

Berichte aus der Umweltwissenschaft

**Uwe Bieling**

**Entwicklung einer Methode zum Nachweis  
und zur Identifikation endokrin wirksamer  
Substanzen mit estrogenem Potential aus  
Abwässern nach Anreicherung mit Hilfe  
des immobilisierten Estrogenrezeptors  $\alpha$**

Shaker Verlag  
Aachen 2011

**Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek**

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Zugl.: D 82 (Diss. RWTH Aachen University, 2011)

Copyright Shaker Verlag 2011

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 978-3-8440-0385-7

ISSN 0946-7173

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen

Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9

Internet: [www.shaker.de](http://www.shaker.de) • E-Mail: [info@shaker.de](mailto:info@shaker.de)

## Zusammenfassung

Abwässer von Kläranlagen sind bereits seit Mitte der 90er Jahre als Punktquellen endokriner Substanzen mit estrogenen Potential bekannt. So werden immer wieder natürlicher Hormone wie  $17\beta$ -Estradiol, aber auch Xenoestrogene wie Bisphenol A nachgewiesen.

Die Bestimmung der hormonell wirksamen Substanzen erfolgt bisher entweder als Summenparameter mit Hilfe biologischer Wirktests wie dem E-Screen oder dem Yeast-Estrogen-Screen. Eine substanzspezifische Bestimmung mit den Mitteln klassischer instrumenteller Analytik wie LC-MS<sup>n</sup> bzw. GC-MS<sup>n</sup> ist eine zweite Säule.

Beim Vergleich der Ergebnisse summarischer Bestimmungen und der Summe der estrogenen Potenz entsprechenden Gehalten der Einzelstoffe der klassischen Analytik ergeben sich stets Differenzen, welche bisher unbekannten estrogen wirksamen Substanzen zugerechnet werden.

Um die unbekannten Substanzen bestimmen zu können, wurde der humane Estrogenrezeptor  $\alpha$  molekularbiologisch so verändert, dass er an einer Festphase immobilisiert werden konnte. Mit dem nun gebundenen Estrogenrezeptor wurden Abwasserproben extrahiert. Dabei wurden durch die Ligandenbindedomäne des Rezeptors estrogen wirksame Substanzen von nicht-estrogen wirksamen Substanzen wie Matrix abgetrennt. In einem nachfolgenden Schritt wurden die retardierten Substanzen wieder abgelöst und mit Hilfe eines flüssigchromatographischen Verfahrens mit hochauflösender massenspektrometrischer Detektion charakterisiert und gegebenenfalls identifiziert.

In dieser Dissertation wurden sowohl Abwasserproben der Aachener Kläranlage, als auch Proben eines Krankenhauses mit angeschlossener Geburtsklinik untersucht. Aufgrund der Abtrennung der Matrixkomponenten durch die spezifischen Aufarbeitung ergaben sich sehr viel rauschärmere und somit aussagekräftigere Chromatogramme.

Der in Hochauflösung aufgenommene Gesamtionenstrom wurde auf neue, unbekannte Estrogene untersucht. Durch Tandem-Massenspektrometrie wurde ein Diol-Ether als mögliche bisher unbekannte Estrogene Substanz nachgewiesen.