie viele dieser priorisierten 1.110 Stoffe tatsächlich in der Umwelt detektiert werden können und in unserem Wasserkreislauf von Relevanz sind. Da die 54 Substanzen manuell für das Screening ausgewählt wurden, gilt es aber mit Vorsicht auf eine Überschätzung an möglicherweise zu detektierenden Substanzen zu blicken. Dennoch lässt sich aber vermuten, dass noch mehr dieser priorisierten *PMOCs* in der Umwelt vorhanden sind.

3.1.2.2 Einordnung der Ergebnisse in die aktuelle Literatur

Um die Ergebnisse des hier durchgeführten Screenings mit den aktuellen Forschungen auf dem Gebiet zu vergleichen, werden weitere Arbeiten betrachtet, die zum Zeitpunkt dieser Publikation unter 5.2 noch nicht veröffentlicht waren.

Auf Basis der in diesem Screening genutzten Methoden von *Montes et al.* (*Enrichment I & II* und anschließend *Chromatography A*) fand in einer darauffolgenden Arbeit eine umfangreiche Validierung der beiden SPE- und der MMLC-Methoden statt. Es wurden für 23 *PMOCs* Quantifizierungsgrenzen von unter 50 ng L⁻¹, relative Standardabweichungen von unter 20 % und durchschnittliche Wiederfindungen von um die 80 % in Oberflächen- und Trinkwasser erzielt. Nachfolgend wurde die quantitative Methode in einem *Target* Screening von 15 spanischen Oberflächen- und Trinkwasserproben aus Galizien angewandt. Dabei konnten 17 der 23 *PMOCs* in mindestens einer Probe quantitativ nachgewiesen werden. Saccharin und Acesulfam wiesen die mit Abstand höchsten Konzentrationen auf (Acesulfam bis zu 122 µg L⁻¹ und Saccharin bis zu 7,7 µg L⁻¹); (*Montes et al.*, 2019).

Ein Problem, welches in der vorliegenden Arbeit bis zu dem Zeitpunkt dieses Screenings aufgrund der bis dato nicht vorhandenen Validierungsparameter für die Methoden weniger Beachtung fand, waren die bereits erwähnten Matrixeffekte. In dieser Untersuchung ging es zunächst auch noch nicht darum, mit vollständig durchvalidierten Methoden *PMOCs* zu quantifizieren, sondern vielmehr darum, zu erfahren, welche *PMOCs* überhaupt eine Rolle in den Gewässern spielen. Im Rahmen des Screenings wurde die HILIC-MS/MS

(*Chromatography B*) genutzt (siehe 5.2). In einer folgenden Arbeit von Müller *et al.* wurden die Matrixeffekte für 26 polare Substanzen in Trinkwasser und Kläranlagenabwasser mittels Nachsäuleninfusion in ein HRMS ermittelt, genauer betrachtet und diskutiert. Dabei wurden zum einen unspezifische Matrixeffekte, vorrangig im positiven ESI-Modus, mit daraus resultierender Ionensuppression und zum anderen strukturspezifische Matrixeffekte beobachtet. Strukturspezifische Effekte kamen besonders im negativen ESI-Modus zum Tragen. Es gab aber ebenfalls die Beobachtung, dass strukturell ähnliche Verbindungen gänzlich unterschiedlich reagierten. Perfluoralkylcarbonsäuren wurden unterdrückt, wohingegen Perfluoralkansulfonsäuren in ihrer Signalintensität verstärkt wurden (Müller *et al.*, 2020). Auch für die unter 5.2 beschriebene MMLC-Methode (*Chromatography A*) wurden die Matrixeffekte in der Arbeit von Montes *et al.* bestimmt (Montes *et al.*, 2019). Für die SFC-Methode erfolgte die Bestimmung von Matrixeffekten für *PMOCs* im Rahmen einer späteren Methodvalidierung (siehe Abschnitt 3.1.3 und Publikation unter 5.3); (Schulze *et al.*, 2020).

In der Arbeit von Gago-Ferrero *et al.* wurde ein ähnlicher Priorisierungsansatz für das anschließende *Suspected Screening* nach organischen Spurenstoffen genutzt wie in der hier durchgeführten Arbeit (Gago-Ferrero *et al.*, 2018). Über das nationale schwedische Chemikalienregister wurden mit Hilfe eines entwickelten Expositionsindex und chemisch-physikalischen Parametern (z. B. $\log K_{ow} < 10$) 160 Substanzen priorisiert, die in der Literatur weitestgehend unbekannt waren. Nach diesen Substanzen wurde ebenfalls mittels vorheriger SPE (Oasis HLB, Isolute ENV+, Strata-X-AW, Strata-X-CV) und anschließender UHPLC-HRMS in Abwasserproben gescreent. Es wurden 36 Substanzen eines breiten Polaritätsspektrums identifiziert. Ein positiver Befund, der auch in der eigenen Arbeit detektiert wurde und als einzige Übereinstimmung zu finden ist, war Acesulfam. Der Süßstoff Acesulfam wurde mit Konzentrationen von bis zu 16.000 ng L⁻¹ im Abwasser detektiert. Die Arbeit zeigte, dass dieser alternative Ansatz ebenfalls zur Priorisierung mittels behördlicher Informationsgrundlagen für ein anschließendes *Suspected Screening* brauchbar war (Gago-Ferrero *et al.*, 2018).

Auch Bollmann *et al.* erkannten die Problematik um die kleinen polaren Moleküle bezüglich ihrer erschweren Analytik und ihrer Mobilität und Persistenz in der Umwelt (Bollmann; Badawi, 2020). Die durch das PROMOTE-Projekt geprägte Begrifflichkeit der *PMOCs* setzte sich auch in der Arbeit der Autoren durch. Es wurde eine Methode für 1,2,4-Triazol und N,N-Dimethylsulfamid (beides Abbauprodukte von Fungiziden) über ENVI-Carb-Kartuschen, die auch in der vorliegenden Arbeit genutzt wurden, zur Anreicherung und anschließender Analytik mittels HPLC-MS/MS entwickelt, die in Grundwasserproben landwirtschaftlicher Umgebung angewandt wurde. 1,2,4-Triazol wurde darüber in Konzentrationen mit bis zu 0,22 µg L⁻¹ gemessen (Bollmann; Badawi, 2020). 1,2,4-Triazol wurde ebenfalls durch das im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte Screening in zwei Oberflächenwässern durch HILIC-MS detektiert (siehe 5.2).

In einer Studie aus Schweden wurde ein Screening von 34 verschiedenen Wasserproben (Oberflächen- und Grundwasser, Sickerwasser, Trinkwasser) nach kurzkettingen Perfluoralkylsäuren durchgeführt (Björnsdotter *et al.*, 2019). Dabei wurde auch TFMSA, welche in der hier vorliegenden Studie ebenfalls häufig nachgewiesen wurde, in 32 von 34 untersuchten Wasserproben detektiert. Die Konzentrationen erreichten, ebenso erfasst mittels SFC-MS/MS nach vorheriger SPE durch WAX, bis zu 950 ng L⁻¹ (Björnsdotter *et al.*, 2019).

In einer koreanischen Arbeit wurde nach neu auftretenden bzw. bisher nicht im Fokus stehenden Schadstoffen per *Suspected* und *Non-Target* Screening in sieben häuslichen und industriellen Abwässern gescreent. Im Rahmen des *Non-Target* Screenings wurde von Choi *et al.* neben verschiedenen Pestiziden, Pharmaka und Metaboliten auch N,N'-Diphenylguanidin mit hohen Peakflächen und großer Häufigkeit detektiert (Choi *et al.*, 2021). Die Beobachtung stimmt mit der Studie in der hier vorliegenden Arbeit für 1,3-Diphenylguanidin überein (Schulze *et al.*, 2019).

In einem Review von Menger *et al.* erfolgte ebenfalls eine kritische Betrachtung zu Strategien, wie sie auch in dieser Arbeit genutzt wurden, die dem Screening polarer Schadstoffe im Wasser mittels LC-HRMS dienen (Menger *et al.*, 2020). Dabei wurden aktuelle Trends und Strategien zur Probenahme, Probenaufarbeitung sowie instrumentelle Methoden der LC-HRMS, Datenaufarbeitung und -bearbeitung diskutiert. Im chromatographischen Schritt wird auch auf die Verwendung von HILIC, MMLC und SFC im Rahmen der Analytik hochpolarer Substanzen hingewiesen. Ein wichtiger Fokus des Reviews liegt in der Konzeptionierung und Priorisierung solcher Screeningstudien. Die Autoren empfehlen *Non-Target*, *Suspected* und *Target* Screenings nicht zu starr als getrennte Strategien zu nutzen, sondern sie vielmehr als konzeptionelle Ansätze miteinander zu verknüpfen, sodass ein *Suspected* Screening je nach zuvor gewähltem Priorisierungsansatz und der Möglichkeit des Nutzens von Referenzen und Spektrenbibliotheken entweder dem *Target* Screening näherkommt oder beim Screenen nach mehreren 1.000 Verbindungen und dem Vorhandensein weniger Informationen ähnlich dem *Non-Target* Screening angesehen werden kann. Mit dem in dieser Arbeit gewählten Ansatz nach Substanzen zu screenen, deren Referenzsubstanzen verfügbar waren, handelte es sich daher um ein *Suspected* Screening mit enger Verbindung zu einem *Target* Screening (Menger *et al.*, 2020).

Die Forschergruppe um de Voogt und Albergamo beschäftigt sich ebenfalls mit dem Vorkommen, dessen Verbleib und der Entfernung polarer Substanzen in und aus der wässrigen Umwelt (Albergamo *et al.*, 2019b). In einem groß angelegten *Non-Target* Screening von Uferfiltraten des Flusses Lek, einer der Hauptströme des Rheindeltas in den Niederlanden, konnten sie nach SPE und LC-HRMS eindeutig 25 bislang unbekannte, polare Substanzen im Uferfiltrat oder im natürlichen Gewässer nachweisen. Um auf ihr Vorhandensein aufmerksam zu machen und um ggf. Konzepte für eine potenzielle Entfernung zu erarbeiten, wurden die Massenspektren der identifizierten Substanzen in öffentliche Massenspektrenbibliotheken

hochgeladen und eine Liste der Verunreinigungen den lokalen Trinkwasserversorgern zur Verfügung gestellt (Albergamo *et al.*, 2019b). In einer weiteren Arbeit nutzten die Autoren die Direktinjektion sowie ein SPE-Protokoll (Oasis HLB) mit anschließender LC-HRMS zum Screenen eines Oberflächenwassers, eines Uferfiltrates sowie dessen Aufbereitung mittels Umkehrosmose (Permeat); (Albergamo *et al.*, 2018). Das Screening wurde für 33 polare Spurenstoffe (Herbizide, Süßstoffe, Pharmaka, Industriechemikalien) durchgeführt. Saccharin und Acesulfam waren ebenfalls, wie in der hier vorliegenden Studie, untersuchte Substanzen. Acesulfam wurde in Konzentrationen bis $1 \mu\text{g L}^{-1}$ im Oberflächenwasser detektiert und konnte weder im Uferfiltrat noch im Permeat nachgewiesen werden. Saccharin wurde lediglich im Uferfiltrat identifiziert (Albergamo *et al.*, 2018). Auch in der hier publizierten Arbeit konnten Acesulfam und Saccharin nicht in dem untersuchten Permeat der Umkehrosmose nachgewiesen werden. Darüber hinaus stellten Albergamo *et al.* in weiterführenden Arbeiten die Wirksamkeit verschiedener Membranen der Umkehrosmose für 30 verschiedene hochpolare Spurenstoffe dar (Albergamo *et al.*, 2020).

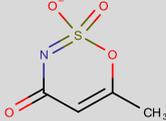
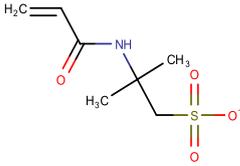
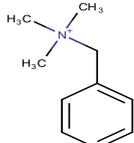
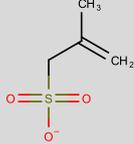
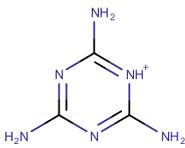
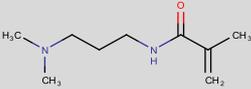
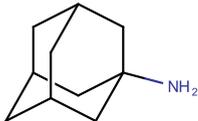
3.1.3 Entwicklung einer schnellen Methode zur quantitativen Bestimmung von *PMOCs* im Wasser

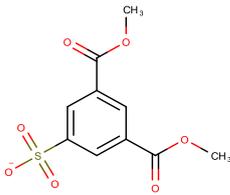
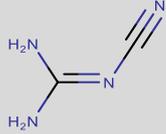
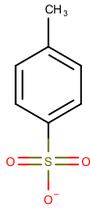
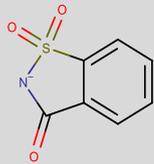
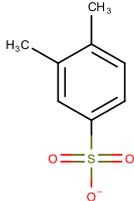
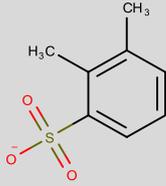
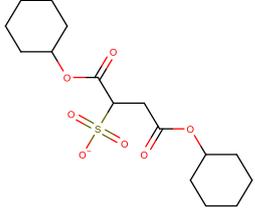
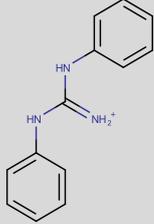
3.1.3.1 Zusammenfassung und Ergebnisse der Methodenentwicklung

Das Ziel dieser Studie war es, für wasserrelevante *PMOCs* eine quantitative Methode zu entwickeln und zu validieren. Der Fokus lag auf einer einfachen und schnellen Probenvorbereitung, um bei Bedarf viele Proben mit vergleichsweise wenig Arbeitsaufwand per SFC-HRMS analysieren zu können. Dabei sollte ein breites Spektrum chemisch verschiedener *PMOCs* abgedeckt werden (verschiedene funktionelle Gruppen, Ladungszustände, Molekulargewichte). Die validierte Methode fand in der Analyse von Oberflächenwasser, Grundwasser, Rohwasser und Trinkwasser ihre Anwendung. Die Methoden und Ergebnisse dieser Arbeit sind in der Publikation „*A rapid method for quantification of persistent and mobile organic substances in water using supercritical fluid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry*“ (Abschnitt 5.3) ausführlich beschrieben. Relevante Punkte der Veröffentlichung werden hier zusammengefasst und diskutiert.

Im Rahmen des zuvor durchgeführten *PMOC*-Screenings in europäischen Gewässerproben konnten mit Hilfe verschiedener chromatographischer Methoden 43 polare und mobile Industriechemikalien im Wasser nachgewiesen werden (siehe Abschnitt 3.1.2 und Publikation unter 5.2). Aus dieser Liste wurde für 17 modellhafte *PMOCs* eine Probenvorbereitungs- und SFC-HRMS-Methode entwickelt ($\log D -3,06 - 1,23$). **Tabelle 8** gibt einen Überblick über die Substanzauswahl und in welcher Häufigkeit diese Stoffe bereits im vorherigen Screening (siehe 5.2) detektiert wurden.

Tabelle 8: Stoffübersicht für die Methodenentwicklung und Detektionshäufigkeit der Analyten im vorhergehenden Screening.

Index	Substanz	log <i>D</i> (pH 7.0) ¹	Struktur (Hauptstruktur bei pH 7.0) ¹	Detektionshäufigkeit in Wasserproben im Screening (siehe 5.2)
ACE	Acesulfam (K)	-3,06		13/14
AAMPS	2-Acrylamino-2-methylpropan-sulfonsäure	-2,71		14/14
HHTMP	4-Hydroxy-1-(2-hydroxyethyl)-2,2,6,6-tetramethylpiperidin	-2,62		1/14
BTMA	Benzyltrimethylammonium	-2,24		7/14
MPSA	2-Methyl-2-propen-1-sulfonsäure	-2,21		5/14
MEL	Melamin	-2,02		14/14
DMPMA	<i>N</i> -(3-(Dimethylamino)propyl)methacrylamid	-1,85		3/14
ATA	Adamantan-1-amin	-1,49		12/14
TFMSA	Trifluormethan-sulfonsäure	-1,23		13/14

DMSP	Dimethyl 5-sulfoisophthalat	-1,22		1/14
CG	Cyanoguanidin	-1,03		8/14
TSA	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure	-0,71		14/14
SAC	Saccharin	-0,49		4/14
3,4-DMBSA ²	3,4-Dimethylbenzol-sulfonsäure	-0,20		13/14 ¹
2,3-DMBSA ²	2,3-Dimethylbenzol-sulfonsäure	-0,20		13/14 ¹
DCHSS	Dicyclohexyl-sulfobbernsteinsäure	0,42		4/14
DPG	1,3-Diphenylguanidin	1,23		14/14

¹ Berechnet mit Hilfe von ChemAxon.² Im Rahmen des Screenings wurden die beiden Isomere 3,4-DMBSA und 2,3-DMBSA nicht getrennt voneinander betrachtet.

In der Arbeit „*Occurrence of emerging persistent and mobile organic contaminants in European water samples*“ (Abschnitt 5.2) wird aufgezeigt, welchen enormen Aufwand es bedeutete, ein derart breites Spektrum an Substanzen analytisch abzudecken. Allein in der vorliegenden Studie wurden vier verschiedene Probenanreicherungsverfahren angewandt. In der vorgestellten Arbeit wurde bereits durch Zahn und später durch Köke *et al.* das Eindampfen von Wasserproben zur Probenanreicherung genutzt (Köke *et al.*, 2018). Das Verdampfen von reinem Wasser ist aber mit einem immensen Zeitaufwand verbunden. Daher wurde in der hier vorliegenden Arbeit ein azeotropes Gemisch durch Zugabe von Acetonitril genutzt (AZEVP). 4 mL Wasserprobe wurde mit 21 mL Acetonitril versetzt, sodass sich ein Azeotrop mit Dampfdruckmaximum bildete und sich ein Siedepunktminimum bei 76,8 °C einstellte, wodurch sich die Proben unter einem Argonstrom wesentlich schneller eindampfen ließen als reine Wasserproben. Nach dem Eindampfen und dem Erreichen des Zielvolumens von 100 µL wurde ein Anreicherungsfaktor von 40 erzielt. Im Vergleich dazu wurde mittels SPE (*Enrichment V – VIII* siehe 5.2) unter Mehraufwand ein Anreicherungsfaktor von 50 erreicht.

Über eine BEH-Säule im positiven ESI-Modus und eine Torus Diol-Säule im negativen ESI-Modus wurden im Anschluss mittels SFC-HRMS die Validierungsparameter bestimmt (instrumenteller und methodischer LOD, LOQ, Blindwerte, Linearität, Wiederfindungen, Matrixeffekte, Genauigkeit). Eine Zusammenfassung aller Validierungsparameter ist in *Table 1* unter 5.3 zu finden. Die Wiederfindungsraten für die Probenaufbereitung (AZEVP) lagen für die Mehrheit der Analyten zwischen 60 % und 110 %. Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen untersuchtem Trink- und Oberflächenwasser. Bei der Bestimmung der Matrixeffekte wurden signalunterdrückende (*signal suppression*) und -verstärkende (*signal enhancement*) Effekte beobachtet. Obwohl keine der Substanzen im Totvolumen eluierte, wurden für die Mehrheit der Substanzen Signalunterdrückungen festgestellt. Für einige Substanzen wie ACE, MPSA, 3,4-DMBSA und DCHSS waren diese Effekte sehr stark ausgeprägt (~ -40 %). Eine wirkliche Signalverstärkung wurde nur für drei Substanzen (MEL, TSA, 2,3-DMBSA) mit bis zu +41 % gezeigt. In der Arbeit von Montes *et al.* wurden ebenfalls die Matrixeffekte von PMOCs mittels SPE-MMLC-MS/MS untersucht. Diese reichten für vereinzelte Analyten bis zu +250 % (Montes *et al.*, 2019). Obwohl die Matrix durch die entwickelte AZEVP-Methode keine Abtrennung erfährt, wurden mittels AZEVP-SFC-HRMS keine größeren Matrixeffekte beobachtet als durch Methoden, die der SPE-Probenvorbereitung unterliegen. Diesen Vergleich unterstützt auch die Arbeit von Köke *et al.*, bei der Wasserproben mit polaren Substanzen versetzt wurden und mittels SPE sowie parallelem Eindampfen aufgearbeitet wurden und kein Mehrgewinn hinsichtlich Matrixeffektreduktion für die SPE zu erkennen war (Köke *et al.*, 2018). Dennoch sind die Matrixeffekte nach den Untersuchungen der hier vorliegenden Arbeit noch nicht ausreichend genug verstanden, wie auch das Beispiel der beiden Isomeren 2,3-DMBSA (leichte Signalverstärkung) und 3,4-DMBSA (deutliche Signalunterdrückung) zeigt. Weitere Untersuchungen hierzu, z. B. mittels Nachsäuleninfusion der Substanzen in ein HRMS, wären demzufolge ratsam.

Die Substanzen HHTMP, MEL, TFMSA und DPG waren während der Analytik allgegenwärtig und in allen instrumentellen und methodischen Blindproben enthalten. TSA, 3,4-DMBSA und 2,3-DMBSA waren ebenfalls in den Methodenblindproben zu finden. Bei all diesen Stoffen handelt es sich um Substanzen, die in großen Mengen produziert werden und hauptsächlich in Plastikartikeln als Prozessadditive zum Einsatz kommen. Daher ist deren Vorhandensein in Blindproben nicht überraschend. Die instrumentellen Nachweisgrenzen (LOD) lagen absolut je nach Analyten zwischen 0,02 und 10 pg, die methodischen LODs zwischen 2 und 50 ng L⁻¹. Die methodischen Bestimmungsgrenzen (LOQ) ergaben je nach Analyt Werte zwischen 5 und 90 ng L⁻¹. Die Bestimmungsgrenzen für diese Methode (AZEVAP-SFC-HRMS) lagen damit im selben Bereich wie die durch Montes *et al.* mittels SPE-MMLC-MS/MS bestimmten Validierungsparameter (Montes *et al.*, 2019). Bei diesem Vergleich gilt es aber, die beiden unterschiedlichen Detektionsmethoden im Blick zu behalten, denn in der Regel kann mit MS/MS empfindlicher gearbeitet werden als mit HRMS. Für 15 der 17 Substanzen wurde durch weitere Dotierungsexperimente die Genauigkeit (Richtigkeit + Präzision) bestimmt. Für MEL waren die Blindwerte der dotierten Realprobe zu hoch und für CG die Linearität zu gering, sodass diese Substanzen nicht betrachtet werden konnten. Die Präzision lag für die restlichen Substanzen zwischen 4 % und 14 % für das genutzte Oberflächenwasser der Mulde sowie zwischen 2 % und 32 % für Leitungswasser. Auch hier waren die Ergebnisse vergleichbar mit den durch Montes *et al.* mittels SPE-MMLC-MS/MS bestimmten Werten für die Präzision. Die Richtigkeit der AZEVAP-SFC-HRMS-Methode, angegeben als prozentuale Abweichung der quantifizierten Konzentration von der dotierten Konzentration, lag für Oberflächenwasser zwischen -25 % und +64 % und für Leitungswasser zwischen -58 % und +73 %. Diese geringe Genauigkeit für Leitungswasser lässt sich durch die 10fach niedriger dotierten Mengen an Analyten in das Trinkwasser im Vergleich zum Oberflächenwasser erklären. Auch wenn die Methodengenauigkeit hier nicht optimal ist und mit anderen Verfahren, wie z. B. der Standardaddition, bessere Werte erzielt werden können, hat die hier präsentierte Methode dennoch ihre Daseinsberechtigung, da sie durch ihre Schnelligkeit und einfache Anwendung punktet und besonders für großangelegte Probensätze im Rahmen eines Screenings geeignet ist.

Die hier entwickelte AZEVAP-SFC-HRMS-Methode wurde im Anschluss an die Validierung auf sechs Realproben angewandt. Darunter befand sich ein zusammenhängendes Probenset aus Berlin, bestehend aus einem Oberflächenwasser, dem daraus resultierenden Rohwasser und dem fertigen Trinkwasser. Des Weiteren wurden zwei Grundwasserproben und ein Trinkwasser aus Hessen untersucht. Die neun Substanzen ACE, HHTMP, MEL, ATA, TFMSA, TSA, SAC, 3,4-DMBSA und DPG wurden in mindestens einer der sechs untersuchten Proben nachgewiesen. In der Regel waren die Substanzen in niedrigen Konzentrationen < 100 ng L⁻¹ enthalten, mit Ausnahme von Acesulfam und Trifluormethansulfonsäure, die im mehrstelligen µg L⁻¹-Bereich bestimmt wurden, was der Literatur entspricht (Buerge *et al.*, 2009; Ruff *et al.*, 2015; Zahn *et al.*, 2016). Folgende sechs Substanzen wurden in den untersuchten

Trinkwasserproben nachgewiesen: ACE, HHTMP, MEL, ATA, TSA und 3,4-DMBSA. Anhand dieser Trinkwasserbefunde zeigt sich nochmals, dass es von großer Bedeutung ist, bisher noch bestehende Wissenslücken über persistente und mobile Chemikalien in unseren Wasserkreisläufen zu schließen und mit Hilfe geeigneter analytischer Methoden zu bearbeiten.

Um über die Methodvalidierung hinaus einen chromatographischen Vergleich der SFC mit der RPLC aufzuzeigen, wurden in dieser Arbeit alle Standards in ein RPLC-MS/MS-System injiziert und mit einer optimierten Methode untersucht (siehe *Figure 2* unter 5.3). Acht der mittels RPLC aufgetrennten Substanzen eluierten in oder nahe des Totvolumens, was in der SFC vermieden werden konnte. Eine ähnliche Beobachtung wurde bereits in der Screening-Arbeit mit Hilfe der Darstellung der Retentionskapazitätsfaktoren k' unter 5.2 aufgezeigt (siehe *Figure S3* und *S4* unter A2). Neun Substanzen zeigten eine gute Retention auf der RP-Säule, sechs der neun Substanzen allerdings mit schlechten Peakformen. Mit der SFC waren auch die beiden Isomere 2,3-DMBSA und 3,4-DMBSA aufzutrennen, was in der RPLC durch Totzeitelution der Substanzen nicht zu erreichen war. Eine allgemeine Trennung der Isomere und im Speziellen der Konfigurationsisomere ist für die SFC unlängst bekannt und in der Literatur beschrieben (Kalíková *et al.*, 2014).

3.1.3.2 Einordnung der Ergebnisse in die aktuelle Literatur

Zur Betrachtung des aktuellen Forschungsstandes sowie der Einordnung der vorliegenden Arbeit werden im Anschluss weitere Arbeiten aus der Literatur diskutiert, die bisher nicht unter 5.3 erwähnt wurden.

In der Arbeit von Akbal und Hopfgartner wurde die SFC-HRMS mit der RPLC und HILIC in der Urinanalyse von Metaboliten verschiedener Substanzklassen und chemischer Eigenschaften hinsichtlich ihrer Ionisierungsleistung, Analysezeit und Analytidentifizierung verglichen (Akbal; Hopfgartner, 2020). Unter Verwendung einer Diolsäule war die gewählte SFC-Methode in der Lage, 20 polare Analyten zu retardieren und zu trennen, die mittels RPLC bereits in der Totzeit eluierten. Allerdings war auch rund ein Viertel der betrachteten Metaboliten, die mit den anderen beiden Methoden chromatographisch getrennt und im Anschluss analysiert werden konnten, nicht durch die SFC analysierbar. Die Autoren kamen im Rahmen ihrer Arbeit ebenfalls zu dem Schluss, dass keines der drei betrachteten Systeme die komplette chemische Vielfalt der Analyten abdecken kann. HILIC-MS wies Vorteile in der Analyse polarer Analyten im Gegensatz zur RPLC auf. Vor allem, weil der hohe Anteil der organischen Phase die Ionisierung in der ESI-MS verbessert, bei zugleich guter Retention der Analyten auf der Säule. Der Hauptvorteil der SFC wurde in der Möglichkeit gesehen, in kurzer Zeit viele Proben mit guter chromatographischer Auflösung zu analysieren und die chromatographischen Bedingungen getrennt steuern zu können, da die ESI-Bedingungen separat mit einem Make-Up-Flow beeinflusst werden können. Bei Verwendung der HILIC bedarf es hingegen langer Equilibrierungszeiten. Zur Detektion wurde ebenfalls die HRMS genutzt (Akbal; Hopfgartner,

2020). Bei einer höher erforderlichen Sensitivität können die Methoden allerdings auch leicht auf Triple-Quadrupol-Instrumente übertragen werden. Dies wäre auch für die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte SFC-Methode eine Option, um die Empfindlichkeit der Methode zu erhöhen und niedrigere Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (LOD/LOQ) zu erzielen.

In der Arbeit von Xhaferaj *et al.* wurde die SFC zur Analytik hochpolarer und ionischer Pharmaka und deren Metabolite ($-4,7 < \log D < 0$) im Urin an ein Tandem-Massenspektrometer gekoppelt (Xhaferaj *et al.*, 2020). Dabei wurde die Methode umfangreich in Bezug auf die optimale Modifizierzusammensetzung, mögliche Pufferzugaben, eine geeignete SFC-Säule, den Gradienten, die Temperatur, den Rückdruck und die Flussrate hin optimiert. Zudem wurden in dieser Arbeit auch die Matrixeffekte mit einer matrixangepassten Kalibrierung in menschlichem Urin bestimmt. Für drei der sieben untersuchten Substanzen wurden trotz komplexer Urinmatrix keine Matrixeffekte beobachtet. γ -Butyrobetain und Ethylsulfat wiesen eine Signalverstärkung und γ -Hydroxybuttersäure- β -O-Glucuronid sowie Ethyl- β -D-Glucuronid eine Signalabschwächung auf. Auch in der Arbeit von Xhaferaj *et al.* konnte keine umfangreiche Erklärung für die Beobachtungen der Matrixeffekte bei der SFC-MS/MS gegeben werden (Xhaferaj *et al.*, 2020).

Ein Review von Angeles und Aga beschäftigte sich auch mit dem Thema der *PMOCs* und den aktuellen Möglichkeiten der Probenvorbereitung und analytischer Verfahren, um diese in Wasser zu bestimmen (Angeles; Aga, 2020). Sie kamen ebenfalls zu dem logischen Schluss, dass es bislang kein Verfahren gibt, das in der Lage ist, alle *PMOCs* mit nur einer Methode in Umweltproben nachzuweisen. Die Methode des Eindampfens im Rahmen der Probenvorbereitung wurde ebenfalls erwähnt, wenngleich die dabei parallele Anreicherung der Matrix als nachteilig beschrieben wurde. Hinsichtlich anschließender Chromatographie der polaren Stoffe verweisen die Autoren auch auf die Möglichkeiten von HILIC, MMLC, der seriellen Kopplung von Säulen (bspw. RPLC und HILIC) und eben auch der in dieser Arbeit angewandten SFC (Angeles; Aga, 2020). Ein ähnlicher Review mit der Erweiterung um die Ionenchromatographie für ionische Verbindungen ist kürzlich durch Knoll *et al.* publiziert worden (Knoll *et al.*, 2020). Dabei fassten sie die Möglichkeiten der Methoden, gemessen am $\log D$ -Wert, wie in **Abbildung 19** dargestellt zusammen. Es wird dabei ersichtlich, dass die SFC, auch wenn sie nicht für alle Analyten erfolgreich eingesetzt werden kann, in der Lage ist, einen sehr breiten Polaritätsbereich zu bedienen. Bei analytischen Fragestellungen über einen großen Polaritätsbereich ist dies ein weiterer erwähnenswerter Vorteil gegenüber der RPLC und HILIC.

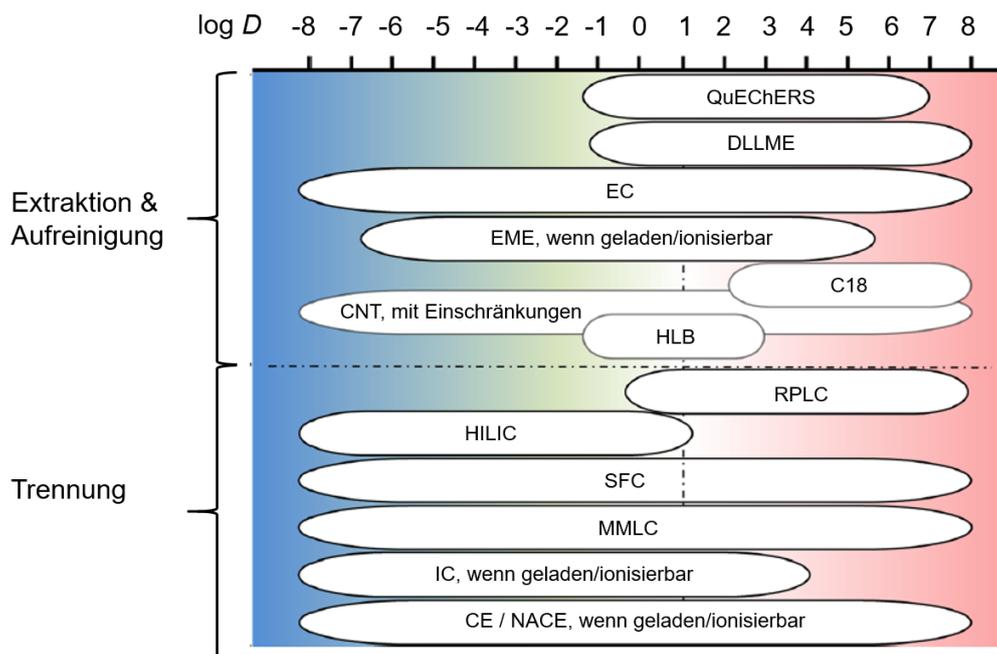


Abbildung 19: Überblick analytischer Methoden über ein breites Polaritätsspektrum, modifiziert nach Knoll *et al.*, 2020.

Die Arbeit von Konya *et al.* beschäftigte sich mit der Analytik hydrophiler Metaboliten. Dafür wurde die SFC mit einer isokratischen Methode für 43 polare Metaboliten ($-5,9 < \log P_{OW} < 1,7$) angewandt (Konya *et al.*, 2020). Die Autoren werben damit, eine besonders lösungsmittelsparende Methode entwickelt zu haben. Wie unter 2.4.3.4 beschrieben, benötigt es zusätzlich zum eingesetzten CO_2 in der mobilen Phase noch ein weiteres Lösungsmittel. Wie auch in der im Rahmen der vorliegenden Arbeit entwickelten Methode (siehe 5.3) nutzen die meisten publizierten SFC-Methoden für hochpolare Analyten während eines Gradientenlaufes mindestens 40 % eines organischen Lösungsmittels. Die mobile Phase der optimierten Methode von Konya *et al.* setzte sich isokratisch folgendermaßen zusammen: CO_2 / Methanol / Wasser / Trifluoressigsäure in den Volumenverhältnissen 70 / 27 / 3 / 0,15 (Konya *et al.*, 2020). Da es sich hier um einen isokratischen Lauf handelt und sich bei der in dieser Arbeit entwickelten Methode und vielen anderen publizierten SFC-Methoden eines Gradienten bedient wird, kann über einen ganzen Lauf betrachtet nicht von einer Lösungsmittelsparung gesprochen werden. Die SFC wird in der Literatur und in verschiedenen Werbeversprechen der Hersteller häufig als eine vergleichsweise „grüne Methode“ bezeichnet (Inamuddin; Mohammad, 2014). Davon kann aber beim genaueren Betrachten der verbrauchten Lösungsmittelmengen nicht gesprochen werden. Es sollte also nicht außer Acht gelassen werden, dass der Lösungsmittelverbrauch beim Nutzen der SFC, entgegen möglicher Werbeversprechen der Hersteller, durch die Zugabe des organischen Modifiers und auch durch den erforderlichen Make-Up-Flow vor der Ionisierung nicht unerheblich ist.

3.2 Unveröffentlichte Ergebnisse – *PMOC*-Screening in verschiedenen Trinkwasseraufbereitungsprozessen

Ziel dieser bisher nicht veröffentlichten Studie war es, weitere Informationen über das Vorkommen von ausgewählten *PMOCs* in Roh- und Trinkwasser und deren Verhalten während der Trinkwassergewinnung zu erlangen. Dafür wurde die in der Publikation unter 5.3 und unter Abschnitt 3.1.3 vorgestellte Methode verwendet, die zur Probenanreicherung das azeotrope Eindampfen und die anschließende SFC-HRMS-Analytik nutzt. Mit Hilfe dieser Methode wurden quantitative Daten erzeugt, die einen weiteren Eindruck über die Relevanz der neuartigen *PMOCs* in unserem Wasserkreislauf geben. Das Vorgehen und die Ergebnisse dieser Arbeit sind im Abschnitt 6 „*PMOC*-Screening in verschiedenen Trinkwasseraufbereitungsprozessen“ ausführlich beschrieben. Einige wichtige Aspekte der Arbeiten werden hier zusammengefasst.

Nach 15 ausgewählten polaren Analyten (siehe Anhang A4 Tabelle S1) mit log *D*-Werten zwischen -3,06 und 2,25 wurde in Wasserproben von vier verschiedenen, konventionellen Trinkwasseraufbereitungsanlagen, einer Pilotanlage, die mittels Umkehrosmose Rohwasser aufarbeitet, und im fertig aufbereiteten Trinkwasser in drei aufeinander folgenden Monaten gescreent. Die Grund- und Oberflächenwässer, welche die Rohwässer der Trinkwasseraufbereitung darstellten, stammten aus urbanen Räumen aus Spanien, Deutschland, Frankreich und den Niederlanden.

Es wurden 11 der 15 Analyten in mindestens einer der untersuchten Proben eindeutig nachgewiesen. Die Konzentrationen lagen im einstelligen ng L⁻¹-Bereich für z. B. 1,3-Di-*o*-tolylguanidin und Bisphenol S bis in den zweistelligen µg L⁻¹-Bereich für Acesulfam und Trifluormethansulfonsäure. Substanzen wie Acesulfam, 4-Hydroxy-1-(2-hydroxyethyl)-2,2,6,6-tetramethylpiperidin, Melamin, Trifluormethansulfonsäure und Cyanoguanidin wurden häufig nachgewiesen (in mindestens 40 % der Proben). Aber auch das bisher wenig im Fokus der Wasseranalytik stehende 1,3-Diphenylguanidin konnte in 24 % der Proben detektiert werden.

Im Allgemeinen war zu erkennen, dass die Rohwässer etwas stärker belastet waren als die entsprechenden Trinkwasserproben. Dennoch wurden 7 der 15 *PMOCs* zumindest auch vereinzelt im Trinkwasser nachgewiesen. Als besonders erwähnenswert gelten hier neben den bereits bekannten Stoffen des Trinkwasserkreislaufs, wie Acesulfam, Saccharin und Melamin, die Stoffe Cyanoguanidin, 1,3-Diphenylguanidin und Trifluormethansulfonsäure (Buerge *et al.*, 2009; Ruff *et al.*, 2015; Scheurer *et al.*, 2009). Hierbei handelt es sich um Stoffe, denen bis zum Zeitpunkt dieser Untersuchung, vor allem außerhalb des PROMOTE-Projektes, wenig bis keine Aufmerksamkeit geschenkt wurde. Traten Trifluormethansulfonsäure und Cyanoguanidin im Rohwasser auf, konnten sie nach konventioneller Trinkwasseraufbereitung nicht eliminiert werden. Es überraschte, dass 1,3-Diphenylguanidin, ein wesentlicher Stoff der Polymerisierung von Reifenmaterial, nicht im aufbereiteten Trinkwasser nachgewiesen

werden konnte, denn laut Zahn *et al.* ist er weitestgehend stabil in der konventionellen Trinkwasseraufbereitung (Zahn *et al.*, 2019). Da diese Versuche unter Laborbedingungen stattfanden, ist es gut möglich, dass diese von den tatsächlichen Gegebenheiten in der Trinkwasseraufbereitung abweichen und nicht alle Einflussfaktoren berücksichtigt wurden. In weiteren Versuchen konnte kürzlich gezeigt werden, dass 1,3-Diphenylguanidin unter Bildung zahlreicher toxischer Transformationsprodukte während der Desinfektion durch Chlor abgebaut werden kann (Sieira *et al.*, 2020). Eine ebenfalls erwähnenswerte Methode der Abreicherung von *PMOCs* aus Wasser ist die Umkehrosmose. Innerhalb der konventionellen Aufbereitung konnten beispielsweise Trifluormethansulfonsäure ebenso wie auch Acesulfam und Saccharin nicht abgetrennt werden. In Trinkwasser, welches mittels Umkehrosmose aufbereitet wurde, wurden diese Stoffe jedoch nicht mehr nachgewiesen. Auch in der vorangegangenen Arbeit war ein solcher Trend zu erkennen (siehe Ergebnisse und Diskussion unter 3.1.2). Albergamo *et al.* zeigten das Potenzial der Umkehrosmose für die Aufbereitung von Trinkwasser gegenüber polaren Stoffen in ihrer Arbeit auf. Probleme scheint es jedoch für kleine neutrale, polare Stoffe zu geben, die die getesteten Membranen ungehindert durchdringen können (Albergamo *et al.*, 2019a; Albergamo *et al.*, 2020).

Limitiert war die vorliegende, bisher unveröffentlichte Arbeit durch ihre Datenqualität aufgrund einer zu geringen Probenzahl, was dazu führte, dass die Ergebnisse innerhalb des 3-monatigen Beprobungszeitraumes nicht immer ganz schlüssig waren. Der Umfang dieser Studie genügte somit nicht, um für alle detektierten Substanzen eine abschließende Bewertung hinsichtlich ihres Verhaltens während der Trinkwasseraufbereitung abzugeben. In einigen Fällen waren die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der Methode im Bereich der Analytkonzentrationen der Rohwässer, sodass eine Beurteilung ebenfalls schwierig ist. Hier empfiehlt es sich, weitere Arbeit in die Methodenoptimierung zu investieren, um die Matrixeffekte besser kalkulieren oder gar unterdrücken zu können, Blindwertprobleme zu identifizieren und ggf. beheben zu können und daraus folgend Nachweis- und Bestimmungsgrenzen weiter zu senken.

Wie in der Arbeit unter 5.2 aufgezeigt, ist eine Methode allein derzeit nicht in der Lage, eine große Anzahl an verschiedenen *PMOCs* in ausreichender Qualität in den Wasserproben analysieren zu können, sodass es gegenwärtig noch notwendig ist, mehrere Methoden parallel zueinander anzuwenden. Mit der hier vorgestellten Arbeit konnte aber gezeigt werden, dass die SFC mit vorheriger Probenanreicherung über das AZEVAP-Verfahren ein geeignetes analytisches Verfahren ist, um ausgewählte *PMOCs* im Trinkwasserkreislauf zu identifizieren und zu quantifizieren.

Abbildung 20 gibt nochmals einen zusammenfassenden Überblick darüber, welche der in den Rohwasserproben detektierten *PMOCs* im Rahmen welcher Trinkwasseraufbereitungsverfahren entfernt, teilweise entfernt oder überhaupt nicht entfernt werden konnten.

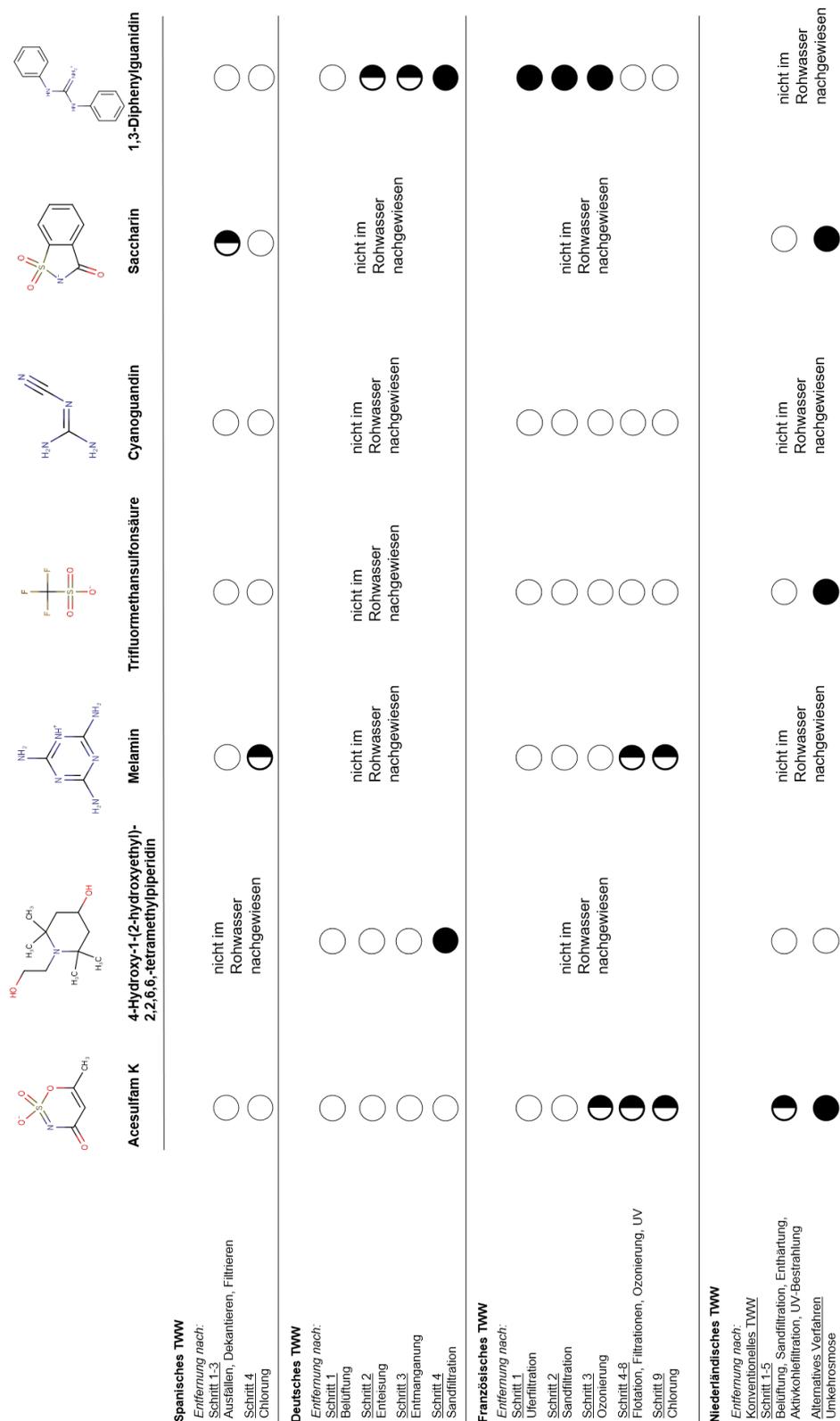


Abbildung 20: Entferungsverhalten einiger PMOCs während der Trinkwasseraufbereitung in verschiedenen Trinkwasserwerken (TWW).

Vollständige Entfernung des Analyten ● (PMOC im Rahmen der durchgeführten Analytik nicht mehr nachweisbar); keine Entfernung des Analyten ○; teilweise Entfernung des Analyten ◐

4 Zusammenfassung und Ausblick

Übergeordnetes Ziel dieser Arbeit war es, derzeit bestehende Wissenslücken über persistente, mobile, organische Industriechemikalien zu bearbeiten und teilweise bereits schließen zu können. Die Ergebnisse dieser Arbeit führten zur Entwicklung neuer spurenanalytischer Methoden, die sich für hochpolare Chemikalien in Wasserproben als geeignet erwiesen. Sie wurden eingesetzt, um bisher unbekannte *PMOCs* in Roh- und Trinkwässern zu identifizieren und erste quantitative Daten zu generieren. Es konnten somit teilweise die bislang bestehende analytische Lücke sowie Wissenslücken hinsichtlich des Vorkommens von *PMOCs* in der aquatischen Umwelt bearbeitet werden. Auch wenn gemäß dem Vorsorgeprinzip des deutschen Umweltrechtes diese Stoffe gar nicht erst in unsere Gewässer gelangen sollten, ist die Realität derzeit leider meist noch so, dass erst aufgezeigt werden muss, dass ein Stoff in der Umwelt nachgewiesen und als problematisch identifiziert wurde, bevor dieser tatsächlich regulatorisch bearbeitet wird. Dies zeigt noch einmal die immense Wichtigkeit des Vorhandenseins analytischer Methoden auf.

Mittels eines *in-silico*-Priorisierungsansatzes, der REACH-Daten nutzte, erfolgte zunächst eine Stoffauswahl an persistenten, mobilen Industriechemikalien, die Potenzial haben, in die Umwelt zu emittieren. Für ausgewählte Stoffe dieser Priorisierung wurde ein erstes Screening in der Umwelt mit SFC-HRMS und LC-MS/MS durchgeführt, um zu untersuchen, welche der priorisierten Substanzen tatsächlich in trinkwasserrelevantem Wasser vorkommen. Daraufhin wurde eine schnelle, quantitative Multianalytmethode mittels azeotroper Probenanreicherung und anschließender SFC-HRMS entwickelt, die anschließend in einem Monitoring für die quantitative Bestimmung von ausgewählten *PMOCs* in trinkwasserrelevanten Proben eingesetzt wurde und einen ersten Eindruck über deren Verbleib während der Trinkwasseraufbereitung vermittelte.

Für die Priorisierung und die damit verbundene anschließende Stoffauswahl wurde ein Verfahren entwickelt (beschrieben unter Abschnitt 3.1.1), das 13.159 Industriechemikalien hinsichtlich einer potenziellen Umweltemission zueinander einordnete. Dafür wurden unter REACH erhobene Daten wie die Gesamttonnage und die Verwendungsbeschreibungen der Stoffe genutzt, um ein Scoring-System zu entwickeln, das auch auf weitere Priorisierungsarbeiten mit anderen Fragestellungen anwendbar ist. Dabei konnte für 68 % der Stoffe eine Einteilung hinsichtlich der Umweltemission vorgenommen werden. Für die verbleibenden Industriechemikalien erfolgte aufgrund eines Informationsmangels bzw. nicht schlüssiger Daten keine Bewertung hinsichtlich ihrer Umweltemission. Diese inakzeptablen Mängel der REACH-Daten stehen im Fokus des Umweltbundesamtes und wurden ebenfalls bereits bemängelt und bewertet (Oertel *et al.*, 2018). Nach der durchgeführten Priorisierung wurde 49 % (6.482 Stoffe) der Substanzen eine mögliche Umweltemission zugesprochen. In der veröffentlichten Arbeit unter 5.1 wurde dieses Emissionsmodell auf 2.167 persistente und

mobile Stoffe angewandt, die zuvor durch Arp *et al.* als solche identifiziert wurden (Arp *et al.*, 2017). Es wurden 1.110 Stoffe, davon 174 Vorläuferverbindungen, ermittelt, die als persistent, mobil und mit einer potenziellen Umweltemission bewertet wurden. Für die 29 Verbindungen, in denen es einen Mangel an Daten gab, konnte aufgrund des überschaubaren Substanzpools eine manuelle Nacharbeitung der fehlenden Datenpunkte für 26 Stoffe durchgeführt werden. Hierfür wurden öffentlich verfügbare Daten der ECHA genutzt. Parallel zu diesem *in-silico*-Priorisierungsansatz führten Montes *et al.* und Zahn *et al.* ein *Suspected* bzw. ein *Non-Target* Screening durch (Montes *et al.*, 2017; Zahn *et al.*, 2016). Mit Hilfe dieser beiden Ansätze konnte gezeigt werden, dass die entwickelte *PMOC*-E-Score-Priorisierung in der Lage war, ebenfalls 9 der 14 durch Montes *et al.* identifizierten Stoffe sowie auch die durch Zahn *et al.* identifizierte Trifluormethansulfonsäure aufzudecken. Die unter Anhang A1 in Tabelle S1 und S2 zu findenden Stofflisten waren Ausgangspunkt für das nachfolgende *PMOC*-Screening (Schulze *et al.*, 2018). Hierfür wurde die Priorisierung als Grundlage für die Stoffauswahl herangezogen. Ein limitierender Faktor für das geplante *Target* Screening war jedoch die kommerzielle Beschaffung der jeweiligen Referenzstandards. Das anschließend durchgeführte Screening war aufgrund der positiven Umweltbefunde eine Bestätigung für die hier durchgeführte Priorisierung von Chemikalien.

Für das *Target* Screening, dessen Ergebnisse unter 3.1.2 zusammengefasst beschrieben sind, wurde kollaborativ in 14 rohwasserrelevanten Proben aus drei verschiedenen Einzugsgebieten dreier europäischer Länder nach 64 ausgewählten *PMOCs* mit 20 verschiedenen analytischen Methodenkombinationen gescreent (Schulze *et al.*, 2019). Mit Hilfe der in der vorliegenden Arbeit genutzten 16 Methodenkombinationen (SPE: WAX, MCX, ENV+, ENVI-Carb; LC: HSS T3, HypercarbTM; SFC: Torus Diol BEH) wurden 34 *PMOCs* in mindestens einer Wasserprobe identifiziert. Unter Betrachtung aller angewandten 20 Methoden wurden 43 *PMOCs* in mindestens einer Probe nachgewiesen. Dabei waren die untersuchten Grund- und Oberflächenwässer nahezu in gleichem Ausmaß kontaminiert, was die angenommene Persistenz und Mobilität der Stoffe bestätigt. Diese Ergebnisse, generiert durch eine Vielzahl analytischer Methoden, zeigen den komplementären Charakter der Methoden und die bisher bestehende Notwendigkeit, mehrere sich ergänzende Methoden in der *PMOC*-Analytik anzuwenden. Denn bislang ist keine Methode allein in der Lage, alle untersuchten Substanzen dieses breiten Spektrums an hochpolaren Analyten abzudecken und diese mit der notwendigen Zuverlässigkeit im Wasser nachzuweisen. Zu erwähnen seien zunächst sieben *PMOCs*, die mit großer Häufigkeit in den Proben nachgewiesen wurden und bis zum Zeitpunkt dieser Arbeit noch keine weitere Beachtung in der Literatur fanden. Diese waren Methylsulfat, 2-Acrylamino-2-methyl-1-propansulfonsäure, Benzyltrimethylammonium, Trifluormethansulfonsäure, 6-Methyl-1,3,5-Triazin-diamin, Benzoldimethylamin und 1,3-Di-*o*-tolylguanidin. Vor allem Trifluormethansulfonsäure erwies sich im weiteren Verlauf dieser Arbeit als ein neuartiger Umweltkontaminant von großer Bedeutung hinsichtlich seiner detektierten Umweltkonzentrationen, seiner Häufigkeit des Vorkommens und der

Nichtabbaubarkeit in der konventionellen Trinkwasseraufbereitung. Die im Rahmen dieses Screenings genutzte SFC-HRMS stellt sich gegenüber der RPLC-MS/MS vor allem durch ihre Fähigkeit, die zu analysierenden hochpolaren Stoffe auf der Säule zu retardieren, als positiv heraus. Auch wenn unter Verwendung der SFC-HRMS nicht wesentlich mehr *PMOCs* erfasst werden konnten als mittels LC-MS/MS, konnte mit der SFC-HRMS-Methode eine Retention der Analyten auf der Säule hergestellt werden. Eine Retention der *PMOCs* ist von Relevanz hinsichtlich einer späteren Quantifizierung, die sich für im Totvolumen eluierende Substanzen, z. B. durch Matrixeffekte, häufig als schwierig erweist. Zudem wird die Retentionszeit einer Substanz auch als ein Qualitätsmerkmal zum Ausschluss falsch-positiver Befunde herangezogen. Auf Grundlage der in diesem Screening genutzten SFC-Methode wurde im Anschluss eine schnelle Methode entwickelt, die zum Quantifizieren von rohwasserrelevanten *PMOCs* genutzt werden kann.

Für ein weiteres *Target* Screening, bei dem das Verhalten von *PMOCs* während der Trinkwasseraufbereitung untersucht und quantitative Daten erzeugt werden sollten, wurde eine analytische Methode entwickelt und validiert, die eine einfache und günstige azeotrope Anreicherung und nachfolgende SFC-HRMS nutzt. Mit dieser Methode ist man in der Lage, nach persistenten und mobilen Substanzen zu screenen. Die entwickelte Methode wurde für 17 *PMOCs* mit log *D*-Werten zwischen -3,06 und 1,23 validiert (Schulze *et al.*, 2020). Durch das Nutzen eines azeotropen Gemisches (Wasser/Acetonitril) konnte eine enorme Verkürzung der Probenvorbereitungszeit gegenüber der Festphasenextraktion oder dem einfachen Eindampfen der Wasserprobe erzielt werden. Neben den üblichen Validierungsparametern wie Blindwertbestimmung, Nachweis- und Bestimmungsgrenzen, Wiederfindungen und Genauigkeit wurden auch die Matrixeffekte bestimmt. Dabei wurden signalunterdrückende und -verstärkende Effekte beobachtet. Für einige Substanzen, wie z. B. Acesulfam, waren diese Effekte stark ausgeprägt (bis zu -60 %). Obwohl die Matrix durch die entwickelte Verdampfungsmethode keinerlei Abtrennung erfährt, wurden keine größeren Matrixeffekte beobachtet als durch Methoden, die die SPE-Probenvorbereitung nutzen (Montes *et al.*, 2019). Zu betonen ist allerdings auch, dass mit der hier entwickelten Methode zunächst lediglich 17 Stoffe untersucht wurden. Die azeotrope Anreicherung mit anschließender SFC-HRMS kann in zukünftigen Fragestellungen für die Analytik weiterer *PMOCs* genutzt werden, sollte dafür aber gesondert validiert werden.

Die entwickelte und validierte AZEVAP-SFC-HRMS-Methode wurde anschließend im Rahmen eines weiteren Monitorings genutzt, um an 20 Beprobungspunkten in fünf verschiedenen Regionen Deutschlands, Spaniens, Frankreichs und den Niederlanden in Gewässerproben nach 15 *PMOCs* zu screenen. Dabei konnten weitere Informationen über das Vorkommen ausgewählter *PMOCs* in Roh- und Trinkwasser, quantitative Daten und das Verhalten dieser Stoffe während der Trinkwassergewinnung erhalten werden. Es wurden 11 der 15 gesuchten Industriechemikalien in mindestens einer Probe eindeutig nachgewiesen. Die Konzentrationen

bewegten sich je nach Analyt und Probe im einstelligen ng L^{-1} -Bereich für z. B. 1,3-Di-*o*-tolyguanidin und Bisphenol S bis in den zweistelligen $\mu\text{g L}^{-1}$ -Bereich für Acesulfam und Trifluormethansulfonsäure. Die Untersuchung zeigt, dass Trifluormethansulfonsäure, Cyanoguanidin und Melamin sowie die Süßstoffe Saccharin und Acesulfam nicht ausreichend durch herkömmliche Wasseraufbereitungsverfahren entfernt werden konnten und sowohl im Rohwasser als auch im fertigen Trinkwasser in detektierbaren Mengen vorkamen. Mit der Umkehrosmose wurde eine Wasseraufbereitungsmethode untersucht, die beispielsweise in der Lage war, Acesulfam aus dem Wasser abzureichern. Über weitere Stoffe kann im Rahmen dieses Monitorings keine Aussage getroffen werden, da das entsprechende Rohwasser nicht ausreichend mit diesen kontaminiert war. In der vorangegangenen Screening-Arbeit wurde jedoch bereits mit semiquantitativen Daten gezeigt, dass die Umkehrosmose ein wirksames Mittel zur Abtrennung von z. B. Acesulfam, Sulfanilsäure, Adamantan-1-amin, Trifluormethansulfonsäure, Naphthalin-1-sulfonsäure, Dimethylbenzolsulfonsäure, Toluolsulfonamid und Ametryn sein kann (Schulze *et al.*, 2019). Die in der vorliegenden, unveröffentlichten Arbeit gewonnenen Erkenntnisse beziehen sich auf eine Handvoll Trinkwassereinzugsgebiete an drei genommenen Beprobungszeitpunkten. Somit ist der Umfang der Studie bisher als gering anzusehen. Es ergibt sich die Frage, inwieweit die hier erhaltenen Ergebnisse auf andere Einzugsgebiete zu unterschiedlichen Zeitpunkten übertragbar sind. Darüber hinaus war für einige Analyten die Nachweis- und Bestimmungsgrenze im Bereich der Analytkonzentrationen der Rohwässer, sodass eine Beurteilung ebenfalls schwierig ist. Eine weitere Methodenoptimierung wäre ratsam, um die Matrixeffekte näher zu beschreiben und ggf. unterdrücken zu können, Blindwertprobleme zu reduzieren und demzufolge auch die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen weiter zu senken.

Aus einer anfänglichen Liste von 1.110 potenziell in die Umwelt emittierenden, persistenten und mobilen Industriechemikalien wurden innerhalb eines Rohwasserscreenings 43 von 64 ausgewählten Stoffen in der Umwelt detektiert. Dieses Ergebnis lässt vermuten, dass sich noch weitere bisher unentdeckte Stoffe dieser Liste in unserem Wasserkreislauf befinden. In zukünftigen Arbeiten kann nach diesen Stoffen in Gewässerproben gescreent werden, um sich ein Bild über deren Vorkommen in der Umwelt zu machen. Die Liste ist publiziert und kann somit in weiteren Forschungsvorhaben für ein folgendes Screening herangezogen werden. Wie bereits erwähnt, fiel die Anzahl der Proben teilweise noch recht gering aus, sodass in weiteren Monitoringstudien nach den in dieser Arbeit identifizierten *PMOCs* gesucht werden kann, um weitere Daten, beispielsweise über Vorkommen, Quellen oder auch Auswirkungen, zu generieren. Um das Konzept der *PMOCs* auch auf das Konzept der *PMT*-Stoffe des Umweltbundesamtes zu übertragen, sind Toxizitätsdaten unabdingbar (Neumann; Schliebner, 2019; Rüdell *et al.*, 2020). Hierfür könnten ebenfalls Arbeiten folgen, die für bislang wenig untersuchte Stoffe Daten der Human- wie auch Ökotoxizität generieren, um bewerten zu können, welche Auswirkungen die auftretenden Konzentrationen der *PMOCs* tatsächlich haben.

Ein weiterer interessanter Punkt ist, dass die anfängliche Priorisierungsliste mit 1.110 Stoffen zwar auch bereits Vorläuferverbindungen umfasst, die zu persistenten und mobilen Substanzen hydrolysiert werden können, aber weitere mögliche Transformationsprozesse bisher nicht betrachtet wurden. Solche Transformationen von Substanzen, die zu *PMOCs* umgewandelt werden und so zunächst selbst nicht unter REACH oder in anderen Chemikalienvollzügen erfasst sind, können in der Umwelt direkt oder auch während der Trinkwasseraufbereitung oder Abwasserbehandlung stattfinden. Erwähnt seien hier die Photolyse, Oxidationen oder Reduktionen, Hydrolyse und Chlorung, die zur Bildung weiterer polarer, mobiler Transformationsprodukte führen können und somit ebenfalls ein weiteres, unerkanntes Problem für unseren Wasserkreislauf darstellen. In fortführenden Arbeiten sollten, wie auch schon beginnend in einer Arbeit von Zahn *et al.*, diese Prozesse genauer beleuchtet werden, die zur Bildung persistenter und mobiler Substanzen im Trinkwasserkreislauf führen können (Zahn *et al.*, 2019).

Obwohl mit der AZEVAP-SFC-HRMS eine geeignete Methode zur schnellen Analytik von ausgewählten *PMOCs* entwickelt und validiert werden konnte, gibt es auch hier noch offene Punkte, die in nachfolgenden Arbeiten zum Thema gemacht werden können. Die zum Teil erheblichen Matrixeffekte stellen eine Herausforderung in der quantitativen Analytik dar. Somit bleibt zu empfehlen, die hier entwickelte Multianalytmethode entweder mit dem aufwendigeren Standardadditionsverfahren anstelle der externen Kalibrierung zu betreiben oder isotoopenmarkierte Standards vor der Probenanreicherung beizugeben und die Quantifizierung darüber durchzuführen. Alternativ kann versucht werden die Ursache der Matrixeffekte zu identifizieren, um diese im Anschluss mindern oder gar eliminieren zu können.

Bei all diesen Bemühungen, die dazu beitragen sollen, dass wir schlussendlich ein Trinkwasser von bester Güte konsumieren können und auch unsere aquatische Umwelt vor unerwünschten Chemikalieneinträgen und deren Auswirkungen geschützt wird, gilt festzuhalten, dass in allererster Linie immer durch vorausschauendes Handeln versucht werden sollte, dass möglichst keine unerwünschten Chemikalien, sei es beabsichtigt oder unbeabsichtigt, in unsere Umwelt gelangen. Der Gedanke der Vorsorge sollte somit stets an oberster Stelle stehen. Sollte es dennoch zu einer Umweltbeeinträchtigung durch Chemikalieneintritt gekommen sein, ergibt sich die weitgreifende Frage, ob der Verursacher, sofern überhaupt rückverfolgbar, oder die Allgemeinheit für die Umweltschäden verantwortlich gemacht werden können und wer die für die Beseitigung verbundenen Kosten zu tragen hat.

5 Publikationen

5.1 Using REACH registration data to rank the environmental emission potential of persistent and mobile organic chemicals

Schulze, St.; Sättler, D.; Neumann, M.; Arp, H. P. H.; Reemtsma Th.; Berger, U., Using REACH registration data to rank the environmental emission potential of persistent and mobile organic chemicals, *Sci. Total Environ.*, **2018**, 625, 1122-1128.

Der Artikel ist abrufbar unter:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969717337385?via%3Dihub>

Erklärung zum Eigenanteil an der Publikation:

Der in dieser Arbeit entwickelte Emissionsscore wurde von mir konzipiert. Der Entwicklungsprozess wurde in Zusammenarbeit mit dem UBA, im Speziellen Daniel Sättler und Dr. Michael Neumann, sowie Dr. Urs Berger vom UFZ durchgeführt. Das entwickelte Ranking wurde von mir auf die Chemikalienliste angewandt. Als Erstautorin dieser Publikation habe ich das Manuskript geschrieben. Es waren alle Koautoren an der Ergebnisdiskussion sowie der Strukturierung und Formulierung beteiligt.



Contents lists available at ScienceDirect

Science of the Total Environment

journal homepage: www.elsevier.com/locate/scitotenv

Using REACH registration data to rank the environmental emission potential of persistent and mobile organic chemicals



Stefanie Schulze ^a, Daniel Sättler ^b, Michael Neumann ^b, Hans Peter H. Arp ^c, Thorsten Reemtsma ^a, Urs Berger ^{a,*}

^a Department of Analytical Chemistry, Helmholtz Centre for Environmental Research – UFZ, Permoserstrasse 15, 04318 Leipzig, Germany

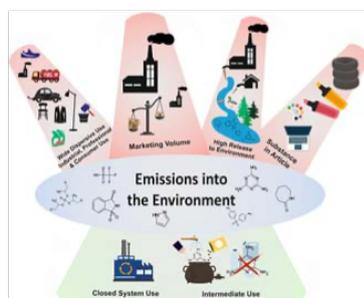
^b Section IV 2.3 Chemicals, German Environment Agency – UBA, Wörlitzer Platz 1, 06844 Dessau-Roßlau, Germany

^c Norwegian Geotechnical Institute – NGI, Postboks 3930 Ullevål Stadion, 0806 Oslo, Norway

HIGHLIGHTS

- The emission potential of 2167 persistent and mobile organic chemicals is modeled.
- Use characteristics and marketed volumes registered under REACH are used.
- The 936 PMOCs that are estimated to be emitted into the environment are ranked.
- Additionally, 174 PMOC precursors that are estimated to be emitted are ranked.
- The ranked lists can be used to prioritize substances for environmental investigations.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Article history:

Received 11 October 2017

Received in revised form 26 December 2017

Accepted 26 December 2017

Available online xxx

Editor: Adrian Covaci

Keywords:

Prioritization

Environmental emissions

Transformation products

Drinking water

Polar contaminants

Water quality

ABSTRACT

Organic chemicals that are persistent and mobile in the aquatic environment exhibit a hazard to contaminate drinking water resources. In this study an emission score model was developed to rank the potential of substances registered under the REACH legislation to be emitted into the environment. It was applied to a list of 2167 REACH registered substances that were previously identified to be persistent and mobile organic chemicals (PMOCs) in groundwater or to be hydrolyzed to form transformation products fulfilling the PMOC criteria. The emission score model is based on the tonnage placed on the European market and on seven emission-related use characteristics (high release to environment, wide dispersive use, intermediate use, closed system use, professional use, consumer use, and substance in article), reported in the companies' registrations under REACH. Applying the model resulted in a list of 1110 substances (936 PMOCs and 174 precursors to PMOCs) that were estimated to be released into the environment, while 1054 substances had indicators of negligible environmental emissions and 3 substances could not be evaluated due to severe data gaps. The 936 PMOCs and the 174 precursors were ranked in two lists with regard to their emission potential. The model was shown to be fit for purpose in terms of suggesting and prioritizing substances for scientific investigations with a focus on environmental water quality. Though targeted for PMOCs, the presented scoring system is illustrative of how REACH registration data can be used to assess the emission potential of various substances.

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

* Corresponding author.

E-mail address: urs.berger@ufz.de (U. Berger).

1. Introduction

The number of chemicals produced and used in industrial or in consumer applications worldwide is continuously increasing (Chemical

Abstracts Service, 2008). Within the ambit of the European chemicals regulation REACH (European Parliament, 2006), more than 16,500 substances are currently registered (as of October 2017) with a manufactured or imported volume in the European Union (EU) exceeding one ton per year. Many more substances will be registered by the final registration deadline May 31st, 2018 (according to Article 23(3) of the European Parliament Regulation (EC) 1907/2006) (European Parliament, 2006). According to Article 10 of the REACH legislation, manufacturers, importers and downstream users of substances in the EU are obliged to collect information on substance properties and uses and to report them in a registration dossier to the European Chemicals Agency (ECHA). The extent of information to be provided depends on the volumes of the substances manufactured in or imported into the EU (including import of substances within products according to Article 7 of the REACH legislation), which have to be reported as well. Besides information on the identity of the registered substance, the dossiers can contain further information, e.g. on persistency, on toxicity and on exposure concentrations within different environmental compartments, depending on the legal requirements. In case a substance is exclusively used for synthesis of another substance under the conditions defined in articles 17 and 18 of REACH, the legislation offers the possibility to register such a substance as an 'isolated intermediate' with reduced requirements regarding the information to be provided for the registration.

Trace-analytical methods to determine contaminants in environmental samples are expensive and time-consuming in their development and application. They are further limited in the number of substances that can be analyzed in a single run. Thus, chemical analytical methods are often restricted to groups of substances with similar physical-chemical properties. Given the vast number of substances in use, it is evident that only a tiny fraction can be monitored by chemical analysis. It is therefore of utmost importance and relevance to prioritize substances of highest concern for environmental monitoring programs. Prioritization by modeling has proven to be a powerful tool (Bu et al., 2013; Muir and Howard, 2006). Most prioritization studies reported in literature so far have ranked substances with regard to their human exposure potential, as a prerequisite for risk assessment (Arnot et al., 2012; Cohen Hubal et al., 2010; Egeghy et al., 2011; Guillén et al., 2012; Hansen et al., 1999; Jayjock et al., 2009; Mitchell et al., 2013; Bitsch et al., 2016). Other modeling studies attempted to identify emerging contaminants based on substance properties such as persistence in the environment or the potential to bioaccumulate (Brown and Wania, 2008; Howard and Muir, 2010; Zarfl and Matthies, 2013; McLachlan et al., 2014). Collectively, such studies model the hazard of the substances, and only few studies so far have explicitly attempted to model the potential of a large set of organic chemicals to be released into the environment, i.e. emissions, which is a key component of assessing risk (Arnot et al., 2012; Bitsch et al., 2016; McLachlan et al., 2014; Breivik et al., 2012; Fauser et al., 2010; Fischer et al., 2006). Arnot and co-workers (Arnot et al., 2012) ranked about 12,000 organic substances for human exposure (intake rates and internal human concentrations) using quantitative estimates of chemical emissions. The same study included an uncertainty analysis highlighting the greatest source of uncertainty in the model calculations were the estimated emissions of chemicals from manufacture and use. Bitsch et al. (Bitsch et al., 2016) used tonnage bands and Environmental Release Categories (ERC) registered under REACH as well as biodegradation and potential bioaccumulation to identify chemicals that are of potential health concern and likely to occur in the food chain. McLachlan et al. (McLachlan et al., 2014) ranked substances for both estimates of actual human exposures and concentrations in the environment. Also this study used quantitative estimates of emissions and the rankings were revised with expert judgement. The rankings were further used to prioritize chemicals for target analysis as an evaluation of the results of the model-based screening (McLachlan et al., 2014). Fischer and co-workers (Fischer et al., 2006) developed an 'Emission Index' model

that was later evaluated by Undeman et al. (Undeman et al., 2011) for its ability to rank contaminants found in sewage treatment plants. The model was found to be of limited use in its current form, based on only weak correlations between the Emission Indices and the observed levels of the chemicals in the sewage treatment plants. The approach by Breivik et al. (Breivik et al., 2012) was met with difficulties in application, as access to consistent input data was claimed to be "fragmented or even impossible". The input parameters considered intuitive by Breivik et al. for inclusion in any approach to screen substances for emissions are a) total quantities in commerce, b) chemical function, and c) physical-chemical properties. The same study also demonstrated the importance of having up-to-date and accurate information on quantities for developing reliable emission scenarios (Breivik et al., 2012).

The environmental hazard potential is generally associated with substances exhibiting persistence, bioaccumulation and toxicity in the environment, so called PBT substances, and having long-range transport potential to reach remote locations. Most modeling studies in the literature have focused on such considerations (Arnot et al., 2012; Mitchell et al., 2013; Bitsch et al., 2016; Brown and Wania, 2008; Howard and Muir, 2010; Zarfl and Matthies, 2013; McLachlan et al., 2014). Little attention has been given to highly polar substances that are mobile in the aquatic environment. If such mobile substances are also persistent, they could widely distribute in surface and groundwater (including raw waters used for drinking water production) and therewith present a hazard through threatening the quality of our drinking water resources, as well as pristine freshwater ecosystems. We denote such substances persistent and mobile organic chemicals (PMOCs) (Reemtsma et al., 2016). PMOCs that are additionally toxic are referred to as PMT (persistent, mobile, and toxic) substances (Neumann, 2017). PMT substances have recently gained the interest of authorities, and there are activities attempting to identify them for potential regulatory measures (Kalberlah et al., 2014; Berger et al., 2017; Neumann and Schliebner, 2017).

In this study we combine two goals. The first is to develop a qualitative emission scoring and ranking system using REACH registration data exclusively, which may serve as a semi-consistent basis for comparing chemicals, and thereby partially addressing the aforementioned concern by Breivik et al. (Breivik et al., 2012) of fragmented input data. The second goal is to apply this system to substances registered under REACH that are PMOCs or PMOC precursors. The purpose of combining these goals is that there is a need to identify PMOCs that may be in the aquatic environment, but are not being monitored. Currently, the research community knows little about the presence of PMOCs from monitoring studies, due to their intrinsic property to be extremely mobile in water, which causes them to be very challenging to analyze (Reemtsma et al., 2016). Only very recently chemical analytical methods specifically targeting at PMOCs were developed (Zahn et al., 2016; Montes et al., 2017) and a modeling study that identified PMOCs among the REACH registered substances was performed (Arp et al., 2017). This modeling study by Arp et al. (Arp et al., 2017) resulted in a list of >2000 substances on the EU market that are suspected to be PMOCs or to hydrolyze to form PMOCs and thus have the potential to be ubiquitous environmental water contaminants. However, in order for a PMOC to be environmentally relevant, it also needs to be released (Kalberlah et al., 2014). To address this, the present study expands off of this previous modeling study by Arp et al. (Arp et al., 2017), by developing an emission scoring system (E-score) based on information retrieved from dossiers of the substances registered under REACH.

Our approach is distinctively different from published studies (Arnot et al., 2012; Bitsch et al., 2016; McLachlan et al., 2014; Breivik et al., 2012; Fauser et al., 2010; Fischer et al., 2006) in several respects: i) We did not attempt to quantify emissions nor to predict environmental concentrations, but to prioritize (rank) the target substances relatively to each other with respect to their emission potential; ii) we started from a list of substances that were modeled to be PMOCs in groundwater (or PMOC precursors); iii) we included environmental

transformation in our study by also estimating the emission potential of substances that were modeled to hydrolyze to PMOCs; iv) we had access to the confidential dossiers from the REACH registration process, giving us accurate figures of marketed volumes.

2. Material and methods

2.1. PMOC target substances

As the starting list of substances to be evaluated with respect to their environmental emission potential we used the list of suspected PMOCs and PMOC precursors derived from the substances registered under REACH (<https://echa.europa.eu/information-on-chemicals/registered-substances>; as of December 2014) and presented by Arp et al. (Arp et al., 2017). This list consists of a total of 2167 unique substance identities (including organic and pseudo-organic substances), whereof 1811 have been modeled to be persistent and mobile in the aquatic environment (PMOC score of 4 to 5 in Arp et al. (Arp et al., 2017)) and 356 have been modeled to be PMOC precursors (i.e. to have the potential to be hydrolyzed to PMOCs with a PMOC score of 4 to 5). These substances typically had a high persistency (>40 days half-life in groundwater, considering biodegradation and hydrolysis), low log K_{oc} (mostly <3; for neutral chemicals), low log D_{oc} (mostly <3; for ionizable and ionic chemicals over a pH range of 4 to 10) and high water solubility (mostly >50 mg/L over a pH range of 4 to 10). EC inventory numbers and CAS numbers were used as identifiers for the unique substances.

2.2. Environmental emission score (E-score)

The environmental emission score (E-score) of a substance, i.e. the likelihood of the substance to be emitted into the environment, was calculated for PMOCs and PMOC precursors using the equation

$$E\text{-score} = \log(\text{tonnage} + 1.1) \times \Sigma UCs \quad (1)$$

where 'tonnage' is the annual tonnage of the substance placed on the EU market (in t/yr, but for the calculation is considered unitless; see Subsection 2.3 below) and ΣUCs is the sum of scores given to the substance for the 7 individual use characteristics (UCs; see Subsection 2.4 below). The E-score is thus a unitless figure that allows ranking the qualitative emission potential of the substances relatively to each other, but does not yield quantitative data on the magnitude of estimated emissions.

2.3. Tonnage

The information on total tonnage was taken from one of the three databases from ECHA described in Table 1. These databases were, in order of priority, database A – an aggregated query in early 2015 for all REACH registrations; database B – a similar (but registration-specific) query from May 2014, and database C – the publicly available REACH information (as of December 2014). A more detailed description of the databases is given in the Supplementary data. Exact figures of tonnages placed on the EU market from database A were preferentially used. These figures are expected to reflect potential emissions much better than production volumes or tonnage bands from public databases (e.g. database C). However, the E-score does not take into account the specific tonnage for an individual use, nor any technical or organizational measures to prevent or reduce releases to the environment. Such specific information could not be retrieved automatically from the databases and was thus not feasible to include in a study on thousands of substances. In case no information about tonnage was available from databases A or B, or if the tonnage was given as 0 t, then the upper end of the tonnage band given in database C was used as a worst-case scenario. The logarithm of the tonnage was chosen in the E-score calculation in order to leverage the tonnage data relative to the scoring system used for the ΣUCs , with the range in 'log(tonnage + 1.1)' being from approx. 0.05 to 8.5. A factor of 1.1 was added to the tonnage before calculating the logarithm to avoid negative results for substances with a marketed tonnage < 1 t/yr.

2.4. Use characteristics

The seven UCs considered in the present study are listed in Table 1. They outline specific information on operational conditions during uses of the substances related to the likelihood of emissions on a generic level. Each characteristic was individually evaluated for each substance in order to come to the decision if the substance possesses this characteristic (TRUE) or not (FALSE). This was done according to modified criteria (see Subsections 2.4.1–2.4.7 below) initially defined by ECHA. The initial criteria by ECHA for the TRUE/FALSE decisions are defined in database B and are based on the generic use descriptors in the REACH registrations. The aggregated information in database A regarding these generic use descriptors was used in the TRUE/FALSE decisions for the UCs (if not stated otherwise below). The scores given to the substances for each of the UCs are summarized in Table 2. The scores (numbers) were given based on the authors' judgement of how strongly a

Table 1
Databases used with availability of data relevant for the present study.

	Database A ^a	Database B ^a	Database C ^b
Type and source of database	Database query from early 2015 by ECHA for all registrations (aggregated)	Database query from May 2014 by ECHA for all registrations (registration-specific)	Public REACH database on ECHA's website accessed in December 2014
Substance name	+ ^c	+	+
EC number	+	+	+
CAS number	- ^c	+	+
Tonnage placed on the EU market	Exact tonnage	Estimation of maximum tonnage	Tonnage band
<i>Use characteristics</i>			
High release to environment	+	-	+
Wide dispersive use	+	-	+
Intermediate use	+	-	+
Closed system use	+	-	+
Professional use	+	-	+
Consumer use	+	-	+
Substance in article	+	-	+

^a Databases A and B were compiled by ECHA from confidential business information in the REACH registration dossiers. The databases are available to Member State Competent Authorities for specific regulatory purposes. Access to the databases and the registration dossiers was available through cooperation with the German Environment Agency (UBA). In the context of the present project the data in databases A and B were accessed at UBA's premises and provided by UBA for the 2167 suspected PMOCs and PMOC precursors.

^b <https://echa.europa.eu/de/information-on-chemicals/registered-substances>

^c A '+' means that data was available in the respective database, a '-' means that no data was available.

Table 2

Scores given based on the TRUE/FALSE decision for each of the use characteristics.

Use characteristic	Score for TRUE	Score for FALSE
High release to environment	7	3
Wide dispersive use	4	1
Intermediate use	0	3
Closed system use	1	3
Professional use	1.5	0.5
Consumer use	2	0.5
Substance in article	0.5	0

certain UC is expected to correlate with the potential for emissions, due to the absence of consistent, actual, empirical emission rates reported in REACH (or elsewhere). The UC 'high release to environment' was given the highest priority (highest numerical score), as this amounts directly to environmental emissions. Further, also the UCs 'wide dispersive use', 'intermediate use', and 'closed system use' are directly related to emissions (or the presumed absence of emissions in the latter two cases) and were given second priority, while the remaining characteristics only imply that environmental emissions could (but not necessarily will) occur and were thus given the lowest scores. For 'substance in article' the data availability on the type of article and on the technical function (related to the potential for releases) of the substance is poor. In addition, emissions from articles with treated surfaces, e.g. coatings on construction materials, are already covered by previous life cycle steps of the chemical before application on the article. Therefore a low score of 0.5 was given to avoid false positives impacting the overall assessment. If a UC outcome of either TRUE or FALSE could not exclude emissions, a score greater than zero was assigned to both cases. E.g., a FALSE classification for 'high release to environment' does not mean complete absence of releases according to the ECHA criteria. Likewise, the score of 1 for 'closed system use' TRUE takes into account releases during handling of the substance (e.g. filling/emptying of the system) and possible releases in waste management. In any case, the model is quite insensitive towards changes in the magnitude of these scores, since they are all equally used in a simple summation (Σ UCs). It is emphasized that the model output is not quantitative, but is only a relative ranking of the substances with respect to their emission potential as characterized by the selected UCs. The sum of the scores of all seven UCs can range from 6 to 21. The criteria for evaluation of each UC are described below and two examples of scoring and ranking are given in the Supplementary data.

2.4.1. High release to environment

Following the criteria defined by ECHA a high release is expected if $\geq 10\%$ of the initial amount of a substance in a process or use is emitted to at least one environmental compartment (air, water, soil). This endpoint was thus evaluated as TRUE if at least one of the Environmental Release Categories (ERC) 2, 5, 8a, 8c, 8d, 8f, 10b, 11b, or 12b, as defined in REACH, was assigned to an individual registration dossier of the substance in the chapter for use description. See table R.16-7 in the respective guidance document (ECHA, 2016) for a detailed description of release rates for these ERC. Otherwise the evaluated decision was FALSE.

2.4.2. Wide dispersive use

This characteristic was evaluated as TRUE if at least one of the following criteria applied: 'Number of consumer uses (upper bound) >0 ', 'number of professional uses (upper bound) >0 ', at least one of the ERC 8-11 was assigned to the substance in an individual registration dossier, or at least one of the process categories (PROC) 10, 11, 13, 15, 17, 18, or 19 was assigned to the substance in an individual registration dossier. See table R.12-11 in the respective guidance document (ECHA, 2015) for a detailed description of the PROC. If none of the above criteria applied, then the evaluated decision was FALSE.

2.4.3. Intermediate use

The information for a decision on intermediate use (intermediate means a substance that is manufactured for and consumed in or used for chemical processing in order to be transformed into another substance (European Parliament, 2006)) was taken from database C. It was evaluated as TRUE if there were exclusively registrations of the type 'intermediate' recorded; otherwise it was evaluated as FALSE.

2.4.4. Closed system use

The information for a decision on closed system use was taken from database C. It was evaluated as TRUE if 'all identified uses take place in closed system' was answered with 'yes'; otherwise it was evaluated as FALSE.

2.4.5. Professional use

This characteristic was evaluated as TRUE, if 'number of professional uses (upper bound) >0 ' or if this information was ambiguous or lacking. Professional use was thus only evaluated as FALSE if 'number of professional uses (upper bound) = 0'.

2.4.6. Consumer use

This characteristic was evaluated as TRUE, if 'number of consumer uses (upper bound) >0 ' or if this information was ambiguous or lacking. Consumer use was thus only evaluated as FALSE if 'number of consumer uses (upper bound) = 0'.

2.4.7. Substance in article

This characteristic was evaluated as TRUE, if 'number of article categories >0 ' or if this information was ambiguous or lacking. Substance in article was thus only evaluated as FALSE if there was no article category given.

2.5. Significant data gaps or ambiguous data

For some of the PMOCs and PMOC precursors the data that were needed to evaluate the UCs were incomplete, or the information on tonnage and/or UCs was ambiguous. For small data gaps or ambiguity, the worst-case scenario was assumed for the respective UC. However, in some cases significant data gaps or contradictory data existed, which hampered a sound calculation of the E-score. This was the case for the following combinations of data gaps and/or ambiguous data:

- Tonnage = 0 t and 'intermediate use' FALSE (contradictory data).
- Tonnage = 0 t, 'intermediate use' not specified, 'closed system use' not specified, and 'substance in article' not specified.
- Tonnage given, 'high release to environment' not specified, 'intermediate use' not specified, 'closed system use' not specified, and 'substance in article' not specified.

Substances with significant data gaps as specified in a)–c) were not given a numerical E-score based on the information from databases A–C. Tonnages and UCs for these substances were instead evaluated case by case using the information available on ECHA's public website <http://echa.europa.eu/de/information-on-chemicals/registered-substances> (accessed between July 2015 and December 2016).

2.6. Evaluation of the E-score model and sensitivity analysis

The E-score model was evaluated using several approaches, as described in Subsection 3.3 below. Correlation analyses based on the Pearson product-moment was conducted between $\log(\text{tonnage} + 1.1)$ vs. E-score ranking, Σ UCs vs. E-score ranking, and $\log(\text{tonnage} + 1.1)$ vs. Σ UCs, using Origin Pro 2016. Tonnage proved to be the most influential parameter in the model (see Section 3.3); therefore a sensitivity analysis was performed, investigating how the results would change if only

tonnage was considered in the E-score, but not UCs. It was also tested how the results would change if only the maximum single UC score was used in Eq. (1) instead of Σ UCs. Another evaluation approach was based on a literature search using the Web of Science search engine (www.webofknowledge.com/). For this purpose, the substances with estimated emissions (1110 in total, see Section 3.1 'class 2 substances') were grouped in 11 E-score groups with 101 substances in each group. Group I contained the 101 substances with the highest calculated E-score and group XI with the lowest. Roughly every 9th substance in each group was randomly picked (11 per group, resulting in a total of 121 substances) and searched for using the following keywords in the search category 'substance name' AND ('environment*' OR 'water*' OR 'soil*' OR 'effluent*'). The same search was also done for 30 (from a total of 1054) randomly selected substances with no predicted emissions (group XII, see Section 3.1 'class 3 substances'). The median of the number of 'hits' was calculated for the 11 substances per group (30 substances for group XII) and correlated with the E-score ranking of the groups (i.e. the Roman numeral group numbering). The grouping and calculation of medians were done to smoothen the results of the correlation. The assumption in this evaluation was that the more of a substance is emitted into (and consequently for persistent substances occurring in) the environment, the more reports exist in the scientific literature containing the name of the substance together with any of the searched keywords, i.e. the more 'hits' one would get when performing such a search.

3. Results and discussion

3.1. Prioritized substances

Applying our E-score calculation approach (Eq. (1)) to the 2167 modeled PMOCs (1811 substances) and PMOC precursors (356 substances) resulted in three classes of substances based on emission potential, as follows:

Class 1 - substances for which an E-score could not be calculated due to incomplete information. Initially, this class of substances with significant data gaps or ambiguous data comprised a total of 29 substances. After case by case evaluation using the information available on ECHA's public website, 14 and 12 of these substances could be classified into class 2 and class 3, respectively. The 3 substances remaining in class 1 were all REACH registered PMOCs (not precursors).

Class 2 - substances with indicators of environmental emissions: A total of 1110 substances (including the 14 cases from class 1) had tonnage and UCs indicating emissions (i.e. not fulfilling both a tonnage of 0 t and 'intermediate use' TRUE). The calculated E-score for class 2 substances is assumed to be positively correlated with the likelihood of the substance being emitted into the environment.

Class 3 - substances with indicators of negligible environmental emissions: A total of 1054 substances (including the 12 cases from class 1) had indicators of no (or minor) environmental emissions (i.e. a tonnage of 0 t and an 'intermediate use' TRUE). Class 3 substances were not considered further in the present study.

The final distribution of PMOCs and PMOC precursors between the three classes is shown in Fig. 1.

3.1.1. PMOCs registered under REACH

Of the 1110 class 2 substances 936 were REACH registered substances predicted to be PMOCs (Fig. 1). These 936 substances are ranked in Table S1 in the Supplementary data in order of their calculated E-score, with rank 1 (carbonate/carbonic acid) representing the highest E-score. The values of the E-scores themselves cannot be disclosed, as they might allow back-calculation of confidential data from the REACH registration dossiers (especially tonnages) used as input data. The 3 remaining PMOCs from class 1 (no E-score calculable, see Fig. 1) are listed at the end of Table S1. Some individual cases of substances are discussed in Section 3.4.

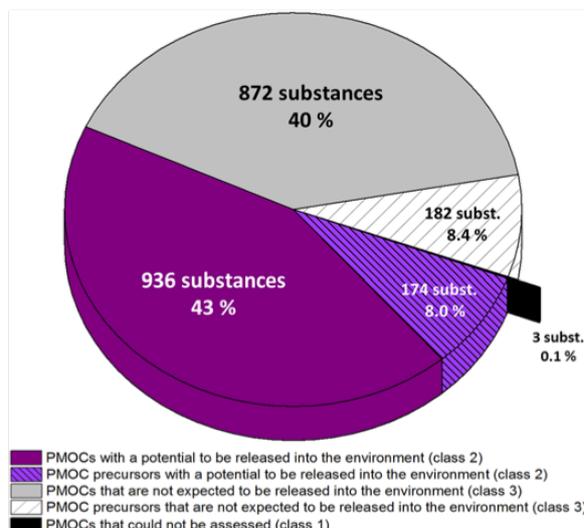


Fig. 1. Distribution of PMOCs and PMOC precursors between the E-score classes.

3.1.2. Precursors of PMOC hydrolysis products

The remaining 174 of the 1110 class 2 substances are REACH registered substances that were predicted to hydrolyze under environmental conditions to form PMOCs (Arp et al., 2017) (Fig. 1). These 174 precursors are listed in Table S2 in the Supplementary data in order of their calculated E-score (rank 1 represents the highest E-score). The predicted hydrolysis products that were modeled to be PMOCs are shown in Table S2 with their Simplified Molecular Input Line Entry Specification (SMILES) codes. As can be seen from Table S2, one precursor substance can hydrolyze to form several PMOC hydrolysis products. Vice versa, one PMOC hydrolysis product can also be formed from different precursor substances. Some of the PMOC hydrolysis products are also the same structure as other REACH registered substances, including some of the PMOCs already considered. This has the implication that a subset of the REACH registered PMOC substances can be released directly, or as transformation products of other substances (Arp et al., 2017). Selected highly ranked precursors are briefly discussed in Subsection 3.4.

3.2. Uncertainties in the prioritization

The aim of the study was to prioritize PMOCs with regard to their environmental emission potential. The list of suspected PMOCs and PMOC precursors published by Arp et al. (Arp et al., 2017) was used as a starting point. As discussed in detail by Arp and co-workers, the persistence and mobility modeling as well as the modeling of hydrolysis under environmental conditions are associated with uncertainties, which are thus transferred into our study. The E-score model itself also contains uncertainties. As mentioned in Subsection 2.3 above, specific tonnages for individual uses or 'end-of-pipe' measures to reduce emissions to the environment from the individual use processes were not taken into account in the E-score calculation. The applied UCs do not contain sufficient empirical information to predict actual substance emissions. The TRUE/FALSE decisions with regard to the different UCs were further based on data submitted by registrants within the REACH registration process, and these data were not independently checked. A recent compliance check by order of the UBA demonstrated that only 4 to 45% of the investigated dossiers were compliant with the requests from the REACH regulation (information requirements referred to in article 10; Annexes VI-XI) with respect to information provided for five different environmental endpoints. A large number of

dossiers (43 to 82%) were generally classified as 'complex', i.e. a classification in 'compliant' or 'non-compliant' was not possible due to poor documentation (Springer et al., 2015). Taken together, all these uncertainties will undoubtedly lead to both false negatives as well as false positives in our estimation of the likelihood of a substance to be emitted in significant amounts. Thus, some of the highly ranked substances in Table S1 may not necessarily be present in environmental water samples; whereas, REACH registered substances missing from Table S1 may be currently contaminating water resources. The prioritization should be seen as qualitative hypotheses of substances that could potentially threaten raw water bodies, but this has to be confirmed (or disproved) case by case. On the other hand, the tonnage information from the confidential sections of the registration dossiers we used as input data for our E-score model is certainly more accurate than publicly available tonnage band data. Therefore, we expect our E-score estimation model to perform at least as well as or better than models earlier published in literature (Arnot et al., 2012; McLachlan et al., 2014; Breivik et al., 2012; Fauser et al., 2010; Fischer et al., 2006). Assuming that reporting in REACH will become more accurate and more comprehensive in future also with respect to UCs, it would be of interest to repeat this E-scoring at a later time.

3.3. Evaluation of the E-score model and sensitivity analysis

The relative sensitivity of the model output (the E-score ranking) towards the two factors in the model equation (Eq. (1)) was tested by correlating the E-score ranking with both factors individually. A strong positive correlation ($r = 0.92$) was found between $\log(\text{tonnage} + 1.1)$ and ranking and a weaker positive correlation ($r = 0.55$) between ΣUCs and ranking. This shows that in our model both factors significantly contributed to the output, whereby the marketed tonnage had the strongest influence on the final rank of a substance. However, using only tonnage as ranking criterion would result in 21% of the substances changing their position in Tables S1 or S2 with >100 ranks. This demonstrates that ΣUCs is also an important parameter in the model. ΣUCs and $\log(\text{tonnage} + 1.1)$ correlated only very weakly with each other ($r = 0.28$), confirming that the TRUE/FALSE decision criteria for the UCs were not (markedly) influenced by the tonnage of the substance, i.e. that the two factors in the E-score calculation were not strongly co-dependent of each other. If only the maximum single UC score was used in the E-score calculation instead of ΣUCs , $<10\%$ of the substances would change their ranking position with >100 ranks. This further corroborates that the model is relatively insensitive towards the values of the scores for the different UCs.

The results of the E-scoring were further evaluated using the Web of Science search approach described in Subsection 2.6. The obtained histogram between the ranges of E-score ranks and the Web of Science 'hits' is shown in Fig. 2. The very strong positive relationship in Fig. 2 between increasing E-score range and 'hits' suggests that our model in general identifies substances of interest to the environmental and chemical community, and is fit for the purpose of qualitatively ranking emissions. This is further confirmed by a glance at the top ranked PMOCs in Table S1. Many of these are common salts or solvents; though these may not be the most interesting substances for an environmental chemist looking for emerging contaminants, they are expected to qualify as PMOCs with a high emission potential.

3.4. Identifying PMOCs of concern

Among the highly ranked PMOCs (Table S1) there are organic water contaminants known from the literature, such as melamine (rank 8, reported in river water, groundwater, and tap water (Qin et al., 2010; Stroomberg et al., 2016; Winzenbacher et al., 2015)), bisphenol S (rank 132, reported in river water (Yang et al., 2014)), sulphanilic acid (rank 159, reported in groundwater (Holm et al., 1995; Jones et al., 2001)), acesulfame (rank 277, reported in wastewater, surface water,

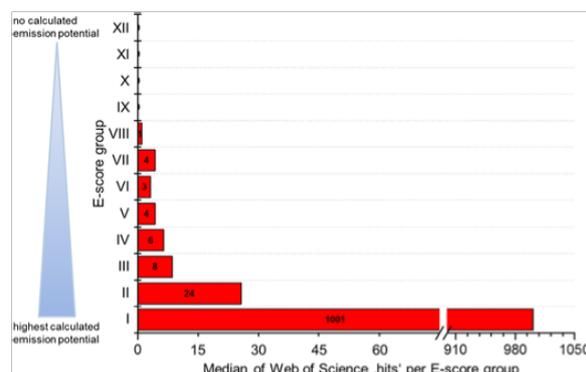


Fig. 2. Evaluation of the E-score results using a Web of Science literature search. The x-axis shows the median of the 'hits' of the 11 investigated substances per group (30 for group XII). The y-axis shows the groups consisting of 101 substances per group (1054 for group I). Group I is the group of substances with the highest E-scores and group XII with the lowest E-scores (class 2). Group XII are the class 3 substances without predicted emissions.

groundwater, and tap water (Buerge et al., 2009)), dapsone (rank 324 (Derksen et al., 2004; Sacher et al., 2001)), and saccharine (rank 498, reported in wastewater, surface water, and groundwater (Buerge et al., 2009; Stempvoort et al., 2011)). It is likely that many less well-known or hitherto unreported PMOCs that are problematic to raw water are also within these highly ranked substances. To this end, Table S1 has already been used successfully by Montes and co-workers (Montes et al., 2017) in a first chemical analytical approach to screen environmental water samples for novel and emerging PMOCs. PMOCs detected in this screening study included toluene-4-sulfonic acid (rank 50), 1,3-di-*o*-tolylguanidine (rank 427), and trifluoromethane sulfonic acid (rank 429), which has recently been detected in raw water and drinking water sources for the first time (Zahn et al., 2016; Montes et al., 2017). These results, as well as future observations of other PMOCs from this prioritized list in raw water sources, represent the ultimate evaluation of our modeling approach, and its utility. The list of prioritized PMOCs presented in Table S1 can thus serve as a starting point for suspect screening of further, yet unknown raw water contaminants. This is particularly the case for the highly ranked substances that did not occur commonly in the literature evaluation exercise, as the reason for this gap in the literature may be a general lack of available analytical techniques for these substances, and therefore a lack of screening and monitoring data (Reemtsma et al., 2016). Further considerations for prioritization of the highly ranked PMOCs presented here would be information on exposure, toxicity (Berger et al., 2017; Neumann and Schliebner, 2017) and risk and more detailed information on areas of application, such as in household products, which would increase the risk of wide-spread emissions and water contamination.

The top-ranking precursors that were predicted to hydrolyze into PMOCs (Table S2) include several aromatic isocyanates (rank 1–3), the brominated flame retardant hexabromocyclododecane (rank 4), as well as large molecules that resulted in a multitude of potential PMOC hydrolysis products (such as propoxylated trimethylolpropane, rank 7). However, it needs to be acknowledged that the yields and accuracy of the predicted hydrolysis are uncertain, as these were all based on QSARs (Arp et al., 2017); therefore, the likelihood of detecting these transformation products in the environment is less than for PMOCs from Table S1. The high ranking of hexabromocyclododecane hydrolysis products is indicative of this uncertainty, as this compound is not known to readily hydrolyze under environmentally relevant conditions. Nevertheless, this list can be used as a starting point to prioritize which substances should be investigated for their ability to hydrolyze or transform into potentially problematic PMOCs.

Acknowledgments

We gratefully acknowledge the European Union Joint Programming Initiative 'Water Challenges for a Changing World' (Water JPI) with financial support by the 'Bundesministerium für Bildung und Forschung' (Germany, project no. 02WU1347A) and 'Forskingsrådet' (Norway, project no. 241358/E50).

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.305>.

References

- Arnot, J.A., Brown, T.N., Wania, F., Breivik, K., McLachlan, M.S., 2012. Prioritizing chemicals and data requirements for screening-level exposure and risk assessment. *Environ. Health Perspect.* 120, 1565–1570.
- Arp, H.P.H., Brown, T.N., Berger, U., Hale, S.E., 2017. Ranking REACH registered neutral, ionizable and ionic organic chemicals based on their aquatic persistency and mobility. *Environ. Sci.: Processes Impacts* 19, 939–955.
- Berger, U., Ost, N., Kühne, R., Schürmann, G., Reemtsma, T., 2017. Assessment of persistence, mobility and toxicity (PMT) of 167 REACH registered substances. Final report of project No. 74925. Umweltbundesamt, Dessau, Germany.
- Bitsch, A., Bohlen, M.L., Escher, S., Licht, O., Oltmanns, J., Schneider, K., Wibbertmann, A., 2016. Final report: testing a procedure for the identification of emerging chemical risks in the food chain. External Scientific Report, OC/EFSA/SCER/2014/03, EFSA Supporting Publication 2016: EN-1050 <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2016.EN-1050/epdf>.
- Breivik, K., Arnot, J.A., Brown, T.N., McLachlan, M.S., Wania, F., 2012. Screening organic chemicals in commerce for emissions in the context of environmental and human exposure. *J. Environ. Monit.* 14, 2028–2037.
- Brown, T.N., Wania, F., 2008. Screening chemicals for the potential to be persistent organic pollutants: a case study of Arctic contaminants. *Environ. Sci. Technol.* 42, 5202–5209.
- Bu, Q., Wang, D., Wang, Z., 2013. Review of screening systems for prioritizing chemical substances. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 43, 1011–1041.
- Buerge, I.J., Buser, H.-R., Kahle, M., Müller, M.D., Poiger, T., 2009. Ubiquitous occurrence of the artificial sweetener Acesulfame in the aquatic environment: an ideal chemical marker of domestic wastewater in groundwater. *Environ. Sci. Technol.* 43, 4381–4385.
- Chemical Abstracts Service, 2008. Statistical Summary 1907–2007, February 2008, CAS2475-0208. Chemical Abstracts Service, Columbus, USA available from www.shinwon.co.kr/cas/ASSETS/casstats.pdf.
- Cohen Hubal, E.A., Richard, A., Aylward, L., Edwards, S., Gallagher, J., Goldsmith, M.R., Isukapalli, S., Tornero-Velez, R., Weber, E., Kavlock, R., 2010. Advancing exposure characterization for chemical evaluation and risk assessment. *J. Toxicol. Environ. Health Part B* 13, 299–313.
- Derksen, J.G.M., Rijs, G.B.J., Jongbloed, R.H., 2004. Diffuse pollution of surface water by pharmaceuticals. *Water Sci. Technol.* 49, 213–221.
- ECHA, 2015. Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment, Chapter R.12: Use Descriptor System, Version 3.0, December 2015, ECHA-15-G-11-EN. European Chemicals Agency, Helsinki, Finland.
- ECHA, 2016. Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment, Chapter R.16: Environmental Exposure Estimation, Version 3.0, February 2016, ECHA-16-G-03-EN. European Chemicals Agency, Helsinki, Finland.
- Egeghy, P.P., Vallerio, D.A., Cohen Hubal, E.A., 2011. Exposure-based prioritization of chemicals for risk assessment. *Environ. Sci. Pol.* 14, 950–964.
- European Parliament, 2006. Regulation (EC) 1907/2006 of the European parliament and of the council of 18 December 2006 concerning the registration, evaluation, authorisation and restriction of chemicals (REACH), establishing a European chemicals agency, amending directive 1999/45/ec and repealing council regulation (eec) 793/93 and commission regulation (ec) 1488/94 as well as council directive 76/769/eeec and commission directives 91/155/eeec, 93/67/eeec, 93/105/eeec and 2000/21/ec. *Off. J. Eur. Union* (30.12.2006, L 396/1-849).
- Fausser, P., Thomsen, M., Pistocchi, A., Sanderson, H., 2010. Using multiple regression in estimating (semi) VOC emissions and concentrations at the European scale. *Atmos. Pollut. Res.* 1, 132–140.
- Fischer, S., Almkvist, Å., Karlsson, E., Åkerblom, M., 2006. Preparation of a Product Register Based Exposure Index. Swedish Chemicals Agency, Sweden.
- Guillén, D., Ginebreda, A., Farré, M., Darbra, R.M., Petrovic, M., Gros, M., Barceló, D., 2012. Prioritization of chemicals in the aquatic environment based on risk assessment: analytical, modeling and regulatory perspective. *Sci. Total Environ.* 440, 236–252.
- Hansen, B.G., van Haelst, A.G., van Leeuwen, K., van der Zandt, P., 1999. Priority setting for existing chemicals: European Union risk ranking method. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 772–779.
- Holm, J., Bügge, K., Bierg, P.L., Christensen, T.H., 1995. Occurrence and distribution of pharmaceutical organic compounds in the groundwater downgradient of a landfill. *Environ. Sci. Technol.* 29, 1415–1420.
- Howard, P.H., Muir, D.C.G., 2010. Identifying new persistent and bioaccumulative organics among chemicals in commerce. *Environ. Sci. Technol.* 44, 2277–2285.
- Jaycock, M.A., Chaisson, C.F., Franklin, C.A., Arnold, S., Price, P.S., 2009. Using publicly available information to create exposure and risk-based ranking of chemicals used in the workplace and consumer products. *JESEE* 19, 515–524.
- Jones, O.A.H., Voulvoulis, N., Lester, J.N., 2001. Human pharmaceuticals in the aquatic environment – a review. *Environ. Technol.* 12, 1383–1394.
- Kalberlah, F., Oltmanns, J., Schwarz, M., Baumeister, J., Striffler, A., 2014. Guidance for the precautionary protection of raw water destined for drinking water extraction from contaminants regulated under REACH. Environmental Research of the Federal Ministry for the Environment, Nature Conservation, Building and Nuclear Safety. Project Report (UFOPLAN) FKZ 371265416. Umweltbundesamt, Dessau, Germany.
- McLachlan, M.S., Kierkegaard, A., Radke, M., Sobek, A., Malmvärn, A., Alsberg, T., Arnot, J.A., Brown, T.N., Wania, F., Breivik, K., Xu, S., 2014. Using model-based screening to help discover unknown environmental contaminants. *Environ. Sci. Technol.* 48, 7264–7271.
- Mitchell, J., Arnot, J.A., Jolliet, O., Georgopoulos, P.G., Isukapalli, S., Dasgupta, S., Pandian, M., Wambaugh, J., Egeghy, P., Cohen Hubal, E.A., Vallerio, D.A., 2013. Comparison of modeling approaches to prioritize chemicals based on estimates of exposure and exposure potential. *Sci. Total Environ.* 458–460, 555–567.
- Montes, R., Aguirre, J., Vidal, X., Rodil, R., Cela, R., Quintana, J.B., 2017. Screening for polar chemicals in water by trifunctional mixed-mode liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 51, 6250–6259.
- Muir, D.C.G., Howard, P.H., 2006. Are there other persistent organic pollutants? A challenge for environmental chemists. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7157–7166.
- Neumann, M., 2017. Vorschlag für Kriterien und ein Bewertungskonzept zur Identifizierung von persistenten, mobile und toxischen (PMT-) Stoffen zum Schutz des Rohwassers zur Trinkwassergewinnung unter der EU-Verordnung REACH. *Zbl. Geol. Paläontol. Teil I* 1, 91–101.
- Neumann, M., Schliebner, I., 2017. Protecting the Sources of Our Drinking Water – A Revised Proposal for Implementing Criteria and an Assessment Procedure to Identify Persistent, Mobile and Toxic (PMT) and Very Persistent, Very Mobile (vPvM) Substances Registered Under REACH. German Environment Agency, Dessau-Rosslau (16 pages, ISSN 2363-8273).
- Qin, Y., Lv, X., Li, J., Qi, G., Diao, Q., Liu, G., Xue, M., Wang, J., Tong, J., Zhang, L., Zhang, K., 2010. Assessment of melamine contamination in crop, soil and water in China and risks of melamine accumulation in animal tissues and products. *Environ. Int.* 36, 446–452.
- Reemtsma, T., Berger, U., Arp, H.P.H., Gallard, H., Knepper, T.P., Neumann, M., Quintana, J.B., de Voogt, P., 2016. Mind the gap: persistent and mobile organic compounds – water contaminants that slip through. *Environ. Sci. Technol.* 50, 10308–10315.
- Sacher, F., Lange, F.T., Brauch, H.-J., Blankenhorn, I., 2001. Pharmaceuticals in groundwaters – analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany. *J. Chrom. A* 938, 199–210.
- Springer, A., Herrmann, H., Sittner, D., Herbst, U., Schulte, A., 2015. REACH Compliance: Data Availability of REACH Registrations, Part 1: Screening of Chemicals > 1000 tpa. Umweltbundesamt. German Environment Agency (Texte 43/2015, FKZ 3714 67 4200).
- Stempvoort, D.R., Roy, J.W., Brown, S.J., Bickerton, G., 2011. Artificial sweeteners as potential tracers in groundwater in urban environments. *J. Hydrol.* 401, 126–133.
- Stroomborg, G.J., Neeffjes, R.E.M., van de Haar, G., Bannink, A., Zwamborn, C.C., 2016. Jahresbericht 2015 Der Rhein, RIWA – Verband der Flusswasserwerke (ISBN/EAN 978-90-6683-163-6).
- Udemann, E., Fischer, S., McLachlan, M.S., 2011. Evaluation of a novel high throughput screening tool for relative emissions of industrial chemicals used in chemical products. *Chemosphere* 82, 996–1001.
- Winzenbacher, R., Seitz, W., Schulz, W., 2015. Bedeutung der Spurenstoffanalytik für die Wasserversorgung – Was, Wie, Warum?, LW-Schriftenreihe 2015, Beitrag. 6 pp. 66–74.
- Yang, Y., Lu, L., Zhang, J., Yang, Y., Wu, Y., Shao, B., 2014. Simultaneous determination of seven bisphenols in environmental water and solid samples by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1328, 26–34.
- Zahn, D., Frömel, T., Knepper, T.P., 2016. Halogenated methanesulfonic acids: a new class of organic micropollutants in the water cycle. *Water Res.* 101, 292–299.
- Zarfl, C., Matthies, M., 2013. PBT borderline chemicals under REACH. *Environ. Sci. Europe* 25, 1–11.

5.2 Occurrence of emerging persistent and mobile organic contaminants in European water samples

Schulze, St.; Zahn, D.; Montes, R.; Rodil, R.; Quintana, J. B.; Knepper, Th. P.; Reemtsma, Th.; Berger, U., Occurrence of emerging persistent and mobile organic contaminants in European water samples, *Water Res.*, **2019**, 153, 80-90.

Der Artikel ist abrufbar unter:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135419300363?via%3Dihub>

Die Studie wurde vom PROMOTE-Konsortium konzipiert. Die Probenahme wurde vom Konsortium geplant und durchgeführt. Die Proben wurden an alle Projektpartner verteilt. Die Organisation erfolgte durch mich. Die experimentellen Eigenanteile lagen bei der Probenvorbereitung *Enrichment V – VIII* sowie der Instrumentellen Analytik *Chromatography C₁/C₂ und D₁/D₂* und der entsprechenden Auswertung dieser Experimente vollkommen bei mir. Die Laborexperimente *Enrichment I – IV* sowie die Instrumentelle Analytik *Chromatography A und B* wurden durch die Hochschule Fresenius und die Universität Santiago de Compostela durchgeführt. Deren Befunde wurden mir für die weitere Auswertung zur Verfügung gestellt. Als Erstautorin der Veröffentlichung habe ich das Manuskript zum größten Teil verfasst sowie die graphischen Auswertungen und Ergebnistabellen erstellt. Die Koautoren haben mir ihren Material- und Methodenteil überlassen. An der Diskussion der Ergebnisse, der Ergebnisinterpretation und der Formulierung im Manuskript waren alle Koautoren beteiligt.



Contents lists available at ScienceDirect

Water Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/watres

Occurrence of emerging persistent and mobile organic contaminants in European water samples



Stefanie Schulze ^a, Daniel Zahn ^b, Rosa Montes ^c, Rosario Rodil ^c, José Benito Quintana ^c, Thomas P. Knepper ^b, Thorsten Reemtsma ^{a, d}, Urs Berger ^{a, *}

^a Helmholtz Centre for Environmental Research – UFZ, Department of Analytical Chemistry, Permoserstrasse 15, 04318, Leipzig, Germany

^b Hochschule Fresenius University of Applied Sciences, Institute for Analytical Research, Limburger Strasse 2, 65510, Idstein, Germany

^c Universidade de Santiago de Compostela, Department of Analytical Chemistry, Nutrition and Food Sciences, IIAA - Institute for Food Analysis and Research, Constantino Candeira S/N, 15782, Santiago de Compostela, Spain

^d University of Leipzig, Institute of Analytical Chemistry, Linnéstrasse 3, 04103 Leipzig, Germany

ARTICLE INFO

Article history:

Received 31 August 2018

Received in revised form

19 December 2018

Accepted 12 January 2019

Available online 18 January 2019

Keywords:

Persistent and mobile organic chemicals

PMOC

Water

Occurrence

Chromatography

ABSTRACT

The release of persistent and mobile organic chemicals (PMOCs) into the aquatic environment puts the quality of water resources at risk. PMOCs are challenging to analyze in water samples, due to their high polarity. The aim of this study was to develop novel analytical methods for PMOCs and to investigate their occurrence in surface and groundwater samples. The target compounds were culled from a prioritized list of industrial chemicals that were modeled to be persistent, mobile, and emitted into the environment. Analytical screening methods based on mixed-mode liquid chromatography (LC), hydrophilic interaction LC, reversed phase LC, or supercritical fluid chromatography in combination with mass spectrometric detection were successfully developed for 57 target PMOCs and applied to 14 water samples from three European countries. A total of 43 PMOCs were detected in at least one sample, among them 23 PMOCs that have not been reported before to occur in environmental waters. The most prevalent of these novel PMOCs were methyl sulfate, 2-acrylamino-2-methylpropane sulfonate, benzyltrimethylammonium, benzyldimethylamine, trifluoromethanesulfonic acid, 6-methyl-1,3,5-triazine-diamine, and 1,3-di-*o*-tolylguanidine occurring in $\geq 50\%$ of the samples at estimated concentrations in the low ng L^{-1} up to $\mu\text{g L}^{-1}$ range. The approach of focused prioritization combined with sensitive target chemical analysis proved to be highly efficient in revealing a large suite of novel as well as scarcely investigated PMOCs in surface and groundwater.

© 2019 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Persistent and mobile organic compounds (PMOCs, also referred to as PM substances) are man-made, highly polar organic chemicals that only degrade very slowly (if at all) in the environment and that show a low tendency to sorb to surfaces or to organic matter in soil and sediments (Reemtsma et al., 2016). PMOCs can enrich in (semi-)closed water cycles, as the only relevant process leading to decreasing concentrations in the aquatic environment is dilution. Consequently, if PMOCs are emitted in significant quantities, they may threaten the quality of surface water bodies, groundwater aquifers, and ultimately also our drinking water resources

(Reemtsma et al., 2016). Known examples of such PMOCs are melamine (Beltrán-Martín et al., 2013), saccharine, acesulfame (Buerge et al., 2009), and sulfanilic acid (Holm et al., 1995). PMOCs are particularly critical if they also exhibit toxic effects. Such compounds are then denoted as PMT (persistent, mobile, and toxic) substances (Neumann, 2017). In Europe there is a currently ongoing discussion whether or not PMT substances should be regulated under the European Union chemical regulation REACH (European Parliament, 2006) in a similar way as is the case for PBT (persistent, bioaccumulative, and toxic) substances (Neumann and Schliebner, 2017).

Whereas chemical analytical methods to detect and quantify PBT substances are well established, PMOCs are much more challenging to analyze in environmental water samples. This is due to their intrinsic property of high mobility, which makes PMOCs extremely difficult to extract and enrich from water samples or to

* Corresponding author.

E-mail address: urs.berger@ufz.de (U. Berger).

separate (retain) using routine liquid chromatography techniques (Reemtsma et al., 2016). The most commonly applied separation method for polar environmental contaminants is undoubtedly reversed phase liquid chromatography (RPLC). However, in RPLC, PMOCs tend to elute with or close to the void volume, together with most of the waterborne matrix constituents. Furthermore, they often exhibit poor peak shape. This severely hampers unambiguous identification, sensitive detection, and reliable quantification of PMOCs. Recently, alternative liquid chromatographic methods for the separation of highly polar compounds such as PMOCs have been developed, based on either hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) (Mazzarino et al., 2011; Christophoridis et al., 2016; Zahn et al., 2016) or tri-functional mixed-mode liquid chromatography (MMLC) separation columns (Montes et al., 2017). Furthermore, also supercritical fluid chromatography (SFC) with hybrid or normal phase columns and a polar modifier/co-solvent can be used as an orthogonal technique to RPLC (Parr et al., 2016; Bieber et al., 2017).

A recent modeling study identified potential PMOCs as well as precursors to PMOCs among the high production volume substances registered under REACH (Arp et al., 2017). Arp and co-workers came up with a list of 2167 unique substance identities, whereof 1811 have been modeled to be persistent and mobile in the aquatic environment (PMOC score of 4–5 in Arp et al., 2017) and 356 have been modeled to be PMOC precursors (i.e. to have the potential to be hydrolyzed to PMOCs with a PMOC score of 4–5). Building on this work, we estimated the environmental emission potential of the 2167 substances (Schulze et al., 2018). This study resulted in two consolidated lists, one for PMOCs that are expected to be emitted into the environment (936 substances) and a corresponding list for PMOC precursors (174 substances) (supplementary data in Schulze et al., 2018). Both lists are ranked according to the environmental emission potential, i.e. the magnitude of expected emissions. However, the ultimate proof that a substance is released into the environment in significant quantities and possesses PMOC properties is its presence in environmental water samples far from potential points of emissions.

The aim of the present study was thus to screen for PMOCs of concern in selected water samples from three European countries. The target analytes were primarily chosen from the list of 936 PMOCs prioritized with regard to expected emissions (Schulze et al., 2018). Enrichment methods based on solid phase extraction or evaporation as well as instrumental methods based on MMLC (Montes et al., 2017), HILIC (Zahn et al. submitted), or SFC were employed, as well as two RPLC-based separation methods. Target chemical analytical methods were used (rather than HRMS-based suspect screening) for two reasons. 1) PMOCs are not expected to be sufficiently retained on a generic RPLC-based separation column (Reemtsma et al., 2016). 2) We intended to screen for the PMOCs in surface and groundwater, rather than in WWTP effluent, to verify their persistence and mobility (i.e. their occurrence far from primary environmental emission points), and thus methods of utmost sensitivity were required. The results of the present study should be used to validate the PMOC and emission modeling (Arp et al., 2017; Schulze et al., 2018) and to obtain a first picture of the potential magnitude of the problem of PMOCs in European water cycles.

2. Materials and methods

2.1. Target analytes

A total of 64 target analytes were selected for the present study. Table S1 in the supplementary data shows the structures and CAS registry numbers of all analytes and lists the suppliers and purities of the commercial standards. The majority of these analytes (54

substances) originated from the top 300 substances on the list of modeled PMOCs ranked according to their expected emission potential (Table S1 in the supplementary data in Schulze et al., 2018). The selection of the 54 target analytes was based on the prerequisites of availability of chemical standards and amenability to at least one of the employed instrumental methods (see section 2.4). Additionally, substances were excluded if they were assessed to be non-persistent or volatile by expert judgement. The remaining ten target analytes were ID-2, -22, -32, -37, -38, -41, -43, -49, -52, and -59 (Table S1). They were chosen based on knowledge or suspicion of their occurrence in environmental water samples (e.g. Stüber and Reemtsma, 2004; Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz NRW, 2015; Scheurer et al., 2016; Montes et al., 2017).

ChemAxon (JChem for Office, JChem for Excel) was used to estimate substance properties, as the studied chemicals are within its application domain (personal communication with D. Szisz, ChemAxon). The majority of the selected analytes (44) are highly hydrophilic compounds with a negative $\log D$ value at pH 7 (Table S1). Among the analytes there were 26 compounds possessing acidic properties, with either a carboxylic, sulfonic, sulfuric, or phosphonic acid moiety (strongest acidic pK_a between -4.6 and 5.5) and 35 compounds possessing basic properties (strongest basic pK_a between 2.4 and 10.7) (ChemAxon). Stock standard solutions of analytes were prepared in acetonitrile, acetonitrile:water (50:50) or water (depending on solubility) at 1 mg mL^{-1} and stored at -20°C . Aliquots of the stock standard solutions were combined to obtain standard mixture solutions, which were subsequently diluted with acetonitrile or water depending on the chromatographic system to be used (see section 2.4).

2.2. Samples

The 14 water samples analyzed in the present study were grab samples obtained from different locations in Germany (DE, country code used in sample names), Spain (ES), and The Netherlands (NL). They consisted of surface water (SW, 7 samples), groundwater (GW, 4), bank filtrate (BF, 1), as well as reverse osmosis concentrate (ROC, 1) and permeate (ROP, 1) from a full-scale pilot plant for drinking water production. The samples were taken in 2016 and stored for up to 6 weeks at $+4^\circ\text{C}$ in the dark until analysis. Details on all samples are given in Table S2 and Figure S1 in the supplementary data.

2.3. Sample preparation

Chemical analysis of all samples was performed in parallel in three different labs with complementary instrumental techniques. A number of sample preparation methods were used in each lab, which are briefly described individually hereafter. In total 8 different sample preparation techniques (denoted as *Enrichment I–VIII*) were developed, using spike and recovery experiments at PMOC concentrations in the ng L^{-1} to $\mu\text{g L}^{-1}$ range in surface and drinking water. Materials, chemicals, and instrumentation used in the different enrichments are listed in Table S3 in the supplementary data.

Enrichment I. The water sample was filtered through a $0.45 \mu\text{m}$ cellulose filter and an aliquot of 100 mL was submitted to a mixed-mode weak anion exchange (WAX) solid phase extraction (SPE) cartridge. The cartridge was previously conditioned with 5 mL of 2% formic acid in methanol and 5 mL of ultrapure water. After sample loading the cartridge was dried and analytes were eluted with 10 mL of 5% ammonia in methanol. The extract was evaporated to dryness and the residues were reconstituted in 200 μL of ultrapure water:acetonitrile (90:10). Finally, the extract was filtered through

a 0.22 μm PP filter. For more details see Montes et al. (submitted).

Enrichment II. Identical to *Enrichment I* but employing a mixed-mode weak cation exchange (WCX) SPE cartridge previously conditioned with 5 mL of 5% ammonia in methanol and 5 mL of ultrapure water. Elution of the analytes was performed with 10 mL of 2% formic acid in methanol (Montes et al., submitted).

Enrichment III. A multi-layer SPE cartridge (3 mL) was prepared by filling in (from bottom to top) 60 mg (± 5 mg) of graphitized carbon black (GCB), 60 mg (± 5 mg) of WCX bulk material, and 60 mg (± 5 mg) of WAX bulk material, separated by polyethylene frits. The cartridge was conditioned with 1 mL 5% ammonia in methanol, 1 mL 2% formic acid in methanol, 1 mL methanol, and 3 mL deionized water. The water sample was filtered through a glass fiber filter and the pH was adjusted to 5.5 ± 0.1 with formic acid or ammonium hydroxide. An aliquot of 100 mL was passed through the cartridge. The cartridge was dried and elution was performed with 3 mL 5% ammonia in methanol, 3 mL 2% formic acid in methanol, and 1.5 mL methanol:dichloromethane (80:20). The combined extracts were evaporated to dryness and the residues were reconstituted in 500 μL of acetonitrile:water (95:5). Finally, the extract was filtered through a 0.2 μm cellulose syringe filter. For more details see Köke et al. (2018).

Enrichment IV. An aliquot of 10 mL of the unfiltered sample was evaporated to dryness at 45 $^{\circ}\text{C}$ and 9 mbar. The residues were reconstituted in 500 μL of acetonitrile:water (95:5) and the extract was filtered through a 0.2 μm cellulose syringe filter (Köke et al., 2018).

Enrichment V. The water sample was filtered through a glass fiber filter. An aliquot of 50 mL was adjusted to pH 2 (with 0.02 M Glycin/HCl buffer) and submitted automatically to a WAX SPE cartridge. The cartridge was previously conditioned with 3 mL methanol and 3 mL ultrapure water. After sample loading the cartridge was washed with 4 mL 2% formic acid in ultrapure water (discarded) and the analytes were eluted with 4 mL methanol and 4 mL 5% ammonia in methanol. The combined extracts were evaporated to dryness and the residues were reconstituted in 1 mL ultrapure water for *Chromatography C₁/C₂* or in 1 mL acetonitrile:ultrapure water (90:10) for *Chromatography D₁/D₂* (see section 2.4). Finally, the extract was filtered through glass wool in the tip of a Pasteur pipette.

Enrichment VI. Identical to *Enrichment V* but employing a strong mixed-mode cation exchange (MCX) SPE cartridge.

Enrichment VII. Identical to *Enrichment V* with the following modifications. An aliquot of 50 mL was adjusted to pH 7 (with 0.02 M phosphate buffer) and submitted automatically to a highly retentive non-polar SPE phase (ENV+) previously conditioned with 3 mL methanol and 3 mL ultrapure water. After sample loading the cartridge was washed with 2 mL methanol:ultrapure water (5:95, discarded) and the analytes were eluted with 4 mL methanol.

Enrichment VIII. Identical to *Enrichment V* with the following modifications. An aliquot of 50 mL was adjusted to pH 12 (with 0.02 M Glycin/NaOH buffer) and submitted automatically to a graphitized non-porous carbon SPE phase (ENVI-Carb) previously conditioned with 5 mL methanol:dichloromethane (20:80), 2 mL methanol, and 5 mL ultrapure water. After sample loading the cartridge was washed with 5 mL ultrapure water (discarded) and the analytes were eluted with 4 mL methanol, 2 mL methanol:dichloromethane (20:80), and 4 mL 2% formic acid in methanol:dichloromethane (20:80).

2.4. Instrumental analyses

In total 4 different, complementary instrumental analytical techniques (denoted as *Chromatography A-D*) were used. *Chromatography C* and *D* were performed with two different separation

columns each (*Chromatography C₁/C₂* and *Chromatography D₁/D₂*, respectively). Chemicals and instrumentation used in the different instrumental analytical techniques are listed in Table S4, the gradient profiles for all separation methods are shown in Figure S2, and mass spectrometric parameters are listed in Tables S5A–D (for *Chromatography A-D*, respectively) in the supplementary data.

Chromatography A was used with extracts from *Enrichments I and II*. *Chromatography A* consisted of mixed-mode liquid chromatography (MMLC, Thermo Acclaim Trinity P1 column) coupled to triple quadrupole tandem mass spectrometry (MS/MS) (Table S4). Aliquots of 10 μL of the sample extracts were injected. MMLC separation was performed at a flow rate of 200 $\mu\text{L min}^{-1}$ using a water-acetonitrile gradient buffered with ammonium acetate at pH 5.5 (Figure S2). The mass spectrometer was operated in positive and negative electrospray ionization (ESI) and in the multiple reaction monitoring (MRM) mode, acquiring two transitions for each analyte (Table S5A).

Chromatography B was used with extracts from *Enrichments III and IV*. *Chromatography B* consisted of hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC, Waters Acquity BEH Amide column) coupled to MS/MS (Table S4). Aliquots of 5 μL of the sample extracts were injected. HILIC separation was performed at a flow rate of 500 $\mu\text{L min}^{-1}$ using an acetonitrile-water gradient buffered with ammonium formate (Figure S2). The mass spectrometer was operated in positive and negative ESI and in the scheduled MRM mode, acquiring two to three transitions for each analyte (Table S5B).

Chromatography C₁/C₂ was used with extracts from *Enrichments V–VIII*. *Chromatography C₁* consisted of C₁₈-based liquid chromatography (Waters Acquity UPLC HSS T3 column) and *Chromatography C₂* consisted of porous graphitic carbon-based liquid chromatography (Thermo Hypercarb column). Both these RPLC-techniques were coupled to MS/MS (Table S4). Aliquots of 10 μL of the sample extracts were injected. Separation for *Chromatography C₁* was performed at 60 $^{\circ}\text{C}$ at a flow rate of 500 $\mu\text{L min}^{-1}$ using a water-methanol gradient containing 5 mM ammonium formate (Figure S2). Separation for *Chromatography C₂* was performed at 50 $^{\circ}\text{C}$ at a flow rate of 250 $\mu\text{L min}^{-1}$ using a water-acetonitrile gradient containing 0.1% diethylamine (Figure S2). The mass spectrometer was operated in positive/negative ESI switching and in the scheduled MRM mode, typically acquiring two transitions for each analyte (Table S5C).

Chromatography D₁/D₂ was used with extracts from *Enrichments V–VIII*. *Chromatography D₁/D₂* consisted of supercritical fluid chromatography (SFC, Waters Acquity UPC² BEH (D₁) or Waters Torus Diol (D₂) column) coupled to high resolution quadrupole time-of-flight MS (HRMS) (Table S4). Aliquots of 5 μL of the sample extracts were injected. Separation was performed at 55 $^{\circ}\text{C}$ at a flow rate of 1500 $\mu\text{L min}^{-1}$ using a carbon dioxide-methanol/water gradient containing 0.2% ammonium hydroxide in the methanol/water co-solvent (Figure S2). A methanol/water make-up flow at 300 $\mu\text{L min}^{-1}$ containing 0.1% formic acid was used for transferring the column effluent into the mass spectrometer. The HRMS instrument was operated in positive and negative ESI and full scan mode (m/z 50 to 600). A mass tolerance of 5 ppm was used when extracting high resolution mass chromatograms of the analytes (Table S5D).

2.5. Method performance evaluation and concentration estimations

Method performance evaluation had the main purpose to prevent false positive results and to allow for semi-quantitative concentration estimations. It consisted of the determination of instrumental blanks, instrumental detection limits (IDLs), retention time repeatability, procedural blanks, and estimation of method

detection limits (MDLs). A full method validation was not envisaged, as highly variable compound-specific and sample-specific apparent recoveries (i.e. combination of extraction recovery and matrix effect) hampered proper quantification in this multi-chemical screening approach. It is thus important to keep in mind that all concentrations given in the present study are semi-quantitative estimates. Details on how method evaluation (including procedural blank experiments and determination of MDLs) and semi-quantitative concentration estimation were performed are given in the supplementary data (page S24).

3. Results and discussion

3.1. Performance of the different enrichment and instrumental methods

The method development targeted at analytical methods encompassing a maximum number of PMOCs, rather than optimization of parameters for certain analytes. Since the 64 targeted PMOCs widely varied in their properties (functional groups, molecular weight, $\log D$, pK_a), a number of complementary analytical methods were required to cover the large range of analytes.

3.1.1. Separation methods, instrumental blanks, and instrumental detection limits

Four principally different instrumental separation methods (section 2.4) were developed and compared for the analysis of the 64 selected PMOCs. The separation methods comprised MMLC, HILIC, RPLC, and SFC. In contrast to MMLC and HILIC, which were used with one separation column each, two different column types were tested for both RPLC and SFC (see 2.4). A total of 57 compounds were amenable to at least two separation methods, i.e. leading to a distinct chromatographic signal in two MRM transitions (Tables S5A–C) or, in case of HRMS data, in two extracted high resolution mass chromatograms (usually the quasi-molecular ion and a fragment at higher collision energy, Table S5D). The remaining 7 compounds could only be analyzed by one separation method each, i.e. 3 by HILIC (bis(2-dimethylaminoethyl)ether (ID-7), pyrazole (ID-49), 5-chloro-2-methylaniline (ID-59)), 3 by RPLC (gluconate (ID-1), 1,5-naphthalenedisulfonic acid (ID-8), phenylphosphonic acid (ID-27)), and 1 by SFC (1,3,5-triallyl-1,3,5-triazinane-2,4,6-trione (ID-55)). Retention time repeatability was excellent (max. ± 0.1 min) for all PMOCs in all separation methods (Table S6).

The instrumental detection limits (IDLs) for all PMOCs with the different instrumental methods are listed in Table S7. Almost all PMOCs (60 out of 64) could be sensitively detected (single digit pg to sub pg injected) with at least one of the tested instrumental methods. The good sensitivity is facilitated by the high polarity of PMOCs, which consequently tend to readily ionize in the ESI source. Exceptions were bis(2-dimethylaminoethyl)ether (ID-7, with an IDL of 0.13 ng injected), pyrazole (ID-49, IDL 0.5 ng), 1,3,5-triallyl-1,3,5-triazinane-2,4,6-trione (ID-55, IDL 0.013 ng), and 2,6-dimethylaniline (ID-56, IDL 0.012 ng), for which higher IDLs were found. These four PMOCs were all substances that were detected in positive ESI mode based on amine groups. Reasons for their relatively high IDLs were poor ionization efficiency and/or poor fragmentation (in MRM). Furthermore, the following analytes suffered from elevated IDLs due to instrumental blank contamination: Methyl sulfate (ID-14), 4-hydroxy-1-(2-hydroxyethyl)-2,2,6,6-tetramethylpiperidine (ID-17), *N*-(3-(dimethylamino)propyl)methacrylamide (ID-29), dicyclohexyl sulfosuccinate (ID-47), 1,3-diphenylguanidine (ID-52), 3,5-di-*tert*-butylsalicylic acid (ID-54), 1,3-di-*o*-tolylguanidine (ID-58), and tri-(2-chloroisopropyl)phosphate (ID-63).

3.1.2. Retention of PMOCs in the different separation systems

One challenge with highly mobile substances is to retain (and separate) them in a chromatographic system (Reemtsma et al., 2016). Certain retention is, however, mandatory in order to minimize matrix effects in ionization and to facilitate quantification. Table S8 and Figure S3 show the retention factors k' of the PMOCs (i.e. their retention relative to the dead time of the system) for the different methods. HILIC and RPLC show a clear trend of low retention, i.e. early elution for many PMOCs. However, while RPLC shows early elution especially for PMOCs with a very low $\log D$ value, HILIC shows an opposite trend (Figure S4). In MMLC the retention factors of the PMOCs cover a wide range including very late elution ($k' > 30$, predominantly for sulfonic acids), despite a steep gradient profile (though ending at 80% organic mobile phase, Figure S2). The SFC methods (Chromatography D_1 and D_2) show moderate retention for most PMOCs, which is a favorable compromise in terms of separation from matrix components and time efficient chromatography. A strong positive relationship of k' values and calculated $\log D$ values of the substances was observed in RPLC-HSST3 (Chromatography C_1), whereas this relationship was weaker (and partly negative) for the other separation techniques (Figure S4). In conclusion, RPLC is generally only applicable to PMOCs with moderate polarity ($\log D > 0$, Reemtsma et al., 2016). PMOCs with $\log D < 0$ should be analyzed with alternative methods such as HILIC, MMLC, or SFC (Figure S4), whereby the MMLC method used in the present study was inefficient for many sulfonic acids (long retention times). SFC showed moderate retention and very narrow signals for most of the investigated PMOCs but has the drawback that it cannot be performed on a conventional LC system.

3.1.3. Evaluation of the analytical methods

Enrichment of mobile substances from water samples is another challenge in PMOC analysis (Reemtsma et al., 2016). A total of 8 different enrichment methods (section 2.3) were tested in specific combinations with the instrumental methods (section 2.4). Table S9 lists the method combinations that were successfully applied for analysis of the different target PMOCs. For seven of the 64 PMOCs (gluconate (ID-1), 1,1,4,7,7-pentamethyl-diethylenetriamine (ID-11), 3-mercapto-1-propanesulfonic acid (ID-19), phenylphosphonic acid (ID-27), pyrazole (ID-49), 5-chloro-2-methylaniline (ID-59), and *N*1-isopropyl-*N*4-phenylbenzene-1,4-diamine (ID-64)) none of the tested method combinations worked. These seven PMOCs could thus not be analyzed in the present study and are not discussed further. All in all 20 different combinations of enrichment and instrumental methods were tested and used for environmental water analysis (Table S9 and Figure S5). None of the method combinations was applicable to more than 24 of the investigated PMOCs (Figure S5), which demonstrates the complementarity of the methods. Nevertheless, there were distinct differences in the broadness of applicability. *Enrichment III* and *IV* (multi-layer SPE and evaporation, both in combination with HILIC) and *Enrichment VII* (ENV + SPE, in combination with RPLC or SFC) were the enrichment methods capturing most PMOCs. Multi-layer SPE methods have also earlier been used successfully in environmental water analysis for a variety of polar micropollutants (Huntscha et al., 2012). On the other hand, *Enrichment VI* (MCX) was only successful for few PMOCs in the present study. MCX is a strong reversed-phase mixed-mode cation-exchange polymer. Some cationic analytes may have sorbed too strongly on this polymer to be eluted with the chosen elution method. In terms of separation methods, Chromatography C_2 (RPLC with Hypercarb column) showed a comparatively poor performance. It worked well for standard chemicals, but many signals broadened significantly in the presence of sample matrix, preventing this method from a broad applicability range among the

selected target PMOCs (Figure S5).

3.1.4. Procedural blanks and method detection limits

The estimated method detection limits (MDLs) for all PMOCs applying the developed methods (i.e. combinations of enrichment and instrumental methods) are listed in Table S9. They were generally in the low to sub ng L^{-1} range, but covered overall five orders of magnitude ($0.02\text{--}2000\text{ ng L}^{-1}$) for the different PMOCs and methods. Also for some individual PMOCs the MDLs of different methods varied considerably. It is important to note that the MDLs were not only dependent on the enrichment and separation methods, but also on the employed MS instrument and on the presence (or absence) of procedural blank contamination. A total of 29 investigated PMOCs seem to be widely dispersed water pollutants or contaminants in lab consumables and equipment, as they were detected repeatedly in procedural blank experiments, leading to correspondingly elevated MDLs. These compounds were ID-2, -10, -14, -16, -17, -20, -21, -22, -23, -24, -25, -26, -32, -33, -34, -36, -37, -39, -40, -43, -44, -46, -47, -51, -52, -54, -58, -61, and -63. No effort was made in the present study to elucidate or eliminate the source(s) of the procedural blank contaminations.

3.2. Detection frequencies in target screening of environmental water samples

All developed method combinations were applied to 14 water samples (section 2.2 and Table S2) to screen for the 57 PMOCs amenable to at least one of the methods (see 3.1.3). The samples comprised surface water, groundwater, and bank filtrate as well as reverse osmosis concentrate and permeate. In total 43 PMOCs (75% of the investigated substances) were detected above their MDL in at least one sample with at least one of the applied methods (Fig. 1). Fig. 1 shows the detection frequency for the individual PMOCs in the 14 samples including information on the number of underlying principally different separation methods (Chromatography A-D). Of the 43 detected PMOCs, 21 were found in at least 50% of the samples and often at relatively high concentrations (Figure S6 and section 3.3 below). Chromatography method-specific detection frequencies are listed in Table S10, underpinning the complementarity of the employed separation methods in analysis of the target

PMOCs. The most important detected PMOCs are discussed in section 3.4 below.

3.3. Concentration estimates

Concentrations of the detected PMOCs in the water samples were estimated according to section 2.5. They need to be considered as semi-quantitative estimates. Since extraction recoveries and matrix effects (suppression more common than enhancement) were not taken into account, it can be assumed that the estimated concentrations are mostly underestimations. Fig. 2 shows boxplots of estimated concentrations of selected PMOCs in the water samples. The selection of PMOCs for Fig. 2 was based on the quality criteria that the substance was detected by more than one method and that the estimated concentrations by the different methods for a given sample were consistent (i.e. typically within one order of magnitude, then averaged over all methods in Fig. 2). Furthermore, Figure S6 depicts the maximum estimated concentration (gray shade) for all detected PMOCs together with the frequency of detection.

Some PMOCs were detected in the high ng L^{-1} up to $\mu\text{g L}^{-1}$ range (Fig. 2 and Figure S6). Of the PMOCs shown in Fig. 2, these were notably ID-13 (acesulfame), ID-25 (sulfanilic acid), ID-26 (melamine), ID-33 (trifluoromethanesulfonic acid), ID-37 (cyanoguanidine), ID-39 (*p*-toluenesulfonic acid), ID-40 (saccharine), ID-44 (dimethylbenzenesulfonic acid), and ID-45 (benzylidimethylamine). It is noteworthy that a high frequency of detection did not necessarily go along with high concentrations. An example is ametryn (ID-61), which was detected in 11 samples, but at a low maximum concentration (Fig. 2).

3.4. Discussion of detected PMOCs

All of the 43 detected PMOCs were industrial chemicals registered under REACH with calculated $\log D$ values at pH 7 ranging between -5.6 and 3.4 (average -1.9 , ChemAxon). Their uses cover many different fields of application, including coating products, inks and paints, adhesives and sealants, water treatment products, leather and textile treatment products, cosmetics and personal care products, vulcanization or polymerization processes, and

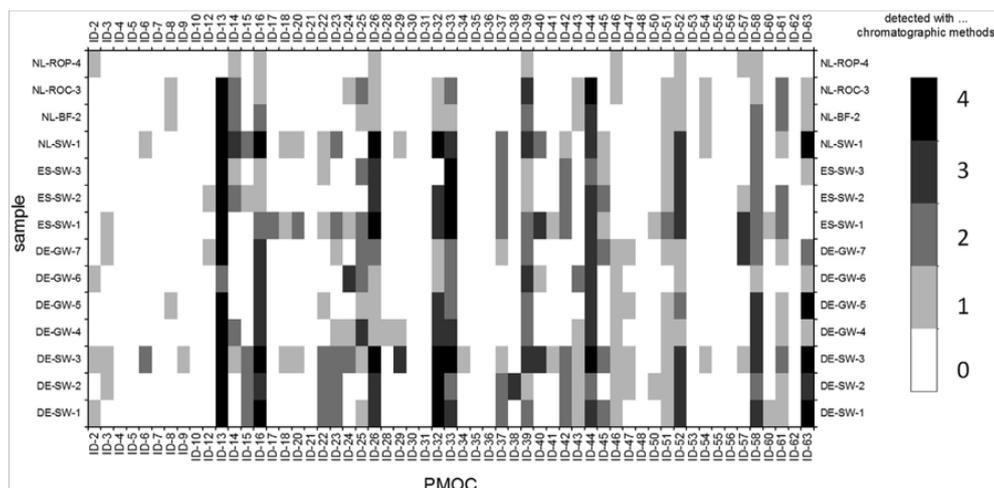


Fig. 1. Detection frequencies of the target PMOCs in the 14 water samples. The gray shading shows the number of principally different separation methods (Chromatography A-D) with which the PMOCs were detected.

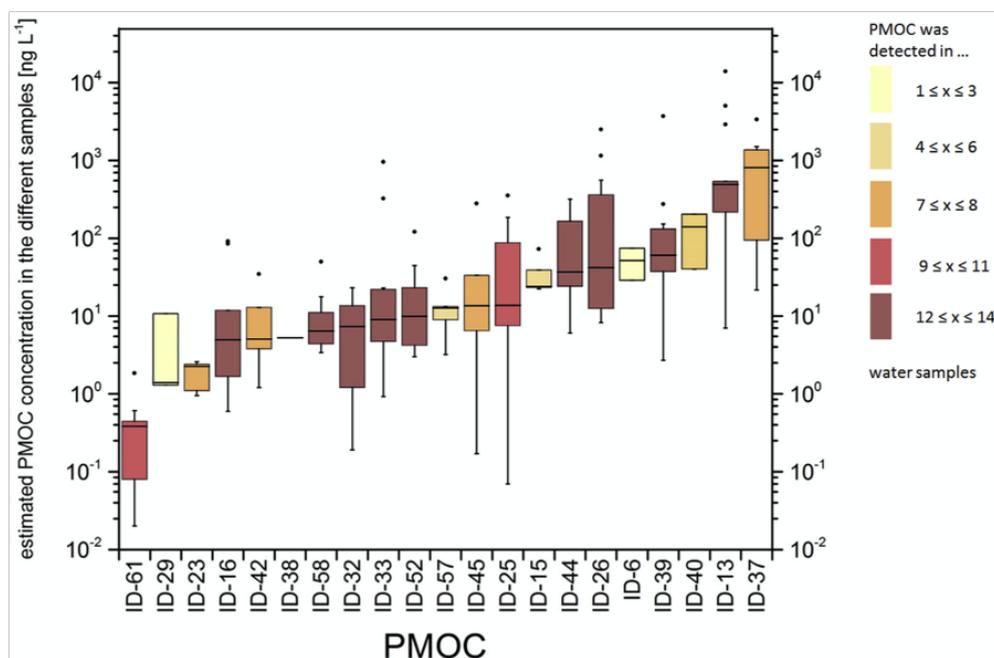


Fig. 2. Estimated concentrations of selected PMOCs in the water samples. The color shading indicates the detection frequency in the 14 samples. The horizontal line marks the median value, the box comprises the interquartile range (IQR), and the whiskers reach to the outmost measuring points that are within 1.5 times the IQR. Dots represent single high concentrations. ID-6: methacrylamido propyl trimethyl ammonium, ID-13: acesulfame, ID-15: 1,4-diazabicyclo-[2.2.2]octane, ID-16: 2-acrylamino-2-methylpropane sulfonate, ID-23: benzyltrimethylammonium, ID-25: sulfanilic acid, ID-26: melamine, ID-29: N-(3-(dimethylamino)-propyl)methacrylamide, ID-32: adamantan-1-amine, ID-33: trifluoromethanesulfonic acid, ID-37: cyanoguanidine, ID-38: 2-amino-4,5-dichlorobenzenesulfonic acid, ID-39: *p*-toluenesulfonic acid, ID-40: saccharine, ID-42: 6-methyl-1,3,5-triazine-diamine, ID-44: dimethylbenzenesulfonic acid, ID-45: benzyldimethylamine, ID-52: 1,3-diphenylguanidine, ID-57: bisphenol S, ID-58: 1,3-di-*o*-tolylguanidine, ID-61: ametryn. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

processing aids in other applications (Table 1). Also the tonnages manufactured in and/or imported into the European Union vary widely. They range from single digit up to hundred thousands of tons (Table 1, ECHA, 2018).

The detected PMOCs were categorized according to two criteria: Frequency of detection and level of awareness as environmental water pollutants (Fig. 3 and Table 1). PMOCs that were detected in at least half of the samples (≥ 7 samples) were placed in the category “high frequency of detection”, other detected PMOCs were placed in the category “low frequency of detection”. For the awareness criterion, three categories were made based on a literature search using Google Scholar including the substance name (IUPAC or trivial name) and the search terms ‘environment’, ‘surface water’, ‘groundwater’, or ‘drinking water’. The three categories were “novel” PMOCs, i.e. substances that have not been reported as environmental water pollutants so far, “scarcely investigated” PMOCs, i.e. substances for which very few reports on environmental occurrence exist (often only from industrial sites or waste water treatment effluents), and “well-known” PMOCs, for which ample literature data exist. This categorization allows a prioritization of the detected PMOCs for future investigations as indicated in Fig. 3, with PMOCs in the top left corner having the highest priority (priority 1), followed by PMOCs in the top middle (priority 2), PMOCs in the bottom left corner (priority 3), and so forth. The PMOCs in the two top priority categories are shown with their structures in Fig. 3 and are shortly discussed individually in the following sub-sections, while all detected PMOCs are presented in Table 1.

3.4.1. Priority 1 PMOCs

Methyl sulfate (ID-14) as a relatively small surfactant was detected in surface and groundwater samples primarily from The Netherlands at levels up to the high ng L^{-1} range. The present study is the first report on the occurrence of methyl sulfate in the environment.

2-Acrylamino-2-methylpropane sulfonate (ID-16) was one of several sulfonic acids/sulfonates frequently detected in the present study. This compound was typically found in the range of $1\text{--}10 \text{ ng L}^{-1}$, but occasionally also exceeding 100 ng L^{-1} . ID-16 was detected in every analyzed sample type. The occurrence of ID-16 in environmental waters is reported here for the first time.

Benzyltrimethylammonium (ID-23), a permanently charged quaternary ammonium cation, and **benzyldimethylamine** (ID-45) are two PMOCs with similar basic structures that were frequently detected here for the first time. They were both primarily found in surface water, but in single cases also in groundwater samples. ID-23 was detected in single digit ng L^{-1} concentrations while ID-45 occurred in up to several hundreds of ng L^{-1} .

Trifluoromethanesulfonic acid (TFMSA, ID-33) was found in all analyzed samples with the exception of the reverse osmosis permeate and at levels up to the $\mu\text{g L}^{-1}$ range (Fig. 2). TFMSA could be analyzed by all of the separation methods (Table S9), even though the retention in HILIC and RPLC was poor (Table S8). We have chosen to categorize TFMSA as “novel” since we are the only ones so far who have reported on the occurrence of TFMSA in environmental water samples (Zahn et al., 2016; Montes et al., 2017, in another context and in other samples from the same larger

Table 1

PMOCs detected in at least one water sample classified according to their frequency of detection and level of awareness (Fig. 3). The underlying analytical methods are listed in Table S9.

Index	Substance name	logD*	CAS no.	Use**	Tonnage/ yr**	Literature
<i>Priority 1: Novel and high frequency of detection</i>						
ID-14	Methyl sulfate	-2.84	512-42-5	<ul style="list-style-type: none"> • Surface active agent • Laboratory chemical 	10–100	
ID-16	2-Acrylamino-2-methylpropane sulfonate	-2.71	5165-97-9	<ul style="list-style-type: none"> • Monomer for polymerization and in hydrogels 	10000 –100000	
ID-23	Benzyltrimethylammonium	-2.24	56-93-9	<ul style="list-style-type: none"> • Process regulator, surface active agent • Used in vulcanization or polymerization processes • Removal of charged micropollutants from water by ion exchange polymers 	100 - 1000	
ID-33	Trifluoromethanesulfonic acid	-1.23	1493-13-6	<ul style="list-style-type: none"> • Processing aid, process regulator, laboratory chemical • Used in vulcanization or polymerization processes • Ingredient of ionic liquids 	100 - 1000	Zahn (2016) Montes (2017)
ID-42	6-Methyl-1,3,5-triazine-diamine	-0.39	542-02-9	<ul style="list-style-type: none"> • Stabilizer for formaldehyde solutions • Used in the manufacturing of melamine resins, in adhesives and sealants, in the decorative layer of high-pressure laminates 	0–10	
ID-45	Benzylidimethylamine	0.02	103-83-3	<ul style="list-style-type: none"> • Process regulator • Used in vulcanization or polymerization processes • Used in binding agents, fixing agents, polymers, adhesives and sealants, and coating products 	100 - 1000	
ID-58	1,3-Di-o-tolylguanidine	2.25	97-39-2	<ul style="list-style-type: none"> • Process regulator • Used in vulcanization or polymerization processes and in rubber products 	100 - 1000	Montes (2017)
<i>Priority 2: Scarcely investigated and high frequency of detection</i>						
ID-32	Adamantan-1-amine	-1.49	768-94-5	<ul style="list-style-type: none"> • Intermediate • Antiviral and antiparkinsonian pharmaceutical 	Intermediate	Möhle and Metzger (2001)
ID-37	Cyanoguanidine	-1.03	461-58-5	<ul style="list-style-type: none"> • Modifying agent for melamine resins • Processing aid • Used in fertilizers, textile treatment products, and dyes • Used for the manufacture of textile, leather and fur 	10000 –100000	Scheurer et al. (2016) Smith and Schallenberg (2013)
ID-39	p-Toluenesulfonic acid	-0.71	104-15-4	<ul style="list-style-type: none"> • Processing aid, process regulator, pH-regulating agent • Used in vulcanization or polymerization processes and in water treatment products 	10000 –100000	Crathorne et al. (1984)
ID-44	Dimethylbenzenesulfonic acid	-0.20	1300-72-7	<ul style="list-style-type: none"> • Process regulator • Used in vulcanization or polymerization processes • pH-regulating agent • Laboratory chemical 	1000–10000	Betwoski et al. (1996)
ID-51	Toluenesulfonamide	1.09	70-55-3	<ul style="list-style-type: none"> • Processing aid, laboratory chemical • Used in polymers 	10–100	Richter et al. (2007)
ID-52	1,3-Diphenylguanidine	1.23	102-06-7	<ul style="list-style-type: none"> • Process regulator • Used in vulcanization or polymerization processes • In rubber products, polymers, tires, treated wooden products, bridges a.o. 	1000–10000	Tang et al. (2015)
<i>Priority 3: Novel and low frequency of detection</i>						
ID-2	2-Piperazin-1-ylethylamine	-5.61	140-31-8	<ul style="list-style-type: none"> • Used in adhesives and sealants • Coating products, fillers, putties, plasters, modelling clay, finger paints and polymers 	1000–10000	
ID-3	Isophoronediamine	-4.59	2855-13-2	<ul style="list-style-type: none"> • Adhesives and sealants • Coating products, fillers, putties, plasters, modelling clay • Laboratory chemical 	10000 –100000	
ID-6	Methacrylamido propyl trimethyl ammonium	-3.74	51410-72-1	<ul style="list-style-type: none"> • Intermediate • Industrial use of monomers for manufacture of thermoplastics 	100 - 1000	
ID-9	2-[4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl]ethanesulfonic acid	-3.25	7365-45-9	<ul style="list-style-type: none"> • Used in water treatment products, adhesives and sealants, coatings, fillers, putties, plasters, modelling clay, inks, toners, leather and textile treatment products, lubricants, greases, perfumes, fragrances, polishes, waxes, dyes, cosmetics, and personal care products 	100 - 1000	
ID-12	3-Allyloxy-2-hydroxy-1-propanesulfonic acid	-3.13	52556-42-0	<ul style="list-style-type: none"> • Processing aids at industrial sites • Corrosion inhibitor • Anti-scaling agent 	1000–10000	
ID-15	1,4-Diazabicyclo-[2.2.2]octane	-2.83	280-57-9	<ul style="list-style-type: none"> • Process regulator • Used in vulcanization or polymerization processes 	1000–10000	
ID-17	4-Hydroxy-1-(2-hydroxyethyl)-2,2,6,6-tetramethylpiperidine	-2.62	52722-86-8	<ul style="list-style-type: none"> • Used for the manufacture of chemicals and plastic products 	1000–10000	
ID-18	Vinylsulfonate	-2.60	3039-83-6	<ul style="list-style-type: none"> • Plating agents and metal surface treating agents • Surface active agent • Used in metal working fluids 	100 - 1000	
ID-24	2-Methyl-2-propene-1-sulfonic acid	-2.21	1561-92-8	<ul style="list-style-type: none"> • Process regulator • Used in vulcanization or polymerization processes • Used for the manufacture of textile, leather, and fur (water repellent) 	1000–10000	
ID-28	Carbodihydrazide	-1.96	497-18-7	<ul style="list-style-type: none"> • Corrosion inhibitor and anti-scaling agent • Used in water treatment chemicals and polymers 	100 - 1000	

Table 1 (continued)

Index	Substance name	logD*	CAS no.	Use**	Tonnage/ yr**	Literature
ID-29	N-(3-(Dimethylamino)-propyl) methacrylamide	-1.85	5205-93-6	• Used in adhesives and sealants	1000–10000	
ID-34	Dimethyl-5-sulfoisophthalate	-1.22	3965-55-7	• Processing aid • Used for the manufacture of plastic products and chemicals	100 - 1000	
ID-47	Dicyclohexyl sulfosuccinate	0.42	23386-52-9	• Used in textile and leather treatment products and dyes, polymers, and non-metal-surface treatment products	100 - 1000	
ID-50	4-((4-Aminophenyl) diazenyl)benzene-sulfonic acid	0.36	104-23-4	• Used in adhesives and sealants, coating products and fillers, putties, plasters, modelling clay • Intermediate • Laboratory chemical	Intermediate	
ID-54	3,5-Di-tert-butylsalicylic acid	1.62	19715-19-6	• Surface active agent	10–100	
ID-60	4,4-Diaminodiphenylmethane	2.40	101-77-9	• Used in inks and toners, electrical batteries and accumulators • Used in lubricants and lubricant additives, polymers, greases	10000 –100000	
<i>Priority 4: Well-known and high frequency of detection</i>						
ID-13	Acesulfame	-3.06	55589-62-3	• Sweetener	1000–10000	Buerge et al. (2009)
ID-22	Cyanuric acid	-2.39	108-80-5	• Water treatment chemical • Used in health services and municipal supply (e.g. electricity, steam, gas, water), in sewage treatment, and in swimming pools for pH control • Used for the manufacture of plastic products	10000 –100000	Reemtsma et al. (2013)
ID-25	Sulfanilic acid	-2.04	121-47-1	• pH regulator • Water treatment product • Laboratory chemical	1000–10000	Holm et al. (1995)
ID-26	Melamine	-2.02	108-78-1	• Production of melamine resins • Used flame retardants, laboratory chemicals, anti-set off and adhesive agents, impregnation agents, coloring agents, dyes, textile treatment products, non-metal-surface treatment products, paper chemicals, pH regulators, water and leather treatment products, and finger paints	100000 – 1000000	Ruff et al. (2015) Jiang et al. (2015)
ID-43	Naphthalene-1-sulfonic acid	-0.23	85-47-2	• Used in rubbers, pharmaceuticals, pesticides, varnishes and dyestuffs	no information available	Alonso and Barcelo (1999)
ID-46	ϵ -Caprolactam	0.31	105-60-2	• Processing aid • Used in tanning agents, solvents, impregnation agents, reprographic agents (roners), bleaching agents, inks and toners, plastic products, textile, leather, and fur • Laboratory chemical	1 000000 – 10000000	Wang et al. (2003)
ID-61	Ametryn	2.57	834-12-8	• Plant protection active substance	1000–10000	Lanchote et al. (2000)
ID-63	Tri-(2-chloroisopropyl) phosphate	3.36	13674-84-5	• Flame retardant • Used in adhesives and sealants, coating products, laboratory chemicals, leather treatment products, plastic and rubber products	0–10	Reemtsma et al. (2008) Li et al. (2014)
<i>Priority 5: Scarcely investigated and low frequency of detection</i>						
ID-38	2-Amino-4,5-dichlorobenzenesulfonic acid	-0.84	6331-96-0	• Intermediate (for paints)	10–100	Landesamt für Umwelt, Wasserwirtschaft und Gewerbeaufsicht Rheinland-Pfalz (2011)
ID-41	1,2,4-Triazole	-0.41	288-88-0	• Semiconductors and photovoltaic agents • In fertilizers, forestry, fishing	1000–10000	Scheurer et al. (2016)
<i>Priority 6: Well-known and low frequency of detection</i>						
ID-8	1,5-Naphthalenedisulfonic acid	-3.43	81-04-9	• Intermediate	Intermediate	Knepper et al. (1999)
ID-20	Ethyl sulfate	-2.48	342573-75-5	• Anti-static agent	Pre-registration process	Mastroianni et al. (2014)
ID-40	Saccharine	-0.49	81-07-2	• Food/feedstuff additive (sweetener) • Used in cosmetics and personal care products, textile treatment products, fur, leather • Pharmaceutical substance	100 - 1000	Buerge et al. (2009) Scheurer et al. (2009)
ID-57	Bisphenol S	2.17	80-09-1	• Homologue to BPA • Used in leather treatment products, polymers, coating products, pH regulators, water and textile treatment products, paper chemicals and dyes	10000 –100000	Yamazaki et al. (2015)

* Calculated at pH 7.0 using ChemAxon (<https://www.chemaxon.com/download/jchem-for-office/#jc4x>).

** ECHA 2018.

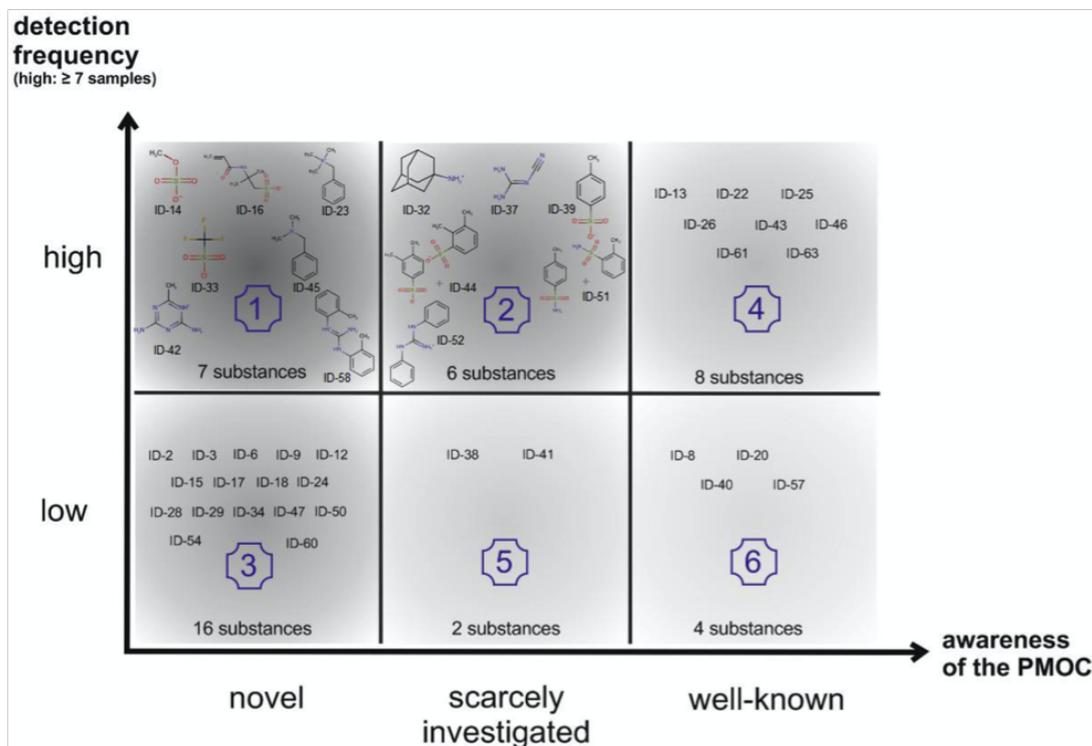


Fig. 3. Classification of PMOCs in priority classes (1–6) according to their frequency of detection and level of awareness as environmental water pollutants.

collaborative study). TFMSA belongs to the group of short-chain perfluoroalkane sulfonic acids. Other short-chain perfluoroalkyl acids, such as trifluoroacetic acid, have already been found in drinking water (Mak et al., 2009; Janda et al., 2018).

6-Methyl-1,3,5-triazine-diamine (acetoguanamine, ID-42) was detected in all of the 7 surface water samples at concentrations typically around or below 10 ng L^{-1} (Fig. 2). To the best of our knowledge the presence of acetoguanamine in environmental water samples is reported here for the first time.

1,3-Di-*o*-tolylguanidine (DTG, ID-58) was detected in all 14 analyzed samples (in 11 samples with at least two methods, Fig. 1) at estimated concentrations typically around 10 ng L^{-1} (Fig. 2). Likewise TFMSA (ID-33), so far only our reports exist on the presence of DTG in surface water, groundwater, and drinking water (present study and Montes et al., 2017 with a different sample set).

3.4.2. Priority 2 PMOCs

Adamantan-1-amine (amantadine, ID-32) is a pharmaceutical used as antiviral (against influenza A virus) and antiparkinsonian medication. Moreover, amantadine is also a chemical registered under REACH because of its use as an intermediate in industrial processes (ECHA, 2018). Also this PMOC was identified in every sample with the exception of the reverse osmosis permeate. It has earlier been identified in German municipal effluent water (Möhle and Metzger, 2001).

All of the three guanidine derivatives that were analyzed (including DTG discussed above and DPG discussed below) were detected in the majority of samples. **Cyanoguanidine** (CG, ID-37) was detected in 8 of the analyzed water samples, i.e. in all 7 surface water samples and in one German groundwater sample (Fig. 1)

at concentrations exceeding 3000 ng L^{-1} (Fig. 2). Few studies have previously reported the environmental occurrence of CG. Scheurer and co-workers detected CG in German surface water in the mg L^{-1} range, with an industrial site as a point source (Scheurer et al., 2016). In surface water samples in a coastal agricultural catchment from New Zealand CG was quantified with a maximum concentration close to 1 mg L^{-1} (Smith and Schallenberg, 2013).

***p*-Toluenesulfonic acid** (ID-39) was detected in all 14 samples and at concentrations exceeding 1000 ng L^{-1} . It has earlier been detected in drinking water in the United Kingdom (Crathorne et al., 1984).

The two isomers of **dimethylbenzenesulfonic acid** (ID-44), i.e. xylenesulfonic acid and 2,3-dimethylbenzenesulfonic acid, were both detected in 13 samples (Fig. 1). Only the reverse osmosis permeate from the Netherlands showed levels < MDL. Betowski and co-workers have earlier reported on the presence of xylenesulfonic acid in groundwater (Betowski et al., 1996).

Two isomers of the compound **toluenesulfonamide** (ID-51) were detected in 12 out of 14 samples, with the exception of one groundwater sample and the reverse osmosis permeate. In a study by Richter et al. (2017) with different types of water from Berlin toluenesulfonamide was found at concentrations up to $50 \mu\text{g L}^{-1}$ in wastewater and $0.27 \mu\text{g L}^{-1}$ in drinking water.

Likewise DTG, **1,3-diphenylguanidine** (DPG, ID-52) was detected in all 14 analyzed samples, but at higher estimated concentrations up to 100 ng L^{-1} (Fig. 2). In an earlier study on drinking water in China DPG was found at levels up to 0.74 mg L^{-1} due to migration from high density polyethylene pipes (Tang et al., 2015).

3.5. Evaluation of the prioritization and analytical strategy

While a number of prioritization approaches for chemicals (based on regulatory databases or other available datasets) with respect to environmental and/or human exposure and risk have been published (as reviewed in e.g. Muir and Howard, 2006; Bu et al., 2013; Mitchell et al., 2013), relatively few chemical analytical studies have been conducted taking direct advantage of such prioritization exercises (McLachlan et al., 2014; Singer et al., 2016; Sjerps et al., 2016; Montes et al., 2017; Gago-Ferrero et al., 2018). Nevertheless, monitoring is necessary to validate the prioritization approaches.

The present chemical analytical study builds on a prioritized list of industrial chemicals that have been modeled to be persistent, mobile, and to possess a high environmental emission potential (Schulze et al., 2018). Additionally, we used targeted analytical methods with generally very high sensitivity. Still, several target analytes were not detected in the analyzed samples. This could be due to one or several of the following uncertainties of our overall prioritization and analytical strategy. I) The modeling of especially persistence, but also mobility and emission potential, is tainted with considerable uncertainties, as discussed in detail in Arp et al. (2017) and in Schulze et al., (2018). II) For some of the target analytes enrichment from water, chromatographic retention and/or peak shape, or ionization in ESI was poor, hampering sensitive detection. III) The analyzed water samples were not representative for all European countries or regions. Some PMOCs may have well defined points of emission that were not covered by the sampling design.

Despite these uncertainties, our overall strategy was highly successful. Among the 54 target PMOCs selected from the prioritized list in the supplementary data in Schulze et al. (2018) (section 2.1), 49 were amenable to at least one of the developed methods. Out of these 49 substances 35 PMOCs were found in surface and/or groundwater, among them 23 PMOCs that have not been reported before to occur in environmental waters. The high detection rate of 71% (35/49) validates the good accuracy of the modeling and corroborates the strength of the chosen approach, i.e. a focused prioritization combined with sensitive target analysis.

4. Conclusions

The present study has validated and proven the strength of the chosen modeling and analytical approach consisting of a focused prioritization combined with sensitive target chemical analysis. The developed enrichment and chromatographic methods proved to be useful and complementary for analysis of PMOCs in water samples. They can be used individually or in combination with each other to further investigate the occurrence and fate of PMOCs in water cycles. In the present study 75% of the analyzed PMOCs were detected in selected water samples from Germany, Spain and The Netherlands. This high rate of detection together with the fact that more than 1000 PMOC candidates with an environmental emission potential were identified only among the substances registered under REACH (Schulze et al., 2018) leads to the conclusion that there are likely hundreds of so far undiscovered PMOCs present in environmental waters, threatening the quality of drinking water resources. An important follow-up study would thus be to use the list published by Schulze et al. (2018) in order to better characterize the number and identity of PMOCs occurring in environmental waters. Furthermore, the development of quantitative analytical methods for PMOCs would enable more detailed fate studies of PMOCs, e.g. investigating the removal in different steps of drinking water production. Finally, the toxicity of the most abundant of the identified PMOCs (e.g. TFMSA, CG, and *p*-toluenesulfonic acid

occurring in high ng L⁻¹ up to µg L⁻¹ concentrations) needs to be investigated as another important step in PMOC risk assessment. In this respect, activities are ongoing by national and European authorities to classify substances according to their persistence, mobility, and toxicity (PMT) properties (Neumann and Schliebner, 2017). The results of the present study inform such activities.

Acknowledgments

This work has been funded by the German BMBF (02WU1347A/B) and the Spanish MINECO/AEI (JPIW2013-117) in the frame of the collaborative international consortium (WATERJPI2013 – PROMOTE) of the Water Challenges for a Changing World Joint Programming Initiative (Water JPI) Pilot Call. RM, RR and JBQ also acknowledge Galician Council of Culture, Education and Universities and FEDER/EDRF funding (ED431C2017/36). The authors are thankful for the support in sample acquisition by Hessenwasser GmbH & Co. KG (Darmstadt, Germany), Peter Seel (Hessian Agency for Nature Conservation, Environment and Geology, Wiesbaden, Germany), Mónica Velo and Raquel Piñeiro (Augas de Galicia, Santiago de Compostela, Spain), Oasen drinking water (Gouda, the Netherlands), and Vittorio Albergamo (Institute for Biodiversity and Ecosystem Dynamics, University of Amsterdam, The Netherlands). Finally, we would like to thank Heidrun Paschke and Till Meier for technical help in the lab.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.01.008>.

References

- Alonso, M.C., Barcelo, D., 1999. Tracing polar benzene- and naphthalenesulfonates in untreated industrial effluents and water treatment works by ion-pair chromatography-fluorescence and electrospray-mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 400, 211–231.
- Arp, H.P.H., Brown, T.N., Berger, U., Hale, S.E., 2017. Ranking REACH registered neutral, ionizable and ionic organic chemicals based on their aquatic persistence and mobility. *Environ. Sci.: Processes Impacts* 19, 939–955.
- Beltrán-Martinavarro, B., Peris-Vicente, J., Rambla-Alegre, M., Marco-Peiró, S., Esteve-Romero, J., Carda-Broch, S., 2013. Quantification of melamine in drinking water and wastewater by micellar liquid chromatography. *J. AOAC Int.* 96 (4), 870–874.
- Betowski, L., Kendall, D., Pace, C., Donnelly, J., 1996. Characterization of groundwater samples from superfund sites by gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 30, 3558–3564.
- Bieber, S., Greco, G., Grosse, S., Letzel, T., 2017. RPLC-HILIC and SFC with mass spectrometry: polarity-extended organic molecule screening in environmental (water) samples. *Anal. Chem.* 89 (15), 7907–7914.
- Bu, Q., Wang, D., Wang, Z., 2013. Review of screening systems for prioritizing chemical substances. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 43, 1011–1041.
- Buerge, I.J., Buser, H.-R., Kahle, M., Müller, M.D., Poiger, T., 2009. Ubiquitous occurrence of the artificial sweetener acesulfame in the aquatic environment. *Environ. Sci. Technol.* 43 (12), 4381–4385.
- Christophoridis, C., Nika, M.-C., Aalizadeh, R., Thomaidis, N.S., 2016. Ozonation of ranitidine: effect of experimental parameters and identification of transformation products. *Sci. Total Environ.* 557–558, 170–182.
- Crathorne, B., Fielding, M., Steel, C.P., Watts, C.D., 1984. Organic compounds in water: analysis using coupled-column high-performance liquid chromatography and soft-ionization mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 18, 797–802.
- ECHA (2018) <https://www.echa.europa.eu/information-on-chemicals/registered-substances>. Last accessed 21.01.2019.
- European Parliament, 2006. Regulation (ec) 1907/2006 of the European parliament and of the council of 18 December 2006 concerning the registration, evaluation, authorisation and restriction of chemicals (REACH), establishing a European chemicals agency, amending directive 1999/45/ec and repealing council regulation (ec) 793/93 and commission regulation (ec) 1488/94 as well as council directive 76/769/eec and commission directives 91/155/eec, 93/67/eec, 93/105/ec and 2000/21/ec. *Off. J. Eur. Union* 30, 12.2006, L 396/1–849.
- Gago-Ferrero, P., Krettek, A., Fischer, S., Wiberg, K., Ahrens, L., 2018. Suspect screening and regulatory databases: a powerful combination to identify emerging micropollutants. *Environ. Sci. Technol.* 52, 6881–6894.

- Holm, V.J., Rügge, K., Bjerg, L.P., Christensen, H.T., 1995. Occurrence and distribution of pharmaceutical organic compounds in the groundwater downgradient of a landfill (grindsted, Denmark). *Environ. Sci. Technol.* 29 (5), 1415–1420.
- Huntscha, S., Singer, H.P., McArdell, C.S., Frank, C.E., Hollender, J., 2012. Multiresidue analysis of 88 polar organic micropollutants in ground, surface and wastewater using online mixed-bed multilayer solid-phase extraction coupled to high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1268, 74–83.
- Janda, J., Nödler, K., Brauch, H.J., Zwiener, C., Lange, F.T., 2018. Robust trace analysis of polar (C2-C8) perfluorinated carboxylic acids by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: method development and application to surface water, groundwater and drinking water. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1731-x>.
- Jiang, J.-Q., Durai, H.B.P., Winzenbacher, R., Petri, M., Seitz, W., 2015. Drinking water treatment by in situ generated ferrate(VI). *Desalin. Water Treat.* 55 (3), 731–739.
- Knepper, T.P., Sacher, F., Lange, F.T., Brauch, H.J., Karrenbrock, F., Roerden, O., Lindner, K., 1999. Detection of polar organic substances relevant for drinking water. *Waste Manag.* 19 (2), 77–99.
- Köke, N., Zahn, D., Knepper, T.P., Frömel, T., 2018. Multi-layer solid-phase extraction and evaporation-enrichment methods for polar organic chemicals from aqueous matrices. *Anal. Bioanal. Chem.* 410 (9), 2403–2411.
- Lanchote, V.L., Bonato, P.S., Cerdeira, A.L., Santos, N.A.G., de Carvalho, D., Gomes, M.A., 2000. HPLC screening and GC-MS confirmation of triazine herbicides residues in drinking water from sugar cane area in Brazil. *Water Air Soil Pollut.* 118 (3), 329–338.
- Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz NRW, 2015. Warn- und Alarmdienst Rhein - Pyrazol im Rhein, 26 August 2015. https://www.lanuv.nrw.de/fileadmin/lanuv/umwelt/schadensfaelle/rhein/2015/2015_08_26_Pyrazol.pdf.
- Landesamt für Umwelt, Wasserwirtschaft und Gewerbeaufsicht Rheinland-Pfalz, 2011. Tätigkeitsbericht 2011, Teil 1 Arbeitsbericht. http://www.rheinguetestation.de/dokumente/Taetigkeitsbericht_2011_der_Rheinguetestation_Worms_Teil_1_Arbeitsbericht.pdf.
- Li, J., Yu, N., Zhang, B., Jin, L., Li, M., Hu, M., Zhang, X., Wei, S., Yu, H., 2014. Occurrence of organophosphate flame retardants in drinking water in China. *Water Res.* 54, 53–61.
- Mak, Y.L., Taniyasu, S., Yeung, L.W.Y., Lu, G., Jin, L., Yang, Y., Lam, P.K.S., Kannan, K., Yamashita, N., 2009. Perfluorinated compounds in tap water from China and several other countries. *Environ. Sci. Technol.* 43 (13), 4824–4829.
- Mastroianni, N., Lopez de Alda, M., Barcelo, D., 2014. Analysis of ethyl sulfate in raw wastewater for estimation of alcohol consumption and its correlation with drugs of abuse in the city of Barcelona. *J. Chromatogr. A* 1360, 93–99.
- Mazzarino, M., Fiacco, I., de la Torre, X., Botrè, F., 2011. Screening and confirmation analysis of stimulants, narcotics and beta-adrenergic agents in human urine by hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1218 (45), 8156–8167.
- McLachlan, M.S., Kierkegaard, A., Radke, M., Sobek, A., Malmvärn, A., Alsberg, T., Arnot, J.A., Brown, T.N., Wania, F., Breivik, K., Xu, S., 2014. Using model-based screening to help discover unknown environmental contaminants. *Environ. Sci. Technol.* 48, 7264–7271.
- Mitchell, J., Arnot, J.A., Jolliet, O., Georgopoulos, P.G., Isukapalli, S., Dasgupta, S., Pandian, M., Wambaugh, J., Egeghy, P., Cohen Hubal, E.A., Vallero, D.A., 2013. Comparison of modeling approaches to prioritize chemicals based on estimates of exposure and exposure potential. *Sci. Total Environ.* 458–460, 555–567.
- Möhle, E., Metzger, J.W., 2001. Drugs in municipal sewage effluents: screening and biodegradation studies. In: Chapter 11 in ACS Symposium Series "Pharmaceuticals and Care Products in the Environment", vol. 791, pp. 192–205.
- Montes, R., Aguirre, J., Vidal, X., Rodil, R., Cela, R., Quintana, J.B., 2017. Screening for polar chemicals in water by trifunctional mixed-mode liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 51 (11), 6250–6259.
- Montes, R.; Rodil, R.; Cela, R.; Quintana, J. B. (submitted) Determination of Persistent and Mobile Organic Contaminants (PMOCs) in Water Samples by Mixed-Mode Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry.
- Muir, D.C.G., Howard, P.H., 2006. Are there other persistent organic pollutants? A challenge for environmental chemists. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7157–7166.
- Neumann, M., 2017. Vorschlag für Kriterien und ein Bewertungskonzept zur Identifizierung von persistenten, mobile und toxischen (PMT-) Stoffen zum Schutz des Rohwassers zur Trinkwassergewinnung unter der EU-Verordnung REACH. *Zbl. Geol. Paläontol. Teil I* 1, 91–101.
- Neumann, M., Schliebner, I., 2017. Protecting the Sources of Our Drinking Water. A Revised Proposal for Implementing Criteria and an Assessment Procedure to Identify Persistent, Mobile and Toxic (PMT) and Very Persistent, Very Mobile (vPvM) Substances Registered under REACH. German Environment Agency. Dessau-Rosslau (16 pages, ISSN 2363-8273). Online available at: <https://www.umweltbundesamt.de/publikationen/protecting-the-sources-of-our-drinking-water-from>.
- Parr, M.K., Wuest, B., Naegle, E., Joseph, J.F., Wenzel, M., Schmidt, A.H., Stanic, M., de la Torre, X., Botrè, F., 2016. SFC-MS/MS as an orthogonal technique for improved screening of polar analytes in anti-doping control. *Anal. Bioanal. Chem.* 408 (24), 6789–6797.
- Reemtsma, T., Quintana, J.B., Rodil, R., Garcia-Lopez, M., Rodriguez, I., 2008. Organophosphorus flame retardants and plasticizers in water and air I. Occurrence and fate. *Trends Anal. Chem.* 27 (9), 727–737.
- Reemtsma, T., Alder, L., Bansiak, U., 2013. A multimethod for the determination of 150 pesticide metabolites in surface water and groundwater using direct injection liquid chromatography – mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1271, 95–104.
- Reemtsma, T., Berger, U., Arp, H.P.H., Gallard, H., Knepper, T.P., Neumann, M., Quintana, J.B., de Voogt, P., 2016. Mind the gap: persistent and mobile organic compounds – water contaminants that slip through. *Environ. Sci. Technol.* 50 (19), 10308–10315.
- Richter, D., Dinnbier, U., Massmann, G., Pekdeger, A., 2007. Quantitative determination of three sulfonamides in environmental water samples using liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1157, 115–121.
- Ruff, M., Mueller, M.S., Loos, M., Singer, H.P., 2015. Quantitative target and systematic non-target analysis of polar organic micro-pollutants along the river Rhine using high-resolution mass-spectrometry – identification of unknown sources and compounds. *Water Res.* 87, 145–154.
- Scheurer, M., Brauch, H.-J., Lange, F.T., 2009. Analysis and occurrence of seven artificial sweeteners in German waste water and surface water and in soil aquifer treatment (SAT). *Anal. Bioanal. Chem.* 394, 1585–1594.
- Scheurer, M., Brauch, H.-J., Schmidt, C.K., Sacher, F., 2016. Occurrence and fate of nitrification and urease inhibitors in the aquatic environment. *Environ. Sci.: Processes Impacts* 18 (8), 999–1010.
- Schulze, S., Sättler, D., Neumann, M., Arp, H.P.H., Reemtsma, T., Berger, U., 2018. Using REACH registration data to rank the environmental emission potential of persistent and mobile organic chemicals. *Sci. Total Environ.* 625, 1122–1128.
- Singer, H.P., Wössner, A.E., McArdell, C.S., Fenner, K., 2016. Rapid screening for exposure to „Non-Target“ pharmaceuticals from wastewater effluents by combining HRMS-based suspect screening and exposure modeling. *Environ. Sci. Technol.* 50, 6698–6707.
- Sjerps, R.M.A., Vughs, D., van Leerdam, J.A., ter Laak, T.L., van Wezel, A.P., 2016. Data-driven prioritization of chemicals for various water types using suspect screening LC-HRMS. *Water Res.* 93, 254–264.
- Smith, I., Schallenberg, M., 2013. Occurrence of the agricultural nitrification inhibitor, dicyandiamide, in surface waters and its effects on nitrogen dynamics in an experimental aquatic system. *Agric. Ecosyst. Environ.* 164, 23–31.
- Stüber, M., Reemtsma, T., 2004. Evaluation of three calibration methods to compensate matrix effects in environmental analysis with LC-ESI-MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 378 (4), 910–916.
- Tang, J., Tang, L., Zhang, C., Zeng, G., Deng, Y., Dong, H., Wang, J., Wu, Y., 2015. Different senescent HDPE pipe-risk: brief field investigation from source water to tap water in China (Changsha City). *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 22 (20), 16210–16214.
- Wang, H., Wang, C., Wu, W., Mo, Z., Wang, Z., 2003. Persistent organic pollutants in water and surface sediments of Taihu Lake, China and risk assessment. *Chemosphere* 50, 557–562.
- Yamazaki, E., Yamashita, N., Taniyasu, S., Lam, J., Lam, P.K.S., Moon, H.-B., Jeong, Y., Kannan, P., Achyuthan, H., Munuswamy, N., Kannan, K., 2015. Bisphenol A and other bisphenol analogues including BPS and BPF in surface water samples from Japan, China, Korea and India. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 122, 565–572.
- Zahn, D., Frömel, T., Knepper, T.P., 2016. Halogenated methanesulfonic acids: a new class of organic micropollutants in the water cycle. *Water Res.* 101, 292–299.
- Zahn, D.; Meusinger, R.; Frömel, T.; Knepper, T.P. (submitted) Halomethanesulfonic Acids – a New Class of Polar Disinfection By-Products: Standard Synthesis, Occurrence, and Indirect Assessment of Mitigation Options.

5.3 A rapid method for quantification of persistent and mobile organic substances in water using supercritical fluid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry

Schulze, St.; Paschke, H.; Meier, T.; Muschket, M.; Reemtsma, Th.; Berger, U., A rapid method for quantification of persistent and mobile organic substances in water using supercritical fluid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2020**, 412, 4941-4952.

Der Artikel ist abrufbar unter:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s00216-020-02722-5>

Die Experimente wurden von mir entworfen. Die Stoffauswahl erfolgte durch mich. Bei den Analysen mittels RPLC-MS/MS unterstützte mich H. Paschke. T. Meier führte im Labor die Experimente zur Genauigkeit (Richtigkeit + Präzision) durch. Als Erstautorin der Publikation habe ich das Manuskript verfasst. An der Diskussion der Ergebnisse und Ergebnispräsentation waren T. Meier, M. Muschket und U. Berger beteiligt. U. Berger hat an der Strukturierung und Formulierung des Manuskripts mitgewirkt.



A rapid method for quantification of persistent and mobile organic substances in water using supercritical fluid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry

Stefanie Schulze¹ · Heidrun Paschke¹ · Till Meier¹ · Matthias Muschket¹ · Thorsten Reemtsma^{1,2} · Urs Berger¹Received: 11 March 2020 / Revised: 8 May 2020 / Accepted: 18 May 2020
© The Author(s) 2020

Abstract

Persistent and mobile organic substances (PM substances) are a threat to the quality of our water resources. While screening studies revealed widespread occurrence of many PM substances, rapid trace analytical methods for their quantification in large sample sets are missing. We developed a quick and generic analytical method for highly mobile analytes in surface water, groundwater, and drinking water samples based on enrichment through azeotrope evaporation (4 mL water and 21 mL acetonitrile), supercritical fluid chromatography (SFC) coupled to high-resolution mass spectrometry (HRMS), and quantification using a compound-specific correction factor for apparent recovery. The method was validated using 17 PM substances. Sample preparation recoveries were between 60 and 110% for the vast majority of PM substances. Strong matrix effects (most commonly suppressive) were observed, necessitating a correction for apparent recoveries in quantification. Apparent recoveries were neither concentration dependent nor dependent on the water matrix (surface or drinking water). Method detection and quantification limits were in the single- to double-digit ng L⁻¹ ranges, precision expressed as relative standard deviation of quadruplicate quantifications was on average < 10%, and trueness experiments showed quantitative results within ± 30% of the theoretical value in 77% of quantifications. Application of the method to surface water, groundwater, raw water, and finished drinking water revealed the presence of acesulfame and trifluoromethanesulfonic acid up to 70 and 19 µg L⁻¹, respectively. Melamine, diphenylguanidine, *p*-dimethylbenzenesulfonic acid, and 4-hydroxy-1-(2-hydroxyethyl)-2,2,6,6-tetramethylpiperidine were found in high ng L⁻¹ concentrations.

Keywords Persistent and mobile organic substances · PM substances · PMOCs · Supercritical fluid chromatography · Evaporation · Water samples

Published in the topical collection *Persistent and Mobile Organic Compounds – An Environmental Challenge* with guest editors Torsten C. Schmidt, Thomas P. Knepper, and Thorsten Reemtsma.

Electronic supplementary material The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s00216-020-02722-5>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Urs Berger
urs.berger@ufz.de

¹ Department of Analytical Chemistry, Helmholtz Centre for Environmental Research - UFZ, Permoserstrasse 15, 04318 Leipzig, Germany

² Institute of Analytical Chemistry, University of Leipzig, Linnéstrasse 3, 04103 Leipzig, Germany

Introduction

Persistent and mobile organic substances (PM substances, also referred to as PMOCs) are characterized by a high environmental stability and a very low potential to sorb to surfaces [1, 2]. PM substances that are emitted into the environment [3] would thus partition to and stay in the water phase and penetrate natural (bank filtration, subsurface passage) and technical (wastewater treatment plants, drinking water treatment) barriers in water cycles. Therefore, PM substances are of concern regarding the quality of our drinking water resources [4].

The characteristic of high aquatic mobility makes PM substances hard to analyze using common reversed phase liquid chromatography (RPLC) techniques [1, 5]. Since hydrophobic interactions are the driving force of retention in RPLC,

highly polar and thus in-water-mobile compounds are not retained and elute in the void volume together with very polar matrix constituents. In recent years, alternative separation techniques were developed for retention and separation of highly mobile substances [5], including ion chromatography [6], hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) [7, 8], mixed-mode liquid chromatography (MMLC) [9, 10], and supercritical fluid chromatography (SFC) [11, 12].

SFC as a separation technique was first reported by Klesper and co-workers [13] in 1962. Since then, the number of reports on applications of SFC is continuously increasing [14, 15]. SFC is often described as an alternative to normal-phase chromatography and as the method of choice for enantioselective separations, particularly for non-volatile compounds [16]. However, due to the possibilities of using reversed phase as well as normal-phase stationary phases and to mix a polar co-solvent into supercritical (non-polar) CO₂ in the mobile phase, SFC is a very versatile separation technique, even encompassing applications for highly polar and mobile analytes [17]. Recent examples include environmental water pollutants [18, 19], polar urinary metabolites [20], and polar compounds in anti-doping control [21]. Desfontaine and co-workers [22] compared matrix effects in SFC and RPLC coupled to tandem mass spectrometry for analysis of doping agents and pharmaceuticals in urine. They found that SFC generally led to lower matrix effects than RPLC, especially when applying a simple dilute-and-shoot protocol [22].

Besides chromatography, the extraction and enrichment of PM substances from water samples also poses a challenge [5]. Enrichment is necessary, since direct injection of water samples into the analytical instrument [23] is often not sensitive enough for detection of trace levels in samples from background areas. Additionally, large-volume injection of water (> 10 µL) is not compatible with SFC. Solid-phase extraction is the most commonly used method for enrichment of contaminants from water samples. However, retention of PM substances on common SPE material is usually poor (again due to the high mobility) or very specific, such as, e.g., for negatively charged PM substances on an anion exchange resin [10]. Evaporation [7] or freeze-drying [9] are more generic methods for analyte enrichment with the disadvantage that all non-volatile constituents in the sample are quantitatively enriched as well, which may lead to significant matrix effects.

In a recent study, we have applied innovative analytical methods for a qualitative screening study of PM substances in environmental water samples [11]. Out of 57 target analytes, 43 (75%) were detected in surface water and/or groundwater samples. This high detection percentage underlines the importance of being able to quantify PM substances in different types of environmental waters, including drinking water. For ion chromatography, HILIC, and MMLC, quantitative methods have been explored for PM substances (see above), but not for SFC so far. The aim of the present study

was thus to develop and validate a trace analytical method based on SFC coupled to high-resolution mass spectrometry as an alternative and potentially complimentary method for quantitative analysis of a variety of PM substances in environmental as well as in drinking water samples.

Experimental section

Chemicals and reagents

For method development and validation, 17 model PM substances were selected (Fig. 1) from a list of PM substances detected in environmental water samples in a qualitative screening study [11]. The target PM substances were selected to span a broad range of (yet very low) log *D* values (estimated at pH 7 to -3.06 to 1.23, ChemAxon, JChem for Office, version 19.26.0.571), molecular masses (84 to 361 g mol⁻¹), and charge states, as detailed in Table S1 in the Electronic Supplementary Material (ESM). Stock standard solutions of the analytes were prepared at 1 mg mL⁻¹ in acetonitrile or water (depending on solubility) and stored in darkness at -20 °C. From these stock solutions, mixture solutions of the 17 PM substances at different concentration levels were prepared. All used chemicals, solvents, and reagents were of analytical grade (ESM Table S2).

Water samples

For method development and validation, surface water samples from the rivers Götsche and Mulde (near Halle and Leipzig, Germany) and drinking water samples from the tap in our laboratory were used. For method application, six water samples were obtained from two different regions in Germany (South Hesse and Berlin) including surface water, groundwater, and water from drinking water treatment plants (for details on the samples, see ESM Table S3). The samples from the drinking water treatment plant Tegel were taken and analyzed with permissions from the drinking water company (Berliner Wasserbetriebe). Sampling took place between 2017 and 2019. The samples were stored up to 2 weeks at +4 °C until analysis.

Sample preparation

The samples were filtered through a glass fiber filter (see ESM Table S2 for details on materials and instrumentation used in sample preparation). Azeotrope evaporation (AZEVA) was used as enrichment procedure. An aliquot of 4 mL of the filtered sample was mixed with 21 mL acetonitrile (ratio for the minimum azeotrope mixture) in an evaporation glass vial with a tip in the bottom. This mixture was evaporated to dryness at 40 °C under a stream of argon, while the glass walls

A rapid method for quantification of persistent and mobile organic substances in water using supercritical...

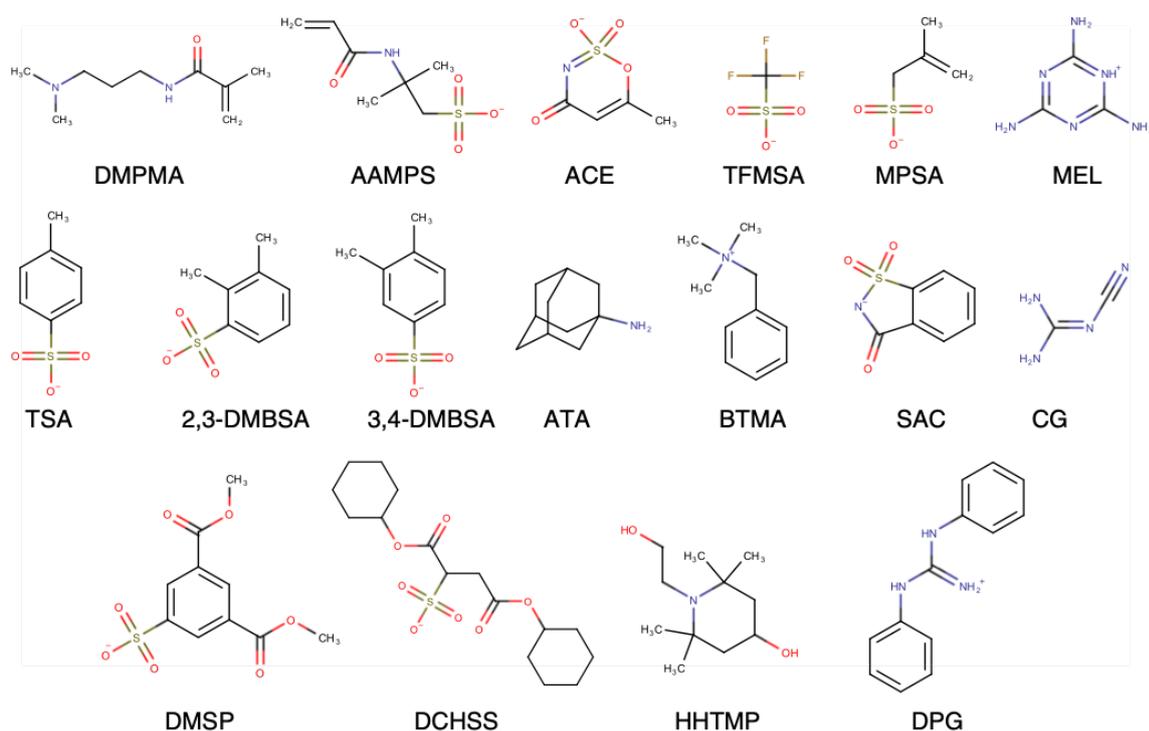


Fig. 1 The 17 selected PM substances with their acronyms used in the present study. For full names and CAS numbers, see ESM Table S1. Ionizable substances are shown in their charge state at a pH value of 7

were repeatedly rinsed with acetonitrile to make sure that the residue concentrated in the tip. The residue was reconstituted in 100 μL acetonitrile:Milli-Q water (90:10), resulting in a sample-to-extract enrichment factor of 40. In case of precipitation, the extract was filtered through a lint-free paper wipe covering the tip of a Pasteur pipette while it was transferred into an autoinjector vial.

Instrumental analysis

SFC (Waters Acquity UPC² system) was performed on a BEH column (for analyses in positive ion mode) or Torus Diol column (for analyses in negative ion mode) coupled to quadrupole time-of-flight high-resolution mass spectrometry (HRMS; Waters Synapt GS2) (ESM Table S2). Aliquots of 10 μL of the sample extracts were injected. Separation was performed at 55 $^{\circ}\text{C}$ at a flow rate of 1.5 mL min^{-1} using a carbon dioxide-methanol/water gradient containing 0.2% ammonium hydroxide in the methanol/water co-solvent (ESM Fig. S1A). A methanol/water make-up flow containing 0.1% formic acid was used at 0.3 mL min^{-1} to transfer the column effluent into the mass spectrometer. The HRMS instrument was operated in positive or negative electrospray ionization (ESI) and full scan mode (m/z 50 to 600) at a resolution of

20,000. Mass calibration on a mass range of m/z 50 to 1200 was performed using a calibration solution to generate 17 reference masses in positive and 16 in negative ionization mode. A root mean square residual mass error < 1 ppm was obtained. During measurements in both ionization modes, a lock-spray containing leucine enkephalin was continuously infused. Two ions were selected for identification of the PM substances (except for MPSA and CG that produced only one ion), and the most intense ion was used for quantification (ESM Table S4). A mass tolerance of 5 ppm was used when extracting high-resolution mass chromatograms of the analytes.

As a reference for SFC separation and retention, commonly used RPLC based on a C_{18} stationary phase (Waters Acquity UPLC HSS T3 column) was used (ESM Table S2). The RPLC was coupled to triple quadrupole tandem mass spectrometry (MS/MS). Aliquots of 10 μL of the sample extracts were injected in water. Separation was performed at 60 $^{\circ}\text{C}$ at a flow rate of 500 $\mu\text{L min}^{-1}$ using a water/methanol gradient containing 5 mM ammonium formate (ESM Fig. S1B). The mass spectrometer was operated in positive/negative-switching ESI mode. Scheduled multiple reaction monitoring (MRM) mode was applied, acquiring two transitions for each analyte (ESM Table S5).

Quantification

Quantification was performed using an external 5-point calibration curve in pure solvent and applying a compound-specific correction factor for the apparent recovery (corresponding to a matrix- and method-matched calibration). The calculation of the apparent recovery is explained in the section “Apparent recoveries (sample preparation recoveries and matrix effects)”, and the applied values are listed in ESM Table S6. The correction factor was calculated from the mean of the apparent recoveries determined in different experiments (varying in spike concentrations and water matrices), as neither the spike concentration nor the water matrix (surface or drinking water) had a significant influence on the apparent recovery (see “Results and discussion” section below).

Method performance validation

We validated the method by determining instrumental blanks, instrumental detection limits, linear range of detection, apparent recoveries (i.e., sample preparation recoveries and matrix effects), procedural blanks, method detection and quantification limits, and accuracy (i.e., precision and trueness).

Instrumental blanks, instrumental detection limits, and linearity

Instrumental blank contamination was evaluated by solvent injections (acetonitrile:Milli-Q water 90:10) into the SFC-HRMS system. Instrumental detection limits (IDLs) and the linear range of detection were determined using a dilution series ($n = 10$) of the standard mixture (consisting of the 17 PM substances) covering a concentration range of 0.05–500 ng mL⁻¹. The coefficient of determination (R^2) for linear regression was calculated. IDLs were set for each PM substance to the injected amount, leading to a signal in the extracted high-resolution mass chromatogram with a signal-to-noise ratio of at least 3. In case of instrumental blank contamination, the IDL was calculated from the quantified signal areas in 10 solvent blank injections based on mean plus 3 times standard deviation of the signal areas in the 10 blanks.

Apparent recoveries (sample preparation recoveries and matrix effects)

Sample preparation recovery and matrix effect experiments were performed using surface water from the river Göttsche and drinking water from the tap in the laboratory (ESM Table S3). All experiments were performed in triplicates and analyzed by SFC-HRMS. Each PM substance was spiked at two to three different concentrations in both water matrices (ESM Table S6) before and after enrichment. Spike

concentrations differed between the PM substances based on the differences in IDLs. Additionally, both water matrices were also enriched and analyzed without spiking. Areas of PM substances in the chromatograms of the non-spiked samples were subtracted from areas in the chromatograms of the respective spiking experiments (\rightarrow netArea).

The sample preparation recovery (Recov) was calculated according to Eq. (1)

$$\text{Recov (\%)} = \left(\frac{\text{netArea}_{\text{PM substance spiked before enrichment}}}{\text{netArea}_{\text{PM substance spiked after enrichment}}} \right) \times 100 \quad (1)$$

The matrix effect (ME) in ionization was calculated according to Eq. (2)

$$\text{ME (\%)} = \left(\frac{\text{netArea}_{\text{PM substance spiked after enrichment}}}{\text{Area}_{\text{PM substance in pure solvent}}} \right) \times 100 - 100 \quad (2)$$

Finally, the apparent recovery (combination of Recov and ME) was calculated according to Eq. (3)

$$\begin{aligned} \text{Apparent recovery (\%)} \\ = \left(\frac{\text{netArea}_{\text{PM substance spiked before enrichment}}}{\text{Area}_{\text{PM substance in pure solvent}}} \right) \times 100 \quad (3) \end{aligned}$$

Further, matrix effects on the chromatography were assessed qualitatively by comparison of chromatograms (retention times and signal shape) from standards in pure solvent and from spiked extracts of environmental water samples.

Procedural blanks and method detection and quantification limits

Procedural blank experiments were performed by applying the full sample preparation procedure but without any water matrix in the enrichment step (i.e., starting from 21 mL pure acetonitrile). Five replicates of procedural blanks were prepared. The method detection limit (MDL) and method quantification limit (MQL) were determined by spiking surface water and drinking water samples at two to three different concentrations per analyte (ESM Table S6) and quantifying them according to the described protocol. The signal-to-noise ratios were recorded, and the quantified concentrations were extrapolated (from a signal with a signal-to-noise ratio close to 10) to a signal-to-noise ratio of 3 (MDL) or 10 (MQL). In case of procedural blank contamination, the MDL and MQL were calculated from the quantified signal areas in the procedural blank chromatograms based on mean signal area plus 3 times (MDL) or 10 times (MQL) standard deviation.

Accuracy (precision and trueness)

For evaluation of precision and trueness, the following set of experiments (independent from the earlier experiments for determination of sample preparation recoveries and matrix effects) was performed. All PM substances were spiked ($n = 4$) into surface water from the river Götsche (see ESM Table S7 for compound-specific spiking levels). From these experiments (including non-spiked river Götsche water), the apparent recoveries and correction factors were calculated as described before. The PM substances were also spiked into surface water from the river Mulde and into drinking water (each $n = 4$, the spiking concentrations for Mulde water were 0.3 times and those for drinking water were 0.03 times the concentrations spiked to water from river Götsche; see ESM Table S7). All samples were analyzed and quantified using the correction factors determined for river Götsche. The quantified concentrations were corrected with levels determined in the corresponding non-spiked samples. The relative standard deviations of the quantification ($n = 4$) were used as a measure of method precision. To assess trueness, the averaged quantified concentrations were compared to the theoretical (spiked) concentrations.

Results and discussion

Enrichment method for PM substances

The most commonly used enrichment method for organic trace pollutants from water samples is SPE. SPE has also been used in two methods for PM substances published earlier [7, 10]. However, SPE sorbents are usually designed to selectively retain certain groups of chemicals (e.g., only anions or only cations). Therefore, Zahn and co-workers [7, 24] developed their own homemade SPE cartridges from three different sorbents while Montes et al. [10] subjected each water sample to two different SPE procedures. We attempted to develop a quick and generic method for a broad range of PM substances, which can be used in larger screening or monitoring programs. Therefore, we used AZEVAP, which requires very little sample handling and is applicable to all analytes, but also leads to enrichment of all other non-volatile constituents in the samples. Any generically applicable enrichment method would inherently also enrich the majority of matrix compounds.

SFC-HRMS method development

Selection of stationary and mobile phase

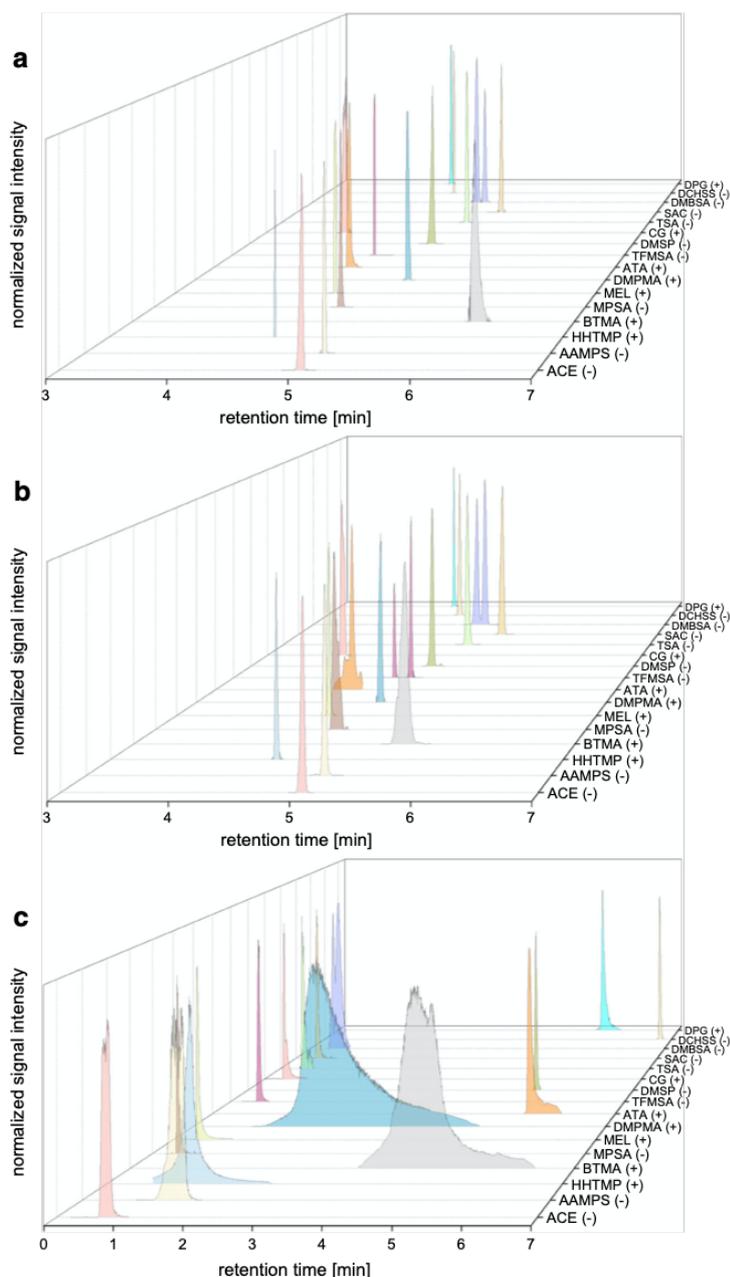
In the development of the SFC method, four different stationary phases and four modifiers in the co-solvent of the mobile phase were tested in a 4×4 matrix. The tested columns (stationary phases) included Torus Diol, Torus 2-PIC, BEH, and

BEH 2-EP (all from Waters), which can be classified as normal phase or hybrid stationary phases. The mobile phase consisted of supercritical CO_2 and a methanol/water co-solvent (ESM Fig. S1A) with formic acid, ammonium hydroxide, ammonium formate, or ammonium acetate as modifier. Ammonium hydroxide and formic acid slightly improved peak shape and response for most PM substances and were superior to the other two tested modifiers. Ammonium hydroxide was chosen for the final method and added at an optimized ratio of 0.1% to the co-solvent. In terms of stationary phases, BEH (a hybrid stationary phase showing both reversed and normal phase characteristics) and Torus Diol (a normal phase) showed the best performances. Regarding chromatography, all analytes were well retained (see ESM Table S4 for retention factors) and showed sharp peaks (see the section “Retention time stability and influence of sample matrix on the chromatography”) on both of these columns. However, while PM substances that were recorded in positive ionization mode generally showed a slightly better response after separation on the BEH column, Torus Diol led to slightly more sensitive detection for analytes in negative ionization mode. Both columns were thus used in the final method, one for each polarity of mass spectrometric detection. For a higher sample throughput with polarity-switching MS, any of the two columns could be used without a substantial loss of sensitivity.

Effect of sample diluent and injection volume

The composition of the injection solvent as well as the injection volume play an important role in SFC, affecting both peak shape and intensity [25, 26]. A good compromise between compound solubility, SFC compatibility, sensitivity, and peak shape needs to be found in a multi-analyte method. In the present study, different solvent compositions of acetonitrile and Milli-Q water (from 0 to 100% acetonitrile) were tested. Peak shapes and signal intensities varied considerably depending on diluent composition. Pure Milli-Q water provided broad peaks and low intensity for all of the tested chemicals, with the exception of TFMSA. TFMSA showed a very sharp peak when injected in water (Fig. 2a), but a split peak in the presence of acetonitrile (Fig. 2b). An explanation for this peculiar behavior of TFMSA was not found. The best compromise considering all tested PM substances was acetonitrile:water 90:10 as injection solvent, providing better peak areas than pure acetonitrile and good peak shapes (Fig. 2a, with the exception of TFMSA). The high proportion of 90% acetonitrile also allowed using the maximum possible injection volume of 10 μL provided by the instrument without compromising peak sharpness. With these settings, TFMSA showed a split peak for both standards and samples (Fig. 2b) and was integrated as the sum of the two signal areas.

Fig. 2 SFC-HRMS extracted mass chromatograms of a standard mixture of the target PM substances sorted by log *D* **a** injected in acetonitrile:water 90:10 except for TFMSA (in pure water) and **b** spiked to surface water and, after extraction, injected in acetonitrile:water 90:10 for all compounds. (+) indicates BEH chromatography and detection in positive ion mode, and (-) indicates Torus Diol chromatography and detection in negative ion mode. The two peaks for DMBSA are the chromatographically resolved 3,4-isomer and 2,3-isomer. For comparison, panel **c** shows the RPLC-MS/MS-extracted MRM chromatograms of a standard mixture injected in Milli-Q water. Note the different retention time scales between the SFC and the RPLC chromatograms



Retention time stability and influence of sample matrix on the chromatography

As can be seen from Fig. 2a and b, matrix effects on chromatographic retention resulting from the surface water matrix were only observed for BTMA with a shift to a shorter retention time. The relative standard deviation ($n = 10$) of the

retention times for all PM substances analyzed over a couple of days was <0.1% in both standard mixtures and sample extracts. An important requirement for reproducible retention times was, however, a freshly prepared co-solvent with modifier (at least every other day). The co-extracted matrix had an effect of slight peak broadening on some target analytes, which was most pronounced for MPSA and ATA (Fig. 2a, b).

Comparison with RPLC

For comparison of chromatographic method performance, a RPLC-MS/MS method using the MRM mode was also developed for the 17 target PM substances (see ESM, Tables S2 and S5 and Fig. S1). Chromatography was optimized to obtain the best possible retention on the C₁₈ column for a maximum of analytes. For this purpose, three different columns (two polar-modified C₁₈ materials and a porous graphitic carbon column) were tested with formic acid, ammonium formate, or diethyl amine in the mobile phase. Anyhow, in the optimized system (described in the “Experimental section”), 8 of the PM substances eluted very close to or in the void volume, preventing complete separation of the DMBSA isomers (Fig. 2c). Of the 9 retained substances, 6 showed very poor peak shapes. Only DMSP, DCHSS, and DPG showed good retention and sharp peaks in RPLC, the latter two being the PM substances with the highest log *D* values among the tested analytes. In comparison, the SFC method is clearly superior to the RPLC method in terms of peak shapes and retention, which considerably facilitates signal detection and integration (compare Fig. 2a and c). Furthermore, SFC was able to separate the two isomeric compounds (3,4-DMBSA and 2,3-DMBSA) (Fig. 2a, b). While RPLC showed a slight tendency towards higher retention for analytes with higher log *D* values (Fig. 2c, ESM Table S5), no association between log *D* value and retention factor could be observed in SFC.

Method performance validation

Instrumental blanks, instrumental detection limits, and linearity

HHTMP, MEL, TFMSA, and DPG were repeatedly detected in instrumental blanks. In the present study, no effort was made to elucidate or eliminate the sources of these background contaminations. However, instrumental blanks were considered in the determination of IDLs, as detailed in the “Experimental section.” SFC-HRMS-based IDLs are summarized in Table 1 for all studied PM substances and range between 0.1 and 5 pg for SFC with BEH and between 0.02 and 10 pg for SFC with Torus Diol. Good linearity of the instrumental method was observed for all analytes over at least 3 orders of magnitude (with the exception of the guanidines CG and DPG with smaller linear ranges) with correlation coefficients (R^2) higher than 0.99 (Table 1) and residuals < 25%.

Apparent recoveries

For the vast majority of investigated PM substances, isotope-labeled analogues that could be employed as internal standards are not commercially available. Therefore, an external quantification method needed to be developed. Apparent

recoveries, i.e., the combination of sample preparation recoveries and matrix effects, were investigated in order to evaluate if an external calibration curve of standards in pure solvent could be applied. For AAMPS and DMSP, the spiking concentrations were too low to reliably determine apparent recoveries. These two PM substances were excluded from further quantitative work, but still these were analyzed qualitatively. For all other analytes, apparent recoveries varied considerably, as representatively illustrated for one drinking water sample and one surface water sample in Fig. 3a. Thus, the quantification procedure had to include a correction for apparent recoveries. However, the apparent recoveries did not differ significantly between the drinking water and the surface water (Fig. 3a), nor were they concentration dependent. This observation was later confirmed during the accuracy testing using a different set of surface water and drinking water samples (see below). Therefore, an average compound-specific correction factor was calculated from both sample types at all tested concentrations and used in the quantification (ESM Table S6). The apparent recoveries for ACE and SAC obtained in our study were comparable with previously reported recoveries from water samples, e.g., by Tran et al. [27] or Montes et al. [10]. Tran and co-workers [27] used SPE enrichment with subsequent LC-MS/MS analysis. Montes et al. [9, 10] further published an apparent recovery for DPG (80%) from water samples after enrichment using a cation exchanger and analysis by MMLC-HRMS or LC-MS/MS, which is higher than our apparent recovery for DPG (61%) (Fig. 3a, ESM Table S6).

Sample preparation recoveries

Sample preparation recoveries and matrix effects were investigated independently to better understand the variability in apparent recoveries. Sample preparation recoveries were between 60 and 110% for the vast majority of PM substances for both water types (Fig. 3b) and could thus not (fully) explain the partially very low apparent recoveries (see, e.g., ACE or DCHSS in Fig. 3a and b).

Matrix effects

Matrix effects were an important reason for non-quantitative apparent recoveries in the present study, presumably mainly influencing the ESI process. Matrix effects are depicted in Fig. 3c as relative deviation of the signal area in the chromatogram of a spiked sample extract compared to a standard in pure solvent. Despite good retention of all analytes in SFC (Fig. 2a, b), strong suppression of the chromatographic signal by matrix was observed for 4 analytes (ACE, MPSA, 3,4-DMBSA, DCHSS) in both water matrices (Fig. 3c). Consistent signal enhancement with up to +41% was only observed for 3 PM substances (MEL, TSA, 2,3-DMBSA).

Table 1 Instrumental detection limits (IDLs), linear ranges with correlation coefficients (R^2), as well as method detection and quantification limits (MDLs/MQLs) for the analysis of 17 PM substances by SFC-HRMS

Analyte	IDL _{BEH} (pg)	Linear range, ng mL ⁻¹ (R^2)	IDL _{Torus Diol} (pg)	Linear range, ng mL ⁻¹ (R^2)	MDL/MQL	
					AZEVAP-BEH (ng L ⁻¹)	AZEVAP-Torus Diol (ng L ⁻¹)
ACE (-)	0.6	–	0.5	0.05–500 (0.998)	–	14/33
AAMPS (-)	0.2	–	0.3	0.05–75 (0.998)	–	10/30
HHTMP (+)	0.2	0.05–15 (0.998)	0.09	–	5/14	–
BTMA (+)	0.3	0.05–150 (0.999)	0.3	–	3/10	–
MPSA (-)	3	–	0.4	0.5–150 (0.997)	–	50/90
MEL (+)	0.3	0.05–75 (0.998)	4	–	4/10	–
DMPMA (+)	0.3	0.05–75 (0.999)	0.6	–	3/10	–
ATA (+)	0.2	0.5–150 (0.995)	4	–	2/5	–
TFMSA (-)	0.1	–	0.05	0.05–150 (0.998)	–	4/5
DMSP (-)	0.1	–	0.1	0.05–150 (0.999)	–	10/30
CG (+)	5	5–75 (0.990)	10	–	30/61	–
TSA (-)	0.5	–	0.2	0.05–300 (0.997)	–	14/31
SAC (-)	0.8	–	0.8	0.5–500 (0.993)	–	15/30
3,4-DMBSA (-)	1	–	0.5	0.05–150 (0.998)	–	5/8
2,3-DMBSA (-)	0.1	–	0.02	0.05–500 (0.998)	–	26/42
DCHSS (-)	0.3	–	0.08	0.05–75 (0.996)	–	10/30
DPG (+)	0.3	0.05–15 (0.999)	0.3	–	33/71	–

Matrix effects were largely comparable for the two different types of water. In an earlier study by Montes et al. [10] based on weak anion exchange or weak cation exchange enrichment of PM substances from water samples and MMLC-MS/MS analysis, very strong matrix suppression was also observed. However, Montes and co-workers [9, 10] also frequently observed matrix enhancement with up to +150%. Thus, SPE does not necessarily produce “cleaner” extracts that lead to less matrix effects than the generic AZEVAP method. This finding is corroborated by the results by Köke and co-workers [24], who compared matrix effects between PM substances spiked to water extracts enriched by mixed-mode SPE and the same substances spiked to water extracts enriched by evaporation, in both cases analyzed by HILIC-MS/MS. The results showed that for 9 of 26 investigated substances (35%), matrix effects exceeded +50% or –50% in the SPE extracts, while this fraction was only 2/26 (8%) in evaporation extracts. Svan et al. [28] compared matrix effects on a range of pharmaceuticals between SFC-HRMS and RPLC-HRMS for a variety of matrices, including wastewater influent and effluent. They concluded that in both techniques, strong matrix effects occurred. In RPLC-HRMS, signal enhancements were commonly observed, while SFC-HRMS more often led to signal suppression. Signal suppression for the vast majority of analytes was also observed in our study (Fig. 3c).

Mitigation of matrix effects (i.e., separation of analytes from matrix constituents) in analysis of PM substances in water

samples is inherently extremely challenging, since PM substances possess very similar physical-chemical properties as other organic constituents in water (i.e., dissolved organic matter). In our quantification method, we correct for matrix effects (as well as for sample preparation recoveries) by applying a compound-specific correction factor based on the observed apparent recoveries (ESM Table S6). This approach corresponds to using a matrix- and method-matched calibration and can easily be applied to large sample sets. Another (potentially more accurate but also much more laborious) approach would be the standard addition method, which results in compound-, method-, and even sample-specific corrections of apparent recoveries. Alternatively, standard addition over final extracts can be performed to correct for matrix effects, but not for sample preparation recoveries [10]. To simplify quantification methods (and to improve their precision, trueness, and comparability), synthesis of stable isotope-labeled internal standards for the most important PM substances should be envisaged.

Procedural blanks and method detection and quantification limits

Seven of the target compounds were detected in procedural blank samples. These were the PM substances already present in instrumental blanks (HHTMP, MEL, TFMSA, and DPG) as well as TSA, 3,4-DMBSA, and 2,3-DMBSA. Such procedural blank contamination was also observed in our earlier

A rapid method for quantification of persistent and mobile organic substances in water using supercritical...

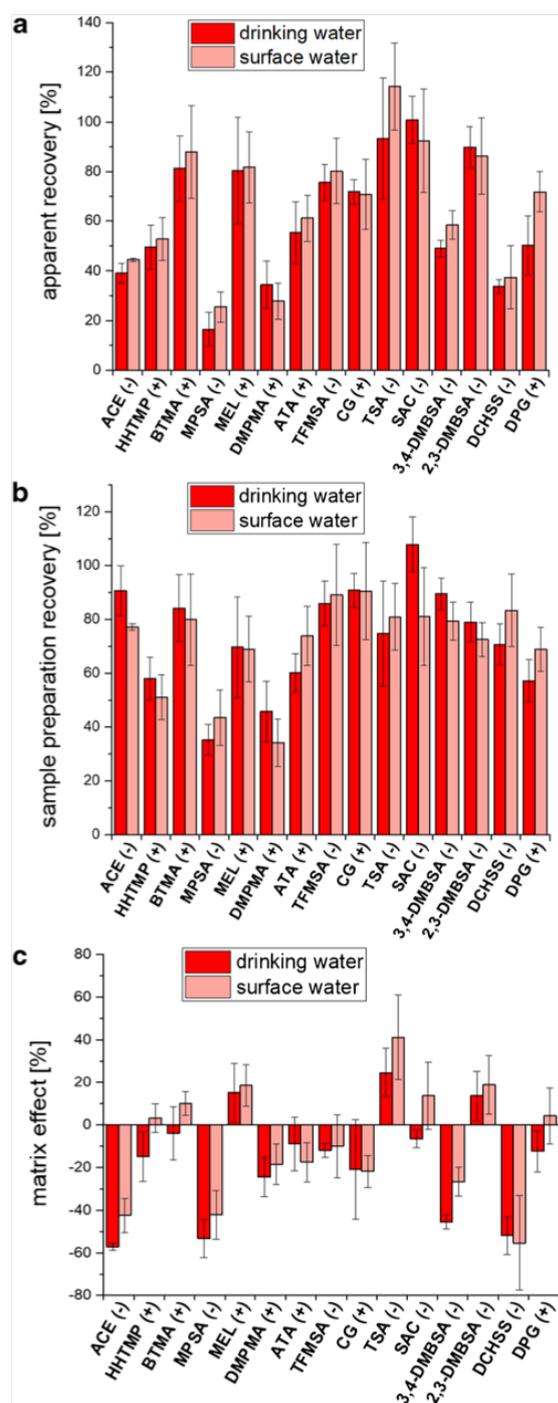


Fig. 3 a Apparent recoveries, b sample preparation recoveries, and c matrix effects of the target PM substances spiked at different concentrations (see ESM Table S6) into drinking water (DW) and surface water (SW). Error bars indicate standard deviations ($n \geq 3$). (+) or (-) indicates if the analyte was detected in positive or negative ion mode, respectively

and as vulcanization agents in polymerization processes. It is not unlikely that trace level contamination with such chemicals occurs from labware, like SPE cartridges, pipette tips, sealing, and tubing, or from solvents and reagents applied in the analytical method, though we did not attempt to elucidate the specific sources of contamination for the different analytes.

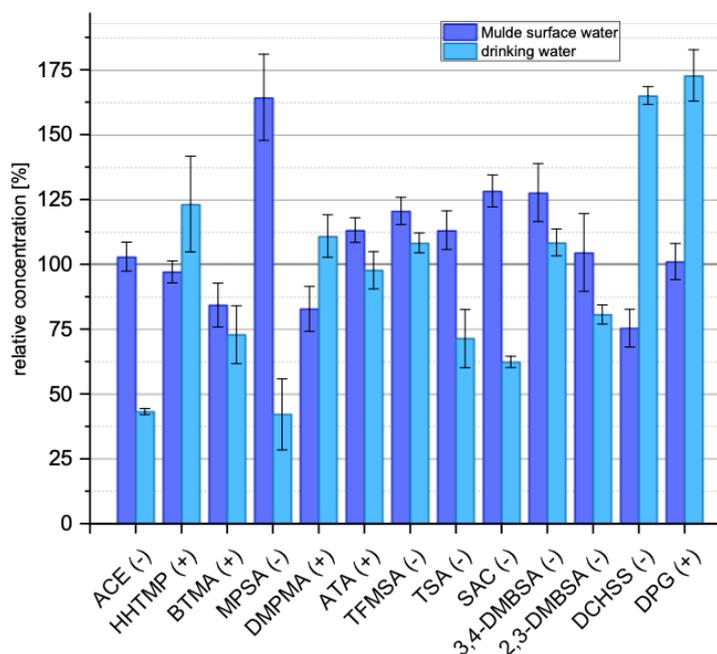
Comparable MDLs and MQLs were found for both water types (DW and SW), and the values are thus presented in Table 1 independent of the water matrix. MDLs and MQLs are typically in the low ng L^{-1} range, with MDLs ranging from 2 to 50 ng L^{-1} and MQLs from 5 to 90 ng L^{-1} , depending on the compound. Our MDLs and MQLs are generally in the same range as values reported for PM substances analyzed by SPE enrichment and MMLC-MS/MS [10]. For the sweeteners acesulfame and saccharin, previous studies reported MQLs of 0.1 ng L^{-1} [29] or 25 ng L^{-1} [30], which are lower or similar compared to our study (see Table 1). However, it must be taken into account that the literature data was based on tandem MS quantification in selected reaction monitoring mode, which is more sensitive than detection by full-scan HRMS.

Accuracy (precision and trueness)

The results of the precision and trueness evaluation are given in Fig. 4 and ESM Table S7. The spiking concentration for river Mulde and drinking water samples was chosen to reflect actual levels occurring in surface or tap water, while for river Göttsche, higher concentrations were chosen to reliably determine the correction factors for apparent recoveries (ESM Table S7). The correction factors determined earlier (ESM Table S6) were not used in this experiment, as there were several months between the first apparent recovery experiments (ESM Table S6) and the accuracy experiments (ESM Table S7) and compound-specific correction factors can change over time, potentially due to fluctuations in instrumental (ionization) performance. We therefore recommend to calculate apparent recoveries and correction factors for every sampling campaign. For MEL and CG, accuracy experiments could not be performed, due to the high concentration of MEL already present in the non-spiked river Göttsche and due to the very small linear range of detection for CG (see Table 1). For all other target PM substances, precision, expressed as relative standard deviation of 4 replicate quantifications of spiked water samples (ESM Table S7), was in the range 4–14% (average \pm standard deviation $8.5 \pm 3.6\%$) for river Mulde and 2–32% (average \pm standard deviation $9.8 \pm 8.2\%$) for

qualitative screening study [11]. These substances are high-production volume industrial chemicals (all $> 100 \text{ t year}^{-1}$) mainly used as plasticizers, as processing aids in polymers,

Fig. 4 Accuracy experiments. Precision (error bars indicate the standard deviation of quantification, $n = 4$) and trueness (mean value of $n = 4$ relatively to theoretical (spiked) concentrations indicated as 100%) for analyte quantification in the spiked river Mulde and drinking water samples (after subtraction of levels present in the non-spiked samples). For calculation of the correction factors, the spiked river Göttsche water samples were used. Spiking levels for river Mulde and drinking water were 0.3 and 0.03 times the levels of river Göttsche. See ESM Table S7 for actual spiking concentrations and for numerical results



drinking water. These values are in the same range as the precision reported by Montes et al. [10] for a method based on mixed-mode SPE enrichment and mixed-mode liquid chromatography coupled to tandem MS. Trueness, expressed as percentage deviation of the quantified concentration (applying the correction factor from ESM Table S7) from the theoretical (spiked) concentration, was in the range -25 to $+64\%$ (average \pm standard deviation $8.8 \pm 22.6\%$) for river Mulde and -58 to $+73\%$ (average \pm standard deviation $-3.2 \pm 39.4\%$) for drinking water. The lower accuracy (lower precision and lower trueness) for the drinking water compared to river Mulde samples is most likely due to the 10 times lower concentrations spiked to drinking water compared to river Mulde (see the section “Accuracy (precision and trueness)” in the “Experimental section”). The excellent average values for trueness of $+8.8$ and -3.2% show that there is no systematic bias in the quantification method. Trueness reported for the method by Montes et al. [10] for individual PM substances was slightly better than that in our study. However, Montes and co-workers [9, 10] used a different set of test compounds and a sample-specific “standard addition over the extracts methodology” for quantification, which requires an individual calibration curve for each sample. Our method does not rely on sample-specific standard addition and is thus applicable to larger screening or monitoring studies.

Method application to environmental water samples

The method was applied to six samples relevant to drinking water production from Berlin and Hesse, Germany (surface

water, groundwater, unventilated raw water, and finished drinking water; for sample details, see ESM Table S3). Quantification was performed based on correction factors given in ESM Table S6, which were determined together with the six samples, and the results are presented in Fig. 5 and ESM Table S8. Of the 15 target compounds, 9 were detected in at least one of the samples from Berlin and Hesse and 4 PM substances were found in at least four samples. Six compounds were even found in the final drinking water. This is underlining the importance of accurate quantification methods for PM substances as a crucial prerequisite for future risk assessment. For most of the compounds, the results indicated low concentrations in the water samples, typically below 100 ng L^{-1} . However, ACE and TFMSA both exceeded $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ in a groundwater sample from Hesse. These findings are in agreement with the few reports from the literature on PM substances [7, 31, 32]. HHTMP, MEL, and 3,4-DMBSA (also reported by Betowski et al. [33]) and DPG (also reported by Tang et al. [34]) exceeded 100 ng L^{-1} in single samples but did not reach $\mu\text{g L}^{-1}$ concentrations in our limited sample set.

Conclusions

A rapid trace analytical method for the simultaneous quantification of 15 target PM substances ($\log D$ values -3.06 to 1.23) was developed for water samples. The method is based on azeotropic evaporation of the samples, SFC-HRMS

A rapid method for quantification of persistent and mobile organic substances in water using supercritical...

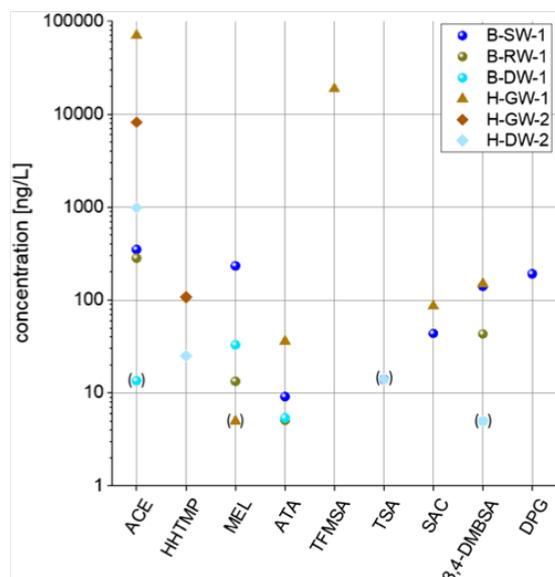


Fig. 5 Concentration data of PM substances in environmental and drinking water samples. Estimated concentrations between the MDL and the MQL are included in parentheses. Abbreviations: B, Berlin; H, Hestia; SW, surface water; RW, raw water; DW, drinking water; GW, groundwater. For details on samples, see Table S3. Note the logarithmic concentration scale

analysis, and external quantification using a correction factor for apparent recoveries. Trueness of quantification revealed results within $\pm 30\%$ of the theoretical value in 77% of quantifications. To further increase accuracy, we recommend synthesis of isotope-labeled internal standards for the most important PM substances. This is the first method specifically designed for PM substances that does not include sample-specific calibration curves (standard addition quantification). The method is thus well suitable for large screening and monitoring programs. The method is generic and can easily be expanded to include further target PM substances or used in non-target or suspect screening of highly polar contaminants in water samples.

Acknowledgments The authors are thankful for the support in sample acquisition by Peter Seel (Hessian Agency for Nature Conservation, Environment and Geology, Wiesbaden, Germany) and Berliner Wasserbetriebe (Berlin, Germany). Finally, we would like to thank Coretta Bauer (Helmholtz Centre for Environmental Research - UFZ, Leipzig, Germany) for the technical help in the lab.

Funding information Open Access funding provided by Projekt DEAL. This work has been funded by the German BMBF in the frame of the collaborative international consortium WATERJPI2013 – PROMOTE of the Water Challenges for a Changing World Joint Programming Initiative (Water JPI) Pilot Call (02WU1347A) and through the project PROTECT (02WRS1495A).

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflicts of interest.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

References

1. Reemtsma T, Berger U, Arp HPH, Gallard H, Knepper TP, Neumann M, et al. Mind the gap: persistent and mobile organic compounds – water contaminants that slip through. *Environ Sci Technol*. 2016;50:10308–15.
2. Arp HPH, Brown TN, Berger U, Hale SE. Ranking REACH registered neutral, ionizable and ionic organic chemicals based on their aquatic persistency and mobility. *Environ Sci: Processes Impacts*. 2017;19:939–55.
3. Schulze S, Sättler D, Neumann M, Arp HPH, Reemtsma T, Berger U. Using REACH registration data to rank the environmental emission potential of persistent and mobile organic chemicals. *Sci Total Environ*. 2018;625:1122–8.
4. Neumann M, Schliebner I. Protecting the sources of our drinking water: the criteria for identifying persistent, mobile and toxic (PMT) substances and very persistent and very mobile (vPvM) substances under EU Regulation REACH (EC) No 1907/2006. German Environment Agency (UBA Texte 127/2019). Dessau-Rosslau (87 pages, ISSN 1862-4804); 2019.
5. Zahn D, Neuwald IJ, Knepper TP. Analysis of mobile chemicals in the aquatic environment – current capabilities, limitations and future perspectives. *Anal Bioanal Chem*. 2020. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02520-z>.
6. Bruzzoniti MC, de Carlo RM, Sarzanini C. Determination of sulfonic acids and alkylsulfates by ion chromatography in water. *Talanta*. 2008;75:734–9.
7. Zahn D, Fromel T, Knepper TP. Halogenated methanesulfonic acids: a new class of organic micropollutants in the water cycle. *Water Res*. 2016;101:292–9.
8. Boulard L, Dierkes G, Termes T. Utilization of large volume zwitterionic hydrophilic interaction liquid chromatography for the analysis of polar pharmaceuticals in aqueous environmental samples: benefits and limitations. *J Chromatogr A*. 2018;1535:27–43.
9. Montes R, Aguirre J, Vidal X, Rodil R, Cela R, Quintana JB. Screening for polar chemicals in water by trifunctional mixed-mode liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. *Environ Sci Technol*. 2017;51:6250–9.
10. Montes R, Rodil R, Cela R, Quintana JB. Determination of persistent and mobile organic contaminants (PMOCs) in water by mixed-mode liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Anal Chem*. 2019;91:5176–83.

11. Schulze S, Zahn D, Montes R, Rodil R, Quintana JB, Knepper TP, et al. Occurrence of emerging persistent and mobile organic contaminants in European water samples. *Water Res.* 2019;153:80–90.
12. Laboureur L, Guérineau V, Auxilien S, Yoshizawa S, Touboul D. Profiling of modified nucleosides from ribonucleic acid digestion by supercritical fluid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2018;1537:118–27.
13. Klesper E, Corwin AH, Tumer DA. High pressure gas chromatography above critical temperatures. *J Organomet Chem.* 1962;27:700–1.
14. Saito M. History of supercritical fluid chromatography: instrumental development. *J Biosci Bioeng.* 2013;115:590–9.
15. Taylor LT. Supercritical fluid chromatography for the 21st century. *J Supercrit Fluids.* 2009;47:566–73.
16. Lesellier E. Retention mechanisms in super/subcritical fluid chromatography on packed columns. *J Chromatogr A.* 2009;1216:1881–90.
17. West C. How good is SFC for polar analytes? *Chromatogr Today.* 2013;22–9.
18. Bieber S, Greco G, Grosse S, Letzel T. RPLC-HILIC and SFC with mass spectrometry: polarity-extended organic molecule screening in environmental (water) samples. *Anal Chem.* 2017;89:7907–14.
19. Salvatierra-Stamp V, Ceballos-Magaña SG, Gonzalez J, Ibarra-Galván V, Muñoz-Valencia R. Analytical method development for the determination of emerging contaminants in water using supercritical-fluid chromatography coupled with diode-array detection. *Anal Bioanal Chem.* 2015;407:4219–26.
20. Sen A, Knappy C, Lewis MR, Plumb RS, Wilson ID, Nicholson JK, et al. Analysis of polar urinary metabolites for metabolic phenotyping using supercritical fluid chromatography and mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2016;1449:141–55.
21. Parr MK, Wuest B, Naegele E, Joseph JF, Wenzel M, Schmidt AH, et al. SFC-MS/MS as an orthogonal technique for improved screening of polar analytes in anti-doping control. *Anal Bioanal Chem.* 2016;408:6789–97.
22. Desfontaine V, Capetti F, Nicoli R, Kuuranne T, Veuthey JL, Guillaume D. Systematic evaluation of matrix effects in supercritical fluid chromatography versus liquid chromatography coupled to mass spectrometry for biological samples. *J Chromatogr B.* 2018;1079:51–61.
23. Reemtsma T, Alder L, Banasiak U. A multimethod for the determination of 150 pesticide metabolites in surface water and groundwater using direct injection liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2013;1271:95–104.
24. Köke N, Zahn D, Knepper TP, Frömel T. Multi-layer solid-phase extraction and evaporation-enrichment methods for polar organic chemicals from aqueous matrices. *Anal Bioanal Chem.* 2018;410:2403–11.
25. Khalikova MA, Lesellier E, Chapuzet E, Šatínský D, West C. Development and validation of ultra-high performance supercritical fluid chromatography method for quantitative determination of nine sunscreens in cosmetic samples. *Anal Chim Acta.* 2018;1034:184–94.
26. Abrahamsson V, Sandahl M. Impact of injection solvents on supercritical fluid chromatography. *J Chromatogr A.* 2013;1306:80–8.
27. Tran NH, Hu J, Ong SL. Simultaneous determination of PPCPs, EDCs, and artificial sweeteners in environmental water samples using a single-step SPE coupled with HPLC-MS/MS and isotope dilution. *Talanta.* 2013;113:82–92.
28. Svan A, Hedeland M, Arvidsson T, Pettersson CE. The differences in matrix effect between supercritical fluid chromatography and reversed phase liquid chromatography coupled to ESI/MS. *Anal Chim Acta.* 2018;1000:163–71.
29. Birch GF, Drage DS, Thompson K, Eaglesham G, Mueller JF. Emerging contaminants (pharmaceuticals, personal care products, a food additive and pesticides) in waters of Sydney estuary Australia. *Mar Pollut Bull.* 2015;97:56–66.
30. Perkola N, Sainio P. Quantification of four artificial sweeteners in Finnish surface waters with isotope-dilution mass spectrometry. *Environ Pollut.* 2014;184:391–6.
31. Buerge IJ, Buser HR, Kahle M, Müller MD, Poiger T. Ubiquitous occurrence of the artificial sweetener acesulfame in the aquatic environment. *Environ Sci Technol.* 2009;43:4381–5.
32. Ruff M, Mueller MS, Loos M, Singer HP. Quantitative target and systematic non-target analysis of polar organic micro-pollutants along the river Rhine using high-resolution mass-spectrometry – identification of unknown sources and compounds. *Water Res.* 2015;87:145–54.
33. Betowski L, Kendall D, Donnelly C. Characterization of groundwater samples from superfund sites by gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/mass spectrometry. *Environ Sci Technol.* 1996;30:3558–64.
34. Tang J, Tang L, Zhang C, Zeng G, Deng Y, Dong H, et al. Different senescent HDPE pipe-risk: brief field investigation from source water to tap water in China (Changsha City). *Environ Sci Pollut Res Int.* 2015;22:16210–4.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

6 Unveröffentlichte Arbeit

PMOC-Screening in verschiedenen Trinkwasseraufbereitungsprozessen

6.1 Einleitung

In den vorangegangenen Arbeiten wurde bereits gezeigt, dass die Klasse der *PMOCs* in unseren Gewässern eine tatsächlich vorkommende, bislang wenig untersuchte Substanzklasse ist, die es näher zu betrachten gilt. Dabei ist es von Interesse, das Wissen über das Vorkommen von *PMOCs* in verschiedenen Segmenten des Wasserkreislaufs und deren Verbleib während und nach der Aufbereitung in der Trinkwasserproduktion weiter auszubauen. In der nachfolgenden Arbeit wurde die Methode der azeotropen Anreicherung und anschließender SFC-HRMS, wie sie in der Arbeit unter 5.3 entwickelt und validiert wurde, genutzt. Ziel war es, sich ein breiteres Bild im Rahmen eines weiteren Gewässerscreenings über das Vorkommen und den Verbleib von *PMOCs* im Wasserkreislauf zu verschaffen. Nach 15 *PMOCs*, auf die der Fokus durch positive Umweltbefunde im Rahmen der Arbeit „*Occurrence of emerging persistent and mobile organic contaminants in European water samples*“ (siehe 5.2) fiel, wurde in trinkwasserrelevanten Wasserproben aus Spanien, Deutschland, Frankreich und den Niederlanden gescreent. Die untersuchten Proben gehörten alle jeweils zu Probensets, bestehend aus Rohwasser, verschiedenen Trinkwasseraufbereitungsschritten und dem finalen Trinkwasser.

6.2 Material und Methoden

6.2.1 Zielanalyten

Für diese Arbeit wurden 15 persistente und mobile organische Zielanalyten ausgewählt (siehe Anhang A4, Tabelle S1). Diese Substanzen wurden aufgrund ihres tatsächlichen Vorhandenseins in der Umwelt und ihrer entsprechenden Zugänglichkeit für die gewählte analytische Methode ausgesucht. Für alle Analyten waren entsprechend kommerziell erwerbliche Standards verfügbar. Die unter Tabelle S1 im Anhang A4 angegebenen $\log D$ -Werte und Strukturformeln wurden mit Hilfe von ChemAxon (JChem for Office, JChem for Excel) ermittelt. Die $\log D$ -Werte (bei pH 7) der Analyten liegen zwischen -3,06 und 2,25, wovon 12 der 15 Substanzen einen negativen $\log D$ -Wert besitzen. Die Mehrheit der Analyten ist somit als hochpolar anzusehen. Analyt-Stammlösungen wurden mit einer Konzentration von 1 mg mL^{-1} in Acetonitril bzw. bei unzureichender Löslichkeit in Acetonitril:milli-Q Wasser (50:50) hergestellt. Je nach Injektionslösungsmittel der chromatographischen Methode wurden die Stammlösungen mit entsprechend diesem weiterverdünnt, um sie für die externe Kalibrierung injizieren zu können.

6.2.2 Wasserproben

An 20 Beprobungspunkten wurden in fünf verschiedenen Regionen in Deutschland (HW- und HLNUG-Proben), Spanien (ADG-Proben), Frankreich (EDP-Proben) und den Niederlanden (UvA-Proben) Schöpfproben entnommen. Die Proben entsprachen stets einer Trinkwasseraufbereitungsserie vom Rohwasser bis hin zum fertigen Trinkwasser. Die Wasserproben wurden zu drei Zeitpunkten mit monatlichem Abstand genommen. Lediglich die HLNUG-Proben wurden nur einmal entnommen. Hier entspricht das Rohwasser auch dem Trinkwasser, da keine Aufbereitungsschritte mehr hin zum fertigen Trinkwasser dazwischengeschaltet sind. Die Proben wurden zwischen April und Oktober 2017 genommen und bis zur endgültigen Aufbereitung im November 2017 im Kühlschrank bei +4 °C gelagert. Weitere Informationen zu den Proben und ihren Abkürzungen sind im Anhang A4 unter Tabelle S2 und S3 zu finden.

6.2.3 Probenvorbereitung

Es wurde das azeotrope Eindampfverfahren genutzt, um die Proben anzureichern. Die verwendeten Chemikalien und Materialien sind im Anhang A4 unter Tabelle S4 aufgelistet. Zur Bestimmung der Gesamtwiederfindung der Methode wurden 11 Proben vor der Aufarbeitung mit drei verschiedenen Konzentrationen im ng L⁻¹-Bereich mit den Zielanalyten dotiert (siehe Anhang A4). Die Wasserproben wurden mittels eines Glasfaserfilters filtriert. Ein Aliquot von 4 mL Probe wurde mit 21 mL Acetonitril versetzt und an der Eindampfvorrichtung bei 40 °C unter Argonstrom bis zur Trockne eingedampft. Die Glaswände wurden mit Acetonitril gespült, um sicherzustellen, dass sich mögliche Rückstände in der Spitze des Eindampfröhrchens ansammelten und nicht im oberen Bereich der Gefäßwände zurückblieben. Der Rückstand wurde in 100 µL Acetonitril:milli-Q Wasser (90:10) rekonstituiert. Somit wurde ein Anreicherungsfaktor von 40 erzielt. Mögliche Ausfällungen und Partikel wurden durch Filtration über eine mit Glaswolle gestopfte Pasteurpipette entfernt. Die Konzentrate aus dem AZEVAP-Verfahren wurden im Anschluss der SFC-HRMS zugeführt.

6.2.4 Instrumentelle Analytik

Die Extrakte wurden über die SFC, gekoppelt an die hochauflösende Massenspektrometrie, analysiert. Im positiven Modus wurde die BEH-Säule und im negativen Modus die Torus Diol-Säule verwendet (siehe Anhang A4, Tabelle S5). 7 µL der Extrakte wurden injiziert, bei einer Säulentemperatur von 55 °C und einem Fluss von 1,5 mL min⁻¹ mit einem CO₂-Methanol/Wasser-Gradienten (+ 0,2 % Ammoniumhydroxid im Methanol/Wasser-Cosolvent) aufgetrennt (siehe Anhang A4, Abbildung S2). Für den Transfer in das HRMS wurde ein Methanol/Wasser-Make-Up (+ 0,1 % Ameisensäure) bei einem Fluss von 300 µL min⁻¹ genutzt. Das HRMS wurde im positiven und negativen ESI-Modus im Full Scan (*m/z* 50 bis

600) betrieben. Beim Extrahieren der Analytchromatogramme wurde eine Massentoleranz von 5 ppm genutzt (siehe auch Anhang A4, Tabelle S6).

6.2.5 Bestimmung von Methodenparametern zur Qualitätssicherung und Abschätzung der Analytkonzentrationen

Es wurden, wie in der Veröffentlichung unter 5.3 beschrieben, folgende Methodenparameter genutzt, um die Analytkonzentrationen in den Wasserproben bestimmen zu können und falsch-positive Befunde auszuschließen: Instrumentelle Blindwerte, Methodenblindwerte, Wiederholbarkeiten der Retentionszeiten, externe Kalibrierungen zur Quantifizierung und Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (LOD, LOQ). Zudem wurden ebenfalls die Gesamtwiederfindungen bestimmt, um mit Hilfe der sich daraus ergebenden Wiederfindungsfaktoren die ermittelten Analytkonzentrationen in den Proben korrigieren zu können. Es wurde keine komplette Methodvalidierung durchgeführt. Diese erfolgte bereits separat im Rahmen der Arbeit unter 5.3. Details zur Bestimmung der Parameter sind im Anhang A4 zu finden.

6.3 Ergebnisse und Diskussion

6.3.1 Bestimmung der Gesamtwiederfindungen

Um die Konzentrationen der Analyten in den Wasserproben um ihre Verluste während der Probenanreicherung und um den Matrixeinfluss korrigieren zu können, wurden die Gesamtwiederfindungen bestimmt (siehe Anhang A4, Abbildung S3). Mit Hilfe dieser wurden die Analytkonzentrationen korrigiert. Die Gesamtwiederfindungen lagen zwischen 38 % für 2-Acrylamino-2-methylpropansulfonsäure und 105 % für Trifluormethansulfonsäure. Die in dieser Arbeit bestimmten Wiederfindungen waren im Schnitt zwischen 15 und 20 % höher als während der durchgeführten Validierung der genutzten Methode AZEVAP-SFC, beschrieben unter 3.1.3 und 5.3. Dies zeigt noch einmal auf, dass es ratsam ist, bei jeder neuen Messserie an zu bestimmenden Proben einige Proben zu dotieren, um deren tagesaktuelle Wiederfindungen zu bestimmen, sodass sie mit einberechnet werden können. Alternativ kann auch mit dem etwas aufwendigeren Standardadditionsverfahren gearbeitet werden, wie auch in der Arbeit von Montes *et al.* geschehen (Montes *et al.*, 2019). Eine weitere Verbesserung der Methode wäre zu erreichen, sollten für die Zielanalyten isotopenmarkierte Standards zur Verfügung stehen, die vor der Aufarbeitung zugegeben werden und womit jegliche Verluste und Matrixeffekte korrigiert werden könnten.

6.3.2 *PMOC*-Konzentrationen in Wasserproben verschiedener Trinkwasseraufbereitungsanlagen

Mit Hilfe der azeotropen Anreicherung und anschließender SFC-HRMS wurden insgesamt 54 Proben auf 15 *PMOCs* quantitativ analysiert. Die Beprobung erfolgte in vier verschiedenen Trinkwasseraufbereitungsanlagen und an zwei weiteren Beprobungspunkten ohne vorgeschaltete Trinkwasseraufbereitung an jeweils drei aufeinander folgenden Monaten. Die Rohwässer durchliefen dabei auf dem Weg zum fertigen Trinkwasser verschiedene Stufen der Aufbereitung (Näheres dazu siehe Anhang A4, Tabelle S2 und S3). Zusätzlich zu den vier konventionellen Anlagen fand eine Form der Aufbereitung mittels der neuartigen, noch nicht routinemäßig verbreiteten Umkehrosmose statt.

11 *PMOCs* wurden in mindestens einer Probe nachgewiesen. Tabelle S11 in Anhang A4 fasst die ermittelten Konzentrationen zusammen. Sie reichen vom einstelligen ng L⁻¹-Bereich für z. B. 1,3-Di-*o*-tolylguanidin (ID-58) und Bisphenol S (ID-57) bis in den zweistelligen µg L⁻¹-Bereich für Acesulfam (ID-13) und Trifluormethansulfonsäure (ID-33). In mindestens 40 % der Proben wurden Acesulfam (ID-13), 4-Hydroxy-1-(2-hydroxyethyl)-2,2,6,6-tetramethylpiperidin (ID-17), Melamin (ID-26), Trifluormethansulfonsäure (ID-33) und Cyanoguanidin (ID-37) nachgewiesen. Aber auch 1,3-Diphenylguanidin (ID-52) wurde in 24 % der Proben und Saccharin (ID-40) in 31 % der Proben detektiert. Diese Beobachtung deckt sich mit den Befunden aus dem vorangegangenen Screening unter 3.1.2 sowie der zugehörigen Veröffentlichung unter 5.2.

Da nicht von stark schwankenden *PMOC*-Konzentrationen innerhalb kurzer Zeit auszugehen war, wurde die Beprobung an jeweils drei aufeinander folgenden Monaten durchgeführt, um so eine Wiederholbarkeit der Ergebnisse zu zeigen. In einigen Fällen war dies allerdings nicht wie geplant realisierbar, da die Ergebnisse innerhalb der drei Monate teilweise nicht konsistent zueinander waren (siehe **Abbildung 21 – Abbildung 26** und Anhang A4, Tabelle S11). Zum einen wurde in einigen Fällen (z. B. Acesulfam, Probe ADG-TW) nur einmal ein positiver Befund innerhalb der drei beprobten Monate festgestellt oder aber die Konzentrationen innerhalb dieser drei Monate schwankten stark (z. B. Saccharin, Probe ADG-TW).

Für 5 der 11 detektierten *PMOCs* zeigen nachfolgende **Abbildung 21 – Abbildung 26** die ermittelten Konzentrationen in den Proben und deren Verbleib während der verschiedenen Trinkwasseraufbereitungsverfahren. Für ausgewählte Substanzen und verschiedene Trinkwasseraufbereitungsmethoden erfolgt nachfolgend eine Interpretation und Diskussion.

6.3.2.1 Bekannte, im Wasser detektierte PMOCs

Acesulfam

Der Süßstoff Acesulfam war eines der am häufigsten detektierten PMOCs während der gesamten Untersuchungen. Im dreistelligen ng L^{-1} -Bereich wurde er in den Rohwässern aus Spanien (ADG), den Niederlanden (UvA) und Frankreich (EDP) detektiert (siehe **Abbildung 21**). In den hessischen HLNUG-Proben, in denen das Rohwasser zugleich dem fertigen Trinkwasser ohne weitere Aufbereitung entspricht, lagen die Konzentrationen an Acesulfam sogar im $\mu\text{g L}^{-1}$ -Bereich. In der konventionellen niederländischen Trinkwasseraufbereitung (Filtration, Enthärtung, Aktivkohlefiltration, UV-Bestrahlung) ist ersichtlich, dass Acesulfam ebenfalls nicht vollständig aus dem Trinkwasser eliminiert werden konnte. Mittels der Umkehrosmose war jedoch eine Elimination von Acesulfam möglich. Da dasselbe Rohwasser für die beiden Aufbereitungsmethoden genutzt wurde, ist hier ein direkter Vergleich möglich. Die hessischen HLNUG-Trinkwasserproben wiesen beide mit bis zu $70 \mu\text{g L}^{-1}$ sehr hohe Konzentrationen an Acesulfam auf. Im Gegensatz zu den anderen Beprobungen fand hier allerdings die Probenahme nur zu einem Zeitpunkt statt. Nach Gosh *et al.* lässt sich Acesulfam unter Bildung von verschiedenen Transformationsprodukten durch UV-Bestrahlung abbauen (Ghosh *et al.*, 2018). In der französischen Trinkwasseraufbereitung (EDP) konnte dies auch gezeigt werden. Die Konzentrationen lagen im Trinkwasser nur noch am Rande der Nachweisgrenze. Wohingegen solch ein Abbau in der niederländischen Anlage (UvA) mit UV-Bestrahlung nicht komplett gelang und sich die Konzentrationen im Trinkwasser im Mittel noch bei $\sim 0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ befanden. Auch wenn Acesulfam für den Menschen in den gefundenen Konzentrationen keine Bedrohung darstellt, stellt sich die Frage, wie toxisch mögliche Transformationsprodukte sein können und welche Risiken Acesulfam und dessen Transformationsprodukte für Wasserorganismen mit sich bringen (Ghosh *et al.*, 2018).

Saccharin

Ein weiterer Süßstoff und auch in der kosmetischen Industrie genutzter Stoff, der in Rohwasser wie auch im Trinkwasser detektiert wurde, ist Saccharin (siehe **Abbildung 22**). Die spanischen Rohwässer (ADG) wiesen Konzentrationen von im Mittel $\sim 100 \text{ng L}^{-1}$ auf. Diese Konzentrationen entsprechen auch den Befunden von Scheurer *et al.* in deutschen Oberflächengewässerproben aus dem Rhein, dem Neckar, der Donau und dem Main (Scheurer *et al.*, 2009). Wenngleich die Konzentrationen des Trinkwassers über den Zeitraum der Probenahme schwankten, konnte Saccharin offenbar nicht in der Trinkwasseraufbereitung abgetrennt werden. Die Aufbereitung umfasste eine Ausfällung, das Dekantieren und Filtrieren ausgefällter Stoffe und eine anschließende Desinfektion durch Chlor. Diese Schritte reichten für eine umfassende Abtrennung nicht aus. In der Arbeit von Davididou *et al.* wurde gezeigt, dass Saccharin durch photokatalytische Oxidation (UV-LED/ TiO_2) zerstört werden kann

(Davididou *et al.*, 2018). Dies ist allerdings keine Methode, die in einer konventionellen Trinkwasseraufbereitung angewendet wird.

Melamin

Ein weiterer bereits bekannter Wasserschadstoff, welcher in über 50 % der Proben nachgewiesen wurde, ist Melamin (siehe **Abbildung 23**). Dabei handelt es sich um einen hochtonnagigen Ausgangsstoff der Melaminharzherstellung. In den spanischen (ADG-Proben) und französischen (EDP-Proben) Rohwässern wurde er durchgängig detektiert und konnte durch keine der beiden Aufbereitungsverfahren vollständig abgetrennt werden, sodass die Melaminkonzentrationen im Trinkwasser im zweistelligen ng L^{-1} -Bereich lagen. In einer Arbeit von Zhu und Kannan wurden Melaminkonzentrationen im Trinkwasser aus dem Staat New York von bis zu 512 ng L^{-1} nachgewiesen (Zhu; Kannan, 2020). Die Toxizität von Melamin aufgrund der Bildung der Melamin-Harnsäure-Addukte und der damit verbundenen entstehenden melaminhaltigen Nierensteine stand spätestens durch den Melaminskandal im Jahr 2008 im breiten Fokus der Öffentlichkeit (Salzner *et al.*, 2011). Auch wenn die detektierten Konzentrationen im Wasser für den Menschen zunächst keine akute Bedrohung darstellen, sollte hier wieder der Blick auf die Wasserorganismen gelegt werden, für die im Wasser vorhandenes Melamin ein Risiko darstellen kann (Phromkunthong *et al.*, 2015).

6.3.2.2 Im Wasser detektierte PMOCs mit Neuheitencharakter

1,3-Diphenylguanidin

Eine weitere, in den hessischen Rohwässern (HW-Proben) detektierte Substanz war 1,3-Diphenylguanidin, deren Eintragsweg in die Umwelt durch Reifenabrieb zu finden sein kann (siehe **Abbildung 24**); (Klößner *et al.*, 2020). Vor dem durchgeführten PMOC-Screening im Rahmen des PROMOTE-Projektes (siehe 3.1.2) und im Rahmen dieser Arbeit wurde 1,3-Diphenylguanidin bislang wenig Beachtung in Bezug auf ein Gewässermonitoring geschenkt (Montes *et al.*, 2019; Zahn *et al.*, 2019). In einer Arbeit aus 2015 wurde 1,3-Diphenylguanidin in chinesischem Trinkwasser in Konzentrationen bis zu $0,74 \text{ mg L}^{-1}$ nachgewiesen (Tang *et al.*, 2015). Die Konzentrationen an 1,3-Diphenylguanidin der hessischen Rohwässer reichten bis in den hohen dreistelligen ng L^{-1} -Bereich. Im fertig aufbereiteten Trinkwasser nach Belüftung, Enteisung, Entmanganung und anschließender Sandfiltration konnte 1,3-Diphenylguanidin nicht mehr nachgewiesen werden. Allerdings seien hier die hohen Bestimmungs- und Nachweisgrenzen der Methode durch die hohen Blindwertverunreinigungen erwähnt. Hier wäre ggf. ein Eliminieren dieser Verunreinigungen durch z. B. Trapping eine Möglichkeit, niedrigere LODs und LOQs zu erreichen, um geringere Konzentrationen im Wasser nachweisen zu können. Dennoch überraschte es, dass im aufbereiteten Trinkwasser eine Abreicherung von 1,3-Diphenylguanidin zu beobachten war, denn in einer Arbeit von Zahn *et al.* war 1,3-Diphenylguanidin weitestgehend stabil gegenüber dem Abbau durch Hydrolyse und Biotransformation (Zahn *et al.*, 2019). Allerdings fanden die

Arbeiten im Laborumfeld statt, sodass sie von den tatsächlichen, realen Bedingungen in der Aufbereitungsanlage abweichen können. Auch wenn in dieser Arbeit aufgrund fehlender Ausgangsbelastung der Rohwässer in den niederländischen Proben (UvA-Proben) nicht auf das Potenzial der Umkehrosmose zur Abtrennung von 1,3-Diphenylguanidin eingegangen werden kann, beschäftigten sich Teychene *et al.* bereits mit diesem Thema (Teychene *et al.*, 2020). Die Autoren konnten zeigen, dass Umkehrosmose- und Nanofiltrationsmembranen einen höheren Rückhalt für negativ geladene *PMOCs* boten als für positiv geladene, wie in dem Fall von 1,3-Diphenylguanidin. Das Molekulargewicht spielte ebenfalls eine Rolle, wie der Vergleich von 1,3-Di-o-tolylguanidin mit 1,3-Diphenylguanidin zeigte (Teychene *et al.*, 2020). In weiteren Transformationsversuchen wurde durch Chlorung, wie es in einigen Trinkwasseraufbereitungsanlagen üblicherweise durchgeführt wird (wie bspw. in den ADG- und EDP-Proben), gezeigt, dass 1,3-Diphenylguanidin und auch 1,3-Di-o-tolylguanidin schnell unter Bildung von Transformationsprodukten durch Chlor und Brom umgesetzt wurden. Über QSAR-Berechnungen und einen akuten Toxizitätstest (*Vibrio Fischeri*) wiesen einige dieser Transformationsprodukte höhere Toxizität auf als noch die Ausgangsverbindungen (Sieira *et al.*, 2020). Die Arbeitsgruppe um H. Gallard der Université Poitiers (Frankreich) beschäftigte sich mit der Ozonung von 1,3-Di-o-tolylguanidin und 1,3-Diphenylguanidin und die Ergebnisse dieser Arbeit deuteten darauf hin, dass die beiden Stoffe unter Verwendung von O_3/H_2O_2 hochreaktiv sind (unveröffentlichte Daten).

Trifluormethansulfonsäure

Auch in den Untersuchungen dieses Monitorings war Trifluormethansulfonsäure eine Substanz, die, sobald sie im Rohwasser vorkam, nicht durch herkömmliche Aufbereitungsverfahren abtrennbar war (siehe **Abbildung 25**). Die spanischen und französischen Rohwässer waren beide mit Konzentrationen zwischen 6 und 28 $ng\ L^{-1}$ kontaminiert. Die beprobten Trinkwässer wiesen keine verringerten Konzentrationen auf, sodass Trifluormethansulfonsäure ungehindert die Stationen der Aufbereitung durchlief, ohne eine Abreicherung zu erfahren. Über die Effektivität des Verfahrens der Umkehrosmose kann in dieser Arbeit keine umfängliche Aussage getroffen werden, da die Belastung an Trifluormethansulfonsäure lediglich im 3. Monat der Probenahme knapp über dem LOD lag. Auch hier war das entsprechende Rohwasser kontaminiert und im Trinkwasser nach konventioneller Aufbereitung die Kontamination noch nachweisbar. Im Permeat der Umkehrosmose konnte Trifluormethansulfonsäure nicht mehr nachgewiesen werden. Dies entspricht auch den ersten Beobachtungen der vorangegangenen Arbeit unter 3.1.2. Die Umkehrosmose kann also, wie schon unter 3.1.2 beschrieben, ein Instrument zur Abtrennung der Trifluormethansulfonsäure und weiterer *PMOCs* sein, die sonst als schwer aus dem Trinkwasser zu entfernen gelten. Zu beachten ist aber, dass ein Konzentrat zurückbleibt, welches die abgeschiedenen Stoffe in erhöhten Konzentrationen aufweist, und auch hier Verfahren der Aufbereitung entwickelt werden müssen, bevor dieses Konzentrat der normalen

Abwasseraufbereitung zugeführt werden kann. Als besonders erwähnenswert gilt des Weiteren ein untersuchtes Grundwasser aus Hessen (HLNUG-GW-1), das aus einem Brunnen gewonnen wurde und vor seinem Einsatz als Trinkwasser keine weitere Aufbereitung erfährt. Hier wurde eine Konzentration an Trifluormethansulfonsäure von knapp $19 \mu\text{g L}^{-1}$ gemessen, die so demzufolge auch im entsprechenden Trinkwasser vorliegt. Ebenfalls im $\mu\text{g L}^{-1}$ -Bereich erfolgte die Quantifizierung von Trifluormethansulfonsäure durch Montes *et al.* im Rahmen des PROMOTE-Projektes in einem spanischen Oberflächenwasser der Region Galizien (Montes *et al.*, 2019). Diese vergleichsweise hohen Konzentrationen lassen auch die Frage aufkommen, wie toxisch dieser Stoff eigentlich für den Menschen und die aquatische Umwelt ist. Für Substanzen, die bislang wenig im Fokus standen, existieren in der Regel auch wenige Daten bezüglich ihrer Toxikologie. Erste Studien zur Toxizität von Trifluormethansulfonsäure sind die Folge der im Rahmen dieser Arbeit publizierten Befunddaten in der Umwelt (Schulze *et al.*, 2019). Denn Zhou *et al.* untersuchten die Leber- und Darmtoxizität an Mäusen, die oral der Trifluormethansulfonsäure ausgesetzt wurden. Bereits eine Konzentration von $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ führte zu Störungen des Leberlipidstoffwechsels und der Darmflora (Zhou *et al.*, 2020).

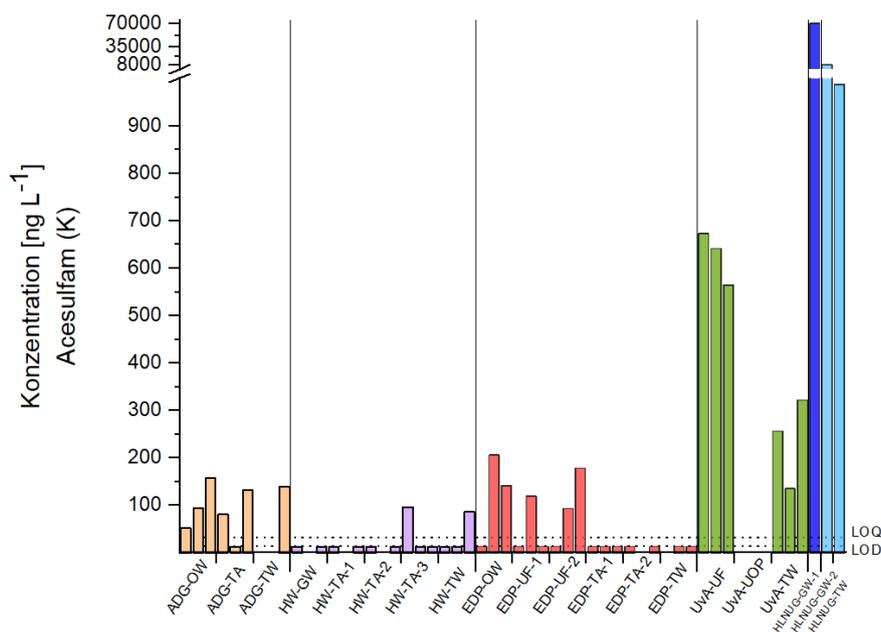


Abbildung 21: Konzentrationen an Acesulfam in ng L^{-1} in den einzelnen Trinkwasseraufbereitungsanlagen in Spanien (ADG), Deutschland (HW & HLNUG), Frankreich (EDP) und den Niederlanden (UvA).

Pro Beprobungspunkt erfolgte die Entnahme im monatlichen Abstand (Ausnahme HLNUG-Proben).

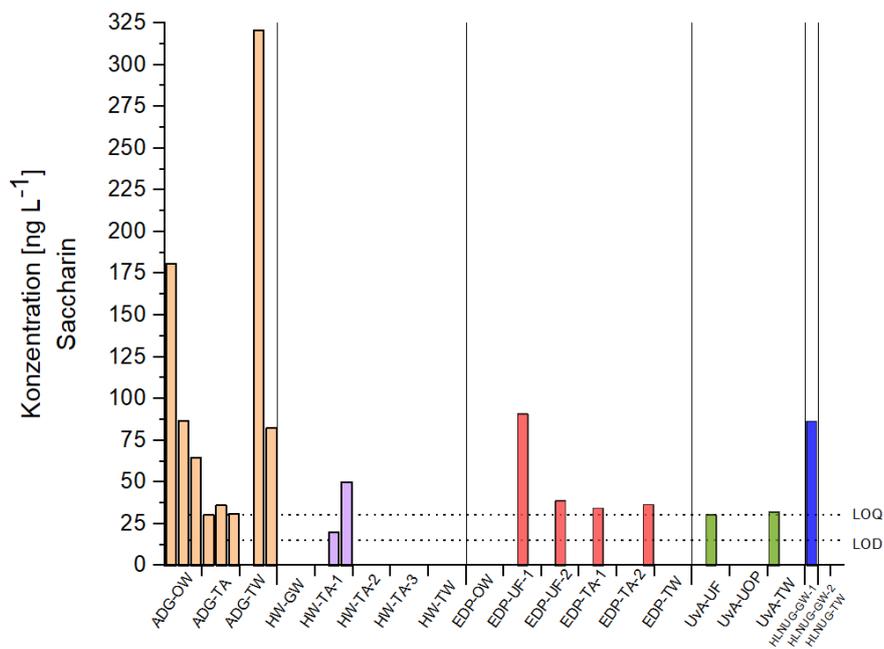


Abbildung 22: Konzentrationen an Saccharin in ng L⁻¹ in den einzelnen Trinkwasseraufbereitungsanlagen in Spanien (ADG), Deutschland (HW & HLNUG), Frankreich (EDP) und den Niederlanden (UvA). Pro Beprobungspunkt erfolgte die Entnahme im monatlichen Abstand (Ausnahme HLNUG-Proben).

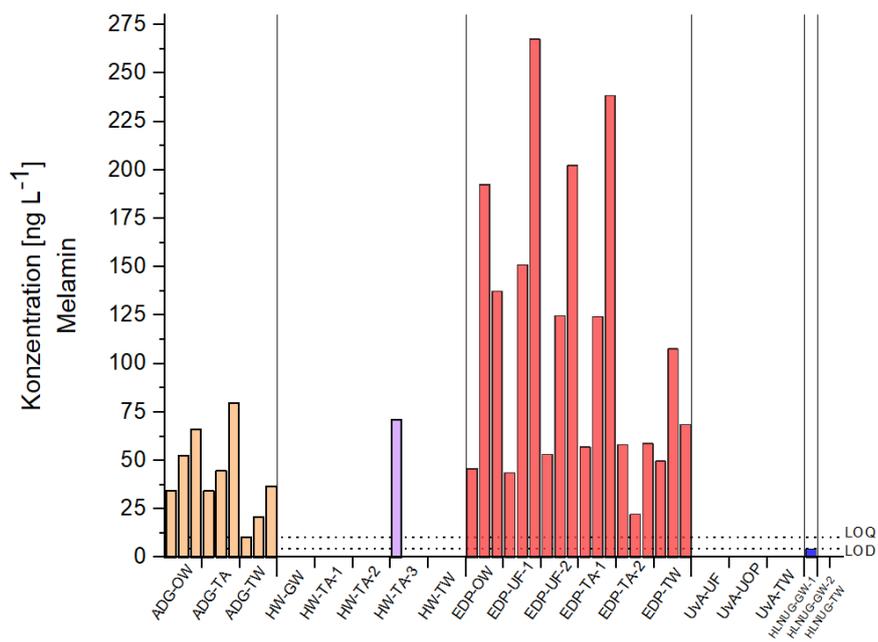


Abbildung 23: Konzentrationen an Melamin in ng L⁻¹ in den einzelnen Trinkwasseraufbereitungsanlagen in Spanien (ADG), Deutschland (HW & HLNUG), Frankreich (EDP) und den Niederlanden (UvA). Pro Beprobungspunkt erfolgte die Entnahme im monatlichen Abstand (Ausnahme HLNUG-Proben).

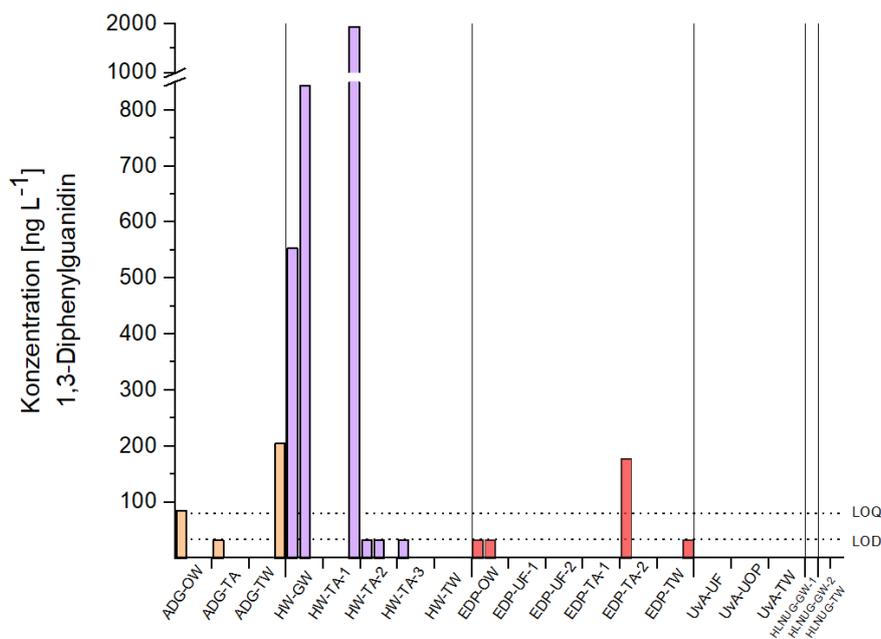


Abbildung 24: Konzentrationen an 1,3-Diphenylguanidin in ng L⁻¹ in den einzelnen Trinkwasseraufbereitungsanlagen in Spanien (ADG), Deutschland (HW & HLNUG), Frankreich (EDP) und den Niederlanden (UvA).

Pro Beprobungspunkt erfolgte die Entnahme im monatlichen Abstand (Ausnahme HLNUG-Proben).

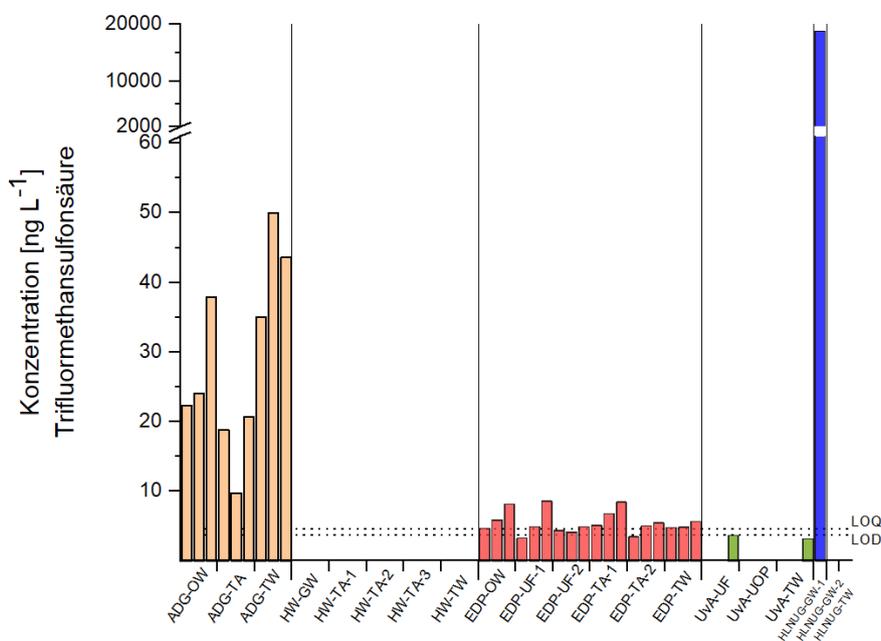


Abbildung 25: Konzentrationen an Trifluormethansulfonsäure in ng L⁻¹ in den einzelnen Trinkwasseraufbereitungsanlagen in Spanien (ADG), Deutschland (HW & HLNUG), Frankreich (EDP) und den Niederlanden (UvA).

Pro Beprobungspunkt erfolgte die Entnahme im monatlichen Abstand (Ausnahme HLNUG-Proben).

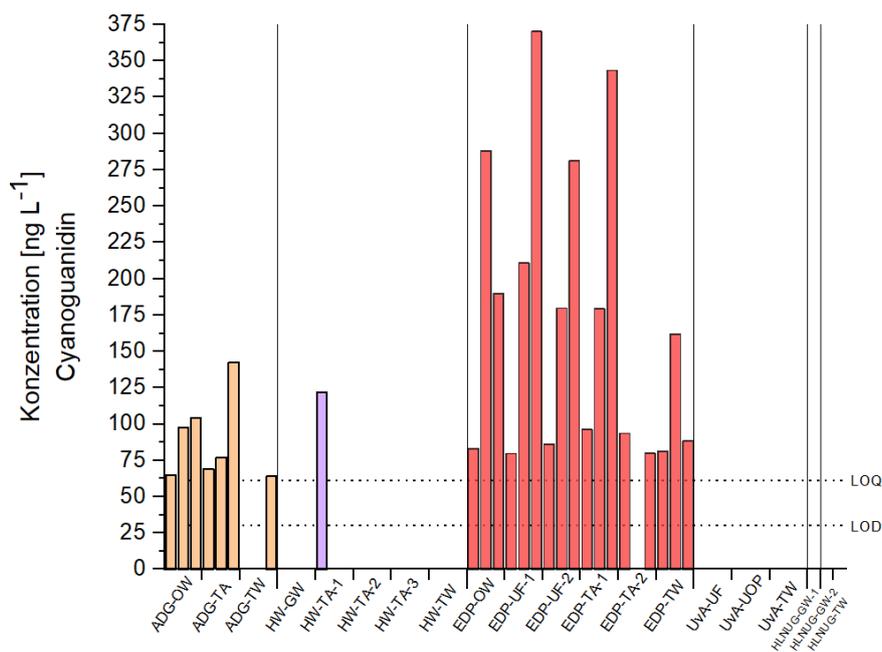


Abbildung 26: Konzentrationen an Cyanoguanidin in ng L⁻¹ in den einzelnen Trinkwasseraufbereitungsanlagen in Spanien (ADG), Deutschland (HW & HLNUG), Frankreich (EDP) und den Niederlanden (UvA). Pro Beprobungspunkt erfolgte die Entnahme im monatlichen Abstand (Ausnahme HLNUG-Proben).

6.4 Schlussfolgerung

Die in diesem unveröffentlichten Teil der Arbeit vorgestellten Daten geben einen Hinweis auf das Vorkommen der untersuchten *PMOCs* in verschiedenen Roh- und Trinkwässern und deren Verhalten während der Trinkwasseraufbereitung. Auch wenn sich im Rahmen dieser Arbeit und der hier gemessenen Proben zeigte, dass die Rohwässer entsprechend häufiger und in höheren Konzentrationen mit den untersuchten *PMOCs* kontaminiert waren als die zugehörigen Trinkwässer, so konnten dennoch auch Rückstände einiger *PMOCs* im Trinkwasser festgestellt werden. Diese konnten mit den gängigen Methoden der Trinkwasseraufbereitung nicht ausreichend abgetrennt werden. Zu beobachten war dies für Acesulfam, Melamin, Trifluormethansulfonsäure, Cyanoguanidin und Saccharin.

Bei Betrachtung der Daten zeigt sich allerdings, dass für aussagekräftigere Interpretationen die Probenanzahl erhöht werden muss. Die Methode der azeotropen Anreicherung und anschließender SFC-HRMS zeigt sich als eine geeignete Möglichkeit zur *PMOC*-Analytik und ist vor allem für ein späteres *Suspected Screening* interessant. Allerdings empfiehlt es sich, eine weitere Methodenoptimierung durchzuführen, um Matrixeffekte besser zu verstehen und kontrollieren zu können, Blindwertproblematiken zu beheben und Nachweis- und Bestimmungsgrenzen weiter zu senken.

7 Literaturverzeichnis

- Ahting, M.; Brauer, F.; Duffek, A.; Ebert, I., 2017, Empfehlungen zur Reduzierung von Mikroverunreinigungen in den Gewässern. Dessau-Roßlau. Umweltbundesamt.
- Akbal, L.; Hopfgartner, G., 2017, Effects of liquid post-column addition in electrospray ionization performance in supercritical fluid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1517, 176–184.
- Akbal, L.; Hopfgartner, G., 2020, Supercritical fluid chromatography-mass spectrometry using data independent acquisition for the analysis of polar metabolites in human urine. *J Chromatogr A* 1609, 460449.
- Albergamo, V.; Blankert, B.; Cornelissen, E.R.; Hofs, B.; Knibbe, W.-J.; van der Meer, W.; Voogt, P.d., 2019a, Removal of polar organic micropollutants by pilot-scale reverse osmosis drinking water treatment. *Water Res* 148, 535–545.
- Albergamo, V.; Blankert, B.; van der Meer, W.; Voogt, P. de; Cornelissen, E.R., 2020, Removal of polar organic micropollutants by mixed-matrix reverse osmosis membranes. *Desalination* 479, 114337.
- Albergamo, V.; Helmus, R.; Voogt, P.d., 2018, Direct injection analysis of polar micropollutants in natural drinking water sources with biphenyl liquid chromatography coupled to high-resolution time-of-flight mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1569, 53–61.
- Albergamo, V.; Schollée, J.E.; Schymanski, E.L.; Helmus, R.; Timmer, H.; Hollender, J.; Voogt, P.d., 2019b, Nontarget Screening Reveals Time Trends of Polar Micropollutants in a Riverbank Filtration System. *Environ Sci Technol* 53, 7584–7594.
- Alder, L.; Lüderitz, S.; Lindtner, K.; Stan, H.-J., 2004, The ECHO technique – the more effective way of data evaluation in liquid chromatography–tandem mass spectrometry analysis. *Journal of Chromatography A* 1058, 67–79.
- Alpert, A.J., 1990, Hydrophilic-interaction chromatography for the separation of peptides, nucleic acids and other polar compounds. *Journal of Chromatography A* 499, 177–196.
- Anacleto, J.F.; Ramaley, L.; Boyd, R.K.; Pleasance, S.; Quilliam, M.A.; Sim, P.G.; Benoit, F.M., 1991, Analysis of polycyclic aromatic compounds by supercritical fluid chromatography/mass spectrometry using atmospheric-pressure chemical ionization. *Rapid Commun Mass Spectrom* 5, 149–155.
- Angeles, L.F.; Aga, D.S., 2020, Catching the elusive persistent and mobile organic compounds: Novel sample preparation and advanced analytical techniques. *Trends in Environmental Analytical Chemistry* 25, e00078.
- Arp, H.; Hale, S.E., 2019, REACH: Improvement of guidance methods for the identification and assessment of PMT/vPvM substances. Dessau-Roßlau. Umweltbundesamt.
- Arp, H.P.H.; Brown, T.N.; Berger, U.; Hale, S.E., 2017, Ranking REACH registered neutral, ionizable and ionic organic chemicals based on their aquatic persistency and mobility. *Environ Sci Process Impacts* 19, 939–955.
- Ashraf-Khorassani, M.; Combs, M., 2017, Method Development in Supercritical Fluid Chromatography. *Supercritical Fluid Chromatography*, 127–152.
- Bartel, H.; Dieter, H.H.; Feuerpfeil, I.; Grummt H.-J.; Grummt, T.; Hummel, A.; Konietzka, R.; Litz, N.; Rapp, T.; Rechenberg, J.; Schaefer, B.; Schlosser, F.U.; Vigelahn, L., 2010, Rund ums Trinkwasser. Dessau-Roßlau. Umweltbundesamt.
- Bauer, K.-H.; Knepper, T.; Maes, A.; Schatz, V.; Voihsel, M., 1999, Analysis of polar organic micropollutants in water with ion chromatography–electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 837, 117–128.

- Benijts, T.; Dams, R.; Lambert, W.; Leenheer, A. de, 2004, Countering matrix effects in environmental liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry water analysis for endocrine disrupting chemicals. *Journal of Chromatography A* 1029, 153–159.
- Berger, T.A., 1995, Packed column SFC. Cambridge, The Royal Society of Chemistry, S. 1-251, ISBN: 978-0854045006.
- Bernal, J.L.; Martín, M.T.; Toribio, L., 2013, Supercritical fluid chromatography in food analysis. *J Chromatogr A* 1313, 24–36.
- Bernhard, M.; Müller, J.; Knepper, T.P., 2006, Biodegradation of persistent polar pollutants in wastewater: comparison of an optimised lab-scale membrane bioreactor and activated sludge treatment. *Water Res* 40, 3419–3428.
- Bieber, S.; Greco, G.; Grosse, S.; Letzel, T., 2017, RPLC-HILIC and SFC with Mass Spectrometry: Polarity-Extended Organic Molecule Screening in Environmental (Water) Samples. *Analytical chemistry* 89, 7907–7914.
- Bieber, S.; Letzel, T., 2015, SFC – Superkritische Fluid Chromatographie oder Science Fiction Chromatographie? *News Analytik*, 1–2.
- Biebersdorf, N.; Kaub, J.M., 2013, Kläranlage Ochtrup 4. Reinigungsstufe zur Elimination von Mikroschadstoffen. Ochtrup. Stadtwerke Ochtrup.
- Björnsdotter, M.K.; Yeung, L.W.Y.; Kärrman, A.; Jogsten, I.E., 2019, Ultra-Short-Chain Perfluoroalkyl Acids Including Trifluoromethane Sulfonic Acid in Water Connected to Known and Suspected Point Sources in Sweden. *Environ Sci Technol* 53, 11093–11101.
- Bliefert, C., 2012, Umweltchemie. Weinheim, Wiley, S. 1-942, ISBN: 978-3527303748.
- Bolinius, D.J.; Sobek, A.; Löf, M.F.; Undeman, E., 2018, Evaluating the consumption of chemical products and articles as proxies for diffuse emissions to the environment. *Environ Sci Process Impacts* 20, 1427–1440.
- Bollmann, U.E.; Badawi, N., 2020, A fast and simple SPE-LC-MS/MS procedure for extraction and quantitative analysis of 1,2,4-triazole, N,N-dimethylsulfamide, and other small polar organic compounds in groundwater. *Anal Bioanal Chem* 412, 5683–5693.
- Boulard, L.; Dierkes, G.; Ternes, T., 2018, Utilization of large volume zwitterionic hydrophilic interaction liquid chromatography for the analysis of polar pharmaceuticals in aqueous environmental samples: Benefits and limitations. *J Chromatogr A* 1535, 27–43.
- Buck, R.C.; Franklin, J.; Berger, U.; Conder, J.M.; Cousins, I.T.; Voogt, P.d.; Jensen, A.A.; Kannan, K.; Mabury, S.A.; van Leeuwen, S.P.J., 2011, Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: terminology, classification, and origins. *Integrated environmental assessment and management* 7, 513–541.
- Buerge, I.J.; Buser, H.-R.; Kahle, M.; Müller, M.D.; Poiger, T., 2009, Ubiquitous occurrence of the artificial sweetener acesulfame in the aquatic environment: an ideal chemical marker of domestic wastewater in groundwater. *Environ Sci Technol* 43, 4381–4385.
- Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz, Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasserverordnung - TrinkwV 2001), 2001, 1–34.
- Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz, Gesetz zur Ordnung des Wasserhaushalts (Wasserhaushaltsgesetz - WHG), 2009, 1–65.
- Busetti, F.; Backe, W.J.; Bendixen, N.; Maier, U.; Place, B.; Giger, W.; Field, J.A., 2012, Trace analysis of environmental matrices by large-volume injection and liquid chromatography-mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 402, 175–186.

- Buszewski, B.; Noga, S., 2012, Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC)--a powerful separation technique. *Anal Bioanal Chem* 402, 231–247.
- Buszewski, B.; Szultka, M., 2012, Past, Present, and Future of Solid Phase Extraction: A Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 42, 198–213.
- Camman, K., 2010, Instrumentelle analytische chemie. [Place of publication not identified], Springer, ISBN: 978-3-8274-2739-7.
- Carballa, M.; Omil, F.; Lema, J.M.; Llombart, M.; García-Jares, C.; Rodríguez, I.; Gómez, M.; Ternes, T., 2004, Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant. *Water Res* 38, 2918–2926.
- Castillo, M.; Alonso, M.C.; Riu, J.; Barceló, D., 1999, Identification of Polar, Ionic, and Highly Water Soluble Organic Pollutants in Untreated Industrial Wastewaters. *Environ. Sci. Technol.* 33, 1300–1306.
- Chambers, E.; Wagrowski-Diehl, D.M.; Lu, Z.; Mazzeo, J.R., 2007, Systematic and comprehensive strategy for reducing matrix effects in LC/MS/MS analyses. *Journal of Chromatography B* 852, 22–34.
- Chen, J.; Hsieh, Y.; Cook, J.; Morrison, R.; Korfmacher, W.A., 2006, Supercritical fluid chromatography-tandem mass spectrometry for the enantioselective determination of propranolol and pindolol in mouse blood by serial sampling. *Analytical chemistry* 78, 1212–1217.
- Chen, R., 2009, A Brief Review of Interfacing Supercritical Fluid Chromatography with Mass Spectrometry. *Chromatography Today*, 11–13.
- Choi, Y.; Lee, J.-H.; Kim, K.; Mun, H.; Park, N.; Jeon, J., 2021, Identification, quantification, and prioritization of new emerging pollutants in domestic and industrial effluents, Korea: Application of LC-HRMS based suspect and non-target screening. *J Hazard Mater* 402, 123706.
- Choo, Y.M.; Ng, M.H.; Ma, A.N.; Chuah, C.H.; Hashim, M.A., 2005, Application of supercritical fluid chromatography in the quantitative analysis of minor components (carotenes, vitamin E, sterols, and squalene) from palm oil. *Lipids* 40, 429–432.
- Chung, W.; Tso, S.; Sze, S., 2007, Separation of polar mushroom toxins by mixed-mode hydrophilic and ionic interaction liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry. *J Chromatogr Sci* 45, 104–111.
- Cousins, I.T.; Vestergren, R.; Wang, Z.; Scheringer, M.; McLachlan, M.S., 2016, The precautionary principle and chemicals management: The example of perfluoroalkyl acids in groundwater. *Environment international* 94, 331–340.
- Dams, R.; Huestis, M.A.; Lambert, W.E.; Murphy, C.M., 2003, Matrix effect in bio-analysis of illicit drugs with LC-MS/MS: Influence of ionization type, sample preparation, and biofluid. *J Am Soc Mass Spectrom* 14, 1290–1294.
- Daughton, C.G., 2001, Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Overarching Issues and Overview. *ACS Symposium Series* 791, 2–38.
- Davididou, K.; McRitchie, C.; Antonopoulou, M.; Konstantinou, I.; Chatzisyneon, E., 2018, Photocatalytic degradation of saccharin under UV-LED and blacklight irradiation. *J. Chem. Technol. Biotechnol* 93, 269–276.
- Del Carmen Salvatierra-Stamp, V.; Ceballos-Magaña, S.G.; Gonzalez, J.; Ibarra-Galván, V.; Muñoz-Valencia, R., 2015, Analytical method development for the determination of emerging contaminants in water using supercritical-fluid chromatography coupled with diode-array detection. *Anal Bioanal Chem* 407, 4219–4226.

- Desfontaine, V.; Capetti, F.; Nicoli, R.; Kuuranne, T.; Veuthey, J.-L.; Guillarme, D., 2018, Systematic evaluation of matrix effects in supercritical fluid chromatography versus liquid chromatography coupled to mass spectrometry for biological samples. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 1079, 51–61.
- Desfontaine, V.; Guillarme, D.; Francotte, E.; Nováková, L., 2015, Supercritical fluid chromatography in pharmaceutical analysis. *J Pharm Biomed Anal* 113, 56–71.
- Deventer, K.; Pozo, O.J.; Verstraete, A.G.; van Eenoo, P., 2014, Dilute-and-shoot-liquid chromatography-mass spectrometry for urine analysis in doping control and analytical toxicology. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 55, 1–13.
- Dost, K.; Davidson, G., 2003, Analysis of artemisinin by a packed-column supercritical fluid chromatography-atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry technique. *Analyst* 128, 1037–1042.
- Dürig, W.; Tröger, R.; Andersson, P.L.; Rybacka, A.; Fischer, S.; Wiberg, K.; Ahrens, L., 2019, Development of a suspect screening prioritization tool for organic compounds in water and biota. *Chemosphere* 222, 904–912.
- Europäische Kommission, Mitteilung der Kommission an das Europäische Parlament, den Rat, den Europäischen Wirtschafts- und Sozialausschuss und den Ausschuss der Regionen - Chemikalienstrategie für Nachhaltigkeit - Für eine schadstofffreie Umwelt, 2020, 1–31.
- Europäische Union, Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 18. Dezember 2006 zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH), 2006, L 136/3-280.
- European Chemical Agency (ECHA), 2015, A Common Screening Approach for REACH and CLP Processes. https://echa.europa.eu/documents/10162/19126370/common_screening_approach_en.pdf.
- European Chemical Agency (ECHA), Leitlinien zu Informationsanforderungen und Stoffsicherheitsbeurteilung Kapitel R.12: Verwendungsbeschreibung, 2015.
- European Chemical Agency (ECHA), 2020, REACH registration statistics. <https://echa.europa.eu/de/registration-statistics-infograph>.
- Fantke, P.; Aurisano, N.; Provoost, J.; Karamertzanis, P.G.; Hauschild, M., 2020, Toward effective use of REACH data for science and policy. *Environment international* 135, 105336.
- Farré, M.; Kantiani, L.; Petrovic, M.; Pérez, S.; Barceló, D., 2012, Achievements and future trends in the analysis of emerging organic contaminants in environmental samples by mass spectrometry and bioanalytical techniques. *J Chromatogr A* 1259, 86–99.
- Filipovic, M.; Berger, U., 2015, Are perfluoroalkyl acids in waste water treatment plant effluents the result of primary emissions from the technosphere or of environmental recirculation? *Chemosphere* 129, 74–80.
- Fontanals, N.; Marcé, R.M.; Borrull, F., 2005, New hydrophilic materials for solid-phase extraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 24, 394–406.
- Fountain, K.J.; Wess, C., 2012, Chiral separation of Clenbuterol using UPC2. <https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720004537en.pdf>.
- Gago-Ferrero, P.; Krettek, A.; Fischer, S.; Wiberg, K.; Ahrens, L., 2018, Suspect Screening and Regulatory Databases: A Powerful Combination To Identify Emerging Micropollutants. *Environ Sci Technol* 52, 6881–6894.

- Galea, C.; Mangelings, D.; Vander Heyden, Y., 2015, Characterization and classification of stationary phases in HPLC and SFC – a review. *Anal Chim Acta* 886, 1–15.
- Garcia, N.; Moreno, J.; Cartmell, E.; Rodriguez-Roda, I.; Judd, S., 2013, The application of microfiltration-reverse osmosis/nanofiltration to trace organics removal for municipal wastewater reuse. *Environmental Technology* 34, 3183–3189.
- Garzotti, M.; Hamdan, M., 2002, Supercritical fluid chromatography coupled to electrospray mass spectrometry: a powerful tool for the analysis of chiral mixtures. *Journal of Chromatography B* 770, 53–61.
- Garzotti, M.; Rovatti, L.; Hamdan, M., 2001, Coupling of a supercritical fluid chromatography system to a hybrid (Q-TOF 2) mass spectrometer: on-line accurate mass measurements. *Rapid Commun Mass Spectrom* 15, 1187–1190.
- Ghosh, M.; Chowdhury, P.; Ray, A.K., 2018, Study of solar photocatalytic degradation of Acesulfame K to limit the outpouring of artificial sweeteners. *Separation and Purification Technology* 207, 51–57.
- Giddings, C.J.; Myers, M.N.; McLaren, L.; Keller, R.A., 1968, High Pressure Gas Chromatography of Nonvolatile Species. *Science* 162, 67–73.
- Gouw, T.H.; Jentoft, R.E., 1972, Supercritical fluid chromatography. *Journal of Chromatography A* 68, 303–323.
- Greco, G.; Letzel, T., 2013, Main interactions and influences of the chromatographic parameters in HILIC separations. *J Chromatogr Sci* 51, 684–693.
- Gross, J.H.; Beifuss, 2013, Massenspektrometrie. Dordrecht, Springer Berlin Heidelberg, ISBN: 978-3-8274-2980-3.
- Guillarme, D.; Desfontaine, V.; Heinisch, S.; Veuthey, J.-L., 2018, What are the current solutions for interfacing supercritical fluid chromatography and mass spectrometry? *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 1083, 160–170.
- Hanai, T., 2003, Separation of polar compounds using carbon columns. *Journal of Chromatography A* 989, 183–196.
- Hartmann, A.; Ganzera, M., 2015, Supercritical Fluid Chromatography-Theoretical Background and Applications on Natural Products. *Planta Med* 81, 1570–1581.
- Hennion, M.-C.; Coquart, V.; Guenu, S.; Sella, C., 1995, Retention behaviour of polar compounds using porous graphitic carbon with water-rich mobile phases. *Journal of Chromatography A* 712, 287–301.
- Hernández, F.; Sancho, J.; Pozo, O.; Lara, A.; Pitarch, E., 2001, Rapid direct determination of pesticides and metabolites in environmental water samples at sub- $\mu\text{g/l}$ level by on-line solid-phase extraction-liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 939, 1–11.
- Huntscha, S.; Singer, H.P.; McArdell, C.S.; Frank, C.E.; Hollender, J., 2012, Multiresidue analysis of 88 polar organic micropollutants in ground, surface and wastewater using online mixed-bed multilayer solid-phase extraction coupled to high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1268, 74–83.
- Ibáñez, M.; Pozo, O.J.; Sancho, J.V.; López, F.J.; Hernández, F., 2006, Re-evaluation of glyphosate determination in water by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1134, 51–55.
- Inamuddin; Mohammad, A., 2014, Green chromatographic techniques. Dordrecht, Springer, S. 1-210, ISBN: 978-94-007-7734-7.
- Ingelse, B.A.; van Dam, R.; Vreeken, R.; Mol, H.G.; Steijger, Odile, M., 2001, Determination of polar organophosphorus pesticides in aqueous samples by direct injection using liquid

- chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 918, 67–78.
- Jandera, P.; Hájek, T., 2018, Mobile phase effects on the retention on polar columns with special attention to the dual hydrophilic interaction-reversed-phase liquid chromatography mechanism, a review. *J Sep Sci* 41, 145–162.
- Jekel, M.; Ruhl, A.S., 2016, Anthropogene Spurenstoffe und Krankheitserreger im urbanen Wasserkreislauf: Bewertung, Barrieren und Risikokommunikation (ASKURIS). Berlin. Universitätsverlag der TU Berlin.
- Jensen, S.; Johnels, A.G.; Olsson, M.; Otterlind, G., 1969, DDT and PCB in Marine Animals from Swedish Waters. *Nature* 18, 247–250.
- Johannsen, M., 2001, Separation of enantiomers of ibuprofen on chiral stationary phases by packed column supercritical fluid chromatography. *Journal of Chromatography A* 937, 135–138.
- Joss, A.; Keller, E.; Alder, A.C.; Göbel, A.; McArdell, C.S.; Ternes, T.; Siegrist, H., 2005, Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. *Water Res* 39, 3139–3152.
- Kahl, S.; Kleinsteuber, S.; Nivala, J.; van Afferden, M.; Reemtsma, T., 2018, Emerging Biodegradation of the Previously Persistent Artificial Sweetener Acesulfame in Biological Wastewater Treatment. *Environ. Sci. Technol.* 52, 2717–2725.
- Kalberlah, F.; Oltmanns, J.; Schwarz, M., 2014, Guidance for the precautionary protection of raw water destined for drinking water extraction from contaminants regulated under REACH. Dessau-Roßlau. Umweltbundesamt.
- Kalíková, K.; Slechtová, T.; Vozka, J.; Tesařová, E., 2014, Supercritical fluid chromatography as a tool for enantioselective separation; a review. *Anal Chim Acta* 821, 1–33.
- Kataoka, H., 2002, Automated sample preparation using in-tube solid-phase microextraction and its application -- a review. *Anal Bioanal Chem* 373, 31–45.
- Kern, S.; Fenner, K.; Singer, H.P.; Schwarzenbach, R.P.; Hollender, J., 2009, Identification of transformation products of organic contaminants in natural waters by computer-aided prediction and high-resolution mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 43, 7039–7046.
- Khater, S.; West, C., 2015, Development and validation of a supercritical fluid chromatography method for the direct determination of enantiomeric purity of provitamin B5 in cosmetic formulations with mass spectrometric detection. *J Pharm Biomed Anal* 102, 321–325.
- Kjølholt, J.; Jensen, A.A.; Warming, M., 2015, Short-chain Polyfluoroalkyl Substances (PFAS). Copenhagen, Denmark. The Danish Environmental Protection Agency.
- Klößner, P.; Seiwert, B.; Eisentraut, P.; Braun, U.; Reemtsma, T.; Wagner, S., 2020, Characterization of tire and road wear particles from road runoff indicates highly dynamic particle properties. *Water Res* 185, 116262.
- Knepper, T., 2003, Synthetic chelating agents and compounds exhibiting complexing properties in the aquatic environment. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 22, 708–724.
- Knepper, T.P.; Werner, A.; Bogenschütz, G., 2005, Determination of synthetic chelating agents in surface and waste water by ion chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1085, 240–246.
- Knoll, S.; Rösch, T.; Huhn, C., 2020, Trends in sample preparation and separation methods for the analysis of very polar and ionic compounds in environmental water and biota samples. *Anal Bioanal Chem* 412, 6149–6165.

- Köke, N.; Zahn, D.; Knepper, T.P.; Frömel, T., 2018, Multi-layer solid-phase extraction and evaporation-enrichment methods for polar organic chemicals from aqueous matrices. *Anal Bioanal Chem* 410, 2403–2411.
- Kolpin, D.W.; Furlong, E.T.; Meyer, M.T.; Thurman, E.M.; Zaugg, S.D.; Barber, L.B.; Buxton, H.T., 2002, Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environ Sci Technol* 36, 1202–1211.
- Kolpin, D.W.; Thurman, E.M.; Lee, E.A.; Meyer, M.T.; Furlong, E.T.; Glassmeyer, S.T., 2006, Urban contributions of glyphosate and its degradate AMPA to streams in the United States. *Sci Total Environ* 354, 191–197.
- Konya, Y.; Izumi, Y.; Bamba, T., 2020, Development of a novel method for polar metabolite profiling by supercritical fluid chromatography/tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1632, 461587.
- Kromidas, S., *Der HPLC-Experte II*. Wiley, ISBN: 978-3-527-33838-2.
- Kromidas, S., 2016, *HPLC-Tipps*. Blieskastel, S. 1-225, ISBN: 978-3-937436-58-6.
- Lafosse, M.; Herbreteau, B.; Morin-Allory, L., 1996, Supercritical fluid chromatography of carbohydrates. *Journal of Chromatography A* 720, 61–73.
- Lee, J.W.; Uchikata, T.; Matsubara, A.; Nakamura, T.; Fukusaki, E.; Bamba, T., 2012, Application of supercritical fluid chromatography/mass spectrometry to lipid profiling of soybean. *J Biosci Bioeng* 113, 262–268.
- Lemasson, E.; Bertin, S.; West, C., 2016, Use and practice of achiral and chiral supercritical fluid chromatography in pharmaceutical analysis and purification. *J Sep Sci* 39, 212–233.
- Lesellier, E., 2009, Retention mechanisms in super/subcritical fluid chromatography on packed columns. *J Chromatogr A* 1216, 1881–1890.
- Lesellier, E.; West, C., 2015, The many faces of packed column supercritical fluid chromatography-a critical review. *J Chromatogr A* 1382, 2–46.
- Letzel, T., 2013, Non-target screening, suspected-target screening and target screening – of technologies and philosophies, databases and crafts. *lab&more* 2014.
- Li, J.; Yu, N.; Zhang, B.; Jin, L.; Li, M.; Hu, M.; Zhang, X.; Wei, S.; Yu, H., 2014, Occurrence of organophosphate flame retardants in drinking water from China. *Water Res* 54, 53–61.
- Loos, R.; Carvalho, R.; António, D.C.; Comero, S.; Locoro, G.; Tavazzi, S.; Paracchini, B.; Ghiani, M.; Lettieri, T.; Blaha, L.; Jarosova, B.; Voorspoels, S.; Servaes, K.; Haglund, P.; Fick, J.; Lindberg, R.H.; Schwesig, D.; Gawlik, B.M., 2013, EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents. *Water Res* 47, 6475–6487.
- Loos, R.; Gawlik, B.M.; Locoro, G.; Rimaviciute, E.; Contini, S.; Bidoglio, G., 2009, EU-wide survey of polar organic persistent pollutants in European river waters. *Environmental pollution* 157, 561–568.
- Loos, R.; Locoro, G.; Contini, S., 2010, Occurrence of polar organic contaminants in the dissolved water phase of the Danube River and its major tributaries using SPE-LC-MS/MS analysis. *Water Res* 44, 2325–2335.
- Losacco, G.L.; Veuthey, J.-L.; Guillarme, D., 2019, Supercritical fluid chromatography – Mass spectrometry: Recent evolution and current trends. *Trends in Analytical Chemistry* 118, 731–738.

- Mann, O.; Pock, E.; Wruss, K.; Wruss, W.; Krska, R., 2016, Development and validation of a fully automated online-SPE–ESI–LC–MS/MS multi-residue method for the determination of different classes of pesticides in drinking, ground and surface water. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 96, 353–372.
- Masqué, N.; Marcé, R.M.; Borrull, F., 1998, New polymeric and other types of sorbents for SPE of polar organic micropollutants from environmental water. *Trends in Analytical Chemistry* 17.
- Massmann, G.; Pekdeger, A.; Heberer, T.; Grützmacher, G.; Dünnebier, U.; Knappe, A.; Meyer, H.; Mechlinski, A., 2007, Drinking-Water Production in Urban Environments – Bank Filtration in Berlin. *Grundwasser* 12, 232–245.
- Menger, F.; Gago-Ferrero, P.; Wiberg, K.; Ahrens, L., 2020, Wide-scope screening of polar contaminants of concern in water: A critical review of liquid chromatography-high resolution mass spectrometry-based strategies. *Trends in Environmental Analytical Chemistry* 28, e00102.
- Montes, R.; Aguirre, J.; Vidal, X.; Rodil, R.; Cela, R.; Quintana, J.B., 2017, Screening for polar chemicals in water by trifunctional mixed-mode liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. *Environ Sci Technol* 51, 6250–6259.
- Montes, R.; Rodil, R.; Cela, R.; Quintana, J.B., 2019, Determination of Persistent and Mobile Organic Contaminants (PMOCs) in Water by Mixed-Mode Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Analytical chemistry* 91, 5176–5183.
- Morgan, D.G.; Harbol, K.L.; Kitrinou, N.P., 1998, Optimization of a supercritical fluid chromatograph–atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometer interface using an ion trap and two quadrupole mass spectrometers. *Journal of Chromatography A* 800, 39–49.
- Muir, D.; Zhang, X.; Wit, C.A. de; Vorkamp, K.; Wilson, S., 2019, Identifying further chemicals of emerging arctic concern based on ‘in silico’ screening of chemical inventories. *Emerging Contaminants* 5, 201–210.
- Müller, K.; Zahn, D.; Frömel, T.; Knepper, T.P., 2020, Matrix effects in the analysis of polar organic water contaminants with HILIC-ESI-MS. *Anal Bioanal Chem* 412, 4867–4879.
- Neumann, M.; Schliebner, I., 2017, Protecting the sources of our drinking water: The criteria for identifying Persistent, Mobile, and Toxic (PMT) substances and very Persistent, and very Mobile (vPvM) substances under EU REACH Regulation. Dessau-Roßlau. Umweltbundesamt.
- Neumann, M.; Schliebner, I., 2019, Protecting the sources of our drinking water - The criteria for identifying Persistent, Mobile and Toxic (PMT) substances, and very Persistent and very Mobile (vPvM) substances under EU REACH Regulation (EC) No 1907/2006. Dessau-Roßlau. Umweltbundesamt.
- Noll-Borchers, M.; Hölscher, T., 2015, Determination of Aromatic Content in Diesel Fuel According to ASTM D5186. *Agilent Technologies Application Note*, 1–8.
- Oertel, A.; Maul, K.; Menz, J.; Kronsbein, A.L.; Sittner, D.; Springer, A.; Müller, A.-K.; Herbst, U.; Schlegel, K.; Schulte, A., 2018, REACH Compliance: Data availability in REACH registrations Part 2: Evaluation of data waiving and adaptations for chemicals ≥ 1000 tpa 64/2018.
- Olivo, V.E.; Tansini, A.; Carasek, F.; Cordenuzzi, D.; Fernandes, S.; Fiori, M.A.; Fragoso, A.; Dal Magro, J., 2015, Rapid method for determination of glyphosate in groundwater using high performance liquid chromatography and solid-phase extraction after derivatization. *Rev. ambiente água* 10.

- Oltmanns, J.; Licht, O.; Bohlen, M.-L.; Schwarz, M.; Escher, S.E.; Silano, V.; MacLeod, M.; Noteborn, H.P.J.M.; Kass, G.E.N.; Merten, C., 2020, Potential emerging chemical risks in the food chain associated with substances registered under REACH. *Environ Sci Process Impacts* 22, 105–120.
- Parr, M.K.; Wuest, B.; Naegele, E.; Joseph, J.F.; Wenzel, M.; Schmidt, A.H.; Stanic, M.; La Torre, X. de; Botrè, F., 2016, SFC-MS/MS as an orthogonal technique for improved screening of polar analytes in anti-doping control. *Anal Bioanal Chem* 408, 6789–6797.
- Patel, D., 2011, MATRIX EFFECT IN A VIEW OF LC-MS/MS: AN OVERVIEW. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 1, 559–564.
- Pereira, L., 2008, Porous Graphitic Carbon as a Stationary Phase in HPLC: Theory and Applications. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 31, 1687–1731.
- Perkins, J.R.; Games, D.E.; Startin, J.R.; Gilbert, J., 1991, Analysis of veterinary drugs using supercritical fluid chromatography and supercritical fluid chromatography—mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 540, 257–270.
- Phinney, K.W.; Sander, L.C.; Wise, S.A., 1998, Coupled achiral/chiral column techniques in subcritical fluid chromatography for the separation of chiral and nonchiral compounds. *Analytical chemistry* 70, 2331–2335.
- Phromkunthong, W.; Nuntapong, N.; Wanlem, S.; Boonyaratpalin, M., 2015, A study on growth, histopathology and oxidative stress in Asian sea bass on diets with various loadings of melamine and cyanuric acid adulterants. *Aquaculture* 435, 336–346.
- Płotka, J.M.; Biziuk, M.; Morrison, C.; Namieśnik, J., 2014, Pharmaceutical and forensic drug applications of chiral supercritical fluid chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 56, 74–89.
- Poyatos, J.M.; Muñio, M.M.; Almecija, M.C.; Torres, J.C.; Hontoria, E.; Osorio, F., 2010, Advanced Oxidation Processes for Wastewater Treatment: State of the Art. *Water Air Soil Pollut* 205, 187–204.
- Rechenberg, B., 2015, Organische Mikroverunreinigungen in Gewässern - Vierte Reinigungsstufe für weniger Einträge. Dessau-Roßlau. Umweltbundesamt.
- Reemtsma, T., 2003, Liquid chromatography–mass spectrometry and strategies for trace-level analysis of polar organic pollutants. *Journal of Chromatography A* 1000, 477–501.
- Reemtsma, T.; Alder, L.; Banasiak, U., 2013, A multimethod for the determination of 150 pesticide metabolites in surface water and groundwater using direct injection liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1271, 95–104.
- Reemtsma, T.; Berger, U.; Arp, H.P.H.; Gallard, H.; Knepper, T.P.; Neumann, M.; Quintana, J.B.; Voogt, P.d., 2016, Mind the Gap: Persistent and Mobile Organic Compounds-Water Contaminants That Slip Through. *Environ Sci Technol* 50, 10308–10315.
- Reemtsma, T.; Jekel, M., 2008, Organic pollutants in the water cycle. Weinheim, Wiley-VCH, S. 1-350, ISBN: 978-3-527-31297-9.
- Reemtsma, T.; Weiss, S.; Mueller, J.; Petrovic, M.; González, S.; Barcelo, D.; Ventura, F.; Knepper, T.P., 2006, Polar pollutants entry into the water cycle by municipal wastewater: a European perspective. *Environ Sci Technol* 40, 5451–5458.
- Reppas-Chrysovitsinos, E.; Sobek, A.; MacLeod, M., 2017, Screening-level exposure-based prioritization to identify potential POPs, vPvBs and planetary boundary threats among Arctic contaminants. *Emerging Contaminants* 3, 85–94.

- Reppas-Chrysovitsinos, E.; Sobek, A.; MacLeod, M., 2018, In Silico Screening-Level Prioritization of 8468 Chemicals Produced in OECD Countries to Identify Potential Planetary Boundary Threats. *Bull Environ Contam Toxicol* 100, 134–146.
- Rodriguez, M.; Orescan, D.B., 1998, Confirmation and quantitation of selected sulfonylurea, imidazolinone, and sulfonamide herbicides in surface water using electrospray LC/MS. *Analytical chemistry* 70, 2710–2717.
- Rüdel, H.; Körner, W.; Letzel, T.; Neumann, M.; Nödler, K.; Reemtsma, T., 2020, Persistent, mobile and toxic substances in the environment: a spotlight on current research and regulatory activities. *Environ Sci Eur* 32, 91.
- Ruff, M.; Mueller, M.S.; Loos, M.; Singer, H.P., 2015, Quantitative target and systematic non-target analysis of polar organic micro-pollutants along the river Rhine using high-resolution mass-spectrometry--Identification of unknown sources and compounds. *Water Res* 87, 145–154.
- Sackmann, K.; Reemtsma, T.; Rahmberg, M.; Bunke, D., 2018, Impact of European chemicals regulation on the industrial use of plasticizers and patterns of substitution in Scandinavia. *Environment international* 119, 346–352.
- Sadoun, F.; Virelizier, H.; Arpino, P.J., 1993, Packed-column supercritical fluid chromatography coupled with electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 647, 351–359.
- Saito, M., 2013, History of supercritical fluid chromatography: instrumental development. *J Biosci Bioeng* 115, 590–599.
- Salzner, J.; Sgoff, D.; Bader, H.J., 2011, Melamin - Bedeutende Industriechemikalie und toxischer Milchzusatz. *CHEMKON* 18, 59–64.
- Schaar, H.; Kreuzinger, N., 2017, 4. Reinigungsstufe auf Kläranlagen zur weitergehenden Behandlung kommunaler Abwässer. *Österr Wasser- und Abfallw* 69, 340–345.
- Scheurer, M.; Brauch, H.-J.; Lange, F.T., 2009, Analysis and occurrence of seven artificial sweeteners in German waste water and surface water and in soil aquifer treatment (SAT). *Anal Bioanal Chem* 394, 1585–1594.
- Scheurer, M.; Nödler, K.; Freeling, F.; Janda, J.; Happel, O.; Riegel, M.; Müller, U.; Storck, F.R.; Fleig, M.; Lange, F.T.; Brunsch, A.; Brauch, H.-J., 2017, Small, mobile, persistent: Trifluoroacetate in the water cycle - Overlooked sources, pathways, and consequences for drinking water supply. *Water Res* 126, 460–471.
- Schlichtherle-Cerny, H.; Affolter, M.; Cerny, C., 2003, Hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to electrospray mass spectrometry of small polar compounds in food analysis. *Analytical chemistry* 75, 2349–2354.
- Schulze, S.; Paschke, H.; Meier, T.; Muschket, M.; Reemtsma, T.; Berger, U., 2020, A rapid method for quantification of persistent and mobile organic substances in water using supercritical fluid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 412, 4941–4952.
- Schulze, S.; Sättler, D.; Neumann, M.; Arp, H.P.H.; Reemtsma, T.; Berger, U., 2018, Using REACH registration data to rank the environmental emission potential of persistent and mobile organic chemicals. *Sci Total Environ* 625, 1122–1128.
- Schulze, S.; Zahn, D.; Montes, R.; Rodil, R.; Quintana, J.B.; Knepper, T.P.; Reemtsma, T.; Berger, U., 2019, Occurrence of emerging persistent and mobile organic contaminants in European water samples. *Water Res* 153, 80–90.
- Schwarzenbach, R.; Escher, B.; Fenner, K.; Hofstetter, T.; Johnson, A.; Gunten von, U.; Wehrli, B., 2006, The challenge of Micropollutants in Aquatic Systems. *Science (New York, N.Y.)* 313, 1068–1072.

- Schymanski, E.L.; Singer, H.P.; Slobodnik, J.; Ipolyi, I.M.; Oswald, P.; Krauss, M.; Schulze, T.; Haglund, P.; Letzel, T.; Grosse, S.; Thomaidis, N.S.; Bletsou, A.; Zwiener, C.; Ibáñez, M.; Portolés, T.; Boer, R. de; Reid, M.J.; Onghena, M.; Kunkel, U.; Schulz, W.; Guillon, A.; Noyon, N.; Leroy, G.; Bados, P.; Bogialli, S.; Stipaničev, D.; Rostkowski, P.; Hollender, J., 2015, Non-target screening with high-resolution mass spectrometry: critical review using a collaborative trial on water analysis. *Anal Bioanal Chem* 407, 6237–6255.
- Shafique, U.; Schulze, S.; Slawik, C.; Kunz, S.; Paschke, A.; Schüürmann, G., 2017, Gas chromatographic determination of perfluorocarboxylic acids in aqueous samples - A tutorial review. *Anal Chim Acta* 949, 8–22.
- Sie, S.T.; Rijnders, G.W.A., 1967, High-Pressure Gas Chromatography and Chromatography with Supercritical Fluids. III. Fluid-Liquid Chromatography. *Separation Science* 2, 729–753.
- Sieira, B.J.; Montes, R.; Touffet, A.; Rodil, R.; Cela, R.; Gallard, H.; Quintana, J.B., 2020, Chlorination and bromination of 1,3-diphenylguanidine and 1,3-di-o-tolylguanidine: Kinetics, transformation products and toxicity assessment. *J Hazard Mater* 385, 121590.
- Sjöberg, P.J.; Markides, K.E., 1997, New supercritical fluid chromatography interface probe for electrospray and atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 785, 101–110.
- Sjöberg, P.J.R., 1999, Atmospheric pressure ionisation interface considerations for micro column separation with mass spectrometric detection. Uppsala, University Uppsala, S. 1-36, ISBN: 91-554-4443-1.
- Skark, C.; Zullei-seibert, N.; Schöttler, U.; Schlett, C., 1998, The Occurrence of Glyphosate in Surface Water. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 70, 93–104.
- Smith, C.J.; Perfetti, T.A.; Ko, G.M.; Hartigan, S.B., 2020, High structural and molecular parameter diversity among chemicals with similar log P and log Koc values. *Toxicology Research and Application* 4, 239784732094851.
- Smith, R.M.; Sanagi, M., 1989, Supercritical fluid chromatography of barbiturates. *Journal of Chromatography A* 481, 63–69.
- Springer, A.; Herrmann, H.; Sittner, D.; Herbst, U.; Schulte, A., 2015, REACH Compliance: Data availability in REACH registrations Part 1: Screening of chemicals \geq 1000 tpa.
- Strege; Stevenson; Lawrence, 2000, Mixed-mode anion-cation exchange/hydrophilic interaction liquid chromatography-electrospray mass spectrometry as an alternative to reversed phase for small molecule drug discovery. *Analytical chemistry* 72, 4629–4633.
- Stempel, S.; Scheringer, M.; Ng, C.A.; Hungerbühler, K., 2012, Screening for PBT chemicals among the "existing" and "new" chemicals of the EU. *Environ Sci Technol* 46, 5680–5687.
- Svan, A.; Hedeland, M.; Arvidsson, T.; Jasper, J.T.; Sedlak, D.L.; Pettersson, C.E., 2015, Rapid chiral separation of atenolol, metoprolol, propranolol and the zwitterionic metoprolol acid using supercritical fluid chromatography-tandem mass spectrometry - Application to wetland microcosms. *J Chromatogr A* 1409, 251–258.
- Svan, A.; Hedeland, M.; Arvidsson, T.; Pettersson, C.E., 2018, The differences in matrix effect between supercritical fluid chromatography and reversed phase liquid chromatography coupled to ESI/MS. *Anal Chim Acta* 1000, 163–171.

- Tang, J.; Tang, L.; Zhang, C.; Zeng, G.; Deng, Y.; Dong, H.; Wang, J.; Wu, Y., 2015, Different senescent HDPE pipe-risk: brief field investigation from source water to tap water in China (Changsha City). *Environ Sci Pollut Res Int* 22, 16210–16214.
- Tao, Y.; Zheng, Z.; Yu, Y.; Xu, J.; Liu, X.; Wu, X.; Dong, F.; Zheng, Y., 2018, Supercritical fluid chromatography-tandem mass spectrometry-assisted methodology for rapid enantiomeric analysis of fenbuconazole and its chiral metabolites in fruits, vegetables, cereals, and soil. *Food Chem* 241, 32–39.
- Tarafder, A., 2018, Designs and methods for interfacing SFC with MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 1091, 1–13.
- Taylor, L.T., 2009, Supercritical fluid chromatography for the 21st century. *The Journal of Supercritical Fluids* 47, 566–573.
- Teychene, B.; Chi, F.; Chokki, J.; Darracq, G.; Baron, J.; Joyeux, M.; Gallard, H., 2020, Investigation of polar mobile organic compounds (PMOC) removal by reverse osmosis and nanofiltration: rejection mechanism modelling using decision tree. *Water Supply* 20, 975–983.
- Thurman, E.M.; Ferrer, I.; Barceló, D., 2001, Choosing between atmospheric pressure chemical ionization and electrospray ionization interfaces for the HPLC/MS analysis of pesticides. *Analytical chemistry* 73, 5441–5449.
- Tognarelli, D.; Tsukamoto, A.; Caldwell, J.; Caldwell, W., 2010, Rapid peptide separation by supercritical fluid chromatography. *Bioanalysis* 2, 5–7.
- Toribio, L.; Del Nozal, M.; Bernal, J.; Jiménez, J.; Serna, M., 1998, Packed-column supercritical fluid chromatography coupled with solid-phase extraction for the determination of organic microcontaminants in water. *Journal of Chromatography A* 823, 163–170.
- Universität Dortmund, 2003, Untersuchungen zum Eintrag und zur Elimination von gefährlichen Stoffen in kommunalen Kläranlagen. Ministerium für Umwelt und Naturschutz, Landwirtschaft und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen.
- van der Hoek, J.P.; Bertelkamp, C.; Verliefde, A.R.D.; Singhal, N., 2014, Drinking water treatment technologies in Europe: state of the art – challenges – research needs. *Journal of Water Supply: Research and Technology-Aqua* 63, 124–130.
- Ventura, M.C.; Farrell, W.P.; Aurigemma, C.M.; Greig, M.J., 1999, Packed column supercritical fluid chromatography/mass spectrometry for high-throughput analysis. Part 2. *Analytical chemistry* 71, 4223–4231.
- Wang, L.; Wei, W.; Xia, Z.; Jie, X.; Xia, Z.Z., 2016, Recent advances in materials for stationary phases of mixed-mode high-performance liquid chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 80, 495–506.
- Wang, M.; Wang, Y.-H.; Avula, B.; Radwan, M.M.; Wanas, A.S.; Mehmedic, Z.; van Antwerp, J.; ElSohly, M.A.; Khan, I.A., 2017, Quantitative Determination of Cannabinoids in Cannabis and Cannabis Products Using Ultra-High-Performance Supercritical Fluid Chromatography and Diode Array/Mass Spectrometric Detection. *J Forensic Sci* 62, 602–611.
- Waters Corporation, 2014, Beginner's guide to convergence chromatography. [Place of publication not identified], Waters Corp, ISBN: 978-0-615-98496-4.
- Welsch, T.; Block, H., 1997, Separation and enrichment of traces of explosives and their by-products from water by multiple micro liquid extraction for their determination by capillary gas chromatography. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 357, 904–908.
- Wenten, I.G.; Khoiruddin, 2016, Reverse osmosis applications: Prospect and challenges. *Desalination* 391, 112–125.

- West, C.; Elfakir, C.; Lafosse, M., 2010, Porous graphitic carbon: a versatile stationary phase for liquid chromatography. *J Chromatogr A* 1217, 3201–3216.
- Xhaferaj, M.; Naegele, E.; Parr, M.K., 2020, Ion exchange in supercritical fluid chromatography tandem mass spectrometry (SFC-MS/MS): Application for polar and ionic drugs and metabolites in forensic and anti-doping analysis. *J Chromatogr A* 1614, 460726.
- Yang, Y.; Su, B.; Yan, Q.; Ren, Q., 2005, Separation of naproxen enantiomers by supercritical/subcritical fluid chromatography. *J Pharm Biomed Anal* 39, 815–818.
- Zahn, D.; Frömel, T.; Knepper, T.P., 2016, Halogenated methanesulfonic acids: A new class of organic micropollutants in the water cycle. *Water Res* 101, 292–299.
- Zahn, D.; Mucha, P.; Zilles, V.; Touffet, A.; Gallard, H.; Knepper, T.P.; Frömel, T., 2019, Identification of potentially mobile and persistent transformation products of REACH-registered chemicals and their occurrence in surface waters. *Water Res* 150, 86–96.
- Zarfl, C.; Matthies, M., 2013, PBT borderline chemicals under REACH. *Environmental Sciences Europe* 25, 1–2.
- Zhang, L.; Dai, Q.; Qiao, X.; Yu, C.; Qin, X.; Yan, H., 2016, Mixed-mode chromatographic stationary phases: Recent advancements and its applications for high-performance liquid chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 82, 143–163.
- Zheng, Z.; Peters, G.M.; Arp, H.P.H.; Andersson, P.L., 2019, Combining in Silico Tools with Multicriteria Analysis for Alternatives Assessment of Hazardous Chemicals: A Case Study of Decabromodiphenyl Ether Alternatives. *Environ Sci Technol* 53, 6341–6351.
- Zhou, J.; Shu, R.; Yu, C.; Xiong, Z.; Xiao, Q.; Li, Z.; Xie, X.; Fu, Z., 2020, Exposure to low concentration of trifluoromethanesulfonic acid induces the disorders of liver lipid metabolism and gut microbiota in mice. *Chemosphere* 258, 127255.
- Zhu, H.; Kannan, K., 2020, Occurrence and distribution of melamine and its derivatives in surface water, drinking water, precipitation, wastewater, and swimming pool water. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)* 258, 113743.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung eines teilweise geschlossenen Wasserkreislaufs, modifiziert nach Reemtsma <i>et al.</i> , 2016, Teile der Vektorgraphik von freepik.com.	6
Abbildung 2: Schematische Darstellung der Abwasseraufbereitungsschritte einer exemplarischen, konventionellen kommunalen Kläranlage mit drei Reinigungsstufen, modifiziert nach Bliefert, 2012.	8
Abbildung 3: Analytische Lücke der <i>PMOCs</i> , das Nichtvorhandensein von Monitoring-Daten und die daraus einhergehende fehlende Regulation für <i>PMOCs</i>	11
Abbildung 4: Entwicklung der Anzahl an wissenschaftlichen Arbeiten zum Thema "Supercritical Fluid Chromatography" mittels Google Scholar vom 03.11.2020.	23
Abbildung 5: <i>p-T</i> -Diagramm von CO ₂	24
Abbildung 6: Schematischer Aufbau eines SFC-Systems.	25
Abbildung 7: Waters UPC ² -System mit massenspektrometrischer Detektion nach Carsten Wess, wie es in der vorliegenden Arbeit genutzt wurde (Waters Corporation, 2014).	26
Abbildung 8: SFC-MS Interfaces, modifiziert nach Losacco <i>et al.</i> , 2019.	27
Abbildung 9: Schematische Darstellung des genutzten Synapt G2S Massenspektrometers mit seinen wichtigsten Komponenten.	30
Abbildung 10: Klassifizierungsschema stationärer Phasen in der SFC in Form eines Spider-Diagramms, nach Lesellier und West, 2015.	34
Abbildung 11: Screening-Strategien in der Wasseranalytik, modifiziert nach Letzel, 2013.	38
Abbildung 12: Klassenverteilung des Emissionsscores für die bewerteten REACH-registrierten Stoffe.	41
Abbildung 13: Verteilung der Substanzen der Klasse 2 über den dimensionslosen E-Score von 0-100.	41
Abbildung 14: Entwicklung der Anzahl an REACH-Registrierungen, Anzahl registrierender Firmen und Anzahl an registrierten Substanzen von 2009-2020.	43
Abbildung 15: Übereinstimmung an Substanzen aus Priorisierungsarbeiten von Oltmanns <i>et al.</i> und Schulze <i>et al.</i>	48
Abbildung 16: Auswirkungen der Regulierung ausgewählter Industriechemikalien auf die zeitliche Entwicklung der Verwendung in Schweden.	49

Abbildung 17: Durchführung der Probenvorbereitung mittels SPE sowie anschließender Analyse über LC-MS/MS und SFC-HRMS.....	51
Abbildung 18: Darstellung der Detektionshäufigkeit der <i>PMOCs</i> in den Wasserproben in Abhängigkeit des $\log D_{OW}$ und Einordnung in die analytische Lücke, modifiziert nach Reemtsma <i>et al.</i> , 2016.	52
Abbildung 19: Überblick analytischer Methoden über ein breites Polaritätsspektrum, modifiziert nach Knoll <i>et al.</i> , 2020.	64
Abbildung 20: Entferungsverhalten einiger <i>PMOCs</i> während der Trinkwasseraufbereitung in verschiedenen Trinkwasserwerken (TWW).	67
Abbildung 21: Konzentrationen an Acesulfam in ng L^{-1} in den einzelnen Trinkwasseraufbereitungsanlagen in Spanien (ADG), Deutschland (HW & HLNUG), Frankreich (EDP) und den Niederlanden (UvA).....	116
Abbildung 22: Konzentrationen an Saccharin in ng L^{-1} in den einzelnen Trinkwasseraufbereitungsanlagen in Spanien (ADG), Deutschland (HW & HLNUG), Frankreich (EDP) und den Niederlanden (UvA).....	117
Abbildung 23: Konzentrationen an Melamin in ng L^{-1} in den einzelnen Trinkwasseraufbereitungsanlagen in Spanien (ADG), Deutschland (HW & HLNUG), Frankreich (EDP) und den Niederlanden (UvA).....	117
Abbildung 24: Konzentrationen an 1,3-Diphenylguanidin in ng L^{-1} in den einzelnen Trinkwasseraufbereitungsanlagen in Spanien (ADG), Deutschland (HW & HLNUG), Frankreich (EDP) und den Niederlanden (UvA).....	118
Abbildung 25: Konzentrationen an Trifluormethansulfonsäure in ng L^{-1} in den einzelnen Trinkwasseraufbereitungsanlagen in Spanien (ADG), Deutschland (HW & HLNUG), Frankreich (EDP) und den Niederlanden (UvA).....	118
Abbildung 26: Konzentrationen an Cyanoguanidin in ng L^{-1} in den einzelnen Trinkwasseraufbereitungsanlagen in Spanien (ADG), Deutschland (HW & HLNUG), Frankreich (EDP) und den Niederlanden (UvA).....	119

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Rohwasserarten und ihre verschiedenen Aufbereitungsverfahren auf dem Weg zum Trinkwasser, modifiziert nach van der Hoek <i>et al.</i> , 2014.....	9
Tabelle 2: SPE-Materialien zur Extraktion polarer Analyten aus wässrigem Medium (Buszewski; Szultka, 2012; Fontanals <i>et al.</i> , 2005; Hennion <i>et al.</i> , 1995; Masqué <i>et al.</i> , 1998).	18
Tabelle 3: Beispiele für polar modifizierte HILIC-Phasen mit ihren Wechselwirkungen (Kromidas, 2016).....	20
Tabelle 4: Möglichkeiten stationärer Phasen für RP, NP und SFC (Waters Corporation, 2014).	33
Tabelle 5: Anwendungsbeispiele der SFC.	34
Tabelle 6: Übersicht der verschiedenen Screening-Strategien, nach (Kromidas <i>et al.</i> , 2015).	37
Tabelle 7: Substanzen, durch Montes <i>et al.</i> (2017) im Rahmen eines <i>Suspected</i> Screenings in Gewässerproben detektiert, und Abgleich mit <i>PMOC</i> -E-Score.....	44
Tabelle 8: Stoffübersicht für die Methodenentwicklung und Detektionshäufigkeit der Analyten im vorhergehenden Screening.	58

Anhang

A1 Ergänzende Informationen zur Publikation „Using REACH registration data to rank the environmental emission potential of persistent and mobile organic chemicals“ in der Fachzeitschrift *Science of the Total Environment*

Table of contents

Description of databases used in the present study

Examples for the E-score calculation

Table S1. REACH registered PMOCs ranked according to their E-score.

Table S2. REACH registered precursors of predicted PMOC hydrolysis products ranked according to their E-score. The predicted structures of the hydrolysis products are given as SMILES codes.

Description of databases used in the present study

Database A is a manual screening database, which consists of results from a database query performed by ECHA in the beginning of 2015 for all registrations. It was made available by ECHA to Member State Competent Authorities for specific regulatory purposes, e.g. for screening and identification of substances for further regulatory actions. For each substance, identified by its name and EC inventory number, database A aggregates various data from the dossiers of individual registrants. The underlying data are generic descriptors used by the registrants in the description of manufacture and uses of the substance. The generic descriptors listed in database A and relevant for this study are the technical functions, the sectors of end use, the product categories, the process categories, the article categories, and the environmental release categories (ERC) as defined in the respective technical guidance document (Ref 29 in the main text). The aggregation of the generic descriptor data in database A delivered the following information for each substance: The number of article service life uses (upper bound), the number of consumer uses (upper bound), and the number of professional uses (upper bound). Furthermore, also the average total annual tonnage placed on the EU market ('volume produced in the EU' plus 'volume imported into the EU' minus 'volume exported from the EU') for all registrants of a single substance (based on latest information of the individual registrants) is given in database A.

Database B is the result of a database query by ECHA performed in May 2014 for all registrations. The data in database B is presented on a registration-specific basis. Also database B was made available by ECHA to Member State Competent Authorities for specific regulatory purposes. It contains the following information relevant for the present study: The EC inventory number, the CAS number, an estimation of the maximum tonnage manufactured in or imported into the EU based on information from the three most recent years, and conclusions regarding fulfillment of specific criteria (originally defined by ECHA) relevant for the TRUE/FALSE decisions with respect to the 7 use characteristics.

Database C is a publically available database of REACH registered substances exported from the ECHA website (<https://echa.europa.eu/information-on-chemicals/registered-substances>) in December 2014 using the export function on the website. It contains (among others) the following information: The CAS number, the registration type (full registration according to article 10 of REACH or registration as isolated intermediates according to article 17 or 18), life cycle description, and a tonnage band presenting the aggregated annual tonnage for manufacture and import of all registrants of a substance.

Examples for the E-score calculation

Example 1: A registered fatty acid is used in various applications and products such as lubricants, washing and cleaning products, flame retardants, surface active agents, laboratory chemicals, intermediates for synthesis of other substances, viscosity adjustors, stabilizers, solvents, fertilizers, etc.

The different dossiers describe the releases of the uses with help of various Environmental Release Categories (ERC). By aggregating the information from the registration dossiers of the different registrants the following ERC were assigned to the uses: 1, 2, 3, 4, 5, 6a, 6b, 6d, 7, 8a, 8b, 8c, 8d, 8e, 8f, 9a, 9b, 10a, 10b, 11a. The fictive amount of substance placed on the European market is 10,000 tons per year. (The true tonnage is confidential and cannot be disclosed here.)

Applying the scoring scheme the decisions for the different use categories and the related scores are:

Use characteristic (UC)	Related decision	Information leading to decision	Score
High release to environment	TRUE	ERC 5, 8a, 8c, 8d, 8f, 10b	7
Wide dispersive use	TRUE	Number of consumer and professional uses >0; PROC 10, 11, 13, 15, 18, 19	4
Intermediate use	FALSE	Not only intermediate uses, e.g. use in washing and cleaning products	3
Closed system use	FALSE	Not all identified uses take place in closed systems, e.g. use in fertilizers	3
Professional use	TRUE	Number of professional uses >0 (see uses above)	1.5
Consumer use	TRUE	Number of consumer uses >0 (see uses above)	2
Substance in article	FALSE	No article category given	0
Total use score (ΣUC)			20.5

This result is used in the calculation of the E-score according to eq. 1:

$$\mathbf{E\text{-score}} = \log(10,000 + 1.1) * 20.5 = \mathbf{82.0}$$

Example 2: A registered organic substance is manufactured and used as intermediate. It is also used in a limited number of applications in oil refineries as pH regulator and in water treatment products.

By aggregating the information from the registration dossiers of the different registrants the following ERC were assigned to the uses: 1, 6a, 6b. The fictive amount of substance placed on the European market is 300,000 tons per year. (The true tonnage is confidential and cannot be disclosed here.)

Applying the scoring scheme the decisions for the different use categories and the related scores are:

Use characteristic (UC)	Related decision	Information leading to decision	Score
High release to environment	FALSE	None of the relevant ERC ^a is registered for this substance	3
Wide dispersive use	TRUE	PROC 15	4
Intermediate use	FALSE	Not only intermediate uses, e.g. use in water treatment products	3
Closed system use	TRUE	All identified uses take place in closed systems ^b	1
Professional use	FALSE	No professional uses	0.5
Consumer use	FALSE	No consumer uses	0.5
Substance in article	FALSE	No article category given	0
Total use score (ΣUC)			12.0

^a relevant ERC for 'high release to environment': 2, 5, 8a, 8c, 8d, 8f, 10b, 11b, 12b

^b based on the areas of application of the substance uses in (virtually) closed systems can be assumed

This result is used in the calculation of the E-score according to eq. 1:

$$\mathbf{E\text{-score}} = \log(300,000 + 1.1) * 12.0 = \mathbf{65.7}$$

The fatty acid from Example 1 is thus ranked with a higher E-score (lower rank number in Table S1 below) than the organic substance from Example 2.

Table S1. REACH registered PMOCs ranked according to their E-score.

Rank	EC number	CAS registry number	Substance name
1	207-838-8	497-19-8	sodium carbonate
2	207-439-9	471-34-1	calcium carbonate
3	216-653-1	1634-04-4	tert-butyl methyl ether
4	211-309-7	637-92-3	2-ethoxy-2-methylpropane
5	205-633-8	144-55-8	sodium hydrogencarbonate
6	213-611-4	994-05-8	2-methoxy-2-methylbutane
7	200-848-3	75-20-7	calcium acetylide
8	203-615-4	108-78-1	melamine
9	209-529-3	584-08-7	potassium carbonate
10	208-167-3	513-77-9	barium carbonate
11	205-861-8	156-62-7	calcium cyanamide
12	211-128-3	630-08-0	carbon monoxide
13	200-902-6	75-79-6	trichloro(methyl)silane
14	202-716-0	98-95-3	nitrobenzene
15	200-675-3	68-04-2	trisodium citrate
16	500-044-5	25791-96-2	Glycerol, propoxylated
17	212-344-0	793-24-8	N-1,3-dimethylbutyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine
18	212-377-0	811-97-2	norflurane
19	200-663-8	67-66-3	chloroform
20	220-552-8	2809-21-4	etidronic acid
21	200-573-9	64-02-8	tetrasodium ethylenediaminetetraacetate
22	203-812-5	110-88-3	1,3,5-trioxane
23	618-804-0	919-94-8	unknown
24	204-825-9	127-18-4	tetrachloroethylene
25	204-699-5	124-41-4	sodium methanolate
26	252-104-2	34590-94-8	(2-methoxymethylethoxy)propanol
27	202-049-5	91-20-3	naphthalene
28	202-411-2	95-33-0	N-cyclohexylbenzothiazole-2-sulfenamide
29	208-534-8	532-32-1	sodium benzoate
30	209-047-3	553-72-0	zinc dibenzoate
31	204-823-8	127-09-3	sodium acetate
32	229-146-5	6419-19-8	nitrilotrimethylenetris(phosphonic acid)
33	431-890-2	166412-78-8	unknown
34	220-666-8	2855-13-2	3-aminomethyl-3,5,5-trimethylcyclohexylamine
35	213-911-5	1066-33-7	ammonium hydrogencarbonate
36	226-109-5	5281-04-9	calcium 3-hydroxy-4-[(4-methyl-2-sulphonatophenyl)azo]-2-naphthoate
37	201-853-3	88-72-2	2-nitrotoluene
38	240-521-2	16470-24-9	tetrasodium 4,4'-bis[[4-[bis(2-hydroxyethyl)amino]-6-(4-sulphonatoanilino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino]stilbene-2,2'-disulphonate]
39	201-167-4	79-01-6	trichloroethylene
40	205-599-4	143-33-9	sodium cyanide
41	202-409-1	95-31-8	N-tert-butylbenzothiazole-2-sulphenamide
42	205-391-3	140-01-2	pentasodium (carboxylatomethyl)iminobis(ethylenenitrilo)tetraacetate
43	297-629-8	13475-82-6	Hydrocarbons, C4, 1,3-butadiene-free, polymd., triisobutylene fraction, hydrogenated
44	201-279-3	80-43-3	bis(a,a-dimethylbenzyl) peroxide
45	206-557-8	354-33-6	pentafluoroethane

46	204-424-9	120-78-5	di(benzothiazol-2-yl) disulphide
47	202-808-0	99-99-0	4-nitrotoluene
48	220-449-8	2768-02-7	trimethoxyvinylsilane
49	204-822-2	127-08-2	potassium acetate
50	203-180-0	104-15-4	toluene-4-sulphonic acid
51	204-127-4	116-15-4	hexafluoropropene
52	931-461-4	57675-44-2	Fatty acids, C16-18, even numbered and C18-unsatd. esters with Propylidynetrimethanol
53	204-289-6	118-96-7	2,4,6-trinitrotoluene
54	500-110-3	50586-59-9	Propylidynetrimethanol, ethoxylated
55	224-073-5	4193-55-9	disodium 4,4'-bis[6-anilino-[4-[bis(2-hydroxyethyl)amino]-1,3,5-triazin-2-yl]amino]stilbene-2,2'-disulphonate
56	216-032-5	1477-55-0	m-phenylenebis(methylamine)
57	202-951-9	101-54-2	N-(4-aminophenyl)aniline
58	246-466-0	24800-44-0	[(methylethylene)bis(oxy)]dipropanol
59	254-052-6	38640-62-9	bis(isopropyl)naphthalene
60	208-060-1	506-93-4	guanidinium nitrate
61	214-946-9	1222-05-5	1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethylindeno[5,6-c]pyran
62	205-592-6	143-22-6	2-(2-(2-butoxyethoxy)ethoxy)ethanol
63	202-908-4	101-02-0	triphenyl phosphite
64	243-001-3	19372-44-2	bis(pentane-2,4-dionato)calcium
65	258-207-9	52829-07-9	bis(2,2,6,6-tetramethyl-4-piperidyl) sebacate
66	209-062-5	554-13-2	lithium carbonate
67	202-095-6	91-76-9	6-phenyl-1,3,5-triazine-2,4-diyl diamine
68	248-097-0	26898-17-9	dibenzyltoluene
69	203-560-6	108-20-3	diisopropyl ether
70	223-498-3	3926-62-3	sodium chloroacetate
71	239-802-2	15708-41-5	sodium ferredetate
72	237-158-7	13674-84-5	tris(2-chloro-1-methylethyl) phosphate
73	259-910-3	55934-93-5	[(butoxymethylethoxy)methylethoxy]propan-1-ol
74	203-403-1	106-49-0	p-toluidine
75	203-614-9	108-77-0	2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine
76	201-854-9	88-73-3	1-chloro-2-nitrobenzene
77	228-768-4	6358-31-2	2-[(2-methoxy-4-nitrophenyl)azo]-N-(2-methoxyphenyl)-3-oxobutyramide
78	239-931-4	15827-60-8	[[[(phosphonomethyl)imino]bis[ethane-2,1-diyl nitrilobis(methylene)]]]tetrakisphosphonic acid
79	202-013-9	90-72-2	2,4,6-tris(dimethylaminomethyl)phenol
80	207-586-9	482-89-3	2-(1,3-dihydro-3-oxo-2H-indol-2-ylidene)-1,2-dihydro-3H-indol-3-one
81	206-059-0	298-14-6	potassium hydrogencarbonate
82	310-154-3	121158-58-5	Phenol, dodecyl-, branched
83	208-915-9	546-93-0	magnesium carbonate
84	235-476-0	12239-87-1	copper chlorophthalocyanine
85	915-673-4	211519-85-6	Reaction mass of 4,4,13,13-tetraethoxy-3,14-dioxo-8,9-dithia-4,13-disilahexadecane and 4,4,14,14-tetraethoxy-3,15-dioxo-8,9,10-trithia-4,14-disilaheptadecane and 4,4,15,15-tetraethoxy-3,16-dioxo-8,9,10,11-tetrathia-4,15-disilaoctadecane
86	215-090-9	1300-72-7	sodium xylenesulphonate
87	212-736-1	865-33-8	potassium methanolate
88	214-185-2	1111-78-0	ammonium carbamate
89	208-655-6	537-01-9	dicerium tricarbonate
90	225-625-8	4979-32-2	N,N-dicyclohexylbenzothiazole-2-sulphenamide
91	247-304-1	25869-00-5	ammonium iron(3+) hexakis(cyano-C)ferrate(4-)

92	202-969-7	101-72-4	N-isopropyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine
93	202-425-9	95-50-1	1,2-dichlorobenzene
94	202-691-6	98-67-9	4-hydroxybenzenesulphonic acid
95	217-915-8	2008-39-1	dimethylammonium 2,4-dichlorophenoxyacetate
96	223-267-7	3794-83-0	tetrasodium (1-hydroxyethylidene)bisphosphonate
97	208-580-9	533-96-0	trisodium hydrogendicarbonate
98	253-575-7	37640-57-6	1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, compound with 1,3,5-triazine-2,4,6-triamine (1:1)
99	247-045-4	25498-49-1	[2-(2-methoxymethylethoxy)methylethoxy]propanol
100	500-030-9	9051-49-4	Pentaerythritol, propoxylated
101	201-122-9	78-51-3	tris(2-butoxyethyl) phosphate
102	225-948-4	5165-97-9	sodium 2-methyl-2-[(1-oxoallyl)amino]propanesulphonate
103	200-262-8	56-23-5	carbon tetrachloride
104	240-210-1	16066-35-6	p-cumenesulphonic acid
105	203-714-2	109-87-5	dimethoxymethane
106	204-798-3	126-71-6	triisobutyl phosphate
107	203-733-6	110-05-4	di-tert-butyl peroxide
108	205-358-3	139-33-3	disodium dihydrogen ethylenediaminetetraacetate
109	255-449-7	41583-09-9	1,3,5-triazine-2,4,6-triamine phosphate
110	500-097-4	37353-75-6	4,4'-Isopropylidenediphenol, propoxylated
111	401-990-0	106990-43-6	N,N',N'',N'''-tetrakis(4,6-bis(butyl-(N-methyl-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-4-yl)amino)triazin-2-yl)-4,7-diazadecane-1,10-diamine
112	240-245-2	16090-02-1	disodium 4,4'-bis[(4-anilino-6-morpholino-1,3,5-triazin-2-yl)amino]stilbene-2,2'-disulphonate
113	204-727-6	125-12-2	exo-1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]hept-2-yl acetate
114	246-839-8	25321-41-9	xylenesulphonic acid
115	200-917-8	75-94-5	trichloro(vinyl)silane
116	267-097-1	67786-25-8	tetrasodium 4,4'-bis[[4-[bis(2-hydroxypropyl)amino]-6-[(4-sulphonatophenyl)amino]-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-stilbene-2,2'-disulphonate
117	212-755-5	866-84-2	tripotassium citrate
118	226-939-8	5567-15-7	2,2'-[(3,3'-dichloro[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl)bis(azo)]bis[N-(4-chloro-2,5-dimethoxyphenyl)-3-oxobutyramide]
119	206-996-5	420-46-2	1,1,1-trifluoroethane
120	239-407-5	15375-84-5	disodium [[N,N'-ethylenebis[N-(carboxymethyl)glycinato]](4-)-N,N',O,O',ON,ON']manganate(2-)
121	413-110-2	135861-56-2	unknown
122	401-540-3	84632-65-5	unknown
123	203-612-8	108-74-7	hexahydro-1,3,5-trimethyl-1,3,5-triazine
124	204-445-3	121-03-9	4-nitrotoluene-2-sulphonic acid
125	207-079-2	431-89-0	1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropane
126	237-865-0	14025-21-9	disodium [[N,N'-ethylenediylbis[N-(carboxylatomethyl)glycinato]](4-)-N,N',O,O',ON,ON']zincate(2-)
127	202-870-9	100-61-8	N-methylaniline
128	203-052-4	102-77-2	2-(morpholiniothio)benzothiazole
129	202-974-4	101-77-9	4,4'-methylenedianiline
130	205-840-3	155-04-4	zinc di(benzothiazol-2-yl) disulphide
131	241-164-5	17095-24-8	tetrasodium 4-amino-5-hydroxy-3,6-bis[[4-[[2-(sulphonatooxy)ethyl]sulphonyl]phenyl]azo]naphthalene-2,7-disulphonate
132	201-250-5	80-09-1	4,4'-sulphonyldiphenol
133	220-941-2	2943-75-1	triethoxyoctylsilane
134	213-561-3	980-26-7	5,12-dihydro-2,9-dimethylquino[2,3-b]acridine-7,14-dione
135	421-880-6	201792-73-6	unknown

136	237-081-9	13601-19-9	tetrasodium hexacyanoferrate
137	405-040-6	63500-71-0	A mixture of: cis-tetrahydro-2-isobutyl-4-methylpyran-4-ol; trans-tetrahydro-2-isobutyl-4-methylpyran-4-ol
138	270-877-4	68479-98-1	diethylmethylbenzenediamine
139	405-820-6	30025-38-8	unknown
140	205-792-3	151-50-8	potassium cyanide
141	203-404-7	106-50-3	p-phenylenediamine
142	208-046-5	506-59-2	dimethylammonium chloride
143	204-809-1	126-86-3	2,4,7,9-tetramethyldec-5-yne-4,7-diol
144	203-149-1	103-83-3	benzyl dimethylamine
145	208-909-6	546-68-9	titanium tetraisopropanolate
146	202-640-8	98-13-5	trichloro(phenyl)silane
147	204-814-9	126-96-5	sodium hydrogen di(acetate)
148	416-600-4	77703-56-1	unknown
149	208-883-6	544-92-3	copper cyanide
150	248-421-0	27344-41-8	disodium 2,2'-([1,1'-biphenyl]-4,4'-diyldivinylene)bis(benzenesulphonate)
151	205-736-8	149-30-4	benzothiazole-2-thiol
152	211-661-1	682-09-7	2,2-bis(allyloxymethyl)butan-1-ol
153	230-303-5	7023-61-2	calcium 4-[(5-chloro-4-methyl-2-sulphonatophenyl)azo]-3-hydroxy-2-naphthoate
154	208-590-3	534-16-7	silver carbonate
155	274-581-6	70356-09-1	1-[4-(1,1-dimethylethyl)phenyl]-3-(4-methoxyphenyl)propane-1,3-dione
156	273-468-9	68971-49-3	hexasodium 2,2'-[vinylenebis[(3-sulphonato-4,1-phenylene)imino[6-bis(2-hydroxyethyl)amino]-1,3,5-triazine-4,2-diy]]imino]]bis(benzene-1,4-disulphonate)
157	201-084-3	78-11-5	pentaerithrityl tetranitrate
158	287-370-9	85480-89-3	[ethylenebis[nitrolobis(methylene)]]tetrakisphosphonic acid, calcium sodium salt
159	204-482-5	121-57-3	sulphanilic acid
160	205-999-9	280-57-9	1,4-diazabicyclooctane
161	415-430-8	86403-32-9	A mixture of: 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-4-yl-hexadecanoate; 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-4-yl-octadecanoate
162	208-058-0	506-87-6	diammonium carbonate
163	205-381-9	139-89-9	trisodium 2-(carboxylatomethyl(2-hydroxyethyl)amino)ethyliminodi(acetate)
164	248-597-9	27676-62-6	1,3,5-tris(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzyl)-1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione
165	208-169-4	513-79-1	cobalt carbonate
166	246-376-1	24634-61-5	potassium (E,E)-hexa-2,4-dienoate
167	237-864-5	14025-15-1	disodium [[N,N'-ethylenebis[N-(carboxymethyl)glycinato]](4-)-N,N',O,O',ON,ON']cuprate(2-)
168	218-679-9	2215-35-2	zinc O,O',O',O'-tetrakis(1,3-dimethylbutyl) bis(phosphorodithioate)
169	212-751-3	866-81-9	tricobalt dicitrate
170	227-873-2	6018-92-4	trinickel dicitrate
171	245-119-0	22605-92-1	citric acid, nickel salt
172	216-133-4	1506-02-1	1-(5,6,7,8-tetrahydro-3,5,5,6,8,8-hexamethyl-2-naphthyl)ethan-1-one
173	209-143-5	556-88-7	1-nitroguanidine
174	229-194-7	6425-39-4	2,2'-dimorpholinyl diethyl ether
175	270-232-7	68413-60-5	diammonium [[N,N'-ethylenebis[N-(carboxymethyl)glycinato]](4-)-N,N',O,O',ON,ON']hydroxyferrate(2-)
176	201-132-3	78-67-1	2,2'-dimethyl-2,2'-azodipropionitrile
177	468-710-7	754-12-1	unknown
178	209-813-7	593-85-1	diguandinium carbonate

179	204-661-8	123-91-1	1,4-dioxane
180	700-903-6	255830-15-0	pentapotassium (((hydroxyphosphinato)methyl](phosphonomethyl)nitro)yl)methyl)phosphonate
181	212-762-3	867-56-1	sodium (S)-lactate
182	213-668-5	999-97-3	1,1,1,3,3,3-hexamethyldisilazane
183	214-263-6	1118-46-3	n-butyltin trichloride
184	202-638-7	98-11-3	benzenesulphonic acid
185	204-072-6	115-21-9	trichloro(ethyl)silane
186	212-741-9	865-48-5	sodium 2-methylpropan-2-olate
187	200-652-8	67-43-6	N-carboxymethyliminobis(ethylenenitrilo)tetra(acetic acid)
188	700-071-4	932742-30-8	3-((5-(3-(Dodecanoyloxy)-2,2-dimethylpropylideneamino)-1,3,3-trimethylcyclohexyl)methylimino)-2,2-dimethylpropyl dodecanoate
189	603-923-2	135590-91-9	unknown
190	243-136-8	19529-38-5	disodium [N,N-bis[2-[bis(carboxymethyl)amino]ethyl]glycinato(5-)]ferrate(2-)
191	605-717-8	174333-80-3	unknown
192	274-798-6	70714-66-8	[[[(phosphonomethyl)imino]bis[ethylenenitro]bis(methylene)]]tetrakisphosphonic acid, ammonium salt
193	201-247-9	80-07-9	bis(4-chlorophenyl) sulphone
194	604-250-7	141773-73-1	unknown
195	251-020-3	32388-55-9	[3R-(3a,3a β ,7 β ,8aa)]-1-(2,3,4,7,8,8a-hexahydro-3,6,8,8-tetramethyl-1H-3a,7-methanoazulen-5-yl)ethan-1-one
196	253-256-2	36888-99-0	5,5'-(1H-isoindole-1,3(2H)-diylidene)dibarbituric acid
197	203-652-6	109-16-0	2,2'-ethylenedioxydiethyl dimethacrylate
198	424-140-0	2388-10-5	unknown
199	200-076-7	51-03-6	2-(2-butoxyethoxy)ethyl 6-propylpiperonyl ether
200	228-973-9	6381-77-7	2,3-didehydro-3-O-sodio-D-erythro-hexono-1,4-lactone
201	202-829-5	100-20-9	terephthaloyl dichloride
202	204-771-6	126-13-6	sucrose di(acetate) hexaisobutyrate
203	212-974-6	894-86-0	disodium [2,2'-bi-1H-indole]-3,3'-diolate
204	211-162-9	631-61-8	ammonium acetate
205	204-886-1	128-44-9	1,2-benzisothiazol-3(2H)-one 1,1-dioxide, sodium salt
206	222-823-6	3622-84-2	N-butylbenzenesulphonamide
207	242-262-0	18379-25-4	trichloro(2,4,4-trimethylpentyl)silane
208	406-750-9	129757-67-1	A mixture of: bis(2,2,6,6-tetramethyl-1-octyloxypiperidin-4-yl)-1,10-decanedioate; 1,8-bis[(2,2,6,6-tetramethyl-4-((2,2,6,6-tetramethyl-1-octyloxypiperidin-4-yl)-decan-1,10-dioyl)piperidin-1-yl)oxy]octane
209	244-742-5	22036-77-7	[ethylenebis[nitro]bis(methylene)]]tetrakisphosphonic acid, sodium salt
210	240-106-6	15968-01-1	disodium phthalate
211	609-336-8	371756-75-1	unknown
212	253-057-0	36483-57-5	2,2-dimethylpropan-1-ol, tribromo derivative
213	202-936-7	101-37-1	2,4,6-triallyloxy-1,3,5-triazine
214	200-755-8	71-48-7	cobalt di(acetate)
215	222-182-2	3380-34-5	triclosan
216	248-420-5	27344-06-5	disodium 4,4'-bis[[4-anilino-6-[(2-carbamoyl)ethyl](2-hydroxyethyl)amino]-1,3,5,-triazin-2-yl]amino]stilbene-2,2'-disulphonate
217	279-791-1	81646-13-1	docosyltrimethylammonium methyl sulphate
218	200-929-3	76-05-1	trifluoroacetic acid
219	249-854-8	29797-40-8	dichloromethylbenzene
220	500-047-1	26316-40-5	Ethylenediamine, ethoxylated and propoxylated
221	255-217-5	41098-56-0	hexasodium 2,2'-[vinylenebis[(3-sulphonato-4,1-phenylene)imino[6-(diethylamino)-1,3,5-triazine-4,2-diyl]imino]]bis(benzene-1,4-disulphonate)

222	208-015-6	505-65-7	1,3-dioxepane
223	219-676-5	2495-39-8	sodium prop-2-enesulphonate
224	203-794-9	110-71-4	1,2-dimethoxyethane
225	262-679-1	61260-55-7	N,N'-bis(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-4-yl)hexane-1,6-diamine
226	203-047-7	102-69-2	tripropylamine
227	404-360-3	119313-12-1	2-benzyl-2-dimethylamino-4'-morpholinobutyrophenone
228	258-004-5	52556-42-0	sodium 3-(allyloxy)-2-hydroxypropanesulphonate
229	239-879-2	15782-05-5	strontium 4-[(5-chloro-4-methyl-2-sulphonatophenyl)azo]-3-hydroxy-2-naphthoate (1:1)
230	221-201-1	3030-47-5	bis(2-dimethylaminoethyl)(methyl)amine
231	275-031-8	70942-01-7	potassium sodium 4,4'-bis[6-anilino-4-[bis(2-hydroxyethyl)amino]-1,3,5-triazin-2-yl]amino]stilbene-2,2'-disulphonate
232	231-391-8	7529-22-8	!4-methylmorpholine 4-oxide! !monohydrate!
233	235-627-0	12389-75-2	sodium hydrogen [N,N-bis[2-[bis(carboxymethyl)amino]ethyl]glycinato(5-)]ferrate(2-)
234	239-557-1	15520-11-3	bis(4-tert-butylcyclohexyl) peroxydicarbonate
235	200-529-9	62-33-9	sodium calcium edetate
236	221-220-5	3033-62-3	N,N,N',N'-tetramethyl-2,2'-oxybis(ethylamine)
237	202-088-8	91-66-7	N,N-diethylaniline
238	207-330-6	462-95-3	diethoxymethane
239	605-104-5	157577-99-6	Disodium 4-amino-3-[[4-[[{4-[(2,4-diaminophenyl)diazanyl]phenyl)sulfonyl]amino]phenyl]diazanyl]-5-hydroxy-6-[phenyldiazanyl]naphthalene-2,7-disulfonate
240	289-064-0	85959-68-8	diammonium [N,N-bis[2-[bis(carboxymethyl)amino]ethyl]glycinato(5-)]ferrate(2-)
241	204-853-1	127-63-9	diphenyl sulphone
242	235-462-4	12236-62-3	2-[(4-chloro-2-nitrophenyl)azo]-N-(2,3-dihydro-2-oxo-1H-benzimidazol-5-yl)-3-oxobutyramide
243	218-491-7	2163-00-0	1,6-dichlorohexane
244	402-020-9	106404-06-2	unknown
245	204-694-8	124-28-7	dimantine
246	203-818-8	110-95-2	N,N,N',N'-tetramethyltrimethylenediamine
247	485-320-2	221667-31-8	unknown
248	213-999-5	1071-93-8	adipohydrazide
249	213-635-5	996-35-0	N,N-dimethylisopropylamine
250	436-710-6	756-13-8	unknown
251	403-240-8	106264-79-3	A mixture of: 3,5-dimethylthio-2,4-toluenediamine; 3,5-dimethylthio-2,6-toluenediamine
252	225-967-8	5187-23-5	5-ethyl-1,3-dioxane-5-methanol
253	203-640-0	109-02-4	4-methylmorpholine
254	204-278-6	118-79-6	2,4,6-tribromophenol
255	200-772-0	72-17-3	sodium lactate
256	252-813-7	35948-25-5	6H-dibenz[c,e][1,2]oxaphosphorin 6-oxide
257	239-268-0	15214-89-8	2-acrylamido-2-methylpropanesulphonic acid
258	249-277-1	28874-51-3	sodium 5-oxo-L-prolinate
259	260-124-8	56358-09-9	N-(2-ethylhexyl)-1-[[2-methyl-4-[(2-methylphenyl)azo]phenyl]azo]naphthalen-1-amine
260	205-286-2	137-26-8	thiram
261	200-240-8	55-63-0	glycerol trinitrate
262	619-811-1	287930-71-6	5-{5-chloro-3-[4-(methylsulfonyl)phenyl]pyridin-2-yl}-2-methylpyridinium 4-methylbenzenesulfonate
263	221-255-6	3047-33-4	1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, trisodium salt
264	205-489-6	141-57-1	trichloro(propyl)silane

265	258-132-1	52722-86-8	4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-ethanol
266	210-431-8	615-50-9	2-methyl-p-phenylenediamine sulfate
267	213-834-7	1025-15-6	1,3,5-triallyl-1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione
268	221-374-3	3081-01-4	N-(1,4-dimethylpentyl)-N'-phenylbenzene-1,4-diamine
269	202-196-5	92-84-2	phenothiazine
270	200-198-0	54-21-7	sodium salicylate
271	205-594-7	143-24-8	bis(2-(2-methoxyethoxy)ethyl) ether
272	213-879-2	1047-16-1	5,12-dihydroquino[2,3-b]acridine-7,14-dione
273	201-344-6	81-33-4	perylene-3,4:9,10-tetracarboxydiimide
274	432-520-2	232938-43-1	unknown
275	204-857-3	127-68-4	sodium 3-nitrobenzenesulphonate
276	202-918-9	101-14-4	4,4'-methylenebis[2-chloroaniline]
277	259-715-3	55589-62-3	6-methyl-1,2,3-oxathiazin-4(3H)-one 2,2-dioxide, potassium salt
278	230-392-0	7087-68-5	ethyl-diisopropylamine
279	242-053-4	18169-57-8	trichloroisobutylsilane
280	221-242-5	3039-83-6	sodium ethylenesulphonate
281	223-810-8	4083-64-1	p-toluenesulphonyl isocyanate
282	271-176-6	68516-73-4	tetramethyl 2,2'-[1,4-phenylenebis(imino(1-acetyl-2-oxoethane-1,2-diyl)azo)]bisterephthalate
283	216-940-1	1704-62-7	2-[2-(dimethylamino)ethoxy]ethanol
284	217-533-1	1879-09-0	6-tert-butyl-2,4-xylenol
285	211-334-3	638-38-0	manganese di(acetate)
286	218-760-9	2226-96-2	4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidinoxyl
287	302-434-9	94108-97-1	2-[[[2,2-bis[[[1-oxoallyl]oxy]methyl]butoxy]methyl]-2-ethyl-1,3-propanediyl diacrylate
288	260-252-4	56539-66-3	3-methoxy-3-methylbutan-1-ol
289	422-980-2	187026-95-5	potassium,sodium 2,4-diamino-3-[4-(2-sulfonatoethoxysulfonyl)phenylazo]-5-[4-(2-sulfonatoethoxysulfonyl)-2-sulfonatophenylazo]-benzenesulfonate
290	206-354-4	330-54-1	diuron
291	250-830-4	31837-42-0	2-[[[1-[[[2,3-dihydro-2-oxo-1H-benzimidazol-5-yl]amino]carbonyl]-2-oxopropyl]azo]benzoic acid
292	690-526-2	38632-47-2	unknown
293	619-874-5	42355-78-2	unknown
294	405-800-7	27955-94-8	4,4',4''-(ethan-1,1,1-triyl)triphenol
295	425-180-1	66170-10-3	unknown
296	209-599-5	587-26-8	dilanthanum tricarbonate
297	401-310-2	93912-64-2	unknown
298	403-360-0	42405-40-3	bis(3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-2-hydroxybenzoato-O1,O2)zinc
299	423-340-5	162881-26-7	phenyl bis(2,4,6-trimethylbenzoyl)-phosphine oxide
300	205-553-3	142-71-2	copper di(acetate)
301	205-117-2	133-66-4	disodium 4,4'-bis[(4,6-dianilino-1,3,5-triazin-2-yl)amino]stilbene-2,2'-disulphonate
302	201-286-1	80-51-3	4,4'-oxydi(benzenesulphonohydrazide)
303	277-242-0	73037-34-0	disodium oxybis[methylbenzenesulphonate]
304	245-629-3	23386-52-9	sodium 1,4-dicyclohexyl sulphonatosuccinate
305	217-568-2	1889-67-4	1,1'-(1,1,2,2-tetramethylethylene)dibenzene
306	242-670-9	18917-91-4	aluminium trilactate
307	430-550-0	1671-49-4	unknown
308	240-178-9	16039-53-5	zinc dilactate
309	252-173-9	34730-59-1	sodium 2-[(2-aminoethyl)amino]ethanesulphonate
310	262-872-0	61617-00-3	1,3-dihydro-4(or 5)-methyl-2H-benzimidazole-2-thione, zinc salt

311	222-429-4	3468-63-1	1-[(2,4-dinitrophenyl)azo]-2-naphthol
312	203-584-7	108-45-2	m-phenylenediamine
313	200-300-3	56-93-9	benzyltrimethylammonium chloride
314	402-400-4	54660-00-3	unknown
315	211-670-0	683-18-1	dibutyltin dichloride
316	235-166-5	12108-13-3	tricarbonyl(methylcyclopentadienyl)manganese
317	401-280-0	91273-04-0	1-(N,N-bis(2-ethylhexyl)aminomethyl)-1,2,4-triazole
318	209-090-8	555-31-7	aluminium triisopropanolate
319	218-871-2	2269-22-9	aluminium tri-sec-butanolate
320	226-551-9	5423-22-3	guanidinium phosphate (1:1)
321	212-740-3	865-47-4	potassium tert-butanolate
322	205-746-2	149-74-6	dichloro(methyl)(phenyl)silane
323	617-546-6	84170-74-1	unknown
324	201-248-4	80-08-0	dapsone
325	239-716-5	15647-08-2	2-ethylhexyl diphenyl phosphite
326	500-201-8	68213-23-0	Alcohols, C12-18, ethoxylated
327	268-734-6	68134-22-5	N-(2,3-dihydro-2-oxo-1H-benzimidazol-5-yl)-3-oxo-2-[[2-(trifluoromethyl)phenyl]azo]butyramide
328	403-410-1	114565-65-0	A mixture of: N,N-diethylpropane-1,3-diamine 6-methyl-2-(4-(2,4,6-triaminopyrimidin-5-ylazo)phenyl)benzothiazole-7-sulfonate; 2,2-iminodiethanol 6-methyl-2-(4-(2,4,6-triaminopyrimidin-5-ylazo)phenyl)benzothiazole-7-sulfonate; 2-methylaminoethanol 6-methyl-2-(4-(2,4,6-triaminopyrimidin-5-ylazo)phenyl)benzothiazole-7-sulfonate
329	277-552-6	73612-29-0	strontium 3-hydroxy-4-[(4-methyl-2-sulphonatophenyl)azo]-2-naphthoate
330	278-388-8	76199-85-4	2-cyano-2-[2,3-dihydro-3-(tetrahydro-2,4,6-trioxo-5(2H)-pyrimidinylidene)-1H-isoindol-1-ylidene]-N-methylacetamide
331	254-414-3	39322-78-6	Phosphoric acid, dodecyl ester, potassium salt
332	216-341-5	1561-92-8	sodium 2-methylprop-2-ene-1-sulphonate
333	248-502-0	27503-81-7	2-phenyl-1H-benzimidazole-5-sulphonic acid
334	203-731-5	110-03-2	2,5-dimethylhexane-2,5-diol
335	268-144-9	68015-77-0	dipotassium [[N,N'-ethylenebis[N-(carboxymethyl)glycinato]](4-)-N,N',O,O',ON,ON']manganate(2-)
336	244-063-4	20824-56-0	diammonium dihydrogen ethylenediaminetetraacetate
337	231-494-8	7585-41-3	barium 4-[(5-chloro-4-methyl-2-sulphonatophenyl)azo]-3-hydroxy-2-naphthoate
338	204-269-7	118-69-4	2,6-dichlorotoluene
339	224-867-1	4531-49-1	2,2'-[(3,3'-dichloro[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl)bis(azo)]bis[N-(2-methoxyphenyl)-3-oxobutyramide]
340	236-740-8	13472-08-7	2,2'-azobis[2-methylbutyronitrile]
341	269-358-5	68227-46-3	lactic acid, compound with 3-[2-(dimethylamino)ethyl] 1-(2-ethylhexyl) toluene-2,4-dicarbamate (1:1)
342	213-537-2	971-15-3	bis(piperidinothiocarbonyl) hexasulphide
343	266-380-7	66492-51-1	(5-ethyl-1,3-dioxan-5-yl)methyl acrylate
344	629-767-5	1228186-18-2	unknown
345	263-212-4	61792-09-4	pentasodium pentahydrogen [[[phosphonomethyl]imino]bis[ethane-2,1-diyl]nitrilobis(methylene)]]tetrakisphosphonate
346	202-605-7	97-74-5	tetramethylthiuram monosulphide
347	249-958-3	29923-31-7	sodium hydrogen N-(1-oxododecyl)-L-glutamate
348	222-389-8	3457-61-2	tert-butyl a,a-dimethylbenzyl peroxide
349	407-430-1	3741-80-8	N-(1,1-dimethylethyl)bis(2-benzothiazolesulfen)amide
350	200-002-3	50-01-1	guanidinium chloride
351	203-924-4	111-96-6	bis(2-methoxyethyl) ether
352	214-703-7	1187-93-5	trifluoro(trifluoromethoxy)ethylene

353	205-554-9	142-72-3	magnesium di(acetate)
354	202-681-1	98-56-6	4-chloro-a,a,a-trifluorotoluene
355	238-953-1	14882-18-9	bismuth oxide salicylate
356	201-861-7	88-85-7	dinoseb
357	220-260-0	2691-41-0	octahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocine
358	278-770-4	77804-81-0	2,2'-[ethylenebis(oxyphenyl-2,1-eneazo)]bis[N-(2,3-dihydro-2-oxo-1H-benzimidazol-5-yl)-3-oxobutyramide]
359	267-886-0	67952-33-4	orthoboric acid, compound with 2,2'-iminodiethanol
360	266-442-3	66669-53-2	tetrasodium hydrogen 2-phosphonatobutane-1,2,4-tricarboxylate
361	422-600-5	73936-91-1	unknown
362	423-500-4	138401-24-8	4'-((2-butyl-4-oxo-1,3-diazaspiro[4.4]non-1-ene-3-yl)methyl)(1,1'-biphenyl)-2-carbonitrile
363	429-160-3	178671-58-4	unknown
364	257-036-7	51181-50-1	sodium [N-[2-[bis(carboxymethyl)amino]ethyl]-N-(2-hydroxyethyl)glycinato(4-)]ferrate(1-)
365	254-274-3	39072-70-3	N,N"-hexane-1,6-diybis[N'-benzylurea]
366	236-476-3	13393-93-6	tetradecahydro-7-isopropyl-1,4a-dimethylphenanthren-1-methanol
367	229-355-1	6486-23-3	2-[(4-chloro-2-nitrophenyl)azo]-N-(2-chlorophenyl)-3-oxobutyramide
368	257-182-1	51410-72-1	(3-methacrylamidopropyl)trimethylammonium chloride
369	202-486-1	96-18-4	1,2,3-trichloropropane
370	213-926-7	1067-25-0	trimethoxypropylsilane
371	219-909-0	2568-90-3	1,1'-[methylenebis(oxy)]dibutane
372	223-460-6	3905-19-9	N,N'-phenylene-1,4-bis[4-[(2,5-dichlorophenyl)azo]-3-hydroxynaphthalene-2-carboxamide]
373	265-634-4	65212-77-3	calcium 4,5-dichloro-2-[[4,5-dihydro-3-methyl-5-oxo-1-(3-sulphonatophenyl)-1H-pyrazol-4-yl]azo]benzenesulphonate
374	700-327-5	1061328-86-6	Sodium [N-(2-[[hydroxy- ζ O]acetyl][2-(hydroxy- ζ O)benzyl]amino- ζ N)ethyl)-N-[2-(hydroxy- ζ O)benzyl]glycinato(4-)- ζ 2N,O]ferrate(1-)
375	258-981-8	54112-23-1	N,N'-(methylenedi-p-phenylene)bis[hexahydro-2-oxo-1H-azepine-1-carboxamide]
376	429-070-4	214362-06-8	unknown
377	222-079-2	3338-24-7	sodium O,O-diethyl dithiophosphate
378	252-156-6	34690-00-1	[[[(phosphonomethyl)imino]bis[hexamethylenenitrilobis(methylene)]]]tetrakis phosphonic acid
379	413-610-0	124172-53-8	N,N'-1,6-hexanediybis(N-(2,2,6,6-tetramethyl-piperidin-4-yl)formamide
380	217-461-0	1860-26-0	2-ethyl-N,N-bis(2-ethylhexyl)hexylamine
381	248-953-3	28305-25-1	calcium (S)-2-hydroxypropionate
382	202-507-4	96-47-9	tetrahydro-2-methylfuran
383	442-070-9	329039-38-5	unknown
384	939-429-1	16409-43-1	Reaction mass of (2S-cis)-tetrahydro-4-methyl-2-(2-methyl-1-propenyl)-2H-pyran and Tetrahydro-4-methyl-2-(2-methylpropen-1-yl)pyran (2R,4R) and Tetrahydro-4-methyl-2-(2-methylpropen-1-yl)pyran (2S,4S) and (2R-cis)-tetrahydro-4-methyl-2-(2-methyl-1-propenyl)-2H-pyran
385	402-480-0	111850-26-1	unknown
386	278-355-8	75980-60-8	diphenyl(2,4,6-trimethylbenzoyl)phosphine oxide
387	406-080-7	83016-70-0	2-[(2-[2-(dimethylamino)ethoxy]ethyl)methylamino]ethanol
388	434-070-2	268567-32-4	unknown
389	203-989-9	112-60-7	3,6,9-trioxaundecane-1,11-diol
390	281-161-6	83877-91-2	bis(ethyl acetoacetato-O1',O3)bis(2-methylpropan-1-olato)titanium
391	470-720-1	189253-72-3	unknown
392	240-914-9	16881-77-9	dimethoxymethylsilane
393	200-913-6	75-89-8	2,2,2-trifluoroethanol
394	223-362-3	3855-32-1	N-[3-(dimethylamino)propyl]-N,N',N'-trimethylpropane-1,3-diamine

395	220-877-5	2923-16-2	potassium trifluoroacetate
396	610-848-9	52479-58-0	unknown
397	224-207-2	4246-51-9	3,3'-oxybis(ethyleneoxy)bis(propylamine)
398	413-550-5	142068-96-0	octasodium 2-(8-(4-chloro-6-(3-((4-chloro-6-(3,6-disulfonato-2-(1,5-disulfonatonaphthalen-2-ylazo)-1-hydroxynaphthalen-8-ylamino)-1,3,5-triazin-2-yl)aminomethyl)phenylamino)-1,3,5-triazin-2-ylamino)-3,6-disulfonato-1-hydroxynaphthalen-2-ylazo)naphthalene-1,5-disulfonate
399	206-841-1	382-28-5	2,2,3,3,5,5,6,6-octafluoro-4-(trifluoromethyl)morpholine
400	500-022-5	9014-85-1	2,4,7,9-Tetramethyldec-5-yne-4,7-diol, ethoxylated
401	203-118-2	103-50-4	dibenzyl ether
402	614-977-1	69477-29-8	unknown
403	204-001-9	112-73-2	bis(2-butoxyethyl) ether
404	203-509-8	107-66-4	dibutyl hydrogen phosphate
405	213-180-2	928-70-1	potassium isopentyl dithiocarbonate
406	277-823-9	74336-59-7	3-[(4-chloro-2-nitrophenyl)azo]-2-methylpyrazolo[5,1-b]quinazolin-9(1H)-one
407	218-561-7	2182-55-0	(vinyloxy)cyclohexane
408	201-983-0	90-30-2	N-1-naphthylaniline
409	221-424-4	3089-17-6	2,9-dichloro-5,12-dihydroquino[2,3-b]acridine-7,14-dione
410	229-542-8	6600-31-3	3,9-dicyclohex-3-enyl-2,4,8,10-tetraoxaspiro[5.5]undecane
411	403-080-9	92484-48-5	sodium 3-(2H-benzotriazol-2-yl)-5-sec-butyl-4-hydroxybenzenesulfonate
412	408-210-8	124605-82-9	tetra-sodium/lithium 4,4'-bis-(8-amino-3,6-disulfonato-1-naphthol-2-ylazo)-3-methylazobenzene
413	264-261-4	63469-23-8	1,1'-[[3-(dimethylamino)propyl]imino]bispropan-2-ol
414	265-633-9	65212-76-2	disodium 4,5-dichloro-2-[[4,5-dihydro-3-methyl-5-oxo-1-(3-sulphonatophenyl)-1H-pyrazol-4-yl]azo]benzenesulphonate
415	400-660-3	111687-36-6	ammonium iron(III) trimethylenediaminetetraacetate hemihydrate
416	227-369-2	5809-08-5	1,1,3,3-tetramethylbutyl hydroperoxide
417	231-388-1	7526-26-3	diphenyl methylphosphonate
418	278-145-6	75234-41-2	trisodium bis[[2-[[2,4-dihydroxy-3-[(2-methyl-4-sulphophenyl)azo]phenyl]azo]benzoato(3-)]chromate(3-)
419	245-910-0	23847-08-7	1,1'-dithiobis[hexahydro-2H-azepin-2-one]
420	223-829-1	4090-51-1	2,2'-oxybis[5,5-dimethyl-1,3,2-dioxaphosphorinane] 2,2'-disulphide
421	235-468-7	12237-62-6	ferrate(4-), hexakis(cyano-C)-, methylated 4-[(4-aminophenyl)(4-imino-2,5-cyclohexadien-1-ylidene)methyl]benzenamine copper(2+) salts
422	212-390-1	813-93-4	bismuth citrate
423	226-970-7	5580-57-4	3,3'-[[2-chloro-5-methyl-p-phenylene]bis[imino(1-acetyl-2-oxoethylene)azo]]bis[4-chloro-N-(3-chloro-o-tolyl)benzamide]
424	204-274-4	118-75-2	tetrachloro-p-benzoquinone
425	206-761-7	373-02-4	nickel di(acetate)
426	223-989-2	4156-21-2	sodium p-[(4,6-dichloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino]benzenesulphonate
427	202-577-6	97-39-2	1,3-di-o-tolylguanidine
428	223-772-2	4065-45-6	sulisobenzene
429	216-087-5	1493-13-6	trifluoromethanesulphonic acid
430	423-630-1	62435-71-6	unknown
431	425-320-1	690-39-1	unknown
432	241-883-4	17958-73-5	disodium 4,4'-bis[[4-anilino-6-[(2-hydroxyethyl)amino]-1,3,5-triazin-2-yl]amino]stilbene-2,2'-disulphonate
433	267-400-7	67859-51-2	diammonium [[N,N'-ethylenebis[N-(carboxylatomethyl)glycinato]](4-)-N,N',O,O',ON,ON']zincate(2-)
434	479-880-7	97042-18-7	unknown
435	249-125-4	28654-73-1	[N,N,N',N',N'',N''-hexaethyl-29H,31H-phthalocyaninetrimethylamino(2-)-N29,N30,N31,N32]copper
436	484-460-1	37859-55-5	unknown

437	416-430-0	24279-39-8	2,6-dichloro-4-trifluoromethylaniline
438	227-101-4	5655-61-8	L-born-2-yl acetate
439	230-907-9	7365-45-9	4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-ylethanesulphonic acid
440	248-122-5	26942-95-0	1,2,3-propanetriyl triisooctadecanoate
441	202-767-9	99-57-0	2-amino-4-nitrophenol
442	251-908-0	34274-28-7	[nitrilotris(methylene)]trisphosphonic acid, ammonium salt
443	249-820-2	29736-75-2	2,5,7,10,11,14-hexaoxa-1,6-distibabicyclo[4.4.4]tetradecane
444	281-897-8	84057-80-7	zirconium propionate
445	266-587-2	67151-63-7	1-[bis[3-(dimethylamino)propyl]amino]propan-2-ol
446	228-845-2	6362-79-4	sodium hydrogen-5-sulphoisophthalate
447	256-181-3	45021-77-0	trimethyl-3-[(1-oxoallyl)amino]propylammonium chloride
448	417-220-1	37441-29-5	5-amino-2,4,6-triiodo-1,3-benzenedicarbonyldichloride
449	251-459-0	33329-35-0	N,N-bis[3-(dimethylamino)propyl]-N',N'-dimethylpropane-1,3-diamine
450	457-330-7	66034-17-1	unknown
451	258-061-6	52636-67-6	morpholinium sulphamate
452	212-634-7	834-12-8	ametryn
453	210-734-5	622-40-2	2-morpholinoethanol
454	234-042-8	10508-09-5	di-tert-pentyl peroxide
455	214-787-5	1194-65-6	dichlobenil
456	273-688-5	69011-06-9	[phthalato(2-)]dioxotrilead
457	253-211-7	36788-39-3	7-[2-(2-hydroxymethylethoxy)methylethoxy]tetramethyl-3,6,8,11-tetraoxa-7-phosphatridecane-1,13-diol
458	221-254-0	3047-32-3	3-ethyloxetane-3-methanol
459	292-011-4	90529-77-4	1,2,3-Propanetriol, glycidyl ethers
460	206-466-3	345-92-6	bis(4-fluorophenyl) ketone
461	202-607-8	97-77-8	disulfiram
462	244-599-9	21829-50-5	tris[(2-hydroxyethyl)ammonium] citrate
463	230-279-6	7005-47-2	2-(dimethylamino)-2-methylpropan-1-ol
464	268-018-3	67989-88-2	diammonium [[N,N'-ethylenebis[N-(carboxymethyl)glycinato]](4-)-N,N',O,O',ON,ON']cuprate(2-)
465	220-562-2	2814-77-9	1-[(2-chloro-4-nitrophenyl)azo]-2-naphthol
466	201-645-2	85-98-3	1,3-diethyldiphenylurea
467	203-810-4	110-87-2	3,4-dihydro-2H-pyran
468	204-473-6	121-47-1	3-aminobenzenesulphonic acid
469	412-720-6	156653-67-7	unknown
470	204-493-5	121-69-7	N,N-dimethylaniline
471	246-910-3	25376-45-8	diaminotoluene
472	279-356-6	79953-85-8	3,3'-[(2-chloro-5-methyl-p-phenylene)bis[imino(1-acetyl-2-oxoethylene)azo]]bis[4-chloro-N-[2-(4-chlorophenoxy)-5-(trifluoromethyl)phenyl]benzamide]
473	222-619-7	3558-60-9	(2-methoxyethyl)benzene
474	265-807-4	65520-46-9	bis[2-[2-(2-butoxyethoxy)ethoxy]ethyl] adipate
475	404-600-7	129009-88-7	disodium 6-(4,6-dichloro-1,3,5-triazin-2-ylamino)-1-hydroxy-2-(4-(2-(sulfonatoxy)ethylsulfonyl)phenylazo)naphthalene-3-sulfonate
476	265-512-0	65140-91-2	calcium diethyl bis[[[3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxyphenyl]methyl]phosphonate]
477	688-489-2	1024700-50-2	3-(methacryloylamino)-N,N-dimethylpropan-1-aminium 4-(C10-13-sec-alkyl)benzenesulfonate
478	217-886-1	1999-85-5	a,a,a',a'-tetramethyl-m-xylene-a,a'-diol
479	248-256-4	27138-01-8	a,a,a',a'-tetramethylxylene-a,a'-diol
480	208-901-2	546-46-3	trizinc dicitrate

481	219-949-9	2580-78-1	2-(3-(4-amino-9,10-dihydro-3-sulpho-9,10-dioxoanthracen-4-yl)aminobenzenesulphonyl)vinyl) disodium sulphate
482	221-338-7	3069-40-7	trimethoxyoctylsilane
483	203-963-7	112-36-7	bis(2-ethoxyethyl) ether
484	288-003-5	85631-54-5	2-Propenoic acid, ζ - ζ -perfluoro-C8-14-alkyl esters
485	202-774-7	99-63-8	isophthaloyl dichloride
486	202-924-1	101-20-2	triclocarban
487	445-830-8	31127-80-7	5-acetylamino-N,N'-bis(2,3-dihydroxypropyl)-2,4,6-triiodo-1,3-benzenecarboxamide
488	203-960-0	112-33-4	2-[2-(3-aminopropoxy)ethoxy]ethanol
489	229-208-1	6428-31-5	disodium 4-amino-3,6-bis[[4-[(2,4-diaminophenyl)azo]phenyl]azo]-5-hydroxynaphthalene-2,7-disulphonate
490	203-650-5	109-13-7	tert-butyl peroxyisobutyrate
491	238-372-3	14402-88-1	disodium [[N,N'-ethylenebis[N-(carboxymethyl)glycinato]](4)-N,N',O,O',ON,ON']magnesate(2-)
492	413-370-7	17351-75-6	1,4-bis[(vinylloxy)methyl]cyclohexane
493	269-348-0	68227-33-8	2,5,8,11-tetramethyldodec-6-yne-5,8-diol
494	696-577-7	34335-10-9	Phosphonic acid, P-phenyl-, zinc salt
495	234-204-8	10595-49-0	methyl trimethyl-3-[(1-oxododecyl)amino]propylammonium sulphate
496	203-842-9	111-18-2	N,N,N',N'-tetramethylhexamethylenediamine
497	226-107-4	5280-80-8	3,3'-[(2,5-dimethyl-p-phenylene)bis[imino(1-acetyl-2-oxoethylene)azo]]bis[4-chloro-N-(5-chloro-o-tolyl)benzamide]
498	201-321-0	81-07-2	1,2-benzisothiazol-3(2H)-one 1,1-dioxide
499	239-888-1	15790-07-5	aluminium, 6-hydroxy-5-[(4-sulphophenyl)azo]-2-naphthalenesulfonic acid complex
500	247-368-0	25956-17-6	disodium 6-hydroxy-5-[(2-methoxy-4-sulphonato-m-tolyl)azo]naphthalene-2-sulphonate
501	429-240-8	212652-59-0	unknown
502	201-251-0	80-10-4	dichloro(diphenyl)silane
503	201-816-1	88-27-7	2,6-di-tert-butyl-a-dimethylamino-p-cresol
504	202-805-4	99-97-8	N,N-dimethyl-p-toluidine
505	404-290-3	7216-95-7	unknown
506	251-649-3	33704-61-9	1,2,3,5,6,7-hexahydro-1,1,2,3,3-pentamethyl-4H-inden-4-one
507	201-758-7	87-62-7	2,6-xylylidine
508	218-336-3	2123-24-2	hexahydro-2H-azepin-2-one, sodium salt
509	237-335-9	13752-51-7	4-[(morpholiniothio)thioxomethyl]morpholine
510	206-532-1	353-42-4	dimethyl ether--boron trifluoride
511	241-620-3	17636-10-1	sodium 3-mercaptopropanesulphonate
512	218-145-5	2052-25-7	sodium 3-[(1,5-dihydroxy-2-naphthyl)azo]-4-hydroxybenzenesulphonate
513	230-049-5	6925-69-5	12H-phthaloperin-12-one
514	254-588-0	39670-09-2	2-[2-(2-ethoxyethoxy)ethoxy]ethyl methacrylate
515	682-872-8	957787-76-7	N,N'-bis(3,3-dimethylbutan-2-yl)hexane-1,6-diamine
516	235-428-9	12225-21-7	aluminium, 4,5-dihydro-5-oxo-1-(4-sulphophenyl)-4-[(4-sulphophenyl)azo]-1H-pyrazole-3-carboxylic acid complex
517	209-967-5	599-61-1	3,3'-sulphonyldianiline
518	237-855-6	14024-48-7	cobalt(II) 4-oxopent-2-en-2-olate
519	679-514-8	154279-60-4	4,4'-methylenebis(N-sec-butylcyclohexanamine)
520	429-320-2	24748-23-0	unknown
521	423-270-5	164462-16-2	unknown
522	204-984-4	130-26-7	clioquinol
523	207-837-2	497-18-7	carbonohydrazide
524	448-100-7	70441-63-3	unknown

525	200-087-7	51-28-5	2,4-dinitrophenol
526	262-061-1	60111-54-8	3,3-bis[[dimethylvinylsilyl]oxy]-1,1,5,5-tetramethyl-1,5-divinyltrisiloxane
527	201-137-0	78-73-9	choline hydrogen carbonate
528	219-842-7	2550-02-9	triethoxypropylsilane
529	284-851-5	84988-61-4	Phosphoric acid, isononyl ester
530	223-578-8	3965-55-7	sodium dimethyl 5-sulphonatoisophthalate
531	200-540-9	62-54-4	calcium di(acetate)
532	220-778-7	2896-70-0	2,2,6,6-tetramethyl-4-oxopiperidinoxy
533	230-813-8	7328-22-5	2-(2-butoxyethoxy)ethyl methacrylate
534	231-701-1	7691-02-3	N-(dimethylvinylsilyl)-1,1-dimethyl-1-vinylsilylamine
535	259-393-4	54914-37-3	1,3,3-trimethyl-N-(2-methylpropylidene)-5-[(2-methylpropylidene)amino]cyclohexanemethylamine
536	226-378-9	5384-21-4	4,4'-methylenedi-2,6-xylenol
537	203-187-9	104-23-4	4'-aminoazobenzene-4-sulphonic acid
538	244-815-1	22174-70-5	3,3'-[methylenebis(oxyethylene)]bisheptane
539	266-120-2	66072-08-0	Naphthenic acids, potassium salts
540	205-517-7	141-98-0	O-isopropyl ethylthiocarbamate
541	422-210-5	68957-94-8	2,4,6-tri-n-propyl-2,4,6-trioxo-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosphorinane
542	688-159-8	1024699-81-7	3-(methacryloylamino)-N,N,N-trimethylpropan-1-aminium 4-(C10-13-sec-alkyl)benzenesulfonate
543	236-670-8	13463-40-6	pentacarbonyliron
544	213-928-8	1067-33-0	dibutyltin di(acetate)
545	230-745-9	7300-34-7	3,3'-[butane-1,4-diylbis(oxy)]bispropanamine
546	201-497-9	83-73-8	diiodohydroxyquinoline
547	201-627-4	85-73-4	phthalylsulfathiazole
548	209-218-2	561-41-1	4,4'-bis(dimethylamino)-4''-(methylamino)trityl alcohol
549	406-760-3	42221-52-3	2,3,4,5-tetrachlorobenzoylchloride
550	266-733-5	67584-55-8	2-[methyl[(nonafluorobutyl)sulphonyl]amino]ethyl acrylate
551	201-972-0	90-17-5	2,2,2-trichloro-1-phenylethyl acetate
552	446-630-3	181587-01-9	unknown
553	603-373-3	129909-90-6	unknown
554	420-640-8	138495-42-8	unknown
555	223-795-8	4075-81-4	calcium dipropionate
556	700-810-0	58190-62-8	pentan-2-one O-(4,10-dimethyl-7-vinyl-6,8-dioxa-5,9-diaza-7-silatrideca-4,9-dien-7-yl)oxime
557	241-866-1	17927-72-9	bis(pentane-2,4-dionato-O,O')bis(propan-2-olato)titanium
558	407-870-4	97384-48-0	2-benzyl-2-methyl-3-butenitrile
559	251-073-2	32509-66-3	ethylene bis[3,3-bis(3-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)butyrate]
560	295-032-7	91782-60-4	Cobalt, borate 2-ethylhexanoate complexes
561	208-857-4	544-01-4	diisopentyl ether
562	250-931-3	32149-57-8	magnesium 2-methylpropan-2-olate
563	253-775-4	38083-17-9	climbazole
564	211-623-4	675-62-7	dichloromethyl(3,3,3-trifluoropropyl)silane
565	608-711-3	32167-31-0	unknown
566	208-168-9	513-78-0	cadmium carbonate
567	241-523-6	17526-94-2	N,N''-(4-methyl-m-phenylene)bis[N',N'-dimethylurea]
568	286-344-4	85209-91-2	2,4,8,10-tetra(tert-butyl)-6-hydroxy-12H-dibenzo[d,g][1,3,2]dioxaphosphocin 6-oxide, sodium salt
569	213-254-4	932-64-9	1,2-dihydro-5-nitro-3H-1,2,4-triazol-3-one
570	403-530-4	129423-54-7	calcium 4-chloro-2-(5-hydroxy-3-methyl-1-(3-sulfonatophenyl)pyrazol-4-ylazo)-5-methylbenzenesulfonate

571	206-074-2	299-27-4	potassium gluconate
572	217-775-8	1951-97-9	piperazine, compound with phosphoric acid
573	455-890-7	6607-41-6	unknown
574	282-617-7	84281-74-3	1,3-Benzenediamine, coupled with diazotized m-phenylenediamine, acetates
575	412-600-3	152827-98-0	unknown
576	412-420-5	133909-99-6	2-butyl-4-chloro-4,5-dihydro-5-hydroxymethyl-1-[2'-(2-triphenylmethyl-1,2,3,4-2H-tetrazol-5-yl)-1,1'-biphenyl-4-methyl]-1H-imidazole
577	279-015-1	78952-61-1	5-[[4-chloro-6-[(3-sulphophenyl)amino]-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-4-hydroxy-3-[[4-[[2-(sulphooxy)ethyl]sulphonyl]phenyl]azo]naphthalene-2,7-disulphonic acid, sodium salt
578	441-020-3	3335-98-6	unknown
579	203-977-3	112-49-2	1,2-bis(2-methoxyethoxy)ethane
580	229-851-8	6786-83-0	a,a-bis[4-(dimethylamino)phenyl]-4-(phenylamino)naphthalene-1-methanol
581	422-930-1	171599-84-1	pentasodium 7-(4-(4-(5-amino-4-sulfonato-2-(4-((2-(sulfonatoethoxy)sulfonyl)phenylazo)phenylamino)-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino-2-ureidophenylazo)naphthalene-1,3,6-trisulfonate
582	208-796-3	542-02-9	6-methyl-1,3,5-triazine-2,4-diylidiamine
583	237-600-9	13863-31-5	disodium 4,4'-bis[[6-anilino-4-[(2-hydroxyethyl)methylamino]-1,3,5-triazin-2-yl]amino]stilbene-2,2'-disulphonate
584	428-100-3	94239-04-0	unknown
585	429-750-0	180898-37-7	unknown
586	256-283-8	46830-22-2	benzylidimethyl[2-[(1-oxoallyl)oxy]ethyl]ammonium chloride
587	248-697-2	27858-32-8	bis(ethyl acetoacetato-O1',O3)bis(propan-2-olato)titanium
588	444-960-2	39148-16-8	unknown
589	446-220-4	365411-50-3	unknown
590	224-169-7	4223-03-4	N-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)acrylamide
591	429-830-5	105827-91-6	2-chloro-5-chloromethylthiazole
592	200-471-4	60-34-4	methylhydrazine
593	244-894-2	22288-43-3	1,1,3,3-tetramethylbutyl 2-ethylperoxyhexanoate
594	227-563-7	5888-87-9	N,N'-hexane-1,6-diylbis(hexahydro-2-oxo-1H-azepine-1-carboxamide)
595	428-410-9	67014-36-2	unknown
596	226-102-7	5280-66-0	manganese, 4-[(5-chloro-4-methyl-2-sulfophenyl)azo]-3-hydroxy-2-naphthalenecarboxylic acid complex
597	406-176-9	79072-96-1	2,6-bis(4-ethylphenyl)perhydro-1,3,5,7-tetraoxanaphth-4-ylethane-1,2-diol
598	424-460-0	283167-56-6	unknown
599	459-990-1	52411-34-4	unknown
600	222-695-1	3576-88-3	2,2'-iminobis[4,6-diamino-1,3,5-triazine]
601	215-311-9	1321-12-6	nitrotoluene
602	241-527-8	17527-29-6	3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-tridecafluorooctyl acrylate
603	235-471-3	12238-31-2	manganese, 4-[(4-chloro-5-methyl-2-sulfophenyl)azo]-3-hydroxy-2-naphthalenecarboxylic acid complex
604	222-102-6	3349-08-4	nickel(2+) propionate
605	235-469-2	12237-63-7	ferrate(4-), hexakis(cyano-C)-, Et 2-[6-(ethylamino)-3-(ethylimino)-2,7-dimethyl-3H-xanthen-9-yl]benzoate copper(2+) salts
606	619-372-6	98730-04-2	2,2-Dichloro-1-(3-methyl-2,3-dihydro-4H-1,4-benzoxazin-4-yl)ethanone
607	406-960-0	77497-97-3	(S)-3-benzoyloxycarbonyl-1,2,3,4-tetrahydro-isoquinolinium 4-methylbenzenesulfonate
608	211-745-8	693-21-0	oxydiethylene dinitrate
609	413-040-2	149850-30-6	methyl N-[3-acetylamino]-4-(2-cyano-4-nitrophenylazo)phenyl]-N-[(1-methoxy)acetyl]glycinate
610	225-083-2	4651-67-6	3-a-hydroxy-7-oxo-5-β-cholan-24-oic acid
611	206-575-6	355-04-4	1,1,1,2,2,3,3,4,5,5,5-undecafluoro-4-(trifluoromethyl)pentane

612	200-939-8	76-16-4	perfluoroethane
613	247-832-2	26591-72-0	3-methyl-1-vinyl-1H-imidazolium methyl sulphate
614	416-210-4	128119-70-0	unknown
615	291-103-1	90341-71-2	Cuprate(4-), [2-[[[[2-hydroxy-3-sulfo-5-[[2-(sulfooxy)ethyl]sulfonyl]phenyl]azo]phenylmethyl]azo]-4-sulfobenzoato(6-)], sodium
616	423-970-0	182926-43-8	trisodium 2,4-diamino-3,5-bis-[4-(2-sulfonatoethoxy)sulfonyl]phenylazo]benzenesulfonate
617	411-580-3	107898-54-4	(+/-) trans-3,3-dimethyl-5-(2,2,3-trimethyl-cyclopent-3-en-1-yl)pent-4-en-2-ol
618	405-990-1	97148-39-5	ammonium (Z)-a-methoxyimino-2-furylacetate
619	224-631-8	4431-83-8	2,5,7,10-tetraoxaundecane
620	464-300-7	141645-16-1	unknown
621	438-340-0	119344-86-4	unknown
622	695-988-9	100556-82-9	Disodium 4-amino-5-hydroxy-3,6-bis{(E)-[4-(vinylsulfonyl)phenyl]diazanyl}naphthalene-2,7-disulfonate
623	220-150-2	2643-07-4	p-[(2-chloroethyl)ethylamino]benzaldehyde
624	200-893-9	75-71-8	dichlorodifluoromethane
625	485-230-3	1455-42-1	unknown
626	220-491-7	2783-94-0	disodium 6-hydroxy-5-[(4-sulphonatophenyl)azo]naphthalene-2-sulphonate
627	201-810-9	88-21-1	2-aminobenzenesulphonic acid
628	238-914-9	14852-17-6	ethylenediamine, salt with phosphoric acid
629	603-837-5	134605-64-4	1-(allyloxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl 2-chloro-5-[3-methyl-2,6-dioxo-4-(trifluoromethyl)-3,6-dihydropyrimidin-1(2H)-yl]benzoate
630	202-090-9	91-68-9	3-diethylaminophenol
631	202-445-8	95-73-8	2,4-dichlorotoluene
632	202-447-9	95-75-0	3,4-dichlorotoluene
633	215-385-2	1324-76-1	[[4-[[4-(anilino)phenyl][4-(phenylimino)-2,5-cyclohexadien-1-ylidene]methyl]phenyl]amino]benzenesulphonic acid
634	421-950-6	187674-70-0	tetrasodium 3-[[4-[[4,6-bis-[(3-sulfonatoprop-1-yl)thio]-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-2-methyl-5-methoxy-phenyl]azonaphthalene-1,5-disulfonate
635	441-100-8	351197-46-1	unknown
636	426-200-1	172015-79-1	unknown
637	413-030-8	1134-94-7	2-phenylthioaniline
638	435-790-1	297730-93-9	unknown
639	201-832-9	88-45-9	2,5-diaminobenzenesulphonic acid
640	203-581-0	108-42-9	3-chloroaniline
641	254-879-2	40306-75-0	3-acetamido-5-amino-4-hydroxybenzenesulphonic acid
642	455-600-9	790240-84-5	unknown
643	807-374-1	2540-36-5	sodium O-isopentyl dithiocarbonate
644	700-182-8	134652-60-1	Tripropan-2-ylsilyl 2-methylprop-2-enoate
645	402-920-1	103300-89-6	N-(N6-trifluoroacetyl-L-lysyl)-L-proline
646	416-440-5	72830-09-2	2-chloromethyl-3,4-dimethoxypyridinium chloride
647	691-719-4	1072957-71-1	N-[9-(dichloromethylidene)-1,2,3,4-tetrahydro-1,4-methanonaphthalen-5-yl]-3-(difluoromethyl)-1-methyl-1H-pyrazole-4-carboxamide
648	250-465-0	31098-20-1	potassium 3-sulphonatopropyl acrylate
649	424-310-4	178452-66-9	3-(2,4-bis(4-((5-(4,6-bis(2-aminopropylamino)-1,3,5-triazin-2-ylamino)-4-hydroxy-2,7-disulfonaphthalen-3-yl)azo)phenylamino)-1,3,5-triazin-6-ylamino)propyldiethylammonium lactate
650	406-305-9	92952-81-3	4-[(3-hydroxypropyl)amino]-3-nitrophenol
651	279-317-3	79828-43-6	pentasodium bis[5-[(4-amino-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino]-4-hydroxy-3-[(2-hydroxy-5-nitrophenyl)azo]naphthalene-2,7-disulfonato(4-)]chromate(5-)
652	423-090-7	156732-13-7	unknown

653	224-638-6	4433-79-8	4'-chloro-2',5'-dimethoxyacetoacetanilide
654	243-053-7	19430-93-4	3,3,4,4,5,5,6,6,6-nonafluorohexene
655	700-584-3	1217271-02-7	N-[3-((2,2-dimethyl-3-(morpholin-4-yl)propylidene)amino)methyl)-3,5,5-trimethylcyclohexyl]-2,2-dimethyl-3-(morpholin-4-yl)propan-1-imine
656	277-873-1	74441-05-7	N-[4-(aminocarbonyl)phenyl]-4-[[1-[[[(2,3-dihydro-2-oxo-1H-benzimidazol-5-yl)amino]carbonyl]-2-oxopropyl]azo]benzamide
657	299-135-8	93857-00-2	tripotassium propylsilanetriolate
658	287-574-8	85536-87-4	7-acetamido-4-hydroxy-3-[[4-[[2-(sulphooxy)ethyl]sulphonyl]phenyl]azo]naphthalene-2-sulphonic acid, sodium salt
659	451-160-7	17913-76-7	unknown
660	279-914-9	82199-12-0	N-(2,3-dihydro-2-oxo-1H-benzimidazol-5-yl)-2-[(2-methoxyphenyl)azo]-3-oxobutyramide
661	419-720-5	182061-89-8	unknown
662	202-977-0	101-80-4	4,4'-oxydianiline
663	700-714-9	1254469-57-2	4-{2-[2-(2-hydroxybenzylidene)hydrazino]-2-oxoethyl}-4-methylmorpholin-4-ium chloride
664	438-940-2	56992-87-1	unknown
665	211-479-2	650-51-1	TCA
666	295-033-2	91782-61-5	Cobalt, borate propionate complexes
667	235-628-6	12392-64-2	disodium hydrogen bis[3-hydroxy-4-[(2-hydroxy-1-naphthyl)azo]naphthalene-1-sulphonato(3-)]chromate(3-)
668	619-682-1	224049-04-1	unknown
669	424-110-7	194602-23-8	2-ethoxy-5-(4-methyl-1-piperazinylsulfonyl)benzoic acid
670	216-333-1	1560-69-6	cobalt(2+) propionate
671	682-238-0	1190931-27-1	Ammonium difluoro[[2,2,4,5-tetrafluoro-5-(trifluoromethoxy)-1,3-dioxolan-4-yl]oxy]acetate
672	410-340-5	69045-84-7	2,3-dichloro-5-trifluoromethylpyridine
673	207-050-4	428-59-1	trifluoro(trifluoromethyl)oxirane
674	249-070-6	28535-81-1	methyl 3- α ,7- α -diacetoxo-12-oxo-5- β -cholan-24-oate
675	402-230-0	399-95-1	4-amino-3-fluorophenol
676	431-250-2	171850-30-9	5,7-dichloro-4-hydroxyquinoline-3-carboxylic acid
677	700-942-9	94933-05-8	unknown
678	255-392-8	41484-35-9	thiodiethylene bis[3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionate]
679	412-640-1	84632-50-8	unknown
680	233-007-4	10016-20-3	cyclohexapentylose
681	401-670-0	79456-26-1	3-chloro-5-trifluoromethyl-2-pyridylamine
682	411-540-5	130201-57-9	tetrasodium 5-[4-chloro-6-(N-ethyl-anilino)-1,3,5-triazin-2-ylamino]-4-hydroxy-3-(1,5-disulfonatophthalen-2-ylazo)-naphthalene-2,7-disulfonate
683	219-110-7	2362-14-3	4,4'-cyclohexylidenedi-o-cresol
684	445-090-6	5614-37-9	unknown
685	415-510-2	145703-76-0	415-510-2
686	700-570-7	1217271-49-2	N,N'-hexane-1,6-diylbis[2,2-dimethyl-3-(morpholin-4-yl)propan-1-imine]
687	287-842-4	85586-40-9	5-(benzoylamino)-4-hydroxy-3-[[1-sulpho-6-[[2-(sulphooxy)ethyl]sulphonyl]-2-naphthyl]azo]naphthalene-2,7-disulphonic acid, sodium salt
688	428-480-0	214559-61-2	tetrasodium 7-[[4-[[4,6-bis[(3-sulfonatopropyl)thio]-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-3-methoxyphenyl]azo]naphthalene-1,3-disulfonate
689	303-152-9	94158-79-9	4,4'-[[6-chloro-1,3,5-triazine-2,4-diyl]diimino]bis[5-hydroxy-6-[[4-[[2-(sulphooxy)ethyl]sulphonyl]phenyl]azo]naphthalene-2,7-disulphonic acid, sodium salt
690	619-764-7	173904-11-5	N,N'-[cyclohexane-1,3-diylbis(methylene)]bis(2-methylpropan-1-imine)
691	200-164-5	53-16-7	estrone
692	209-378-3	574-93-6	29H,31H-phthalocyanine

693	451-690-9	86273-46-3	unknown
694	418-480-9	138526-69-9	1-bromo-3,4,5-trifluorobenzene
695	225-063-3	4637-24-5	1,1-dimethoxytrimethylamine
696	208-908-0	546-67-8	lead tetraacetate
697	241-482-4	17465-86-0	cyclooctapentylose
698	236-537-4	13423-15-9	tetrahydro-3-methylfuran
699	257-515-0	51920-12-8	N-(2,3-dihydro-2-oxo-1H-benzimidazol-5-yl)-3-hydroxy-4-[[2-methoxy-5-methyl-4-[(methylamino)sulphonyl]phenyl]azo]naphthalene-2-carboxamide
700	235-427-3	12225-18-2	N-(4-chloro-2,5-dimethoxyphenyl)-2-[[2,5-dimethoxy-4-(phenylamino)sulphonyl]phenyl]azo]-3-oxobutyramide
701	407-230-4	126637-70-5	dilithium disodium (5,5'-diamino-(μ -4,4'-dihydroxy-1:2- ζ -2,O4,O4',-3,3'-[3,3'-dihydroxy-1:2- ζ -2-O3,O3'-biphenyl-4,4'-ylenebisazo-1:2-(N3,N4- ζ :N3',N4'- ζ)]-dinaphthalene-2,7-disulfonato(8)))dicuprate(2-)
702	201-808-8	88-19-7	toluene-2-sulphonamide
703	700-676-3	135452-42-5	2-Hydroxy-1-{3-[4-(2-hydroxy-2-methylpropanoyl)phenyl]-1,1,3-trimethyl-2,3-dihydro-1H-inden-5-yl}-2-methylpropan-1-one
704	696-038-6	135452-43-6	2-hydroxy-1-{1-[4-(2-hydroxy-2-methylpropanoyl)phenyl]-1,3,3-trimethyl-2,3-dihydro-1H-inden-5-yl}-2-methylpropan-1-one
705	401-790-3	104147-32-2	2,6-dichloro-4-amino-(1,1,2,2-tetrafluoroethoxy)benzene
706	228-788-3	6358-87-8	diethyl 4,4'-[(3,3'-dichloro[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl)bis(azo)]bis[4,5-dihydro-5-oxo-1-phenyl-1H-pyrazole-3-carboxylate]
707	470-680-5	958872-63-4	unknown
708	449-410-5	18084-64-5	unknown
709	440-560-7	346709-25-9	unknown
710	680-587-3	144163-97-3	4-Nitrophenyl 1,3-thiazol-5-ylmethyl carbonate
711	226-971-2	5580-58-5	3,3'-[(2,5-dichloro-p-phenylene)bis[imino(1-acetyl-2-oxoethylene)azo]]bis[4-chloro-N-(5-chloro-o-tolyl)benzamide]
712	800-181-3	371756-75-1	unknown
713	250-800-0	31778-10-6	butyl 2-[[3-[[[(2,3-dihydro-2-oxo-1H-benzimidazol-5-yl)amino]carbonyl]-2-hydroxy-1-naphthyl]azo]benzoate
714	471-980-9	1016986-95-0	unknown
715	413-740-8	1132-95-2	unknown
716	410-090-7	89402-43-7	5-chloro-2,3-difluoropyridine
717	430-710-1	15290-77-4	unknown
718	204-200-0	117-61-3	benzidine-2,2'-disulphonic acid
719	206-559-9	354-38-1	2,2,2-trifluoroacetamide
720	439-730-3	155041-85-3	(trans(trans))-4'-vinyl-4-(4-methylphenyl)bicyclohexyl
721	284-362-7	84852-49-3	[[[(phosphonomethyl)imino]bis[ethylenenitrilobis(methylene)]]tetrakisphosphonic acid, potassium salt
722	249-955-7	29920-31-8	dimethyl 5-[[[1-[[[(2,3-dihydro-2-oxo-1H-benzimidazol-5-yl)amino]carbonyl]-2-oxopropyl]azoterephthalate
723	258-221-5	52846-56-7	N-(2,3-dihydro-2-oxo-1H-benzimidazol-5-yl)-2-[(4-nitrophenyl)azo]-3-oxobutyramide
724	609-106-7	35249-89-9	Ammonium glycolate
725	429-290-0	3380-30-1	unknown
726	936-023-6	950782-86-2	unknown
727	700-591-1	82203-23-4	(1R)-1-[(4R,4aR,8aS)-2,6-bis(4-chlorophenyl)tetrahydro[1,3]dioxino[5,4-d][1,3]dioxin-4-yl]ethane-1,2-diol
728	444-860-9	474510-57-1	unknown
729	406-030-4	105812-81-5	(-)-trans-4-(4'-fluorophenyl)-3-hydroxymethyl-N-methylpiperidine
730	201-718-9	87-02-5	7-amino-4-hydroxynaphthalene-2-sulphonic acid
731	264-172-0	63450-43-1	sodium 3-methylsulphanilate
732	201-855-4	88-74-4	2-nitroaniline

733	255-627-4	42019-78-3	4-chloro-4'-hydroxybenzophenone
734	480-070-0	85-27-8	unknown
735	206-104-4	301-04-2	lead di(acetate)
736	412-450-9	131766-73-9	A mixture of: trans-4-acetoxy-4-methyl-2-propyl-tetrahydro-2H-pyran; cis-4-acetoxy-4-methyl-2-propyl-tetrahydro-2H-pyran
737	428-970-4	13595-25-0	unknown
738	243-653-9	20262-58-2	disodium 6-acetamido-4-hydroxy-3-[[4-[[2-(sulphonatooxy)ethyl]sulphonyl]phenyl]azo]naphthalene-2-sulphonate
739	424-620-1	13909-63-2	1-phenyl-3-(p-toluenesulfonyl)urea
740	420-740-1	99817-36-4	2,4-dichloro-3-ethyl-6-nitrophenol
741	414-490-2	154212-59-6	unknown
742	235-426-8	12225-08-0	N-(2,3-dihydro-2-oxo-1H-benzimidazol-5-yl)-3-hydroxy-4-[[2,5-dimethoxy-4-[(methylamino)sulphonyl]phenyl]azo]naphthalene-2-carboxamide
743	257-804-1	52277-71-1	hydrogen [1-[(2-hydroxy-4-nitrophenyl)azo]-2-naphtholato(2-)] [1-[(2-hydroxy-5-nitrophenyl)azo]-2-naphtholato(2-)]chromate(1-)
744	221-423-9	3089-16-5	4,11-dichloro-5,12-dihydroquino[2,3-b]acridine-7,14-dione
745	616-328-8	76359-37-0	trisodium [3-{(E)-[4-[[6-anilino-1-(hydroxy- ζ O)-3-sulfo-2-naphthyl]diazanyl- ζ N1]-5-(hydroxy- ζ O)-2-methylphenyl]diazanyl]naphthalene-1,5-disulfonato(5-)]cuprate(3-)
746	400-720-9	126851-40-9	monosodium aqua-[5-[[2,4-dihydroxy-5-[(2-hydroxy-3,5-dinitrophenyl)azo]phenyl]azo]-2-naphthalensulfonate], iron complex
747	619-383-6	98967-40-9	N-(2,6-difluorophenyl)-5-methyl[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidine-2-sulfonamide
748	274-713-2	70643-20-8	[4-(2-hydroxyethoxy)-1,3-phenylene]diammonium sulphate
749	252-650-1	35636-63-6	dimethyl 2-[[1-[[[(2,3-dihydro-2-oxo-1H-benzimidazol-5-yl)amino]carbonyl]-2-oxopropyl]azo]terephthalate
750	433-320-8	204255-06-1	unknown
751	244-073-9	20837-86-9	lead cyanamidate
752	406-370-3	58890-25-8	3,3'-dicyclohexyl-1,1'-methylenebis(4,1-phenylene)diurea
753	445-770-2	42031-28-7	unknown
754	246-240-1	24424-99-5	di(tert-butyl) carbonate
755	202-810-1	100-01-6	4-nitroaniline
756	220-481-2	2781-10-4	dibutyltin bis(2-ethylhexanoate)
757	422-580-8	75490-39-0	2,2,4-trimethyl-4-phenyl-butane-nitrile
758	202-547-2	96-96-8	2-nitro-p-anisidine
759	432-960-5	124655-09-0	unknown
760	449-950-1	34640-92-1	unknown
761	457-660-1	104797-47-9	unknown
762	431-060-1	153719-38-1	unknown
763	806-543-7	215917-77-4	N-{2-[(phenylcarbamoyl)amino]phenyl}benzenesulfonamide
764	939-042-8	1482217-03-7	Bis[2-[4-(4,6-diphenyl-1,3,5-triazin-2-yl)-3-hydroxyphenoxy]ethyl]dodecanedioate
765	424-210-0	23911-85-5	unknown
766	254-100-6	38720-66-0	dichloro-5,12-dihydroquino[2,3-b]acridine-7,14-dione
767	450-650-8	51762-67-5	unknown
768	244-240-6	21145-77-7	1-(5,6,7,8-tetrahydro-3,5,5,6,8,8-hexamethyl-2-naphthyl)ethan-1-one
769	212-406-7	814-80-2	calcium dilactate
770	248-660-0	27794-93-0	[nitrilotris(methylene)]trisphosphonic acid, potassium salt
771	608-209-4	284461-73-0	unknown
772	690-995-3	756-12-7	1,1,1,3,4,4,4-heptafluoro-3-(trifluoromethyl)butan-2-one
773	427-240-2	134841-35-3	potassium N-(1-methoxy-1-oxobut-2-en-3-yl)valinate
774	201-924-9	89-62-3	2-nitro-p-toluidine
775	202-546-7	96-93-5	3-amino-4-hydroxy-5-nitrobenzenesulphonic acid

776	202-669-6	98-44-2	2-aminobenzene-1,4-disulphonic acid
777	202-770-5	99-59-2	5-nitro-o-anisidine
778	204-282-8	118-88-7	4-aminotoluene-2-sulphonic acid
779	204-363-8	120-00-3	4'-amino-2',5'-diethoxybenzanilide
780	205-299-3	137-51-9	4-aminobenzene-1,3-disulphonic acid
781	206-750-7	372-31-6	ethyl 4,4,4-trifluoroacetoacetate
782	219-668-1	2494-88-4	2-[(3-aminophenyl)sulphonyl] hydrogensulphate
783	255-501-9	41687-30-3	2-[(3-nitrophenyl)sulphonyl]ethanol
784	700-021-1	79992-76-0	Magnesium bis(2-ethylbutanoate)
785	429-370-5	220410-74-2	unknown
786	447-620-1	423165-13-3	unknown
787	237-741-6	13963-57-0	aluminium tris(2,4-pentanedionato-O,O')
788	440-850-3	27311-52-0	unknown
789	486-080-1	924626-15-3	unknown
790	220-036-2	2611-82-7	trisodium 1-(1-naphthylazo)-2-hydroxynaphthalene-4',6,8-trisulphonate
791	700-787-7	769953-18-6	lithium 3-[(3,4-dicyanophenyl)sulfanyl]propane-1-sulfonate.
792	605-047-6	156157-97-0	unknown
793	700-183-3	52299-25-9	bis(nonafluorobutyl)phosphinic acid
794	406-380-8	49708-81-8	unknown
795	478-670-2	139306-10-8	unknown
796	411-490-4	7027-11-4	3-cyano-3,5,5-trimethylcyclohexanone
797	416-050-5	87460-09-1	benzyl [hydroxy-(4-phenylbutyl)phosphinyl] acetate
798	607-089-0	224789-21-3	2-(2-Ethoxyphenyl)-5-methyl-7-propylimidazo-[5,1-f][1,2,4]triazin-4(3H)-one
799	432-550-6	243858-01-7	unknown
800	200-021-7	50-24-8	prednisolone
801	700-684-7	80793-17-5	1,1,1,2,2,3,3,4,4,5,5,6,6-tridecafluorooctane
802	423-800-5	7305-71-7	2-amino-5-methylthiazole
803	438-080-8	194805-07-7	unknown
804	700-263-8	89686-69-1	2,2-di(tetrahydrofuryl)propane
805	700-413-2	6331-96-0	2-amino-4,5-dichlorobenzenesulfonic acid
806	200-370-5	58-22-0	testosterone
807	449-470-2	51661-19-9	unknown
808	202-437-4	95-64-7	3,4-xylidine
809	202-451-0	95-78-3	2,5-xylidine
810	202-668-0	98-43-1	4-sulphoanthranilic acid
811	202-751-1	99-34-3	3,5-dinitrobenzoic acid
812	206-735-5	371-40-4	4-fluoroaniline
813	223-051-2	3709-43-1	disodium 4,4'-dinitrostilbene-2,2'-disulphonate
814	226-046-3	5246-57-1	2-[(3-aminophenyl)sulphonyl]ethanol
815	460-450-2	872728-82-0	unknown
816	424-060-6	6364-17-6	unknown
817	424-240-4	96478-09-0	unknown
818	428-420-3	71119-22-7	sodium 3-morpholin-4-ylpropane-1-sulfonate
819	217-895-0	2001-94-7	dipotassium dihydrogen ethylenediaminetetraacetate
820	416-770-1	73754-27-5	4-[3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionyloxy]-1-[2-[3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionyloxy]ethyl]-2,2,6,6-tetramethylpiperidine
821	608-211-5	284462-37-9	unknown
822	620-216-4	298692-41-8	unknown
823	202-523-1	96-67-3	3-amino-2-hydroxy-5-nitrobenzenesulphonic acid
824	700-425-8	521284-22-0	(1R)-2-[[2-(4-aminophenyl)ethyl]amino]-1-phenylethanol hydrochloride

825	202-000-8	90-51-7	6-amino-4-hydroxynaphthalene-2-sulphonic acid
826	700-051-5	35077-00-0	1,1,1-triethoxy-N,N-diethylsilanamine
827	476-490-9	286938-65-6	unknown
828	219-292-8	2403-89-6	1,2,2,6,6-pentamethylpiperidin-4-ol
829	410-860-2	79815-20-6	(S)-2,3-dihydro-1H-indole-2-carboxylic acid
830	249-323-0	28950-61-0	tetrasodium 4,4'-bis[[4-morpholino-6-(p-sulphonatoanilino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino]stilbene-2,2'-disulphonate
831	405-650-2	103300-91-0	unknown
832	405-880-3	100501-62-0	ethyl 1-ethyl-6,7,8-trifluoro-1,4-dihydro-4-oxoquinoline-3-carboxylate
833	700-008-0	3753-18-2	4,4'-Bis(methoxymethyl)biphenyl
834	700-569-1	23588-51-4	2,2-Dimethyl-3-(morpholin-4-yl)propanal
835	204-344-4	119-70-0	5-amino-2-(p-aminoanilino)benzenesulphonic acid
836	204-351-2	119-79-9	5-aminonaphthalene-2-sulphonic acid
837	687-535-9	122586-52-1	bis[2,2,6,6-tetramethyl-1-(octyloxy)piperidin-4-yl] decanedioate
838	240-131-2	15993-42-7	N-(5-chloro-2-methoxyphenyl)-2-[(2-methoxy-4-nitrophenyl)azo]-3-oxobutyramide
839	426-290-2	74149-72-7	unknown
840	421-300-1	138564-59-7	unknown
841	618-829-7	922165-31-9	Bis[2-(2-ethoxyethoxy)ethyl] cyclohexane-1,4-dicarboxylate
842	689-137-0	247569-56-8	2-Fluoro-5-(methylsulfonyl)benzoic acid
843	224-548-7	4404-43-7	4,4'-bis[4-[bis(2-hydroxyethyl)amino]-6-anilino-1,3,5-triazin-2-yl]amino]stilbene-2,2'-disulphonic acid
844	406-600-2	89392-03-0	phenyl N-(4,6-dimethoxypyrimidin-2-yl)carbamate
845	700-345-3	515851-08-8	N4-[3-(1H-imidazol-1-yl)propyl]-2-methylbenzene-1,4-diamine trihydrochloride
846	477-690-9	874819-71-3	unknown
847	613-901-4	6615-00-5	unknown
848	634-657-5	65962-45-0	4,4'-methanediylbis(2,6-dimethylcyclohexanamine)
849	806-439-1	1364731-90-7	2,6-dimethylphenyl 4-hydroxybenzenesulfonate
850	940-793-9	1432505-97-9	methyl 2-[[4-(4-hydroxyphenyl)sulfonyl]oxy]benzoate
851	700-651-7	692-49-9	(2Z)-1,1,1,4,4,4-Hexafluorobut-2-ene
852	700-890-7	503614-91-3	ethyl 1-(4-methoxyphenyl)-7-oxo-6-[4-(2-oxopiperidin-1-yl)phenyl]-4,5,6,7-tetrahydro-1H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxylate
853	406-300-1	79560-19-3	unknown
854	202-662-8	98-37-3	3-amino-4-hydroxybenzenesulphonic acid
855	206-825-4	378-44-9	betamethasone
856	679-526-3	337906-36-2	2-(methoxymethyl)benzene-1,4-diamine
857	430-100-3	86978-24-7	unknown
858	407-830-6	103335-54-2	3-oxo-4-azaandrost-5-ene-17 β -carboxylic acid
859	485-280-6	303749-96-4	unknown
860	280-445-7	83411-71-6	bis(2,4,4-trimethylpentyl)phosphinic acid
861	441-000-4	121219-07-6	1-ethoxy-2,3-difluorobenzene
862	410-620-7	119154-86-8	2-(2-amino-1,3-thiazol-4-yl)-(Z)-2-methoxyiminoacetyl chloride hydrochloride
863	443-460-1	188199-50-0	unknown
864	606-740-6	21331-43-1	4-(2-naphthyl)-1,3-thiazol-2-amine
865	465-070-0	518048-03-8	unknown
866	700-222-4	1065519-44-9	N-(4-[[3-(dimethylamino)propyl]sulfamoyl]phenyl)-2-[(2-methoxy-4-nitrophenyl)diazenyl]-3-oxobutanamide
867	415-890-1	142770-42-1	1-chloro-4-(n-propoxy)-5-thioxanthen-10-one
868	424-380-6	43057-68-7	unknown

869	700-616-6	849608-59-9	Tetrapotassium 5,5'-(ethane-1,2-diylbis[thio-1,3,4-thiadiazole-5,2-diyl]diazene-2,1-diyl(5-amino-3-tert-butyl-1H-pyrazole-4,1-diyl))diisophthalate
870	237-731-1	13951-70-7	11 β ,16 α ,17,21-tetrahydroxypregna-1,4-diene-3,20-dione
871	215-947-7	1458-18-0	methyl 3-amino-5,6-dichloropyrazine-2-carboxylate
872	601-596-0	119302-24-8	unknown
873	629-718-8	127946-77-4	1-cyanocyclopropanaminium chloride
874	240-400-4	16324-27-9	tetrasodium 4,4'-bis[[4-[(2-hydroxyethyl)amino]-6-(m-sulphonatoanilino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino]stilbene-2,2'-disulphonate
875	700-118-9	676532-44-8	2-(3,5-dimethylhex-3-en-2-yloxy)-2-methylpropyl cyclopropanecarboxylate
876	700-408-5	103429-90-9	3-Methoxy-3-methylbutyl acetate
877	460-440-8	152402-98-7	unknown
878	221-221-0	3033-77-0	2,3-epoxypropyltrimethylammonium chloride
879	278-593-2	77017-20-0	16 α ,17,21-trihydroxypregna-1,4,9(11)-triene-3,20-dione 21-acetate
880	700-414-8	23328-71-4	N,N,N-Trimethyl-3-(octadecyloxy)propan-1-ammonium chloride
881	805-675-2	102340-61-4	(2R)-2,8-dimethyl-2-[(4R,8R)-4,8,12-trimethyltridecyl]-3,4-dihydro-2H-chromen-6-yl beta-D-glucopyranoside
882	607-088-5	224785-90-4	607-088-5
883	241-543-5	17572-97-3	tripotassium hydrogen ethylenediaminetetraacetate
884	627-872-0	1514-82-5	2-bromo-3,3,3-trifluoroprop-1-ene
885	695-716-9	1174931-74-8	unknown
886	418-570-8	25383-07-7	(R)- α -phenylethylammonium (-)-(1R, 2S)-(1,2-epoxypropyl)phosphonate monohydrate
887	453-580-6	89604-91-1	unknown
888	429-400-7	199327-61-2	unknown
889	457-830-5	2557-13-3	unknown
890	806-599-2	33125-90-5	unknown
891	610-141-5	437717-43-6	unknown
892	610-868-8	52603-48-2	5-amino-3-methylthiophene-2,4-dicarbonitrile
893	405-740-1	47073-92-7	4,4'-ethylidenediphenyl dicyanate
894	801-072-3	1052075-57-6	2-[3-(9-butyl-1,1,3,3,5,5,7,7,9,9-decamethylpentasiloxanyl)propoxy]ethyl methacrylate
895	426-520-1	71420-85-4	unknown
896	240-073-8	15934-01-7	triammonium hydrogen ethylenediaminetetraacetate
897	691-061-8	1001320-38-2	O,S-dibutyl dithioimidodicarbonate
898	454-210-6	13106-24-6	unknown
899	277-553-1	73612-34-7	barium bis[6-chloro-4-[(2-hydroxy-1-naphthyl)azo]toluene-3-sulphonate]
900	246-386-6	24650-42-8	2,2-dimethoxy-1,2-diphenylethan-1-one
901	212-391-7	813-94-5	tricalcium dicitrate
902	700-812-1	1189052-95-6	sodium hydrogen (3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-tridecafluorooctyl)phosphonate
903	200-316-0	57-14-7	N,N-dimethylhydrazine
904	609-201-3	36062-04-1	1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)heptane-3,5-dione
905	202-667-5	98-42-0	3-amino-4-methoxybenzenesulphonic acid
906	250-299-9	30693-53-9	sodium 2-amino-5-nitrobenzenesulphonate
907	700-655-9	857288-56-3	N,N-diisopropyl-3-(2-methoxy-5-methylphenyl)-3-phenylpropan-1-aminium bromide
908	206-736-0	371-41-5	4-fluorophenol
909	700-631-8	102601-34-3	sodium 3-(cyclohexylamino)-2-hydroxypropane-1-sulfonate
910	446-810-1	136239-66-2	1-butoxy-2,3-difluorobenzene
911	420-450-5	86552-32-1	unknown
912	204-463-1	121-30-2	4-amino-6-chlorobenzene-1,3-disulphonamide

913	691-441-3	1316184-79-8	1-[4-amino-6-({4-[(E)-(4,8-disulfo-2-naphthyl)diazenyl]-8-sulfo-1-naphthyl}amino)-1,3,5-triazin-2-yl]pyridinium-3-carboxylate sodium salt
914	691-442-9	1316184-44-7	1-[4-({4-[(E)-{5-acetamido-2-methoxy-4-[(E)-(3,6,8-trisulfo-2-naphthyl)diazenyl]phenyl}diazenyl]-8-sulfo-1-naphthyl}amino)-6-amino-1,3,5-triazin-2-yl]pyridinium-3-carboxylate sodium salt
915	415-030-3	147200-93-1	(S,S)-trans-4-(acetylamino)-5,6-dihydro-6-methyl-7,7-dioxo-4H-thieno[2,3-b]thiopyran-2-sulfonamide
916	806-451-7	42532-60-5	2,3,3,3-tetrafluoro-2-(trifluoromethyl)propanenitrile
917	449-880-1	161796-84-5	unknown
918	696-145-8	944730-39-6	Tetrasodium {3,3',3'',3'''-[(29H,31H-phthalocyanine-1,8,15,22-tetrayl-k4N29,N30,N31,N32)tetrasulfonyl]tetrapropane-1-sulfonato(6-)}cuprate(4-)
919	690-742-7	1266664-66-7	unknown
920	696-126-4	886592-17-2	sodium 3-((2,3-dicyanophenyl)sulfonyl)propane-1-sulfonate
921	429-580-7	129738-42-7	(trans(trans))-4'-but-3-enyl-4-(4-methylphenyl)-bicyclohexyl
922	422-380-0	98349-25-8	ethyl 1-cyclopropyl-6,7-difluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylate
923	243-887-1	20570-96-1	benzylhydrazine dihydrochloride
924	683-287-0	877670-90-1	2-({1-[(2-methoxyphenyl)amino]-1,3-dioxobutan-2-yl}diazenyl)benzoic acid
925	700-253-3	115258-10-1	N-(3-{1,1,1,5,5,5-hexamethyl-3-[(trimethylsilyl)oxy]trisiloxan-3-yl}propyl)prop-2-enamide
926	222-093-9	3344-18-1	trimagnesium dicitrate
927	200-941-9	76-19-7	octafluoropropane
928	700-455-1	380843-75-4	4-[(2,4-dichloro-5-methoxyphenyl)amino]-6-methoxy-7-[3-(4-methylpiperazin-1-yl)propoxy]quinoline-3-carbonitrile
929	431-940-3	133745-75-2	unknown
930	700-202-5	765-63-9	2,2,3,3-Tetrafluorooxetane
931	245-022-3	22473-78-5	tetraammonium ethylenediaminetetraacetate
932	801-093-8	1315251-11-6	7,7,8,9,9-pentamethyl-6,7,8,9-tetrahydro-5H-cyclopenta[h]quinazoline
933	700-097-6	847565-09-7	(1R,2S,5R)-5-methyl-2-(propan-2-yl)-N-[2-(pyridin-2-yl)ethyl]cyclohexanecarboxamide
934	267-291-6	67828-72-2	strontium 4-[(4-chloro-5-methyl-2-sulphonatophenyl)azo]-3-hydroxy-2-naphthoate (1:1)
935	464-880-1	6485-79-6	unknown
936	448-000-3	90211-01-1	unknown
Class 1	303-662-1	94201-73-7	tetrahydro-4-methyl-2-phenyl-2H-pyran
Class 1	245-950-9	23949-66-8	N-(2-ethoxyphenyl)-N'-(2-ethylphenyl)oxamide
Class 1	635-156-4	109293-98-3	sodium 2-[N-[(3,5-difluorophenyl)carbamoilamino]-C-methylcarbonimidoyl]pyridine-3-carboxylate

15	500-066-5	28961-43-5	Propylidynetrimethanol, ethoxylated, esters with acrylic acid	<chem>OCC(OCC(C(O)C)OC(CO)C)COC(COC(=O)C=C)C)C</chem> <chem>C=CC(=O)OCC(OCC(C(O)C)OC(CO)C)OC(CO)C)OC(CO)C)C</chem> <chem>C=CC(=O)OCC(OCC(C(O)C)OC(CO)C)OC(COC(=O)C=C)C)OC(CO)C)OC(CO)C)C</chem> <chem>OCC(OCC(C(O)C)OC(CO)C)OC(CO)C)C</chem> <chem>OCC(OCC(C(O)C)OC(CO)C)OC(CO)C)OC(CO)C)C</chem> <chem>OCC(OCC(C(O)C)OC(CO)C)OC(CO)C)OC(COC(=O)C=C)C)C</chem> <chem>OCC(OCC(C(O)C)OC(CO)C)OC(CO)C)OC(COC(=O)C=C)C)C</chem> <chem>OCC(OCC(C(O)C)OC(CO)C)OC(CO)C)OC(COC(=O)C=C)C)C</chem> <chem>OCC(OCC(C(O)C)OC(CO)C)OC(CO)C)OC(COC(=O)C=C)C)C</chem> <chem>OCC(OCC(C(O)C)OC(CO)C)OC(CO)C)OC(COC(=O)C=C)C)C</chem> <chem>OCC(OCC(C(O)C)OC(CO)C)OC(CO)C)OC(CO)C)C</chem> <chem>OCC(OCC(COCCO)(CO)CC</chem> <chem>OCCOCC(COCCO)(COCCO)CC</chem> <chem>OCCOCC(COCCO)(COCCOC(=O)C=C)CC</chem> <chem>OCCOCC(COCCOC(=O)C=C)(COCCOC(=O)C=C)CC</chem> <chem>OC1CC2C(C1(C)CC2)(C)C</chem> <chem>CC(CCCOCCO)P(=O)(O)O)C</chem> <chem>Cc1ccc(cc1)S(=O)(=O)O</chem> <chem>OCCOCCOCCOCCO</chem> <chem>CCCCOCCOCCOCCO</chem> <chem>CCCCOCCOCCOCCOCCO</chem> <chem>OCCOCCOCCOCCOCCO</chem> <chem>Nc1cccc2c1cccc2N</chem> <chem>Nc1cccc1Cc1cccc1N</chem> <chem>CCCCN(c1ccc2c(c1)Oc1c(C2(O)c2cccc2C(=O)O)cc(c(c1)C)Nc1cccc1)C</chem> <chem>CCC</chem> <chem>CC(=O)C(C(=O)O)N=Nc1ccc(cc1)C)N=NC(C(=O)O)C(=O)C</chem> <chem>CC(=O)C(C(=O)Nc1cccc1C)N=Nc1ccc(cc1)C)N=NC(C(=O)O)C(=O)C</chem> <chem>O)C(=O)C</chem> <chem>OCCOCCOCCOCCO</chem> <chem>OCCOCCOCCOCCOCCO</chem> <chem>OCCOCCOCCOCC(CO)C)C)C</chem> <chem>OCCOCCOCCOCC(CO)C)C)C</chem> <chem>OCCOCCOCCOCCOCC(CO)C)C)C)C</chem> <chem>OC1CC2C(C1(C)CC2)(C)C</chem>
16	231-403-1	7534-94-3	exo-1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]hept-2-yl methacrylate	
17	249-828-6	29761-21-5	isodecyl diphenyl phosphate	
18	202-684-8	98-59-9	tosyl chloride	
19	500-003-1	9003-13-8	Poly[oxo(methyl-1,2-ethanediy)]- α -butyl- ω -hydroxy-	
20	221-641-4	3173-72-6	1,5-naphthylene diisocyanate	
21	219-799-4	2536-05-2	2,2'-methylenediphenyl diisocyanate	
22	226-789-3	89331-94-2	Spiro[isobenzofuran-(3H),9'-[9H]xanthen]-3-one, 6'-(dibutylamino)-3'-methyl-2'-(phenylamino)-	
23	226-789-3	5468-75-7	2,2'-[[3,3'-dichloro[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl]bis(azo)]bis[N-(2-methylphenyl)-3-oxobutylamide]	
24	500-241-6	69011-36-5	Isotridecanol, ethoxylated	
25	227-561-6	5888-33-5	exo-1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]hept-2-yl acrylate	

26	250-099-1	30246-33-4	(6R-trans)-7-amino-3-[[[5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl]thio]methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic acid	<chem>NN=C(SC(=O)S)CC1=C(NC(SC1)C(C(=O)O)[N+])C(=O)[O-]C</chem> <chem>NN=C(SC(=O)C)S)CC1=C(NC(SC1)C(C(=O)O)[N+])C(=O)[O-]</chem> <chem>CC(=O)S)CC1=C(NC(SC1)C(C(=O)O)[N+])C(=O)[O-]</chem> <chem>[O-]C(=O)C1=C(CS)C2=NC(=O)C(S)C(N1)C([N+])C(=O)O</chem> <chem>NN=C(SCC1=C(NC(SC1)C(C(=O)O)[N+])C(=O)[O-])S</chem> <chem>OC(=O)c1c(C(=O)O)c(C)c(c1C)Cl</chem>
27	250-063-5	30125-47-4	3,4,5,6-tetrachloro-N-[2-(4,5,6,7-tetrachloro-2,3-dihydro-1,3-dioxo-1H-inden-2-yl)-8-quinolyl]phthalimide	<chem>O=C1C(c2ccc3c(n2)c(N)ccc3)C(=O)c2c1c(C)c(c2C)Cl</chem> <chem>O=C(c1c(C)c(C)c(c1C(=O)O)Cl)Nc1cccc2c1nc(cc2)C1C(=O)c2c(C1=O)c(C1)c(c2C)Cl</chem>
28	239-898-6	15793-73-4	4,4'-[[3,3'-dichloro[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl]bis(azo)]bis[2,4-dihydro-5-methyl-2-(p-tolyl)-3H-pyrazol-3-one]	<chem>CC(=O)C(C(=O)O)N=Nc1ccc(cc1)C1c1ccc(c(c1)Cl)N=NC(C(=O)O)C(=O)C</chem>
29	205-598-9	143-29-3	bis(2-(2-butoxyethoxy)ethoxy)methane	<chem>NNc1ccc(cc1)C</chem> <chem>CCCCOCCOCCOCCO</chem> <chem>CCCCOCCOCCOCCOCCO</chem> <chem>CCCCOCCOCCOCCOCCOCCO</chem> <chem>OCCOCCOCCOCCO</chem> <chem>OCCOCCOCCOCCOCCO</chem>
30	404-800-4	118832-72-7	iso(C10-C14)alkyl (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)methylthioacetate	<chem>OC(=O)CSCc1cc(c(c1)C(C)O)C(C)C</chem>
31	252-021-1	34432-92-3	N-ethyl-N-[2-[1-(2-methylpropoxy)ethoxy]ethyl]-4-(phenylazo)aniline	<chem>OCCN(c1ccc(cc1)N=Nc1cccc1)CC</chem> <chem>CCN(c1ccc(cc1)N=Nc1cccc1)CCOC(O)C</chem>
32	227-930-1	6041-94-7	4-[[2,5-dichlorophenyl]azo]-3-hydroxy-N-phenyl-naphthalene-2-carboxamide	<chem>NNc1cc(C)ccc1Cl</chem> <chem>O=C(C1=Cc2ccc2C(=O)C1=O)Nc1cccc1</chem>
33	204-077-3	115-27-5	1,4,5,6,7,7-hexachloro-8,9,10-trinorborn-5-ene-2,3-dicarboxylic anhydride	<chem>OC(=O)C1C(C(=O)O)C2(C1)C(C1)C(=C2)C(C)C)Cl</chem> <chem>OC(=O)C1C(C(=O)O)C2(C1)C(=O)C1(O)C(=C2)C)Cl</chem> <chem>OCC(OC(COCC(O)C)C)C</chem>
34	614-637-2	68603-75-8	Amines, N-tallow alkyl(trimethylenedi-, propoxylated	<chem>OCC(OC(COCC(O)C)C)C</chem> <chem>CCCCCCCC=CCCCCCCCCNCNC(COCC(OC(CO)C)C)C</chem> <chem>CCCCCCCC=CCCCCCCCCNCNC(COCC(OC(COCC(O)C)C)C)C</chem> <chem>CCC(COCC(=O)O)CCCCCCCCCCCCCCCC(C)C</chem> <chem>CCC(C)CO</chem>
35	263-423-1	62125-22-8	2,2-bis[[[1-(oxoisooctadecyl)oxy]methyl]-1,3-propanediyl]bis(isooctadecanoate)	<chem>OCC(COCC(=O)O)CCCCCCCCCCCCCCCC(C)C(COCC(=O)O)CCCCCCCCCCCCCCCC(C)C</chem> <chem>CCC(C)CO</chem> <chem>OCC(COCC(=O)O)CCCCCCCCCCCCCCCC(C)C(COCC(=O)O)CCCCCCCCCCCCCCCC(C)C</chem> <chem>CNc1cccc1</chem>
36	244-617-5	21850-44-2	1,1'-(isopropylidene)bis[3,5-dibromo-4-(2,3-dibromopropoxy)benzene]	<chem>CCCCOc1c(Br)ccc(cc1Br)C(c1cc(Br)c(c1)Br)OCC(CO)O(C)O</chem>
37	234-196-6	10591-84-1	N,N'-dimethyldiphenylthiuram disulphide	<chem>CNc1cccc1</chem>
38	220-509-3	2786-76-7	4-[[4-(aminocarbonyl)phenyl]azo]-N-(2-ethoxyphenyl)-3-hydroxynaphthalene-2-carboxamide	<chem>CCOCc1cccc1NC(=O)c1cc2cccc2c(c1O)N=Nc1ccc(cc1)C(=O)O</chem>

39	251-118-6	32588-76-4	N,N'-ethylenebis(3,4,5,6-tetrabromophthalimide)	<chem>NC(=O)c1ccc(cc1)N=Nc1c(O)c(cc2c1cccc2)C(=O)O</chem> <chem>OC(=O)c1ccc(cc1)N=Nc1c(O)c(cc2c1cccc2)C(=O)O</chem> <chem>OC(=O)c1c(C(=O)c(Br)c(c1Br)Br)Br</chem> <chem>NCCN1C(=O)c2c(C1=O)c(Br)c(c2Br)Br</chem> <chem>NCCNC(=O)c1c(Br)c(Br)c(c1C(=O)O)Br</chem> <chem>O=C(c1c(Br)c(Br)c(c1C(=O)O)Br)NCCN1C(=O)c2c(C1=O)c(Br)c(c2Br)Br</chem> <chem>O=C(c1c(Br)c(Br)c(c1C(=O)O)Br)NCCNC(=O)c1c(Br)c(Br)c(c1C(=O)O)Br</chem> <chem>SN(S(=O)(=O)c1ccccc1)c1ccccc1</chem> <chem>Nc1ccc(cc1)S(=O)(=O)O</chem> <chem>CC(=O)Nc1ccc(cc1)S(=O)(=O)O</chem> <chem>OCCOCCOCCOC(=O)C</chem> <chem>Nc1ccccc1S</chem> <chem>OC(=O)C(c1ccc(ccc1O)C(CC(C)C)C)c1ccc(ccc1O)C(CC(C)C)C(C)C</chem> <chem>CCN(c1ccc2c(c1)O)c1c(C2(O)c2ccccc2C(=O)O)cc(c(c1)C)Nc1ccccc1)CC(C)C</chem> <chem>COc1cc(CI)c(cc1N)OC</chem> <chem>COc1ccc(cc1N=Nc1c(O)c(cc2c1cccc2)C(=O)O)C(=O)Nc1ccccc1</chem> <chem>COc1ccc(cc1N=Nc1c(O)c(cc2c1cccc2)C(=O)Nc1ccc(O)C(=O)C(=O)O</chem> <chem>COc1ccc(cc1N=Nc1c(O)c(cc2c1cccc2)C(=O)O)C(=O)O</chem> <chem>CC(c1cccc(c1)C(N)C)N)C</chem> <chem>O=C(c1ccc(c(c1)C(=O)O)C(=O)O)c1ccc(c(c1)C(=O)O)C(=O)O</chem> <chem>Nc1ccccc1SSc1ccccc1N</chem> <chem>O=C(c1ccccc1)Nc1ccccc1SSc1ccccc1N</chem> <chem>Cc1cccc(c1)NC(=O)S</chem> <chem>CNC(=O)NN</chem> <chem>NNc1ccccc1</chem> <chem>CC(=O)C(C(=O)O)N=Nc1ccc(cc1)C1c1ccc(c(c1)C)N=NC(C(=O)O)C(=O)C</chem> <chem>CC(c1cccc(c1N)C(C)C)C</chem> <chem>CC(OP(=S)(OC(C)C)SCCC(=O)O)C</chem> <chem>CC(OP(=S)(SCCC(=O)O)O)C</chem> <chem>CC(OP(=S)(S)O)C</chem> <chem>CC(OP(=S)(OC(C)C)S)C</chem>
40	218-915-0	2280-49-1	N-phenyl-N-((trichloromethyl)thio)benzenesulphonamide	
41	204-485-1	121-60-8	N-acetylsulphanilyl chloride	
42	203-846-0	111-21-7	2,2'-[ethane-1,2-diy]bis(oxy)]bisethyl diacetate	
43	202-396-2	95-16-9	benzothiazole	
44	431-770-1	216698-07-6	2-(2-oxo-5-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)-4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenyl acetate	
45	274-641-1	70516-41-5	2-anilino-6'-[ethyl(3-methylbutyl)amino]-3'-methylspiro[isobenzofuran-1(3H),9'-[9H]xanthen]-3-one	
46	226-103-2	5280-68-2	N-(4-chloro-2,5-dimethoxyphenyl)-3-hydroxy-4-[[2-methoxy-5-(phenylamino)carbonyl]phenyl]azo]naphthalene-2-carboxamide	
47	220-474-4	2778-42-9	1,3-bis(1-isocyanato-1-methylethyl)benzene	
48	219-348-1	2421-28-5	benzophenone-3,3':4,4'-tetracarboxylic dianhydride	
49	205-201-9	135-57-9	N,N'-dithiodi-o-phenylenedibenzamide	
50	258-904-8	53988-10-6	1,3-dihydro-4-(or 5)-methyl-2H-benzimidazole-2-thione	
51	229-563-2	6610-29-3	4-methylthiosemicarbazide	
52	222-530-3	3520-72-7	4,4'-[(3,3'-dichloro[1,1'-biphenyl]-4,4'-diy)]bis(azo)]bis[2,4-dihydro-5-methyl-2-phenyl-3H-pyrazol-3-one]	
53	218-487-5	2162-74-5	bis(2,6-diisopropylphenyl)carbodiimide	
54	275-965-6	71735-74-5	ethyl 3-[[bis(1-methylethoxy)phosphinothioyl]thio]propionate	

85	448-060-0	727678-39-9	2-[2-(3-butoxypropyl)-1,1-dioxo-1,2,4-benzothiaziazin-3-yl]-5'-tert-butyl-2-(5,5-dimethyl-2,4-dioxo-1,3-oxazolidin-3-yl)-2'-[(2-ethylhexyl)thio]acetanilide	<chem>OC(=O)C=CC(=O)Nc1ccc(cc1)Cc1ccc(cc1)N</chem> <chem>O=C(Nc1ccc(cc1)Cc1ccc(cc1)NC(=O)C=CC(=O)O)C=CC(=O)O</chem> <chem>OCCCN1C(=Nc2c(S1(=O)=O)C(=O)C(=O)NC(=O)C(O)C(C)C</chem>
86	282-810-6	84434-11-7	ethyl phenyl(2,4,6-trimethylbenzoyl)phosphinate	<chem>CCCC(CSc1ccc(cc1N)C(C)C)CC</chem> <chem>CCCC(CSc1ccc(cc1NC(=O)C(C1=Nc2cccc2S(=O)(=O)N1CCCCO)NC(=O)C(O)C(C)C(C)C)CC</chem> <chem>CCCCOCCCN1C(=Nc2c(S1(=O)=O)C(=O)C(=O)Nc1cc(ccc1)SCC(CCC)C)C(C)C)NC(=O)C(O)C(C)C</chem> <chem>CCCC(CSc1ccc(cc1NC(=O)C(C1=Nc2cccc2S(=O)(=O)N1CCCCO)N)C(C)(C)CC</chem>
87	275-639-3	71566-54-6	diisopropyl 3,3'-[(2,5-dichloro-1,4-phenylene)bis(iminocarbonyl(2-hydroxy-3,1-naphthylene)azo)]bis[4-methylbenzoate]	<chem>CCCCOCCCN(S(=O)(=O)C1c1cccc1N)C(=O)C(C(=O)O)N</chem> <chem>CCCCOCCCN1C(=Nc2c(S1(=O)=O)C(=O)C(=O)O)NC(=O)C(O)C(C)C</chem> <chem>CCCCOCCCN1C(=Nc2c(S1(=O)=O)C(=O)C(=O)O)N</chem> <chem>CCCCOCCNS(=O)(=O)C1c1cccc1N</chem> <chem>OCCCN(S(=O)(=O)C1c1cccc1N)C(=O)C(C(=O)O)N</chem> <chem>OCCNS(=O)(=O)C1c1cccc1N</chem> <chem>Cc1cc(C)c(c(c1)C)C(=O)P(=O)(c1cccc1)O</chem> <chem>Nc1cc(C)c(c1)C)N</chem>
88	257-077-0	51240-95-0	1,1,3,3-tetramethylbutyl peroxyneodecanoate	<chem>Cc1ccc(cc1N=Nc1c(O)c(cc2c1cccc2)C(=O)O)C(=O)O</chem>
89	215-925-7	1453-58-3	3-methylpyrazole	<chem>OC(=O)c1ccc(c(c1)N=Nc1c(O)c(cc2c1cccc2)C(=O)Nc1cc(C)c(cc1)C)N</chem>
90	206-982-9	407-25-0	trifluoroacetic anhydride	<chem>Clc1cc(NC(=O)c2cc3cccc3c(c2O)N=Nc2cc(ccc2C)C(=O)O)c(cc1NC(=O)c1cc2cccc2c(c1O)N=Nc1cc(ccc1C)C(=O)O)Cl</chem>
91	202-112-7	91-97-4	3,3'-dimethylbiphenyl-4,4'-diyl diisocyanate	<chem>OOCC(C)C(C)C(C)C</chem> <chem>NNC=CC(=O)C</chem>
92	201-061-8	77-83-8	ethyl 2,3-epoxy-3-phenylbutyrate	<chem>OC(=O)C1OC1(C)c1cccc1</chem>
93	479-930-8	613222-52-9	1,6-Bis-[(2,2-dimethyl-3-lauroyloxy-propylidene)-amino]hexane	<chem>OCC(C=NC(C)C)C(C)C</chem> <chem>OC(=O)C10C1(C)c1cccc1</chem> <chem>CCCCCCCCCCC(=O)OCC(C=NC(C)C)C(C)C</chem> <chem>OC(=O)c1cc(c(c1)C)C(C)O)C(C)C</chem>
94	267-342-2	67845-93-6	hexadecyl 3,5-bis-tert-butyl-4-hydroxybenzoate	<chem>Clc1cc(C)c(cc1N=Nc1c(O)c(cc2c1cccc2)C(=O)O)C1</chem>
95	229-440-3	6535-46-2	3-hydroxy-N-(o-tolyl)-4-[(2,4,5-trichlorophenyl)azo]naphthalene-2-carboxamide	<chem>NNc1ccc(cc1N(=O)=O)C</chem>
96	219-372-2	2425-85-6	1-(4-methyl-2-nitrophenylazo)-2-naphthol	

123	424-450-6	152628-03-0	1H-Benzimidazole-5-carboxylic acid, 7-methyl-2-propyl-	<chem>OC(=O)CCN(c1ccc(cc1)N=NC1ccc(cc1C(=O)O)N(=O)=O)C</chem>
124	617-143-5	80675-49-6	Butanamide, 2-[2-(2-methoxy-5-nitrophenyl)diazonyl]-N-(2-methoxyphenyl)-3-oxo-	<chem>OC(=O)C1cc(C)c(c1)N</chem>
125	244-776-0	22094-93-5	2,2'-[(2,2',5,5'-tetrachloro[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl)bis(azo)]bis[N-(2,4-dimethylphenyl)-3-oxobutyramide]	<chem>CC1ccc(c(c1)C)N</chem>
126	235-425-2	12225-06-8	N-(2,3-dihydro-2-oxo-1H-benzimidazol-5-yl)-3-hydroxy-4-[[2-methoxy-5-[(phenylamino)carbonyl]phenyl]azo]naphthalene-2-carboxamide	<chem>CC(=O)C(C(=O)O)N=NC1cc(C)c(cc1C)c(cc1C)N=NC(C(=O)O)C(=O)C</chem>
127	201-004-7	77-09-8	phenolphthalein	<chem>Cc1ccc(c(c1)C)NC(=O)C(C(=O)O)N=NC1cc(C)c(cc1C)c1cc(C)c(cc1C)N=NC(C(=O)O)C(=O)C</chem>
128	700-641-2	1261240-30-5	di-tert-butyl-2-(5-tert-butyl-2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)phenyl 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzoate	<chem>CC1ccc(cc1)N=NC1c(O)c(cc2c1ccc2)C(=O)O)C(=O)Nc1ccccc1</chem>
129	419-040-9	89604-92-2	2-mercaptopbenzothiazolyl-(Z)-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(tert-butoxycarbonyl)isopropoxyiminoacetate	<chem>CC1ccc(cc1)N=NC1c(O)c(cc2c1ccc2)C(=O)O)C(=O)Nc1ccccc1</chem>
130	438-020-0	3159-07-7	Dibenzo[b,f][1,4]thiazepin-11(10H)-one	<chem>CC1ccc(cc1)N=NC1c(O)c(cc2c1ccc2)C(=O)O)C(=O)Nc1ccccc1</chem>
131	219-351-8	2422-91-5	methylidynetri-p-phenylene trisocyanate	<chem>CC1ccc(cc1)N=NC1c(O)c(cc2c1ccc2)C(=O)O)C(=O)Nc1ccccc1</chem>
132	200-184-4	53-84-9	nadide	<chem>CC1ccc(cc1)N=NC1c(O)c(cc2c1ccc2)C(=O)O)C(=O)Nc1ccccc1</chem>
133	421-320-0	118289-55-7	2H-Indol-2-one, 6-chloro-5-(2-chloroethyl)-1,3-dihydro-	<chem>CC1ccc(cc1)N=NC1c(O)c(cc2c1ccc2)C(=O)O)C(=O)Nc1ccccc1</chem>
134	423-860-2	56309-94-5	Cyclohexanone, 4-(1,4-dioxaspiro[4.5]dec-8-yl)-	<chem>CC1ccc(cc1)N=NC1c(O)c(cc2c1ccc2)C(=O)O)C(=O)Nc1ccccc1</chem>

135	250-799-7	31775-20-9	2,2'-[[3,3'-dichloro[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl]bis(azo)]bis[N-(4-ethoxyphenyl)-3-oxobutyramide]	CC(=O)C(C(=O)O)N=Nc1ccc(cc1Cl)c1ccc(c(c1)Cl)N=NC(C(=O)O)C(=O)C(=O)C(=O)C
136	248-433-6	27375-52-6	N-[4-[(2-hydroxyethyl)sulphonyl]phenyl]acetamide	CCOC1ccc(cc1)NC(=O)C(C(=O)N)N=Nc1ccc(cc1Cl)c1ccc(cc1Cl)c1ccc(c(c1)Cl)N=NC(C(=O)O)C(=O)C
137	600-553-3	10429-07-9	Androstan-17-one, 3-[[[4-methylphenyl]sulfonyl]oxy]-, (3β,5α)-	OCCS(=O)(=O)c1ccc(cc1)N
138	616-020-3	7381-13-7	2H-Azepin-2-one, 1,1'-(1,3-phenylenedicarbonyl)bis[hexahydro-	Cc1ccc(cc1)S(=O)(=O)c1ccc(cc1)N
139	427-230-8	5571-36-8	Estra-5(10),9(11)-diene-3,17-dione, cyclic 3-(1,2-ethanediy) acetal	OC1CCC2(C1)CCC1C2CC2(C1CCC2=O)C
140	261-785-5	59487-23-9	4-[[5-[[[4-(aminocarbonyl)phenylamino]carbonyl]-2-methoxyphenyl]azo]-N-(5-chloro-2,4-dimethoxyphenyl)-3-hydroxynaphthalene-2-carboxamide	O=C1C1CCC2=C(C1)CCC1C2=CCC2(C1CCC2=O)C
141	257-776-0	52238-92-3	N,N'-(2,5-dichloro-1,4-phenylene)bis[4-[[2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl]azo]-3-hydroxynaphthalene-2-carboxamide]	COc1ccc(cc1N)C(=O)C(=O)Nc1ccc(cc1)C(=O)C(=O)O
142	235-464-5	12236-64-5	N-[4-(acetylamino)phenyl]-4-[[5-(aminocarbonyl)-2-chlorophenyl]azo]-3-hydroxynaphthalene-2-carboxamide	COc1ccc(cc1N)C(=O)C(=O)Nc1ccc(cc1)C(=O)C(=O)O
143	204-844-2	127-47-9	retinyl acetate	COc1ccc(cc1N)C(=O)C(=O)Nc1ccc(cc1)C(=O)C(=O)O
144	203-565-3	108-26-9	2,4-dihydro-5-methyl-3H-pyrazol-3-one	NC(=O)c1ccc(c(c1)N=Nc1c(O)c(cc2c1cccc2)C(=O)O)Cl
145	200-926-7	76-02-8	trichloroacetyl chloride	Nc1ccc(cc1)NC(=O)c1cc2cccc2c(c1O)N=Nc1cc(ccc1Cl)C(=O)O
146	935-211-5	1305113-15-8	1,4:3,6-dianhydro-2,5-bis-O-(diphenoxyphosphoryl)-D-glucitol	Clc1ccc(cc1N)Nc1c(O)c(cc2c1cccc2)C(=O)O
147	426-370-7	1017183-70-8	3-(4-fluorophenyl)-2-methylpropionylchloride	CC(=CC=CC(=CC(=O)O)C)C=CC1=C(C)C(C)C(C)C
148	426-790-0	162208-27-7	diethyl thiophosphoryl (Z)-(2-aminothiazol-4-yl)methoxyimino acetate	CC(=O)CC(=O)NN
				ClC(Cl)Cl
				OC1COC2C1OCC2OP(=O)(O)O
				OP(=O)(OC1COC2C1OCC2OP(=O)(O)O)O
				CC(C(=O)O)Cc1ccc(cc1)F
				CON=C(c1csc(n1)N)C(=O)O
				Nc1nc(cs1)C(=O)C(=O)O
				CCOP(=S)(OC(=O)C(=O)C(=O)C1csc(n1)N)O
				O=C(c1csc(n1)N)C(=O)OP(=S)(O)O

161	700-596-9	14442-94-5	3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-N-octadecylpropanamide	<chem>OCC(=O)C1(OC(C)C(O)CC2C1(C)CC(O)C1(C2CC2=CC(=O)C=CC12C)O</chem>
162	230-363-2	7069-42-3	retinyl propionate	<chem>OCC(=O)C(O)C(CC2C1(C)CC(O)C1(C2CC2=CC(=O)C=CC12C)OC(O)C)C</chem>
163	228-771-0	6358-37-8	2,2'-[(3,3'-dichloro[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl)bis(azo)]bis[N-(4-methylphenyl)-3-oxobutylamide]	<chem>OCC(=O)C(O)C(O)C(C)CC2C1(C)CC(O)C1(C2CC2=CC(=O)C=CC12C)O</chem> <chem>OC(=O)CC1CC(C(=O)O)C=CC1=C(C)C(C)C</chem> <chem>Cc1ccc(cc1)N</chem>
164	428-020-9	6195-20-6	dodecyl 3-amino-4-chlorobenzoate	<chem>CC(=O)C(C(=O)O)N=Nc1ccc(cc1)C1ccc(c(c1)C)N=NC(C(=O)O)C(=O)C</chem>
165	421-750-9	57280-22-5	4,4-dimethyl-3,5,8-trioxabicyclo[5.1.0]octane	<chem>Cc1ccc(cc1)NC(=O)C(C(=O)O)N=Nc1ccc(cc1)C1ccc(c(c1)C)N=NC(C(=O)O)C(=O)C</chem>
166	253-292-9	36968-27-1	4-[[4-(aminocarbonyl)phenyl]azo]-3-hydroxy-N-(2-methoxyphenyl)naphthalene-2-carboxamide	<chem>OC(=O)C1ccc(c(c1)N)Cl</chem> <chem>OC1COC(OCC1O)C(C)C</chem> <chem>NC(=O)C1ccc(cc1)N=Nc1c(O)c(cc2c1ccc2)C(=O)O</chem>
167	700-609-8	1231148-36-9	14,14',15,15'-tetrahydro-7,7'-spirobi[[benzo[b,g][1,9,4,6]dioxadiazacyclododecine]	<chem>OC(=O)C1ccc(cc1)N=Nc1c(O)c(cc2c1cccc2)C(=O)O</chem> <chem>COC1cccc1NC(=O)C1cc2cccc2c(c1O)N=Nc1ccc(cc1)C(=O)O</chem> <chem>Nc1cccc1OCC(COCc1cccc1N)(COC1cccc1N)COC1cccc1N</chem>
168	480-250-9	144978-12-1	1,2-Pyrrolidinedicarboxylic acid, 5-oxo-, 1-(1,1-dimethylethyl) 2-ethyl ester, (2S)-	<chem>OC(=O)C1CCC(=O)N1C(=O)OC(C)C(C)C</chem>
169	269-389-4	68227-78-1	N-(5-chloro-2-methylphenyl)-3-hydroxy-4-[[2-methoxy-5-[(phenylamino)carbonyl]phenyl]azo]naphthalene-2-carboxamide	<chem>Clc1ccc(c(c1)N)C</chem> <chem>COC1ccc(cc1N=Nc1c(O)c(cc2c1cccc2)C(=O)O)C(=O)Nc1cccc1</chem> <chem>COC1ccc(cc1N=Nc1c(O)c(cc2c1cccc2)C(=O)O)C(=O)O</chem> <chem>COC1ccc(cc1N=Nc1c(O)c(cc2c1cccc2)C(=O)Nc1cc(Cl)ccc1C)C(=O)O</chem> <chem>Cc1ccc(c(c1)C(=O)O)N(N)N</chem> <chem>FC(=C(OC(C(C(=O)O)(F)(F)(F)F)F)F)F</chem> <chem>NCC(OC)OC</chem> <chem>CSc1cccc(c1)N</chem> <chem>NCC1Nc2cccc2Cc2c1cccc2</chem> <chem>O=C(c1cccc1C(=O)O)NCC1Nc2cccc2Cc2c1cccc2</chem>
170	689-732-5	956317-36-5	5-methyl-2-(2H-1,2,3-triazol-2-yl)benzoic acid	
171	700-677-9	19190-61-5	Methyl 2,2,3,3,4,4-hexafluoro-4-(trifluoroethoxy)butanoate	
172	610-472-5	49707-23-5	2-Propenamide, N-(2,2-dimethoxyethyl)-	
173	700-694-1	1207339-61-4	2-((3-(methylsulfanyl)phenyl)carbonyloxy)ethyl prop-2-enoate	
174	420-030-1	143878-20-0	6-N-Phthalimidomethyl-6,11-dihydro-5H-dibenz[b,e]azepine	

A2 Ergänzende Informationen zur Publikation „Occurrence of emerging persistent and mobile organic contaminants in European water samples“ in der Fachzeitschrift *Water Research*

Table of contents

Table S1. List of target PMOCs sorted by log *D* (pH 7.0).

Table S2. Sample description.

Figure S1. Sampling regions.

Table S3. Materials, chemicals and instrumentation for *Enrichment I-VIII*.

Table S4. Chemicals and instrumentation for the instrumental methods *Chromatography A-D*.

Figure S2. Gradient profiles of the mobile phases as a function of time.

Table S5A. *Chromatography A* (MMLC-MS/MS) mass spectrometric parameters.

Table S5B. *Chromatography B* (HILIC-MS/MS) mass spectrometric parameters.

Table S5C. *Chromatography C₁/C₂* (RPLC-MS/MS) mass spectrometric parameters.

Table S5D. *Chromatography D₁/D₂* (SFC-HRMS) mass spectrometric parameters.

Method performance evaluation and semi-quantitative concentration estimates

Table S6. Retention time repeatability for the different chromatographic methods over a relevant sample batch bracketed between standards.

Table S7. Instrumental detection limits for the target PMOCs given as injected quantities [ng] with the different instrumental methods.

Table S8. Retention factor *k'* of the target chemicals for the different chromatographic methods.

Figure S3. Retention factors *k'* of all PMOCs for the different chromatographic method.

Figure S4. Retention factors *k'* versus log *D* for all PMOCs and all chromatographic methods.

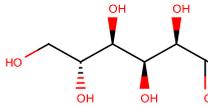
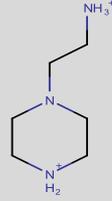
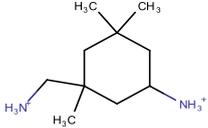
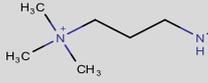
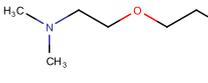
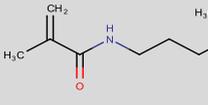
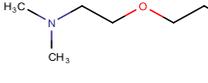
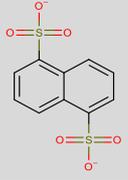
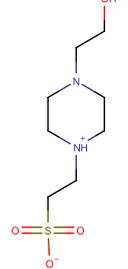
Figure S5. Number of PMOCs that were amenable to the different combinations of enrichment and instrumental methods.

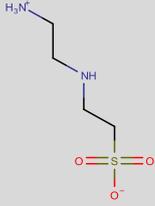
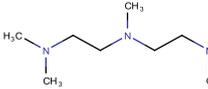
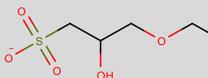
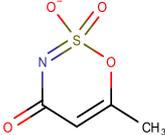
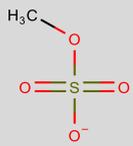
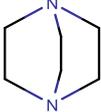
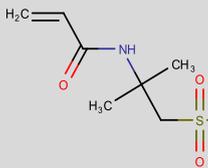
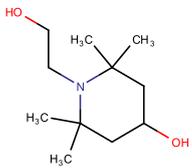
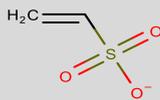
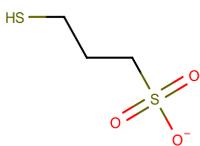
Table S9. Enrichment and instrumental methods that were successfully applied for analysis of the different PMOCs (indicated with a +).

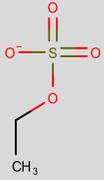
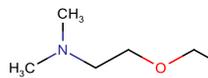
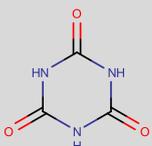
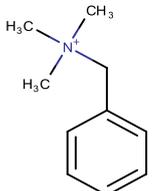
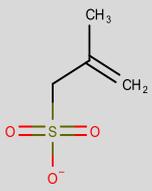
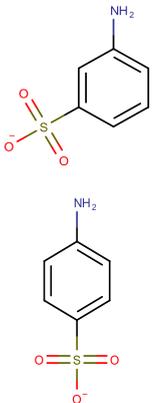
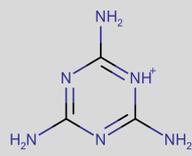
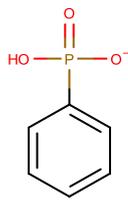
Figure S6. Frequency of detection (including all methods) and maximum estimated concentration of the detected PMOCs in the 14 water samples.

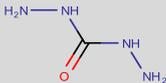
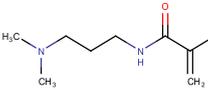
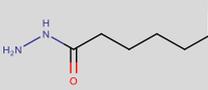
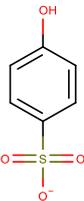
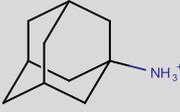
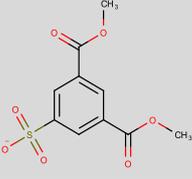
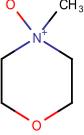
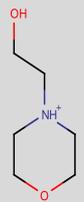
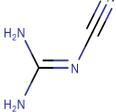
Table S10. Chromatography method-specific detection frequencies (number of samples) of the detected PMOCs in the 14 water samples.

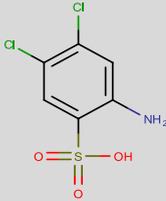
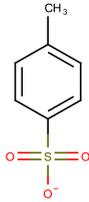
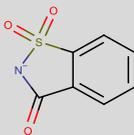
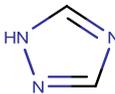
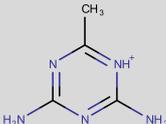
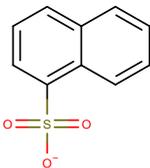
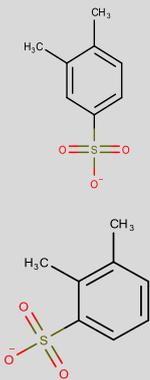
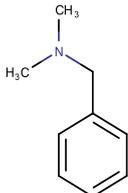
Table S1. List of target PMOCs sorted by log *D* (pH 7.0)¹.

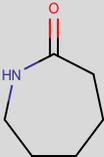
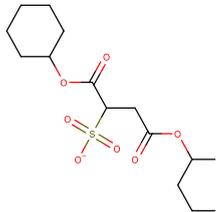
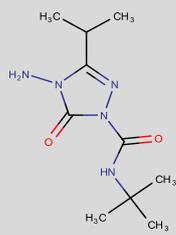
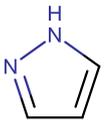
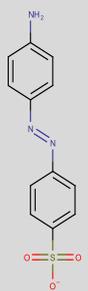
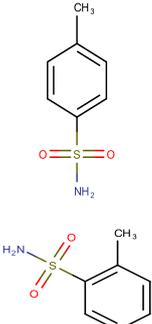
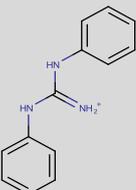
Index	CAS registry number	Substance name	log <i>D</i> (pH 7.0) ¹	Structure (main structure at pH 7.0) ¹	Supplier	Chemical standard grade
ID-1	299-27-4	(Potassium) gluconate	-6.68		Sigma Aldrich	Pharmaceutical secondary standard
ID-2	140-31-8	2-Piperazin-1-ylethylamine	-5.61		Fluorochem	
ID-3	2855-13-2	Isophoronediamine	-4.59		abcr GmbH	99%
ID-4	45021-77-0	(3-Acrylamidopropyl)-trimethylammonium (chloride)	-4.13		Sigma Aldrich	75%
ID-5	83016-70-0	N,N,N'-Trimethyl-N'-(2-hydroxyethyl)-bis(2-aminoethyl)ether	-3.99		abcr GmbH	98%
ID-6	51410-72-1	Methacrylamido propyl trimethyl ammonium (chloride)	-3.74		abcr GmbH	50%
ID-7	3033-62-3	Bis(2-dimethylaminoethyl)ether	-3.57		Alfa Aesar	98%
ID-8	81-04-9	1,5-Naphthalenedisulfonic acid	-3.43		abcr GmbH	
ID-9	7365-45-9	2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl]ethanesulfonic acid	-3.25		Sigma Aldrich	≥ 99,5 %

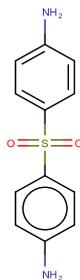
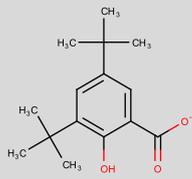
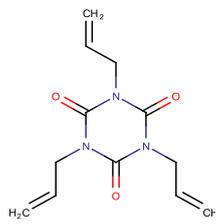
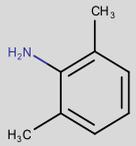
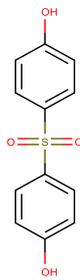
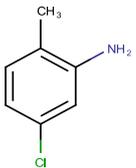
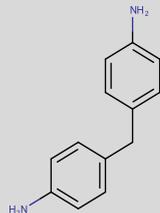
ID-10	34730-59-1	(Sodium) 2-(2-aminoethylamino)ethane-sulfonate	-3.25		Ark Pharm Fine Chemicals	40%
ID-11	3030-47-5	1,1,4,7,7-Pentamethyl-diethylenetriamine	-3.20		Acros Organics	≥ 99,5 %
ID-12	52556-42-0	3-Allyloxy-2-hydroxy-1-propanesulfonic acid (sodium salt)	-3.13		Sigma Aldrich	
ID-13	55589-62-3	Acesulfame (K)	-3.06		Sigma Aldrich	≥ 99 %
ID-14	512-42-5	(Sodium) methyl sulfate	-2.84		Sigma Aldrich	
ID-15	280-57-9	1,4-diazabicyclo-[2.2.2]octane	-2.83		Sigma Aldrich	≥ 99 %
ID-16	5165-97-9	(Sodium) 2-acrylamino-2-methylpropane sulfonate	-2.71		abcr GmbH	
ID-17	52722-86-8	4-Hydroxy-1-(2-hydroxyethyl)-2,2,6,6-tetramethylpiperidine	-2.62		abcr GmbH	98%
ID-18	3039-83-6	(Sodium) vinylsulfonate	-2.60		abcr GmbH	25%
ID-19	17636-10-1	3-Mercapto-1-propanesulfonic acid (sodium salt)	-2.56		Sigma Aldrich	90 % (technical grade)

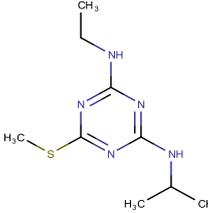
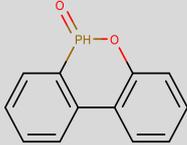
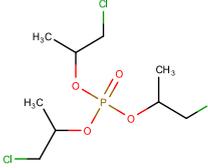
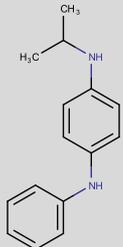
ID-20	342573-75-5	(1-Ethyl-3-methylimidazolium) ethyl sulfate	-2.48		Fluka Analytical	≥ 98,5 %
ID-21	1704-62-7	2-(2-(Dimethylamino)ethoxy) ethanol	-2.41		Sigma Aldrich	98%
ID-22	108-80-5	Cyanuric acid	-2.39		Sigma Aldrich	analytical standard
ID-23	56-93-9	Benzyltrimethylammonium (chloride)	-2.24		Sigma Aldrich	97%
ID-24	1561-92-8	2-Methyl-2-propene-1-sulfonic acid (sodium salt)	-2.21		Sigma Aldrich	98%
ID-25	121-47-1 121-57-3	Sulfanilic acid	-2.04		Sigma Aldrich	99%
ID-26	108-78-1	Melamine	-2.02		Sigma Aldrich	analytical standard
ID-27	1571-33-1	Phenylphosphonic acid	-1.98		Sigma Aldrich	98%

ID-28	497-18-7	Carbodihydrazide	-1.96		Sigma Aldrich	98%
ID-29	5205-93-6	N-(3-(dimethylamino)propyl)methacrylamide	-1.85		Fluorochem	
ID-30	1071-93-8	Adipic acid dihydrazide	-1.72		Fluorochem	
ID-31	98-67-9	p-Phenolsulfonic acid hydrate	-1.53		abcr GmbH	85%
ID-32	768-94-5	Adamantan-1-amine	-1.49		Fluorochem	
ID-33	1493-13-6	Trifluoromethanesulfonic acid	-1.23		Sigma Aldrich	≥ 99 %
ID-34	3965-55-7	Dimethyl 5-sulfoisophthalate (sodium salt)	-1.22		Alfa Aesar	98%
ID-35	7529-22-8	N-methylmorpholin-N-oxid	-1.15		Sigma Aldrich	97%
ID-36	622-40-2	2-(4-Morpholinyl)ethanol	-1.13		Sigma Aldrich	99%
ID-37	461-58-5	Cyanoguanidine	-1.03		Acros Organics	99.50%

ID-38	6331-96-0	2-Amino-4,5-Dichlorobenzenesulfonic acid	-0.84		Fluorochem	
ID-39	104-15-4	p-Toluenesulfonic acid	-0.71		MP Biomedicals	≥ 99 %
ID-40	81-07-2	Saccharine	-0.49		Sigma Aldrich	≥ 99%
ID-41	288-88-0	1,2,4-Triazole	-0.41		Fluorochem	
ID-42	542-02-9	6-Methyl-1,3,5-triazine-diamine	-0.39		Sigma Aldrich	98%
ID-43	85-47-2	Naphthalene-1-sulfonic acid	-0.23		Fluorochem	
ID-44	1300-72-7 25321-41-9	Dimethylbenzenesulfonic acid	-0.20		Sigma Aldrich	
ID-45	103-83-3	Benzyl dimethylamine	0.02		Serva	research grade

ID-46	105-60-2	ϵ -Caprolactam	0.31		Sigma Aldrich	analytical standard
ID-47	23386-52-9	Dicyclohexyl sulfosuccinate (sodium salt)	0.42		Sigma Aldrich	$\geq 98\%$
ID-48	129909-90-6	Amicarbazone	0.96		Sigma Aldrich	99.90%
ID-49	288-13-1	Pyrazole	0.28		Sigma Aldrich	98%
ID-50	104-23-4	4-((4-Aminophenyl)diazenyl)benzene sulfonic acid	0.36		Fluorochem	
ID-51	70-55-3 88-19-7	Toluenesulfonamide	1.09		Sigma Aldrich	99%
ID-52	102-06-7	1,3-Diphenylguanidine	1.23		Sigma Aldrich	97%

ID-53	80-08-0	Dapsone	1.27		Sigma Aldrich	99.50%
ID-54	19715-19-6	3,5-Di-tert-butylsalicylic acid	1.62		Sigma Aldrich	97%
ID-55	1025-15-6	1,3,5-Triallyl-1,3,5-triazinane-2,4,6-trione	1.83		Fluorochem	
ID-56	87-62-7	2,6-Dimethylaniline	2.17		Sigma Aldrich	Analytical standard
ID-57	80-09-1	Bisphenol S	2.17		Sigma Aldrich	≥ 98 %
ID-58	97-39-2	1,3-Di-o-tolylguanidine	2.25		Sigma Aldrich	99%
ID-59	95-79-4	5-Chloro-2-methylaniline	2.26		Alfa Aesar	99%
ID-60	101-77-9	4,4'-Diaminodiphenylmethane	2.40		Sigma Aldrich	analytical standard

ID-61	834-12-8	Ametryn	2.57		Sigma Aldrich	98.50%
ID-62	35948-25-5	9,10-Dihydro-9-oxa-10-phosphaphenanthrene-10-oxide	2.74		abcr GmbH	97%
ID-63	13674-84-5	Tri-(2-chloroisopropyl)phosphate	3.36		Sigma Aldrich	analytical standard
ID-64	101-72-4	N1-isopropyl-N4-phenylbenzene-1,4-diamine	3.56		Fluorochem	

¹ Calculated using ChemAxon (<https://www.chemaxon.com/download/jchem-for-office/#jc4x>)

Table S2. Sample description.

Name	Collection date	Sample type	Depth	Location	Connections between the samples
DE-SW-1	19.10.2016	surface water from a river with expected sources from urban/industrial wastewater	-	South Hessian (Germany)	
DE-SW-2	19.10.2016	surface water from a river with expected sources from urban/industrial wastewater	-	South Hessian (Germany)	
DE-SW-3	24.10.2016	surface water from a river with expected sources from industrial wastewater	-	South Hessian (Germany)	DE-SW-3 and DE-GW-4 are hydrologically connected
DE-GW-4	26.10.2016	groundwater with expected sources from industrial wastewater	10.5 m	South Hessian (Germany)	DE-GW-4 and DE-SW-3 are hydrologically connected
DE-GW-5	20.10.2016	groundwater with expected sources from industrial wastewater	93 m	South Hessian (Germany)	
DE-GW-6	25.10.2016	groundwater with expected sources from urban/industrial wastewater	75 m	South Hessian (Germany)	
DE-GW-7	01.11.2016	groundwater from an active drinking water fountain with infiltration of municipal wastewater	32.3 m	South Hessian (Germany)	
ES-SW-1	20.10.2016	surface water from a river near a landfill with expected sources from urban/industrial landfill	-	West Galicia (Spain)	ES-SW-1 is connected with ES-SW-2; large dilution between the sampling points (~10 km) (see also comment to ES-SW-2)
ES-SW-2	20.10.2016	surface water from a river with expected sources from urban/industrial landfill	-	West Galicia (Spain)	ES-SW-2 is connected with ES-SW-1, the river from which sample ES-SW-1 was collected runs into the river where sample ES-SW-2 was collected, with a large dilution in between the two sampling points;

ES-SW-3	20.10.2016	surface water from a river with expected sources from urban/industrial landfill	-	West Galicia (Spain)	ES-SW-2 is connected with ES-SW-3, there is a large dam between both locations ES-SW-3 is connected with ES-SW-2 with a large dam between ES-SW-2 and ES-SW-3
<i>Samples from full-scale Reverse Osmosis installation operated at drinking water treatment plant for research purposes</i>					
NL-SW-1	03.11.2016	surface water from a canal connected to Oude Rijn river	-	Zuid Holland (Netherlands)	all Dutch samples are connected among each other; the surface water was infiltrated to the water of the bank filtrate;
NL-BF-2	03.11.2016	river bank filtrate from sample NL-SW-1	15-40 m	Zuid Holland (Netherlands)	the bank filtrate was used for the reverse osmosis; the permeate is the filtrated water and the concentrate is the residue (brine) of the reverse osmosis process
NL-ROC-3	03.11.2016	reverse osmosis concentrate produced from river bank filtrate NL-BF-2	-	Zuid Holland (Netherlands)	
NL-ROP-4	03.11.2016	reverse osmosis permeate produced from river bank filtrate NL-BF-2	-	Zuid Holland (Netherlands)	

SW – surface water; GW – groundwater; BF – bank filtrate; ROC – reverse osmosis concentrate; ROP – reverse osmosis permeate

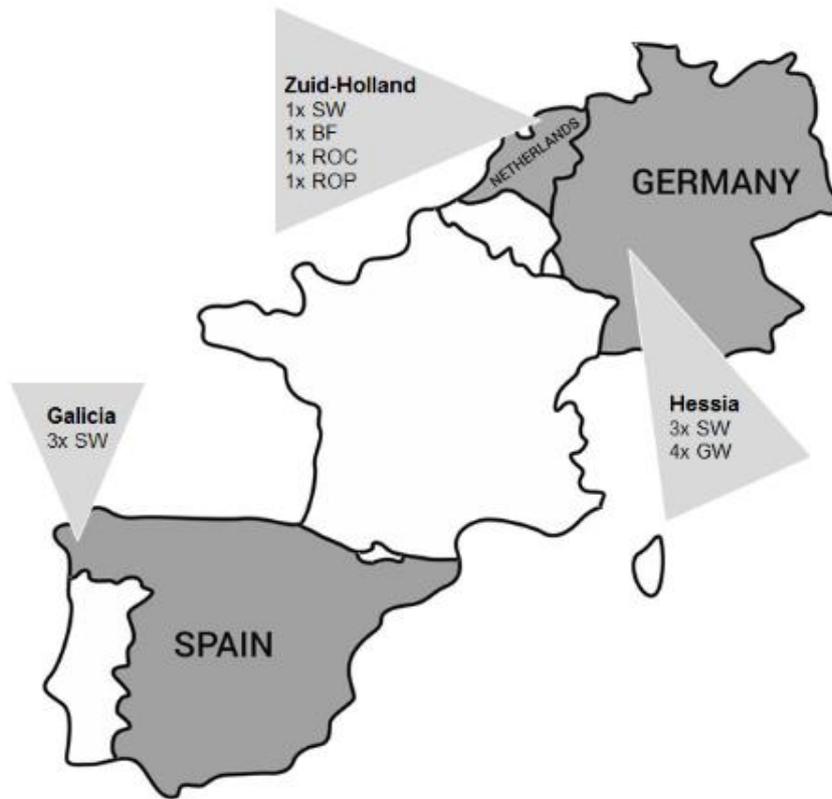


Figure S1. Sampling regions.

Table S3. Materials, chemicals and instrumentation for *Enrichment I-VIII*.

Enrichment method	Materials, chemicals and instrumentation
I	<p><u>Materials:</u> Weak anion exchanger (WAX), OASIS, 150 mg, 6 mL (Waters, Milford, United States of America) Cellulose 0.45 µm filters (Millipore, Bedford, MA, United States of America) PP 0.22 µm filters (Millipore, Bedford, MA, United States of America)</p> <p><u>Chemicals:</u> Formic acid, ammonia methanolic solution 7N (Sigma Aldrich, Milwaukee, United States of America)</p>
II	<p><u>Materials:</u> Weak cation exchanger (WCX), OASIS, 150 mg, 6 mL (Waters, Milford, United States of America) Cellulose 0.45 µm filters (Millipore, Bedford, MA, United States of America) PP 0.22 µm filters (Millipore, Bedford, MA, United States of America)</p> <p><u>Chemicals:</u> Formic acid, ammonia methanolic solution 7N (Sigma Aldrich, Milwaukee, United States of America)</p>
III	<p><u>Materials:</u> <i>Multi-layer SPE:</i> Chromabond polypropylene cartridges (3 mL), polyethylene filters (Macherey Nagel, Düren, Germany) Weak anion exchanger (60 mg WAX) and weak cation exchanger (60 mg WCX) (Waters, Eschborn, Germany) ENVI-Carb bulk material, 120-400 mesh, 60 mg (Supelco, Bellefonte, United States of America) Glass fiber filters, GF6 (GE Healthcare, Little Chalfont, UK) Cellulose syringe 0.2 µm filters (GE Healthcare, Little Chalfont, UK)</p> <p><u>Chemicals:</u> Formic acid (98-100%, Merck, Darmstadt, Germany), methanol (LC-MS Ultra Grade), ammonium hydroxide (30% in water), dichloromethane, acetonitrile (Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Germany), ultrapure water (18 MΩcm, supplied by Simplicity UV water purification system, Merck, Darmstadt, Germany)</p>
IV	<p><u>Instrumentation:</u> Genevac EZ-2 evaporation unit (Genevac, Ipswich, UK) Cellulose syringe 0.2 µm filters (GE Healthcare, Little Chalfont, UK)</p> <p><u>Chemicals:</u> Acetonitrile (Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Germany)</p>
V	<p><u>Materials and instrumentation:</u> Weak anion exchanger (WAX), OASIS, 150 mg, 6 mL (Waters, Eschborn, Germany) Freestyle SPE unit (LCTech GmbH, Obertaufkirchen, Germany) Glas Fibre Filters Whatman (GE Healthcare, Freiburg, Germany)</p> <p><u>Chemicals:</u> Methanol (Biosolve, Valkenswaard, Netherlands) Hydrochloric acid (Chemsolute, Th. Geyer, Berlin, Germany) Glycine, formic acid (Sigma Aldrich, Taufkirchen, Germany) Ammonium hydroxide (Fisher Scientific, Schwerte, Germany)</p>

Materials and instrumentation:

Moderate cation exchanger (MCX), OASIS, 150 mg, 6 mL (Waters, Eschborn, Germany)
Freestyle SPE unit (LCTech GmbH, Obertaufkirchen, Germany)

VI

Chemicals:

Methanol (Biosolve, Valkenswaard, Netherlands)
Hydrochloric acid (Chemsolute, Th. Geyer, Berlin, Germany)
Glycine, formic acid (Sigma Aldrich, Taufkirchen, Germany)
Ammonium hydroxide (Fisher Scientific, Schwerte, Germany)

Materials and instrumentation:

Hydroxylated polystyrene divinylbenzene (ENV+), Isolute, 150 mg, 6 mL (Biotage, Uppsala, Sweden)
Freestyle SPE unit (LCTech GmbH, Obertaufkirchen, Germany)

VII

Chemicals:

Methanol (Biosolve, Valkenswaard, Netherlands)
Disodium hydrogen phosphate, potassium dihydrogen phosphate (abcr GmbH, Karlsruhe, Germany)

Materials and instrumentation:

Graphitized carbon black (ENVI-Carb), Supelclean, 150 mg, 6 mL (Sigma Aldrich, Steinheim, Germany)
Freestyle SPE unit (LCTech GmbH, Obertaufkirchen, Germany)

VIII

Chemicals:

Methanol (Biosolve, Valkenswaard, Netherlands)
Dichloromethane (Fisher Scientific GmbH, Schwerte, Germany)
Glycine, formic acid, sodium hydroxide (Sigma Aldrich, Taufkirchen, Germany)

Table S4. Chemicals and instrumentation for the instrumental methods *Chromatography A-D*.

Method	Material
A	<p><u>Instrumentation:</u> HPLC: Varian 212LC Column: Thermo Acclaim Trinity P1 2.1x50mm, 3 μm Mass Spectrometer: Varian 320 MS Software: MS Workstation (Varian)</p> <p><u>Chemicals:</u> Acetonitrile (Merck, Darmstadt, Germany) Ammonia, Acetic acid (Sigma Aldrich, St. Louis, United States of America)</p>
	<p><u>Instrumentation:</u> UHPLC: Nexera X2 (Shimadzu) Column: Waters Acquity BEH Amide 2.1x100mm, 1.7 μm Mass Spectrometer: Qtrap 5500 (AB Sciex) Software: Analyst 1.6.2 (Build 8489) (AB Sciex)</p> <p><u>Chemicals:</u> Acetonitrile (Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Germany) Ammonium formate (Sigma Aldrich, Schnelldorf, Germany)</p>
C ₁ /C ₂	<p><u>Instrumentation:</u> UHPLC: Acquity i-Class (Waters) Column: Waters Acquity UPLC HSS T3, 2.1x50mm, 1.8 μm (C₁) Thermo Scientific™ Hypercarb, 2.1x100mm, 3.0 μm (C₂) Mass Spectrometer: Xevo TQ-S (Waters) Software: MassLynx (Waters)</p> <p><u>Chemicals:</u> Acetonitrile, methanol, ammonium formate (Biosolve, Valkenswaard, Netherlands) Diethylamine (Sigma Aldrich, Taufkirchen, Germany)</p>
	<p><u>Instrumentation:</u> SFC: Acquity UPC² (Waters) Column: Waters Acquity UPC² BEH 3.0x100mm, 1.7 μm (D₁) Waters Acquity UPC² Torus Diol 3.0x100mm, 1.7 μm (D₂) Mass Spectrometer: Synapt G2S (Waters) Software: MassLynx (Waters)</p> <p><u>Chemicals:</u> Carbon dioxide (Air Products, Pennsylvania, USA) Methanol, ammonium hydroxide (Biosolve, Valkenswaard, Netherlands) Formic acid (Sigma Aldrich, Taufkirchen, Germany)</p>

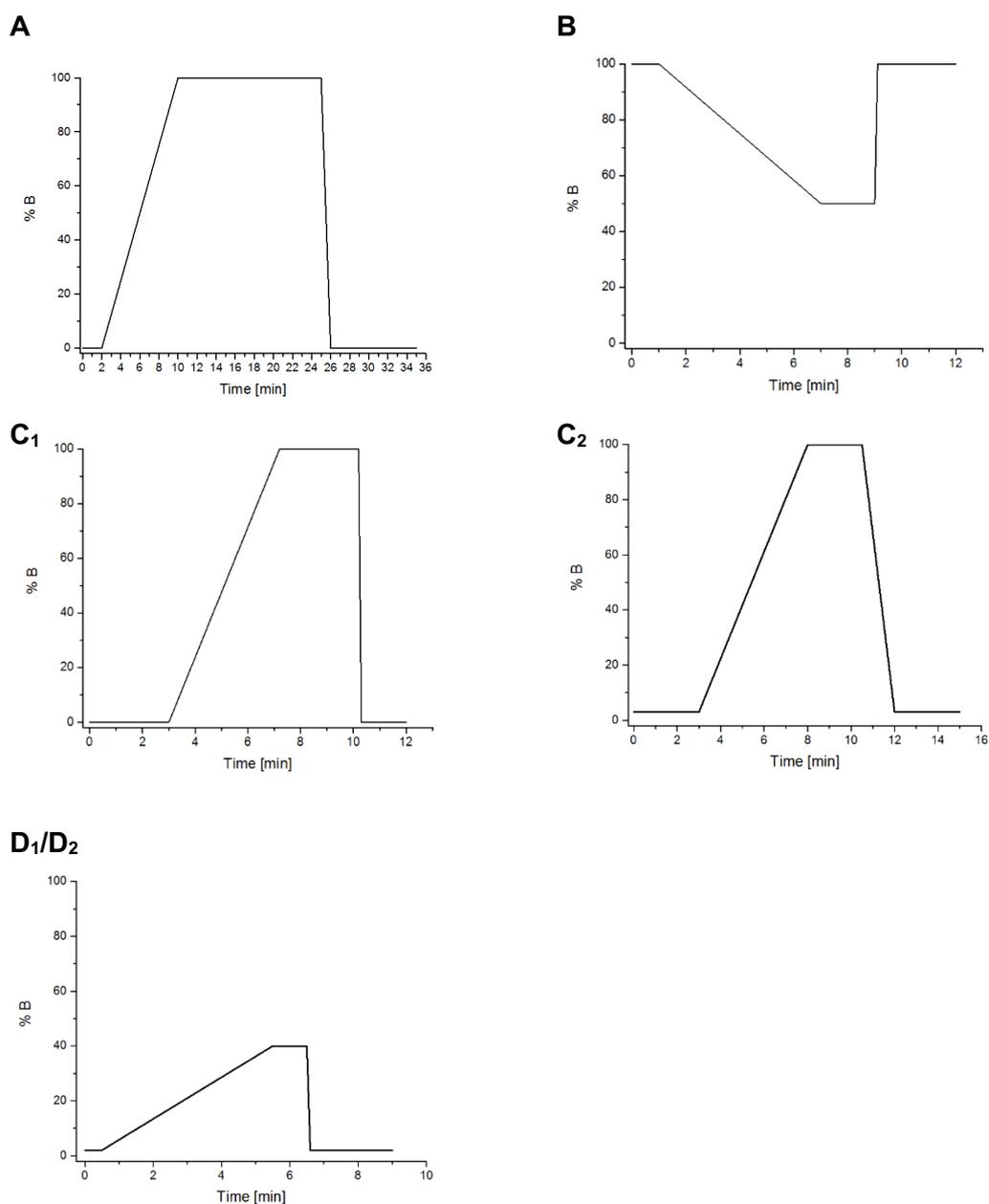


Figure S2. Gradient profiles of the mobile phases as a function of time for A) MMLC on a Acclaim Trinity P1 column; solvent A: H₂O/ACN 98/2, 5 mM NH₄COO, pH 5.5; solvent B: H₂O/ACN 20/80, 20 mM NH₄COO, pH 5.5; B) HILIC on an Acquity BEH Amide column; solvent A: H₂O/ACN 95/5, 5 mM NH₄COO, pH 3; solvent B: H₂O/ACN 5/95, 5 mM NH₄COO, pH 3; C1) RPLC on an Acquity UPLC HSS T3; solvent A: H₂O, 5 mM COOH; solvent B: MeOH, 5 mM COOH; C2) RPLC on a porous graphitic carbon Hypercarb column; solvent A: H₂O, 0.1 % diethylamine; solvent B: ACN, 0.1 % diethylamine; D1/D2) SFC on an Acquity UPC2 BEH and Torus Diol column, respectively; solvent A: CO₂; solvent B: MeOH/H₂O 95/5, 0.2 % NH₄OH; make-up: 0.3 mL min⁻¹ MeOH/H₂O 90/10, 0.1 % COOH, pH 6.

Table S5A. *Chromatography A* (MMLC-MS/MS) mass spectrometric parameters (see also footnote).

Index	ESI mode	Q1 <i>m/z</i>	Q2 <i>m/z</i>	Capillary [V]	Collision energy [eV]
ID-4	pos	171	112	52	8
ID-4	pos	171	84	52	16
ID-6	pos	185	126	44	8.5
ID-6	pos	185	69	44	21
ID-15	pos	113	84	80	14.5
ID-15	pos	113	70	80	17
ID-17	pos	202	102	64	13
ID-17	pos	202	84	64	23.5
ID-21	pos	134	72	36	9
ID-21	pos	134	57	36	22
ID-23	pos	150	91	48	15.5
ID-23	pos	150	65	48	32
ID-26	pos	127	85	64	13.5
ID-26	pos	127	68	64	21
ID-29	pos	171	126	32	9.5
ID-29	pos	171	69	32	19.5
ID-30	pos	175	143	44	6.5
ID-30	pos	175	115	44	14
ID-32	pos	152	135	52	14.5
ID-32	pos	152	93	52	24.5
ID-35	pos	118	101	60	9.5
ID-35	pos	118	71	60	16
ID-36	pos	132	114	48	10.5
ID-36	pos	132	70	48	14
ID-41	pos	70	43	60	16.5
ID-45	pos	136	91	36	13
ID-45	pos	136	65	36	31
ID-46	pos	114	79	72	11
ID-46	pos	114	96	72	9.5
ID-48	pos	242	143	30	6.5
ID-48	pos	242	113	30	26
ID-52	pos	212	119	64	15.5
ID-52	pos	212	94	64	13.5
ID-53	pos	249	156	72	10
ID-53	pos	249	92	72	19.5
ID-56	pos	122	105	56	12
ID-56	pos	122	77	56	23.5
ID-58	pos	240	133	60	16.5
ID-58	pos	240	108	60	17
ID-60	pos	199	106	76	18.5
ID-60	pos	199	77	76	40
ID-61	pos	228	186	56	15
ID-61	pos	228	96	56	21
ID-62	pos	217	199	88	16
ID-62	pos	217	152	88	35.5
ID-63	pos	327	99	44	20
ID-63	pos	327	251	44	7.5

ID-64	pos	227	184	40	13.5
ID-64	pos	227	107	40	36
ID-9	neg	237	80	-96	-27
ID-9	neg	237	206	-96	-19.5
ID-12	neg	195	80	-56	-25.5
ID-12	neg	195	95	-56	-17
ID-13	neg	162	82	-40	-12.5
ID-13	neg	162	40	-40	-15.5
ID-14	neg	111	80	-52	-20
ID-14	neg	111	96	-52	-19.5
ID-16	neg	206	80	-64	-28
ID-16	neg	206	135	-64	-15
ID-18	neg	107	80	-44	-19
ID-18	neg	107	45	-44	-30
ID-19	neg	155	80	-88	-29.5
ID-19	neg	155	121	-88	-13.5
ID-20	neg	125	97	-52	-13.5
ID-20	neg	125	80	-52	-28.5
ID-22	neg	128	85	-40	-9
ID-22	neg	128	42	-40	-13
ID-24	neg	135	80	-48	-15
ID-24	neg	135	64	-48	-45
ID-25	neg	172	80	-72	-24.5
ID-25	neg	172	108	-72	-17.5
ID-33	neg	149	99	-60	-22
ID-33	neg	149	80	-60	-38.5
ID-34	neg	273	150	-76	-27.5
ID-34	neg	273	209	-76	-21.5
ID-37	neg	83	41	-56	-9
ID-37	neg	83	66	-56	-23
ID-39	neg	171	80	-90	-25.5
ID-39	neg	171	107	-90	-20
ID-40	neg	182	106	-56	-17.5
ID-40	neg	182	62	-56	-16.5
ID-43	neg	207	143	-68	-21
ID-43	neg	207	80	-68	-29
ID-44	neg	185	80	-72	-26
ID-44	neg	185	121	-72	-19
ID-47	neg	361	81	-72	-21
ID-47	neg	361	133	-72	-31.5
ID-47	neg	361	81	-72	-21
ID-47	neg	361	133	-72	-31.5
ID-51	neg	170	79	-128	-25
ID-51	neg	170	62	-128	-29
ID-54	neg	249	205	-84	-21.5
ID-54	neg	249	189	-84	-28.5
ID-57	neg	249	108	-92	-29
ID-57	neg	249	156	-92	-20.5

ESI-MS/MS parameters: ESI needle voltage 4000 V; ionization source temperature 50°C; drying gas temperature (N₂) 200 °C; nebulizer gas pressure (N₂) 55 psi; drying gas pressure (N₂) 18 psi; CID gas pressure (Ar) 2 mTorr; resolution of Q1 and Q2 1 u; centroid mode for acquisition

Table S5B. *Chromatography B* (HILIC-MS/MS) mass spectrometric parameters (see also footnote).

Index	ESI mode	Q1 <i>m/z</i>	Q2 <i>m/z</i>	DP [V]	EP [V]	CE [V]	CXP [V]
ID-2	pos	113	84	140	10	20	10
ID-2	pos	113	70	140	10	23	10
ID-2	pos	113	56	140	10	23	10
ID-3	pos	171	154	76	10	19	14
ID-3	pos	171	81	76	10	31	10
ID-3	pos	171	95	76	10	29	10
ID-4	pos	171	112	61	10	17	10
ID-4	pos	171	55	61	10	37	8
ID-4	pos	171	84	61	10	27	10
ID-5	pos	191	102	66	10	23	12
ID-5	pos	191	72	66	10	23	12
ID-5	pos	191	116	66	10	19	12
ID-6	pos	185	126	46	10	17	12
ID-6	pos	185	69	46	10	33	10
ID-6	pos	185	41	46	10	55	8
ID-7	pos	161	72	66	10	23	10
ID-7	pos	161	116	66	10	17	12
ID-7	pos	161	42	66	10	59	8
ID-9	pos	239	131	141	10	29	10
ID-9	pos	239	70	141	10	41	8
ID-9	pos	239	56	141	10	67	8
ID-11	pos	174	72	66	10	25	14
ID-11	pos	174	129	66	10	17	12
ID-11	pos	174	42	66	10	69	10
ID-15	pos	113	84	236	10	29	10
ID-15	pos	113	56	236	10	31	8
ID-15	pos	113	70	236	10	29	10
ID-17	pos	202	102	61	10	25	10
ID-17	pos	202	62	61	10	25	8
ID-17	pos	202	44	61	10	49	8
ID-21	pos	134	72	61	10	19	10
ID-21	pos	134	42	61	10	49	8
ID-21	pos	134	44	61	10	33	8
ID-23	pos	150	91	61	10	25	8
ID-23	pos	150	65	61	10	51	10
ID-23	pos	150	58	61	10	19	8
ID-26	pos	127	85	101	10	25	10
ID-26	pos	127	43	101	10	45	8
ID-26	pos	127	68	101	10	39	10
ID-28	pos	91	65	171	10	25	10
ID-28	pos	91	39	171	10	43	8
ID-28	pos	91	50	171	10	59	8
ID-29	pos	171	126	71	10	19	12
ID-29	pos	171	69	71	10	31	12
ID-29	pos	171	41	71	10	53	8
ID-32	pos	152	135	96	10	23	12
ID-32	pos	152	77	96	10	55	10
ID-32	pos	152	79	96	10	41	10

ID-35	pos	118	101	81	10	21	12
ID-35	pos	118	71	81	10	27	12
ID-35	pos	118	42	81	10	51	6
ID-36	pos	132	114	86	10	21	12
ID-36	pos	132	70	86	10	27	10
ID-36	pos	132	45	86	10	37	8
ID-37	pos	85	68	76	10	25	10
ID-37	pos	85	43	76	10	21	6
ID-37	pos	85	41	76	10	43	6
ID-41	pos	70	43	120	10	30	7
ID-41	pos	70	28	120	10	45	7
ID-41	pos	70	42	120	10	55	7
ID-42	pos	126	43	106	10	49	8
ID-42	pos	126	85	106	10	21	10
ID-42	pos	126	84	106	10	23	10
ID-45	pos	136	91	131	10	23	12
ID-45	pos	136	65	131	10	45	10
ID-45	pos	136	39	131	10	71	8
ID-46	pos	114	44	121	10	43	8
ID-46	pos	114	79	121	10	21	10
ID-46	pos	114	69	121	10	23	10
ID-48	pos	242	143	66	10	19	14
ID-48	pos	242	85	66	10	41	10
ID-48	pos	242	43	66	10	59	8
ID-49	pos	69	42	120	10	25	7
ID-49	pos	69	29	120	10	45	7
ID-49	pos	69	41	120	10	40	7
ID-50	pos	278	92	106	10	35	10
ID-50	pos	278	65	106	10	65	8
ID-50	pos	278	109	106	10	33	10
ID-52	pos	212	77	96	10	53	10
ID-52	pos	212	119	96	10	29	12
ID-52	pos	212	94	96	10	27	12
ID-53	pos	249	156	151	10	19	14
ID-53	pos	249	92	151	10	33	12
ID-53	pos	249	108	151	10	29	10
ID-56	pos	122	105	56	10	23	12
ID-56	pos	122	77	56	10	37	12
ID-56	pos	122	79	56	10	29	10
ID-58	pos	240	133	81	10	29	12
ID-58	pos	240	108	81	10	29	10
ID-58	pos	240	106	81	10	39	12
ID-59	pos	142	89	100	10	40	10
ID-59	pos	142	125	100	10	30	15
ID-59	pos	142	106	100	10	37	15
ID-60	pos	199	106	131	10	33	12
ID-60	pos	199	77	131	10	67	10
ID-60	pos	199	79	131	10	57	10
ID-61	pos	228	186	71	10	25	16
ID-61	pos	228	68	71	10	53	10
ID-61	pos	228	43	71	10	61	8
ID-63	pos	327	99	100	10	35	12

ID-63	pos	327	81	100	10	85	10
ID-63	pos	327	175	100	10	17	17
ID-64	pos	227	184	81	10	29	16
ID-64	pos	227	212	81	10	27	6
ID-64	pos	227	107	81	10	55	10
ID-9	neg	237	80	-160	-10	-55	-10
ID-9	neg	237	107	-160	-10	-32	-15
ID-9	neg	239	82	-160	-10	-55	-10
ID-10	neg	167	80	-105	-10	-32	-9
ID-10	neg	167	107	-105	-10	-24	-11
ID-10	neg	167	81	-105	-10	-26	-9
ID-12	neg	195	80	-85	-10	-44	-9
ID-12	neg	195	95	-85	-10	-26	-11
ID-12	neg	195	79	-85	-10	-26	-9
ID-13	neg	162	82	-65	-10	-20	-9
ID-13	neg	162	78	-65	-10	-44	-9
ID-13	neg	162	40	-65	-10	-36	-5
ID-14	neg	111	80	-95	-10	-30	-9
ID-14	neg	111	96	-95	-10	-30	-11
ID-14	neg	111	81	-95	-10	-24	-9
ID-16	neg	206	80	-100	-10	-42	-9
ID-16	neg	206	135	-100	-10	-26	-13
ID-16	neg	206	42	-100	-10	-60	-7
ID-18	neg	107	80	-35	-10	-28	-9
ID-18	neg	107	45	-35	-10	-20	-7
ID-18	neg	107	81	-35	-10	-24	-9
ID-19	neg	155	80	-80	-10	-42	-9
ID-19	neg	155	33	-80	-10	-34	-15
ID-19	neg	155	137	-80	-10	-28	-13
ID-20	neg	125	97	-70	-10	-25	-10
ID-20	neg	125	80	-70	-10	-45	-10
ID-20	neg	127	82	-70	-10	-45	-10
ID-22	neg	128	42	-75	-10	-36	-7
ID-22	neg	128	85	-75	-10	-14	-7
ID-22	neg	128	26	-75	-10	-110	-5
ID-24	neg	135	80	-60	-10	-25	-16
ID-24	neg	135	64	-60	-10	-75	-16
ID-24	neg	137	82	-60	-10	-25	-16
ID-25	neg	172	80	-155	-10	-38	-9
ID-25	neg	172	108	-155	-10	-28	-11
ID-25	neg	172	66	-155	-10	-36	-9
ID-33	neg	149	80	-80	-10	-30	-9
ID-33	neg	149	99	-80	-10	-34	-11
ID-33	neg	149	83	-80	-10	-26	-9
ID-34	neg	273	80	-170	-10	-68	-9
ID-34	neg	273	150	-170	-10	-38	-13
ID-34	neg	273	209	-170	-10	-34	-19
ID-38	neg	240	80	-130	-10	-56	-9
ID-38	neg	240	176	-130	-10	-32	-15
ID-38	neg	240	35	-130	-10	-64	-15
ID-39	neg	171	80	-125	-10	-38	-9
ID-39	neg	171	107	-125	-10	-28	-11

ID-39	neg	171	107	-125	-10	-36	-11
ID-40	neg	182	42	-105	-10	-60	-7
ID-40	neg	182	106	-105	-10	-26	-11
ID-40	neg	182	62	-105	-10	-26	-7
ID-43	neg	207	80	-80	-10	-50	-9
ID-43	neg	207	143	-80	-10	-32	-13
ID-43	neg	207	163	-80	-10	-18	-15
ID-44	neg	185	80	-145	-10	-40	-9
ID-44	neg	185	121	-145	-10	-30	-11
ID-44	neg	185	170	-145	-10	-32	-15
ID-47	neg	361	81	-120	-10	-60	-10
ID-47	neg	361	197	-120	-10	-30	-10
ID-47	neg	363	83	-120	-10	-60	-10
ID-54	neg	249	205	-100	-10	-32	-15
ID-54	neg	249	189	-100	-10	-45	-11
ID-54	neg	249	93	-100	-10	-35	-7
ID-57	neg	249	108	-65	-10	-36	-11
ID-57	neg	249	113	-65	-10	-14	-9
ID-57	neg	249	92	-65	-10	-48	-11

ESI-MS/MS parameters: Ion spray voltage: 5500 V (pos), -4500 V (neg); Curtain gas: 45 psi;
Temperature: 550 °C; Ion Source gas 1 (nebulizer gas): 55 psi; Ion Source gas 2 (heater gas): 65 psi

Table S5C. Chromatography C_1/C_2 (RPLC-MS/MS) mass spectrometric parameters (see also footnote).

Index	ESI mode	Q1 m/z	Q2 m/z	Cone [V]	Collision energy [eV]
ID-2	pos	130	84	2	18
ID-2	pos	130	113	2	12
ID-4	pos	171	84	20	20
ID-4	pos	171	112	20	14
ID-5	pos	191	58	4	24
ID-5	pos	191	102	4	14
ID-6	pos	185	69	2	24
ID-6	pos	185	126	2	12
ID-9	pos	239	88	6	24
ID-9	pos	239	131	6	18
ID-15	pos	113	56	12	20
ID-15	pos	113	84	12	18
ID-17	pos	202	62	16	16
ID-17	pos	202	102	16	16
ID-21	pos	134	72	24	14
ID-21	pos	134	85	24	10
ID-23	pos	150	58	2	14
ID-23	pos	150	91	2	20
ID-26	pos	127	43	2	20
ID-26	pos	127	85	2	16
ID-28	pos	91	47	24	8
ID-28	pos	91	74	24	8
ID-29	pos	171	69	2	22
ID-29	pos	171	126	2	12
ID-30	pos	175	115	2	16
ID-30	pos	175	143	2	8
ID-32	pos	152	93	38	24
ID-32	pos	152	135	38	16
ID-35	pos	118	71	12	16
ID-35	pos	118	101	12	14
ID-36	pos	132	69	40	14
ID-36	pos	132	114	40	14
ID-37	pos	85	41	60	14
ID-37	pos	85	68	60	12
ID-41	pos	70	43	42	14
ID-42	pos	126	43	50	18
ID-42	pos	126	85	50	14
ID-46	pos	114	69	12	16
ID-46	pos	114	79	12	14
ID-48	pos	264	165	44	16
ID-48	pos	264	202	44	12
ID-52	pos	212	77	28	32
ID-52	pos	212	119	28	20
ID-53	pos	249	65	2	40
ID-53	pos	249	156	2	14
ID-55	pos	250	41	18	22
ID-55	pos	250	81	18	22

ID-57	pos	251	93	50	22
ID-57	pos	251	157	50	18
ID-58	pos	240	108	2	20
ID-58	pos	240	133	2	20
ID-60	pos	199	106	54	26
ID-60	pos	199	167	54	4
ID-61	pos	228	96	30	28
ID-61	pos	228	186	30	18
ID-63	pos	327	99	10	26
ID-63	pos	327	175	10	12
ID-1	neg	195	59	2	18
ID-1	neg	195	75	2	20
ID-8	neg	287	143	4	36
ID-8	neg	287	207	4	22
ID-10	neg	167	80	10	22
ID-10	neg	167	137	10	16
ID-12	neg	195	80	2	28
ID-12	neg	195	95	2	20
ID-13	neg	162	78	4	22
ID-13	neg	162	82	4	14
ID-14	neg	111	80	8	16
ID-14	neg	111	96	8	14
ID-16	neg	206	80	48	24
ID-16	neg	206	135	48	18
ID-18	neg	107	43	8	10
ID-18	neg	107	80	8	18
ID-20	neg	125	45	32	16
ID-20	neg	125	97	32	12
ID-22	neg	128	42	10	10
ID-22	neg	128	85	10	14
ID-24	neg	135	80	58	14
ID-24	neg	135	91	58	8
ID-25	neg	172	80	2	22
ID-25	neg	172	108	2	20
ID-27	neg	157	79	2	18
ID-31	neg	173	80	30	24
ID-31	neg	173	109	30	18
ID-33	neg	149	80	4	18
ID-33	neg	149	99	4	18
ID-34	neg	273	150	26	26
ID-34	neg	273	209	26	22
ID-38	neg	240	80	64	26
ID-38	neg	240	176	64	20
ID-39	neg	171	80	2	26
ID-39	neg	171	107	2	20
ID-40	neg	182	42	4	18
ID-40	neg	182	106	4	18
ID-43	neg	207	80	42	30
ID-43	neg	207	143	42	26
ID-44	neg	185	80	6	24
ID-44	neg	185	121	6	22
ID-47	neg	361	81	6	22

ID-47	neg	361	197	6	24
ID-50	neg	276	80	58	40
ID-50	neg	276	156	58	26
ID-51	neg	170	79	14	30
ID-51	neg	170	106	14	16
ID-51	neg	170	79	2	24
ID-51	neg	170	106	2	16
ID-54	neg	249	189	2	32
ID-54	neg	249	205	2	24

ESI-MS/MS parameters: Capillary Voltage 1000 – 1420 V (+/-); Source Temperature 150 °C; Desolvation Temperature 600 °C; Cone Gas Flow 150 L h⁻¹; Collision Gas Flow 0.15 mL min⁻¹; Nebuliser Gas Flow 100 psi

Table S5D. *Chromatography D₁/D₂ (SFC-HRMS) mass spectrometric parameters (see also footnote).*

Index	ESI mode	Quantifier m/z	Qualifier m/z
ID-3	pos	171.19	154.16
ID-4	pos	171.15	112.08
ID-5	pos	191.18	72.08
ID-6	pos	185.17	126.09
ID-9	pos	239.11	131.12
ID-11	pos	174.20	129.14
ID-15	pos	113.11	-
ID-17	pos	202.18	102.09
ID-21	pos	134.12	72.08
ID-23	pos	150.13	91.06
ID-26	pos	127.07	85.05
ID-29	pos	171.15	126.09
ID-32	pos	152.14	134.11
ID-35	pos	118.09	101.09
ID-36	pos	132.10	114.09
ID-37	pos	85.05	-
ID-42	pos	126.08	85.05
ID-45	pos	136.11	-
ID-46	pos	114.09	96.08
ID-48	pos	143.09	264.14
ID-52	pos	212.12	195.09
ID-53	pos	249.07	156.01
ID-55	pos	250.12	
ID-56	pos	122.10	107.07
ID-58	pos	240.15	133.08
ID-60	pos	199.13	106.07
ID-61	pos	228.13	186.08
ID-63	pos	327.01	251.00
ID-64	pos	225.14	184.10
ID-1	neg	195.05	-
ID-12	neg	195.03	94.98
ID-13	neg	161.99	82.03
ID-14	neg	110.98	-
ID-16	neg	206.05	135.01
ID-18	neg	106.98	79.96
ID-19	neg	154.99	176.97
ID-20	neg	124.99	96.96
ID-24	neg	135.01	-
ID-25	neg	172.01	108.05
ID-31	neg	172.99	108.02
ID-33	neg	148.95	79.96
ID-34	neg	273.01	209.05
ID-38	neg	239.93	203.95
ID-39	neg	171.01	107.05
ID-40	neg	181.99	105.96
ID-43	neg	207.01	143.05
ID-44	neg	185.03	121.07
ID-47	neg	361.13	80.97

ID-51	neg	170.03	205.16
ID-54	neg	249.15	205.16
ID-57	neg	249.02	108.02
ID-62	neg	169.07	215.03

ESI-HRMS parameters: Full Scan recording m/z 50 to 600; Analyser Mode Resolution; Scan time 0.08 sec; Cone Voltage 20000 V; Capillary 700 V (+) / 2000 V (-); Source Temperature 140 °C; Desolvation Temperature 550 °C; Function 1: Trap Collision Energy 4 eV, Transfer Collision Energy 2 eV; Function 2: Trap Collision Energy 15 eV, Transfer Collision Energy 40 eV; Function 3 (Lock Spray Configuration): Reference Cone Voltage 30 V, Reference Trap Collision Energy 4 eV, Lock Mass (leucine enkephaline) 556.2771 (+) / 554.2615 (-)

Method performance evaluation and semi-quantitative concentration estimates

Instrumental blanks were determined by 10 solvent injections and IDLs were defined as the amount of chemical standard injected producing a signal with a signal-to-noise ratio of 3 or, in case of instrumental blank contamination, the amount of chemical injected leading to a signal area exceeding the mean signal area + 3 times standard deviation of the blank injections.

Retention time repeatability was investigated within one analytical sequence. The approaches for retention time repeatability testing for the different chromatographic methods *Chromatography A-D* are listed in Table S6 below.

Procedural blank experiments for the different methods were performed as follows, applying the full sample preparation procedure. For *Enrichments I-II* triplicates of procedural blank extractions were performed starting from 5 mL ultrapure water, for *Enrichments III-IV* triplicates were performed with 100 mL ultrapure water, and for *Enrichments V-VIII* a single procedural blank experiment was performed per method starting from 1 mL ultrapure water. For compounds that did not show procedural blank contamination, estimation of the MDL was based on quantification of the signal area in a sample chromatogram close to the MDL and extrapolation to a signal to noise ratio of 3. In case of procedural blank contamination, the MDL was calculated as mean + 3 times standard deviation of 3 quantified procedural blank signals for *Chromatography A*, as $2 \times (\text{mean} + 3 \text{ times standard deviation})$ of 3 quantified procedural blanks for *Chromatography B*, or as 3 times the quantified procedural blank signal for *Chromatography C* and *D*.

Semi-quantitative concentration estimates were based on solvent-based external one-point calibration without correction for apparent recoveries. However, for analytes showing signals in the procedural blank chromatograms, the average blank signal area was subtracted from the signal area in the sample before concentration estimation.

Table S6. Retention time repeatability for the different chromatographic methods over a relevant sample batch bracketed between standards.

Method	Approach	Retention time variability
A	5 injections of the same standard in solvent	max. +/- 0.1 min
B	3 injections evenly distributed over a 10 hour sequence	max. +/- 0.05 min
C ₁	3 injections of the same standard in solvent/matrix with 10 other samples in between	max. +/- 0.05 min
C ₂	3 injections of the same standard in solvent/matrix with 10 other samples in between	max. +/- 0.1 min
D ₁	3 injections of the same standard in solvent/matrix with 8 other samples in between	max. +/- 0.03 min
D ₂	3 injections of the same standard in solvent/matrix with 8 other samples in between	max. +/- 0.03 min

Method abbreviations: A) MMLC-MS/MS; B) HILIC-MS/MS; C₁/C₂) RPLC-MS/MS; D₁/D₂) SFC-HRMS

Table S7. Instrumental detection limits for the target PMOCs given as injected quantities [ng] with the different instrumental methods.

Index	A	B	C₁	C₂	D₁	D₂
ID-1	-	-	0.031	0.0018	-	-
ID-2	-	0.005	0.0064	0.0045	-	-
ID-3	-	0.005	-	-	0.002	0.0125
ID-4	0.006	-	0.00008	0.00065	-	0.005
ID-5	-	0.00025	-	-	-	0.00125
ID-6	0.003	0.00025	0.000033	0.000082	0.01	0.0017
ID-7	-	0.125	-	-	-	-
ID-8	-	-	-	0.00073	-	-
ID-9	0.18	-	0.00006	0.00048	-	0.003
ID-10	-	-	0.0014	-	-	-
ID-11	-	-	-	-	-	0.0015
ID-12	0.015	0.0005	-	0.0068	0.005	0.0009
ID-13	0.0018	0.00025	0.0005	0.00005	0.0006	0.0005
ID-14	0.06	0.0005	-	0.00153	0.003	0.0008
ID-15	0.03	0.005	0.004	0.0052	0.005	0.002
ID-16	0.09	0.00025	0.00023	0.00021	0.00021	0.00003
ID-17	0.02	0.00025	0.00003	0.0002	0.00004	0.00009
ID-18	0.03	0.0005	0.0038	-	0.0023	0.00038
ID-19	0.072	0.3	-	-	-	0.005
ID-20	0.009	0.025	-	0.00023	0.0015	0.0003
ID-21	0.009	0.00005	0.00025	0.00021	0.00034	0.0023
ID-22	1.5	0.005	0.0034	-	-	-
ID-23	0.0006	0.00005	0.00256	-	0.0003	0.0003
ID-24	0.015	0.0005	0.0005	0.00043	0.003	0.00039
ID-25	0.03	0.00025	-	0.003	0.0017	0.0075
ID-26	0.006	0.001	0.0035	-	0.00027	0.0038
ID-27	-	-	0.0054	0.002	-	-
ID-28	-	0.0025	0.0033	-	-	-
ID-29	0.003	0.000125	0.00031	0.000071	0.00027	0.00062
ID-30	0.21	-	0.00042	-	-	-
ID-31	-	-	0.0042	0.00062	0.0017	0.025
ID-32	0.006	0.00025	0.00041	-	0.0002	0.0038
ID-33	0.006	0.0005	0.00075	0.000134	0.00012	0.00005
ID-34	0.003	0.0005	0.0001	0.00008	0.00013	0.0001
ID-35	0.001	0.5	0.000078	0.000079	0.0013	0.017
ID-36	0.15	0.00025	0.00152	-	0.0011	0.00036
ID-37	0.3	0.0025	0.0027	-	0.005	0.0107
ID-38	-	0.0005	0.00033	-	0.00015	0.00009
ID-39	0.22	0.0005	0.029	0.00018	0.0005	0.0002
ID-40	0.015	0.0025	0.00072	0.019	0.0008	0.0008
ID-41	0.62	0.0025	0.0053	-	-	-
ID-42	-	0.00025	0.00019	-	0.00008	0.00028
ID-43	0.0039	0.0005	0.001	0.00042	0.0004	0.0005
ID-44	0.0015	0.00025	-	0.0007	0.00066	0.00017
ID-45	0.015	0.0005	0.014	-	0.0005	0.0002
ID-46	0.03	0.005	-	-	0.0011	0.0015

ID-47	0.018	0.00025	0.0001	0.00025	0.0003	0.00008
ID-48	0.009	0.025	0.000147	-	0.00011	0.00025
ID-49	-	0.5	-	-	-	-
ID-50	-	0.0025	0.000253	-	-	-
ID-51	0.15	-	0.0005	0.0007	0.013	0.0125
ID-52	0.003	0.00025	0.0004	-	0.00003	0.00003
ID-53	0.003	-	0.000015	-	0.0003	0.0025
ID-54	0.009	0.00025	0.0016	0.000047	0.0005	0.00054
ID-55	-	-	-	-	0.013	-
ID-56	0.45	0.25	-	-	-	0.012
ID-57	0.0033	0.00025	0.00071	-	0.00008	0.00023
ID-58	0.0015	0.00025	0.0002	-	0.0003	0.001
ID-59	-	0.005	-	-	-	-
ID-60	0.01	0.005	0.00006	-	0.00009	0.0022
ID-61	0.008	0.00005	0.00002	0.0011	0.00008	0.00004
ID-62	0.0045	-	0.00357	-	0.001	0.0015
ID-63	0.33	0.015	0.08	-	0.0013	0.0003
ID-64	0.3	0.25	-	-	0.0014	0.00049

Method abbreviations: A) MMLC-MS/MS; B) HILIC-MS/MS; C₁/C₂) RPLC-MS/MS; D₁/D₂) SFC-HRMS

Table S8. Retention factor k' of the target chemicals for the different chromatographic methods.¹

Index	A	B	C ₁	C ₂	D ₁	D ₂
ID-1	n.p. ²	n.p.	0.1	0.1	n.p.	n.p.
ID-2	n.p.	11.9	0.3	1.4	n.p.	n.p.
ID-3	n.p.	13.1	n.p.	n.p.	17.5	15.0
ID-4	16.8	9.2	1.3	3.1	n.p.	14.2
ID-5	n.p.	13.5	n.p.	n.p.	n.p.	13.4
ID-6	16.7	8.3	3.4	4.2	19.2	13.7
ID-7	n.p.	13.1	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
ID-8	n.p.	n.p.	n.p.	4.1	n.p.	n.p.
ID-9	33.9	12.8	0.3	2	n.p.	17.1
ID-10	n.p.	14.7	0.2	n.p.	n.p.	n.p.
ID-11	n.p.	12.8	n.p.	n.p.	n.p.	13.1
ID-12	32.4	3.2	n.p.	2.5	13.1	13.9
ID-13	24.2	0.6	1.8	3.9	12.6	14.0
ID-14	25.2	1.5	n.p.	0.1	13.0	14.4
ID-15	21.3	11.9	0.4	0.5	20.0	11.1
ID-16	24.9	3.2	4.6	3.9	13.7	14.1
ID-17	17.5	9.1	3.4	4.7	12.6	10.0
ID-18	24.2	3.3	0.3	0.1	13.1	14.2
ID-19	26.7	3.5	n.p.	n.p.	n.p.	14.3
ID-20	19.4	1.2	n.p.	0.2	12.6	13.7
ID-21	15.4	9.3	0.7	3.7	15.1	9.3
ID-22	2.7	3.8	0.7	n.p.	n.p.	n.p.
ID-23	20.9	3.4	9.4	n.p.	12.8	13.7
ID-24	27.0	3.1	1.4	1	12.4	13.1
ID-25	26.4	4.7	n.p.	3	15.7	18.0
ID-26	14.6	8.8	0.6	n.p.	12.5	14.0
ID-27	n.p.	n.p.	0.8	0.2	n.p.	n.p.
ID-28	n.p.	4.0	0.3	n.p.	n.p.	n.p.
ID-29	17.5	7.84	5.4	4.9	14.2	9.6
ID-30	2.9	n.p.	1.0	n.p.	n.p.	n.p.
ID-31	n.p.	n.p.	0.3	0.2	14.9	17.3
ID-32	24.5	8.1	19.0	n.p.	12.3	11.2
ID-33	27.7	0.2	0.8	0.4	12.1	13.1
ID-34	40.5	0.7	18	5.8	12.7	13.7
ID-35	4.6	10.3	0.5	0.2	14.9	9.5
ID-36	17.3	8.5	1.9	n.p.	7.7	4.2
ID-37	1.9	1.7	0.4	n.p.	10.4	9.6
ID-38	n.p.	0.8	17.3	n.p.	13.8	16.5
ID-39	23.0	2.6	7.3	4.2	12.8	14.1
ID-40	27.6	1.0	1.0	4.4	13.0	14.8
ID-41	2.17	1.4	0.6	n.p.	n.p.	n.p.
ID-42	n.p.	4.2	2.3	n.p.	9.7	9.6
ID-43	32.4	1.1	17.0	5	13.3	15.4
ID-44	29.2	1.3	n.p.	4.52	12.5	13.6
ID-45	21.8	4.0	16.1	n.p.	6.6	11.2
ID-46	3.1	1.0	n.p.	n.p.	6.5	5.3

ID-47	28.7	0.6	23.5	5.4	11.7	12.2
ID-48	13.7	0.5	21.7	n.p.	6.2	5.8
ID-49	n.p.	0.8	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
ID-50	n.p.	1.4	17.5	n.p.	n.p.	n.p.
ID-51	12.8	n.p.	18.0	11	6.7	7.7
ID-52	22.2	4.9	19.2	n.p.	12.1	11.6
ID-53	15.3	0.6	17.3	n.p.	11.9	12.9
ID-54	21.0	0.5	25	5.5	8.2	8.4
ID-55	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.	1.2	n.p.
ID-56	15.2	0.5	n.p.	n.p.	n.p.	1.2
ID-57	33.9	0.7	19.0	n.p.	10.1	11.1
ID-58	21.2	2.5	19.9	n.p.	11.7	11.2
ID-59	n.p.	0.4	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
ID-60	19.7	0.5	20.6	n.p.	8.6	8.8
ID-61	17.9	0.5	24.1	8.9	4.2	3.9
ID-62	16.2	n.p.	19.3	n.p.	14.8	14.6
ID-63	17.9	0.4	24.4	n.p.	3.5	1.7
ID-64	21.7	0.7	n.p.	n.p.	3.2	3.0

Method abbreviations: A) MMLC-MS/MS; B) HILIC-MS/MS; C₁/C₂) RPLC-MS/MS; D₁/D₂) SFC-HRMS

¹ $k' = (t_R - t_0)/t_0$, t_R – retention time of the substance, t_0 – void time

² n.p. means that it was not possible to analyze the chemical (no peak) with the chromatographic method in combination with ESI-MS

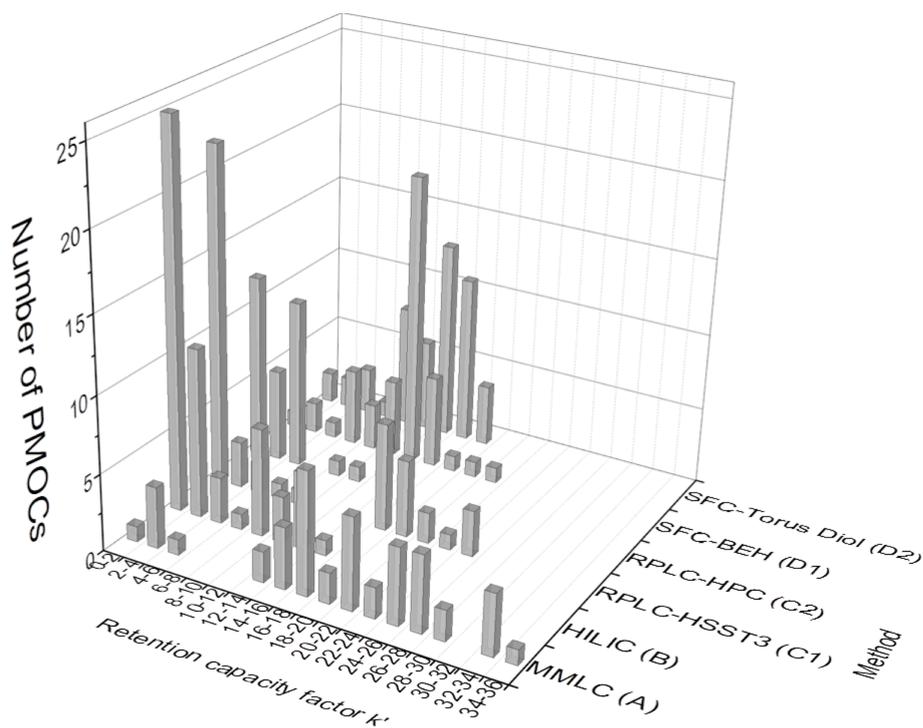


Figure S3. Retention factors k' of all PMOCs for the different chromatographic method.

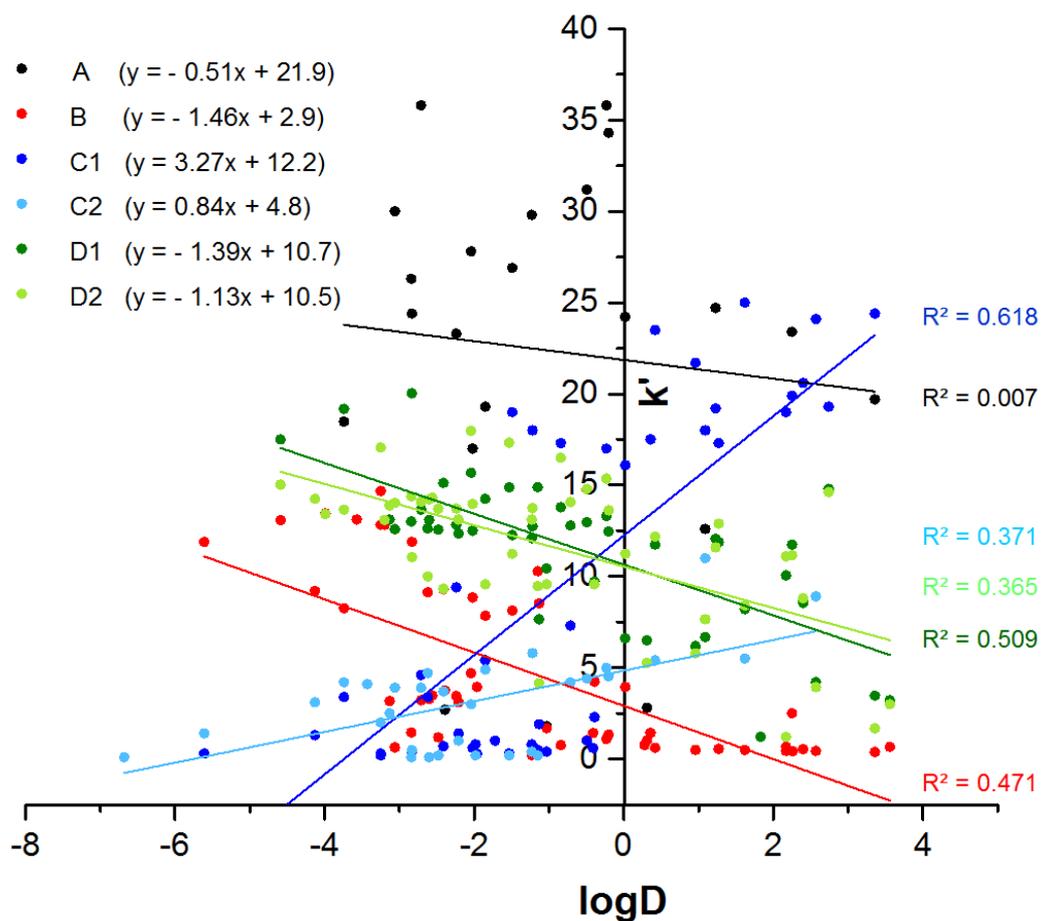


Figure S4. Retention factors k' versus $\log D$ for all PMOCs and all chromatographic methods. Method abbreviations: A) MMLC-MS/MS; B) HILIC-MS/MS; C₁/C₂) RPLC-MS/MS; D₁/D₂) SFC-HRMS.

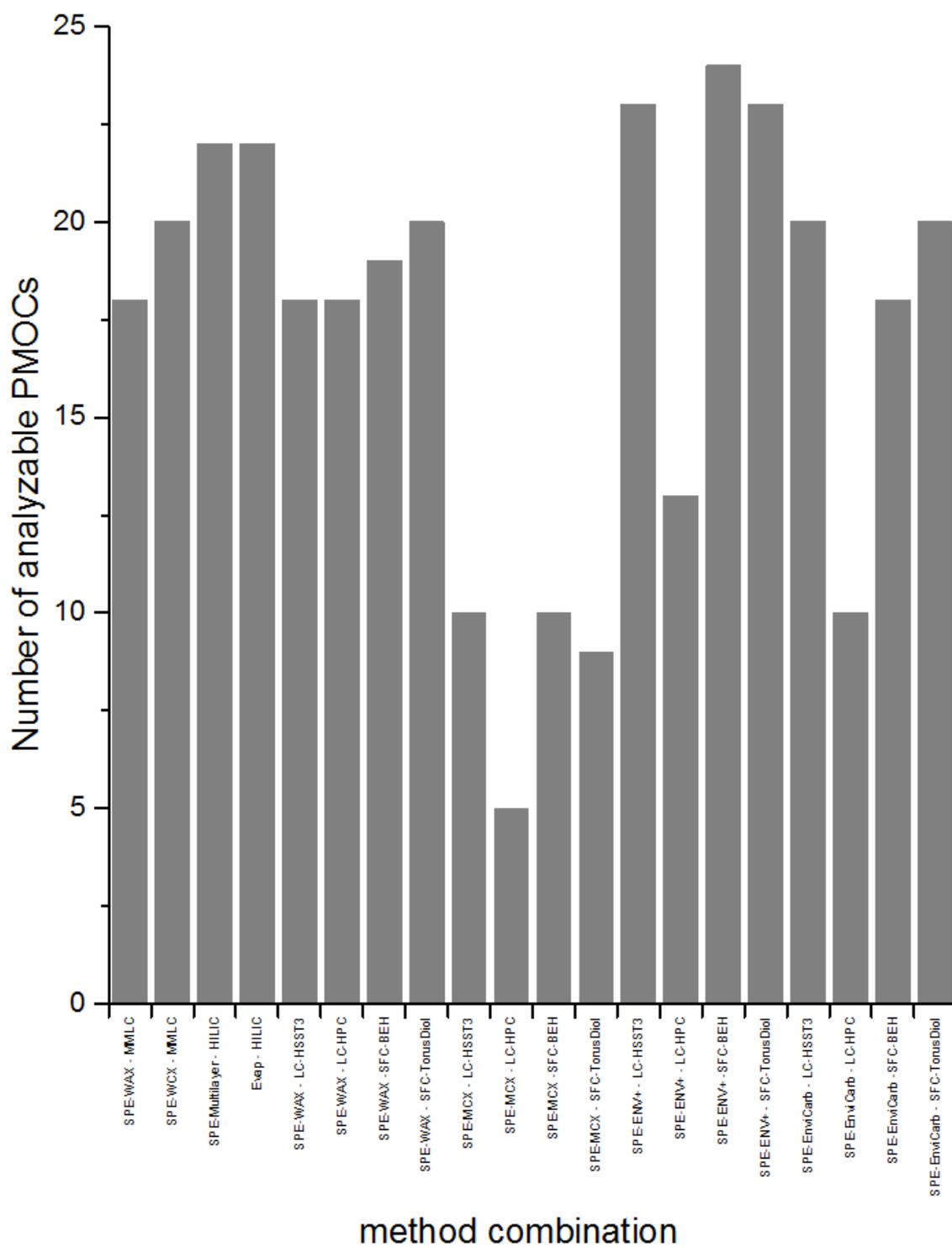


Figure S5. Number of PMOCs that were amenable to the different combinations of enrichment and instrumental methods.

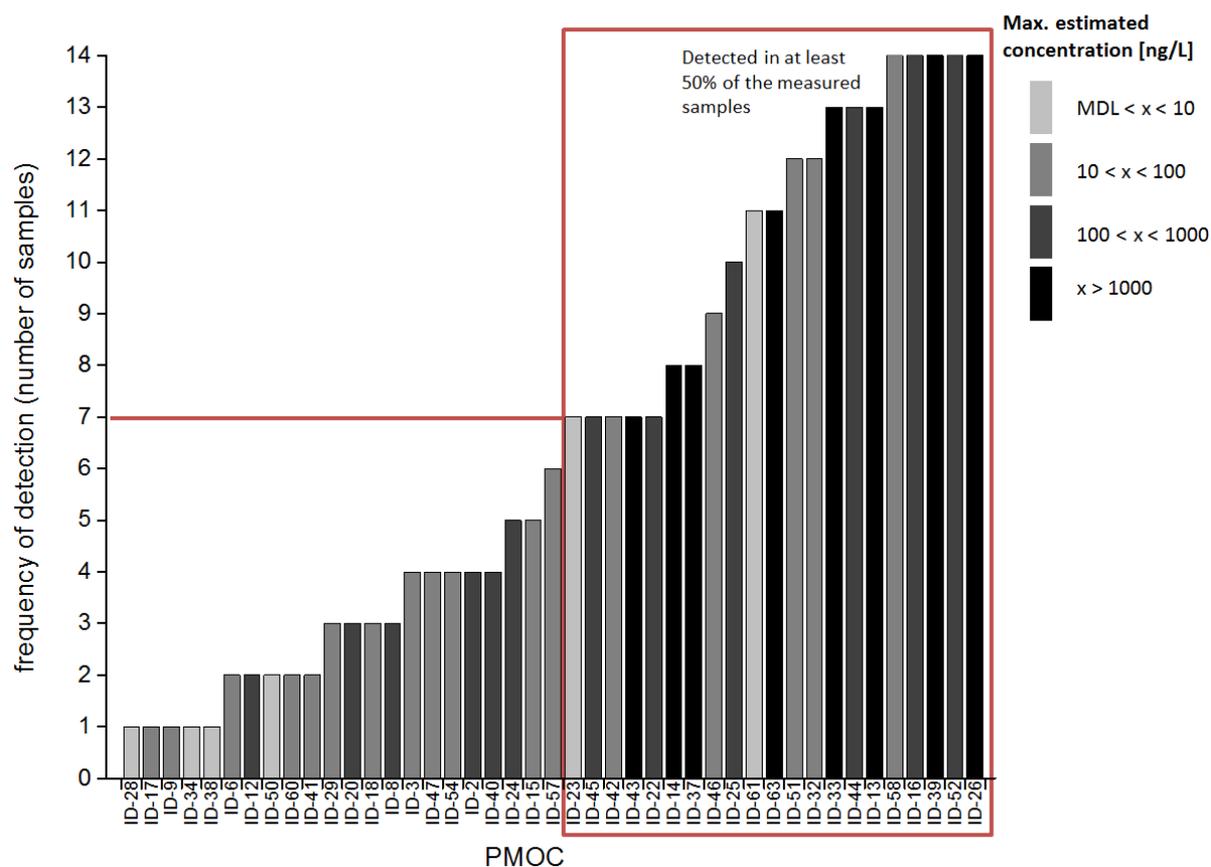


Figure S6. Frequency of detection (including all methods) and maximum estimated concentration of the detected PMOCs in the 14 water samples.

Table S10. Chromatography method-specific detection frequencies (number of samples) of the detected PMOCs in the 14 water samples.

Index	Detection frequency Chromatography A (with Enrichment I/II)	Detection frequency Chromatography B (with Enrichment III/IV)	Detection frequency Chromatography C ₁ /C ₂ (with Enrichment V-VIII)	Detection frequency Chromatography D ₁ /D ₂ (with Enrichment V-VIII)
ID-2	-	2	2	-
ID-3	-	4	-	-
ID-6	2	-	1	-
ID-8	-	-	3	-
ID-9	-	-	1	-
ID-12	1	1	-	-
ID-13	12	13	13	12
ID-14	8	2	4	-
ID-15	5	4	-	-
ID-16	13	7	10	5
ID-17	-	-	1	1
ID-18	-	3	-	-
ID-20	-	-	1	3
ID-22	-	5	5	-

ID-23	6	-	5	1
ID-24	-	1	5	2
ID-25	-	9	6	2
ID-26	3	7	8	14
ID-28	-	1	-	-
ID-29	1	-	3	1
ID-32	6	10	8	8
ID-33	5	8	10	13
ID-34	-	-	1	-
ID-37	-	6	-	8
ID-38	-	1	1	1
ID-39	-	4	10	14
ID-40	2	1	3	3
ID-41	-	2	-	-
ID-42	-	-	6	7
ID-43	3	-	1	4
ID-44	3	10	13	13
ID-45	6	5	-	-
ID-46	9	-	1	-
ID-47	-	-	4	-
ID-50	-	-	2	-
ID-51	-	-	12	1
ID-52	14	-	8	7
ID-54	-	4	-	-
ID-57	3	-	2	4
ID-58	4	-	14	11
ID-60	-	-	-	2
ID-61	-	5	10	1
ID-63	7	10	4	5

A3 Ergänzende Informationen zur Publikation „A rapid method for quantification of persistent and mobile organic substances in water using supercritical fluid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry“ in der Fachzeitschrift *Analytical and Bioanalytical Chemistry*

Table of contents

Table S1. List of target compounds sorted by log *D* (estimated at pH 7.0).

Table S2. Chemicals and instrumentation for the enrichment and for the instrumental methods.

Table S3. Sample description.

Figure S1. Gradient profiles of the mobile phases as a function of time.

Table S4. SFC-HRMS mass spectrometric parameters and retention factors in chromatography.

Table S5. RPLC-MS/MS mass spectrometric parameters and retention factors in chromatography.

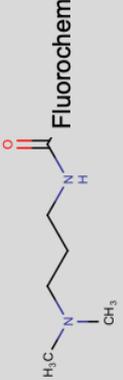
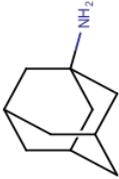
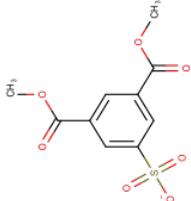
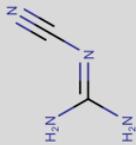
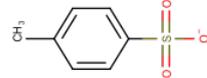
Table S6. Apparent recovery experiments: Spiking levels, mean apparent recoveries (mean of the different spiking levels and of the experiments in DW and SW) and the corresponding correction factor for analyte quantification.

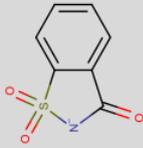
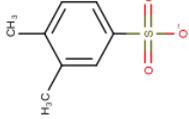
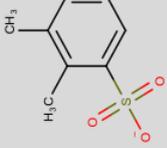
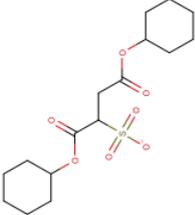
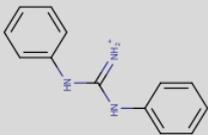
Table S7. Accuracy experiments: Spiking levels, precision (n=4) and trueness (mean value of n=4) for analyte quantification in the spiked river Mulde and drinking water sample.

Table S8. Concentrations of PM substances quantified in water samples (Table S3).

Table S1. List of target compounds sorted by log *D* (estimated at pH 7.0)¹.

Analyte index	CAS registry number	Substance name	log <i>D</i> (pH 7.0) ¹	Molecular weight (g mol ⁻¹)	Formula	Structure (main structure at pH 7.0) ¹	Supplier	Chemical standard grade
ACE	55589-62-3	Acesulfame (K)	-3.06	162.14	C ₄ H ₄ NO ₄ S		Sigma Aldrich	≥ 99%
AAMPS	5165-97-9	2-Acrylamino-2-methylpropane sulfonate (sodium salt)	-2.71	206.24	C ₇ H ₁₂ NO ₄ S		abcr GmbH	
HHTMP	52722-86-8	4-Hydroxy-1-(2-hydroxyethyl)-2,2,6,6-tetramethylpiperidine	-2.62	201.31	C ₁₁ H ₂₃ NO ₂		abcr GmbH	98%
BTMA	56-93-9	Benzyltrimethylammonium (chloride)	-2.24	150.24	C ₁₀ H ₁₆ N		Sigma Aldrich	97%
MPSA	1561-92-8	2-Methyl-2-propene-1-sulfonate (sodium salt)	-2.21	135.16	C ₄ H ₇ O ₃ S		Sigma Aldrich	98%
MEL	108-78-1	Melamine	-2.02	127.13	C ₃ H ₇ N ₆		Sigma Aldrich	analytical standard

DMPMA	5205-93-6	<i>N</i> -(3-(Dimethylamino)-propyl)methacrylamide	-1.85	170.26	C ₉ H ₁₈ N ₂ O	 Fluorochem
ATA	768-94-5	Adamantan-1-amine	-1.49	151.25	C ₁₀ H ₁₇ N	 Fluorochem
TFMSA	1493-13-6	Trifluoromethanesulfonic acid	-1.23	149.06	CF ₃ SO ₃ S	 Sigma Aldrich ≥ 99 %
DMSP	3965-55-7	Dimethyl 5-sulfoisophthalate (sodium salt)	-1.22	273.24	C ₁₀ H ₉ O ₇ S	 Alfa Aesar 98%
CG	461-58-5	Cyanoguanidine	-1.03	84.08	C ₂ H ₄ N ₄	 Acros Organics 99.5%
TSA	104-15-4	<i>p</i> -Toluenesulfonic acid	-0.71	171.19	C ₇ H ₇ O ₃ S	 MP Biomedicals ≥ 99%

SAC	81-07-2	Saccharin	-0.49	182.17	C7H4NO3S		Sigma Aldrich	≥ 99%
3,4-DMBSA	1300-72-7	3,4-Dimethylbenzenesulfonic acid	-0.20	185.22	C8H9O3S		Sigma Aldrich	
2,3-DMBSA	25321-41-9	2,3-Dimethylbenzenesulfonic acid	-0.20	185.22	C8H9O3S		Sigma Aldrich	
DCHSS	23386-52-9	Dicyclohexyl sulfosuccinate (sodium salt)	0.42	361.43	C16H25O7S		Sigma Aldrich	≥ 98%
DPG	102-06-7	1,3-Diphenylguanidine	1.23	212.28	C13H14N3		Sigma Aldrich	97%

¹ Calculated using ChemAxon (<https://www.chemaxon.com/download/jchem-for-office/#c4x>)

Table S2. Chemicals and instrumentation for the enrichment and for the instrumental methods.

Chemicals and instrumentation	
Enrichment method	
Evaporation (AZEVAP)	<u>Instrumentation:</u> Evaporator system XcelVap (Biotage, Uppsala, Sweden)
	<u>Chemicals:</u> Glas Fibre Filters Whatman (GE Healthcare, Freiburg, Germany) Acetonitrile (Biosolve, Valkenswaard, Netherlands)
Instrumental methods	
SFC	<u>Instrumentation:</u> SFC: Acquity UPC ² (Waters) Column: Waters Acquity UPC ² BEH 3.0 x 100 mm, 1.7 µm Waters Acquity UPC ² Torus Diol 3.0 x 100 mm, 1.7 µm Waters Acquity UPC ² BEH-2EP 3.0 x 100 mm, 1.7 µm Waters Acquity UPC ² Torus-2Pic 3.0 x 100 mm, 1.7 µm Mass Spectrometer: Synapt G2S (Waters) Software: MassLynx (Waters)
	<u>Chemicals:</u> Carbon dioxide (Air Products, Pennsylvania, USA) Methanol (Biosolve, Valkenswaard, Netherlands) Ammonium hydroxide (~25% in water, Biosolve, Valkenswaard, Netherlands) Formic acid, ammonium acetate, ammonium formate (Sigma Aldrich, Taufkirchen, Germany)
RPLC	<u>Instrumentation:</u> UHPLC: Acquity i-Class (Waters) Column: Waters Acquity UPLC HSS T3, 2.1 x 50 mm, 1.8 µm Mass Spectrometer: Xevo TQ-S (Waters) Software: MassLynx (Waters)
	<u>Chemicals:</u> Methanol, ammonium formate (Biosolve, Valkenswaard, Netherlands)

Table S3. Sample description.

	Sample name	Collection date	Sample type	Depth	Location	Connections between the samples
Method development	River Götsche	06.12.2017	Surface water, small stream	-	Saxony Anhalt (Germany)	-
	River Mulde	01.04.2019	Surface water, river	-	Saxony Anhalt (Germany)	
	Drinking water	06.12.2017 and 30.07.2019	Tap water	-	Our laboratory	
Method application	B-SW-1	27.10.2017	Surface water from Tegeler See	-	Berlin (Germany)	B-SW is the source water for B-RW-1
	B-RW-1	26.10.2017	Unventilated raw water from drinking water treatment plant Tegel	-	Berlin (Germany)	B-SW is the source water for B-RW-1
	B-DW-1	26.10.2017	Finished drinking water from drinking water treatment plant Tegel	-	Berlin (Germany)	B-DW-1 is the finished drinking water made of B-SW-1 via B-RW-1
	H-GW-1	23.10.2017	Groundwater of a well 15 m		South Hessia - (Germany)	
	H-GW-2	24.10.2017	Groundwater of a well 30 m		South Hessia (Germany)	H-GW-2 is the raw water for H-DW-2
	H-DW-2	24.10.2017	Drinking water	-	South Hessia (Germany)	H-DW-2 is the finished drinking water made of H-GW-2

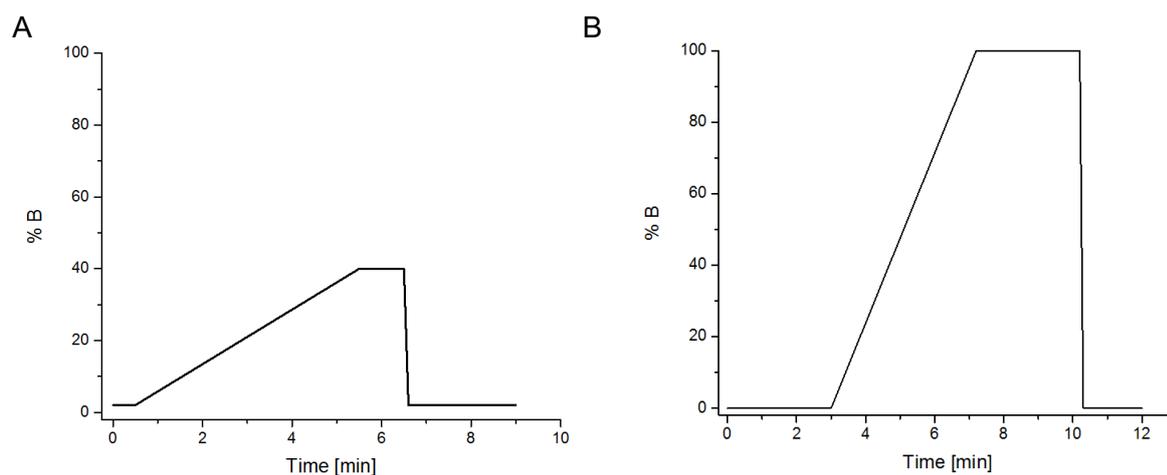


Figure S1. Gradient profiles of the mobile phases as a function of time for A) SFC on an Acquity UPC² BEH or Torus Diol column (same gradient used); solvent A: CO₂; (co-)solvent B: MeOH/H₂O 95/5, 0.2 % NH₄OH; make-up flow: 0.3 mL min⁻¹ MeOH/H₂O 90/10, 0.1 % HCOOH, pH 6; B) RPLC on an Acquity UPLC HSS T3 column; solvent A: H₂O, 5 mM NH₄COOH; solvent B: MeOH, 5 mM NH₄COOH.

Table S4. SFC-HRMS mass spectrometric parameters (see also footnote) and retention factors in chromatography.

Analyte	ESI mode	Quantifier <i>m/z</i>	Qualifyer <i>m/z</i>	Retention factor <i>k'</i> (BEH)	Retention factor <i>k'</i> (Torus Diol)
ACE	neg	161.99	82.03	12.6	14.0
AAMPS	neg	206.05	135.01	13.7	14.1
HHTMP	pos	202.18	102.09	12.6	10.0
BTMA	pos	150.13	91.06	12.8	13.7
MPSA	neg	135.01	-	12.4	13.1
MEL	pos	127.07	85.05	12.5	14.0
DMPMA	pos	171.15	126.09p	14.2	9.6
ATA	pos	152.14	134.11	12.3	11.2
TFMSA	neg	148.95	79.96	12.1	13.1
DMSP	neg	273.01	209.05	12.7	13.7
CG	pos	85.05	-	10.4	9.6
TSA	neg	171.01	107.05	12.8	14.1
SAC	neg	181.99	105.96	13.0	14.8
3,4-/2,3-DMBSA	neg	185.03	121.07	12.5 / 12.7	13.3 / 13.6
DCHSS	neg	361.13	80.97	11.7	12.2
DPG	pos	212.12	195.09	12.1	11.6

ESI-HRMS parameters: Full Scan recording *m/z* 50 to 600; Analyser Mode Resolution; Scan time 0.08 s; Cone Voltage 20 kV; Capillary 700 V (+) / 2000 V (-); Source Temperature 140 °C; Desolvation Temperature 550 °C; Function 1: Trap Collision Energy 4 eV, Transfer Collision Energy 2 eV; Function 2: Trap Collision Energy 15 eV, Transfer Collision Energy 40 eV; Function 3 (Lock Spray Configuration): Reference Cone Voltage 30 V, Reference Trap Collision Energy 4 eV, Lock Mass (leucine enkephaline) 556.2771 (+) / 554.2615 (-); $k' = (t_R - t_0)/t_0$, t_R – retention time of the analyte, t_0 – void time.

Table S5. RPLC-MS/MS mass spectrometric parameters (see also footnote) and retention factors in chromatography.

Analyte	ESI mode	Q1 m/z	Q2 m/z	Cone [V]	Collision energy [eV]	Retention factor k'
ACE	neg	162	78	4	22	1.8
ACE	neg	162	82	4	14	1.8
AAMPS	neg	206	80	48	24	4.6
AAMPS	neg	206	135	48	18	4.6
HHTMP	pos	202	62	16	16	3.4
HHTMP	pos	202	102	16	16	3.4
BTMA	pos	150	58	2	14	9.4
BTMA	pos	150	91	2	20	9.4
MPSA	neg	135	80	58	14	1.4
MPSA	neg	135	91	58	8	1.4
MEL	pos	127	43	2	20	0.6
MEL	pos	127	85	2	16	0.6
DMPMA	pos	171	69	2	22	5.4
DMPMA	pos	171	126	2	12	5.4
ATA	pos	152	93	38	24	19
ATA	pos	152	135	38	16	19
TFMSA	neg	149	80	4	18	0.8
TFMSA	neg	149	99	4	18	0.8
DMSP	neg	273	150	26	26	18
DMSP	neg	273	209	26	22	18
CG	pos	85	41	60	14	0.4
CG	pos	85	68	60	12	0.4
TSA	neg	171	80	2	26	0.6
TSA	neg	171	107	2	20	0.6
SAC	neg	182	42	4	18	1
SAC	neg	182	106	4	18	1
3,4-/2,3-DMBSA	neg	185	80	6	24	0.5 / 0.7
3,4-/2,3-DMBSA	neg	185	121	6	22	0.5 / 0.7
DCHSS	neg	361	81	6	22	23.5
DCHSS	neg	361	197	6	24	23.5
DPG	pos	212	77	28	32	19.2
DPG	pos	212	119	28	20	19.2

ESI-MS/MS parameters: Capillary Voltage 1000/1420 V (+/-); Source Temperature 150 °C; Desolvation Temperature 600 °C; Cone Gas Flow 150 L h⁻¹; Collision Gas Flow 0.15 mL min⁻¹; Nebuliser Gas Pressure 100 psi; k' = (t_R-t₀)/t₀, t_R – retention time of the analyte, t₀ – void time.

Table S6. Apparent recovery experiments: Spiking levels, mean apparent recoveries (mean of the different spiking levels and of the experiments in DW and SW) and the corresponding correction factor for analyte quantification.

Analyte	Spiking levels [ng L ⁻¹]	Mean apparent recovery [%]	Correction factor for quantification
ACE	50 / 250 / 5000	42	2.40
AAMPS	50 / 300	1	1
HHTMP	50 / 300	51	1.96
BTMA	10 / 50 / 300	85	1.18
MPSA	100 / 500	21	4.76
MEL	50 / 250	81	1.23
DMPMA	10 / 50 / 300	31	3.21
ATA	10 / 50 / 300	58	1.72
TFMSA	10 / 50 / 300	78	1.28
DMPS	50 / 300	1	1
CG	60 / 300	71	1.40
TSA	30 / 150 / 600	104	0.96
SAC	30 / 150 / 1200	97	1.04
3,4-DMBSA	20 / 100 / 500	54	1.86
2,3-DMBSA	100 / 500	88	1.14
DCHSS	50 / 300	36	2.81
DPG	100 / 500	61	1.64

¹ Spiking levels too low to reliably determine the apparent recovery

Table S7. Accuracy experiments: Spiking levels, precision (n=4) and trueness (mean value of n=4) for analyte quantification in the spiked river Mulde and drinking water sample.

Analyte	Götsche river			Mulde river sample			Drinking water sample		
	Spiking level for determination of apparent recovery [ng L ⁻¹]	Apparent recovery [%]	Correction factor for quantification	Spiking level [ng L ⁻¹]	Precision (relative standard deviation n=4) [%]	Trueness (deviation from spiked concentration) [%]	Spiking level [ng L ⁻¹]	Precision (relative standard deviation n=4) [%]	Trueness (deviation from spiked concentration) [%]
ACE	85,900	91	1.10	25,800	5	3	2,580	3	-57
HHTMP	450	88	1.13	135	4	-3	13.5	15	23
BTMA	6,880	72	1.40	2,060	10	-16	206	15	-27
MPSA	275,000	38	2.62	82,500	10	64	8,250	32	-58
MEL	1	1	1	1	14 ²	1	1	22 ²	1
DMPMA	1,380	41	2.41	413	10	-17	41.3	7	11
ATA	1,250	64	1.56	375	4	13	37.5	7	-2
TFMSA	1,500	107	0.93	450	4	21	45.0	4	8
CG	3	3	3	3	14 ²	3	3	5 ²	3
TSA	22,800	61	1.64	6,830	7	13	683	16	-29
SAC	196,000	72	1.39	58,900	5	28	5,890	3	-38
3,4-DMBSA	22,900	42	2.36	6,860	9	28	686	5	8
2,3-DMBSA	22,900	72	1.40	6,860	14	5	686	5	-19
DCHSS	2,250	29	3.49	675	10	-25	67.5	2	65
DPG	325	84	1.19	97.5	7	1	9.75	6	73

¹ Concentration already present in river Götsche water too high to perform spiking experiments

² Precision data from earlier apparent recovery experiments from Table S6 (n=3)

³ Linear range of detection too small to perform trueness experiments (see Table 1 in the main text)

Table S8. Concentrations of PM substances quantified in water samples (Table S3).

Analyte	B-SW-1 [ng L ⁻¹]	B-RW-1 [ng L ⁻¹]	B-DW-1 [ng L ⁻¹]	H-GW-1 [ng L ⁻¹]	H-GW-2 [ng L ⁻¹]	H-DW-2 [ng L ⁻¹]
ACE	349	282	<MQL	70,200	8,210	989
HHTMP	nd	nd	nd	nd	107	25
BTMA	nd	nd	nd	nd	nd	nd
MPSA	nd	nd	nd	nd	nd	nd
MEL	233	13	33	<MQL	nd	nd
DMPMA	nd	nd	nd	nd	nd	nd
ATA	9	5	5	36	nd	nd
TFMSA	nd	nd	nd	18,800	nd	nd
CG	nd	nd	nd	nd	nd	nd
TSA	<MQL	nd	nd	nd	nd	<MQL
SAC	44	nd	nd	86	nd	nd
3,4-DMBSA	141	43	<MQL	150	nd	<MQL
2,3-DMBSA	nd	nd	nd	nd	nd	nd
DCHSS	nd	nd	nd	nd	nd	nd
DPG	191	nd	nd	nd	nd	nd

- Method not applicable

nd Not detected (<MDL)

<MQL Detected but not quantifiable

A4 Ergänzende Informationen zum Kapitel 6 „*PMOC-Screening* in verschiedenen Trinkwasseraufbereitungsprozessen“

Inhaltsverzeichnis

Tabelle S1. Übersicht der Zielverbindungen, aufgelistet nach steigendem $\log D$ (pH 7.0)¹.

Tabelle S2. Beschreibung der Proben.

Tabelle S3. Weitere Probendetails.

Tabelle S4. Material, Chemikalien und instrumentelles Equipment der Probenanreicherung.

Tabelle S5. Chemikalien und Geräte der instrumentellen Methoden.

Tabelle S6. SFC-HRMS, HRMS-Parameter.

Tabelle S7. Wiederholbarkeit der Retentionszeiten der chromatographischen Methoden.

Tabelle S8. Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (LOD, LOQ).

Tabelle S9. Wiederholbarkeit der Retentionszeiten der chromatographischen Methoden.

Tabelle S10. Retentionsfaktoren k' der Zielverbindungen für die chromatographischen SFC-Methoden.

Tabelle S11. Konzentrationen [ng L^{-1}] in den gemessenen Proben.

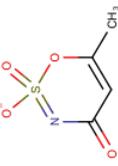
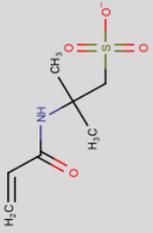
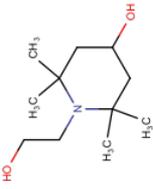
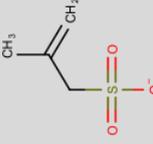
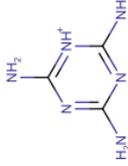
Bestimmung der Wiederfindungen, instrumentelle Blindwerte, Methodenblindwerte, externe Kalibrierung, LOD, LOQ

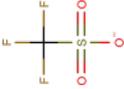
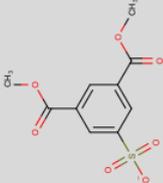
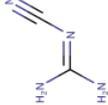
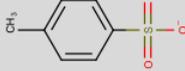
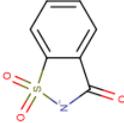
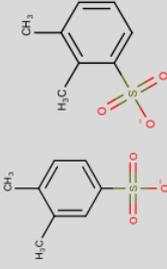
Abbildung S1. Orte der Probenahme.

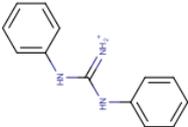
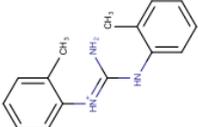
Abbildung S2. Gradientenverlauf als Funktion der Zeit für die SFC.

Abbildung S3. Gesamtwiederfindungen für die azeotrope Anreicherung gemessen mit SFC-HRMS.

Tabelle S1. Übersicht der Zielverbindungen, aufgelistet nach steigendem $\log D$ (pH 7.0)¹.

Index wie unter 5.2	CAS Nummer	Substanzname	$\log D$ (pH 7.0) ¹	Struktur (Hauptstruktur bei pH 7.0) ¹	Anbieter	Reinheit
ID-13	55589-62-3	Acesulfam (K)	-3.06		Sigma Aldrich	≥ 99 %
ID-16	5165-97-9	(Natrium) 2-Acrylamino-2-methylpropansulfonsäure	-2.71		abcr GmbH	
ID-17	52722-86-8	4-Hydroxy-1-(2-hydroxyethyl)-2,2,6,6-tetramethylpiperidin	-2.62		abcr GmbH	98%
ID-24	1561-92-8	2-Methyl-2-propen-1-sulfonsäure (Natriumsalz)	-2.21		Sigma Aldrich	98%
ID-26	108-78-1	Melamin	-2.02		Sigma Aldrich	analytical standard
ID-32	768-94-5	Adamantan-1-amin	-1.49		Fluorochem	

ID-33	1493-13-6	Trifluormethansulfonsäure	-1.23		Sigma Aldrich	≥ 99 %
ID-34	3965-55-7	Dimethyl 5-Sulfoisophthalat (Natriumsalz)	-1.22		Alfa Aesar	98%
ID-37	461-58-5	Cyanoguanidin	-1.03		Acros Organics	99.50%
ID-39	104-15-4	p-Toluolsulfonsäure	-0.71		MP Biomedicals	≥ 99 %
ID-40	81-07-2	Saccharin	-0.49		Sigma Aldrich	≥ 99%
ID-44	1300-72-7 25321-41-9	Dimethylbenzolsulfonsäure	-0.20		Sigma Aldrich	

ID-52	102-06-7	1,3-Diphenylguanidin	1.23		Sigma Aldrich	97%
ID-57	80-09-1	Bisphenol S	2.17		Sigma Aldrich	≥ 98 %
ID-58	97-39-2	1,3-Di-o-tolylguanidin	2.25		Sigma Aldrich	99%

¹ Berechnet mit Hilfe von ChemAxon ([https://www.chemaxon.com/download/jchem-for-office/#\(c4x\)](https://www.chemaxon.com/download/jchem-for-office/#(c4x)))

Tabelle S2. Beschreibung der Proben.

Name	Datum der Probenahme	Art der Wasserprobe	Ort der Probenahme	Verbindung zwischen den Proben
ADG-OW	06.04.2017	Oberflächenwasser	Fluss Río Barcés (West-Galicien, Spanien)	-
	04.05.2017			
	05.06.2017			
ADG-TA	06.04.2017	Wasser aus Trinkwasseraufbereitung	Trinkwasserwerk (West-Galicien, Spanien)	ADG-SW
	04.05.2017	(vor Desinfektionsschritt)		
	05.06.2017			
ADG-TW	06.04.2017	Trinkwasser	Trinkwasserwerk (West-Galicien, Spanien)	ADG-TW
	04.05.2017			
	05.06.2017			
HW-GW	04.04.2017	Grundwasser	Hessisches Ried (Südhessen, Deutschland)	
	02.05.2017			
	06.06.2017			
HW-TA-1	04.04.2017	Wasser aus Trinkwasseraufbereitung (nach Oxidation)	Trinkwasserwerk (Südhessen, Deutschland)	HW-GW
	02.05.2017			
	06.06.2017			
HW-TA-2	04.04.2017	Wasser aus Trinkwasseraufbereitung (nach Enteisierung)	Trinkwasserwerk (Südhessen, Deutschland)	HW-TW-1
	02.05.2017			
	06.06.2017			
HW-TA-3	04.04.2017	Wasser aus Trinkwasseraufbereitung (nach Entmanganung)	Trinkwasserwerk (Südhessen, Deutschland)	HW-TW-2
	02.05.2017			
	06.06.2017			

HW-TW	04.04.2017 02.05.2017 06.06.2017	Trinkwasser	Trinkwasserwerk (Südhessen, Deutschland)	HW-TW-3
HLNUG-GW-1	23.10.2017	Grundwasser (15 m tiefer Brunnen) = Trinkwasser	Hessisches Ried (Südhessen, Deutschland)	
HLNUG-GW-2	24.10.2017	Grundwasser (Brunnen D) - Rohwasser	Hessisches Ried (Südhessen, Deutschland)	
HLNUG-TW	24.10.2017	Trinkwasser (Mix aus Brunnen A-D)	Hessisches Ried (Südhessen, Deutschland)	HLNUG-GW-2
EDP-OW	06.04.2017 04.05.2017 08.06.2017	Oberflächenwasser, Rohwasser	Fluss Marne (Frankreich)	
EDP-UF-1	06.04.2017 04.05.2017 08.06.2017	Uferfiltrat	Region Île-de-France (Frankreich)	EDP-SW
EDP-UF-2	06.04.2017 04.05.2017 08.06.2017	Uferfiltrat nach Sandfiltration	Region Île-de-France (Frankreich)	EDP-BF-1
EDP-TA-1	06.04.2017 04.05.2017 08.06.2017	Wasser aus Trinkwasseraufbereitung (nach Ozonierung)	Trinkwasserwerk (Île-de-France, Frankreich)	EDP-BF-2
EDP-TA-2	06.04.2017 04.05.2017 08.06.2017	Wasser aus Trinkwasseraufbereitung (nach UV)	Trinkwasserwerk (Île-de-France, Frankreich)	EDP-TW-1

EDP-TW	06.04.2017 04.05.2017 08.06.2017	Trinkwasser (nach Chlorung)	Trinkwasserwerk (Île-de-France, Frankreich)	EDP-TW2
UvA-UJ	30.06.2017 31.07.2017 30.08.2017	Uferfiltrat	Provinz Utrecht (Niederlande)	
UvA-UOP	30.06.2017 31.07.2017 30.08.2017	Permeat aus Umkehrosmose	Pilotanlage Umkehrosmose (Provinz Utrecht, Niederlande)	UvA-BF
UvA-TW	30.06.2017 31.07.2017 30.08.2017	Trinkwasser	Trinkwasserwerk (Provinz Utrecht, Niederlande)	UvA-BF

OW – Oberflächenwasser; GW – Grundwasser; TA – Trinkwasseraufbereitung; TW – Trinkwasser; UF – Uferfiltrat; UOP – Umkehrosmosepermeat

Tabelle S3. Weitere Probandetails.

Proben- kürzel	Proben- lieferant	Flusseinzugs- gebiet	Rohwasser	Stufen der lokalen Trinkwasseraufbereitung	Beprobungspunkte
ADG	Augas de Galicia	Río Barcés	Oberflächen- wasser	- Ausfällung - Dekantieren - Filtration - Chlorung	- Oberflächenwasser (ADG-OW) - nach Filtration (ADG-TA) - nach Chlorung, Trinkwasser (ADG-TW)
HW	Hessenwasser	Rhein	Grundwasser	- Belüftung - Enteisierung - Entmanganung - Sandfiltration	- Grundwasser (HW-GW) - nach Belüftung/Oxidation (HW-TA-1) - nach Enteisierung (HW-TA-2) - nach Entmanganung (HW-TA-3) - nach Sandfiltration, Trinkwasser (HW-TW)
HLNUG	Hessisches Landesamt für Naturschutz, Umwelt & Geologie	Rhein	Grundwasser	- keine	- Trinkwasser aus 15 m tiefem Brunnen (HLNUG-GW-1) - Rohwasser aus Brunnen D (HLNUG-GW-2) - Trinkwasser gemischt aus Brunnen A – D (HLNUG-TW)
EDP	Eau de Paris	Marne	Oberflächen- wasser	- Ozonierung - Flotation - Filtration mit Biolite (zuvor FeCl ₃ & Aktivkohle) - Vorfiltration über Sandfilter - Biologische Filtration (langsame Sandfiltration) - Ozonierung - UV-Bestrahlung - Chlorung	- Oberflächenwasser (EDP-OW) - Uferfiltrat (EDP-UF-1) - Uferfiltrat nach Sandfiltration (EF-UF-2) - nach Ozonierung (EDP-TA-1) - nach UV (EDP-TA-2) - nach Chlorung, Trinkwasser (EDP-TW)

UvA	KWR Water Research Institute	Jaagpad Grecht (Nebenfluss des Oude Rijn)	Grundwasser (Uferfiltrat von Oberflächenwasser)	<ul style="list-style-type: none"> 1. Umkehrosmose 2. Klassische Aufbereitung <ul style="list-style-type: none"> - Belüftung, Sandfiltration - Enthärtung - Filtration über Aktivkohle - UV-Bestrahlung - Verteilung 	<ul style="list-style-type: none"> - Uferfiltrat (UvA-UF) - Permeat nach Reverser Osmose (UvA-UOP) - nach klassischer Trinkwasseraufbereitung (UvA-TW)
-----	------------------------------	---	---	--	---



Abbildung S1. Orte der Probenahme.

Tabelle S4. Material, Chemikalien und instrumentelles Equipment der Probenanreicherung.

Anreicherungs- methode	Material, Chemikalien und instrumentelles Equipment
AZEVA	<u>Instrumentelles Equipment:</u> Eindampfvorrichtung XcelVap (Biotage, Uppsala, Schweden)
	<u>Chemikalien:</u> Glasfaserfilter Whatman (GE Healthcare, Freiburg, Deutschland) Acetonitril (Biosolve, Valkenswaard, Niederlande)

Tabelle S5. Chemikalien und Geräte der instrumentellen Methode.

Methode	Material
SFC-HRMS	<u>Geräte:</u> SFC: Acquity UPC2 (Waters) Säulen: Waters Acquity UPC2 BEH 3.0x100 mm, 1.7 µm (bei ESI+) Waters Acquity UPC2 Torus Diol 3.0x100 mm, 1.7 µm (bei ESI-)
	Massenspektrometer: Synapt G2S (Waters) Software: MassLynx (Waters)
	<u>Chemikalien:</u> CO ₂ (Air Products, Pennsylvania, USA) Methanol, Ammoniumhydroxid (Biosolve, Valkenswaard, Niederlande) Ameisensäure (Sigma Aldrich, Taufkirchen, Deutschland)

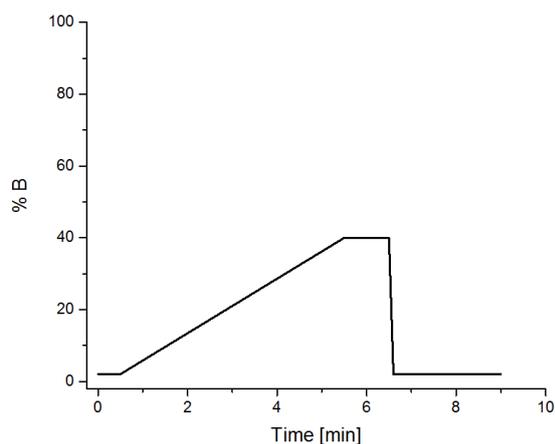


Abbildung S2. Gradientenverlauf als Funktion der Zeit für die SFC. Acquity UPC² BEH bzw. Torus Diol Säule; Laufmittel A: CO₂; Laufmittel B: MeOH/H₂O 95/5, 0,2 % NH₄OH; Make-Up: 0,3 mL min⁻¹ MeOH/H₂O 90/10, 0,1 % HCOOH, pH 6.

Tabelle S6. SFC-HRMS, HRMS-Parameter (siehe auch Fußnote).

Index wie unter 5.2	ESI Modus	Quantifyer <i>m/z</i>	Qualifyer <i>m/z</i>
ID-17	pos	202,18	102,09
ID-26	pos	127,07	85,05
ID-32	pos	152,14	134,11
ID-37	pos	85,05	
ID-52	pos	212,12	195,09
ID-58	pos	240,15	133,08
ID-13	neg	161,99	82,03
ID-16	neg	206,05	135,01
ID-24	neg	135,01	
ID-33	neg	148,95	79,96
ID-34	neg	273,01	209,05
ID-39	neg	171,01	107,05
ID-40	neg	181,99	105,96
ID-44	neg	185,03	121,07
ID-57	neg	249,02	108,02

ESI-HRMS Parameter: Full Scan aufgenommen bei *m/z* 50 bis 600; Analyse-Modus Resolution; Scan-Zeit 0,08 sec; Cone Spannung 20000 V; Kapillarspannung 700 V (+) / 2000 V (-); Quellen-Temperatur 140 °C; Desolvations-Temperatur 550 °C; Funktion 1: Trap Kollisions-Energie 4 eV, Transfer Kollisions-Energie 2 eV; Funktion 2: Trap Kollisions-Energie 15 eV, Transfer Kollisions-Energie 40 eV; Funktion 3 (Lock Spray Konfiguration): Referenz Cone Spannung 30 V, Referenz Trap Kollisions-Energie 4 eV, Lock Masse (Leucin-Enkephalin) 556.2771 (+) / 554.2615 (-).

Bestimmung der Wiederfindungen, instrumentelle Blindwerte, Methodenblindwerte, externe Kalibrierung, LOD, LOQBestimmung der instrumentellen Blindwerte

Das jeweilige Lösungsmittel (RPLC: H₂O + 5 mM Ammoniumformiat, SFC: MeOH/H₂O 95/5) wurde 10x injiziert. Sobald das dadurch erzeugte Signal für die jeweilige Substanz bei einem Signal-zu-Rausch-Verhältnis von > 3 lag, wurde die Peakfläche integriert und ausgewertet. Zur Auswertung wurde die ermittelte Peakfläche für den instrumentellen Blindwert vom jeweiligen Kalibrierpunkt der externen Kalibrierung abgezogen.

Bestimmung der Methodenblindwerte

Zur Bestimmung der Methodenblindwerte wurden jeweils 3 Leerproben gemäß der kompletten Aufarbeitung für AZEVAP vorbereitet. Insofern ein positiver Methodenblindwert gemessen wurde, wurde dieser von den Proben abgezogen. Die Standardabweichung wurde nach der "n-1"-Methode ermittelt. Bei Vorhandensein eines Signals für den Methodenblindwert wurden daraus der LOD und LOQ über die externe Kalibrierung ermittelt.

$$\text{LOD [ng L}^{-1}\text{]} = \text{PMOC-Konzentration}_{\text{Methodenblindwert}} + 3 \times \text{Standardabweichung}$$

$$\text{LOQ [ng L}^{-1}\text{]} = \text{PMOC-Konzentration}_{\text{Methodenblindwert}} + 10 \times \text{Standardabweichung}$$

Externe Kalibrierung

Es wurden externe 8-Punkt-Kalibrierungen in folgendem Bereich (siehe Tabelle S7) aufgenommen. Je nach Analytkonzentration in der Probe wurden die Kalibrierreihen auf den jeweiligen Bereich gekürzt und in dem jeweiligen Konzentrationsbereich der Probe angewendet. Sollten die Proben oberhalb der Kalibrierreihe gelegen haben, wurden sie herunterverdünnt.

Tabelle S7. Konzentrationsbereiche für die externe Kalibrierung.

Index wie unter 5.2	Konzentrationsbereich [ng L⁻¹]
ID-13	0 - 5000
ID-16	0 - 500
ID-17	0 - 500
ID-24	0 - 500
ID-26	0 - 500
ID-32	0 - 500
ID-33	0 - 500
ID-34	0 - 500
ID-37	0 - 500
ID-39	0 - 1000
ID-40	0 - 2000
ID-44	0 - 1000
ID-52	0 - 500
ID-57	0 - 500
ID-58	0 - 500

Bestimmung LOD/LOQ

Sofern es keine Kontaminationen im Methodenblindwert gab, wurden die Nachweis- und Bestimmungsgrenze (LOD, LOQ) wie folgt über das Signal-zu-Rausch-Verhältnis (S/N) bestimmt:

$$\text{LOD [ng L}^{-1}\text{]} = 3 \times \text{S/N}$$

$$\text{LOQ [ng L}^{-1}\text{]} = 10 \times \text{S/N}$$

Tabelle S8. Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (LOD, LOQ).

Index wie unter 5.2	LOD/LOQ [ng L⁻¹]
ID-13	13,5 / 32,5 *
ID-16	10 / 30
ID-17	5,4 / 13,9 *
ID-24	50 / 90
ID-26	4,4 / 10 *
ID-32	1,5 / 5
ID-33	3,67 / 4,52 *
ID-34	10 / 30
ID-37	30 / 61 *
ID-39	14 / 31 *
ID-40	15 / 30
ID-44	5 / 8 *
ID-44	26 / 42 *
ID-52	33 / 79 *
ID-57	3 / 10
ID-58	0,09 / 0,3 *

* Blindprobe war bereits durch den jeweiligen Analyten kontaminiert.

Gesamtwiederfindungen

Um einen Faktor für die Gesamtwiederfindung zu bestimmen, der die Verluste der Aufarbeitung und der Matrixeffekte mit einschließt, wurden 11 Proben aus der Messreihe mit jeweils 3 Konzentrationen des Analyten (10 – 3000 ng L⁻¹ je nach Analyt) dotiert. Die Wiederfindungen wurden folgendermaßen berechnet:

$$\text{Gesamtwiederfindung (\%)} = \frac{c_{\text{dotiert}} - c_{\text{undotiert}}}{c_{\text{Standard}}} \times 100 \% \quad (\text{A4 Formel 1})$$

c ... Konzentration [ng L⁻¹]

Dabei waren repräsentativ alle Arten der analysierten Wasserproben enthalten. Da bei den Wiederfindungsbestimmungen keine signifikanten Unterschiede erkennbar waren, die auf unterschiedliche Wiederfindungen je nach Probenart hindeuteten, wurde der Einfachheit halber Mittelwert gebildet.

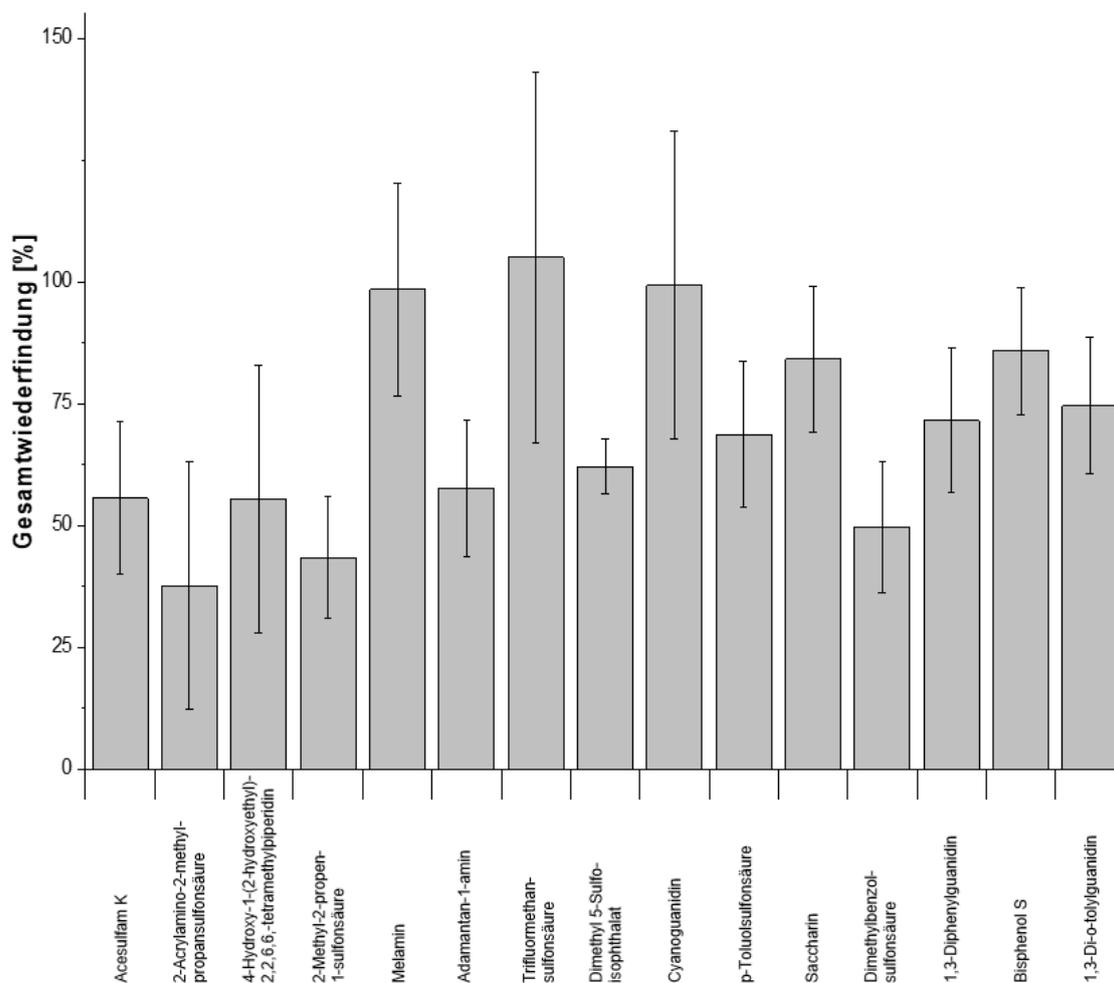


Abbildung S3. Gesamtwiederfindungen und Standardabweichung (n = 11) für die azeotrope Anreicherung gemessen mit SFC-HRMS.

Tabelle S9. Wiederholbarkeit der Retentionszeiten der chromatographischen Methoden.

Methode	Vorgehensweise	Variabilität der Retentionszeit
SFC-BEH	3 Injektionen desselben Standards in Lösungsmittel/Matrix mit 8 Proben zwischen den Standards	max. +/- 0.03 min
SFC-Torus Diol	3 Injektionen desselben Standards in Lösungsmittel/Matrix mit 8 Proben zwischen den Standards	max. +/- 0.03 min

Tabelle S10. Retentionsfaktoren k' der Zielverbindungen für die chromatographischen SFC-Methoden.¹

Index	SFC-BEH	SFC-Torus Diol
ID-13	-	14,0
ID-16	-	14,1
ID-17	12,6	-
ID-24	-	13,1
ID-26	12,5	-
ID-32	12,3	-
ID-33	-	13,1
ID-34	-	13,7
ID-37	10,4	-
ID-39	-	14,1
ID-40	-	14,8
ID-44	-	13,6
ID-52	12,1	-
ID-57	-	11,1
ID-58	11,7	-

¹ $k' = (t_R - t_0)/t_0$, t_R – Retentionszeit der Substanz, t_0 – Totvolumen

Tabelle S11. Konzentrationen [ng L^{-1}] in den gemessenen Proben.

Probe	Monat	ID-13	ID-16	ID-17	ID-24	ID-26	ID-32	ID-33	ID-34	ID-37	ID-39	ID-40	ID-44	ID-52	ID-57	ID-58
ADG-OW	Monat 1	52,5	n.d.	n.d.	n.d.	34,5	n.d.	22,3	n.d.	65,2	n.d.	181,2	n.d.	85,0	n.d.	n.d.
ADG-OW	Monat 2	94,3	n.d.	n.d.	n.d.	52,4	n.d.	24,1	n.d.	97,6	n.d.	86,9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
ADG-OW	Monat 3	158,8	n.d.	n.d.	n.d.	66,1	n.d.	37,9	n.d.	104,2	n.d.	65,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
ADG-TA	Monat 1	81,5	n.d.	n.d.	n.d.	34,4	n.d.	18,9	n.d.	69,5	n.d.	30,3	n.d.	33,0	n.d.	n.d.
ADG-TA	Monat 2	13,5	n.d.	n.d.	n.d.	44,9	n.d.	9,8	n.d.	77,2	n.d.	36,1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
ADG-TA	Monat 3	133,1	n.d.	19,2	n.d.	79,8	n.d.	20,7	n.d.	142,7	n.d.	31,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
ADG-TW	Monat 1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	10,6	n.d.	35,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
ADG-TW	Monat 2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	20,9	n.d.	50,0	n.d.	n.d.	n.d.	321,1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
ADG-TW	Monat 3	140,9	n.d.	28,9	n.d.	36,9	n.d.	43,6	n.d.	64,2	n.d.	82,4	n.d.	204,6	n.d.	n.d.
HW-GW	Monat 1	13,5	n.d.	47,6	n.d.	554,0	n.d.	n.d.								
HW-GW	Monat 2	n.d.	n.d.	18,5	n.d.	843,7	n.d.	n.d.								
HW-GW	Monat 3	13,5	n.d.	21	n.d.	n.d.	n.d.									
HW-TA-1	Monat 1	13,5	n.d.	36,1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	122,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
HW-TA-1	Monat 2	n.d.	n.d.	38,9	n.d.	20,1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.						
HW-TA-1	Monat 3	13,5	n.d.	50,2	n.d.	1957,4	n.d.	n.d.								
HW-TA-2	Monat 1	13,5	n.d.	20,5	n.d.	33,0	n.d.	n.d.								
HW-TA-2	Monat 2	n.d.	33,0	n.d.	n.d.											
HW-TA-2	Monat 3	13,5	n.d.	3,0	n.d.											
HW-TA-3	Monat 1	97,3	n.d.	100,5	n.d.	71,1	n.d.	33,0	n.d.	3,8						
HW-TA-3	Monat 2	13,5	n.d.	n.d.	n.d.											
HW-TA-3	Monat 3	13,5	n.d.	n.d.	n.d.											
HW-TW	Monat 1	13,5	n.d.	n.d.	n.d.											
HW-TW	Monat 2	13,5	n.d.	n.d.	n.d.											
HW-TW	Monat 3	87,0	n.d.	n.d.	n.d.											
EDP-OW	Monat 1	13,5	n.d.	n.d.	n.d.	45,8	n.d.	4,7	n.d.	83,3	n.d.	n.d.	n.d.	33,0	n.d.	n.d.
EDP-OW	Monat 2	206,8	n.d.	n.d.	n.d.	192,4	n.d.	5,9	n.d.	288,0	n.d.	n.d.	n.d.	33,0	n.d.	n.d.
EDP-OW	Monat 3	142,0	n.d.	n.d.	n.d.	137,5	n.d.	8,2	n.d.	189,9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
EDP-UF-1	Monat 1	13,5	n.d.	n.d.	n.d.	43,8	n.d.	3,3	n.d.	79,9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
EDP-UF-1	Monat 2	119,9	n.d.	25,7	n.d.	151,0	n.d.	4,9	n.d.	211,0	n.d.	91,1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
EDP-UF-1	Monat 3	13,5	n.d.	n.d.	n.d.	267,5	n.d.	8,6	n.d.	370,3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

EDP-UF-2	Monat 1	13,5	n.d.	n.d.	53,2	n.d.	4,4	n.d.	86,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,1
EDP-UF-2	Monat 2	93,9	n.d.	21,7	124,7	n.d.	4,1	n.d.	179,9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
EDP-UF-2	Monat 3	178,7	n.d.	18,0	202,5	n.d.	4,9	n.d.	281,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
EDP-TA-1	Monat 1	13,5	n.d.	n.d.	57,1	n.d.	5,1	n.d.	96,6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,2
EDP-TA-1	Monat 2	13,5	n.d.	n.d.	124,3	n.d.	6,8	n.d.	179,4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
EDP-TA-1	Monat 3	13,5	n.d.	18,3	238,4	n.d.	8,5	n.d.	343,6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
EDP-TA-2	Monat 1	13,5	n.d.	32,3	58,2	n.d.	3,5	n.d.	93,9	n.d.	n.d.	177,6	n.d.	n.d.
EDP-TA-2	Monat 2	n.d.	n.d.	n.d.	22,4	n.d.	5,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
EDP-TA-2	Monat 3	13,5	n.d.	n.d.	59,0	n.d.	5,5	n.d.	80,0	n.d.	n.d.	36,6	n.d.	n.d.
EDP-TW	Monat 1	n.d.	n.d.	15,5	49,7	n.d.	4,8	n.d.	81,5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
EDP-TW	Monat 2	13,5	n.d.	n.d.	107,7	n.d.	4,9	n.d.	161,9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
EDP-TW	Monat 3	13,5	n.d.	35,9	68,6	n.d.	5,7	n.d.	88,4	n.d.	n.d.	33,0	n.d.	n.d.
UVA-UF	Monat 1	673,3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
UVA-UF	Monat 2	642,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	30,5	n.d.	n.d.	n.d.
UVA-UF	Monat 3	565,0	n.d.	27,1	n.d.	n.d.	3,7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
UVA-UOP	Monat 1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
UVA-UOP	Monat 2	n.d.	n.d.	42,8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
UVA-UOP	Monat 3	n.d.	n.d.	61,9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
UVA-TW	Monat 1	257,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	32,1	n.d.	n.d.	n.d.
UVA-TW	Monat 2	136,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
UVA-TW	Monat 3	322,7	n.d.	169,4	n.d.	n.d.	3,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
HLNUG-GW-1	Monat 1	70229,7	193,2	n.d.	4,4	35,9	18796,8	n.d.	n.d.	n.d.	86,5	n.d.	n.d.	n.d.
HLNUG-GW-2	Monat 1	8212,3	n.d.	107,3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
HLNUG-TW	Monat 1	988,5	n.d.	25	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d. nicht detektiert

Angaben zur Person

Name: Stefanie Schulze

Geburtsdatum: 24.05.1985

Geburtsort: Görlitz

Promotion

seit 08/2015 **Wissenschaftliche Mitarbeiterin und Gastwissenschaftlerin**
Doktorandin im Department Analytik
Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH – UFZ, Leipzig
Thema der Promotion: *Persistente und mobile Industriechemikalien im Trinkwasserkreislauf – Priorisierung und Analytik mittels superkritischer Fluidchromatographie*

Praktische Erfahrung

Seit 02/2019 **National Field Sales Manager**
KNAUER Wissenschaftliche Geräte GmbH, Berlin

05/2015 – 07/2015 **Praktikantin**
Umweltbundesamt, Dessau-Roßlau

04/2012 – 02/2014 **Studentische Hilfskraft**
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

08/2009 – 09/2010 **Technische Assistentin**
Staatliche Betriebsgesellschaft für Umwelt und Landwirtschaft, Leipzig

02/2007 – 07/2009 **Technische Assistentin**
Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Friedberg

Ausbildung

10/2010 – 04/2015 Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Studium der Lebensmittelchemie (Diplom)

Thema der Diplomarbeit: *Untersuchungen zur Analytik und Probennahme umweltrelevanter perfluorierter Verbindungen in wässrigen Lösungen*

09/2004 – 02/2007 Fresenius AG
Ausbildung zur Biologielaborantin

08/2001 – 06/2004 Allgemeine Hochschulreife
Berufliches Schulzentrum für Wirtschaft und Soziales Görlitz

Publikationen und Tagungsbeiträge

Artikel in Peer-Review-Fachzeitschriften

Schulze, Stefanie; Paschke, Heidrun; Meier, Till; Muschket, Matthias; Reemtsma, Thorsten; Berger, Urs (2020): *A rapid method for quantification of persistent and mobile organic substances in water using supercritical fluid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry*. Analytical and Bioanalytical Chemistry 412, 4941-4952.

Schulze, Stefanie; Zahn, Daniel; Montes, Rosa; Rodil, Rosario; Quintana, José Benito; Knepper, P. Thomas; Reemtsma, Thorsten; Berger, Urs (2019): *Occurrence of emerging persistent and mobile organic contaminants in European water samples*. Water Research 153, 80-90.

Schulze, Stefanie; Sättler, Daniel; Neumann, Michael; Arp, Hans Peter H.; Reemtsma, Thorsten; Berger, Urs (2018): *Using REACH registration data to rank the environmental emission potential of persistent and mobile organic chemicals*. Science of the Total Environment 625, 1122-1128.

Shafique, Umer; Schulze, Stefanie; Slawik, Christian; Chepchirchir, Bilha Saina; Böhmer, Alexander; Paschke, Albrecht; Schüürmann, Gerrit (2017): *Perfluoroalkyl acids in aqueous samples from Germany and Kenya*. Environmental Science and Pollution Research 24, 11031-11044.

Vorträge

Berger, Urs; Schulze, Stefanie; Seiwert, Bettina; Muschket, Matthias; Reemtsma, Thorsten: *Persistente, mobile und toxische (PMT) Stoffe – Eine Herausforderung für die Wasseranalytik und Wasserversorgung*. 28. Wasserhygienetag 05.-07.02.2020, Bad Elster.

Berger, Urs; Schulze, Stefanie; Muschket, Matthias; Reemtsma, Thorsten: *Recent advances in analysis and monitoring of PM substances*. Workshop: Persistent, Mobile and Toxic Substances: A challenge for Analytical Chemistry and Water Quality Control 21.-22.01.2020, Leipzig.

Schulze, Stefanie; Paschke, Heidrun; Berger, Urs; Reemtsma, Thorsten: *PMOCs – Identification and Semi-Quantification in European Water Samples*. ISEAC40 – International Conference on Environment and Food Monitoring 19.-22.06.2018, Santiago de Compostela, Spanien.

Berger, Urs; Schulze, Stefanie; Zahn, Daniel; Montes, Rosa; Rodil, Rosario; Quintana, José Benito; Knepper, P. Thomas; Reemtsma, Thorsten: *Analysis of PMOCs and their occurrence in European waters*. Workshop: PMOCs in the Water Cycle 23.-24.11.2017, Leipzig.

Schulze, Stefanie; Berger, Urs; Zahn, Daniel; Knepper, Thomas; Montes Goyanes, Rosa; Quintana, José Benito; Reemtsma, Thorsten: *Persistent, mobile and largely unknown. The potential threat to our drinking water resources by persistent, mobile organic compounds*. ICCE – 16th EuCheMS International Conference on Chemistry and the Environment 18.-22.06.2017, Oslo, Norwegen.

Schulze, Stefanie; Berger, Urs; Meier, Till; Prabutzki, Patricia; Paschke, Heidrun; Bauer, Coretta; Reemtsma, Thorsten: Screening europäischer Rohwässer hinsichtlich persistenter und mobiler organischer Chemikalien (PMOCs) mittels LC-MS/MS und SFC-HRMS. Wasser – Jahrestagung der Wasserchemischen Gesellschaft 22.-24.05.2017, Donaueschingen.

Berger, Urs; Schulze, Stefanie; Meier, Till, Prabutzki, Patricia; Paschke, Heidrun; Bauer, Coretta; Reemtsma, Thorsten: *Trennung von PMOCs mittels Umkehrphasenchromatographie und Superkritischer Flüssigchromatographie (SFC) an Normalphasen*. Anakon 05.04.2017, Tübingen.

Schulze, Stefanie; Sättler, Daniel; Neumann, Michael; Berger, Urs; Arp, Hans Peter H.; Reemtsma, Thorsten: *Priorisierung REACH-registrierter, persistenter und mobiler organischer Chemikalien hinsichtlich ihrer erwarteten Emission in die Umwelt* (Poster-Pitch). Wasser – Jahrestagung der Wasserchemischen Gesellschaft 02.-04.05.2016, Bamberg.

Poster

Schulze, Stefanie; Paschke, Heidrun; Meier, Till; Muschket, Matthias; Reemtsma, Thorsten; Berger, Urs: Quantification of persistent and mobile organic substances in water using supercritical fluid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry. Workshop: Persistent, Mobile and Toxic Substances: A challenge for Analytical Chemistry and Water Quality Control 21.-22.01.2020, Leipzig.

Schulze, Stefanie; Sättler, Daniel; Neumann, Michael; Berger, Urs; Arp, Hans Peter H.; Reemtsma, Thorsten: *Using REACH registration data to rank the environmental emission potential of persistent and mobile organic chemicals*. Workshop: PMOCs in the Water Cycle 23.-24.11.2017, Leipzig.

Schulze, Stefanie; Berger, Urs; Zahn, Daniel; Quintana, José Benito; Montes, Rosa; Rodil, Rosario; Knepper, Thomas; Reemtsma, Thorsten: *Persistent and mobile organic chemicals – An emerging group of ubiquitous water pollutants*. 10th MicroPol & Ecohazard Conference 17.-20.09.2017, Wien, Österreich.

Schulze, Stefanie; Berger, Urs; Paschke, Heidrun; Bauer, Coretta; Reemtsma, Thorsten: *Screening for Emerging Persistent and Mobile Organic Water Contaminants by LC and SFC Coupled to MS*. SETAC Europe 27th Annual Meeting 07.-11.05.2017, Brüssel, Belgien.

Schulze, Stefanie; Sättler, Daniel; Neumann, Michael; Berger, Urs; Arp, Hans Peter H.; Reemtsma, Thorsten: *Priorisierung REACH-registrierter, persistenter und mobiler organischer Chemikalien hinsichtlich ihrer erwarteten Emission in die Umwelt*. Wasser – Jahrestagung der Wasserchemischen Gesellschaft 02.-04.05.2016, Bamberg.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass die vorliegende Arbeit:

*„Persistente und mobile Industriechemikalien im Trinkwasserkreislauf –
Priorisierung und Analytik mittels superkritischer Fluidchromatographie“*

selbständig verfasst und ohne Verwendung anderer als der genannten Hilfsmittel angefertigt wurde. Die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken in dieser Arbeit sind als solche kenntlich gemacht worden.

Unterstützende Leistungen, die ich durch weitere Personen bei der Durchführung, Auswertung und Diskussion der Experimente sowie bei der Anfertigung der drei Publikationen dieser Arbeit erhalten habe, sind vollständig benannt und deren Anteil dargelegt. Des Weiteren versichere ich, dass keine weiteren Personen bei der geistigen Herstellung dieser Arbeit beteiligt waren. Die Hilfe eines Promotionsberaters wurde nicht von mir in Anspruch genommen. Dritte haben weder mittelbar noch unmittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit der vorgelegten Dissertation stehen.

Ich versichere, dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zwecke einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde.

Leipzig, den 25.03.2021

Stefanie Schulze

Kurzfassung der wissenschaftlichen Ergebnisse
zur Dissertation

**Persistente und mobile Industriechemikalien im Trinkwasserkreislauf –
Priorisierung und Analytik mittels superkritischer Fluidchromatographie**

Der Fakultät für Chemie und Mineralogie der Universität Leipzig
vorgelegt von

Diplom-Lebensmittelchemikerin Stefanie Schulze
im März, 2021

Angefertigt am Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH – UFZ,
Department Analytik

1. Einleitung, Motivation und Zielsetzung

Oberflächen- und Grundwasser sind die beiden Hauptquellen für das Trinkwasser in Europa. Negativ beeinflusst werden kann dessen Qualität u. a. durch anthropogen in die Umwelt eingetragene Chemikalien oder deren Transformationsprodukte. Hochpolare, persistente organische Spurenstoffe, kurz *PMOCs* (persistente und mobile organische Chemikalien), können aufgrund ihrer chemisch-physikalischen Eigenschaften natürliche und technische Barrieren des Wasserkreislaufes durchbrechen. Sie besitzen daher besondere Relevanz in Bezug auf die Wasserqualität bis hin zur Trinkwassergewinnung. *PMOCs* stellen bislang allerdings eine Gruppe wenig untersuchter Chemikalien dar, deren Konzentrationen und Verhalten in der aquatischen Umwelt weitestgehend unbekannt sind. Somit bestehen bis heute gravierende Wissenslücken. Diese sind in den Bereichen der Analytik aufgrund fehlender analytischer Methoden sowie im Monitoring durch wenig verfügbare Konzentrationsdaten solcher Substanzen in der Umwelt und der sich daraus ergebenden fehlenden Regulatorik zu finden.

Für die vorliegende Arbeit ergaben sich daher folgende Zielsetzungen:

1. Die Entwicklung eines Systems, welches Industriechemikalien hinsichtlich ihrer potenziellen Umweltemission einordnet, *PMOCs* sollten unter Nutzung dieses Systems bezüglich ihrer Umweltemission priorisiert werden. Auf Basis dessen sollte eine Stoffauswahl für nachfolgende Untersuchungen aus über 13.000 Industriechemikalien vorgenommen werden.

2. Target-Screening rohwasserrelevanter Gewässer nach zuvor priorisierten *PMOCs*,
3. Entwicklung einer schnellen spurenanalytischen Methode zur qualitativen und quantitativen Bestimmung ausgewählter *PMOCs* in Wasserproben,
4. Anwendung des entwickelten analytischen Verfahrens im Rahmen eines Gewässermonitorings zur Untersuchung des Verhaltens ausgewählter *PMOCs* in der konventionellen Trinkwasseraufbereitung sowie einer Umkehrosmoseanlage.

2. Material und Methoden

2.1 Emissionsscore

Zur Abschätzung und Einordnung einer potenziellen Umweltemission von *PMOCs* wurde ein eigens entwickelter Emissionsscore genutzt, um zunächst 13.159 unter REACH registrierte Industriechemikalien zu priorisieren. Dafür wurden Registrierungsdaten wie die Gesamttonnage und gemäß Art. 10 der REACH-VO Informationen zur Verwendung eines Stoffes der Hersteller und Importeure herangezogen. Folgende Verwendungsbeschreibungen wurden herangezogen: *High Release to Environment, Wide Dispersive Use, Closed System Use, Intermediate Use, Consumer Use, Professional Use, Substance in Article*. Die Wahrscheinlichkeit einer Substanz, in die Umwelt zu gelangen, wurde mit folgender Formel berechnet:

$$E\text{-Score} = \log (\text{Gesamttonnage} + 1,1) \times \sum \text{Verwendungsbeschreibungen} \quad (1)$$

Der entwickelte Emissionsscore wurde im Anschluss auf eine Liste potenzieller *PMOCs* (1.811 Stoffe) und *PMOC*-Vorläuferverbindungen (356 Stoffe) angewandt. Anhand der sich daraus ergebenden 1.110 *PMOCs*, die Potenzial haben, in die Umwelt zu emittieren, erfolgte eine Stoffauswahl für die nachfolgenden Methodenentwicklungen, das Rohwasserscreening und das Monitoring in Trinkwasseraufbereitungsanlagen.

2.2 Rohwasserproben und Wasserproben aus Trinkwasseraufbereitungsanlagen

Für das Screening wurden 14 Rohwasserproben aus Deutschland, Spanien und den Niederlanden nach 64, vermutlich umweltrelevanten *PMOCs* hin untersucht. Die Rohwasserproben beinhalteten sieben Oberflächenwasser, vier Grundwasser, ein Uferfiltrat und ein Permeat sowie dessen Konzentrat aus einer Pilotanlage der Umkehrosmose.

Für das anschließende Monitoring wurden an 20 Beprobungspunkten in Deutschland, Spanien, Frankreich und den Niederlanden Schöpfproben entnommen. Diese entsprachen einer Trinkwasseraufbereitungsserie vom Rohwasser (Oberflächenwasser, Grundwasser, Uferfiltrat) bis hin zum aufgearbeiteten Trinkwasser. Die Proben

wurden zu drei Zeitpunkten mit monatlichem Abstand entnommen. Neben konventionellen Trinkwasseraufbereitungsanlagen wurde auch eine Pilotanlage, die die Umkehrosmose zur Aufbereitung nutzt, beprobt.

2.3 Instrumentelle Analytik

Die Probenaufarbeitung erfolgte mit Hilfe der Festphasenextraktion und der azeotropen Anreicherung. Zur anschließenden Quantifizierung der *PMOCs* in den Wasserproben wurden zum einen die Umkehrphasen-Flüssigkeitschromatographie (RPLC), gekoppelt mit der Tandem-Massenspektrometrie (MS/MS) und zum anderen die superkritische Fluidchromatographie (SFC), gekoppelt an ein hochauflösendes Massenspektrometer (HRMS), hier ein Flugzeitmassenspektrometer (TOF-MS), genutzt.

3. Ergebnisse

3.1 Stoffauswahl – Nutzen von REACH-Registrierungsdaten zur Emissionsabschätzung von *PMOCs* in die Umwelt

(siehe Publikation: „Using REACH registration data to rank the environmental emission potential of persistent and mobile organic chemicals“; Schulze, St.; Sättler, D.; Neumann, M.; Arp, H. P. H.; Reemtsma Th.; Berger, U. in *Sci. Total Environ.*, 2018, 625, 1122-1128)

Im ersten Schritt dieser Dissertation wurden mittels eines *in-silico*-Priorisierungsansatzes umweltrelevante *PMOCs* identifiziert. Es wurde ein Emissionsscore entwickelt, der für die Bewertung und relative Priorisierung von zunächst 13.159 Stoffidentitäten, registriert unter REACH, genutzt wurde. Dieses Priorisierungsverfahren wurde im Anschluss auf 2.167 *PMOCs* und *PMOC*-Vorläuferverbindungen angewendet. Dabei wurde für 1.110 Stoffe (936 *PMOCs* und 174 Vorläuferverbindungen von *PMOCs*) eine potenzielle Umweltemission mit absteigender Wahrscheinlichkeit zueinander kalkuliert. Für 1.054 *PMOCs* wurde aufgrund der Art ihrer Verwendung davon ausgegangen, dass sie keine Gefahr darstellen, in die Umwelt zu emittieren. Die Herausforderung dieser Arbeit bestand darin, die Vielzahl an nutzbaren Daten unter REACH in geeigneter Form zu bearbeiten und mit dem Fehlen von entscheidenden Informationen umzugehen. Von den 13.159 Stoffidentitäten konnte für 4.247 Substanzen keine Bewertung hinsichtlich der Umweltemission durchgeführt werden, da Standardinformationen in den Registrierungsdossiers z. T. nicht vorhanden waren. Das Vorgehen wird in Abbildung 1 dargestellt.

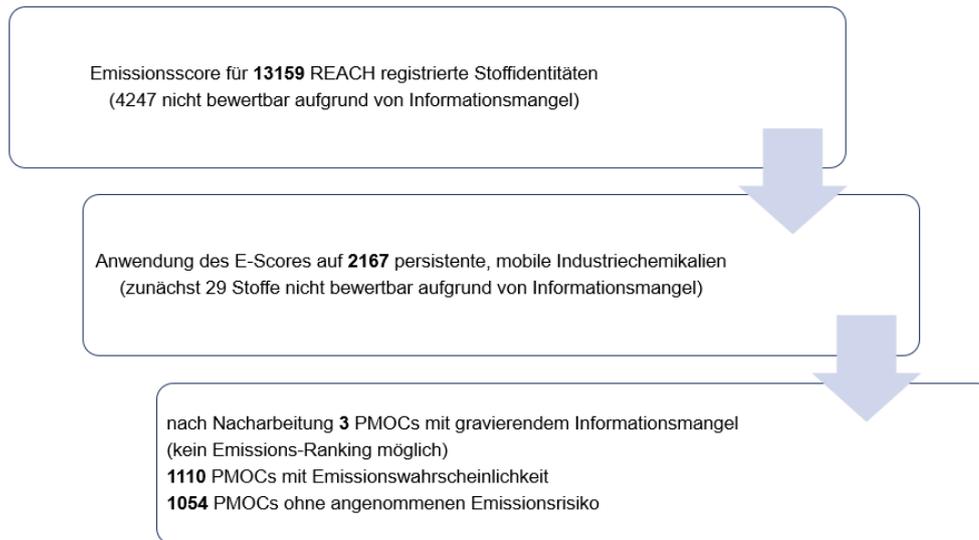


Abbildung 1: Ablauf beim Erstellen des Emissionsscores.

In der aus der vorliegenden Arbeit resultierenden Liste an *PMOCs* mit potenziellem Risiko einer Umweltemission sind u. a. viele neue, in der Literatur bisher nicht oder sehr wenig beschriebene Verdachtsstoffe enthalten (wie bspw. 2-Piperazin-1-ylethylamin, Vinylsulfonsäure, Methylsulfat, Trifluormethansulfonsäure, Benzyl dimethylamin), aber auch Verifizierungsstoffe, welche bereits untersucht wurden und von denen bekannt ist, dass sie zu Kontaminationen im Trinkwasser führen (z. B. Acesulfam, Cyanursäure, Melamin, Saccharin, TCP). Bei den Stoffen handelt es sich zu 38 % um neutrale Verbindungen, zu 19 % um Säuren, zu 16 % um Basen und zu 27 % um amphotere Verbindungen. Etwa 32 % aller *PMOCs* mit potenzieller Umweltemission besitzen mindestens ein Stickstoffatom im Molekül, 83 % tragen mindestens ein und 74 % mehr als ein Sauerstoffatom, 5 % tragen mindestens ein Phosphoratom und 23 % haben mindestens ein Schwefelatom im Molekül. Es handelt sich zu 56 % um aromatische Verbindungen. Aus dieser Priorisierungsarbeit gingen die *PMOCs* für das anschließende Screening, die SFC-HRMS-Methodenentwicklung und das Monitoring in Trinkwasseraufbereitungsprozessen hervor.

3.2 Screening europäischer Rohwasserproben

(siehe Publikation: „Occurrence of emerging persistent and mobile organic contaminants in European water samples“; Schulze, St.; Zahn, D.; Montes, R.; Rodil, R.; Quintana, J. B.; Knepper, Th. P.; Reemtsma, Th.; Berger, U. in *Water Res.*, 2019, 153, 80-90)

Ziel dieser Studie war es, neue Analysemethoden für *PMOCs* zu entwickeln und deren Vorkommen in Oberflächen- und Grundwasserproben zu untersuchen, um ein erstes Bild über das Ausmaß der *PMOC*-Problematik im Wasserkreislauf zu erhalten. Die Ergebnisse wurden ebenfalls dafür genutzt, das Vorgehen der Stoffpriorisierung hinsichtlich der Umweltemission (siehe 3.1) zu validieren.

Hierfür wurden aus der vorangegangenen Arbeit 64 *PMOCs* ausgewählt, deren Referenzstandards kommerziell verfügbar waren. Es wurden vier verschiedene Festphasenextraktionen zur Probenvorbereitung und zwei verschiedene chromatographische Techniken (RPLC, SFC) genutzt (siehe Abbildung 2). Durch unterschiedliche Kombination der Methoden ergaben sich daraus 16 Methoden, mit denen 50 *PMOCs* extrahierbar und im Anschluss chromatographisch analysierbar waren.

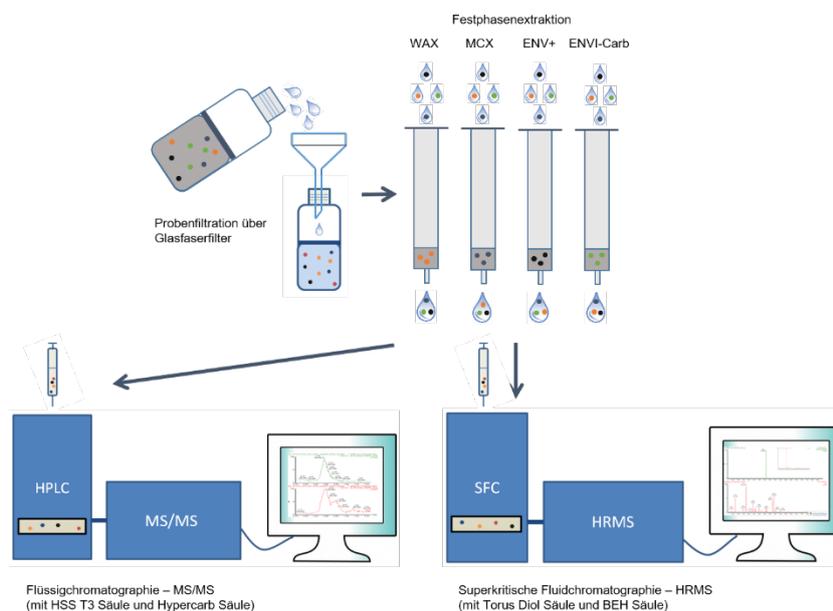


Abbildung 2: Durchführung der Probenvorbereitung mittels SPE sowie anschließender Analyse über LC-MS/MS und SFC-HRMS.

Mittels dieser Methodenkombinationen wurden 14 rohwasserrelevante Proben unterschiedlicher Gewässer (Oberflächenwasser, Grundwasser, Permeate und Konzentrate aus einer Umkehrosioseanlage) aus Spanien, Deutschland und den Niederlanden auf das Vorhandensein der priorisierten *PMOCs* untersucht.

Von den 50 in dieser Arbeit analysierbaren Zielanalyten ($-6,68 < \log D < 3,36$) konnten mit den in der vorliegenden Arbeit genutzten Methoden (siehe Abbildung 2) insgesamt 35 *PMOCs* ($-5,61 < \log D < 3,36$) in jeweils mind. einer Wasserprobe identifiziert werden (siehe Abbildung 3). Eine sichere Identifizierung erfolgte mit Hilfe der Retentionszeiten, den exakten m/z im Falle von HRMS und mind. zwei MRM-Übergängen bei Verwendung von MS/MS. Voraussetzung hierfür war die Verfügbarkeit von Referenzstandards. 25 *PMOCs* konnten durch die SFC-Methoden und 33 *PMOCs* durch die LC-Methoden in den Proben detektiert werden. Dieses Ergebnis zeigt den komplementären Charakter der genutzten Methoden und die Diversität der zu analysierenden *PMOCs*. Auf Basis dieser Ergebnisse gibt es bislang keine Methode, die alleinig in der Lage ist, alle Substanzen analytisch abzudecken.

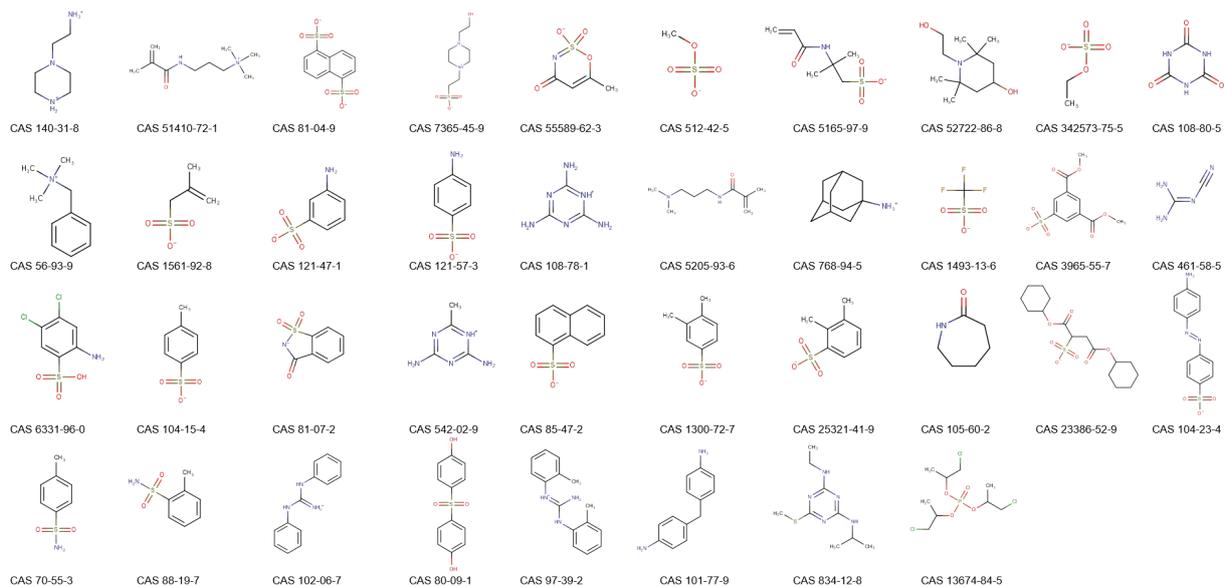


Abbildung 3: Detektierte *PMOCs* in den untersuchten Wasserproben (Substanzen in mind. einer Wasserprobe nachgewiesen).

Die Konzentrationen der detektierten *PMOCs* wurden semiquantitativ in den Proben abgeschätzt. Der detektierte Konzentrationsbereich reichte vom unteren ng L⁻¹-Bereich für bspw. Ametryn bis hin zum zweistelligen µg L⁻¹-Bereich für Cyanoguanidin oder Acesulfam.

Im Rahmen dieses Screenings lässt sich aufgrund des bisher noch zu geringen Beprobungsumfanges keine Aussage darüber geben, ob Oberflächenwasser oder Grundwasser einer stärkeren Belastung durch *PMOCs* ausgesetzt sind. In dieser Studie scheint es zunächst so zu sein, dass das Grundwasser nicht wesentlich weniger belastet ist als das untersuchte Oberflächenwasser. Dies könnte ein Hinweis auf die Persistenz und Mobilität der untersuchten Verbindungen sein.

In der vorliegenden Arbeit wurden nicht nur bisher unbekannte polare, mobile Chemikalien in trinkwasserrelevantem Wasser detektiert, sondern auch gleichzeitig der Priorisierungsansatz validiert, wie er unter 3.1 beschrieben wurde.

3.3 Entwicklung einer SFC-HRMS-Methode nach vorheriger azeotroper Anreicherung zur quantitativen Bestimmung von *PMOCs* in Wasser

(siehe Publikation: „A rapid method for quantification of persistent and mobile organic substances in water using supercritical fluid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry“; Schulze, St.; Paschke, H.; Meier, T.; Muschket, M.; Reemtsma, Th.; Berger, U. in *Anal. Bioanal. Chem.*, 2020, 412, 4941-4952)

Ein weiteres Ergebnis der vorliegenden Arbeit stellten die Entwicklung und Validierung einer SFC-HRMS-Methode nach vorheriger Anreicherung über das azeotrope Eindampfen zur schnellen qualitativen und quantitativen Bestimmung von *PMOCs* in Wasserproben dar. Die Auswahl der Analyten beruhte zum einen auf dem bisher entdeckten Vorkommen in den bereits analysierten Wasserproben (3.2) und zum

anderen auf der Machbarkeit, diese mit SFC-HRMS zu analysieren. Im Rahmen dieser Arbeit wurde für 17 modellhafte *PMOCs* eine Probenvorbereitungs- und SFC-HRMS-Methode entwickelt (siehe Abbildung 4).

Eine wesentliche Herausforderung in der *PMOC*-Analytik bestand darin, eine Probenvorbereitungsmethode zu entwickeln, die die gleichzeitige Anreicherung der Zielanalyten erlaubt. Darunter befanden sich saure, neutrale sowie basische Verbindungen mit unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften ($-3,06 < \log D < 1,23$). Mittels azeotroper Verdampfung (AZEVP) wurden die Zielanalyten in den wässrigen Proben angereichert. Hierfür wurden die Wasserproben mit Acetonitril versetzt, sodass sich ein Azeotrop bildete und die Proben unter Argonstrom wesentlich schneller eingedampft werden konnten als reine Wasserproben.

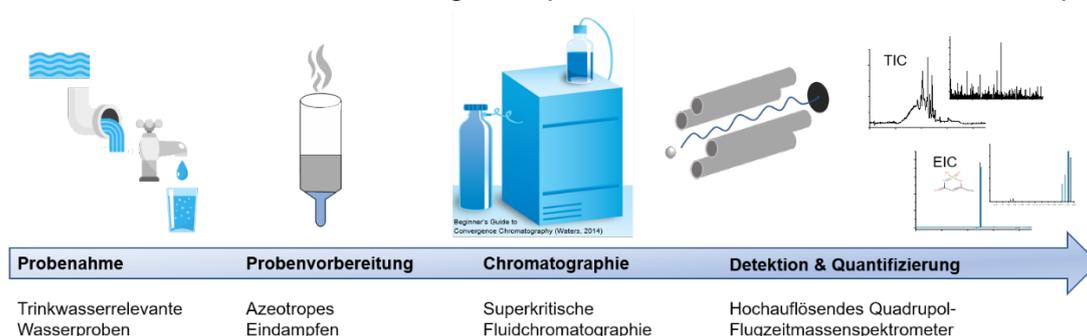


Abbildung 4: Analytisches Verfahren zur Quantifizierung von *PMOCs* in Wasserproben.

Die Wiederfindungsraten für die Probenaufbereitung lagen für die Mehrheit der Analyten zwischen 60 % und 110 %. Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen untersuchtem Trink- und Oberflächenwasser. Bei der Bestimmung der Matrixeffekte wurden signalunterdrückende (*signal suppression*) und -verstärkende (*signal enhancement*) Effekte beobachtet. Obwohl keine der Substanzen im Totvolumen eluierte, wurden für die Mehrheit der Substanzen Signalunterdrückungen beobachtet. Für einige Substanzen wie ACE, MPSA, 3,4-DMBSA oder DCHSS waren diese Effekte sehr stark ausgeprägt ($\sim -40\%$). Eine wirkliche Signalverstärkung wurde nur für drei Substanzen (MEL, TSA, 2,3-DMBSA) mit bis zu $+41\%$ festgestellt.

Ein Fallstrick ergab sich im Rahmen der Analytik darin, dass die Substanzen HHTMP, MEL, TFMSA und DPG während der Analytik allgegenwärtig und in allen instrumentellen und methodischen Blanks enthalten waren. Dadurch waren in diesen Fällen die instrumentellen und methodischen Nachweis- (LODs) und Bestimmungsgrenzen (LOQs) teilweise erhöht. Bei den in den Blindproben nachgewiesenen Stoffen handelt es sich um Substanzen, die in großen Mengen produziert werden und hauptsächlich in Plastikartikeln als Prozessadditive zum Einsatz kommen. Daher war deren Vorhandensein in den Blindproben nicht überraschend.

Die instrumentellen LODs lagen absolut je nach Analyten zwischen 0,02 und 10 pg, die methodischen LODs zwischen 2 und 50 ng L⁻¹. Die methodischen LOQs ergaben je nach Analyt Werte zwischen 5 und 90 ng L⁻¹.

3.4 PMOC-Monitoring in verschiedenen europäischen Regionen und Trinkwasseraufbereitungsprozessen

Ziel dieser Arbeit war es, weitere Informationen über das Vorkommen von ausgewählten *PMOCs* in Roh- und Trinkwasser und deren Verhalten während der Trinkwassergewinnung zu erhalten. Hierfür wurde die unter 3.3 vorgestellte instrumentelle Methode verwendet, die zur Probenanreicherung das azeotrope Eindampfen und die anschließende SFC-HRMS-Analytik nutzt.

Es wurden Wasserproben von vier verschiedenen, konventionellen Trinkwasseraufbereitungsanlagen, einer Pilotanlage, die mittels Umkehrosmose Rohwasser aufarbeitet, und fertig aufbereitetes Trinkwasser in 3 aufeinander folgenden Monaten untersucht.

Von den 15 Zielanalyten konnten 11 in mindestens einer der untersuchten Proben eindeutig nachgewiesen werden. Die Konzentrationen lagen im einstelligen ng L^{-1} -Bereich für z. B. 1,3-Di-*o*-tolylguanidin und Bisphenol S bis in den zweistelligen $\mu\text{g L}^{-1}$ -Bereich für Acesulfam und Trifluormethansulfonsäure. Substanzen wie Acesulfam, 4-Hydroxy-1-(2-hydroxyethyl)-2,2,6,6-tetramethylpiperidin, Melamin, Trifluormethansulfonsäure und Cyanoguanidin wurden häufig nachgewiesen (in mindestens 40 % der Proben). Aber auch das bisher wenig im Fokus der Wasseranalytik stehende 1,3-Diphenylguanidin wurde in 24 % der Proben detektiert. Es wurde beobachtet, dass die Rohwässer etwas stärker belastet waren als die entsprechenden Trinkwasserproben. Dennoch wurden 7 der 15 *PMOCs* zumindest auch vereinzelt im Trinkwasser detektiert. Als besonders erwähnenswert gelten hier neben den bereits bekannten Stoffen des Trinkwasserkreislaufs wie Acesulfam, Saccharin und Melamin die Stoffe Cyanoguanidin, 1,3-Diphenylguanidin und Trifluormethansulfonsäure. Traten Trifluormethansulfonsäure und Cyanoguanidin im Rohwasser auf, konnten sie nach konventioneller Trinkwasseraufbereitung nicht eliminiert werden. Innerhalb der konventionellen Aufbereitung konnten die erwähnte Trifluormethansulfonsäure wie auch Acesulfam und Saccharin nicht abgetrennt werden. Im Trinkwasser, welches mittels Umkehrosmose aufbereitet wurde, wurden diese Stoffe jedoch nicht mehr nachgewiesen. Das lässt darauf schließen, dass die Umkehrosmose ein Verfahren sein kann, welches zum Abhalten von *PMOCs* geeignet zu sein scheint. In einigen Fällen waren die LODs und LOQs der angewandten Methode allerdings im Bereich der Analytkonzentrationen der Rohwässer, sodass eine Beurteilung schwierig war. Hier empfiehlt es sich im Rahmen folgender Arbeiten, Matrixeffekte näher zu untersuchen, um sie besser kalkulieren oder gar unterdrücken zu können, Blankprobleme zu identifizieren und ggf. beheben zu können und daraus folgend Nachweis- und Bestimmungsgrenzen weiter zu senken.

4. Schlussfolgerungen und Fazit

Im ersten Teil dieser Arbeit wurde ein Stoffpriorisierungssystem entwickelt, welches Industriechemikalien auf Basis ihrer potenziellen Umweltemission bewertet. Dieses System wurde auf persistente und mobile organische Chemikalien (*PMOCs*) angewandt, wodurch für 1.110 *PMOCs* eine potenzielle Emission in die Umwelt berechnet wurde. Mit Hilfe dieser Priorisierung wurde die anschließende Analytauswahl für die Methodenentwicklung, das Screening und das Gewässermonitoring durchgeführt. Das entwickelte System ist auf andere Fragestellungen im Rahmen der betrachteten Industriechemikalien übertragbar.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde mit 16 verschiedenen analytischen Methodenkombinationen ein Screening nach 50 *PMOCs* in 20 rohwasserrelevanten Proben durchgeführt, wovon 35 bekannte als auch neuartige *PMOCs* in mindestens einer Probe nachgewiesen wurden.

Dieses Ergebnis war Grundlage für die Entwicklung einer schnellen analytischen Methode, durch die viele verschiedene *PMOCs* nachgewiesen werden können, ohne dass mehrere verschiedene Anreicherungsvarianten als auch chromatographische Verfahren parallel durchgeführt werden müssen. Die superkritische Fluidchromatographie mit vorheriger azeotroper Anreicherung wurde für 17 *PMOCs* mit $\log D$ -Werten zwischen -3,06 und 1,23 validiert.

Die entwickelte Methode wurde für ein anschließendes Monitoring genutzt, das das Verhalten von 15 *PMOCs* in 5 europäischen Regionen in der konventionellen Trinkwasseraufbereitung sowie innerhalb einer Umkehrosroseanlage untersuchte. Es konnte gezeigt werden, dass sich einige Stoffe, wie bspw. Trifluormethansulfonsäure, Cyanoguanidin und Melamin, sowie die Süßstoffe Saccharin und Acesulfam nicht durch die herkömmlichen Wasseraufbereitungsverfahren aus dem Wasserkreislauf entfernen ließen. Die Umkehrosrose erwies sich jedoch als ein alternatives Verfahren in der Wasseraufbereitung mit Potenzial, um gewisse *PMOCs*, wie z. B. die Trifluormethansulfonsäure, aus belastetem Wasser zu entfernen.

Im Kern zeigen die Ergebnisse dieser Dissertation jedoch, dass nicht eine Methode allein dazu in der Lage ist, solch eine Vielzahl an chemisch diversen *PMOCs* in der Umwelt zu analysieren. Im Rahmen dieser Arbeit wurde nach einer vergleichsweise kleinen Auswahl an zuvor priorisierten umweltrelevanten *PMOCs* in Wasserproben gescreent. Dieses Ergebnis lässt vermuten, dass sich noch weitere, bisher unentdeckte *PMOCs* in unserem Wasserkreislauf befinden, die ggf. ebenso nicht durch konventionelle Wasseraufbereitungsverfahren aus dem Wasser entfernbar sind

5. Eigene Publikationen

Publikationen zum Promotionsthema:

Schulze, Stefanie; Paschke, Heidrun; Meier, Till; Muschket, Matthias; Reemtsma, Thorsten; Berger, Urs (2020): *A rapid method for quantification of persistent and mobile organic substances in water using supercritical fluid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry*. Analytical and Bioanalytical Chemistry 412, 4941-4952.

Schulze, Stefanie; Zahn, Daniel; Montes, Rosa; Rodil, Rosario; Quintana, José Benito; Knepper, P. Thomas; Reemtsma, Thorsten; Berger, Urs (2019): *Occurrence of emerging persistent and mobile organic contaminants in European water samples*. Water Research 153, 80-90.

Schulze, Stefanie; Sättler, Daniel; Neumann, Michael; Arp, Hans Peter H.; Reemtsma, Thorsten; Berger, Urs (2018): *Using REACH registration data to rank the environmental emission potential of persistent and mobile organic chemicals*. Science of the Total Environment 625, 1122-1128.

Weitere Publikationen:

Shafique, Umer; **Schulze, Stefanie;** Slawik, Christian; Chepchirchir, Bilha Saina; Böhmer, Alexander; Paschke, Albrecht; Schüürmann, Gerrit (2017): *Perfluoroalkyl acids in aqueous samples from Germany and Kenya*. Environmental Science and Pollution Research 24, 11031-11044.

ISSN 1860-0387

Helmholtz-Zentrum für
Umweltforschung – UFZ
Permoserstraße 15
04318 Leipzig
www.ufz.de

NICHT ZUM VERKAUF BESTIMMT.