

Iodierte Röntgenkontrastmittel in Oberflächen-, Grund- und Trinkwasser

Wolfram Seitz, Walter H. Weber, Dirk Flottmann, Wolfgang Schulz

Für den Zweckverband Landeswasserversorgung (LW) ist es von großer Bedeutung, die Kontamination der zur Trinkwassergewinnung genutzten Rohwässer mit potentiellen Verunreinigungen und deren Verhalten bei der Wasseraufbereitung zu kennen. Deshalb wurde im Betriebs- und Forschungslaboratorium der LW ein Analysenverfahren zur Bestimmung von iodierten Röntgenkontrastmitteln (RKM) entwickelt. Mit Hilfe dieses Verfahrens, basierend auf Festphasen-Extraktion als Anreicherungs-schritt und HPLC-Tandem-Massenspektrometrie mittels Ionenfallentechnologie, wurde die Belastung der Donau unterhalb Ulms hinsichtlich RKM untersucht. Das aufgenommene Profil machte das Auftreten von Konzentrationsschwankungen deutlich sichtbar.

Einleitung

Seit Anfang der 90er Jahre des vergangenen Jahrhunderts rücken Arzneimittel hinsichtlich ihres Vorkommens im Wasserkreislauf immer mehr in den Blickpunkt. Es zeigte sich, dass vorhandene Abwasserreinigungstechniken nicht für eine vollständige Entfer-

nung aller eingesetzten Substanzen ausreichen. Dies führt zum Eintrag von Arzneimitteln in Oberflächen-gewässer und zur Verunreinigung von beeinflussten Grundwässern. Besonders persistente Verbindungen, wie zum Beispiel iodierte Röntgenkontrastmittel lassen sich bei der Wasseraufbereitung nicht oder nur unvollständig entfernen und wurden bereits im Trinkwasser nachgewiesen [1, 2]. Die im Trinkwasser gemessenen Konzentrationen sind nach heutigen Kenntnissen für eine akute Wirkung am Menschen zu niedrig. Die Auswirkungen einer Dauerbelastung durch die Aufnahme über das Trinkwasser sind jedoch ungeklärt. Aus Gründen der Vorsorge wird folglich eine Minimierung des Eintrags von Arzneimittelrückständen in die Umwelt und damit auch potenziell in das Trinkwasser angestrebt.

Für die Entwicklung und Optimierung geeigneter Wasseraufbereitungstechniken ist eine detaillierte Untersuchung des Verhaltens von Arzneimittelrückständen notwendig und macht eine sichere Einzelstoffanalytik erforderlich. Der Einsatz der Gaschromatographie in der Ultrapurenanalytik ist seit vielen Jahren bewährt, gelingt jedoch im Falle der RKM aufgrund deren hoher Polarität nicht. Aus gleichem Grund ist auch ihre analytische Erfassung mittels HPLC/MS-Multiverfahren zur Bestimmung von Arzneimitteln nicht möglich [3]. Deshalb werden spezielle Methoden auf Basis der hochempfindlichen und hochselektiven Kopplung von Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) und Massenspektrometrie (MS) eingesetzt.

Röntgenkontrastmittel

Iodierte Röntgenkontrastmittel werden in der radiologischen Diagnostik zur gezielten Darstellung von Gefäßen und Organen eingesetzt und in Kliniken sowie von niedergelassenen Ärzten zu ungefähr gleichen Anteilen verabreicht. Eine Einzeldosis beträgt hierbei ungefähr 100 Gramm Kontrastmittel, das in Form hochkonzentrierter wässriger Lösungen appliziert wird [4]. Die jährlichen Verbrauchsmengen liegen allein in Deutschland bei ungefähr 500 Tonnen [5]. Die Grundstruktur aller RKM ist die ionische Substanz Amidotrizoesäure (Abbildung 1).

Iodierte Röntgenkontrastmittel sind nach Sacher et al. aufgrund ihrer hohen Persistenz wasserwerks- und zudem trinkwasserrelevant, wobei Letzteres durch ihre unvollständige Adsorbierbarkeit an Aktivkohle

Die Autoren

Wolfram Seitz studierte an der Fachhochschule Aalen Chemie und absolvierte seine Diplomarbeit im Betriebs- und Forschungslaboratorium des Zweckverbands Landeswasserversorgung (LW). Dort promoviert er derzeit in Zusammenarbeit mit der University of Surrey (England) und arbeitet u.a. an der Entwicklung von analytischen Verfahren zur Bestimmung von Röntgenkontrast-, Arznei- und Pflanzenschutzmitteln. **Dr. Walter Weber** studierte an den Universitäten Clausthal-Zellerfeld und Stuttgart Chemie sowie Lebensmittelchemie und promovierte anschließend an der Universität Hohenheim in Organischer Chemie. Nach einigen Jahren als Leiter der Zentralen Messabteilung der CVUA Sigmaringen leitete er seit 1990 das Betriebs- und Forschungslaboratorium der LW. **Prof. Dr. Dirk Flottmann** absolvierte sein Studium der Chemie an der Universität Bielefeld und promovierte dort in Physikalischer Chemie. Prof. Flottmann beschäftigte sich bereits während seiner Tätigkeit bei der Wacker Chemie GmbH in Burghausen bzw. Wacker Siltronic AG in Singapur mit der Entwicklung neuer analytischer Verfahren. Seit April 2002 lehrt und forscht er an der Fachhochschule Aalen. Nach abgeschlossenem Chemiestudium an der Fachhochschule Aalen und anschließendem Studium der Physik an der Universität Stuttgart arbeitet **Dr. Wolfgang Schulz** seit 1988 im Umweltlabor der wave GmbH in Stuttgart als technischer Laborleiter. Dr. Schulz promovierte an der Universität Lüneburg im Fachbereich Umweltwissenschaften.



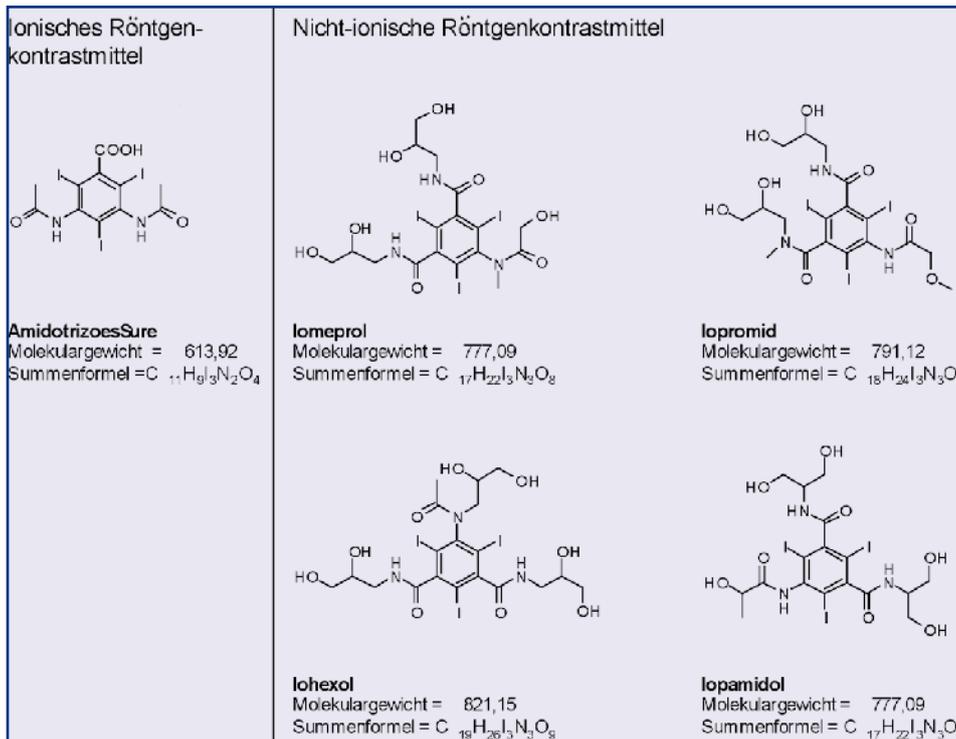


Abbildung 1:
Strukturformeln
der untersuchten
Röntgenkontrast-
mittel.



verursacht wird [6]. RKM gelangen einerseits über das Krankenhausabwasser konzentriert und andererseits durch den Einsatz in Facharztpraxen diffus in die Umwelt [7, 8]. Über die Kläranlagen oder vereinzelt auch Leckagen in Abwasserleitungen kontaminieren Arzneimittelrückstände die aquatische Umwelt.

Die Konzentrationen an RKM betragen in Kläranlagen einige Mikrogramm je Liter [9, 10]. Die Belastung des Oberflächenwassers ist stark vom Abwasseranteil abhängig und beträgt einige Hundert Nanogramm je Liter [1, 2, 11]. Das Vorkommen im Grundwasser wurde von Sacher et al. im Rahmen eines Monitoring-Programms in Baden-Württemberg untersucht, wobei im exponierten Grundwasser von dem Röntgenkontrastmittel Amidotrizoesäure bis zu 1100 Nanogramm je Liter nachgewiesen wurden [12]. Baus konnte RKM mit Konzentrationen bis zu einigen Hundert Nanogramm je Liter im Trinkwasser bestimmen [1]. Trotz mehrstufiger Wasseraufbereitungsverfahren können Röntgenkontrastmittel ins Trinkwasser gelangen [2].

Analytik iodierter Röntgenkontrastmittel

Probenvorbereitung mittels Festphasen-Extraktion

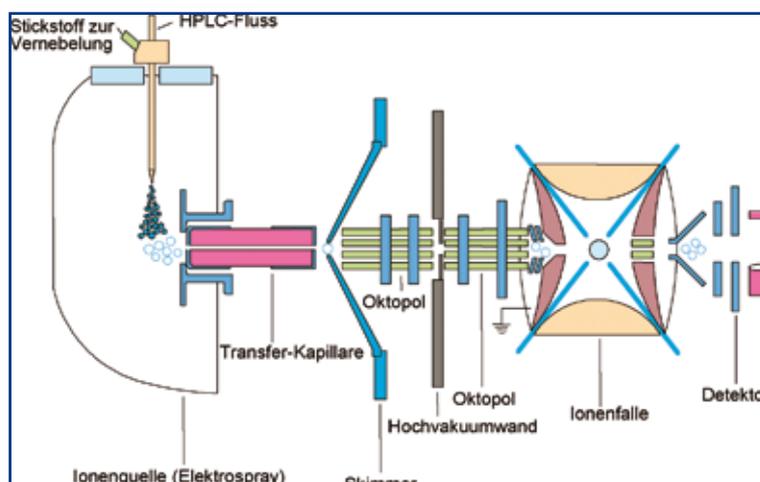
Um Spurenbestandteile einer Probe der Analytik zugänglich zu machen, ist eine Anreicherung häufig unumgänglich. Die Festphasen-Extraktion (SPE) hat sich in den letzten Jahren gegenüber der Flüssig-flüssig-Extraktion (LLE) etabliert. Vorteile der Festphasen-Extraktion sind der geringe Lösemittelverbrauch, die Möglichkeit zur Zeitersparnis durch Automatisierung und die spezifische Anreicherung von Analyten. Da die Festphasen-Extraktion auf dem Prinzip der Chromatographie basiert, lassen sich für die Anreicherung der Analyten chromatographische Bedingungen optimieren, die zu verbesserten und spezifischeren Extraktionstechniken führen.

Die Festphasen-Extraktion bietet durch unterschiedliche Sorbentien die Möglichkeit auf unpolare, polare und ionische Wechselwirkungen zurückzugreifen, wohingegen die Flüssig-flüssig-Extraktion nur auf Verteilungsgleichgewichten basiert.

Durch die Konditionierung des Sorbens wird eine reproduzierbare Wechselwirkung zwischen Analyt und fester Phase gewährleistet. Die Konditionierung stellt eine Benetzung des Sorbens mit Lösemittel dar und ermöglicht dadurch die Adsorption des Analyten. Ein Trockenlaufen des Sorbens muss vermieden werden, da dies zu einer schlechten Reproduzierbarkeit der Anreicherung führt. Unpolare Sorbentien werden mit polaren Lösemitteln konditioniert, polare Sorbentien mit unpolaren Lösemitteln. Die Konditionierung wird

matographie basiert, lassen sich für die Anreicherung der Analyten chromatographische Bedingungen optimieren, die zu verbesserten und spezifischeren Extraktionstechniken führen.

Abbildung 2:
Schematische
Darstellung von
Elektrospray-
Interface und
Ionenfalle
(Agilent 1100
Series LC/MSD
Trap SL).



immer mit dem Lösemittel abgeschlossen, in dem der Analyt gelöst ist (reine Matrix).

Kopplung von HPLC und Massenspektrometrie

Die Kopplung der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie mit der Massenspektrometrie (HPLC/MS) wird für die Routinespurenanalytik im Bereich polarer organischer Substanzen erst seit wenigen Jahren eingesetzt. Die Analytik mittels GC/MS ist im Gegensatz zur HPLC/MS seit längerem etabliert, jedoch in ihrem Einsatzgebiet limitiert. Mit Hilfe der Gaschromatographie lassen sich lediglich unpolare, unzerstört verdampfbare beziehungsweise derivatisierte polare Substanzen analysieren.

Eine elementare Komponente eines HPLC/MS-Systems ist das so genannte Interface, das die Verbindung zwischen flüssiger Phase und dem Hochvakuum des massenselektiven Detektors herstellt. Je nach den chemischen Eigenschaften der Analyten kann eine geeignete Ionenquelle eingesetzt werden. Für polare Analyte ist das Elektrospray, für weniger polare Analyte das APCI (Atmospheric Pressure Chemical Ionization) geeignet. Die Ionisation findet jeweils bei Atmosphärendruck in der Sprühkammer statt, über eine beheizte Kapillare, Skimmer und Octopole werden die gebildeten Ionen in das Hochvakuum des massenselektiven Detektors überführt (Abbildung 2).

Weitverbreitete massenselektive Detektoren sind Triple-Quadrupol-Geräte, die die Aufnahme von zweistufigen Massenspektren (MS/MS) ermöglichen. Hierbei werden generell zunächst Quasimolekülonen oder sonstige Vorläuferionen isoliert, um nach deren stoßinduzierter Fragmentierung die gebildeten Tochterionen analysieren zu können.

Bisher wurde zur Bestimmung von iodierten Röntgenkontrastmitteln die Kopplung von HPLC über ein Elektrospray-Interface mit einem Triple-Quadrupol-Massenspektrometer beschrieben [4, 13, 14].

Der vorliegende Artikel stellt erstmals den Einsatz einer Ionenfalle als massenselektiven Detektor in der RKM-Analytik vor. Der Vorteil besteht gegenüber Triple-Quadrupol-Geräten in der Möglichkeit neben zweistufigen (MS/MS) auch mehrstufige (MS_n) Massenspektren aufzuzeichnen. Im Vergleich zu Quadrupolgeräten ermöglichen Ionenfallen die empfindliche Detektion voller Massenspektren, wobei wertvolle Strukturinformationen erhalten werden können. Organische Spurensubstanzen können hierdurch mit erhöhter Selektivität nachgewiesen werden. Die Aufnahme mehrstufiger Massenspektren lässt sich zudem in der Strukturaufklärung einsetzen.

Methodenentwicklung

Zunächst war es notwendig, die Parameter zur massenspektrometrischen Detektion durch direkte Injektion von Referenzlösungen zu ermitteln. Hierbei wurden nach Identifikation der Vorläuferionen im einfachen Massenspektrum die entsprechenden Tochterionen (Fragmente) im zweistufigen Massenspektrum bestimmt (Abbildung 3).

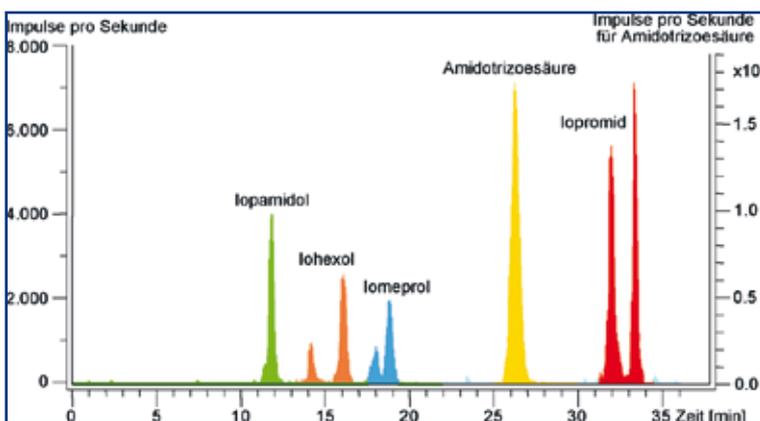
Im Folgenden wurde zur Erhöhung der Selektivität die chromatographische Trennung der RKM optimiert. Dies konnte durch den Einsatz einer octadecylmodifizierten Umkehrphase (C18) und Wasser-Acetonitril (pH-Wert ~ 2,5) als Elutionsmittelgemisch erreicht werden (Tabelle 1). Die Detektion jedes einzelnen RKM wird somit unter spezifischen Bedingungen gewährleistet. Hierdurch lässt sich der Einfluss von Matrixkomponenten, die bei der Untersuchung von Extrakten aus Umweltkompartimenten zu deutlichen Signalunterdrückungen bei der Elektrospray-Ionisation führen können, reduzieren. Die carboxylgruppenhaltige Amidotrizoesäure konnte durch Zusatz von Ameisensäure (pH-Wert ~ 2,5) vom koelutierenden Iomeprol getrennt werden und eluiert nun zwischen Iomeprol und Iopromid (Abbildung 3). Stereoisomere der nicht-ionischen Röntgenkontrastmittel werden teilweise chromatographisch getrennt, was zur Bildung von Doppelpicks führt [4, 14].

Weitere getestete chromatographische Säulen erwiesen sich unter den gewählten Bedingungen für eine vollständige Basislinientrennung als unzureichend.

Zur Probenvorbereitung wurde ein Festphasenmaterial auf hydroxylierter Polystyrol-Basis gewählt, das sehr gut zur Extraktion von polaren Substanzen geeignet ist. Häufig eingesetzte Festphasenmaterialien, wie beispielsweise C18-modifizierte Kieselgele sind zur Extraktion von sehr polaren Substanzen wie den RKM weniger gut geeignet [14].

Nach Optimierung des Extraktionsschrittes konnten zufrieden stellende Wiederfindungsraten über das

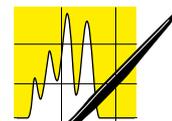
Abbildung 3:
HPLC-Chromatogramm zur Trennung von Röntgenkontrastmitteln (Probenaufgabe: 2 ng absolut) im MS/MS-Modus.



Substanz	Retentionszeit (min)	Vorläuferionen (m/z)	Tochterionen (m/z)
Iopamidol	11,6	778,1	558,9; 632,1
Iohexol	14,3; 16,4	822,1	529,0; 656,9
Iomeprol	18,2; 19,0	778,1	559,0; 632,0; 686,9
Diatrizoate	24,5	361,1	233,0
Iopromide	31,9; 33,2	792,1	559,1; 573,1; 646,2

Trennsäule	Phenomenex Luna RP-18 (2), 250 x 4,6 mm, 5 µm	
Eluent A	Reinstwasser, 10 mL/L Acetonitril, 5 mL/L Ameisensäure, 1 mL/L Ammoniumformiat (5 mol/L)	
Eluent B	Acetonitril	
Flussrate	0,40 mL/min	
Säulentemperatur	30,0 °C	
Injektionsvolumen	2 – 40 µL	
Gradient	Zeit (min)	Eluent B
	0	5 %
	16	5 %
	30	15 %
	35	15 %

Tabelle 1: Chromatographische Daten.



AUFSÄTZE

Gesamtverfahren von 50 bis 90 % erreicht werden. Lediglich Iopamidol wird nicht vollständig vom Sorbens zurückgehalten. Der Zusatz von 5 g/L Natriumchlorid erwies sich als optimal, um die erzielten Wiederfindungsraten um etwa 10 bis 15 % zu erhöhen. Ein hoher Anreicherungsfaktor mit geringem Substanzdurchbruch wurde bei einem Extraktionsvolumen von 750 mL erhalten (Tabelle 2). Unter Einsatz der Festphasen-Extraktion können über das Gesamtverfahren Bestimmungsgrenzen nach DIN 32645 kleiner als 10 ng/L angegeben werden [15].

Untersuchungsergebnisse

Die Landeswasserversorgung gewinnt zur Versorgung von mehr als 3 Millionen Menschen im Raum Stuttgart, Ostwürttemberg und Teilen der Schwäbischen Alb Trinkwasser aus Grund- und Oberflächenwasser. Das geförderte Grundwasser bedarf außer einer Transportdesinfektion mittels Chlordioxid in der Regel keiner weiteren Behandlung. Zusätzlich zum Grundwasser wird Oberflächenwasser direkt aus der Donau bei Leipheim entnommen. Das Rohwasserpumpwerk befindet sich etwa 13 km stromabwärts der Großkläranlage des Raumes Ulm/Neu-Ulm und ist deshalb trotz aufwändiger Abwasseraufbereitung durch kommunales Abwasser gefährdet.

Das Donauwasser wird im Wasserwerk Lengenau einer aufwändigen Aufbereitung unterzogen. Die Trinkwassergewinnung erfolgt über ein Multi-barrierenverfahren bestehend aus: Vorreinigung (Kompaktflockung), Ozonung, Mehrschicht- sowie Aktivkohlefiltration. Da RKM durch konventionelle Aufbereitungsverfahren nur unvollständig entfernt werden können, ist die Belastung des Rohwassers mit Kontrastmitteln von besonderem Interesse. Es wurde deshalb ein umfangreiches Untersuchungsprogramm durchgeführt, das die Erfassung der durchschnittlichen Belastung sowie von Konzentrationsschwankungen in Form eines Profils ermöglichte (Abbildung 4). Das ionische Röntgenkontrastmittel Amidotrizoesäure und die nicht-ionische Verbindung Iopamidol stellen mit Maximalwerten von 580 bzw. 520 ng/L die Hauptbelastung unter den untersuchten Verbindungen dar. Die Medianwerte betragen 310, 230, 205, 185 und 120 ng/L für Iopamidol, Iomeprol, Amidotrizoesäure, Iohexol bzw. Iopromid. Daraus leitet sich ein permanentes Vorkommen von iodierten Röntgenkontrastmitteln im Oberflächenwasser ab.

Innerhalb weniger Stunden ändert sich die Röntgenkontrastmittelbelastung der Donau stark genug, um zur Bildung von peakähnlichen Spitzenbelastungen zu führen. Der Unterschied zwischen Minimal- und

Festphasen-Extraktion					
Material	Isolute ENV+ (200 mg)				
Extraktionsvolumen	750 mL				
pH-Wert	3 mit Schwefelsäure				
Elution	4 mL Methanol; Abdampfrückstand in 300 µL H ₂ O/Acetonitril 85 : 15 aufnehmen				
Nachweisgrenze LOD und Bestimmungsgrenze LOQ nach DIN 32645 (in ng/L)					
	Iopamidol	Iohexol	Iomeprol	Amidotrizoesäure	Iopromid
LOD	2,5	2,5	1,5	0,6	0,7
LOQ	7,9	7,2	3,8	1,9	2,2

Tabelle 2: Festphasen-Extraktion und Bestimmungsgrenzen nach DIN 32645 [15].

Maximalwert beträgt für Iopamidol den Faktor vier und für Amidotrizoesäure bis zum Faktor sechs. Die tatsächlichen Spitzenbelastungen lagen vermutlich noch höher, da durch die zur Erstellung des Konzentrationsprofils entnommenen 2h-Mischproben bereits eine erste Nivellierung vorgenommen wurde. Als generelle Aussage kann aus den stark schwankenden Ergebnissen abgeleitet werden, dass im Falle der RKM eine vergleichende Beurteilung von Fließgewässern durch die Untersuchung sehr weniger Stichproben von nur geringer Aussagekraft ist.

Zusammenfassung

Neben dem Einsatz von Triple-Quadrupol-Massenspektrometern zur Bestimmung von iodierten Röntgenkontrastmitteln wird erstmals der Einsatz der Ionenfallentechnologie beschrieben. Dies ermöglicht die empfindliche Detektion voller Massenspektren, wobei wertvolle Strukturinformationen erhalten werden können.

Die chromatographische Trennung mittels HPLC wurde hinsichtlich der Auflösung von allen untersuchten Röntgenkontrastmitteln optimiert. Dies führte zu einer weiteren Selektivitätserhöhung und einem reduzierten Einfluss von Matrixkomponenten auf den Ionisationsprozess. Eine vollständige Trennung gelang durch den Zusatz von Ameisensäure zum Wasser-Acetonitril-Gemisch. Zufrieden stellende Wiederfindungsraten über das Gesamtverfahren von 50 bis 90 % konnten mittels eines hydroxylierten Festphasenmaterials auf Polystyrol-Basis erhalten werden. Die Bestimmungsgrenzen nach DIN 32645 über das Gesamtverfahren betragen 10 ng/L.

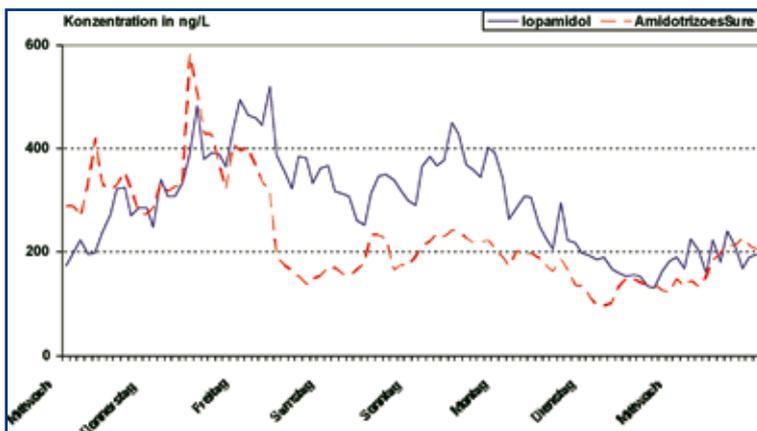
Die Untersuchungen von matrixbelasteten Realproben aus der Donau zeigen, dass sowohl die Festphasen-Extraktion mittels Isolute ENV+ als auch die HPLC/MS-Analyse mittels Ionenfallentechnologie für

die Routine in der Wasseranalytik bestens geeignet ist. Stark schwankende RKM-Gehalte in der Donau zeigen, dass zur Beurteilung der Belastung eines Fließgewässers Einzelbefunde nicht absolut aussagekräftig sind.

Literatur

- [1] Baus, Chr. (2002): Vorkommen von iodierten Röntgenkontrastmitteln und ihr Verhalten bei der Trinkwasseraufbereitung, TZW-Schriftenreihe, Band 18, 13-30
- [2] Seitz, W., Albert R. N., Weber, W. H., Flottmann, D., Schulz, W. (2004): Iodinated X-ray contrast media – Analytical method, occurrence and removal in waterworks, Acta hydrochim. hydrobiol., eingereicht zur Publikation
- [3] Reupert, R., Brausen, G. (2004): Bestimmung relevanter Arzneimittelwirkstoffe in Gewässern. CLB Chemie in Labor und Biotechnik 3, 55. Jahrgang, 88-91
- [4] Putschew, A., Schittko, S., Jekel, M. (2001): Quantification of triiodinated benzene derivatives and X-ray contrast media in water samples by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry, J. Chromatogr. A, 930, 127-134
- [5] Ternes, T. A., Hirsch, R. (2000): Occurrence and behavior of X-ray contrast media in sewage facilities and the aquatic environment, Environ. Sci. Technol., 34, 2741-2748
- [6] Sacher, F., Karrenbrock, F., Knepper, Th. P., Lindner, K. (2001): Untersuchungen der Adsorbierbarkeit von organischen Einzelstoffen als ein Kriterium ihrer Trinkwasserrelevanz, Vom Wasser, Band 96, 173-192
- [7] Haß, A., Hubner, P., Zipfel, J., Kümmerer, K. (1998): Europäische Krankenhäuser als AOX-Emittenten, Vom Wasser, Band 85, 59-67
- [8] Hundesrüge, T. (1998): Arzneimittel in der Umwelt – Weg des Röntgenkontrastmittels Iopentol, Krankenhauspharmazie, 5, 245-248
- [9] Daughton, C. G., Ternes, T. A. (1999): Pharmaceutical and personal care products in the environment: Agents of subtle change?, Environ. Health Persp., 107, Suppl. 6, 907-944
- [10] Jekel, M., Wischnack, S. (2000): Herkunft und Verhalten iodorganischer Verbindungen im Wasserkreislauf, Schriftenreihe Wasserforschung Berlin, Band 6, 61-69
- [11] Putschew, A., Wischnack, M., Jekel, M. (2000): Occurrence of triiodinated X-ray contrast agents in the aquatic environment, Sci. Total Environ., 255, 129-134
- [12] Sacher, F., Gabriel, S., Metzinger, M., Stretz, A., Wenz, M., Lange, F. Th., Brauch, H.-J., Blankenhorn, I. (2002): Arzneimittelwirkstoffe im Grundwasser – Ergebnisse eines Monitoring-Programms in Baden-Württemberg, Vom Wasser, Band 99, 183-196
- [13] 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. Chromatogr. A, 938, 199-210
- [14] Hirsch, R., Ternes, T. A., Lindart, A., Haberer, K., Wilken, R.-D. (2000): A sensitive method for the determination of iodine containing diagnostic agents in aqueous matrices using LC-electrospray-tandem-MS detection, Fresenius J. Anal. Chem., 366, 835-841
- [15] Deutsches Institut für Normung (1994): DIN 32645: Nachweis, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze, Beuth-Verlag, Berlin.

Abbildung 4: Konzentrationsprofil ausgewählter Röntgenkontrastmittel in der Donau (Leipheim). Die Abbildung zeigt den Verlauf vom 23. bis 30. Juni 2004.



	Iopamidol	Amidotrizoesäure
Minimalwert (ng/L)	130	98
Medianwert (ng/L)	310	205
Maximalwert (ng/L)	520	580