

## 4. Methoden und Materialien

### 4.1. Chemikalien

Zur Optimierung der Probenvorbereitungs- und Analysenmethoden wurden die einzelnen Analyten in n-Hexan bzw. Ethylacetat gelöst. Diese Stammlösungen wurden in n-Hexan zu einer gemischten Stammlösung vereinigt, aus der dann die einzelnen Verdünnungsstufen hergestellt wurden.

Die verwendeten Lösungsmittel und Referenzmaterialien sind in Tab. 4-1 und Tab. 4-2 aufgelistet.

Tab. 4-1: Verwendete Referenzmaterialien für die Kalibrierlösungen

Referenzmaterialien	Lieferant	Reinheit
Acenaphthen	VWR	99 %
Atrazin	Riedel-de Haën	99,2 % (HPLC)
Benzo(a)pyren	FLUKA	98 % (HPLC)
Benzo(g,h,i)perylen	FLUKA	98 % (HPLC purum)
Benzophenon	VWR	99 %
p,p'-DDE	Riedel-de Haën	99,7 %
n-Docosan	ACROS	98 %
n-Dotriacontan	SIGMA	97 %
Fluoranthren	SIGMA	99 % (HPLC)
Hexachlorbenzol	Riedel-de Haën	99,6 %
Lindan	Riedel-de Haën	99,5 %
Naphthalin	ACROS	99 %
PCB-Mix 1, 10 ng/μL	Dr. Ehrenstorfer	97 – 98 %
Phenanthren	ACROS	98 %
Simazin	Riedel-de Haën	99,3 % (HPLC)
n-Tetracosan	SIGMA	99 %

Tab. 4-2: Verwendete Lösungsmittel

<b>Lösungsmittel</b>	<b>Lieferant</b>	<b>Reinheit [%]</b>
Ethanol	ROTH	99,8
Ethylacetat	ROTH	99,9
Methanol	MERCK	zur Pestizidbestimmung
n-Hexan	FLUKA	99,8
n-Heptan	VWR	99,3

## 4.2. Kalibrier- und Dotierlösungen

Alle Versuche zur Methodenerarbeitung wurden mit Modellwässern durchgeführt, die jeweils mit den zu untersuchenden Substanzen aufgestockt wurden. Die Untergrenze der verwendeten Analytkonzentration orientiert sich an der Bestimmungsgrenze der Analyten. Weiterhin wurden die Modellwässer im Konzentrationsbereich des Grenzwertes der gültigen Trinkwasserordnung [86] sowie im Bereich des Erwartungswertes der realen Belastung der untersuchten Oberflächengewässer dotiert.

Für die Festphasenmikroextraktion wurde gefiltertes Wasser aus dem Süßen See verwendet, bei dem keine Belastung mit den interessierenden Substanzen messbar war. Für die Festphasenextraktion wurde Trinkwasser als Modellwasser eingesetzt, da auf Grund des vergleichsweise hohen Verbrauches der Einsatz von Oberflächenwasser wenig praktikabel erschien.

Für die Kalibrier- und Dotierlösungen wurden zuerst Einzel-Stammlösungen der zu untersuchenden Chemikalien im Konzentrationsbereich von 1 µg/µL hergestellt. Diese Stammlösungen wurden zu einer gemischten Stammlösung (5 ng/µL) in n-Hexan zusammengeführt. Für die Testreihen und Kalibrierungen wurden Verdünnungsreihen mit Konzentrationen zwischen 25 pg/µL und 10 ng/µL hergestellt.

Um den Lösungsmiteleinfluss auf die dotierten Wässer so gering wie möglich zu halten, wurden die Proben mit ca. 10 bis 100  $\mu\text{L}$  der entsprechend konzentrierten Dotierlösung dotiert.

### 4.3. Wasserproben

Im Rahmen dieser Arbeit wurden stichprobenartig verschiedene Gewässer im Untersuchungsgebiet beprobt (s. Anhang II). Alle Proben wurden als Schöpfproben gewonnen. Es wurden sowohl im Sommer als auch im Winter Proben genommen. Alle Wasserproben eines Probenahmezeitraumes wurden unter vergleichbaren Wetterbedingungen gewonnen (s. Tab. 4-3).

Tab. 4-3: Wetterbedingungen bei den Probenahmen

Datum der Probenahme	Wetterbedingungen
07.11.2001	~ 10 °C Luft und Wasser, windig, Wellengang
29.01.2002	8 °C Luft, 4 °C Wasser, stürmisch
22.08.2002	> 25 °C Luft, > 20 °C Wasser, windstill
12.11.2002	5-10 °C Luft und Wasser, windstill
18.11.2002	5-10 °C Luft und Wasser, windstill
02.12.2002	~ 5 °C Luft und Wasser, schwacher Wind
03.12.2002	< 5 °C Luft und Wasser, schwacher Wind

### 4.4. Probenvorbereitung

Im Folgenden sind die optimierten Bedingungen der Probenvorbereitungsmethoden (LLE, SPE, SPME) sowie die Testmethode für die Stir Bar Sorptive Extraction skizziert. Die ausführliche Beschreibung der Optimierung erfolgt in Kap. 5.1.

#### 4.4.1. Flüssig/Flüssig-Extraktion

Probenmenge:	400 mL
Extraktionsmittel:	n-Hexan
Extraktion:	wässrige Phase dreimal mit je 50 mL n-Hexan ausschütteln
Extraktaufarbeitung:	vereinigte organische Phase mit 20 g Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> trocknen und über extrahierte Glaswolle filtrieren
Aufkonzentrierung:	Zugabe von 500 µL Toluol als Keeper Probe am Rotationsverdampfer einengen durch Abdampfen des n-Hexans (Vakuum 240 bar, Wasserbad 35 °C)

#### 4.4.2. SPE

Probenmenge:	250 mL
Extraktionssäule:	3-mL-Glassäule gefüllt mit 400 mg LiChrolut EN (MERCK) und 200 mg RP-C 18 (40 µm, BAKERBOND)
Filtersäule:	3-mL-Glassäule mit Glasfaserfilter
Probenvorbereitung:	Oberflächenwasserprobe 2 Minuten im Ultraschallbad homogenisieren, anschließend durch Glasfaserfilter filtrieren oder während der Probenaufgabe durch Filtersäule saugen
Konditionieren:	erst 2 x 3 mL Methanol, dann 2 x 3 mL destilliertes Wasser auf die Säule geben, jeweils 2 Minuten einwirken lassen, dann absaugen
Probenaufgabe:	kontinuierliche Aufgabe aus 250-mL-Vorratsbehälter mittels einer Vakuumpumpe (Flussrate ca. 5 mL/min)
Waschen:	2 x 0,5 mL destilliertes Wasser durchsaugen
Trocknen:	ca. 20 min am Vakuum
Elution:	100 µL n-Heptan als Keeper im Auffangkolben vorlegen erst 2 mL n-Hexan, dann 2 mL Ethylacetat auf die Säule geben, jeweils 2 min einwirken lassen, dann mit luftgefüllter Spritze aus der Säule drücken
Aufkonzentrierung:	Probe am Rotationsverdampfer einengen durch Abdampfen der Lösungsmittel n-Hexan und Ethylacetat (Vakuum 240 bar, Wasserbad 35 °C)

#### 4.4.3. SPME

Probenvolumen :	15 mL
Fasern :	85 µm Polyacrylat (SUPELCO) 100 µm Polydimethylsiloxan (SUPELCO) 65 µm Carbowax/Divinylbenzen (SUPELCO) 75 µm Carboxen/Polydimethylsiloxan (SUPELCO)
Konditionieren:	3 min (250 °C) im GC-Injektor ausheizen
Extraktion:	30 min bei 50 °C im Wasserbad in die Probelösung eintauchen, Rührgeschwindigkeit 700 U/min mit glasummantelten Magnetrühr- stäbchen
Desorption:	2 min bei 250 °C im GC-Injektor ausheizen

#### 4.4.4. SBSE

Probenvolumen:	25 mL
Twister:	10 mm, 55 µL PDMS (GERSTEL)
Konditionierung:	Twister 90 min im Argonstrom (Flussrate 50-60 mL/min) bei 300 °C ausheizen
Extraktion:	Probe 60 min bei Raumtemperatur im Wasserbad extrahieren, Rühr- geschwindigkeit ~ 970 U/min
Rückextraktion:	Twister in ein GC-Vial mit 200-µL-Flachbodeneinsatz geben, 100 bzw. 150 µL n-Hexan zufügen und 10 min im Ultraschallbad behandeln

## 4.5. Angewandte Messmethoden

### 4.5.1. GC/MS

Zur Untersuchung aller Extrakte bzw. Kalibrierlösungen wurde ein Kapillargaschromatograph CP-3800 (Varian) mit folgenden Grundparametern eingesetzt.

Trennkapillare:	CP-SIL 8 CB, low bleed/MS (5 % Phenyl, 95 % Dimethylpolysiloxan) (VARIAN), 30 m x 25 mm x 0,25 µm
Gasfluss:	0,8 mL/min Helium
Detektor:	SATURN 2000, Ion Trap Massenspektrometer (VARIAN)
Scanbereich:	50-650 m/z (Full scan)

Die Trennparameter wurden den verschiedenen Probenvorbereitungstechniken individuell angepasst:

<b>Temperaturprogramm</b>	<b>GC-Ofen</b>	<b>Injektor</b>
Desorption der SPME-Faser	50 °C (2 min) → 300 °C (8 °C/min; 7,75 min)	250 °C
Direktinjektion LM n-Hexan (nach der SPE)	50 °C (1 min) → 300 °C (8 °C/min; 7,75 min)	280 °C; 1 µL
Direktinjektion LM n-Heptan (nach der SPE)	80 °C (1 min) → 300 °C (8 °C/min; 7,75 min)	280 °C; 1 µL
Direktinjektion LM n-Hexan (nach der SBSE)	50 °C (3 min) → 300 °C (8 °C/min; 8,75 min)	66 °C (1 min) → 280 °C (150 °C/min); 10 µL

#### 4.5.2. GC/MS/MS zur Trennung der Atrazin-Metaboliten

Zur Erstellung einer MS/MS-Methode wurden die gaschromatographisch aufgetrennten Triazingemische mit einem Ion Trap Massenspektrometer SATURN 2000 der Firma VARIAN detektiert.

GC-Ofen:	60 °C (1 min) → 100 °C (40 °C/min) → 150 °C (10 °C/min) → 185 °C (2 °C/min) → 250 °C (40 °C/min)
Injektor:	280 °C; 1 µL
Gasfluss:	1,0 mL/min Helium
Anregungsamplitude	20 V
Wave form	non-resonant
Mutterionen DEA	m/z = 186
DIP	m/z = 173

#### 4.6. Statistische Berechnungen

Zur Charakterisierung der Richtigkeit der Messwerte (systematischer Fehler) wurden die Wiederfindungsraten (WFR in %) ermittelt:

$$WFR = \frac{\bar{x}}{x} \cdot 100 \% \quad (4-1)$$

$\bar{x}$  – Mittelwert der Messwerte  
 $x$  – wahrer Wert

Analysiert wurden für jede Extraktionsmethode mehrere Versuchsreihen mit dotierten Modellwässern. Dabei wurden jeweils 4 Proben im Bereich der Bestimmungsgrenze, des Trinkwassergrenzwertes sowie des Erwartungswertes der realen Wasserproben dotiert. Parallel wurde jeweils eine 4fache Blindwertbestimmung durchgeführt.

Bei der Bewertung der Analysenergebnisse wurden die Vorgaben der US EPA als Maßstab herangezogen, wonach Wiederfindungsraten von 70 – 130 % als akzeptabel gelten [87].

Zur Feststellung der Reproduzierbarkeit der Messwerte (zufälliger Fehler) wurden die relativen Standardabweichungen RSD nach

$$RSD = \frac{s_x}{\bar{x}} \quad (4-2)$$

berechnet (s. Abb. 5-3 und Anhang IV), wobei die Standardabweichung  $s_x$  gemäß der STUDENT-Verteilung nach

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (4-3)$$

$n$  – Anzahl der Messungen

ermittelt wurde.

#### **4.7. Umwelt- und Entsorgungsaspekte**

Alle anfallenden Abfälle wurden sachgerecht entsorgt. Die Entsorgung der Lösungsmittel erfolgte getrennt nach halogenfreien und halogenhaltigen. Extrahierte Wasserproben wurden über die Kanalisation entsorgt, da keine Analyten mehr nachweisbar waren. Benutzte Vials, Maßkolben und andere Glasgeräte wurden, sofern sie Analyten enthielten, mit technischem Aceton gespült, ansonsten mit Detergenzien gereinigt und anschließend mit Ethanol p.a. und destilliertem Wasser gespült. Rührstäbchen wurden mit Ethanol p.a. und Hexan p.a. im Ultraschallbad je 10 Minuten gereinigt. Inserts für Autosamplervials, Septa und Pasteur-Pipetten wurden nur einmal verwendet.

Ein ökologischer Aspekt der Arbeit bestand im ressourcenschonenden Einsatz der verwendeten Lösungsmittel und Adsorbentien. Bei der SPE wurde deshalb mit vergleichsweise geringen Volumina von 250 mL Wasserprobe statt der im Allgemeinen verwendeten 1000 mL gearbeitet. Dadurch konnte die Abfallmenge an Adsorbentien gering gehalten werden.