

# Abschlussbericht

## Anschubprojekt: „AMPA“

Zuwendungsempfänger: Dr. Marion Kanwischer, Leibniz-Institut für  
Osteeforschung Warnemünde, Organische  
Spurenstoffe (IOW)

PD Dr. Thomas Werner, Leibniz-Institut für  
Katalyse, (LIKAT)

Kooperationspartner:

Prof. P. Leinweber, Universität Rostock.  
Agrar – und Umweltwissenschaftliche  
Fakultät (Uni)

Prof. A. Schulz, Universität Rostock,  
Mathematisch-Naturwissenschaftliche  
Fakultät, Institut für Chemie (Uni)

Vorhabensbezeichnung: Synthese von isotoopenmarkiertem AMPA für  
die qualitative und quantitative Analyse des  
Glyphosatabbaus im Boden / AMPA

Laufzeit des Vorhabens: 03/2019 – 06/2020

Autoren: M. Kanwischer, T. Werner, L. Longwitz, M.  
Wirth, P. Leinweber

## Inhalt

1	Zusammenfassung .....	3
2	Einleitung .....	3
3	Methodik.....	4
4	Ergebnisse und Diskussion .....	5
5	Weitere Ziele aus dem Projekt .....	7
6	Referenzen.....	7
7	Danksagung .....	7
8	Anhang.....	8

## 1 Zusammenfassung

Isotopenmarkierte Substanzen werden häufig in Tracer-Experimenten genutzt, um diese bzw. ihre entsprechend markierten Abbauprodukte zu verfolgen durch z.B. Einsatz sensitiver instrumenteller Analytik. Im vorliegenden speziellen Fall führt der Einsatz kommerziell erhältlichen isotopenmarkierten Glyphosates allerdings zur Bildung eines  $^{15}\text{N}$ -AMPA – Abbauproduktes, welches mit herkömmlichen analytischen Herangehensweisen nicht zu quantifizieren und analytisch abzusichern ist.

Im Projekt AMPA konnte mithilfe von synthetisiertem  $^{15}\text{N}$ -AMPA der Nachweis erbracht werden, dass der Abbau des in einem Lysimeterexperiment eingesetzten  $^{13}\text{C}$ - $^{15}\text{N}$ -Glyphosates über  $^{15}\text{N}$ -AMPA erfolgte. Gehalte an  $^{15}\text{N}$ -AMPA konnten in den Bodenproben des Experimentes nach erneuter Analyse quantifiziert werden.

## 2 Einleitung

Im Zuge eines Lysimeterexperimentes wurde isotopenmarkiertes  $^{13}\text{C}$ - $^{15}\text{N}$ -Glyphosat eingesetzt, um den eventuellen Abbau des Glyphosates im Boden und Transport im Sickerwasser zu verfolgen. Aus diesem Experiment entwickelte sich eine Kooperation zwischen dem Leibniz-Institut für Ostseeforschung (Wirth, Kanwischer, Schulz-Bull) und der Universität Rostock (Gros, Leinweber), in dessen Rahmen mittels gezielter LC-MSMS - Analyse sowohl Sickerwasser als auch Bodenproben auf das eingesetzte isotopenmarkierte Glyphosat untersucht wurden.

Aminomethylphosphonsäure (AMPA) wird als Hauptabbauprodukt des Glyphosates betrachtet. Um Aussagen zum Abbau von Glyphosat treffen zu können, wurden die Proben ebenso auf AMPA analysiert. Die käuflich zu erwerbenden isotopenmarkierten Glyphosatsubstanzen degradieren jedoch alle zu einem isotopenmarkierten  $^{15}\text{N}$ -AMPA, welches dagegen nicht käuflich zu erwerben ist (Abbildung 1).

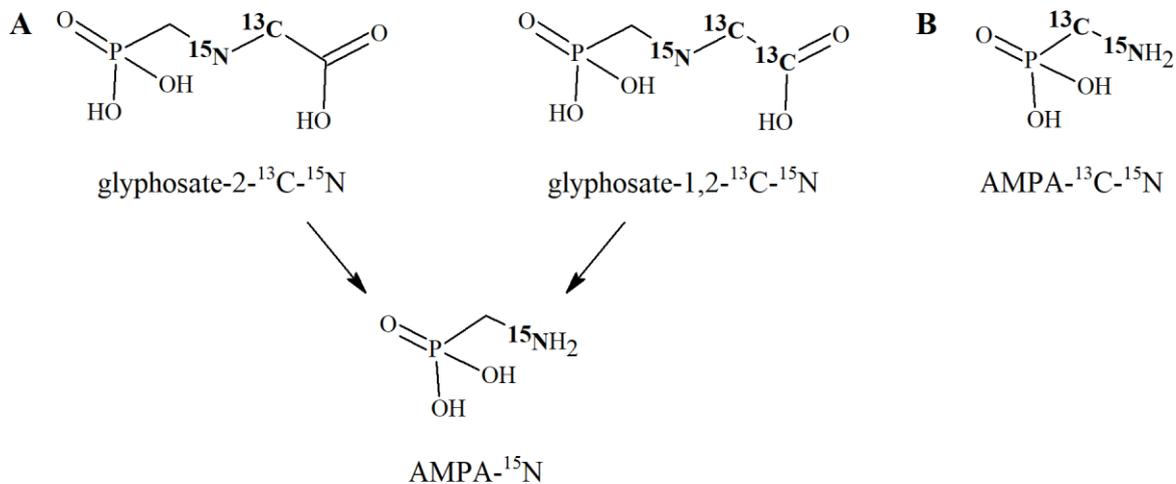


Abbildung 1 **A** Abbau von kommerziell erhältlichem <sup>13</sup>C-<sup>15</sup>N-Glyphosat und 1,2-<sup>13</sup>C-<sup>15</sup>N-Glyphosat zu <sup>15</sup>N-AMPA, **B** kommerziell erhältliches <sup>13</sup>C-<sup>15</sup>N-AMPA

Ein Tuning der LC-MSMS auf diese Komponente war daher nicht möglich, so dass keine sichere qualitative und vor allem auch keine quantitative LC-MSMS - Analyse von <sup>15</sup>N-AMPA durchgeführt werden konnte. Folglich konnten keine gesicherten Aussagen über den Abbau von Glyphosat zu AMPA in diesem Experiment gemacht werden (Gros et al. 2020).

Ziel dieses Projektes war es, <sup>15</sup>N-AMPA zu synthetisieren und damit den analytischen Beweis zu erbringen für das in den Bodenproben des Lysimeterexperimentes vermutete <sup>15</sup>N-AMPA. Darüber hinaus soll es auch quantifiziert werden.

### 3 Methodik

Im Rahmen des Projektes AMPA wurde das benötigte <sup>15</sup>N-AMPA mittels chemischer Synthese am Leibniz-Institut für Katalyse hergestellt (Abbildung 2).

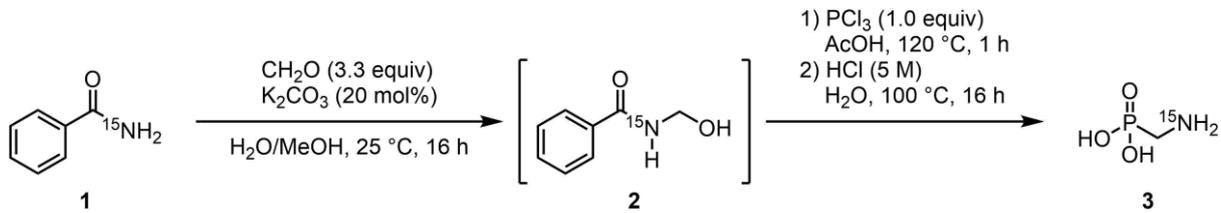


Abbildung 2 Syntheseweg von  $^{15}\text{N}$ -markiertem AMPA

Die Analysen von  $^{15}\text{N}$ -AMPA, AMPA,  $^{13}\text{C}$ - $^{15}\text{N}$ -Glyphosat und Glyphosat erfolgten nach Derivatisierung und anschließender LC-MSMS – Analyse entsprechend bereits beschriebener Verfahren (Wirth et al. 2019). Zur Quantifizierung von  $^{15}\text{N}$ -AMPA wurde eine Kalibrierung bis 50  $\mu\text{g}/\text{L}$  erstellt; nicht-isotopenmarkiertes Glyphosat wurde als interner Standard genutzt.

Aufgearbeitete Bodenproben aus dem Lysimeterexperiment (Gros et al. 2020) wurden erneut analysiert. Dies diente zugleich als *Proof of Concept*.

#### 4 Ergebnisse und Diskussion

Mithilfe des synthetisierten  $^{15}\text{N}$ -AMPA konnten die notwendigen Tunings der LC-MSMS am Leibniz-Institut für Ostseeforschung durchgeführt werden und basierend darauf die Kalibrierungen als Voraussetzung für die Quantifizierung von  $^{15}\text{N}$ -AMPA.

Die Bodenproben aus dem Lysimeterexperiment wurden erneut vermessen und es konnte analytisch bestätigt werden, dass es sich bei der zuvor nachgewiesenen Substanz um  $^{15}\text{N}$ -AMPA handelt, welches nur aus dem Abbau des eingesetzten  $^{13}\text{C}$ - $^{15}\text{N}$ -Glyphosats in diesem Experiment resultieren konnte (Abbildung 3).

Mithilfe der erstellten Kalibrierung konnten die Gehalte des nachgewiesenen  $^{15}\text{N}$ -AMPA in den Proben quantifiziert werden.

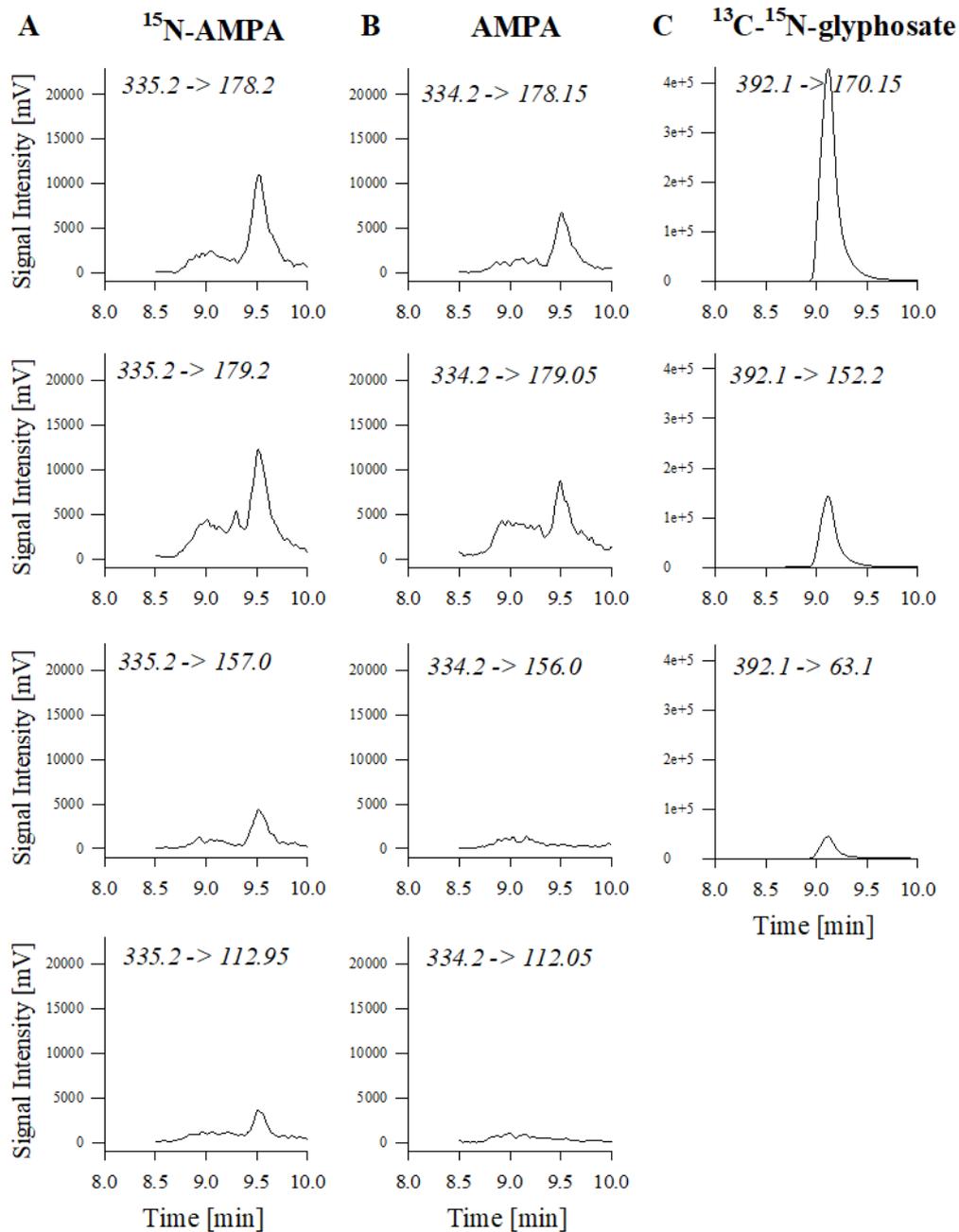


Abbildung 3 Aufgenommene Massenspektren der Massenübergänge von **A**  $^{15}\text{N}$ -AMPA, **B** AMPA und **C**  $^{13}\text{C}$ - $^{15}\text{N}$ -Glyphosat in der Bodenprobe PG30 des Lysimeterexperimentes.

Die Auswertung der massenspektrometrischen Analyse von  $^{15}\text{N}$ -AMPA und AMPA zeigt allerdings, dass der Einsatz von AMPA als interne Standardsubstanz für die Quantifizierung von  $^{15}\text{N}$ -AMPA analytisch nicht sinnvoll ist. Hier kann es aufgrund des geringen Massenunterschiedes von

nur 1 Dalton zu Massenüberlagerungen kommen (Abbildung 3), welche zu falschen bzw. ungenauen quantitativen Ergebnissen führen kann. In Folge dessen wurde hier Glyphosat als interner Standard genutzt.

## 5 Weitere Ziele aus dem Projekt

Die hier zusammengefassten Ergebnisse werden aktuell zu einem Manuskript verfasst, um in einem *peer review* Journal zur Publikation gebracht zu werden (siehe Manuscript-Draft im Anhang).

## 6 Referenzen

Gros, P., R. Meissner, M. A. Wirth, M. Kanwischer, H. Rupp, D. E. Schulz-Bull, and P. Leinweber. 2020. Leaching and degradation of <sup>13</sup>C<sup>2</sup>-<sup>15</sup>N-glyphosate in field lysimeters. *Environmental Monitoring and Assessment* 192. Environmental Monitoring and Assessment. doi:10.1007/s10661-019-8045-4.

Wirth, M. A., M. Sievers, F. Habedank, U. Kragl, D. E. Schulz-Bull, and M. Kanwischer. 2019. Electrodialysis as a sample processing tool for bulk organic matter and target pollutant analysis of seawater. *Marine Chemistry* 217: 103719. doi:10.1016/j.marchem.2019.103719.

## 7 Danksagung

Diese Arbeit wurde durch die Förderlinie Strategische Netzwerke der Leibnizgemeinschaft im Rahmen des Leibniz-WissenschaftsCampus Phosphorforschung Rostock unterstützt.

## **8 Anhang**

Manuscript-Draft: Longwitz, Wirth, Kanwischer, Leinweber, Werner et al.:  
*Synthesis of  $^{15}\text{N}$ -AMPA for the utilization as Internal Standard Compound  
in traceable Degradation Studies of Glyphosate.*