

**Bestimmung von Pestiziden in Flusswasser
im ng/L- und sub-ng/L-Bereich
mittels Flüssigchromatographie-Tandem-
Massenspektrometrie (LC-MS/MS) –
Verfahrensentwicklung, Validierung und
Anwendung für die Untersuchung der Elbe**

(Vom Fachbereich Chemie der Universität Hamburg als Dissertation
angenommene Arbeit)

Autorin:
C. Roos

**Bestimmung von Pestiziden in Flusswasser
im ng/L- und sub-ng/L-Bereich
mittels Flüssigchromatographie-Tandem-
Massenspektrometrie (LC-MS/MS) –
Verfahrensentwicklung, Validierung und
Anwendung für die Untersuchung der Elbe**

(Vom Fachbereich Chemie der Universität Hamburg als Dissertation
angenommene Arbeit)

Autorin:

C. Roos

(Institut für Küstenforschung)

Die Berichte der GKSS werden kostenlos abgegeben.
The delivery of the GKSS reports is free of charge.

Anforderungen/Requests:

GKSS-Forschungszentrum Geesthacht GmbH
Bibliothek/Library
Postfach 11 60
D-21494 Geesthacht
Germany
Fax.: (49) 04152/871717

Als Manuskript vervielfältigt.
Für diesen Bericht behalten wir uns alle Rechte vor.

ISSN 0344-9629

GKSS-Forschungszentrum Geesthacht GmbH · Telefon (04152)87-0
Max-Planck-Straße · D-21502 Geesthacht / Postfach 11 60 · D-21494 Geesthacht

Bestimmung von Pestiziden in Flusswasser im ng/L- und sub-ng/L-Bereich mittels Flüssigchromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) – Verfahrensentwicklung, Validierung und Anwendung für die Untersuchung der Elbe

(Vom Fachbereich Chemie der Universität Hamburg als Dissertation angenommene Arbeit)

Christina Roos

212 Seiten mit 59 Abbildungen und 50 Tabellen

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde ein leistungsfähiges Analysenverfahren zum Nachweis und zur Quantifizierung von Pestiziden mit sehr unterschiedlichen Eigenschaften entwickelt, validiert und angewendet. Das Einsatzgebiet des Verfahrens ist die Untersuchung der Belastungssituation von Flüssen mit Pestiziden, insbesondere für Substanzen mit niedrigen Effektkonzentrationen ($EC < 100$ ng/L) bzw. Zielvorgaben im ng/L- und sub-ng/L-Bereich. Folgende Substanzen mit stark variierender Polarität (Wasserlöslichkeit: $20 \mu\text{g/L}$ bis 600 g/L , $\log K_{ow}$ -Werte: -1 bis 5) wurden untersucht: Atrazin, Desethylatrazin, Desethylterbuthylazin, Desisopropylatrazin, Propazin, Irgarol, Terbuthylazin (Triazinderivate und Metabolite); Azinphos-methyl, Diazinon, Dichlorvos, Etrinfos, Fenitrothion, Mevinphos (zwei Isomere), Parathion-ethyl, Parathion-methyl, Pyrazophos (Phosphorsäureester); Diuron, Triasulfuron, Teflubenzuron (Harnstoffderivate); Aldicarbulsulfon, Carbaryl, Oxamyl (Carbamate); Alachlor, Bromacil, Imidacloprid. Für die Anreicherung wird die Festphasen-Extraktion (SPE) an einem RP-C18-Material eingesetzt, die Messung erfolgt mittels Flüssigchromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) mit Elektrospray-Ionisierung (ESI) im positiven Modus. Bei der Untersuchung von Realproben wurde zur Absicherung von Positivbefunden auch die „atmospheric pressure chemical ionization“ (APCI) eingesetzt.

Das optimierte Verfahren wurde u.a. anhand der Untersuchung von aufgestockten Wasserproben aus der Elbe validiert. Durch die Anwendung dreier Identifizierungskriterien (Retentionszeit und zwei Massenübergänge pro Analyt) weist das Verfahren eine hohe Selektivität auf, die den Nachweis der Analyte mit einer hohen Identifizierungssicherheit ermöglicht. Die Nachweisgrenzen des Gesamtverfahrens liegen bei Auswertung des 1. Massenübergangs zwischen $0,2$ und 5 ng/L und bei Auswertung des 2. Massenübergangs zwischen $0,5$ und 8 ng/L (Ausnahmen: Fenitrothion und Parathion-methyl, jeweils 30 ng/L für beide Massenübergänge). Ausserdem wurden im Rahmen der Validierung die Wiederfindungsraten, die Präzision, der Arbeitsbereich und die Haltbarkeit der Analyte in den Wasserproben untersucht. Anhand der Wiederfindungsraten für zwei deuterierte Standardsubstanzen (Atrazin-D5 und Diazinon-D10), die jeder Probe vor der Anreicherung zugesetzt werden, können die Qualität der Aufarbeitung und Messung einer Probe kontrolliert und durch einen stark veränderten Matrixeinfluss verursachte Abweichungen festgestellt werden („interne Qualitätskontrolle“).

Bei der Untersuchung von Wasserproben eines Elbelängsprofils wurden für Atrazin, Desethylatrazin, Terbuthylazin, Diuron und Desethylterbuthylazin, Desisopropylatrazin, Irgarol, Propazin, Diazinon, Dimethoat, Alachlor, Bromacil, Imidacloprid Positivbefunde festgestellt. Mit Ausnahme der vier erstgenannten Substanzen lagen die Befunde meistens unterhalb von 10 ng/L. Die Diuron-Konzentrationen lagen in fast allen Proben aus dem deutschen Elbe-Abschnitt zwischen 10 und 50 ng/L und damit deutlich oberhalb der Zielvorgabe für das Schutzgut „Aquatische Lebensgemeinschaften“ von 6 ng/L. Ein besonders hoher Befund wurde mit ca. $3 \mu\text{g/L}$ Alachlor (ausserhalb des validierten Anwendungsbereiches bis etwa 100 ng/L) in der Mündung des Nebenflusses Jizera festgestellt. Für die Ergebnisse aus der Untersuchung der Wasserproben des Elbelängsprofils wurde eine umfassende

Messunsicherheit für das Gesamtverfahren ermittelt. Die erweiterte Messunsicherheit ($k = 2$) liegt zwischen 14 und 41 %, mit Ausnahme von Dichlorvos, Triasulfuron, Aldicarb-sulfon, Carbaryl und Oxamyl, für die aufgrund der hohen Messunsicherheit nur halb-quantitative Angaben gemacht werden können.

Determination of pesticides in river water in the ng/L- and sub-ng/L-range using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) – method development, validation and application for investigation of the river Elbe

Abstract

This work describes the development, validation and application of a powerful analytical method for the detection and quantification of several pesticides with strongly varying chemical and physical properties. The purpose of this method was to evaluate the degree of pesticide contamination in rivers, especially for substances with low effect concentrations ($EC < 100$ ng/L) and water quality objectives, which have a concentration range from sub-ng/L to a few ng/L. The following compounds with a wide range of polarity (water solubility 20 μ g/L to 600 g/L, $\log K_{ow}$ -Werte: -1 to 5) were investigated: atrazine, desethylatrazine, desethylterbuthylazine, desisopropylatrazine, propazine, irgarol, terbuthylazine (triazines); azinphos-methyl, diazinone, dichlorvos, etrimfos, fenitrothion, mevinphos (2 isomers), parathion-ethyl, parathion-methyl, pyrazophos (organo-phosphorus compounds); diuron, triasulfuron, teflubenzuron (ureas); aldicarb-sulfone, carbaryl, oxamyl (carbamates); alachlor, bromacil, imidacloprid. The pesticides were extracted and concentrated from water samples by solid phase extraction (SPE) with a RP-C18 material. The quantification was performed using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) with electro-spray ionization (ESI) in positive mode. During investigation of water samples of the river Elbe positive results were checked by additional measurement with atmospheric pressure chemical ionization (APCI).

Method validation was done by investigation of spiked water samples from the river Elbe. The use of three identification criteria (retention time and two MRM signals) ensured a high method selectivity. Thus, the detection and the identification of the analytes can be done with a high degree of certainty. Except for two substances, the method detection limits lie between 0.2 and 5 ng/L for the analysis of the first MRM signal and between 0.5 and 8 ng/L for the analysis of the second MRM signal (the exceptions are fenitrothion and parathion-methyl, 30 ng/L from both MRM signals). During method validation the recoveries, the precision, the working range and the stability of the analytes in water samples were investigated. The method recoveries for two deuterated standard substances (atrazine-D5 and diazinone-D10), which were added to each sample prior to extraction, were used to monitor the sample quality throughout the analysis and to determine any deviations arising from large changes in matrix effects ("internal quality control").

During investigation of water samples taken from the entire length of the Elbe river positive results were found for atrazine, desethylatrazine, terbuthylazine, diuron and desethylterbuthylazine, desisopropylatrazine, irgarol, propazine, diazinone, dimethoat, alachlor, bromacil, imidacloprid. Except for the first four mentioned substances, the results lay below 10 ng/L for the majority of the samples. In nearly all samples from the German part of the river Elbe diuron was found in concentrations between 10 and 50 ng/L, which lie clearly above the quality objective of 6 ng/L. In the mouth of the tributary river Jizera a high concentration of Alachlor was found (~ 3 μ g/L, not within the validated working range). For the results of the samples of the Elbe profile, an overall uncertainty was evaluated. The expanded uncertainty ($k = 2$) lies between 14 and 41 %. The exceptions are dichlorvos, triasulfuron, aldicarb-sulfon, carbaryl and oxamyl, which show such a high degree of uncertainty that for these substances only semi-quantitative results can be given.

INHALTSVERZEICHNIS

1 Einleitung	1
2 Aufgabenstellung	2
3 Allgemeiner Teil	3
3.1 Allgemeines zu Pestiziden.....	3
3.2 Zielvorgaben zum Schutz von Oberflächengewässern.....	4
3.3 Spurenanalytik von Pestiziden in Wasserproben.....	6
3.3.1 Allgemeines.....	6
3.3.2 Festphasen-Extraktion (SPE).....	9
3.3.3 Flüssigchromatographie (LC).....	10
3.3.4 Kopplung von Flüssigchromatographie (LC) und Massenspektrometrie (MS): Ionisierung bei Atmosphärendruck (API-Methoden).....	11
3.3.5 Massenspektrometrische Detektion (MS).....	15
3.3.6 Analytik von Pestiziden in Wasserproben im ng/L-Bereich mittels LC-MS(/MS).....	16
3.4 Umgang mit Matrixeffekten bei der Quantifizierung.....	20
4 Substanzauswahl	22
5 Verfahrensentwicklung	28
5.1 Vorgehensweise bei der Ermittlung der Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens und einzelner Verfahrensschritte.....	29
5.2 Auswahl der Signale für die massenspektrometrische Detektion.....	30
5.3 Optimierung von Parametern für die Ionisierung mit ESI und APCI.....	35
5.3.1 Ionisierungshilfsmittel (ESI und APCI).....	35
5.3.2 Organischer Eluent für die LC (ESI und APCI).....	39
5.3.3 Temperatur der Ionenquelle (ESI und APCI).....	40
5.3.4 Flussrate des Eluats (ESI).....	42
5.4 Auswahl der Ionisierungsmethode (ESI oder APCI).....	44
5.4.1 Empfindlichkeit der Messung.....	44
5.4.2 Effekte der Probenmatrix bei der Messung.....	45
5.5 Anreicherungs- und Gesamtverfahren.....	47
5.5.1 Vergleich verschiedener Anreicherungsmaterialien.....	47
5.5.2 Modifikationen des Verfahrens.....	50

5.6	Vergleich von Wiederfindungsraten für das optimierte Verfahren	52
5.6.1	Vergleich von Wiederfindungsraten für das Gesamtverfahren und für einzelne Verfahrensschritte anhand von Wasserproben aus der Elbe.....	52
5.6.2	Vergleich von Wiederfindungsraten für reine Wasserproben und für Wasserproben aus der Elbe	55
5.7	Vorgehensweise zur Auswertung der Messergebnisse von unbekanntem Proben und zur Kontrolle von Matrixeffekten.....	58
6	Validierung des Verfahrens	60
6.1	Einleitung.....	60
6.2	Identifizierung / Selektivität.....	65
6.2.1	Selektivität innerhalb der untersuchten Substanzgruppe.....	65
6.2.2	Selektivität in Anwesenheit der Flusswassermatrix.....	69
6.3	Nachweis- und Bestimmungsgrenzen.....	71
6.3.1	Nachweisgrenzen der LC-MS/MS-Messung.....	71
6.3.2	Nachweis- und Bestimmungsgrenzen des Gesamtverfahrens.....	72
6.4	Arbeitsbereich.....	75
6.4.1	Arbeitsbereich der LC-MS/MS-Messung.....	75
6.4.2	Arbeitsbereich des Gesamtverfahrens.....	76
6.5	Präzision.....	78
6.5.1	Präzision der LC-MS/MS-Messung.....	78
6.5.2	Präzision des Gesamtverfahrens.....	80
6.6	Haltbarkeit der Analyte in den Wasserproben.....	84
6.7	Stabilität der Messung.....	86
6.8	Deuterierte Substanzen für die interne Qualitätskontrolle.....	89
6.9	Zusammenfassung der Ergebnisse der Validierung.....	92
7	Ergebnisse eines Elbelängsprofils.....	96
7.1	Allgemeines.....	96
7.2	Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle mit deuterierten Standardsubstanzen.....	98
7.3	Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens und Vorgehensweise bei der Auswertung.....	101
7.3.1	Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens.....	101
7.3.2	Vorgehensweise bei der Auswertung.....	106

7.4 Ergebnisse.....	107
7.4.1 Konzentrationen in den Wasserproben des Elbelängsprofils.....	107
7.4.2 Konzentrationen in Wasserproben der Elbe bei Geesthacht-Tesperhude.....	112
7.4.3 Bewertung der Ergebnisse des Elbelängsprofils und der Nachweisgrenzen des Verfahrens im Hinblick auf Zielvorgaben und Effektkonzentrationen.....	114
7.4.4 Vergleich der Ergebnisse des Elbelängsprofils mit Daten aus der Literatur.....	116
7.5 Absicherung der Daten durch Auswertung des 2. Massenübergangs und Messung mit APCI.....	119
7.5.1 Auswertung des 2. Massenübergangs.....	119
7.5.2 Messung mit APCI.....	121
8 Messunsicherheit	126
8.1 Allgemeines.....	126
8.2 Ermittlung der Messunsicherheit der Ergebnisse für die Wasserproben des Elbelängsprofils.....	129
9 Fazit und Ausblick.....	140
10 Zusammenfassung.....	142
10.1 Zusammenfassung.....	142
10.2 Summary.....	147
11 Experimentelles.....	151
11.1 Experimentelle Bedingungen für die Festphasen-Extraktion.....	151
11.1.1 Optimiertes Verfahren für die Festphasen-Extraktion.....	151
11.1.1.1 <i>Geräte und Arbeitsmaterialien für die Festphasen-Extraktion.....</i>	<i>151</i>
11.1.1.2 <i>Chemikalien für die Festphasen-Extraktion.....</i>	<i>152</i>
11.1.1.3 <i>Durchführung der Festphasen-Extraktion.....</i>	<i>152</i>
11.1.2 Verfahrensentwicklung (Festphasen-Extraktion).....	153
11.2 Experimentelle Bedingungen für die LC-MS/MS-Messung.....	157
11.2.1 Optimiertes Verfahren für die LC-MS/MS-Messung.....	157
11.2.1.1 <i>Geräte für die LC-MS/MS-Messung.....</i>	<i>157</i>
11.2.1.2 <i>Chemikalien für die LC-MS/MS-Messung.....</i>	<i>157</i>
11.2.1.3 <i>Experimentelle Bedingungen für die Flüssigchromatographie.....</i>	<i>158</i>
11.2.1.4 <i>Experimentelle Bedingungen für die MS/MS-Messung</i>	<i>158</i>

11.2.2	Verfahrensentwicklung (LC-MS/MS-Messung).....	161
11.2.2.1	<i>Auswahl der Massenübergänge und Optimierung der Einstellungen der Ionenoptik.....</i>	<i>162</i>
11.2.2.2	<i>Variation der „Ionspray“-Spannung bzw. des „Nebulizer“-Stroms.....</i>	<i>162</i>
11.2.2.3	<i>Variation des Ionisierungshilfsmittels (IHM).....</i>	<i>163</i>
11.2.2.4	<i>Variation des organischen Eluenten für die LC.....</i>	<i>164</i>
11.2.2.5	<i>Variation der Temperatur der Ionenquelle.....</i>	<i>164</i>
11.2.2.6	<i>Variation der Flussrate des Eluats.....</i>	<i>165</i>
11.2.2.7	<i>Auswahl der Ionisierungsmethode (ESI oder APCI).....</i>	<i>165</i>
11.2.2.8	<i>Versuchsreihen zur Anreicherung.....</i>	<i>165</i>
11.2.2.9	<i>full scan-Messungen.....</i>	<i>167</i>
11.3	Standardlösungen.....	167
11.3.1	Chemikalien, Arbeitsmaterialien und Geräte.....	167
11.3.2	Herstellung und Konzentrationen der Standardlösungen.....	167
11.4	Durchführung der Berechnungen für Mevinphos.....	170
12	Anhang.....	171
13	Literaturverzeichnis.....	197

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abw.	Abweichung
AcN	Acetonitril
amu	atomare Masseneinheit („atomic mass unit“)
APCI	Atmosphärendruck-Chemische Ionisierung („atmospheric pressure chemical ionization“)
API	Atmosphärendruck-Ionisierung („atmospheric pressure ionization“)
API 2000	Gerätebezeichnungen für verschiedene Tandem-Massenspektrometer mit
API 3000	Atmosphärendruck-Ionisierung von Applied Biosystems / MDS Sciex
API 4000	
AQL	Aquatische Lebensgemeinschaften
BG	Bestimmungsgrenze
cps	„counts per second“
DAD	„diode array detector“
DCM	Dichlormethan
EC	Effektkonzentration (vergl. [89])
GC	Gaschromatographie
GCB	„graphitized carbon black“ (Material für die Festphasen-Extraktion)
ELP	Elbelängsprofil
ESI	Elektrospray-Ionisierung („electrospray ionization“)
FIA	Fließinjektionsanalyse (Injektion von Proben mit der LC-Anlage ohne Trennsäule)
HAc	Essigsäure
HFo	Ameisensäure
IHM	Ionisierungshilfsmittel
IKSE	Internationale Kommission zum Schutz der Elbe
IKSR	Internationale Kommission zum Schutz des Rheins
IS	„Ionspray“-Spannung (Parameter der ESI-Quelle)
IQK	interne Qualitätskontrolle
K _{ow}	Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient
Konz.	Konzentration
LAWA	Länderarbeitsgemeinschaft Wasser
LLE	Flüssig-Flüssig-Extraktion („liquid liquid extraction“)
LC	Flüssigchromatographie („liquid chromatography“)

LC50	„median lethal concentration“: Konzentration eines Stoffes in Luft, Wasser, Boden oder Sediment, die als tödlich für 50% der exponierten Testorganismen eingeschätzt wird [1]
LOEC	„lowest observed effect concentration“: niedrigste Konzentration eines Stoffes, die in einem Toxizitätstest einen statistisch signifikanten negativen Effekt auf die exponierten Testorganismen im Vergleich zu den Kontrollpopulationen hat [1]
MeOH	Methanol
MRM	„multiple reaction monitoring“ (MS/MS-Messmodus, siehe Abschnitt 3.3.5)
MS	Massenspektrometrie
MW	Mittelwert
NC	„Nebulizer“-Strom („nebulizer current“) (Parameter der APCI-Quelle)
NG	Nachweisgrenze
NH ₄ Ac	Ammoniumacetat
n.n.	nicht nachweisbar (Messwert unterhalb der Nachweisgrenze)
NOEC	„no observed effect concentration“: höchste Konzentration eines Stoffes, die in einem Toxizitätstest keinen statistisch signifikanten negativen Effekt auf die exponierten Testorganismen im Vergleich zu den Kontrollpopulationen hat [1]
org. LM	organisches Lösungsmittel (als Eluent in der Fließinjektionsanalyse oder Flüssigchromatographie)
Perz.	Perzentil
QK	Qualitätskontrolle
RP	Umkehrphase („reversed phase“)
RP-C18	C ₁₈ -modifiziertes Kieselgel (Umkehrphase, Material für die Festphasen-Extraktion oder Material für LC-Säulen)
RSD	relative Standardabweichung („relative standard deviation“)
RT	Raumtemperatur
SDB	Styrol-Divinylbenzyl-Copolymer (Material für die Festphasen-Extraktion)
SIM	„single ion monitoring“ (MS-Messmodus)
S/N	Signal-Rausch-Verhältnis („signal to noise ratio“)
SPE	Festphasen-Extraktion („solid phase extraction“)
syst.	systematisch
T	Trinkwasser
Val.	Validierung
w	Wiederfindungsrate
WRRL	Wasserrahmenrichtlinie der Europäischen Union
ZV	Zielvorgabe

1 EINLEITUNG

Pestizide werden in großem Umfang in der Landwirtschaft eingesetzt, um Verluste durch Krankheiten, Schädlinge oder konkurrierende Pflanzen zu verringern und somit die Erträge zu steigern. Dies umfasst auch den Schutz der Pflanzenerzeugnisse (Vorratsschutz). Weitere Einsatzgebiete von Pestiziden sind z.B. der Hygieneschutz, die Abwehr von Ungeziefer, Antifoulinganstriche für Schiffe oder die Vermeidung pflanzlichen Bewuchses an Bahngleisen, Wegen und Plätzen. Durch die Anwendung werden große Mengen von Pestiziden in die Umwelt eingetragen und können so auch in das Grundwasser und in Oberflächengewässer wie Flüsse und Seen gelangen. Weitere Quellen für Einträge von Pestiziden in Oberflächengewässer sind Abwässer aus der industriellen Produktion. Die Belastung mit Pestiziden kann zu Schädigungen der aquatischen Flora und Fauna („aquatische Lebensgemeinschaften“) oder zu Beeinträchtigungen der Nutzbarkeit z.B. für die Trinkwassergewinnung und für die Fischerei führen.

Ein Bestandteil der Politik zum Schutz von Oberflächengewässern vor stofflichen Einträgen ist die Festlegung von Zielvorgaben für relevante Stoffe. Die Zielvorgaben sind Richtwerte für die Konzentrationen bestimmter Stoffe in Oberflächengewässern, die den angestrebten Zustand charakterisieren und nicht überschritten werden sollen. Einige Pestizide weisen Zielvorgaben im unteren ng/L- oder sub-ng/L-Bereich auf, so dass zur Einschätzung der Belastungssituation analytische Verfahren mit sehr niedrigen Nachweisgrenzen erforderlich sind. Viele der eingesetzten Routineverfahren erreichen diese analytischen Qualitätskriterien nicht, so dass für eine Reihe von Pestiziden Bedarf für die Entwicklung neuer Verfahren mit niedrigeren Nachweisgrenzen besteht. Da eine Vielzahl von Pestiziden mit sehr unterschiedlichen Eigenschaften eingesetzt wird, sind Multimethoden erforderlich, um den analytischen Aufwand zu reduzieren. Dies sind Verfahren, die für die simultane Analyse einer größeren Anzahl von Substanzen mit sehr unterschiedlichen Eigenschaften geeignet sind.

Ein Verfahren, das für die Untersuchung der Belastungssituation von Flüssen mit Pestiziden eingesetzt werden soll, muss folgende analytische Anforderungen erfüllen: In erster Linie muss es eine ausreichend hohe Selektivität aufweisen, um die eindeutige Identifizierung der Analyte zu ermöglichen. Dabei muss es Nachweisgrenzen aufweisen, die unterhalb der Zielvorgaben liegen, um deren Einhaltung überwachen zu können. Außerdem soll es die Quantifizierung der Analyte im Rahmen einer akzeptablen Messunsicherheit zulassen. Die Anforderungen an die Genauigkeit sind bei dieser Fragestellung allerdings nicht sehr hoch, da die Konzentrationen der Pestizide in den Flüssen eine starke räumliche und zeitliche Variabilität aufweisen. Im Allgemeinen stellt die Probennahme (Repräsentativität) eine wesentlich größere Fehlerquelle dar als das eigentliche Analysenverfahren*. Die Bewertung der Belastungssituation eines Flusses ist daher nur anhand längerer Messreihen (z.B. über ein Jahr) möglich.

* In der vorliegenden Arbeit wird der Begriff „Analysenverfahren“ nur für die Probenaufarbeitung und -messung benutzt und bezieht die Probennahme nicht mit ein.

2 AUFGABENSTELLUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung, Validierung und Anwendung eines Analyseverfahrens zum Nachweis und zur Quantifizierung von Pestiziden in Flusswasser. Das Verfahren sollte folgende Anforderungen erfüllen: Die Nachweisgrenzen sollten im unteren ng/L-Bereich bzw. im sub-ng/L-Bereich liegen. Es sollte eine „Multimethode“ entwickelt werden, d.h. das Verfahren sollte für die Untersuchung eines breiten Spektrums von Substanzen mit sehr unterschiedlichen Eigenschaften (Wasserlöslichkeit, Polarität) geeignet sein. Das Verfahren sollte in einem Konzentrationsbereich bis etwa 100 ng/L die Quantifizierung der Analyte im Rahmen einer akzeptablen Messunsicherheit zulassen.

Das Verfahren sollte vorrangig für Substanzen entwickelt werden, bei denen für eine Bewertung der Belastungssituation der Nachweis und die Quantifizierung im unteren ng/L-Bereich notwendig ist. Dies sind einerseits Substanzen mit Zielvorgaben im unteren ng/L-Bereich. Andererseits sind dies Substanzen, für die zwar (noch) keine Zielvorgaben festgelegt wurden, für die aber Daten zur Toxizität (Effektkonzentrationen) vorliegen, die zeigen, dass diese Substanzen auch in sehr niedrigen Konzentrationsbereichen toxische Wirkungen bei aquatischen Organismen verursachen können.

Die Entwicklung des Verfahrens erfolgte auf der Grundlage einer Kopplung von Flüssigchromatographie (LC) und Tandem-Massenspektrometrie (MS/MS). Die LC wurde für diesen Zweck eingesetzt, da sie auch die Analyse von nicht-flüchtigen oder thermolabilen Substanzen, die nicht direkt mit der Gaschromatographie (GC) analysierbar sind, ermöglicht und damit ein breiteres Spektrum von Substanzen untersucht werden kann.

Ein wichtiger Bestandteil der Aufgabenstellung war die Validierung des entwickelten Analyseverfahrens. Diese umfasst auch die Ermittlung einer umfassenden Messunsicherheit der Ergebnisse.

Desweiteren sollte das in der vorliegenden Arbeit entwickelte und validierte Analyseverfahren für die Untersuchung von Wasserproben eines Elbelängsprofils eingesetzt werden.

3 ALLGEMEINER TEIL

3.1 Allgemeines zu Pestiziden

„Pestizid“ ist eine aus dem englischen Sprachgebrauch übernommene Sammelbezeichnung für Mittel, die zur Bekämpfung von Schädlingen geeignet sind. Der Begriff „Pestizid“ ist eigentlich synonym mit Schädlingsbekämpfungsmittel, wird jedoch nicht selten auch mit Pflanzenschutzmittel gleichgesetzt. Nach ihren wichtigsten Anwendungsgebieten (d.h. nach den abzuwehrenden Schadorganismen) werden die Pestizide eingeteilt in Herbizide (Pflanzen, „Unkräuter“), Insektizide (Insekten), Akarizide (Milben), Nematizide (Nematoden = Fadenwürmer), Molluskizide (Schnecken), Rodentizide (Nagetiere) und Fungizide (Pilze). Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Substanzen werden vorwiegend als Pflanzenschutzmittel im Bereich der Landwirtschaft eingesetzt. [2, 3]

Es ist eine Vielzahl von Pestizid-Wirkstoffen im Einsatz; allein in Deutschland sind etwa 260 Substanzen als Wirkstoffe für Pflanzenschutzmittel zugelassen [4]. Pestizide weisen sehr vielfältige chemische Strukturen auf. Sie lassen sich nach ihren Grundstrukturen oder nach ihren funktionellen Gruppen in größere Gruppen einteilen. Wichtige Gruppen sind u.a. Phosphorsäureester*, Triazinderivate, Carbamate, Harnstoffderivate, Phenoxy-carbonsäuren, Pyrethroide, Chlorkohlenwasserstoffe und zahlreiche Stickstoff-Verbindungen.

Chlorkohlenwasserstoffe, wie z.B. DDT, spielten in der ersten Zeit des Einsatzes von Pestiziden (1940/50er Jahre) eine wichtige Rolle. Später wurde die Anwendung dieser unpolaren und persistenten Verbindungen aufgrund der Gefahr der Anreicherung in der Nahrungskette in vielen Ländern beschränkt oder verboten. [5, 6] Unpolare, persistente Pestizide wurden zunehmend durch stärker polare und leichter abbaubare Substanzen ersetzt; ein Trend, der auch heute noch anhält.

* In der vorliegenden Arbeit wird der Begriff „Phosphorsäureester“ vereinfachend für die Ester der Phosphorsäure und der verschiedenen Thiosphosphorsäuren verwendet.

3.2 Zielvorgaben zum Schutz von Oberflächengewässern

Im Folgenden wird die Funktion und die Ableitung von Zielvorgaben zum Schutz von Oberflächengewässern vor gefährlichen Stoffen beschrieben. Die Darstellung erfolgt weitgehend auf der Grundlage einer Veröffentlichung des Umweltbundesamts mit dem Titel „Umweltqualitäts- und Umwelthandlungsziele im Gewässerschutz - Sachstand und Ausblick“ [7].

Hinsichtlich der stofflichen Einträge bildet das Emissionsminimierungsprinzip die Grundlage der Politik zum Schutz der Oberflächengewässer in Deutschland. Das Wasserhaushaltsgesetz (WHG) bestimmt, dass die Schadstofffracht des Abwassers so gering zu halten ist, wie dies nach dem Stand der Technik möglich ist. Dieser Grundsatz gilt unabhängig von der Frage, ob und in welchem Ausmaß bei einer Einleitung in ein Gewässer in diesem schädliche Auswirkungen hervorgerufen werden (Vorsorgeprinzip). Gewässer werden aber nicht nur über punktförmige Einleitungen, sondern auch über diffuse Einträge, wie z.B. Abschwemmungen aus der Landwirtschaft, belastet. Außerdem sind Maßstäbe für die Bewertung der Einträge in grenzüberschreitende Gewässer erforderlich. Daher ist die zusätzliche Anwendung immissionsbezogener Kriterien in Form von Qualitätszielen (Zielvorgaben) für Gewässer notwendig, die aufzeigen, ob über die bestehenden Emissionsanforderungen hinaus ein weitergehender Schutzbedarf für das Gewässer besteht („kombinierter Ansatz“).

Zielvorgaben* charakterisieren den angestrebten Zustand der Gewässer. Sie werden im Hinblick auf verschiedene Schutzgüter, wie z.B. aquatische Lebensgemeinschaften, Trinkwasserversorgung oder Fischerei, abgeleitet. Zielvorgaben formulieren ein anspruchsvolles Schutzniveau im Sinne einer nachhaltigen Entwicklung, d.h. eine Einhaltung der Zielvorgaben gewährleistet, dass nach dem derzeitigen Stand wissenschaftlicher Erkenntnisse eine Gefährdung des Naturhaushalts und der Nutzung eines Gewässers kurz- und langfristig nicht zu befürchten ist. Sie sind Orientierungs- und Richtwerte, die keinen rechtlich verbindlichen Charakter haben, aber in Deutschland auf Empfehlung der Umweltministerkonferenz im wasserwirtschaftlichen Vollzug angewendet werden. Eine wesentliche Funktion von Zielvorgaben besteht darin, bei der Durchführung von Gewässerschutzmaßnahmen Prioritäten zu setzen. Prioritäre Stoffe sind solche deren Belastung (= Ist-Zustand) sich den entsprechenden Zielvorgaben nähern oder sie überschreiten.

In Deutschland wurden von der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA) und den internationalen Flussgebietskommissionen Zielvorgaben verabschiedet. Im Folgenden wird die seit 1993 geltende Konzeption der LAWA [8] zur Ableitung von Zielvorgaben beschrieben, und zwar für die Schutzgüter „Trinkwasserversorgung“ und „Aquatische Lebensgemeinschaften“.

* Anstelle von „Zielvorgaben“ kann auch der Begriff „Qualitätsziele“ verwendet werden. Der Begriff „Zielvorgaben“ wird seit 1992 in Deutschland verwendet, um zu verdeutlichen, dass es sich um Orientierungswerte und nicht um normative Grenzwerte handelt. Dies ist für den umfassenderen Begriff „Qualitätsziele“ nicht eindeutig definiert.

„Für die Nutzungsart (Schutzgut) „Trinkwasserversorgung“ werden die rechtlich verbindlichen Qualitätsziele der EG-Richtlinie über Qualitätsanforderungen an Oberflächengewässer für die Trinkwassergewinnung 75/440/EWG [9] als Zielvorgaben übernommen. Bei Stoffen, für die diese Richtlinie keine hinreichenden Vorgaben enthält (z.B. Pestizide), werden die in der EG-Trinkwasserrichtlinie 80/778/EWG [10] festgeschriebenen Grenzwerte* als Zielvorgaben formuliert.“ [7]

„Die Grundlagen für die Ableitung der Zielvorgaben für das Schutzgut „Aquatische Lebensgemeinschaften“ liefern ökotoxikologische Untersuchungen an Vertretern von vier zentralen Trophiestufen der Gewässerbiozönose (Bakterien, Grünalgen, Kleinkrebse, Fische). Dabei werden Daten aus allgemein anerkannten Testverfahren verwendet, deren Ergebnisse eine Aussage über diejenige Konzentration zulassen, die bei längerfristiger Exposition ohne beobachtbare Wirkung bleibt (No Observed Effect Concentration, NOEC). Um der Unsicherheit der Übertragung von einzelnen Laborergebnissen an wenigen Organismenarten auf reale Gewässerverhältnisse Rechnung zu tragen, wird das niedrigste Testergebnis für die empfindlichste Art in der Regel mit dem Faktor 0,1 abgesenkt, d.h. die Zielvorgabe beträgt ein Zehntel des niedrigsten NOEC-Wertes.“ [7]

Die Konzepte der Internationalen Flussgebietskommissionen zur Ableitung von Zielvorgaben berücksichtigen dieses Konzept der LAWA, weichen aber teilweise in einzelnen Punkten davon ab, z.B. bei der Anwendung von Ausgleichsfaktoren.

Die Zielvorgaben der LAWA und der Internationalen Kommissionen zum Schutz des Rheins bzw. der Elbe (IKSR bzw. IKSE) für die Schutzgüter „Aquatische Lebensgemeinschaften“ und „Trinkwasserversorgung“ wurden in der vorliegenden Arbeit als Bewertungsmaßstäbe zugrunde gelegt. Für die untersuchten Substanzen sind die entsprechenden Zielvorgaben in Kapitel 4, Tabelle 4.2 aufgeführt.

In der 2000 verabschiedeten Wasserrahmenrichtlinie der Europäischen Union (WRRL) [11] spielen Qualitätsziele eine wichtige Rolle. Für eine Liste von 30 prioritären Stoffen [12] sollen von der Europäischen Kommission EU-weit geltende Umweltqualitätsnormen für die Konzentrationen in Oberflächenwasser, Sedimenten und Biota erarbeitet werden. Darüber hinaus sind die Mitgliedsstaaten verpflichtet, nach einem festgelegten Schema Umweltqualitätsstandards für weitere relevante Stoffe abzuleiten. Das Schema zur Formulierung der Umweltqualitätsstandards ist weitgehend identisch mit dem Verfahren der LAWA für das Schutzgut aquatische Lebensgemeinschaften. Es sieht die Anwendung höherer Ausgleichsfaktoren vor, wenn nicht für mindestens drei trophische Ebenen chronische NOEC-Daten vorliegen. Im Gegensatz zu Zielvorgaben sind diese Umweltqualitätsnormen rechtlich verbindlich, d.h. bei Überschreitung der Normen müssen Maßnahmen eingeleitet werden. Auf Vorschlag der Kommission können Stoffe als „prioritäre gefährliche Stoffe“ eingestuft werden. Für diese ist die Zielsetzung eine (schrittweise) Beendigung der Einträge in Gewässer.

* Pestizide: 0,1 µg/L je Wirkstoff oder Metabolit, 0,5 µg/L für die Summe aller Wirkstoffe und Metabolite

3.3 Spurenanalytik von Pestiziden in Wasserproben

Im Folgenden werden zuerst die wichtigsten Methoden für die Spurenanalytik von Pestiziden in Wasserproben allgemein beschrieben, wobei der Schwerpunkt bei Techniken liegt, die für Multimethoden geeignet sind. Anschließend werden die in der vorliegenden Arbeit angewandten Techniken ausführlicher dargestellt, einschließlich einiger theoretischer Grundlagen. Zuletzt werden in der Literatur beschriebene Anwendungen detaillierter erläutert. Die theoretischen Grundlagen zu den Themen „Validierung“ und „Ermittlung der Messunsicherheit“ werden in den entsprechenden Kapiteln zusammen mit den Ergebnissen beschrieben (siehe Kapitel 6 und 8).

3.3.1 Allgemeines

Die Bestimmung von Pestizidrückständen in Wasserproben aus der Umwelt, wie z.B. Oberflächen- und Grundwasser, erfordert die Messung sehr niedriger Konzentrationen. Die übliche Vorgehensweise umfasst die Auftrennung der Probengemische mit Hilfe von chromatographischen Methoden und die anschließende Detektion der Analyte. Für diesen Zweck sind die Gaschromatographie (GC) und die Flüssigchromatographie (LC) die Methoden der Wahl [5].

Chromatographie und Detektion

Die hohe Trennleistung, die Verfügbarkeit von empfindlichen und selektiven Detektoren (Elektroneneinfangdetektor (ECD), Stickstoff-Phosphor-Detektor (NPD) u.a.) sowie die leichte Koppelbarkeit mit der Massenspektrometrie (MS) machen die Gaschromatographie mit Kapillarsäulen zu einer sehr leistungsfähigen Methode für die Pestizid-Rückstandsanalytik [13, 14]. Die erste Generation von Pestiziden (Chlorkohlenwasserstoffe und Phosphorsäureester) ist aufgrund ihrer Hydrophobizität, ihrer ausreichenden Flüchtigkeit und ihrer hohen thermischen Stabilität direkt mit der GC analysierbar [5]. Trotz des zunehmenden Einsatzes von polarerer Pestiziden ist der Großteil der auf dem Markt erhältlichen Pestizide mit der GC analysierbar [14, 15]. Daher ist die GC immer noch die am weitesten verbreitete Methode in der Pestizid-Rückstandsanalytik von Lebensmitteln, Wasserproben u.a. Matrices [15, 16, 17].

Die LC ermöglicht die Messung von Substanzen, die sehr polar, nicht flüchtig und/oder thermolabil sind und nicht oder nur nach Derivatisierung mit der GC gemessen werden können. Dies sind z.B. Substanzen aus den Gruppen der Carbamate, der Phenylharnstoffe und der Sulfonylharnstoffe, Phenoxy-carbonsäuren, einige Phosphorsäureester oder Metabolite von Pestiziden wie z.B. die Hydroxytriazinderivate [5, 13, 15]. Da die mit der GC analysierbaren Substanzen grundsätzlich auch mit der LC gemessen werden können, ist die LC teilweise als komplementäre und teilweise als konkurrierende Methode zur GC zu betrachten. Abgesehen von der Detektion liegt der Vorteil der GC in der höheren Trennleistung; die Vorteile der LC sind das breitere Spektrum der analysierbaren Substanzen und die geringeren Anforderungen an die Probenaufarbeitung im Vergleich zur GC.

Bei der GC können Einflüsse der Probenmatrix auf das chromatographische System (Injektor und GC-Säule) zu stark überhöhten Wiederfindungsraten führen, die als „matrix-induced enhanced chromatographic response“ bekannt sind (Beispiele: Pestizide in Seewasser [18], Pestizide in Lebensmitteln [19, 20, 21]). Diese Effekte können nicht-lineare Kalibrierfunktionen und eine geringe Reproduzierbarkeit der Ergebnisse längerer Messreihen, teilweise sogar von Wiederholungsmessungen, verursachen. Bei der Entwicklung eines gaschromatographischen Verfahrens zur Bestimmung von Pestiziden in Oberflächenwasser im unteren ng/L- und sub-ng/L-Bereich [22] war aufgrund dieser Effekte für einige Analyte eine Quantifizierung im Rahmen einer akzeptablen Messunsicherheit nicht möglich.

Bei der LC werden für die Detektion in der Pestizid-Rückstandsanalytik meist UV-Detektoren (mit fester oder variabler Wellenlängeneinstellung oder „diode array“) oder Fluoreszenz-Detektoren eingesetzt [16]. Der Fluoreszenz-Detektor ist sehr empfindlich und sehr selektiv. In der Pestizid-Analytik ist allerdings im Allgemeinen eine Derivatisierung zur Einführung einer fluoreszierenden Gruppe in den Analyten notwendig. Ein wichtiges Anwendungsbeispiel ist die Detektion von N-Methylcarbamaten und Glyphosat mit Hilfe der automatisierten Nachsäulenderivatisierung. Die UV-Detektion ist mit instrumentellen Nachweisgrenzen im Nanogramm-Bereich weniger empfindlich als die Fluoreszenz-Detektion mit instrumentellen Nachweisgrenzen im Picogramm-Bereich. Für die UV-Detektion wird meist der „diode array“-Detektor (DAD) eingesetzt. Durch die Aufnahme von UV-Spektren ermöglicht der DAD die Absicherung der Identität der Analyte, sofern sie charakteristische Spektren aufweisen. Das Hauptproblem des UV-DAD ist der Mangel an Selektivität bei der Untersuchung von Proben mit komplexen Matrices. Für die Untersuchung kontaminierter Oberflächenwasserproben ist daher eine zusätzliche Probenaufarbeitung notwendig. [5]

Auch in der LC kommt die MS in zunehmendem Maße als Detektor zum Einsatz [16]. Die Einführung der robusten und empfindlichen Atmosphärendruck-Ionisierungsmethoden („atmospheric pressure ionization“, API, siehe Abschnitt 3.3.4) für die Kopplung von LC und MS hat maßgeblich zum Durchbruch der LC-MS beigetragen [14]. Mit der Massenspektrometrie (siehe Abschnitt 3.3.5) steht sowohl für die GC als auch für die LC eine empfindliche und selektive Detektionsmethode zur Verfügung, die eine höhere Sicherheit bei der Identifizierung von Substanzen aufweist, als die „klassischen“ Detektionsmethoden. (Zu Matrixeinflüssen auf die Ionisierung mit API-Techniken siehe Abschnitt 3.3.4)

Andere chromatographische Methoden, die für die Pestizid-Analytik eingesetzt werden, sind die Dünnschicht-Chromatographie („thin layer chromatography“, TLC) und kapillarelektrophoretische Methoden („capillary electrophoresis“, CE). Die TLC war in den 1960er und 1970er Jahren sehr weit verbreitet, wurde aber in der Pestizid-Analytik fast vollständig durch GC und LC ersetzt. Durch die Verbesserungen der Gerätetechnik wird die TLC zwar in den letzten Jahren wieder häufiger eingesetzt, aber die geringere Trennleistung als bei der GC und der LC beschränkt die Eignung der TLC für Multimethoden oder für die Untersuchung von komplexen Realproben. [5] Der Bereich der Kapillarelektrophorese hat sich in den letzten Jahren sehr stark entwickelt und ist ein Gebiet intensiver Forschungstätigkeit. Die verschiedenen Methoden der CE, u.a. die „capillary zone electrophoresis“ (CZE), die

„micellar electrokinetic capillary chromatography“ (MEKC) und die „capillary electrochromatography“ (CEC), sind leistungsfähige Werkzeuge für die Trennung eines breiten Spektrums von Substanzen. [5] Die CE bietet interessante Möglichkeiten für die Untersuchung von Pestiziden, aber vor dem Einsatz für die Spurenanalytik im Umweltbereich sind noch einige Hindernisse zu überwinden. Ein kritischer Punkt ist die geringere Empfindlichkeit der CE im Vergleich zu den klassischen chromatographischen Methoden (GC und LC). [23]

Probenvorbereitung (Anreicherung und „Clean-up“)

Da Pestizide in Wasserproben in sehr niedrigen Konzentrationen nachgewiesen werden sollen, ist eine Anreicherung der Analyte erforderlich. Für diesen Zweck werden hauptsächlich die Flüssig-Flüssig-Extraktion („liquid-liquid extraction“, LLE) und die Festphasen-Extraktion („solid-phase extraction“, SPE) eingesetzt. Die LLE basiert auf der Verteilung eines Analyten zwischen einer wässrigen und einer mit Wasser nicht mischbaren organischen Phase. Die Effizienz der Extraktion hängt vom Verteilungskoeffizienten des Analyten, dem Volumenverhältnis der beiden Phasen und der Anzahl der Extraktionsschritte ab. Die LLE war lange Zeit das bevorzugte Verfahren für die Extraktion von Wasserproben, insbesondere im Bereich der Umweltanalytik. Sie wird zunehmend durch die SPE ersetzt, die durch die starke Weiterentwicklung in den letzten Jahren zur weitverbreitetsten Methode für die Extraktion wässriger Matrices geworden ist. (Näheres zur SPE siehe Abschnitt 3.3.2) [24, 5]

Die SPE bietet folgende Vorteile gegenüber der LLE: Der Lösungsmittelverbrauch ist bei der SPE geringer, die Extraktionsprozedur ist weniger arbeitsaufwendig und leichter automatisierbar. Durch die Entwicklung neuer Festphasen (Sorbentien) bietet die SPE die Möglichkeit, stark polare und wasserlösliche Substanzen aus wässrigen Matrices zu extrahieren, was mit der LLE nicht oder nur mit niedrigen Wiederfindungsraten möglich ist [24, 5]. Für die SPE stehen zahlreiche universelle oder selektive Sorbentien in verschiedenen Formaten (z.B. Kartuschen, Disks, „96 well plates“) und Systeme zur Automatisierung und on-line-Kopplung der SPE mit der LC zur Verfügung.

Bei stark matrixhaltigen Proben kann ein „Clean-up“ zur Entfernung von Matrixbestandteilen, die die Messung stören, erforderlich sein. Eine weitverbreitete Methode ist die Fraktionierung an polaren Sorbentien wie Kieselgel, Aluminiumoxid, Florisil (synthetisches Magnesiumsilikat) oder mit Amino-Gruppen modifiziertem Kieselgel. Diese Methode basiert auf den Prinzipien der Adsorptionschromatographie, die Probenbestandteile werden nach ihrer Polarität aufgetrennt. [5] Bei dieser Methode müssen sich die Matrixbestandteile in ihrer Polarität ausreichend von den Analyten unterscheiden, um eine Abtrennung zu ermöglichen. Diese Bedingung ist bei Verfahren zur Untersuchung eines breiten Substanzspektrums mit sehr unterschiedlichen Eigenschaften, wie in der vorliegenden Arbeit, im Allgemeinen nicht erfüllt. Eine andere Methode ist die Größenausschlusschromatographie („size exclusion chromatography“, SEC), bei der Substanzen nach ihrer Molekülgröße aufgetrennt werden. Diese Methode ermöglicht die Abtrennung von hochmolekularen Matrixbestandteilen, wie z.B. Huminstoffen. [5]

3.3.2 Festphasen-Extraktion (SPE)

Die Anreicherung von Analyten aus wässrigen Matrices mit Hilfe der Festphasenextraktion beruht auf folgendem Prinzip: Die Wasserprobe wird über eine Festphase (Sorbens) geleitet, die sich in einer Extraktionssäule befindet. Die Analyten werden am Sorbens zurückgehalten und anschließend mit einem organischen Lösungsmittel eluiert. Die SPE beruht auf den gleichen Prinzipien wie die LC. Die für die SPE eingesetzten Sorbentien ähneln den in der LC eingesetzten stationären Phasen und die Retention der Analyte beruht auf den gleichen Wechselwirkungen [5]. Die Effektivität der Extraktion ist abhängig vom Volumen der Wasserprobe, von der Art und der Menge des Sorbens und des Elutionsmittels und der Fließgeschwindigkeit der Probe durch das Sorbens. Wie bei der LLE wird die Extraktionsausbeute von den Eigenschaften der Wasserprobe, insbesondere dem pH-Wert, beeinflusst.

Die am häufigsten im Bereich der Pestizid-Analytik eingesetzten Sorbentien sind n-alkyl-modifizierte Kieselgele, insbesondere C₁₈-modifizierte Kieselgele [16, 5]. Die Retention beruht auf unpolaren Wechselwirkungen (Van-der-Waals-Kräfte) zwischen den Alkyl-Ketten des Sorbens und dem Analyten (entsprechend einem Umkehrphasensystem, „reversed phase“, RP). Um die Wiederfindungsraten bei der Extraktion polarer Analyte zu verbessern, wurden C₁₈-modifizierte Kieselgele entwickelt, bei denen die freien Silanol-Gruppen nicht wie sonst üblich durch Umsetzung mit Trimethylsilan maskiert wurden („end-capping“). Die freien Silanolgruppen ermöglichen zusätzlich polare Wechselwirkungen (Wasserstoffbrückenbindungen, Dipol-Dipol-Wechselwirkungen) mit den Analyten, was zu einer stärkeren Retention polarer Substanzen führt. [24, 5]

In den letzten Jahren wurden zahlreiche neue Sorbentien für die SPE entwickelt. Darunter sind hoch vernetzte Styrol-Divinylbenzol-Copolymere (SDB) mit hohen spezifischen Oberflächen im Bereich von 500 bis 1200 m²/g und hoher Reinheit. Die Retention der Analyte beruht auf ähnlichen unpolaren Wechselwirkungen wie bei den C₁₈-modifizierten Kieselgelen, aber aufgrund der aromatischen Ringe in den Polymeren können zusätzlich starke Elektron-Donor-Akzeptor-Wechselwirkungen (π - π) mit aromatischen Ringen von Analyten auftreten. SDB-Polymere weisen ein stärkeres Retentionsvermögen auf als n-alkyl-modifizierte Kieselgele und sind sowohl für die Anreicherung unpolarer als auch polarer Substanzen gut geeignet. SDB-Polymere sind über einen größeren pH-Bereich (pH 1 - 14) als alkyl-modifizierte Kieselgele (pH 2 - 8) stabil. [24, 5]

Die am häufigsten für die SPE eingesetzten Sorbentien auf Kohlenstoff-Basis sind „graphitized carbon blacks (GCB)“. Diese Sorbentien weisen zahlreiche funktionelle Gruppen und positiv geladene aktive Stellen an ihrer Oberfläche auf. Im Gegensatz dazu besitzen „porous graphitic carbons (PGC)“ eine zwei-dimensionale Graphitstruktur mit delokalisierten π -Elektronen und homogenen Oberflächen ohne funktionelle Gruppen. Je nach Struktur beruht die Retention auf unpolaren, polaren, Elektron-Donor-Akzeptor- (π - π) oder ionischen Wechselwirkungen, die Retentionsmechanismen unterscheiden sich deutlich von denen an C₁₈-modifizierten Kieselgelen oder SDB-Polymeren. Diese Sorbentien sind sowohl für die Extraktion unpolarer, aber auch sehr polarer und wasserlöslicher Substanzen aus wässrigen Matrices

geeignet. Aufgrund der starken Wechselwirkungen kann die Elution der Analyte von diesen Sorbentien Schwierigkeiten bereiten. [24, 25]

Probenmatrices wie z.B. Salze oder organische Bestandteile können die Prozesse der Festphasen-Extraktion beeinflussen und dadurch die Ausbeuten des Anreicherungsschritts verändern [5, 26, 27].

C₁₈-modifizierte Kieselgele, SDB-Polymere und Sorbentien auf Kohlenstoff-Basis sind aufgrund ihrer universellen (d.h. nicht-selektiven) Anreicherungseigenschaften für Multimethoden, d.h. für die Bestimmung von Substanzen mit sehr unterschiedlichen physikalischen und chemischen Eigenschaften, geeignet. Entsprechende Anwendungen werden in Abschnitt 3.3.6 dargestellt. Ein unerwünschter Nebeneffekt der universellen Anreicherungseigenschaften dieser Materialien ist, dass neben den Analyten auch Anteile der Probenmatrix extrahiert werden. In manchen Anwendungsbereichen kann zwischen Auftragung der Probe und Elution ein Wasch-Schritt durchgeführt werden, um Matrixbestandteile zu entfernen, es kann sozusagen ein „Clean-up“ in die SPE-Prozedur integriert werden. Bei Multimethoden ist dies allerdings aufgrund des breiten Eigenschaftsspektrums der Analyte meist nicht vorteilhaft (vergl. Abschnitt 3.3.1).

3.3.3 Flüssigchromatographie (LC)

Ein flüssigchromatographisches System besteht aus einer stationären, festen Phase und einer mobilen, flüssigen Phase, die die stationäre Phase durchströmt. Ein Analyt wird von der mobilen Phase durch die stationäre Phase transportiert und durch die Wechselwirkungen mit der stationären Phase zurückgehalten. Die Auftrennung verschiedener Analyte erfolgt aufgrund der unterschiedlich starken Wechselwirkungen mit der stationären und der mobilen Phase.

In der LC ist die bei weitem am häufigsten eingesetzte Methode die Umkehrphasenchromatographie („reversed-phase LC“) mit alkylmodifizierten Kieselgel (meist C₁₈ oder C₈) als stationäre Phase [5]. Die Analyten werden umso länger retardiert, je unpolarer sie sind (zu der Art der Wechselwirkungen mit der stationären Phase siehe Abschnitt 3.3.2). Die Adsorptionschromatographie wird in der Pestizid-Analytik häufig zur Reinigung von Extrakten („Clean-up“) eingesetzt (siehe Abschnitt 3.3.1).

Die ursprünglich im Bereich der biomedizinischen Analytik entwickelten „restricted access“-Materialien (RAM) kombinieren die Trennprinzipien von Größenausschluss- und Umkehrphasenchromatographie. Die am häufigsten eingesetzten RAM basieren auf dem „internal surface reversed phase“-Konzept: Die gebundenen unpolaren Phasen (z.B. C₁₈-Ketten) befinden sich in den Poren eines an der Außenseite hydrophil-modifizierten Kieselgels. Die niedermolekularen Analyte können in die Poren diffundieren und werden dort durch die Umkehrphase retardiert. Hochmolekulare Matrixbestandteile (z.B. Proteine) können nicht in die Poren eindringen und werden daher nicht retardiert. Auf diese Weise lassen sich die

Abtrennung hochmolekularer Matrixbestandteile („Clean-up“) und die flüssigchromatographische Trennung (LC) bzw. die „on-line“-SPE der Analyte gleichzeitig durchführen. Das Haupteinsatzgebiet dieser Materialien ist ursprünglich die biomedizinische Analytik (d.h. die Bestimmung niedermolekularer Analyte in Körperflüssigkeiten wie z.B. Plasma). Hogendoorn et al. [14] berichten auch über die Anwendung von RAM zur Abtrennung von Huminstoffen bei der Bestimmung von Pestiziden in Wasser- und Bodenproben. [14, 24]

Als Eluenten für die Umkehrphasenchromatographie werden in den meisten Fällen Wasser-Methanol- oder Wasser-Acetonitril-Gemische eingesetzt. Dem wässrigen Eluenten werden häufig Salze zugesetzt. Dabei ist zu beachten, dass nicht alle Salze für die Kopplung von LC und MS geeignet sind. [5] Die Elution erfolgt häufig mittels eines Gradienten, bei dem der Anteil des organischen Eluenten erhöht wird. Dies verbessert die Leistungsfähigkeit der Chromatographie für die Auftrennung von Substanzgemischen sehr unterschiedlicher Polarität (kürzere Analysenzeiten, weniger Peakverbreiterung bei spät-eluierenden Analyten).

3.3.4 Kopplung von Flüssigchromatographie (LC) und Massenspektrometrie (MS): Ionisierung bei Atmosphärendruck (API-Methoden)

Bei der Ionisierung unter Atmosphärendruck („atmospheric pressure ionization“, API) unterscheidet man u.a. die Elektrospray-Ionisierung (ESI) und die „chemische Ionisierung unter Atmosphärendruck“ („atmospheric pressure chemical ionization“, APCI). Diese beiden Methoden für die Kopplung von LC und MS zeichnen sich durch eine hohe Robustheit, eine hohe Empfindlichkeit und ein breites Anwendungsgebiet (bezogen auf die analysierbaren Substanzen) aus. Bei beiden Methoden kann die Ionisierung sowohl im positiven als auch im negativen Modus erfolgen. Die API-Methoden, insbesondere die ESI, sind sehr „weiche“ Ionisierungsmethoden, die Massenspektren werden im Allgemeinen durch intensive Quasi-Molekulationen ($[M+H]^+$ bzw. $[M-H]^-$) und ein geringes Maß an Fragmentierung geprägt (vergl. unten). Bei Molekülen mit mehreren funktionellen Gruppen können mit der ESI auch Mehrfachladungen erzeugt werden.

Bei der ESI wird das Eluat mittels einer Kapillare versprüht, an der eine Hochspannung von mehreren kV („Ionspray“-Spannung, IS) anliegt (siehe Abbildung 3.1 [28]). Dabei wird in den Tröpfchen je nach Polarität der anliegenden Spannung ein positiver oder negativer Ladungsüberschuss erzeugt. Bei dem in der vorliegenden Arbeit verwendeten Gerät (API 3000 bzw. API 2000 von Applied Biosystems / MDS Sciex mit einer „Turboionspray®“-Ionenquelle) wird der Sprühvorgang durch Verwendung eines Vernebelungsgases („Nebulizer“-Gas) unterstützt*. Durch das Verdampfen des Lösungsmittels verringert sich die Größe der geladenen Tröpfchen, wobei die Ladungsdichte an der Oberfläche zunimmt. Wenn die Abstoßungskräfte zwischen den Ladungen die Oberflächenspannung übersteigen, kommt es zur Teilung des Tröpfchens: durch Deformation und asymmetrische Spaltung der Tröpfchen bilden sich kleine, hochgeladene Mikrotröpfchen. Dieser Prozess, der auch als „Coulomb-Explosion“

* Diese pneumatisch unterstützte Form der ESI („pneumatically-assisted electrospray“) wird auch als „Ionspray®“ bezeichnet.

bezeichnet wird, setzt sich solange fort, bis im letzten Schritt die Ionen gebildet werden. Für diesen Schritt gibt es unterschiedliche Modelle: nach Iribarne und Thomson emittieren Ionen von der Oberfläche der Mikrotröpfchen in die Gasphase; das andere Modell geht von der Entstehung von Mikrotröpfchen aus, die jeweils nur noch ein Ion enthalten. Beide Modelle gehen davon aus, dass die Ionen bereits in der Lösung gebildet werden. [29, 30]

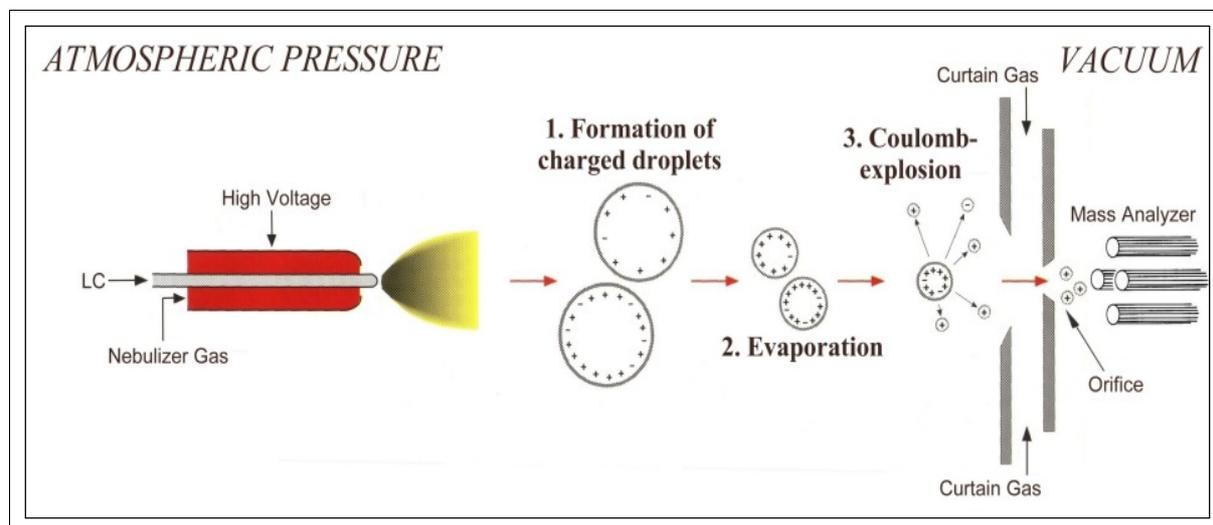


Abbildung 3.1: Prinzip der Elektrospray-Ionisierung (ESI) (Ionenquelle: „Ionspray®“ bzw. „Turboionspray®“ ohne Darstellung des beheizten Stickstoffstroms) [28]

Da die Verdampfung des Lösungsmittels und die damit verbundene Bildung kleiner Tröpfchen eine entscheidende Rolle bei der Elektrospray-Ionisierung spielen, nimmt die Effizienz des Ionisierungsprozesses mit zunehmender Flussrate* bzw. mit zunehmendem Verhältnis von Wasser zu organischem Lösungsmittel (z.B. Acetonitril oder Methanol) im Eluat ab [30]. Bei dem in der vorliegenden Arbeit verwendeten Gerät wird das Verdampfen des Lösungsmittels durch einen beheizten Stickstoff-Strom („Turbo“-Gas, in Abbildung 3.1 nicht dargestellt) unterstützt, wodurch die Effizienz des Ionisierungsprozesses verbessert wird. Dadurch wird die Anwendung höherer Flussraten (einige Hundert $\mu\text{L}/\text{min}$) ermöglicht.

Bei der APCI wird das Eluat mit Hilfe eines Vernebelungsgases („Nebulizer“-Gas) in einem beheizten Quarzrohr versprüht und in die Gasphase überführt (siehe Abbildung 3.2 [28]). An einer Korona-Entladungsnadel („corona discharge needle“) werden je nach Polarität der anliegenden Spannung** positive oder negative Ionen erzeugt. Dies können sowohl Gasionen,

* Dies gilt für die in der vorliegenden Arbeit verwendete Ionenquelle innerhalb des empfohlenen Flussratenbereiches. Nach [31] hängt der Einfluss der Flussrate auf die Effizienz der Ionisierung von der Bauart der Ionenquelle und den Betriebsbedingungen ab (vergl. andere ESI-Quellen z.B. „Nanospray“ in der zitierten Arbeit).

** Die Spannung wird von der Gerätesteuerung so variiert, dass der in der Software eingestellte Wert für den Stromfluss der Korona-Entladung („Nebulizer“-Strom, „nebulizer current“, NC) eingehalten wird.

als auch Ionen der Lösungsmittelmoleküle oder Puffersalze sein. Durch Gasphasen-Reaktionen werden die Ladungen dieser Ionen auf die Analytmoleküle übertragen. [32, 33] Die APCI-Quelle ist für Flussraten bis etwa 1 mL/min geeignet. Die thermische Belastung der Analytmoleküle ist bei der APCI größer als bei der ESI. Daher kann es bei der APCI zur Zersetzung thermolabiler Substanzen kommen.

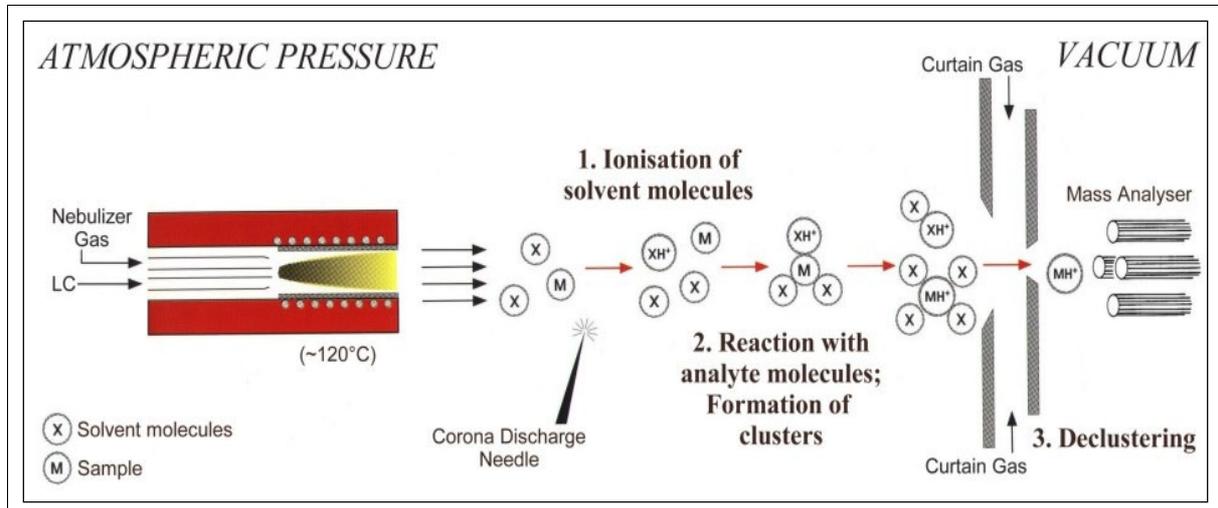


Abbildung 3.2: Prinzip der „chemischen Ionisierung unter Atmosphärendruck“ (APCI) (Ionenquelle: „Heated Nebulizer®“) [28]

Die oben beschriebenen Vorgänge zur Entfernung der Eluenten und zur Ionisierung finden bei der ESI und der APCI unter Atmosphärendruck statt. Anschließend werden die gebildeten Ionen durch ein Druck- und Spannungsgefälle in die Vakuumregion des Massenspektrometers transportiert. Bei dem in der vorliegenden Arbeit verwendeten Gerät wird die Vakuumregion von der Ionenquelle durch einen Stickstoff-Gasstrom, das sogenannte „Vorhang-Gas“ („curtain gas“) getrennt (siehe Abbildungen 3.1 und 3.2). Dieses schützt die Vakuumregion vor Kontaminationen, indem es als Gegenströmung das Eindringen ungeladener Moleküle verhindert. Außerdem werden durch Zusammenstöße mit den Gasmolekülen Cluster zwischen Analytionen und Lösungsmittelmolekülen oder Puffersalzen zerstört (stoßinduzierte Dissoziation, „collision induced dissociation“, CID). Dadurch kommt es zu einer Erhöhung der Ionenausbeute und zu einer Verringerung von Störsignalen. Die stoßinduzierte Dissoziation kann durch die Einstellung eines bestimmten Spannungswertes („declustering potential“, DP) auch gezielt für die Fragmentierung von Analytionen eingesetzt werden.

Einfluss der Zusammensetzung des Eluats auf die Ionisierung

Die Zusammensetzung des Eluats hat bei beiden Ionenquellen einen deutlichen Einfluss auf den Ionisierungsprozess, der stark von den untersuchten Substanzen und dem Ionisierungsmodus abhängt. Die Zusammensetzung des Eluats kann einerseits durch die Auswahl der Eluenten gezielt gesteuert werden, andererseits gelangen Matrixbestandteile der Proben in das Eluat, deren Art und Menge sich nur begrenzt durch die experimentellen Bedingungen (z.B. „Clean-up“) steuern lässt (siehe unten: „Matrixeffekte“).

Bei der ESI wird den Eluenten im Allgemeinen ein Ionisierungshilfsmittel (IHM) zugesetzt, um die Effizienz des Ionisierungsprozesses zu verbessern. Dafür werden z.B. Ameisensäure, Essigsäure, Ammoniumformiat, Ammoniumacetat und Ammoniumhydroxid eingesetzt. Die Art des jeweils am besten geeigneten IHM und der Einfluss der Konzentration desselben auf die Signalintensität hängen stark von den untersuchten Substanzen und dem Ionisierungsmodus ab; zu hohe Konzentrationen des IHM können zur weitgehenden Unterdrückung des Analyt-Signals führen [34, 35, 30]. Bei der APCI ist die Effizienz des Ionisierungsprozesses im Allgemeinen auch ohne IHM hoch; der Einsatz eines IHM ist bei der APCI nicht so weit verbreitet wie bei der ESI. Je nach Anwendung kann durch den Einsatz eines IHM eine deutliche Erhöhung der Signalintensität erreicht werden. Der Einsatz eines IHM kann aber auch zu einer deutlichen Verminderung der Signalintensität bis hin zur Signalunterdrückung führen [36, 37]. Bei der APCI kommen die gleichen IHM zum Einsatz wie bei der ESI.

Die Eigenschaften des als Eluent verwendeten organischen Lösungsmittels haben einen deutlichen Einfluss auf den Ionisierungsprozess sowohl bei der ESI als auch bei der APCI. Beispielsweise wurde von einigen Autoren im positiven Ionisierungsmodus eine starke Verringerung der Signalintensität für verschiedene Substanzen bei Verwendung von Acetonitril im Vergleich zu Methanol beobachtet, und zwar bei der ESI [34] als auch bei der APCI [38, 39]; im negativen Ionisierungsmodus wurden in diesen Arbeiten keine Unterschiede festgestellt.

Matrixeffekte

Die im Eluat vorhandenen Matrixbestandteile der Proben beeinflussen die Effizienz des Ionisierungsprozesses bei der ESI und der APCI. Insbesondere bei der ESI ist das Auftreten signalunterdrückender Matrixeffekte bekannt (Beispiele siehe [40, 41, 35, 42]). In [43] wird bei der Bestimmung von polaren Pestiziden in Oberflächenwasser auch über das Auftreten signalverstärkender Matrixeffekte bei der ESI berichtet. Auch bei der APCI treten Matrixeffekte auf, die sowohl signalunterdrückend als auch -verstärkend sein können (Beispiele siehe [44, 45]).

Diese Matrixeffekte führen durch die Erhöhung oder Verringerung der Ionenausbeute zu einer Veränderung der Empfindlichkeit der Messung. Das Ausmaß der Effekte hängt von der mit dem Analyten koeluierenden Probenmatrix ab und damit bei Auftrennung der Matrix durch die Flüssigchromatographie von der Retentionszeit des Analyten. Außerdem hängen die Effekte stark von den Eigenschaften der untersuchten Substanzen ab.

Bei der ESI wurde ein Einfluss des Ionisierungshilfsmittels (IHM) auf Matrixeffekte beobachtet [35], der stark von den untersuchten Substanzen und dem Ionisierungsmodus abhing. Die Erhöhung der Konzentration des IHM führte zu einer deutlichen Verringerung von Matrixeffekten, die allerdings mit einer deutlichen Unterdrückung des Analytsignals durch den als IHM verwendeten Elektrolyten einherging.

Eine Verringerung der Matrixeffekte durch die Abtrennung von Matrixbestandteilen lässt sich durch verschiedene experimentelle Maßnahmen erreichen. Ein Ansatzpunkt ist die Abtrennung von Matrixbestandteilen bei der Probenvorbereitung durch Optimierung des Anreicherungsverfahrens oder Einführung eines zusätzlichen „Clean-up“-Schritts (z.B. [42, 46]). Eine andere Möglichkeit ist die Auftrennung von Analyten und Matrixbestandteilen durch eine effiziente chromatographische Trennung. In beiden Fällen sind ausreichend große Unterschiede in den chemisch-physikalischen Eigenschaften der Analyte und der Matrixbestandteile erforderlich, um eine Abtrennung der Matrix zu ermöglichen. Diese Voraussetzung ist im Allgemeinen bei der Untersuchung eines breiten Spektrums von Substanzen mit sehr unterschiedlichen Eigenschaften, wie in der vorliegenden Arbeit, nicht erfüllt.

3.3.5 Massenspektrometrische Detektion (MS)

Die massenspektrometrische Detektion beruht auf der Selektion von Ionen nach ihrem Masse-Ladungs-Verhältnis m/z in einem sogenannten Massenfilter und anschließender Detektion („Zählung“) z.B. mittels eines Sekundärelektronenvervielfachers. Bei der in der vorliegenden Arbeit angewandten Tandem-Massenspektrometrie werden zwei Massenfilter hintereinandergeschaltet. Es gibt auf dem Markt sehr verschiedene Massenspektrometer-Typen, die sich durch die Funktionsweise der Massenfilter charakterisieren lassen, und die aufgrund ihrer sehr verschiedenen Eigenschaften z.B. bezüglich der Auflösung und des Massenbereiches, für die Bearbeitung unterschiedlicher Fragestellungen eingesetzt werden. Neben den klassischen Sektorfeldgeräten gibt es Quadrupolgeräte, Ionenfallen, Flugzeit-Massenspektrometer, FT-Ionencyclotronresonanz-Massenspektrometer und verschiedene Kombinationen dieser Massenfilter-Typen in Tandem-Massenspektrometern. Die kompakten und preiswerten Quadrupolgeräte und Ionenfallen sind in der Routine-Analytik sehr weit verbreitet.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Tandem-Massenspektrometer eingesetzt, das im wesentlichen aus drei Quadrupolen aufgebaut ist („triple stage quadrupole“-tandem-MS). Der erste Quadrupol fungiert als 1. Massenfilter, in dem die Selektion der Vorläufer-Ionen erfolgt. Im zweiten Quadrupol, der Stoßzelle, werden diese Vorläufer-Ionen durch Stöße mit Stickstoffmolekülen fragmentiert (stoßinduzierte Dissoziation, „collision induced / activated dissociation“, CID oder CAD). Der dritte Quadrupol fungiert als 2. Massenfilter, in dem die Fragment-Ionen (Produkt-Ionen) selektiert werden. (schematische Darstellung der Ionenoptik siehe Anhang I, Abbildung 12.1)

Diese Konfiguration kann für verschiedene Arten der Messung eingesetzt werden. Das Gerät kann als einfaches MS zur Messung von Massenspektren („full scan“) oder Ionenspuren („selected ion monitoring“, SIM) verwendet werden. Im MS/MS-Modus können Vorläufer-Ionen-Spektren („precursor scan“), Produkt-Ionen-Spektren („product scan“) oder „Neutralverlust-Spektren“ („neutral loss scan“) gemessen werden. In der vorliegenden Arbeit wurde das „multiple reaction monitoring“ (MRM) verwendet, bei dem im 1. Massenfilter ein Ion selektiert und in der Kollisionszelle fragmentiert wird. Aus dem Produkt-Ionen-Spektrum dieser Fragmentierung wird im 2. Massenfilter ein Produkt-Ion selektiert und als Signal detektiert. Die auf diese Weise detektierten Massensignale werden in der vorliegenden Arbeit als Massenübergänge bezeichnet. Die Einstellungen der Ionenoptik (Spannungen) werden für jeden Massenübergang optimiert.

Für die „target“-Analytik, d.h. die Quantifizierung ausgewählter Zielanalyte, wird bei Quadrupol-Massenspektrometern üblicherweise im SIM-Modus gemessen. Im Gegensatz zum „full scan“-Modus können im SIM-Modus höhere Messzeiten pro Ion („dwell time“) verwendet werden, wodurch sich das Signal-Rausch-Verhältnis des Detektors und damit die Nachweisstärke erhöht. Der Informationsverlust und die damit verbundene geringere Identifizierungssicherheit im Vergleich zum „full scan“-Spektrum wird bei dieser Vorgehensweise durch die Messung mehrerer diagnostischer Ionen pro Analyt ausgeglichen. Die MS/MS-Messung bietet im Vergleich zur MS-Messung eine deutlich höhere Selektivität. Dadurch wird einerseits die Sicherheit der Identifizierung verbessert, andererseits kommt es durch die höhere Selektivität zu einer deutlichen Verringerung des Rauschens. Im Allgemeinen führt dies, trotz der geringeren absoluten Signalhöhe des MS/MS-Signals im Vergleich zum MS-Signal, zu einer Erhöhung des Signal-Rausch-Verhältnisses, was das Erreichen wesentlich niedrigerer Nachweisgrenzen als bei der MS-Messung ermöglicht.

3.3.6 Analytik von Pestiziden in Wasserproben im ng/L-Bereich mittels LC-MS(/MS)

Im Folgenden werden in der Literatur beschriebene Verfahren zur Analytik von Pestiziden in Wasserproben (Grund-, Oberflächenwasser u.a.) im ng/L-Bereich mittels LC-MS und LC-MS/MS dargestellt.* Für die Anreicherung der Analyte aus den Wasserproben wird überwiegend die SPE eingesetzt, wobei die Anreicherung sowohl „off-line“, als auch in Form von „on-line“-Kopplungen mit der LC-MS-Messung durchgeführt wird.

In den im Folgenden zitierten Arbeiten erfolgt die Messung neutraler Pestizide (Phosphorsäureester, Triazine, Phenylharnstoffe, Carbamate u.a.) überwiegend im positiven Ionisierungsmodus, wobei sowohl die ESI als auch die APCI eingesetzt werden (z.B. ESI: [49, 50, 51, 40, 52], APCI: [53, 54, 55, 56]). Saure Pestizide (Phenoxycarbonsäuren, Arylphenoxypionsäuren, Imidazolinone mit Carbonsäuregruppen, Sulfonylharnstoffe u.a.) werden meistens mit ESI im negativen Ionisierungsmodus gemessen (z.B. [57, 50, 51, 58, 55]), in manchen Fällen auch im positiven Ionisierungsmodus ([59, 60]). Andere Autoren setzen für die Messung von sauren Pestiziden (Phenoxycarbonsäuren u.a.) die APCI im negativen

* zur Analytik von Pestiziden in Wasserproben mittels GC siehe [17, 47, 48]

Ionisierungsmodus ein, wobei die Eluenten säurehaltig sind, so dass die Analyte in der Lösung wahrscheinlich undissoziiert vorliegen [61, 54, 56, 45].

Für die „off-line“-SPE werden häufig „graphitized carbon blacks (GCB)“ als Festphasen eingesetzt, die die Anreicherung von Pestiziden mit sehr unterschiedlichen Eigenschaften ermöglichen (Multimethoden: z.B. [49, 57, 50, 62]). Crescenzi et al. [49] beschreiben eine Multimethode zur Bestimmung von 45 Pestiziden mit sehr unterschiedlichen Eigenschaften (Phosphorsäureester, Carbamate, Triazinderivate, Phenylharnstoffe und andere N-haltige Pestizide; log K_{ow} -0,7 bis 4,4 [63]) in Trink-, Grund- und Flusswasser. Die Elution von der GCB-Festphase erfolgte mit einem Dichlormethan-Methanol-Gemisch. Für die Messung wurde die LC-ESI-MS eingesetzt. Bei Anreicherung von 4 L Trinkwasser, 2 L Grundwasser oder 1 L Flusswasser lagen die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens mit wenigen Ausnahmen zwischen 90 und 103% (Konzentration der Aufstockung 25 / 250, 50 / 500 bzw. 200 / 2000 ng/L). Die Nachweisgrenzen für die Anreicherung von 4 L Trinkwasser (Aufstockkonzentration 50 ng/L) lagen zwischen 0,03 und 2 ng/L.

Die SPE mit GCBs ermöglicht die Anreicherung von sauren Pestiziden aus neutralen Wasserproben [50, 62, 64, 65, 59, 66] und die Fraktionierung der Analyte bei der Elution. Curini et al. [50] beschreiben eine Methode zur Bestimmung von 52 Pestiziden (u.a. Triazinderivate, Diphenylether, Phenylharnstoffe, Imidazolinone, Sulfonylharnstoffe, Arylphenoxypionsäuren und deren Ester, Phenoxy-carbonsäuren; log K_{ow} -1 bis 4,6 [63]). Dabei wurden die Analyte in zwei Fraktionen aufgeteilt, in dem zuerst die neutralen Pestizide mit einem Methanol-Dichlormethan-Gemisch und anschließend die sauren mit einem entsprechenden, säurehaltigen Lösungsmittelgemisch eluiert wurden (vergl. auch [62, 64]). Die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens lagen für die Anreicherung von 0,5 L Flusswasser (Aufstockkonzentration 500 ng/L) mit wenigen Ausnahmen zwischen 90 und 111% [50]. Die Nachweisgrenzen für die Anreicherung von 4 L Trinkwasser (Aufstockkonzentration 25 ng/L) lagen unterhalb von 3 ng/L.

Eine weiteres Beispiel für den Einsatz von GCBs ist die Analyse von Antifouling-Pestiziden und deren Metaboliten in Meerwasser [67].

Polymermaterialien werden sowohl für die „off-line“- als auch für die „on-line“-SPE häufig eingesetzt. Dabei kommen neben den hydrophoben SDB-Polymeren (siehe Abschnitt 3.3.2) auch Divinylbenzol-N-Vinylpyrrolidon-Copolymere zum Einsatz, die nicht nur hydrophoben, sondern auch hydrophilen Charakter haben.

Bossi et al. [51] beschreiben eine Methode zur Bestimmung von 53 neutralen und sauren Pestiziden (Triazinderivate und deren Metabolite, Phosphorsäureester, Carbamate, Phenylharnstoffe u.a. N-haltige Pestizide bzw. Phenoxy-carbonsäuren, Phenole, Sulfonylharnstoffe, u.a.; log K_{ow} -1,0 bis 4,5 [63]) und einigen Nitrophenolen in Regenwasser. Für die SPE wurde ein Divinylbenzol-N-Vinylpyrrolidon-Copolymer eingesetzt. Die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens lagen zwischen 49 und 109% für die neutralen bzw. 18 und 91% für die sauren Analyte (Trinkwasser, neutral). Die Autoren weisen im Zusammenhang mit den

niedrigen Wiederfindungsraten auf die Möglichkeit signalunterdrückender Matrixeffekte bei der LC-ESI-MS/MS-Messung hin. Die Nachweisgrenzen lagen meist im Bereich von 2 bis 20 ng/L, mit Ausnahme einiger saurer Substanzen. Weitere Beispiele für den Einsatz von Divinylbenzol-N-Vinylpyrrolidon-Copolymeren zur „off-line“-Extraktion von Pestiziden werden in folgenden Arbeiten beschrieben: [68] - Multimethode (GC- und LC-MS), [58] - saure Pestizide und [18] - Antifouling-Pestizide.

Asperger et al. [53] beschreiben eine Methode zur „on-line“-SPE von 11 Pestiziden unterschiedlicher Stoffklassen (Triazine, Phenylharnstoffe, Phosphorsäureester u.a.; log K_{ow} 2,0 bis 5,1 [63]) auf einer „turbulent flow chromatography“-Säule mit einem Divinylbenzol-N-Vinylpyrrolidon-Copolymer als Festphase. Die Messung erfolgte mit LC-APCI-MS/MS, die gesamte Analyse dauerte 14 Minuten. Bei Anreicherung von 10 mL Flusswasser lagen die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens (mit Ausnahme der beiden unpolarsten Substanzen) zwischen 83 und 94% und die Nachweisgrenzen zwischen 0,4 und 2,0 ng/L (Aufstockkonzentration 100 ng/L bzw. 50 ng/L).

Auch mit Polymermaterialien ist die Anreicherung saurer Pestizide aus neutralen Wasserproben möglich [z.B. 51], wobei die Extraktionseffizienz nicht nur von den Analyten, sondern auch vom verwendeten Material abhängen kann, wie ein Vergleich verschiedener SDB-Polymermaterialien für die „on-line“-Extraktion einiger neutraler und saurer Pestizide von Hogenboom et al. [69] zeigt. Die Extraktion aus neutralen Wasserproben bietet den Vorteil, dass weniger Matrixbestandteile (Huminstoffe) extrahiert werden als bei niedrigeren pH-Werten [70].

Weitere Beispiele für den Einsatz von SDB-Polymeren werden in folgenden Arbeiten beschrieben: [40] - 12 polare Pestizide und deren Metabolite, [60] - neutrale und saure Herbizide, [61] - „on-line“-SPE, neutrale und saure Herbizide und Metabolite, [71] und [72] - „on-line“-SPE, Antifouling-Pestizide.

Hernández et al. [52] beschreiben eine Methode zur Bestimmung von 35 Pestiziden mit sehr unterschiedlichen Eigenschaften (Phosphorsäureester, Carbamate, Triazine und andere N-haltige Pestizide; log K_{ow} -1,4 bis 5,4 [63]) in Grund- und Oberflächenwasser. Die Anreicherung erfolgt „on-line“ mit einem C₁₈-modifizierten Kieselgel (RP-C18) als Festphase. Weitere Beispiele für den Einsatz von RP-C18-Festphasen sind die Anreicherung von Pestiziden verschiedener Stoffklassen in [54]: „on-line“-SPE und [73] (Detektion in diesem Fall mit GC und LC-DAD), die Anreicherung saurer Pestizide aus angesäuerten Wasserproben [55] und die Analyse von Antifouling-Pestiziden [74].

Manche Autoren verwenden für die SPE von Substanzen mit unterschiedlichen Eigenschaften auch Kombinationen von zwei Materialien. Z.B. beschreiben Hu et al. [56] ein Verfahren zur Anreicherung von 31 Pestiziden unterschiedlicher Stoffklassen mittels einer selbst-hergestellten 2-Schichten-Kartusche aus einem SDB-Polymer und einem Material auf Kohlenstoffbasis („carbon molecular sieve“).

Die „on-line“-SPE auf kurzen LC-Säulen bzw. -Vorsäulen ist ein sehr häufig angewandtes Verfahren, das durch die Automatisierung den Arbeitsaufwand bei der Probenaufarbeitung reduziert. Allerdings erfordert die „on-line“-SPE im Vergleich zur „off-line“-SPE eine weitergehende Optimierung, um die Bedingungen entsprechend den Anforderungen der SPE, der Chromatographie und der Ionisierung mittels ESI und APCI abzustimmen. Das Volumen und die Elutionskraft des für die Elution bei der SPE verwendeten Elutionsmittels muss kompatibel sein mit der Chromatographie. Außerdem ist bei manchen Substanzen für die effektive Desorption von der SPE-Säule Acetonitril erforderlich, wohingegen mit Methanol als organischem Lösungsmittel die Effizienz des Ionisierungsprozesses wesentlich höher ist (vergl. Abschnitt 3.3.4). Diese Probleme lassen sich lösen, indem z.B. die Elution bei der SPE mit einem kleinen Volumenstrom (z.B. 0,1 mL/min) von Acetonitril durchgeführt wird und dieses Eluat in einen stark wasserhaltigen Methanol-Wasser-Eluenten mit höherer Flussrate (z.B. 0,9 mL/min) für die Chromatographie eingespeist wird [39, 45].

Eine andere Variante der „on-line“-SPE ist der „single short column“-Ansatz von Hogenboom et al. [75, 76, 77]. Mit dem Ziel, möglichst kurze Analysenzeiten zu erreichen, wurden die SPE und eine schnelle Chromatographie auf einer kurzen LC-Säule (RP-C18 oder SDB-Polymer) durchgeführt. Die Messung erfolgte mit APCI-MS/MS, die gesamte Analyse dauerte zwischen 10 und 15 Minuten. Für eine Gruppe von 6 Triazinen oder 8 Phenylharnstoffen lagen die Nachweisgrenzen bei der Anreicherung von 4 mL Flusswasser meistens zwischen 10 und 50 ng/L bei Verwendung eines „triple stage quadrupole“-Tandem-Massenspektrometers [75]. Die Messung mit einem „ion trap“-MS/MS erwies sich als nicht geeignet für diesen Ansatz [77].

Für die Bestimmung von sehr polaren, stark wasserlöslichen Pestiziden verzichteten Ingelse et al. [78] auf eine Anreicherung und injizierten 1 mL Oberflächenwasser direkt in die LC. Die Messung erfolgte mit LC-APCI-MS/MS. Die Nachweisgrenzen lagen zwischen 10 und 30 ng/L.

Die LLE wird nur selten angewendet. Jeannot et al. [79] beschreiben die Bestimmung von 26 Pestiziden (Triazinderivate, Phenylharnstoffe und andere N-haltige Pestizide; log Kow 0,8 bis 4,4 [63]) in Oberflächenwasser nach LLE mit Dichlormethan. Die Messung erfolgte mit LC-APCI-MS. Die Wiederfindungsraten für das Gesamtverfahren lagen zwischen 70 und 96% (Aufstockkonzentration 0,5 µg/L), die Bestimmungsgrenzen zwischen 5 und 10 ng/L ([79], vergl. [55, 80, 81]). Für die Anreicherung von Desethyl-, Desisopropylatrazin und Carbendazim wurde in der zitierten Arbeit allerdings die SPE mit einem RP-C18-Material eingesetzt, da die Wiederfindungsraten mit der LLE für diese Substanzen zu gering waren. Ein weiteres Beispiel für die Anwendung der LLE wird von Spliid et al. beschrieben (Triazinderivate, -metabolite und andere N-haltige Pestizide in Trinkwasser) [82].

3.4 Umgang mit Matrixeffekten bei der Quantifizierung

Die Matrixbestandteile einer Probe können starke Störungen beim Nachweis und bei der Quantifizierung eines Analyten in dieser Probe verursachen. In diesem Abschnitt richtet sich das Augenmerk auf den Einfluss von Matrixbestandteilen auf die Empfindlichkeit des gesamten Analysenverfahrens und die dadurch verursachten Störungen bei der Quantifizierung des Analyten.* Bei dem in der vorliegenden Arbeit entwickelten Verfahren können dies insbesondere Einflüsse der Matrix auf die Ausbeuten bei der Anreicherung oder auf die Effizienz des Ionisierungsprozesses bei der Messung (vergl. Abschnitt 3.3.4) sein. Diese Einflüsse führen zu Veränderungen der Wiederfindungsraten bei der Analyse matrixhaltiger Proben. Im Folgenden werden Vorgehensweisen zum Umgang mit derartigen Matrixeffekten bei der Quantifizierung beschrieben.

Bei Abwesenheit von Matrixeffekten kann die Quantifizierung über eine externe Kalibrierung der Messung mit reinen Standardlösungen erfolgen; wenn die Wiederfindungsrate des gesamten Verfahrens $< 100\%$ ist, ist eine Korrektur der Ergebnisse mit der Wiederfindungsrate erforderlich.**

Bei Auftreten von Matrixeffekten hängt die Vorgehensweise für die Quantifizierung von der Variabilität der Matrixeffekte ab. Bei gleichbleibenden Matrixeffekten (gleichbleibende Probenmatrix) ist die obenbeschriebene Vorgehensweise anwendbar, die Korrektur der Ergebnisse erfolgt in diesem Fall anhand der in Vorversuchen für matrixhaltige Proben bestimmten Wiederfindungsrate. Variieren die Matrixeffekte stark mit den einzelnen Proben, kann die Quantifizierung mit Hilfe des Standardadditions-Verfahrens erfolgen. Dies entspricht praktisch der Bestimmung der Wiederfindungsrate für jede einzelne Probe. Dieses Verfahren ist sehr aufwendig, da sich - je nach Zahl der Aufstockungen pro Probe - die Anzahl der zu analysierenden Proben vervielfacht. Wenn die Matrixeffekte innerhalb einer Probenserie in ausreichendem Maße gleichbleiben, kann die Wiederfindungsrate anhand einer oder mehrerer Proben ermittelt werden und für die Auswertung der gesamten Serie eingesetzt werden.

Eine andere Vorgehensweise zur Quantifizierung bei stark variierenden Matrixeffekten ist der Einsatz interner Standards. Der Begriff „interner Standard“ bezeichnet in diesem Zusammenhang eine Bezugssubstanz, die der Probe zugesetzt wird, in der ursprünglichen Probe nicht vorkommt und selektiv in Anwesenheit des Analyten bestimmt werden kann, ohne dessen Bestimmung zu stören. Durch die Korrektur des für eine Probe ermittelten Ergebnisses mit der Wiederfindungsrate des internen Standards lassen sich Matrixeffekte rechnerisch ausgleichen. Für diese Korrektur von Matrixeffekten ist es Voraussetzung, dass der interne Standard das gleiche Verhalten zeigt wie der Analyt oder dass sich zwischen dem Verhalten

* Störungen des Nachweises durch Matrixbestandteile, die die Anwesenheit des Analyten vortäuschen, werden im Zusammenhang mit der Selektivität des Verfahrens in Abschnitt 6.2.2 diskutiert. Der Einfluss der Matrixbestandteile auf die Nachweisgrenzen wird durch die Ermittlung derselben anhand von Realproben miterfasst (siehe Abschnitt 6.3.2).

** Falls die Abweichungen der Wiederfindungsraten von 100% in einem akzeptablen Rahmen liegen, kann die Korrektur entfallen. In diesem Fall sind die Abweichungen bei der Ermittlung der Messunsicherheit zu berücksichtigen. Entsprechendes gilt auch für die weiteren Betrachtungen zu matrixbedingten Abweichungen.

des internen Standards und des Analyten ein quantifizierbarer Zusammenhang herstellen lässt. Bei den in der vorliegenden Arbeit angewandten Techniken (SPE, LC-API-MS) sind die Matrixeffekte stark von den Eigenschaften der Analyte und von der Retentionszeit in der LC abhängig.

Für Analysenverfahren mit massenspektrometrischer Detektion lassen sich die oben genannten Bedingungen durch den Einsatz der deuterierten oder ^{13}C -markierten Analyte als interne Standards optimal erfüllen. Diese Substanzen kommen in Umweltproben nicht oder nur in sehr geringen Anteilen* vor, sie lassen sich mit massenspektrometrischer Detektion selektiv neben den Analyten bestimmen, und sie weisen die größtmögliche Ähnlichkeit im physikalisch-chemischen Verhalten mit den Analyten auf (bezogen auf die Prozesse, die relevant sind). Allerdings ist es nicht praktikabel in einer Multimethode für jeden Analyten einen isotopenmarkierten, internen Standard einzusetzen; abgesehen von dem hohen Kosten- und Arbeitsaufwand (hoher Preis der isotopenmarkierten Standardsubstanzen, Verdopplung der Anzahl der zu analysierenden Substanzen) sind isotopenmarkierte Standardsubstanzen nur für eine begrenzte Anzahl von Analyten erhältlich. Daher wird häufig nur eine isotopenmarkierte Substanz als interner Standard für mehrere Analyte eingesetzt (z.B. [46, 39, 51]). Wenn substanzabhängige Effekte korrigiert werden sollen, ist diese Vorgehensweise kritisch zu betrachten, da die Bedingung des gleichen Verhaltens von Analyt und internem Standard im Allgemeinen nicht für alle Analyte in gleicher Weise erfüllt wird (vergl. [83, 45]). Daher muss bei dieser Vorgehensweise experimentell gründlich überprüft werden, wie sich Veränderungen der Probenmatrix auf den internen Standard und die verschiedenen Analyte auswirken und ob zwischen dem Verhalten des internen Standards und der Analyte ein quantifizierbarer Zusammenhang hergestellt werden kann.

Aus diesen Gründen wurde in der vorliegenden Arbeit eine andere Vorgehensweise gewählt. Die isotopenmarkierten internen Standards wurden nur für die Kontrolle des Analysengangs eingesetzt, d.h. es wurde überwacht, dass operationelle Abweichungen und Abweichungen durch einen veränderten Matrixeinfluss in einem bestimmten Rahmen blieben. Die Wiederfindungsraten der internen Standards wurden nicht in die Berechnung der Ergebnisse einbezogen. Die Quantifizierung erfolgte in der oben beschriebenen Weise anhand der für mehrere Proben einer Serie ermittelten Wiederfindungsraten. Näheres hierzu siehe Abschnitt 5.7, 7.2 und 7.3.2.

* natürlicher Anteil der schweren Isotope: Deuterium = 0,0145%, ^{13}C = 1,10% [84]

4 SUBSTANZAUSWAHL

Die Auswahl der Analyte für das zu entwickelnde Analysenverfahren erfolgte nach verschiedenen Kriterien. Vorrangig wurden Substanzen ausgewählt, für die Zielvorgaben (ZV) für das Schutzgut „Aquatische Lebensgemeinschaften“ im unteren ng/L-Bereich (≤ 20 ng/L) bzw. Effektkonzentrationen (EC) < 100 ng/L vorliegen (siehe Tabelle 4.2). Außerdem wurden weitere Substanzen aus dem Messprogramm der Wassergütestelle Elbe in Hamburg ausgewählt, da in Zusammenarbeit mit der Wassergütestelle die Wasserproben eines Elbelängsprofils untersucht werden sollten. Die Substanzen wurden so ausgewählt, dass unterschiedliche Stoffklassen vertreten sind und ein breiter Polaritätsbereich abgedeckt wird: Die Wasserlöslichkeit der ausgewählten Substanzen liegt zwischen $20 \mu\text{g/L}$ und 600 g/L , die $\log K_{OW}$ -Werte (dekadischer Logarithmus des Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten) liegen zwischen -1 und 5 (siehe Tabelle 4.1). Die Auswahl wurde auf Substanzen beschränkt, die vorwiegend in der Wasserphase gelöst auftreten und deren schwebstoffgebundener Anteil klein ist ($\log K_{ow} \leq 5$) [85].

Neben Pflanzenschutzmittelwirkstoffen wurden ebenfalls einige Metabolite dieser Wirkstoffe ausgewählt: Desisopropylatrazin als gemeinsamer Metabolit von Atrazin und Terbutylazin, Desethylatrazin als gemeinsamer Metabolit von Atrazin und Propazin, Desethylterbutylazin als Metabolit von Terbutylazin und Aldicarbulsulfon als Metabolit von Aldicarb. Außerdem wurde Irgarol in die Gruppe der Analyte aufgenommen; diese Substanz ist ein relativ neuer Ersatzstoff für Tributylzinn-Verbindungen in Antifouling-Anstrichen für Schiffe.

Die Verfahrensentwicklung wurde mit einer Gruppe von 13 Substanzen durchgeführt, die einen breiten Polaritätsbereich abdecken („kleine Substanzgruppe für die Verfahrensentwicklung“, siehe Tabelle 4.1 bzw. Abbildung 4.1 und 4.2). Für das optimierte Analysenverfahren wurde die Gruppe der Analyten auf letztendlich 26 Substanzen* erweitert („gesamte Substanzgruppe“).

Für das optimierte Verfahren wurden drei von den ursprünglich ausgewählten Substanzen aus der Gruppe der Analyte herausgenommen. Trifluralin wurde nach den Versuchen zum Ionisierungsverhalten wieder aus der Gruppe der Analyte herausgenommen, da es im Gegensatz zu allen anderen Substanzen nur im negativen Modus ionisierbar war (siehe Abschnitt 5.2). Für Fenthion und Disulfoton wurde die Optimierung der Parameter für die LC-MS/MS-Messung (siehe Abschnitt 5.3) durchgeführt, aber bei den Versuchen zur Optimierung des Anreicherungsverfahrens (siehe Abschnitt 5.5) wurden diese beiden Substanzen aus der Gruppe herausgenommen, da sie zu geringe Wiederfindungsraten der Anreicherung aufwiesen.

* bzw. 27 Substanzen, wenn man beide Mevinphos-Isomere einzeln zählt

Tabelle 4.1: CAS-Nummern, physikalische Eigenschaften, Stoffklasse und Anwendungsgebiet der ausgewählten Substanzen (Darstellung entsprechend der Elutionsreihenfolge in der Flüssigchromatographie - siehe Abschnitt 6.2.1, Abbildung 6.1 - Chromatogramm)

Substanz	CAS-Nr.	Mol- masse ¹ (g/mol)	Wasser- löslichkeit (mg/L)	log Kow	Stoffklasse	Anwen- dung ¹
Aldicarb-sulfon			> 330000 ¹		Metabolit (Carbamat)	Aldicarb: I, A, N
<u>Oxamyl</u>	23135-22-0	219,4	280000 ^{1,2}	- 0,5 ⁴	Carbamat	I, N
<u>Triasulfuron</u>	82097-50-5	401,8	1500 ^{1,2}	- 1,0 ²	Sulfonylharnstoffderivat	H
Desisopropyl- atrazin	1007-28-9			1,2 ⁴	Metabolit (Triazinder.)	
<u>Imidacloprid</u>	105827-78-9 138261-41-3**	255,7	510 ¹	0,6 ^{1,2}	Pyridylmethylamin	I
<u>Dimethoat</u>	60-51-5	229,3	25000 ¹	0,7 ²	Phosphorsäureester	I, A
Desethylatrazin	6190-65-4			1,5 ⁴	Metabolit (Triazinder.)	
Mevinphos	7786-34-7 ***	224,1	600000 ²	1,3 ¹	Phosphorsäureester	I, A
Bromacil	314-40-9	261,1	700 ¹	2,1 ⁴	Uracilderivat	H
<u>Dichlorvos</u>	62-73-7	221,0	8000 ¹	1,4 ²	Phosphorsäureester	I, A
Desethyl- terbutylazin	30125-63-4				Metabolit (Triazinder.)	
<u>Carbaryl</u>	63-25-2	201,2	< 1000 ¹	2,3 ¹	Carbamat	I
Atrazin	1912-24-9	215,7	70 ¹	2,3 ²	Triazinderivat	H
<u>Diuron</u>	330-54-1	233,1	35 ^{1,2}	2,9 ¹	Harnstoffderivat	H
<u>Azinphos-methyl</u>	86-50-0	317,3	28 ^{1,2}	3,0 ^{1,2}	Phosphorsäureester	I, A
Parathion-methyl	298-00-0	263,2	55 ²	3,0 ^{1,2}	Phosphorsäureester	I
Propazin	139-40-2	230,1	8,6 ¹	2,9 ⁴	Triazinderivat	H
Terbutylazin	5915-41-3	229,7	8,5 ^{1,2}	3,2 ¹	Triazinderivat	H
<u>Fenitrothion</u>	122-14-5	277,2	21 ^{1,2}	3,4 ^{1,2}	Phosphorsäureester	I, A
Alachlor	15972-60-8	269,8	212 ¹	3,1 ²	Acetamid	H
Irgarol (1051)	28159-98-0	253,4 ³	7 ³	2,8 ³	Triazinderivat	****
Parathion(-ethyl)	56-38-2	291,3	24 ¹	3,8 ^{1,2}	Phosphorsäureester	I
Etrimfos	38260-54-7	292,3	40 ^{1,2}	> 3,3 ²	Phosphorsäureester	I, A
Diazinon	333-41-5	304,4	40 ^{1,2}	4,0 ^{1,2}	Phosphorsäureester	I, A
<u>Fenthion</u> *	55-38-9	278,3	4,2 ¹	4,8 ^{1,2}	Phosphorsäureester	I
<u>Pyrazophos</u>	13457-18-6	373,4	4,2 ¹	3,8 ^{1,2}	Phosphorsäureester	F
<u>Disulfoton</u> *	298-04-4	274,4	25 ¹	4,0 ⁴	Phosphorsäureester	I
<u>Teflubenzuron</u>	83121-18-0	381,1	0,02 ^{1,2}	4,6 ¹	Harnstoffderivat	I
Trifluralin *	1528-09-8	335,3	< 0,1 ¹	5,1 ^{1,2}	Nitroanilinderivat	H

unterstrichen: Substanz gehört zur kleinen Gruppe für die Verfahrensentwicklung

* Substanz gehört nicht zur Gruppe der Analyte für das optimierte Verfahren

** Imidacloprid: CAS-Nr. des Tautomeren (Imidazolidin)

*** Mevinphos: CAS-Nr. für beide Isomere ((E)- und (Z)-Isomer)

**** Anwendung Irgarol: Antifoulingfarben (Ersatzstoff für TBT), kein Pflanzenschutzmittel
Abkürzungen: H = Herbizid, F = Fungizid, I = Insektizid, A = Akarizid, N = Nematizid

Quellen:

¹ [3], ² [63], ³ [86], ⁴ [87]

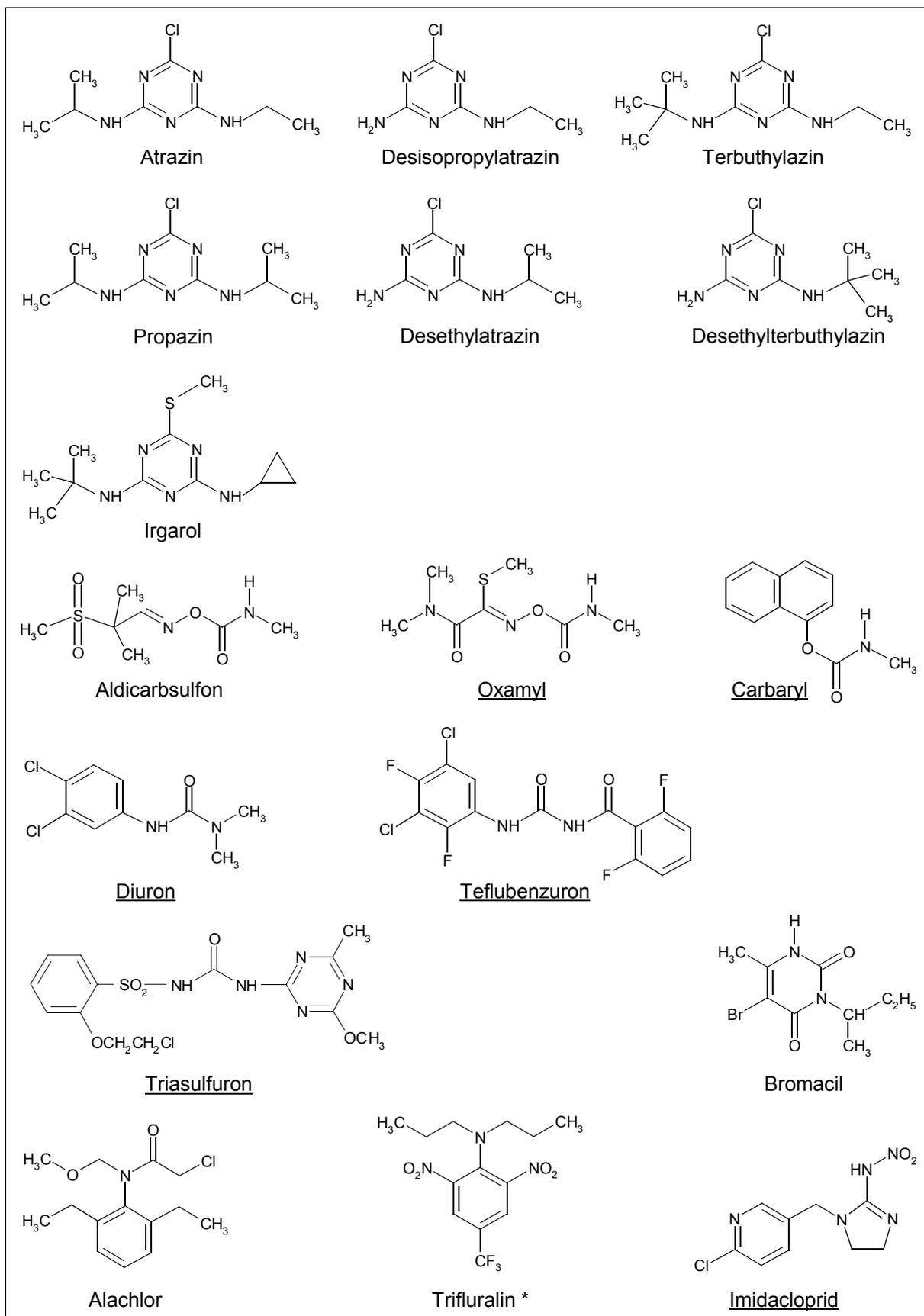


Abbildung 4.1: Strukturen der ausgewählten Substanzen - Teil 1: Triazinderivate, Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige [3] (Imidacloprid: [88])

unterstrichen: Substanz gehört zur kleinen Gruppe für die Verfahrensentwicklung

* Substanz gehört nicht zur Gruppe der Analyte für das optimierte Verfahren

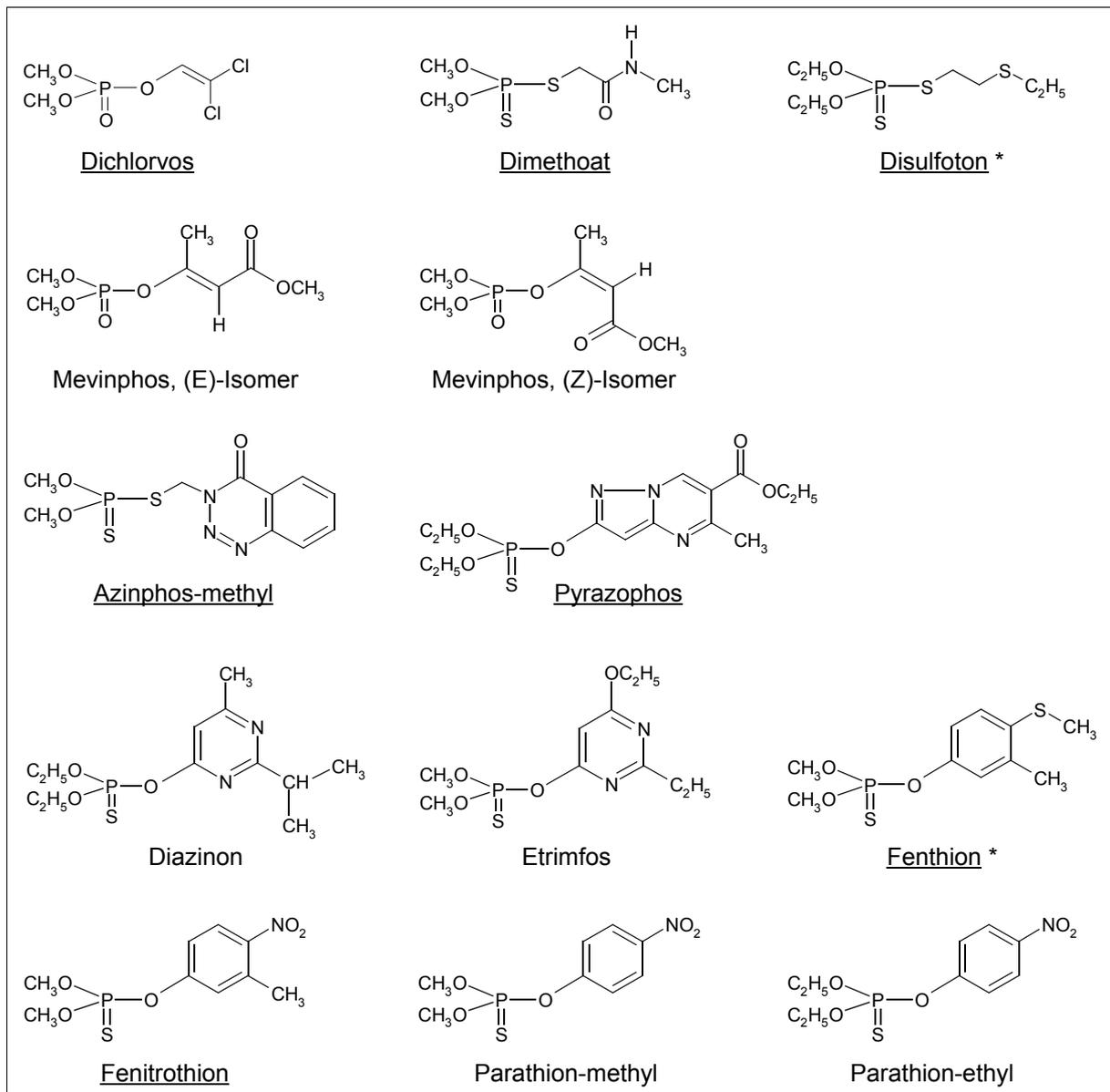


Abbildung 4.2: Strukturen der ausgewählten Substanzen - Teil 2: Phosphorsäureester [3]
 unterstrichen: Substanz gehört zur kleinen Gruppe für die Verfahrensentwicklung
 * Substanz gehört nicht zur Gruppe der Analyte für das optimierte Verfahren

In der vorliegenden Arbeit wurden die Zielvorgaben der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA) und der Internationalen Kommissionen zum Schutz des Rheins (IKSR) und der Elbe (IKSE) für die Schutzgüter „Aquatische Lebensgemeinschaften“ und „Trinkwasserversorgung“ als Bewertungsmaßstab zugrunde gelegt. Sie sind in Tabelle 4.2 gemeinsam mit Angaben zu den maximalen Werten der Effektkonzentrationen für das Schutzgut „Aquatische Lebensgemeinschaften“ und zur Zulassung als Pflanzenschutzmittelwirkstoff in Deutschland dargestellt. Für Substanzen, bei denen keine Zielvorgaben vorlagen, wurden stattdessen die Angaben zu den maximalen Werten der Effektkonzentrationen für eine Bewertung der Ergebnisse herangezogen (vergl. Abschnitt 7.4.3).

Tabelle 4.2: Zielvorgaben (ZV) zum Schutz oberirdischer Binnengewässer, Effektkonzentrationen (EC) und Angaben über die Zulassung als Pflanzenschutzmittelwirkstoff in der Bundesrepublik Deutschland (BRD) für die ausgewählten Substanzen

Substanz	ZV IKSR (ng/L)		ZV IKSE (ng/L)		ZV LAWA (ng/L)		EC (ng/L)	Zul. BRD
	AQL	T	AQL	T, F, B	AQL**	T		
<u>Triazinderivate und deren Metabolite</u>								
Atrazin	100 ^{2,3}	100 ^{2,3}				100 ⁶		verb. ⁷
Propazin						100 ⁶		
Terbuthylazin					500 ⁵	100 ^{5,6}		X
<u>Phosphorsäureester</u>								
Azinphos-methyl	1 ^{2,3}				10 ⁵	100 ^{5,6}	< 100	
Diazinon	20 ^{2,4}						< 1000	
Dichlorvos	0,7 ^{2,3}				0,6 ⁵	100 ^{5,6}	< 100	X
Dimethoat		100 ²	10 ¹	100 ¹	200 ⁵	100 ^{5,6}	< 100	X
Disulfoton *	4 ²							
Etrimfos					4 ⁵	100 ^{5,6}		
Fenitrothion	1 ^{2,3}				9 ⁵	100 ^{5,6}	< 100	
Fenthion *	7 ^{2,3}				4 ⁵	100 ^{5,6}	< 100	
Mevinphos	0,2 ^{2,4}						< 100	
Parathion-ethyl	0,2 ^{2,3}				5 ⁵	100 ^{5,6}	< 100	
Parathion-methyl	10 ^{2,3}		10 ¹	100 ¹	20 ⁵	100 ^{5,6}	< 100	X
Pyrazophos	0,6 ^{2,4}						< 100	
<u>Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige</u>								
Diuron	6 ^{2,3}				50 ⁵	100 ^{5,6}		X
Teflubenzuron							< 100	X
Triasulfuron							< 100	X
Carbaryl ***							< 1000	verb. ⁷
Oxamyl							< 100	
Alachlor	200 ⁴	100 ²						
Bromacil					600 ⁵	100 ^{5,6}		verb. ⁷
Imidacloprid							< 100	X
Trifluralin *	2 ^{2,3}				30 ⁵	100 ^{5,6}	< 1000	X

vergl. Abschnitt 3.2

* Substanz gehört nicht zur Gruppe der Analyte für das optimierte Verfahren

** LAWA-Zielvorgaben für AQL vorläufig [7]

*** Ableitung von Zielvorgaben für AQL: Carbaryl - 60 ng/L [91]

Schutzgüter:

AQL = Aquatische Lebensgemeinschaften, T = Trinkwasser, F = Fischerei,
B = Bewässerung landwirtschaftlich genutzter Flächen

Bezugswerte der Zielvorgaben:

90-Perzentile

Effektkonzentrationen (EC): zugrundeliegende Angaben sind NOEC, LOEC und LC50 für das Schutzgut „Aquatische Lebensgemeinschaften“ [89]

X = in der BRD als Pflanzenschutzmittelwirkstoff zugelassen [4], (Ergänzung: Aldicarb - eingeschränktes Anwendungsverbot; Diuron, Parathion-methyl - Anwendungsbeschränkungen ⁷)
verb. = Anwendungsverbot in der BRD ⁷

Quellen:

¹ Internationale Kommission zum Schutz der Elbe (IKSE), zitiert nach [7]

² Internationale Kommission zum Schutz des Rheins (IKSR), zitiert nach [90]

³ Internationale Kommission zum Schutz des Rheins (IKSR), zitiert nach [7]

⁴ Internationale Kommission zum Schutz des Rheins (IKSR), zitiert nach [91]

⁵ Länderarbeitsgemeinschaft Wasser, zitiert nach [92]

⁶ Länderarbeitsgemeinschaft Wasser, zitiert nach [7]

⁷ Pflanzenschutzanwendungs-Verordnung, BRD [93]

Atrazin, Diuron, Alachlor und Trifluralin gehören zur Liste der prioritären Stoffe entsprechend der Wasserrahmenrichtlinie der Europäischen Union; Atrazin, Diuron und Trifluralin wurden als prioritäre gefährliche Stoffe eingestuft [12] (vergl. Abschnitt 3.2).

5 VERFAHRESENTWICKLUNG

In diesem Kapitel wird die Entwicklung des Analysenverfahrens für die ausgewählten Pestizide beschrieben. Bei der Verfahrensentwicklung wurden folgende Ziele verfolgt: hohe Selektivität der massenspektrometrischen Detektion, hohe Signalintensität bzw. hohes Signal-Rausch-Verhältnis bei der Messung, hohe Ausbeuten bei der Anreicherung und möglichst geringe Störungen durch Matrixeffekte, insbesondere bei der Messung. Als Bewertungsmaßstab wurden u.a. die Wiederfindungsraten einzelner Verfahrensschritte verwendet, deren Ermittlung in Abschnitt 5.1 beschrieben wird.

In der ersten Phase der Verfahrensentwicklung wurden die Bedingungen für die Detektion und die Ionisierung optimiert (Abschnitt 5.2 bis 5.4), in der zweiten Phase die Bedingungen für das Gesamtverfahren, hauptsächlich hinsichtlich des Anreicherungsverfahrens (Abschnitt 5.5). Diese Versuche wurden überwiegend mit reinen Standardlösungen bzw. reinen Wasserproben („organikarmes Laborwasser“, siehe Abschnitt 11.1.1.2) durchgeführt, um den Einfluss der Parameter an einem möglichst einfachen Modellsystem zu untersuchen. Darüberhinaus wurden an verschiedenen Punkten der Verfahrensentwicklung die optimierten Bedingungen in Versuchen mit Realproben getestet. Die Verfahrensentwicklung wurde mit der kleinen Substanzgruppe (siehe Kapitel 4) durchgeführt (Ausnahmen: Abschnitt 5.2 und 5.4.1).

In Abschnitt 5.6 werden die für das optimierte Verfahren ermittelten Wiederfindungsraten für die gesamte Substanzgruppe dargestellt. Dabei werden die Wiederfindungsraten für reine Wasserproben und Elbe-Wasserproben miteinander verglichen. Die Beschreibung weiterer Kenngrößen des optimierten Verfahrens folgt im Kapitel 6. In Abschnitt 5.7 wird die Vorgehensweise beschrieben, die bei der Untersuchung von Realproben für die Kontrolle von Matrixeffekten und die Quantifizierung gewählt wurde.

Die in Abschnitt 5.2 und 5.3 beschriebenen Untersuchungen wurden mit den beiden Massenspektrometern API 2000 und API 3000 durchgeführt, die in den übrigen Abschnitten beschriebenen Untersuchungen mit dem API 3000.

In den Diagrammen sind die Substanzen immer in der Elutionsreihenfolge dargestellt, d.h. mit von links nach rechts zunehmender Retentionszeit (außer bei Desethylatrazin und dem 1. Mevinphos-Isomer, letzteres eluiert vor Desethylatrazin).

5.1 Vorgehensweise bei der Ermittlung der Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens und einzelner Verfahrensschritte

Die Wiederfindungsrate eines Analyten wird von verschiedenen Prozessen im Laufe des Analysenverfahrens bestimmt. Einerseits sind dies Prozesse bei der Festphasen-Extraktion und Aufarbeitung der Probe (Anreicherungsvorgang, Trocknen, Elution, Einengen etc.). Insbesondere die Effizienz des Anreicherungs- und Elutionsvorgangs spielen hierbei eine wichtige Rolle. Andererseits beeinflussen Vorgänge während der LC-MS/MS-Messung, insbesondere während der Ionisierung, die Wiederfindungsrate. Die Probenmatrix kann einen deutlichen Einfluss auf diese Prozesse ausüben (vergl. Abschnitt 3.3.2 und 3.3.4).

Die Wiederfindungsrate wird im Allgemeinen durch Analyse einer mit einer Standardlösung aufgestockten Probe ermittelt. Andere Möglichkeiten sind die Analyse eines zertifizierten Referenzmaterials oder der Vergleich der Ergebnisse mit denen eines Referenzverfahrens (= Methoden zur Untersuchung der Richtigkeit der Ergebnisse eines Analysenverfahrens).

In der vorliegenden Arbeit wurden die Wiederfindungsraten (w) des Gesamtverfahrens durch Aufstockung einer Wasserprobe vor der Anreicherung und Vergleich des Messsignals mit dem eines Standards in reinem Lösungsmittel bestimmt. Zur Ermittlung der Wiederfindungsraten der beiden Verfahrensschritte „Anreicherung“ und „Messung“ wurden bei einigen Untersuchungen zusätzlich zur Aufstockung der Wasserproben vor der Anreicherung einige Extrakte erst nach dem Einengen aufgestockt (vergl. Abschnitt 11.1.2). Nach diesem Aufstockungsschritt erfolgte nur noch die Wasserzugabe, anschließend wurde der Extrakt vermessen. Die auf diese Weise ermittelten Wiederfindungsraten wurden als „Wiederfindungsrate der Messung“ bezeichnet. Die „Wiederfindungsrate der Anreicherung“ wurde durch Division der Wiederfindungsrate des Gesamtverfahrens mit der Wiederfindungsrate der Messung berechnet:

$$w(\text{Anreicherung}) = w(\text{Gesamtverfahren}) / w(\text{Messung})$$

Teilweise wurden auf diese Weise für die Anreicherung Wiederfindungsraten ermittelt, die größer als 100% waren. Diese Ergebnisse sind physikalisch unsinnig und beruhen auf Ungenauigkeiten der für die Berechnung zugrundegelegten Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens und der Messung. Dahingegen sind Wiederfindungsraten über 100% bei der Messung physikalisch sinnvoll, sie entsprechen einem signalverstärkenden Effekt der Probenmatrix im Vergleich zum reinen Lösungsmittel. Dementsprechend sind auch für das Gesamtverfahren Wiederfindungsraten über 100% plausibel.

Bei der Untersuchung von Realproben wurde die Differenz der Signale für die aufgestockte und die unaufgestockte Probe für die Berechnung der Wiederfindungsraten verwendet.

5.2 Auswahl der Signale für die massenspektrometrische Detektion

Die massenspektrometrische Detektion erfolgt mit Hilfe des sogenannten „multiple reaction monitoring“ (MRM) (siehe Abschnitt 3.3.5). Die Ermittlung der Massenübergänge der Analyte und die Optimierung der Einstellungen der Ionenoptik wurde entsprechend der üblichen Vorgehensweise mit Hilfe der kontinuierlichen Infusion von Lösungen einzelner Standardsubstanzen und Elektrospray-Ionisierung (ESI) durchgeführt (experimentelle Bedingungen siehe Kap 11.2.2.1).

Innerhalb der untersuchten Substanzgruppe ist die Mehrzahl der Substanzen nur positiv ionisierbar bzw. mit der negativen Ionisierung wird nur ein Bruchteil der Signalintensität der positiven Ionisierung erreicht. Nur Diuron, Teflubenzuron, Triasulfuron und Bromacil zeigen deutliche Signale im negativen Ionisierungsmodus, die aber eine geringere Intensität aufweisen als im positiven Modus. Daher wurde für die Verfahrensentwicklung nur der positive Ionisierungsmodus verwendet. Trifluralin wurde aus der untersuchten Substanzgruppe herausgenommen, da es nur im negativen Modus ionisierbar war. Die Ergebnisse der Eignungsprüfung von positiver und negativer Ionisierung lassen sich von der ESI auf die APCI übertragen, daher wurden mit der APCI keine Messungen im negativen Ionisierungsmodus durchgeführt.

In Tabelle 5.1 sind die Massenübergänge, für die die Einstellungen der Ionenoptik optimiert wurden und deren relative Intensität mindestens 10% beträgt, für die gesamte Substanzgruppe dargestellt. Als Vorläufer-Ion wird immer ein Quasi-Molekülion verwendet, meistens das protonierte Molekül $[M+H]^+$, z.T. auch das Ammonium-Addukt des Moleküls $[M+NH_4]^+$. Die relativen Intensitäten der Massenübergänge können sich beim Wechsel des Massenspektrometer-Typs verändern.

Im optimierten Analysenverfahren werden pro Substanz jeweils zwei Massenübergänge gemessen, in Ausnahmefällen auch drei. Ein Massenübergang wird für die Quantifizierung verwendet, der andere oder die beiden anderen werden für die Absicherung des Ergebnisses (siehe Abschnitt 7.5.1) herangezogen. Das Hauptkriterium für die Auswahl dieser Massenübergänge war die Signalintensität. Anhand der Messung von Extrakten von Wasserproben der Elbe wurde überprüft, bei welchen Massenübergängen Störungen durch die Signale anderer Substanzen aus der Matrix auftreten. Die ausgewählten Massenübergänge wiesen meistens keine Störungen auf bzw. die Störungen waren nicht stärker als bei anderen in Frage kommenden Massenübergängen des entsprechenden Analyten.*

* Diese Überprüfung wurde für Disulfoton und Fenthion nicht durchgeführt, da diese im Laufe der Verfahrensentwicklung aus der Substanzgruppe herausgenommen wurden. Der Massenübergang 279 / 247 von Fenthion wies starke Störungen durch Matrixbestandteile auf, so dass das Signal 279 / 169 für die Messungen verwendet wurde. Die anderen Massenübergänge von Fenthion wurden nicht überprüft.

Tabelle 5.1: Liste der Massenübergänge der untersuchten Substanzen (relative Intensitäten mindestens 10%)

Angabe der Massenübergänge: Vorläufer-Ion / Produkt-Ion

fett: im optimierten Verfahren gemessene Massenübergänge, unterstrichen: zur Quantifizierung verwendeter Massenübergang („1. Massenübergang“)

Substanz	Vorläufer-Ion	Massenübergänge rel. Int. > 70%	Massenübergänge rel. Int. 30-70%	Massenübergänge rel. Int. < 30%
<i>Triazinderivate und deren Metabolite</i>				
Atrazin	[M+H] ⁺	<u>216 / 174</u>	218 / 176	216 / 104 216 / 96 216 / 68 216 / 132 216 / 146
Atrazin-D5	[M+H] ⁺	<u>221 / 179</u>	223 / 181	221 / 101 221 / 137 221 / 69
Desethylatrazin	[M+H] ⁺	<u>188 / 146</u>	188 / 104 190 / 148	188 / 79 188 / 110 188 / 68
Desethylterbutylhazin	[M+H] ⁺	<u>202 / 146</u>	204 / 148	202 / 104 202 / 79
Desisopropylatrazin	[M+H] ⁺	<u>174 / 104</u> <u>174 / 96</u> 174 / 132 174 / 68	174 / 79 174 / 146	176 / 106 176 / 96 176 / 134 176 / 68 176 / 81 176 / 148
Irgarol	[M+H] ⁺	<u>254 / 198</u>		254 / 108 254 / 91 254 / 83
Propazin	[M+H] ⁺	<u>230 / 188</u> <u>230 / 146</u>	230 / 104 232 / 190 232 / 148	230 / 79 230 / 68 230 / 110 232 / 106
Terbutylhazin	[M+H] ⁺	<u>230 / 174</u>	232 / 176	230 / 132 230 / 96 230 / 104 230 / 68
<i>Phosphorsäureester</i>				
Azinphos-methyl	[M+H] ⁺	<u>318 / 132</u> <u>318 / 160</u>		
	[M+NH ₄] ⁺	335 / 132 335 / 160		
Diazinon	[M+H] ⁺	<u>305 / 169</u>	305 / 153	305 / 97 305 / 115 305 / 249 305 / 277
Diazinon-D10	[M+H] ⁺	<u>315 / 170</u> <u>315 / 154</u>		
Dichlorvos *	[M+H] ⁺	<u>221 / 127</u> <u>221 / 109</u>	223 / 127 223 / 109	
	[M+NH ₄] ⁺		238 / 127 238 / 109	240 / 127 240 / 109
Dimethoat	[M+H] ⁺	<u>230 / 199</u>	230 / 125 230 / 171	
	[M+NH ₄] ⁺		247 / 199 247 / 125	247 / 171
Disulfoton	[M+H] ⁺	<u>275 / 89</u>		275 / 61
	[M+NH ₄] ⁺	292 / 89		292 / 61
Etrimfos	[M+H] ⁺	<u>293 / 265</u> <u>293 / 125</u>	293 / 143	293 / 79 293 / 233 293 / 164
Fenitrothion	[M+H] ⁺	<u>278 / 125</u>	278 / 246 278 / 109 278 / 264 278 / 79 278 / 143	278 / 169 278 / 200
	[M+NH ₄] ⁺		295 / 125	295 / 246 295 / 264
Fenthion	[M+H] ⁺	<u>279 / 169</u> <u>279 / 247</u>	279 / 105	279 / 125 279 / 138 279 / 153
	[M+NH ₄] ⁺		296 / 169 296 / 247	296 / 105
Mevinphos	[M+H] ⁺	<u>225 / 127</u> 225 / 193		225 / 67
	[M+NH ₄] ⁺	<u>242 / 193</u> 242 / 127		242 / 67 242 / 109

Substanz	Vorläufer- ion	Massenübergänge rel. Int. > 70%	Massenübergänge rel. Int. 30-70%	Massenübergänge rel. Int. < 30%
Parathion-methyl	[M+H] ⁺	264 / 125 264 / 232	264 / 250 264 / 143	
	[M+NH ₄] ⁺		281 / 125 281 / 232	
Parathion-ethyl	[M+H] ⁺	292 / 236	292 / 264	292 / 94 292 / 123 292 / 140 292 / 110
	[M+NH ₄] ⁺		309 / 236 309 / 264	309 / 94
Pyrazophos	[M+H] ⁺	374 / 222 374 / 194	374 / 238	374 / 176
<i>Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige</i>				
Diuron	[M+H] ⁺	233 / 72	235 / 72	233 / 46 235 / 46 233 / 160
	[M+NH ₄] ⁺		250 / 72	252 / 72
Triasulfuron	[M+H] ⁺	402 / 167 402 / 141	404 / 167	404 / 141 402 / 219
Teflubenzuron	[M+H] ⁺	381 / 158 381 / 141	383 / 158 383 / 141	
	[M+NH ₄] ⁺		398 / 158 398 / 141 400 / 158	400 / 141
Aldicarbulsulfon	[M+NH ₄] ⁺	240 / 86 240 / 148	240 / 166	
Carbaryl	[M+H] ⁺	202 / 145		202 / 127
	[M+NH ₄] ⁺	219 / 145		219 / 127
Oxamyl	[M+NH ₄] ⁺	237 / 72	237 / 90	
	[M+H] ⁺			220 / 72
Alachlor	[M+H] ⁺		270 / 162 270 / 238	270 / 147 270 / 132 270 / 117
	[M+NH ₄] ⁺	287 / 238	287 / 162 287 / 147 287 / 132	287 / 117
Bromacil	[M+H] ⁺	261 / 205 263 / 207		261 / 188 263 / 190 261 / 132 263 / 134
	M+NH ₄] ⁺		280 / 207 278 / 205	
Imidacloprid	[M+H] ⁺	256 / 209 256 / 175	258 / 211 258 / 175	

relative Intensität (rel. Int.) = Intensität bezogen auf den intensivsten Massenübergang der jeweiligen Substanz (rel. Int. abhängig vom Massenspektrometer-Typ, Ermittlung der Daten hauptsächlich mit dem API 3000, z.T. auch mit dem API 2000)

Aufzählung der Massenübergänge, für die die Geräteparameter optimiert wurden, keine vollständige Aufzählung aller messbaren Massenübergänge (u.a. sind die 3. Isotopenpeaks bei Substanzen mit zwei Chloratomen im Molekül (Dichlorvos, Diuron, Teflubenzuron) nicht in dieser Liste berücksichtigt)

** Dichlorvos: für die Messungen mit dem API 2000 wurde 221 / 109 (rel. Int. 100%) verwendet, mit dem API 3000 221 / 127 (rel. Int. 100%) als 1. Massenübergang und 221 / 109 (rel. Int. ca. 60%) als 2. Massenübergang*

Bei der Betrachtung der Massenübergänge fällt auf, dass es innerhalb der untersuchten Substanzgruppe häufig zu Überlappungen von Vorläufer- oder Produkt-Ionen kommt. Teilweise beruhen die Übereinstimmungen auf strukturellen Ähnlichkeiten der Substanzen (z.B. bei den Triazinderivaten und deren Metaboliten), in manchen Fällen sind die Übereinstimmungen zufälliger Natur (z.B. bei Triasulfuron und Teflubenzuron). Bei den für die Messung verwendeten (in Tabelle 5.1 fett markierten) Massenübergängen kommen bis auf vier Ausnahmen keine Überlappungen von Massenübergängen, also von Vorläufer- und Produkt-Ion, vor. (Alle im Massenspektrum deutlich erkennbaren Massenübergänge wurden überprüft, also nicht nur die in Tabelle 5.1 genannten.) Die Ausnahmen sind in Tabelle 5.2 dargestellt.

Tabelle 5.2: Überlappungen von Massenübergängen, die für die Messung verwendet werden, mit Massenübergängen anderer Substanzen

Substanz	Massenübergang	Massenübergang auch bei ...
Propazin	230 / 146	Terbuthylazin (rel. Int. 9%)
Mevinphos	225 / 127	Dichlorvos * (rel. Int. ca. 10% - geschätzt)
Triasulfuron	402 / 141	Teflubenzuron * (rel. Int. ca. 5% - geschätzt)
Oxamyl	237 / 72	Diuron * (rel. Int. ca. 10% - geschätzt)

* Vorläufer-Ionen mit jeweils zwei ³⁷Cl-Atomen (schwere Isotope) im Molekül

Ähnlichkeiten von Massenübergängen, die für die Messung verwendet werden, mit den Massenübergängen anderer Substanzen der untersuchten Gruppe sind in Tabelle 5.3 aufgeführt. Bei den aufgeführten Substanzen unterscheiden sich Vorläufer- oder Produkt-Ion oder beide jeweils um maximal eine Masseneinheit. Ansonsten unterscheiden sich die Massenübergänge innerhalb der untersuchten Substanzgruppe immer um mindestens zwei Masseneinheiten im Vorläufer- oder Produkt-Ion.

Tabelle 5.3: Ähnlichkeiten von Massenübergängen, die für die Messung verwendet werden, mit Massenübergängen anderer Substanzen

Substanz	Massenübergang	ähnlicher Massenübergang auch bei ...
Desethylterbuthylazin	202 / 146	Carbaryl 202 / 145 (rel. Int. 60-100%)
Carbaryl	202 / 145	Desethylterbuthylazin 202 / 246 (rel. Int. 100%)
Parathionethyl	292 / 264	Etrimfos 293 / 265 (rel. Int. 100%)
Etrimfos	293 / 265	Parathionethyl 292 / 264 (rel. Int. 50%)
Fenitrothion	278 / 125	Fenthion 279 / 125 (rel. Int. 25%)
Fenitrothion	278 / 246	Fenthion 279 / 247 (rel. Int. 100%)
Fenthion	279 / 169	Fenitrothion 278 / 169 (rel. Int. 15%)
Fenthion	279 / 247	Fenitrothion 278 / 246 (rel. Int. 50%)

Trotz der genannten Überlappungen und Ähnlichkeiten in den Massenübergängen treten innerhalb der untersuchten Substanzgruppe keine gegenseitigen Störungen auf. Näheres zur experimentellen Überprüfung der Selektivität wird in Abschnitt 6.2.1 beschrieben.

Mevinphos weist eine cis/trans-Isomerie auf. Vom Hersteller des verwendeten Mevinphos-Standards lagen keine Angaben zum Verhältnis der beiden Isomere vor*. Für die Berechnungen wurde daher angenommen, dass die Empfindlichkeit für beide Isomere gleich ist (vergl. Abschnitt 11.4). Diese Annahme ist nicht erfüllt: Die Tendenz zur Bildung von Addukten mit Protonen oder Ammonium-Ionen oder zur Bildung der verschiedenen Fragmente ist bei den beiden Mevinphos-Isomeren unterschiedlich und hängt auch von der Ionisierungsmethode (ESI oder APCI) ab. Deshalb sind die so ermittelten Konzentrationsangaben mit einem systematischen Fehler behaftet. Da in den untersuchten Realproben keine Positivbefunde festgestellt wurden, wurde darauf verzichtet, die Größe dieses Fehlers zu ermitteln. Für die Berechnung von Wiederfindungsraten oder anderen Angaben, die auf Vergleichen beruhen, ist diese Annahme nicht notwendig, daher weisen diese Angaben keine systematischen Fehler auf.

* Der technische Wirkstoff enthält > 60% des (E)-Isomeren und ca. 20% des (Z)-Isomeren [3].

5.3 Optimierung von Parametern für die Ionisierung mit ESI und APCI

Anhand der Messung von Standardlösungen wurden verschiedene Parameter für die Ionisierung mittels ESI und APCI optimiert. Dabei erfolgte die Optimierung hauptsächlich im Hinblick auf die Signalintensität. Bei der Variation der Temperatur der Ionenquelle wurde auch der Einfluss auf das Grundrauschen untersucht. Die Messungen erfolgten hauptsächlich mittels Flüssigchromatographie (LC). Bei der Optimierung des Ionisierungshilfsmittels kam auch die Fließinjektionsanalyse (FIA; Injektionen mit dem LC-System, ohne Trennsäule) zum Einsatz. Es wurden beide Massenspektrometer (API 2000 und API 3000) eingesetzt.

Ein starker Einfluss auf die Signalintensität wurde bei der Optimierung des Ionisierungshilfsmittels, des organischen Eluenten, der Temperatur der Ionenquelle und der Flussrate des Eluats festgestellt. Im Folgenden werden die Ergebnisse der Optimierung dieser Parameter im Einzelnen dargestellt.* Die „Ionspray“-Spannung (IS) bei der ESI-Quelle und der „Nebulizer“-Strom bei der APCI-Quelle („nebulizer current“, NC) hatten keinen oder nur einen geringen Einfluss auf die Signalintensität (getesteter Bereich: 4250 - 4750V bzw. 2 - 5 μ A; siehe Anhang II, Abbildung 12.2 und 12.3). Für das zu entwickelnde Verfahren wurde die „Ionspray“-Spannung auf 4500 V und der „Nebulizer“-Strom auf 3 μ A eingestellt.

5.3.1 Ionisierungshilfsmittel (ESI und APCI)

Für die ESI, und in geringerem Umfang auch für die APCI, wurden verschiedene Ionisierungshilfsmittel (IHM) mit Hilfe der FIA und der LC getestet. Dazu wurden die gängigen IHM Ammoniumacetat, Ameisensäure und Essigsäure bzw. deren Gemische in verschiedenen Konzentrationen eingesetzt.**

In den Abbildungen 5.1 bis 5.4 sind einige Ergebnisse dieser Untersuchungen dargestellt. Weitere Ergebnisse für die ESI befinden sich im Anhang II (Abbildung 12.4 bis 12.6). Bei beiden Ionisierungsmethoden zeigt sich ein starker Einfluss des IHM auf die Signalintensität. Die Eignung der verschiedenen IHM ist stark substanzabhängig. Bei der APCI konnte die Signalintensität für die Mehrzahl der untersuchten Substanzen durch Einsatz eines IHM im Vergleich zu reinem Wasser deutlich erhöht werden (siehe Abbildung 5.2). Für die ESI wurde auch der Einfluss der Konzentration des IHM auf die Signalintensität untersucht (siehe Abbildung 5.3 und Anhang II, Abbildung 12.4 und 12.5). Bei Einsatz von Ammoniumacetat zeigt sich für einige Analyte eine deutliche Erhöhung der Signalintensität mit abnehmender Konzentration des IHM.

* Die Darstellung ist nach thematischen Gesichtspunkten gegliedert, die Reihenfolge der Darstellung stimmt nicht mit der Reihenfolge der Optimierung überein. Um den Überblick zu erleichtern, sind daher die für die jeweiligen Untersuchungen verwendeten experimentellen Parameter zusätzlich zum Abschnitt 11.2.2 auch in den Bildunterschriften dargestellt.

** Die Ionisierungshilfsmittel wurden bei der FIA dem wässrigen Eluenten zugesetzt. Bei der LC wurden die Ionisierungshilfsmittel dem wässrigen und dem organischen Eluenten zugesetzt, damit die Konzentration im Verlauf des Gradienten konstant bleibt. Die Angabe der Konzentrationen bezieht sich jeweils auf das gesamte Lösungsmittelgemisch (Wasser und organisches Lösungsmittel).

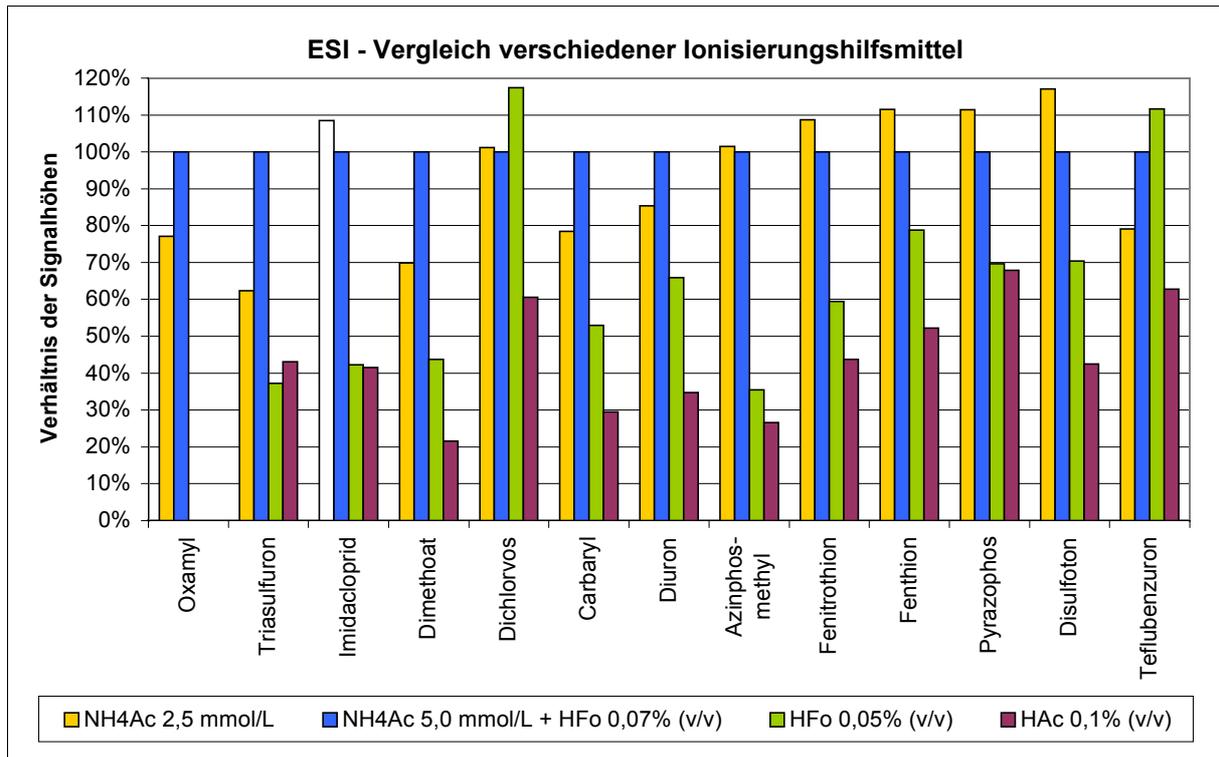


Abbildung 5.1: ESI - Vergleich verschiedener Ionisierungshilfsmittel; Bezugspunkt (100%): NH₄Ac 5,0 mmol/L + HFo 0,07% (v/v); FIA; H₂O/MeOH; Variation IHM; 50% MeOH; 200 µL/min; Ionenquelle 450°C; IS 5500 V; API 2000 (Imidacloprid: Der Wert für Ammoniumacetat erscheint im Vergleich mit den Daten anderer Messreihen unplausibel und kann daher nicht bewertet werden.)

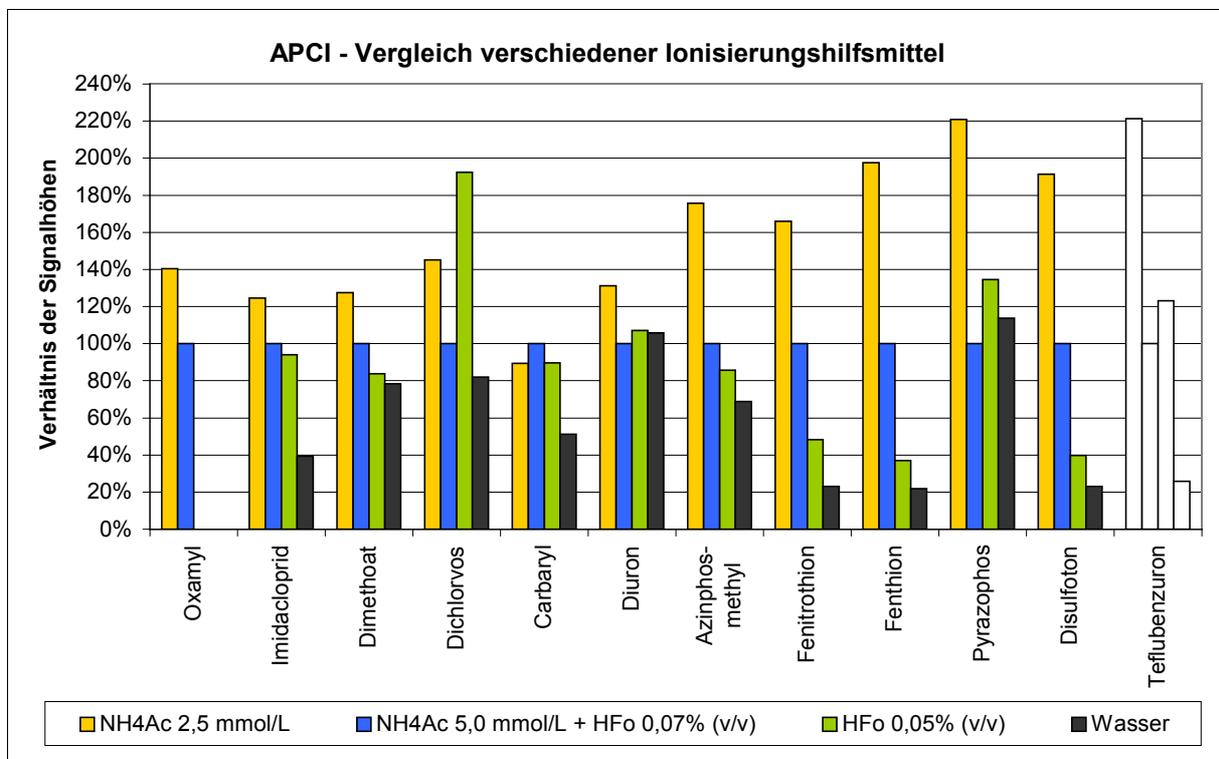


Abbildung 5.2: APCI - Vergleich verschiedener Ionisierungshilfsmittel; Bezugspunkt (100%): NH₄Ac 5,0 mmol/L + HFo 0,07% (v/v); FIA; H₂O/MeOH; Variation IHM; 50% MeOH; 200 µL/min; Ionenquelle 200°C; NC 3µA; API 2000 (Teflubenzuron: Signalintensitäten zu klein für eine zuverlässige Bewertung)

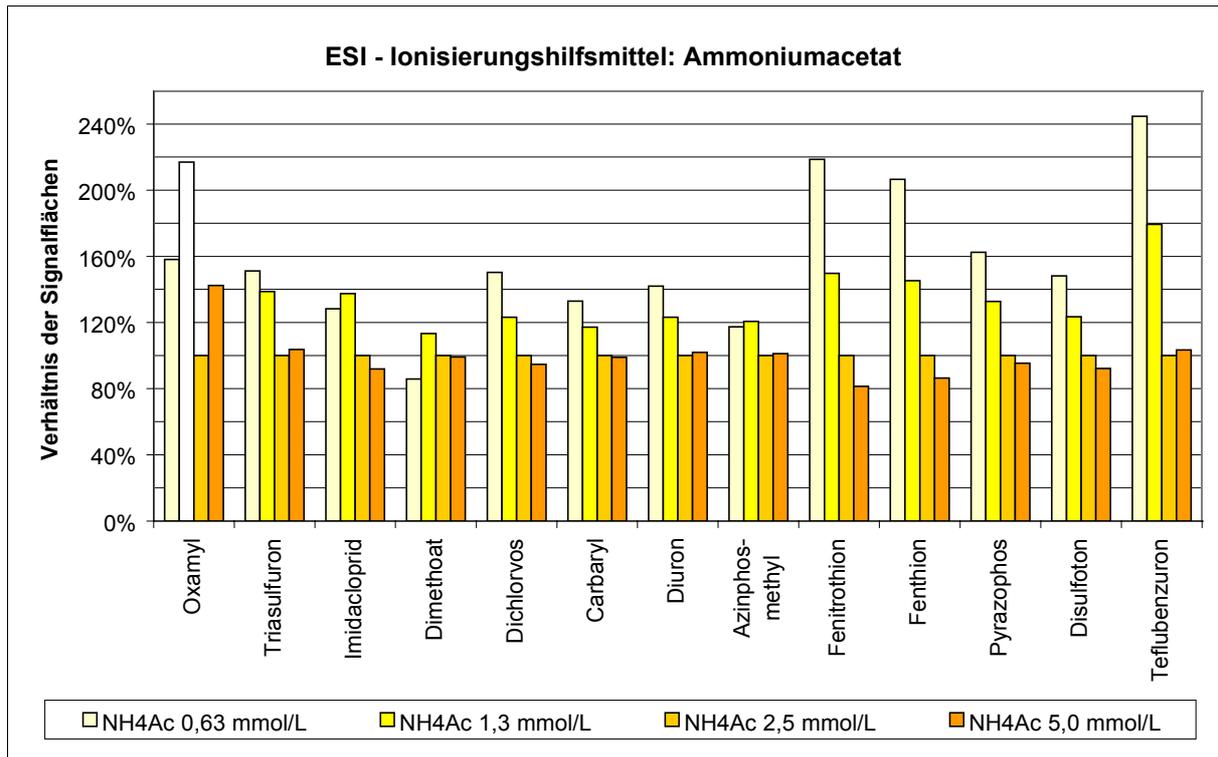


Abbildung 5.3: ESI - Vergleich verschieden konzentrierter Ammoniumacetat-Lösungen als Ionisierungshilfsmittel; Bezugspunkt (100%): NH₄Ac 2,5 mmol/L; LC; H₂O/MeOH; Variation IHM; 30 - 90% MeOH; 200 µL/min; Ionenquelle 450°C; IS 5500 V; API 2000 (Oxamyl - farbloser Balken: Die Abweichungen der beiden Wiederholungsmessungen waren zu groß für eine zuverlässige Bewertung.)

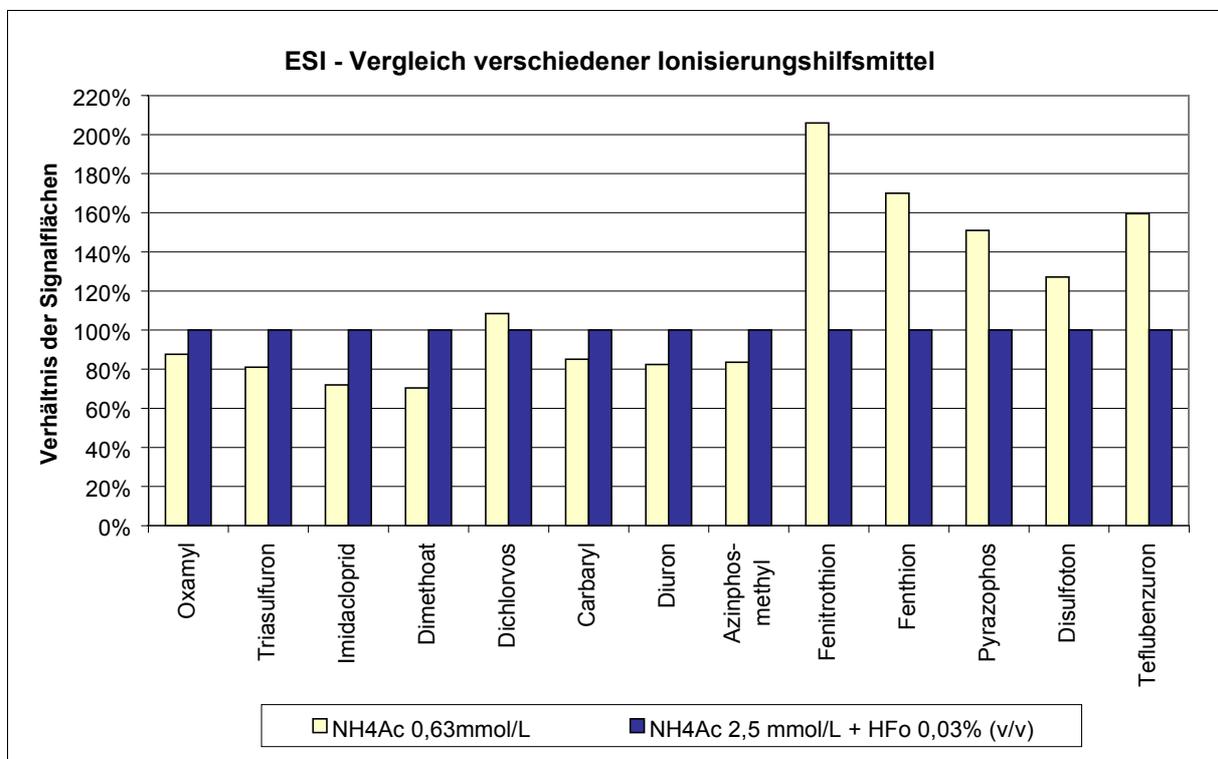


Abbildung 5.4: ESI - Vergleich einer Ammoniumacetat-Lösung und eines Ammoniumacetat-Ameisensäure-Gemisches als Ionisierungshilfsmittel; Bezugspunkt (100%): NH₄Ac + HFO; LC; H₂O/MeOH; Variation IHM; 30 - 90% MeOH; 200 µL/min; Ionenquelle 450°C; IS 5500 V; API 2000

Insgesamt erwies sich Ammoniumacetat als das am besten geeignete IHM. Für das zu entwickelnde Verfahren wurde Ammoniumacetat in einer Konzentration von 0,63 mmol/L für beide Ionisierungsmethoden eingesetzt.

Von einigen Autoren wurde ein starker Einfluss der Konzentration des IHM auf die Matrixeffekte bei der Messung mit ESI festgestellt (vergl. Abschnitt 3.3.4). Daher wurde in einem kurzen Test überprüft, inwieweit sich die Ammoniumacetat-Konzentration auf die Messung einer matrixhaltigen Probe auswirkt. Dazu wurde ein Extrakt von Elbewasser (Festphasen-Extraktion auf C₁₈-modifiziertem Kieselgel, RP-C18) mit einem Standardgemisch aufgestockt und mit der LC-ESI-MS/MS gemessen. Die Signalintensität bei der Messung dieser Probe wurde mit der Signalintensität bei der Messung einer Standardlösung in Abhängigkeit von der Konzentration des Ionisierungshilfsmittels (Ammoniumacetat 0,63 / 1,3 / 2,5 mmol/L) verglichen.*

Die Ergebnisse dieses kurzen, nur auf wenigen Daten beruhenden Tests liefern einen Hinweis darauf, dass die niedrige Ammoniumacetat-Konzentration, die für die weitere Verfahrensentwicklung ausgewählt wurde, keinen nachteiligen Effekt auf die Wiederfindungsrate der Messung hat: Für die meisten Substanzen waren die Wiederfindungsraten der Messung (vergl. Abschnitt 5.1) bei der niedrigsten Ammoniumacetat-Konzentration am höchsten, für einige Substanzen war es auch umgekehrt. Insgesamt betragen die Differenzen bis zu 30%.

* experimentelle Bedingungen: LC; ESI; H₂O/MeOH; Variation IHM; 30 - 90% MeOH; 150 µL/min; Säule 23°C; Ionenquelle 200°C; IS 4500 V; API 3000

5.3.2 Organischer Eluent für die LC (ESI und APCI)

Für beide Ionisierungsmethoden wurde der Einfluss der als Eluenten für die „reversed phase“-LC gängigen Lösungsmittel Methanol und Acetonitril auf die Signalintensität untersucht. In Abbildung 5.5 sind die für die ESI mit zwei verschiedenen Ionisierungshilfsmitteln ermittelten Ergebnisse dargestellt. Mit Acetonitril ist die Signalintensität für die Mehrzahl der untersuchten Substanzen wesentlich niedriger als mit Methanol. Auch für die APCI wurde eine wesentlich schlechtere Eignung von Acetonitril für die Ionisierung festgestellt (FIA, API 2000, IHM Ammoniumacetat 5 mmol/L, Ergebnisse nicht im Einzelnen dargestellt.) Für die weitere Verfahrensentwicklung wurde Methanol als Eluent für die LC eingesetzt.

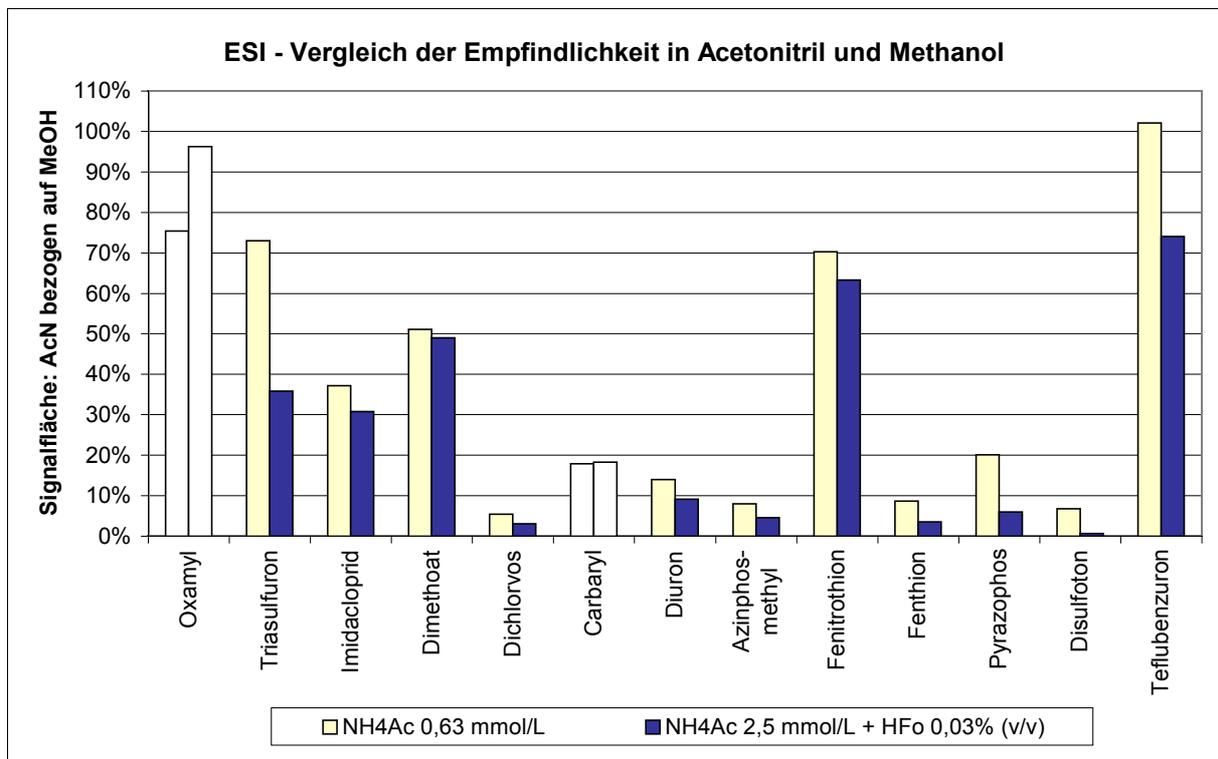


Abbildung 5.5: ESI - Vergleich der Signalintensität mit Acetonitril und Methanol als organischem Eluent für verschiedene Ionisierungshilfsmittel; LC; H₂O/org. LM; Variation IHM; 20 - 90% org. LM; 150 µL/min; Säule 30°C; Ionenquelle 225°C; IS 4500 V; API 3000 (Oxamyl, Carbaryl: Die Abweichungen der beiden Wiederholungsmessungen waren zu groß für eine zuverlässige Bewertung.)

5.3.3 Temperatur der Ionenquelle (ESI und APCI)

Mit Hilfe der LC wurde der Einfluss der Temperatur* der Ionenquelle (d.h. der Temperatur des „Turbo“-Gases bei der ESI-Quelle und der Temperatur des beheizten Quarzrohrs bei der APCI-Quelle) auf die Signalintensität untersucht. Da die Nachweisstärke einer Messmethode nicht allein von der Signalintensität, sondern vom Signal-Rausch-Verhältnis bestimmt wird, und die Temperatur der Ionenquelle einen starken Einfluss auf das Grundrauschen hat, wurde auch der Einfluss auf das Signal-Rausch-Verhältnis untersucht.

In den Abbildungen 5.6 und 5.7 sind die Signalintensitäten** in Abhängigkeit von der Temperatur dargestellt. Der Einfluss der Temperatur ist bei beiden Ionenquellen substanzabhängig. Bei der ESI-Quelle zeigte sich für viele Substanzen, vor allem für die früher-eluierenden, ein deutlicher Anstieg der Signalintensität mit zunehmender Temperatur, was wahrscheinlich auf eine bessere Trocknung des Sprays und die damit verbundene Erhöhung der Ionenausbeute zurückzuführen ist. Im Gegensatz dazu trat bei der APCI-Quelle für viele Substanzen eine deutliche Abnahme der Signalintensität mit zunehmender Temperatur auf. Wahrscheinlich kommt es zu einer Zersetzung der Analyte bei höheren Temperaturen, was sich bei der APCI-Quelle aufgrund der stärkeren thermischen Belastung deutlicher bemerkbar macht als bei der ESI-Quelle.

Das Grundrauschen wurde aus der grob geschätzten Schwankungsbreite des Untergrundsignals ermittelt. Bei beiden Ionenquellen nahm das Grundrauschen mit zunehmender Temperatur zu, für einen Teil der Substanzen blieb es ab 200 / 225°C etwa konstant. Insgesamt war das Signal-Rausch-Verhältnis für die Mehrzahl der Substanzen bei niedrigen Temperaturen höher oder etwa unabhängig von der Temperatur. Nur in Einzelfällen wurde mit höheren Temperaturen ein höheres Signal-Rausch-Verhältnis erreicht.

Die Temperatur der Ionenquelle kann im Laufe einer Messung nicht schnell geändert werden, da einige Zeit für die Gleichgewichtseinstellung erforderlich ist. Daher muss ein Kompromiss-Wert gefunden werden, der für alle Substanzen geeignet ist. Für das zu entwickelnde Analysenverfahren wurde bei beiden Ionenquellen eine Temperatur von 225°C ausgewählt.

* Die angegebenen Temperaturen sind die in der Software eingestellten Werte, sie entsprechen nicht unbedingt der letztendlich auf das Spray einwirkenden Temperatur.

** Im Gegensatz zu anderen LC-Messungen sind für die APCI in diesem Fall die Signalhöhen anstelle der Signalflächen dargestellt, da bei tieferen Temperaturen (hier hauptsächlich bei 175°C) ein stärkeres Tailing der Peaks auftritt.

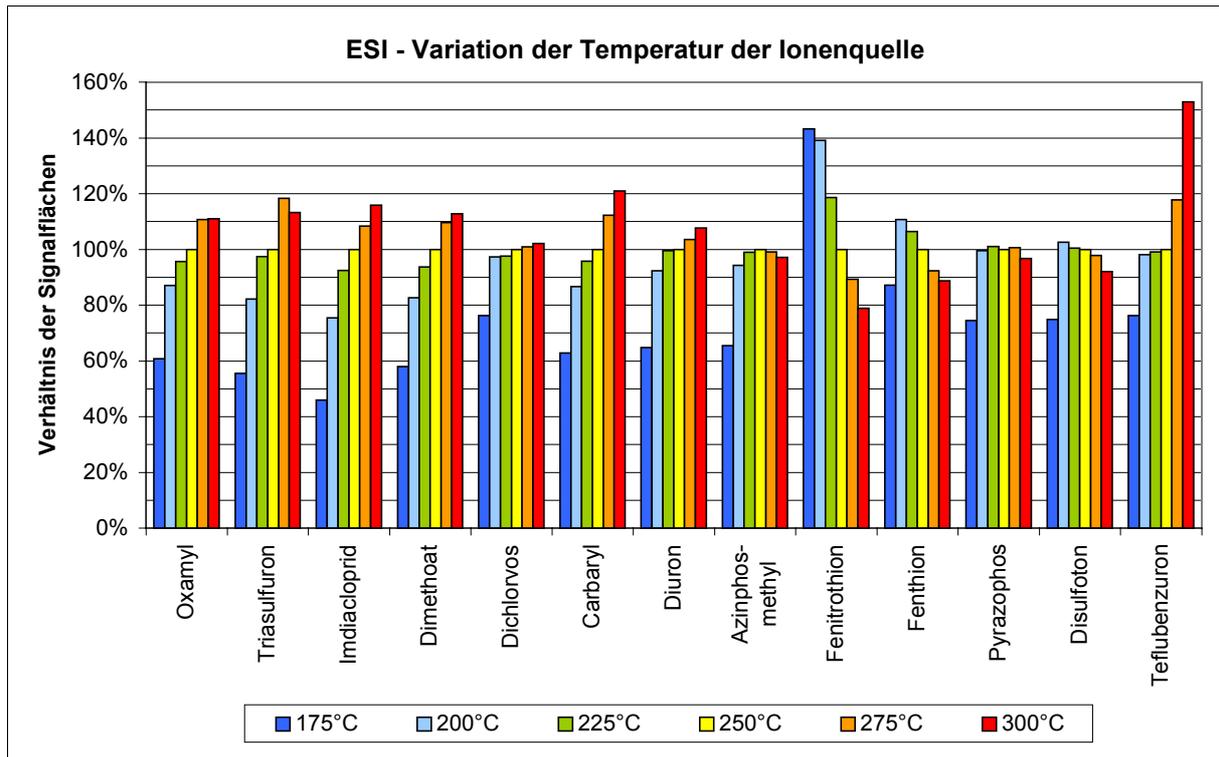


Abbildung 5.6: ESI - Vergleich der Signalintensität bei verschiedenen Temperaturen der Ionenquelle (= Temperatur des „Turbo“-Gases); Bezugspunkt (100%): 250°C; LC; H₂O/MeOH; NH₄Ac 0,63 mmol/L; 30 - 90% MeOH; 150 µL/min; Säule 23°C; Ionenquelle Variation; IS 4500 V; API 3000

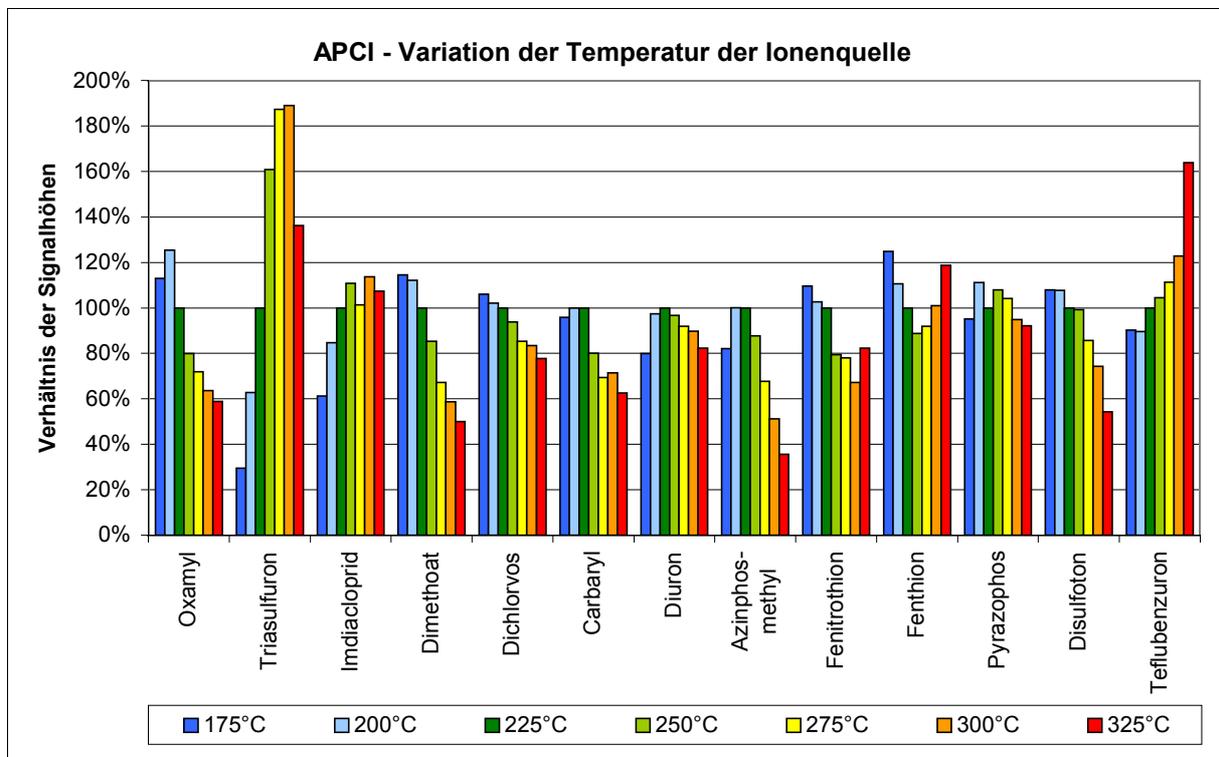


Abbildung 5.7: APCI - Vergleich der Signalintensität bei verschiedenen Temperaturen der Ionenquelle (= Temperatur des beheizten Quarzrohres); Bezugspunkt (100%): 225°C; LC; H₂O/MeOH; NH₄Ac 0,63 mmol/L; 30 - 90% MeOH; 150 µL/min; Säule 23°C; Ionenquelle Variation; NC 3 µA; API 3000

5.3.4 Flussrate des Eluats (ESI)

Anhand von flüssigchromatographischen Untersuchungen wurde der Einfluss der Flussrate auf die Signalintensität bei der Messung mit ESI untersucht.

Der Einfluss der Flussraten auf die Auflösung der chromatographischen Trennung war in dem getesteten Bereich von 150 bis 250 $\mu\text{L}/\text{min}$ gering, die Auflösungen blieben etwa gleich. Mit abnehmender Flussrate trat für die meisten Substanzen eine Peakverbreiterung auf, beim Wechsel von 200 zu 150 $\mu\text{L}/\text{min}$ nahmen die Halbwertsbreiten der Peaks etwa um 10 - 20% zu.

In Abbildung 5.8 sind die Signalfächen in Abhängigkeit von der Flussrate dargestellt. Die Signalfächen nahmen bei allen Substanzen mit zunehmender Flussrate ab. D.h. die Signalintensität ist nicht proportional zur pro Zeiteinheit in die Ionenquelle gelangenden Masse des Analyten, sondern die Effizienz der Ionisierung nimmt mit zunehmender Flussrate ab, wie bereits in Abschnitt 3.3.4 beschrieben, wobei das Ausmaß der Abnahme deutlich von den Substanzen abhängt.

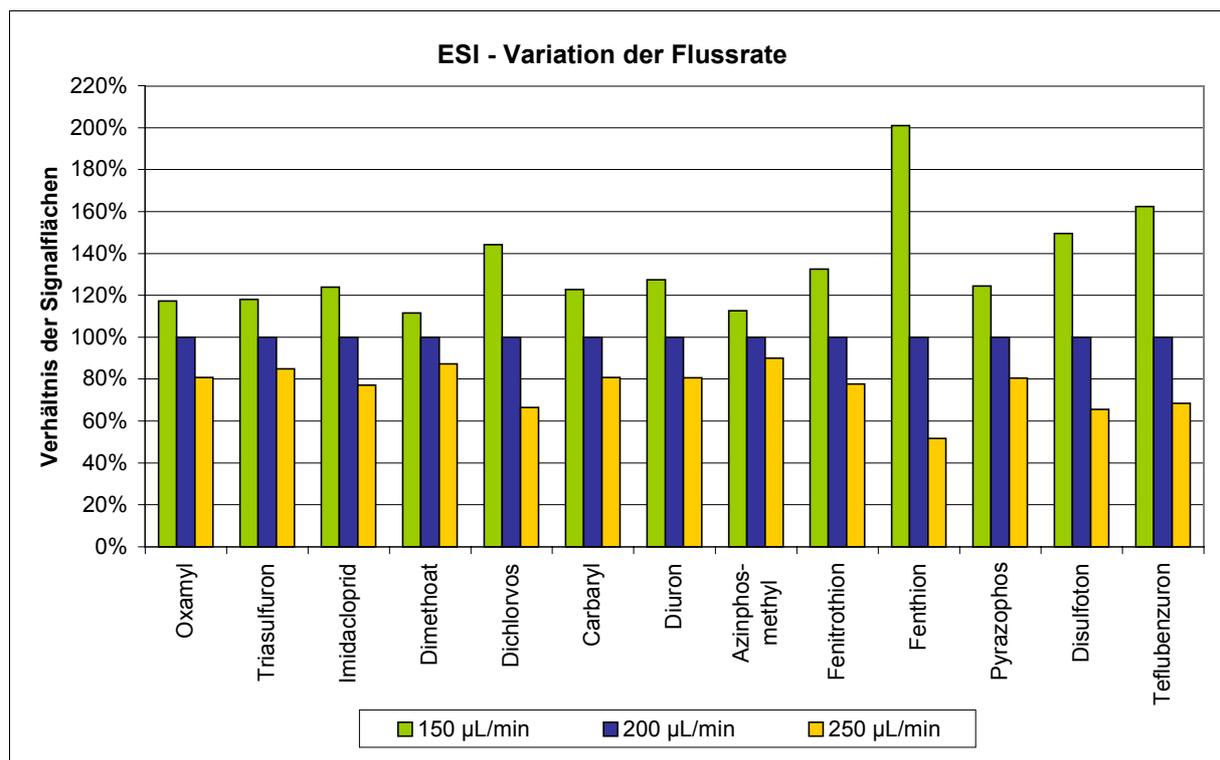


Abbildung 5.8: ESI - Vergleich der Signalintensität bei verschiedenen Flussraten des Eluats; Bezugspunkt (100%): 200 $\mu\text{L}/\text{min}$; LC; $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$; NH_4Ac 0,63 mmol/L; 30 - 90% MeOH; 150 $\mu\text{L}/\text{min}$; Ionenquelle 450°C; IS 5500 V; API 2000

Ähnliche Beobachtungen wurden bereits von Asperger et al. [94] bei der systematischen Untersuchung der Abhängigkeit der Signalintensität von der Flussrate mit Hilfe der FIA gemacht. Für einige Substanzen wurde sowohl bei der ESI- als auch bei der APCI-Quelle eine starke Abnahme der Signalintensität beobachtet, die von den Autoren für beide Ionenquellen mit einer abnehmenden Effizienz der Ionisierung mit zunehmender Flussrate erklärt wurde. Wie bei den oben beschriebenen Ergebnissen trat dieser Effekt eher bei Substanzen geringerer Polarität auf; die Autoren konnten aber keine eindeutige Korrelation mit dem Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten K_{ow} (bzw. $\log K_{ow}$) feststellen.

Aufgrund der höheren Signalintensität wurde für das zu entwickelnde Verfahren eine Flussrate von 150 $\mu\text{L}/\text{min}$ gewählt. Für die APCI wurde die gleiche Einstellung verwendet, um die beiden Ionisierungsmethoden mit einheitlichen Bedingungen für die LC vergleichen zu können.

5.4 Auswahl der Ionisierungsmethode (ESI oder APCI)

Für die Auswahl der Ionisierungsmethode wurden die ESI und die APCI bezüglich der Empfindlichkeit der Messung von Standardsubstanzen und bezüglich des Ausmaßes von Matrixeffekten bei der Messung von Realproben verglichen. Die Messungen wurden mit den im Abschnitt 5.3 optimierten Bedingungen durchgeführt.

5.4.1 Empfindlichkeit der Messung

In Tabelle 5.4 ist ein Vergleich der Empfindlichkeit* der Messung mit ESI und APCI für die gesamte Substanzgruppe dargestellt. Der Vergleich wurde anhand von Kalibrierungen mit Standardsubstanzen durchgeführt, die dargestellten Ergebnisse wurden aus den Steigungen der Kalibriergeraden jeweils zweier Messreihen berechnet.

Tabelle 5.4: Vergleich der Empfindlichkeit der Messung mit ESI und APCI (ermittelt aus den Steigungen von Kalibriergeraden mit Standards in reinem Lösungsmittel, jeweils zwei Messreihen)

	Empfindlichkeit ESI : APCI		Empfindlichkeit ESI : APCI
<u>Triazinderivate und deren Metabolite</u>			
Atrazin	2	Irgarol	6
Desethylatrazin	1,4	Propazin	2
Desethylterbuthylazin	1,5	Terbuthylazin	2
Desisopropylatrazin	0,7		
<u>Phosphorsäureester</u>			
Azinphos-methyl	5	Fenitrothion	18
Diazinon	4	Mevinphos (Summe)	6
Dichlorvos	2	Parathion-ethyl	23
Dimethoat	1,7	Parathion-methyl	13
Etrimfos	3	Pyrazophos	5
<u>Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige</u>			
Diuron	2	Oxamyl	4
Teflubenzuron	6	Alachlor	14
Triasulfuron	20	Bromacil	2
Aldicarb-sulfon	2	Imidacloprid	1,2
Carbaryl	4		

Kalibrierung anhand der Signalfächen

LC; H₂O/MeOH; NH₄Ac 0,63 mmol/L; 20 - 90% MeOH; 150 µL/min; Ionenquelle (beide) 225°C; IS 4500 V bzw. NC 3 µA; API 3000 (optimiertes Verfahren)

* Definition „Empfindlichkeit“: Steigung der Kalibriergeraden

Insgesamt war für fast alle Substanzen die Empfindlichkeit der Messung mit ESI höher, wobei die Unterschiede zur APCI sehr verschieden waren: Für einige Substanzen waren die Empfindlichkeitsunterschiede nur gering, für andere Substanzen war die Messung mit ESI etwa um einen Faktor 20 empfindlicher als mit APCI*.

Bei einer von Thurman et al. [95] beschriebenen systematischen Untersuchung der Eignung der beiden Ionenquellen für die Analyse zahlreicher Pestizide erwies sich z.B. für Phenylharnstoffe und Triazinderivate die APCI im Allgemeinen als die empfindlichere Ionisierungsmethode. Dieser scheinbare Gegensatz zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zeigt, dass die Ergebnisse eines derartigen Vergleiches stark von den Messbedingungen (z.B. Zusammensetzung und Flussrate der Lösung, Temperatur der Ionenquellen) abhängen. In der zitierten Arbeit wurden mit anderen Geräten und anderen Messbedingungen gearbeitet, wobei wahrscheinlich insbesondere die verwendete Flussrate von 300 bis 400 $\mu\text{L}/\text{min}$ eine wichtige Rolle spielt.

Zur Bewertung der Nachweisstärke anhand des Signal-Rausch-Verhältnisses wurde das Grundrauschen für die beiden Ionenquellen verglichen. Bei der Betrachtung mehrerer Messungen verschiedener Messreihen zeigte sich, dass das Grundrauschen für beide Ionenquellen etwa gleich groß war. Das Ausmaß des Grundrauschens schwankte in den betrachteten Messungen deutlich, was zeigt, dass dieses nicht so stark von der Wahl der Ionenquelle als vielmehr von anderen Faktoren abhängt; z.B. vom Kontaminations- und Wartungszustand des Geräts und der Ionenquellen. Daher erfolgte die Bewertung der Eignung der beiden Ionenquellen für das zu entwickelnde Verfahren nur anhand der Empfindlichkeit.

Aufgrund der höheren Empfindlichkeit wurde für die weitere Verfahrensentwicklung die ESI ausgewählt. Die APCI wurde zu Vergleichszwecken und zur Absicherung von Daten (siehe Abschnitt 7.5.2) eingesetzt.

5.4.2 Effekte der Probenmatrix bei der Messung

Anhand von Extrakten von reinen Wasserproben und von Wasserproben aus der Elbe wurde das Ausmaß von Matrixeffekten bei der Messung mit ESI und mit APCI verglichen (experimentelle Bedingungen siehe Abschnitt 11.1.2 und 11.2.2.8). Dazu wurden für die kleine Substanzgruppe die Wiederfindungsraten der Messung ermittelt (siehe Abschnitt 5.1).

In Abbildung 5.9 sind die Ergebnisse dargestellt. Bei der ESI traten vor allem bei der Messung der Elbe-Wasserproben, aber auch bei der Messung der reinen Wasserproben deutliche signalunterdrückende Matrixeffekte auf. Die Matrixeffekte bei der Messung von reinen Wasserproben sind wahrscheinlich auf die Elution von störenden Substanzen aus

* Die Empfindlichkeit der Messung mit den beiden Ionenquellen hängt neben den jeweiligen Einstellungen der Ionenquellen auch vom Wartungszustand der Ionenquellen ab. Daher können die Ergebnisse eines Vergleiches für andere Messreihen von den Werten in Tabelle 5.4 etwas abweichen.

dem Anreicherungsmaterial zurückzuführen (vergl. Abschnitt 5.5.2). Dagegen lagen die Wiederfindungsraten der Messung bei der APCI für die Mehrzahl der Substanzen über 100%. Insbesondere bei der Messung von Elbe-Wasserproben traten bei der APCI für einige Substanzen deutliche signalverstärkende Matrixeffekte auf. Insgesamt war in dieser Untersuchung das Ausmaß der Matrixeffekte (Abweichung der Wiederfindungsrate der Messung von 100%) mit der APCI für die meisten Substanzen deutlich kleiner als mit der ESI.

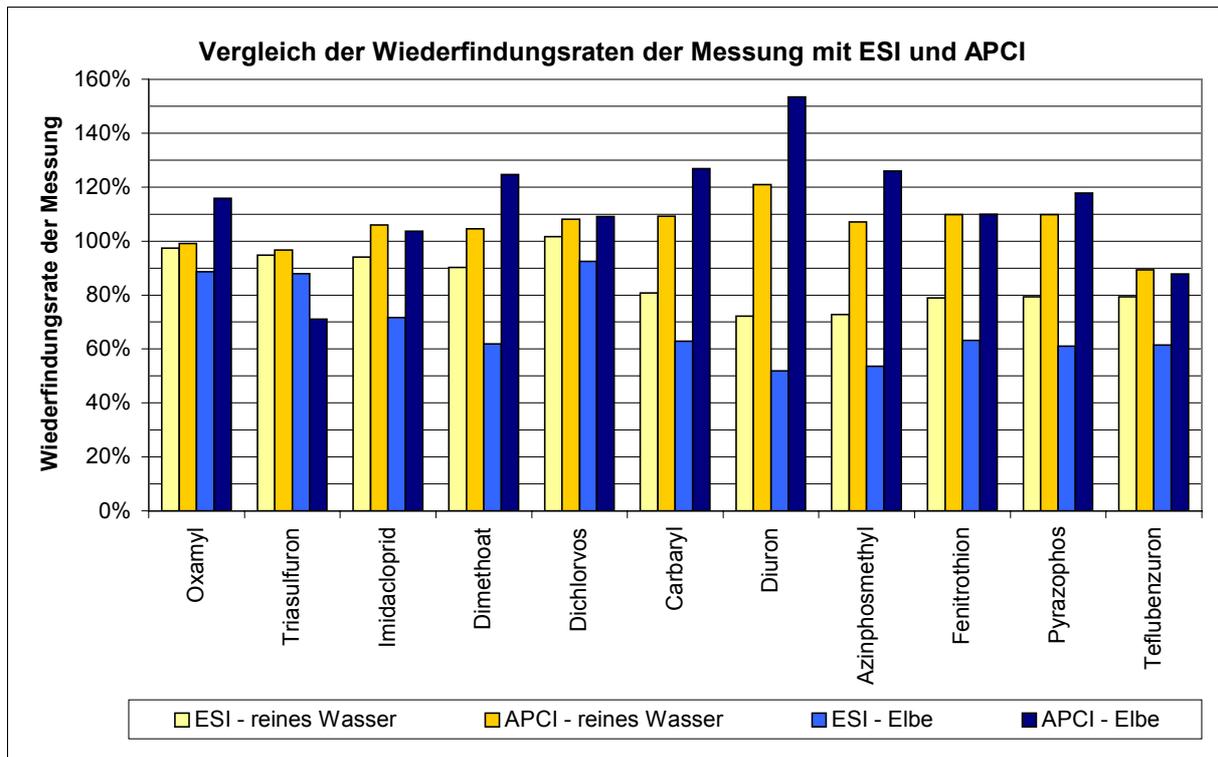


Abbildung 5.9: Vergleich der Wiederfindungsraten der Messung mit ESI und APCI für reine Wasserproben und Wasserproben aus der Elbe; Serie VII; LC; H₂O/MeOH; NH₄Ac 0,63 mmol/L; 20 - 90% MeOH; 150 µL/min; Ionenquelle (beide) 225°C; IS 4500 V bzw. NC 3 µA; API 3000

Die ESI bietet den Vorteil der höheren Empfindlichkeit für die Mehrzahl der Analyte, dagegen hat die APCI den Vorteil des geringeren Ausmaßes der Matrixeffekte bei der Messung. Dieser Vorteil der APCI wird allerdings eingeschränkt durch die Notwendigkeit, trotzdem auch für die APCI ebenso wie für die ESI das Ausmaß entsprechender Matrixeffekte zu überprüfen und zu kontrollieren. Daher wurde die im vorherigen Abschnitt getroffene Entscheidung zugunsten der ESI für die weitere Verfahrensentwicklung beibehalten.

5.5 Anreicherungs- und Gesamtverfahren

Für die Anreicherung der Analyte aus wässrigen Matrices wurde ein etabliertes Verfahren verwendet, das für die Bestimmung von Pestiziden mittels LC-UV entwickelt wurde [96]. Bei diesem Verfahren wird ein C₁₈-modifiziertes Kieselgel (RP-C18-Material) in selbstgepackten Glassäulen für die Festphasen-Extraktion eingesetzt. Das RP-C18-Material ist nicht „end-capped“ und daher auch für die Anreicherung polarer Substanzen geeignet (vergl. Abschnitt 3.3.2). Die Elution erfolgt mit Acetonitril. Bei einem ersten Eignungstest waren die Ergebnisse nicht befriedigend, insbesondere bezüglich der Matrixeffekte bei der LC-MS/MS-Messung. Daher wurden verschiedene Versuche zur Optimierung des Anreicherungs- und des Gesamtverfahrens durchgeführt, die in diesem Abschnitt beschrieben werden.* Zur Unterscheidung des Einflusses der während der Optimierungsversuche veränderten Parameter auf die Vorgänge bei der Anreicherung und der LC-MS/MS-Messung wurden sowohl für das Gesamtverfahren, als auch für einzelne Verfahrensschritte Wiederfindungsraten ermittelt (vergl. Abschnitt 5.1).

Die in diesem Kapitel beschriebenen Untersuchungen wurden mit der für die Verfahrensentwicklung ausgewählten kleinen Substanzgruppe durchgeführt. Fenthion und Disulfoton wurden aus dieser Gruppe herausgenommen, da sie bei den ersten Anreicherungsversuchen nur sehr niedrige Wiederfindungsraten aufwiesen. Alle in diesem Abschnitt beschriebenen Messungen wurden mit der ESI gemacht. Bei allen Anreicherungsversuchen wurden zwei, teilweise auch drei, Parallelproben aufgearbeitet.

5.5.1 Vergleich verschiedener Anreicherungsmaterialien

Im Rahmen der Verfahrensentwicklung wurden zwei Styrol-Divinylbenzyl-Copolymere (SDB-Polymere: LiChrolut EN der Firma Merck und HR-P der Firma Macherey & Nagel) für die Anreicherung getestet und mit dem RP-C18-Material** (PolarPlus der Firma Baker) verglichen. In einer ersten Versuchsreihe wurden alle drei Materialien mit Acetonitril als Elutionsmittel eingesetzt. Für eine zweite Untersuchung wurde HR-P eingesetzt, die Elution erfolgte sequentiell mit Methanol, Aceton und Dichlormethan. Als Probenmaterial wurde für alle Versuche reines Wasser verwendet. Entsprechend der in Abschnitt 5.1 beschriebenen Vorgehensweise wurden die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens, der Anreicherung und der Messung bestimmt. Es wurden jeweils zwei Parallelproben aufgearbeitet. (Experimentelle Bedingungen siehe Abschnitt 11.1.2 und 11.2.2.8)

* Die Darstellung in diesem Kapitel ist nach thematischen Gesichtspunkten gegliedert, die Reihenfolge der Darstellung stimmt nicht mit der Reihenfolge der durchgeführten Untersuchungen überein (vergl. Abschnitt 11.1.2, Tabelle 11.1).

** Das RP-C18-Material wurde entsprechend Abschnitt 5.5.2 mit Methanol und Acetonitril vorgereinigt.

In Abbildung 5.10 sind die Wiederfindungsraten der Anreicherung dargestellt. Bei der ersten Versuchsreihe wurden mit dem RP-C18-Material die höchsten Wiederfindungsraten erzielt. Die Unterschiede zu den Polymermaterialien waren z.T. sehr deutlich, vor allem bei den früher-eluierenden Substanzen. Von den beiden Polymermaterialien wies HR-P die höheren Wiederfindungsraten auf. In der zweiten Untersuchung waren die Wiederfindungsraten für die meisten im ersten Teil des Chromatogramms eluierenden Substanzen deutlich höher. Trotz dieser Verbesserung lagen die Wiederfindungsraten für die Mehrzahl der Substanzen immer noch unter denen mit dem RP-C18-Material.

Die Wiederfindungsraten der Messung und die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens können für die beiden Versuchsreihen nur bedingt miteinander verglichen werden, da aufgrund von technischen Problemen die Einstellungen des „Turbo“-Gases bei der ESI-Quelle während der Messung der ersten Versuchsreihe nicht den Standardeinstellungen entsprachen (siehe Abschnitt 11.2.2.8). Insgesamt lagen die Wiederfindungsraten der Messung mit dem RP-C18-Material in dieser Messung niedriger als bei vergleichbaren Messungen. Ob dies allein auf die veränderten Messbedingungen zurückzuführen ist, blieb ungeklärt. Trotz dieser Einschränkung kann ein Vergleich der beiden Versuchsreihen interessante Hinweise liefern.

Die Wiederfindungsraten der Messung (nicht abgebildet) lagen in der ersten Untersuchung für das RP-C18-Material häufig deutlich niedriger als die für die Polymermaterialien. Bei der zweiten Versuchsreihe lagen die Wiederfindungsraten bei HR-P für die früher-eluierenden Substanzen deutlich niedriger als in der ersten Untersuchung. Bezogen auf die Wiederfindungsraten beim RP-C18-Material lagen die Werte für HR-P in der zweiten Untersuchung zwischen 60 und 140%.

In Abbildung 5.11 sind die Wiederfindungsraten für das Gesamtverfahren dargestellt. Mit dem RP-C18-Material wurden für fast alle Substanzen die höchsten oder etwa gleich hohe Wiederfindungsraten erzielt wie mit den beiden anderen Materialien. Trotz der teilweise niedrigeren Wiederfindungsraten der Messung ist das RP-C18-Material also insgesamt aufgrund der höheren Wiederfindungsraten der Anreicherung am besten geeignet. Der Vergleich der Abweichungen zweier parallel aufgearbeiteter Proben zeigte ebenfalls die bessere Eignung des RP-C18-Materials; die Abweichungen vom gemeinsamen Mittelwert lagen beim RP-C18-Material bei maximal 8%.

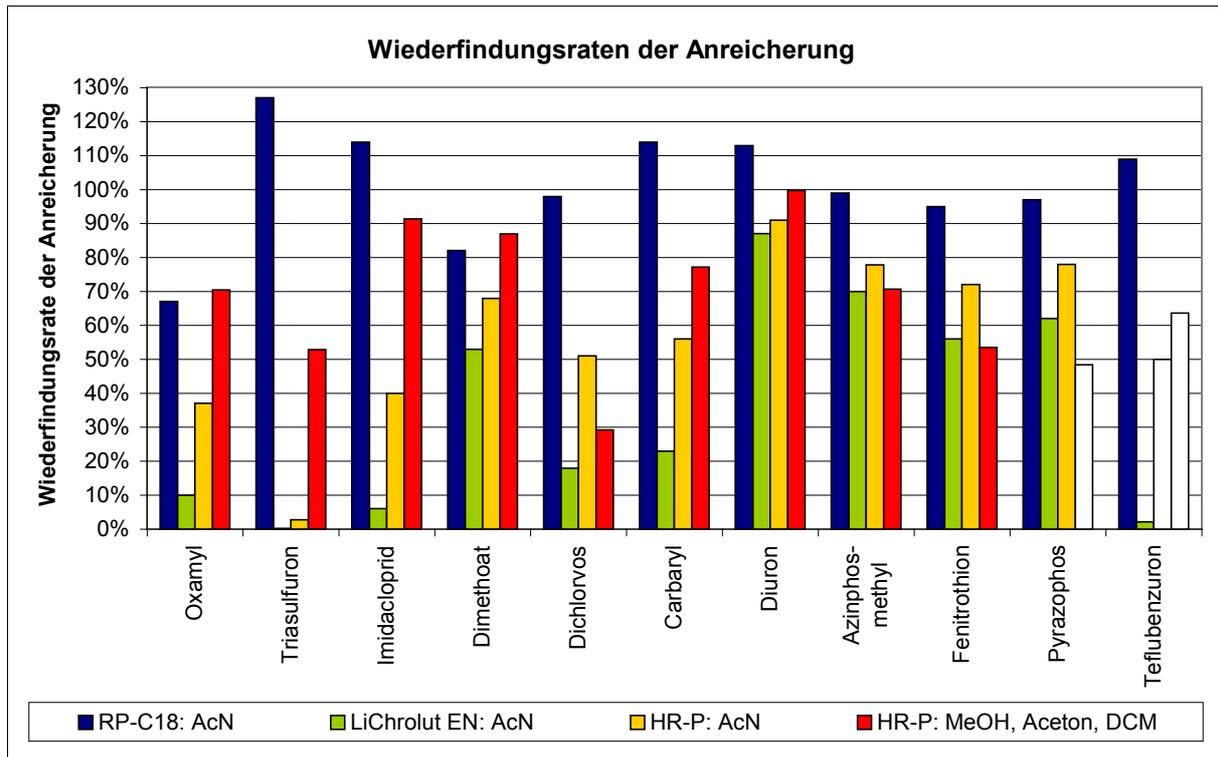


Abbildung 5.10: Wiederfindungsraten der Anreicherung für verschiedene Anreicherungsmaterialien (RP-C18-Material und SDB-Polymere; Probenmaterial: reines Wasser, $n = 2$; Serien IV und V)

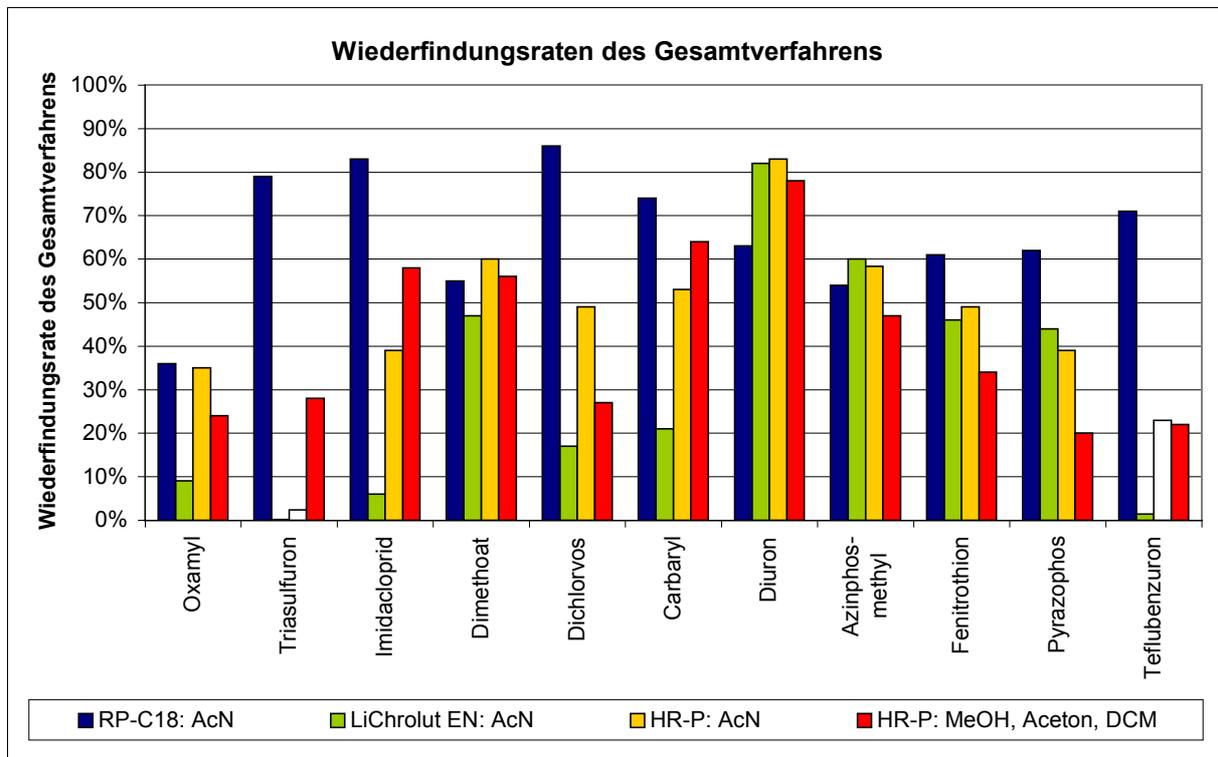


Abbildung 5.11: Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für verschiedene Anreicherungsmaterialien (RP-C18-Material und SDB-Polymere; Probenmaterial: reines Wasser; $n = 2$; Serien IV und V)

1. Versuchsreihe: Elution mit Acetonitril (AcN), 2. Versuchsreihe: sequentielle Elution mit Methanol, Aceton und Dichlormethan (MeOH, Aceton, DCM)

(Pyrazophos und Teflubenzuron: Die farblos dargestellten Balken können aufgrund der starken Abweichungen der beiden Parallelproben nicht bewertet werden.)

5.5.2 Modifikationen des Verfahrens

Im Laufe der Verfahrensentwicklung wurde das ursprüngliche Verfahren mit Anreicherung auf RP-C18-Material variiert mit dem Ziel, die die LC-MS/MS-Messung störenden Matrixeinfüsse zu minimieren und dadurch die Wiederfindungsraten der Messung des Verfahrens zu verbessern. Im Folgenden werden die Modifikationen und deren Auswirkungen auf die Wiederfindungsraten beschrieben und kurz diskutiert. In Abschnitt 11.1.2 befindet sich eine Tabelle mit einem Überblick über die Serien und die jeweils veränderten Bedingungen. Im Anhang III sind Abbildungen mit den ausführlichen Ergebnissen (Wiederfindungsraten) der Serien dargestellt.

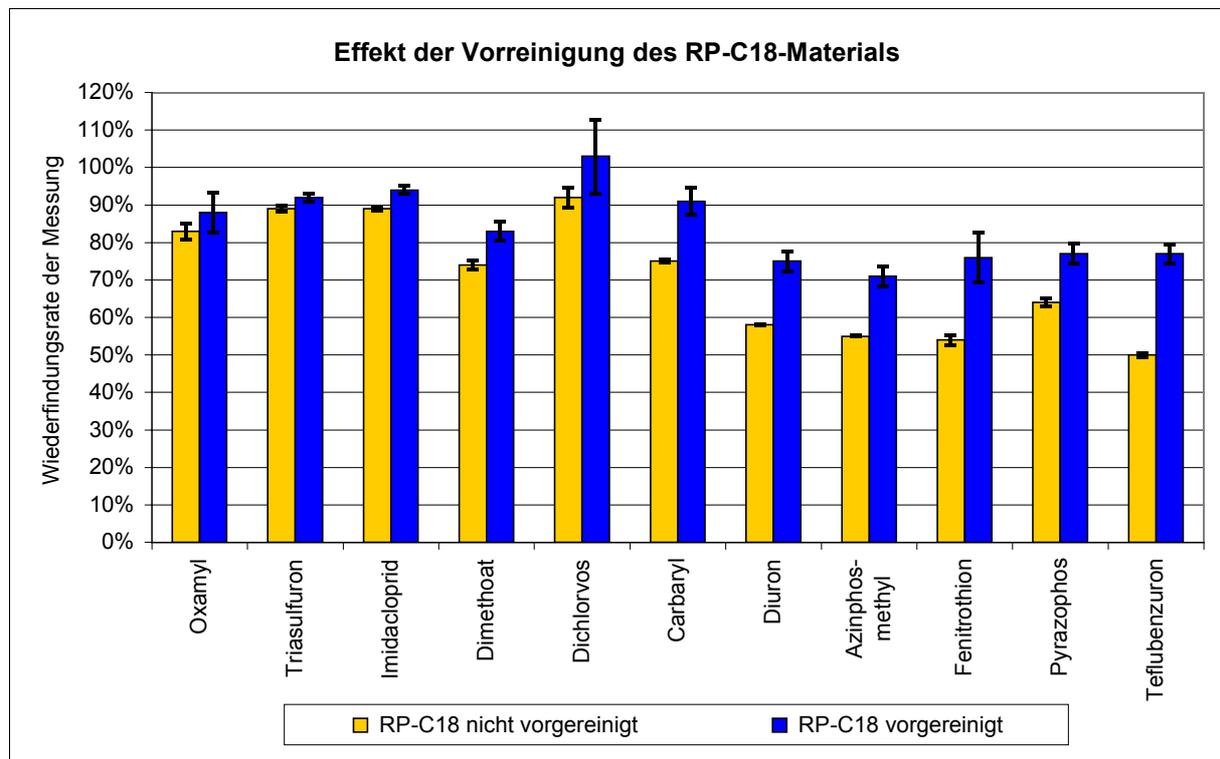


Abbildung 5.12: Wiederfindungsraten der Messung für reine Wasserproben mit unbehandeltem und vorgereinigtem RP-C18-Material (Serie III, LC-Gradient 1, inj. Aliquot entspr. 50 mL Wasserprobe; vergl. Abschnitt 11.1.2 und 11.2.2.8) (Fehlerbalken: minimaler und maximaler Wert, $n = 2$)

Da der Verdacht bestand, dass aus dem zur Anreicherung verwendeten RP-C18-Material störende Substanzen eluieren [97, 22], wurde ein Vergleich zwischen dem unbehandeltem Material und einem vorgereinigtem Material durchgeführt. Dazu wurde das Material direkt vor der Verwendung mit Methanol und Acetonitril gewaschen. Als Probe wurde reines Wasser verwendet. Entsprechend Abschnitt 5.1 wurden die Wiederfindungsraten der Messung ermittelt (Abbildung 5.12). Durch die Vorreinigung ergab sich für die meisten Substanzen eine Verringerung des signalunterdrückenden Matrixeffekts bei der Messung. Bei den früh-eluierenden Substanzen war der Effekt der Vorreinigung gering, mit zunehmender Retentionszeit nahm die Verbesserung der Wiederfindungsraten durch die Vorreinigung deutlich

zu, sie lag zwischen 10 und 50% (bezogen auf die Wiederfindungsraten mit dem nicht-vorgereinigtem Material). Die Substanzen, bei denen der Effekt der Vorreinigung deutlicher ausgeprägt war, wiesen meist insgesamt niedrigere Wiederfindungsraten der Messung auf. Anscheinend gelangen trotz der deutlichen Verbesserung durch die Vorreinigung immer noch störende Substanzen aus dem RP-C18-Material in den Extrakt, die in der LC gemeinsam mit den unpolaren Substanzen eluiert werden (siehe Anhang III, Abbildung 12.13).

Die Empfindlichkeit der LC-MS/MS-Messung war für fast alle untersuchten Substanzen (kleine Substanzgruppe) so hoch, dass der bisher verwendete hohe Anreicherungsfaktor von 5000 nicht notwendig war, um die angestrebten Nachweisgrenzen zu erreichen. Daher wurde der Extrakt aus der Festphasenanreicherung weniger stark eingeeengt, so dass das injizierte Aliquot des Extrakts nur noch 10 mL der ursprünglichen Wasserprobe anstelle 50 mL entsprach. Dadurch werden weniger störende Probenbestandteile injiziert, was zu einer Verringerung der Matrixeinflüsse bei der Messung und damit zu einer Verbesserung der Wiederfindungsraten der Messung führen sollte.

Eine gute chromatographische Trennung ist aus zwei Gründen wichtig. Einerseits stellt die Retentionszeit ein wichtiges Identifizierungskriterium dar (siehe Abschnitt 6.2). Andererseits wird durch eine gute Auftrennung der Anteil der pro Zeiteinheit eluierenden Probenmatrix und damit der störende Einfluss der Matrix auf die Messung verringert. Die meisten der untersuchten Substanzen und der Großteil der Probenmatrix eluieren im späteren Teil des Chromatogramms (siehe Abschnitt 6.2, Abbildung 6.1 und Anhang III, Abbildung 12.14). Um die chromatographische Trennung in diesem Teil des Chromatogramms zu verbessern, wurde der LC-Gradient dahingehend verändert, dass der Methanol-Anteil des Eluenten in der zweiten Hälfte des Gradienten wesentlich langsamer als bisher erhöht wurde (optimiertes Verfahren: 20 - 50% B (3 min), 50 - 90% B (30 min), ... anstelle 30 - 90% B (10 min), 90% B (10 min), ... ; siehe auch Abschnitt 11.2.2.8, Tabelle 11.9).

Bei der Untersuchung von reinen Wasserproben wirkten sich der niedrigere Anreicherungsfaktor und die Veränderungen des LC-Gradienten bei den meisten Substanzen kaum auf die Wiederfindungsraten der Messung aus bzw. die Veränderungen waren nicht größer als die Abweichungen zwischen Serien mit gleichen Bedingungen (siehe Anhang III, Abbildung 12.9). Mit Elbe-Wasserproben wurden im Rahmen der Verfahrensentwicklung nur wenige Versuchsreihen durchgeführt, daher können die Änderungen der Wiederfindungsraten nur sehr beschränkt den jeweiligen Modifikationen des Verfahrens zugeordnet werden. Insgesamt ist eine deutliche Erhöhung der Wiederfindungsraten der Messung durch das Vorreinigen des RP-C18-Materials, das weniger starke Einengen und die Veränderung des LC-Gradienten erkennbar, vor allem bei den später-eluierenden Substanzen (Diuron bis Teflubenzuron), die mit dem Großteil der Probenmatrix koeluieren (siehe Anhang III, Abbildung 12.10 und 12.14). Daher wurden alle beschriebenen Änderungen des Verfahrens beibehalten.

5.6 Vergleich von Wiederfindungsraten für das optimierte Verfahren

Im folgenden Abschnitt werden die mit dem optimierten Analysenverfahren ermittelten Wiederfindungsraten für die gesamte Substanzgruppe genauer untersucht. Im ersten Unterabschnitt werden die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens und der einzelnen Verfahrensschritte für die Anreicherung von Wasserproben aus der Elbe dargestellt. (Zur Vorgehensweise bei der Ermittlung der Wiederfindungsraten siehe Abschnitt 5.1.) Anschließend wird ein Vergleich der Wiederfindungsraten für die Untersuchung von Wasserproben aus der Elbe und von reinen Wasserproben beschrieben.

Alle Messungen wurden mit dem Massenspektrometer API 3000 und der ESI gemacht. Weitere Bedingungen für das angewandte Verfahren sind in Abschnitt 11.1.1 und 11.2.1 beschrieben.

5.6.1 Vergleich von Wiederfindungsraten für das Gesamtverfahren und für einzelne Verfahrensschritte anhand von Wasserproben aus der Elbe

In Abbildung 5.13 sind die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für Wasserproben aus der Elbe dargestellt. Die Werte sind als Mittelwerte aus drei Messreihen (Serien VIII, IX und X - siehe Abschnitt 11.1.2, Tabelle 11.1) dargestellt.

Die Standard-Aufstockungen, mit denen die dargestellten Ergebnisse ermittelt wurden, entsprachen einer Konzentration in der Wasserprobe von etwa 20 ng/L für die Serien IX und X bzw. etwa 5 - 80 ng/L für die Serie VIII. Für einige Substanzen lagen die Konzentrationen in Serie VIII oberhalb von etwa 80 ng/L (siehe Anhang IV, Tabelle 12.2) und damit außerhalb des überprüften linearen Arbeitsbereiches (siehe Abschnitt 6.4.2). Für diese Substanzen sind die Ergebnisse der Serie VIII und der Serien IX und X in Abbildung 5.13 separat dargestellt. Trotz der teilweise erheblich höheren Konzentration der Aufstockung stimmten die Ergebnisse der Serie VIII für die meisten dieser Substanzen gut mit denen der Serien IX und X überein, was darauf hinweist, dass der lineare Bereich größer als der überprüfte Arbeitsbereich ist. Nur bei Triasulfuron und Dichlorvos lagen die Werte der Serie VIII deutlich niedriger. Möglicherweise war bei diesen Substanzen der lineare Bereich mit der Aufstockung von 167 bzw. 133 ng/L überschritten. Andererseits wurden bei diesen beiden Substanzen insgesamt sehr starke Schwankungen der Wiederfindungsraten beobachtet (siehe z.B. die Wasserproben des Elbelängsprofils, Abschnitt 7.3.1), was die Vermutung stützt, dass es sich auch in diesem Fall um Schwankungen der Wiederfindungsraten und nicht um Überschreitungen des linearen Bereiches handelte. In der folgenden Diskussion werden für alle Substanzen die Mittelwerte aus allen drei Serien betrachtet.

Für etwa die Hälfte der Substanzen lagen Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens zwischen 70 und 100% und damit in einem Bereich, der im Allgemeinen als akzeptabel betrachtet wird. Für die übrigen Substanzen lagen die Wiederfindungsraten mit < 70% relativ niedrig. Sieben Substanzen wiesen sehr niedrige Wiederfindungsraten von 27 - 55% (Desisopropylatrazin, Irgarol u.a.) auf, wobei für fünf davon die Werte sehr stark schwankten (Aldicarbulsulfon, Oxamyl, Triasulfuron, Mevinphos 1. Isomer, Dichlorvos). Carbaryl wies ebenfalls sehr stark schwankende Wiederfindungsraten auf, teilweise lagen die Werte weit über 100%.

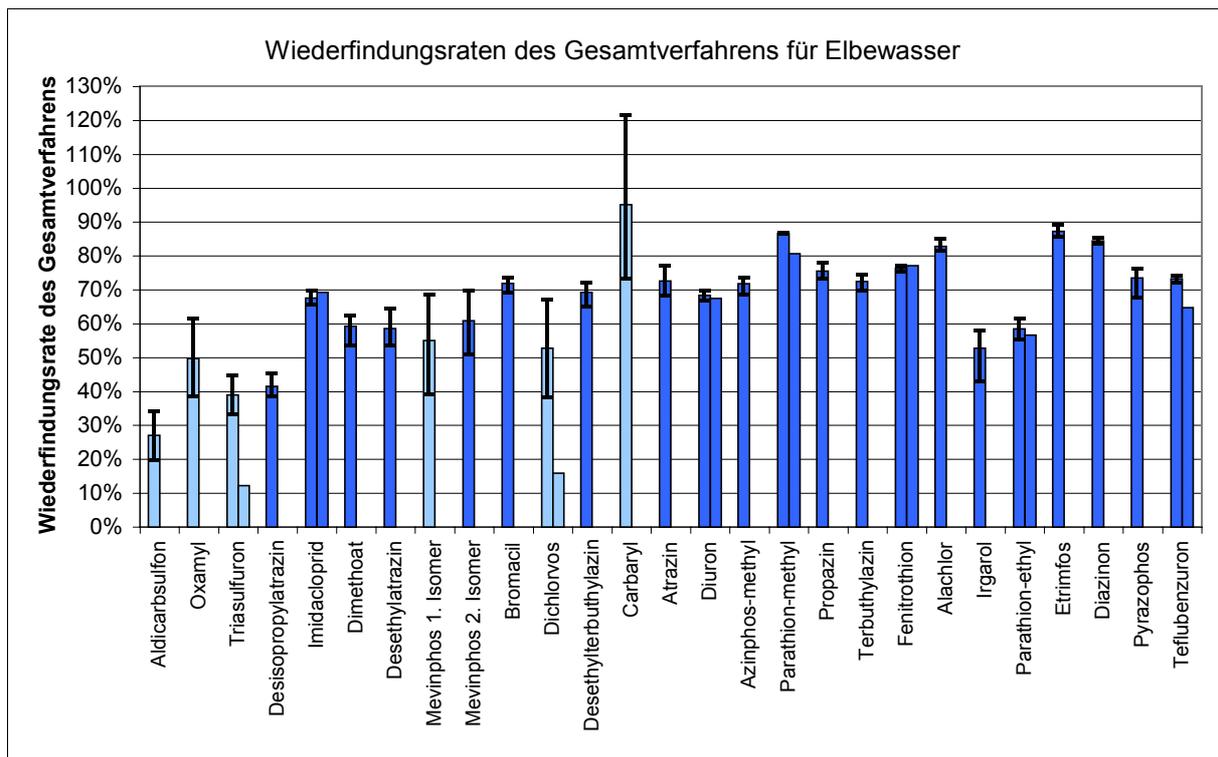


Abbildung 5.13: Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für Wasserproben aus der Elbe; Mittelwert der Serien VIII, IX und X bzw. Mittelwert der Serien IX und X (linker Balken) und Einzelwert der Serie VIII (rechter Balken), wenn die Konzentration der Aufstockung von Serie VIII größer war als ca. 80 ng/L

Konzentration der Aufstockung Serie IX und X: ca. 20 ng/L (bis auf Mevinphos), Serie VIII variabel, meist 5 - 80 ng/L - siehe Anhang IV, Tabelle 12.2

hellere Balken: Substanzen mit starken Abweichungen zwischen den drei Serien (RSD > 20%)
Fehlerbalken: minimaler und maximaler Wert

Die Ursache für die relativ niedrigen Werte wird bei der Betrachtung der Wiederfindungsraten der einzelnen Verfahrensschritte deutlich. In Abbildung 5.14 sind die in Serie VIII ermittelten Wiederfindungsraten der Anreicherung, der Messung und des Gesamtverfahrens für Wasserproben aus der Elbe dargestellt. Die Wiederfindungsraten der Messung lagen zwischen 65 und 100%, für vier Fünftel der Substanzen lagen sie zwischen 80 und 100%. Diese niedrigen Wiederfindungsraten der Messung werden durch den bereits beschriebenen

signalunterdrückenden Effekt der Probenmatrix bei der ESI verursacht (vergl. Abschnitt 3.3.4). Insgesamt lagen die Wiederfindungsraten der Messung in einem akzeptablen Rahmen.

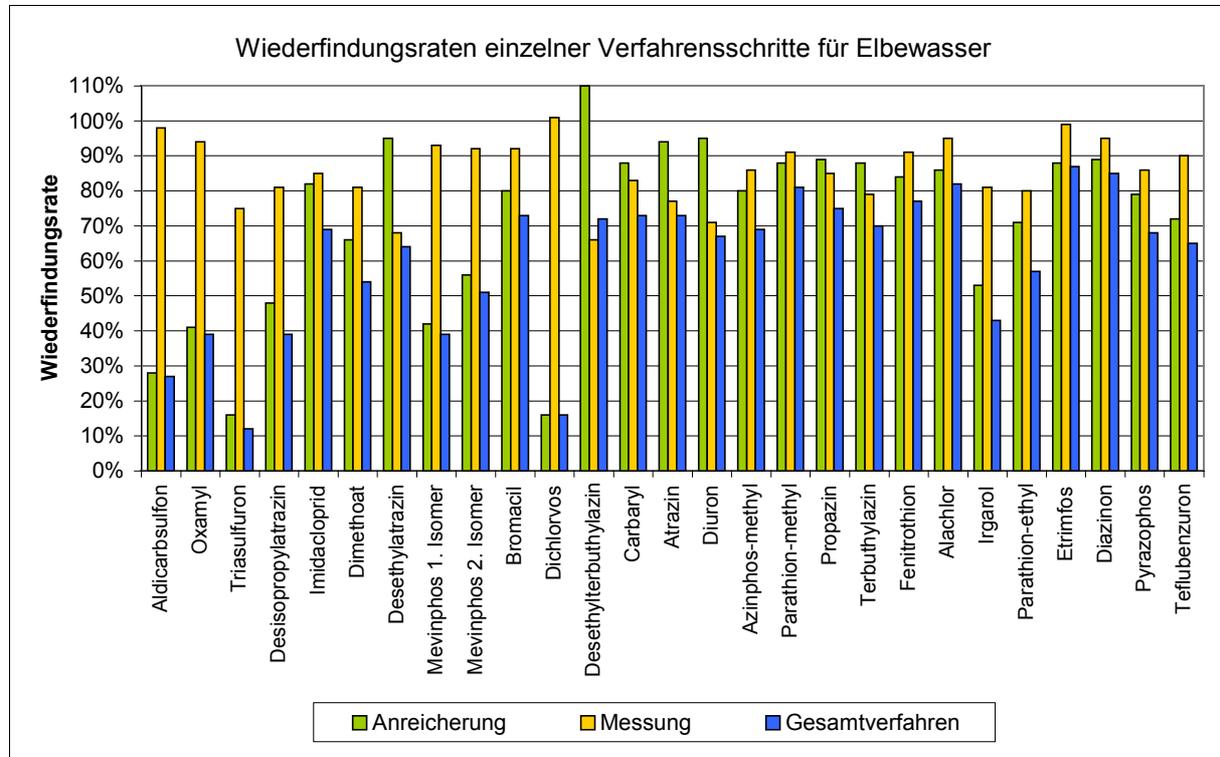


Abbildung 5.14: Vergleich der Wiederfindungsraten der Anreicherung, der Messung und des Gesamtverfahrens für Wasserproben aus der Elbe; Serie VIII; Konzentration der Aufstockung siehe Bildunterschrift von Abbildung 5.13

Die berechneten Wiederfindungsraten der Anreicherung lagen für drei Viertel der Substanzen mit Werten zwischen 70 und 110% in einem akzeptablen Bereich. Für einige Substanzen lagen die Werte aber deutlich niedriger. Vor allem bei den Substanzen mit sehr niedrigen Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens von kleiner 56% war der Anreicherungsschritt von entscheidendem Einfluss: Für Aldicarb-sulfon, Oxamyl, Triasulfuron, Desisopropylatrazin, Mevinphos 1. Isomer, Dichlorvos und Irgarol lagen die Wiederfindungsraten der Anreicherung zwischen 16 und 53%. Aufgrund dieser sehr niedrigen Wiederfindungsraten der Anreicherung und den oben erwähnten starken Abweichungen zwischen den Serien ist dieses Verfahren für Aldicarb-sulfon, Triasulfuron, Oxamyl und Dichlorvos (und Carbaryl) nicht gut geeignet (vergl. Abschnitt 6.5.2). Eine ausführlichere Diskussion der Eignung des Verfahrens erfolgt im Abschnitt 6.9 und im Rahmen der Ermittlung einer umfassenden Messunsicherheit für das Gesamtverfahren in Abschnitt 8.2.

5.6.2 Vergleich von Wiederfindungsraten für reine Wasserproben und für Wasserproben aus der Elbe

Die Wiederfindungsraten der einzelnen Verfahrensschritte wurden für reine Wasserproben und Wasserproben aus der Elbe miteinander verglichen. In den Abbildungen 5.15 und 5.16 sind die Ergebnisse für die Wiederfindungsraten der Messung und der Anreicherung dargestellt. (Serie VIII – siehe Abschnitt 11.1.2, Tabelle 11.1)

Wiederfindungsraten der Messung

Die Wiederfindungsraten der Messung lagen für reine Wasserproben zwischen 84 und 104%, für Wasserproben aus der Elbe zwischen 66 und 101% (siehe Abbildung 5.15). Für die Mehrzahl der Substanzen wichen die Wiederfindungsraten für beide Matrices nur wenig voneinander ab. Diese Ergebnisse zeigen, dass sowohl aus der Flusswassermatrix als auch aus dem Anreicherungsverfahren – trotz Vorreinigung des RP-C18-Materials - störende Substanzen in den Extrakt gelangen, die bei der Messung signalunterdrückende Effekte verursachen. Die Unterschiede zwischen den beiden Matrices sind in der in Abbildung 5.15 gezeigten Serie allerdings nur klein. In Serie VII (siehe Abbildung 5.9) traten wesentlich deutlichere Unterschiede auf. Mögliche Ursachen für die Verringerung der Unterschiede sind eine abweichende Zusammensetzung der Elbewassermatrix oder die deutliche Verbesserung der Wiederfindungsraten der Messung durch den veränderten LC-Gradienten (siehe Abschnitt 5.5.2).

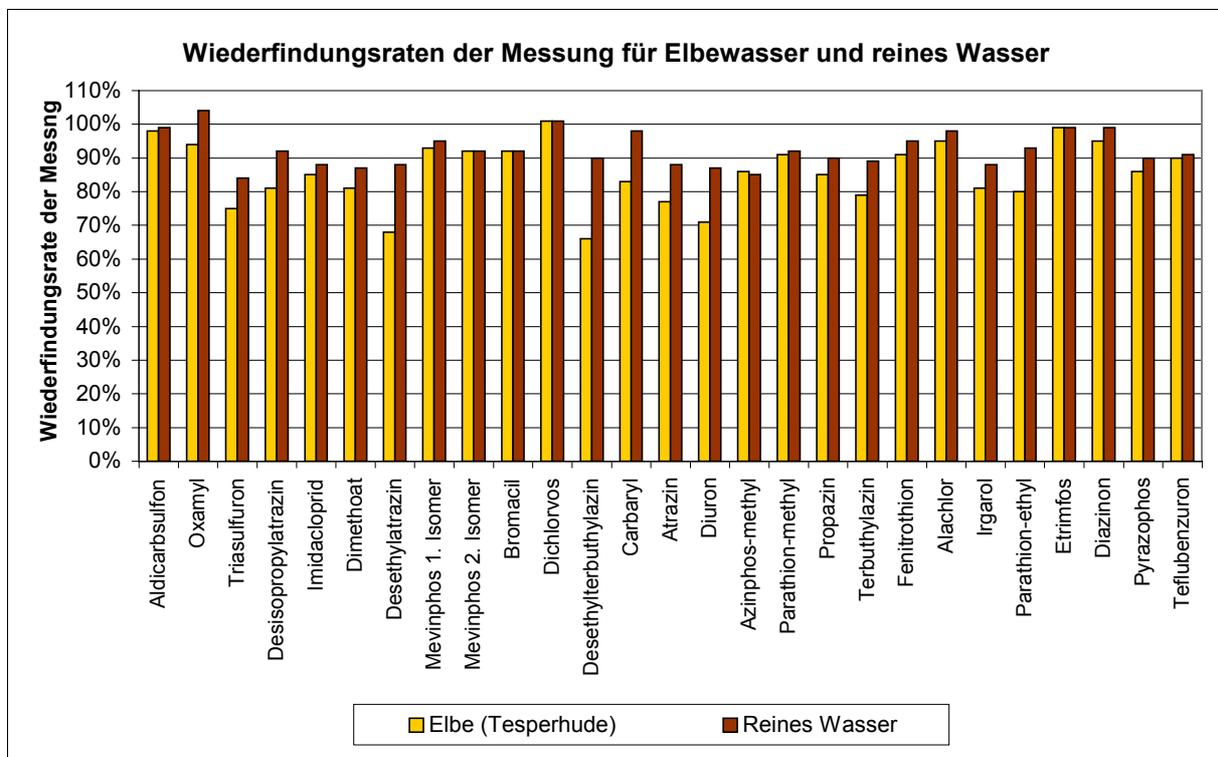


Abbildung 5.15: Vergleich der Wiederfindungsraten der Messung für Wasserproben aus der Elbe und reine Wasserproben; Serie VIII; API 3000

Wiederfindungsraten der Anreicherung

Bei einem Vergleich der Wiederfindungsraten der Anreicherung für reine Wasserproben und für Wasserproben aus der Elbe, ergibt sich ein sehr heterogenes Bild (siehe Abbildung 5.16). Für etwa die Hälfte der Substanzen waren die Unterschiede zwischen den Wiederfindungsraten für reines Wasser und Elbewasser < 20% (bezogen auf den Wert für reines Wasser), bei einigen Substanzen traten dagegen sehr große Unterschiede auf (siehe unten). Für die Mehrzahl der Substanzen lagen die Wiederfindungsraten für Elbewasser niedriger als für reines Wasser, bei einigen Substanzen war es dagegen umgekehrt. In anderen Serien weichen die Ergebnisse für die kleine Substanzgruppe (siehe Anhang III, Abb. 12.7 und 12.8) teilweise etwas von der in Abbildung 5.16 dargestellten Serie ab, aber insgesamt ergibt sich ein ähnliches Bild.

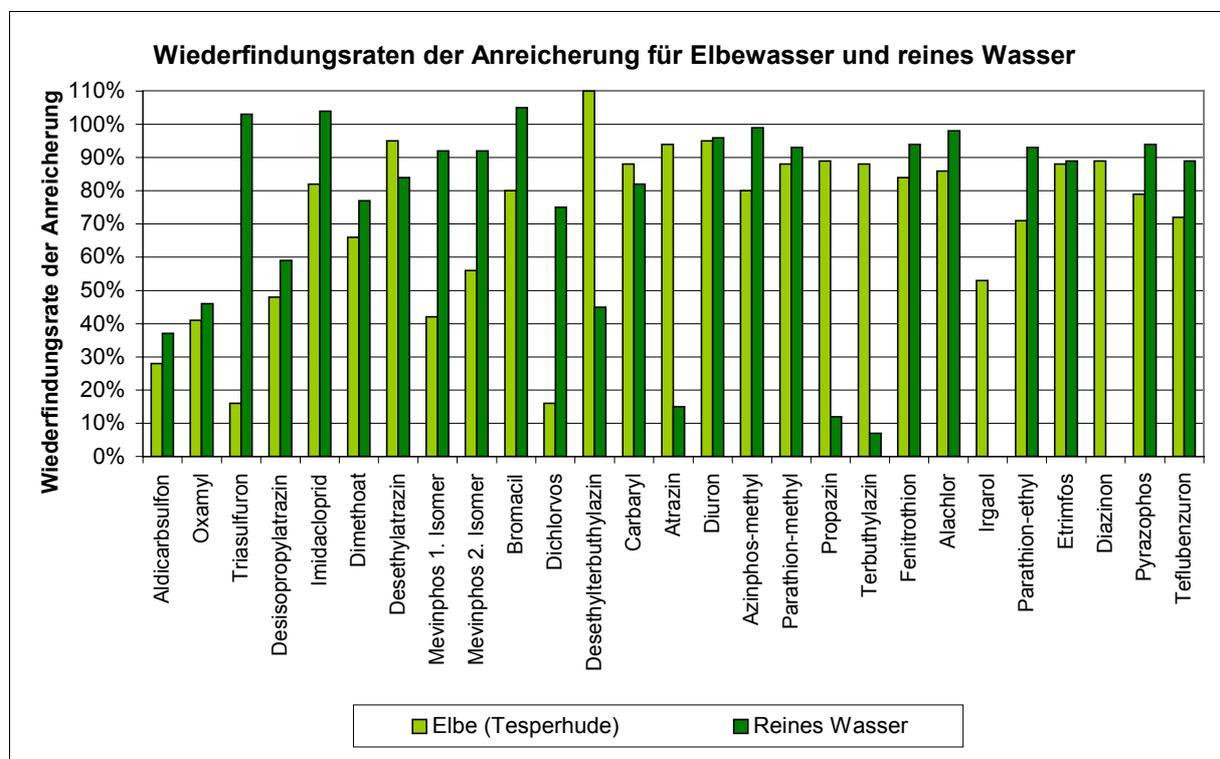


Abbildung 5.16: Vergleich der Wiederfindungsraten der Anreicherung für Wasserproben aus der Elbe und reine Wasserproben; Serie VIII; API 3000

Sehr deutliche Unterschiede in den Wiederfindungsraten traten bei Triasulfuron, Mevinphos 1. Isomer und Dichlorvos auf. Bei diesen Substanzen lagen die Wiederfindungsraten für reines Wasser wesentlich höher als für Elbewasser, wobei die Unterschiede in anderen Serien (siehe Anhang III, Abb. 12.7 und 12.8) teilweise nicht so deutlich ausgeprägt waren wie in der in diesem Abschnitt dargestellten Serie (vergl. die für diese Substanzen festgestellten starken Abweichungen der Wiederfindungsraten innerhalb einer Serie und zwischen den Serien: Abschnitt 5.6.1, Abbildung 5.13 und Abschnitt 6.5.2). D.h. die Flusswassermatrix hat einen deutlichen Effekt auf den Anreicherungsprozess, der zu einer Verringerung der

Anreicherungsausbeute führt. Für Aldicarb-sulfon, Oxamyl und Desisopropylatrazin, die wie die obengenannten Substanzen für die Anreicherung aus Elbewasser sehr niedrige Wiederfindungsraten von < 50% aufwiesen, lagen die Wiederfindungsraten auch für reines Wasser sehr niedrig. D.h. für die letztgenannten Substanzen ist das angewandte Verfahren für die Anreicherung aus beiden Probenmatrixen schlecht geeignet.

Für die Triazinderivate sowie deren Metabolite und Diazinon ließ sich im Gegensatz zu fast allen anderen untersuchten Substanzen ein positiver Effekt der Flusswassermatrix auf die Anreicherungsausbeute feststellen. Die Anreicherung aus Elbewasser funktionierte befriedigend bis sehr gut, die Wiederfindungsraten lagen zwischen 88 und 110% (Ausnahmen: Desisopropylatrazin 48%, Irgarol 53%). Für die Anreicherung aus reinem Wasser lagen die Wiederfindungsraten, mit Ausnahme der Werte für die Atrazinmetabolite, < 50% und zeigten mit abnehmender Polarität bzw. zunehmender Retentionszeit der Substanzen eine stark abnehmende Tendenz, bei Irgarol und Diazinon fand keine Anreicherung statt.

5.7 Vorgehensweise zur Auswertung der Messergebnisse von unbekanntem Proben und zur Kontrolle von Matrixeffekten

Aus den in Abschnitt 5.6 dargestellten Ergebnissen ergeben sich für die Quantifizierung folgende Konsequenzen: Die Wiederfindungsraten müssen in die Rechnung einbezogen werden, da sie deutlich von 100% abweichen, und die Ergebnisse andernfalls einen großen systematischen Fehler aufweisen würden. Da ein deutlicher Einfluss der Matrix auf die Wiederfindungsraten festgestellt wurde, ist für die Quantifizierung die Kenntnis der Variabilität der Matrixeffekte notwendig. (vergl. Abschnitt 3.4)

Die bisher in der vorliegenden Arbeit dargestellten Untersuchungen zur Ermittlung der Wiederfindungsraten des optimierten Verfahrens wurden alle anhand von Wasserproben aus der Elbe bei Geesthacht-Tesperhude durchgeführt, die an drei unterschiedlichen Tagen zwischen Juli und September entnommen wurden. Für die Auswertung der Wasserproben des Elbelängsprofils (siehe Kapitel 7) fehlten Kenntnisse über die Variabilität des Matrixeinflusses in Abhängigkeit vom Probenahmeort. Daher wurden bei der Untersuchung der Wasserproben des Elbelängsprofils weitere Aufstockungsversuche vorgenommen. Zu den Ergebnissen dieser Versuche und zur Vorgehensweise bei der Auswertung siehe Abschnitt 7.3.

Außerdem wurde eine sogenannte „interne Qualitätskontrolle“ eingeführt, die unter anderem zur Überwachung der Variabilität des Matrixeinflusses diente. Dazu wurde jede Probe vor der Anreicherung mit zwei Standardsubstanzen aufgestockt (interne Standards*, siehe Abschnitt 3.4). Die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens dieser beiden Substanzen dienen als Qualitätskriterien. Die Streubreiten dieser Wiederfindungsraten wurden im Rahmen der Validierung ermittelt und als Grenzwerte für die Qualitätskontrolle von unbekanntem Proben verwendet (siehe Abschnitt 6.8 und 7.2). Die Wiederfindungsraten der internen Standards wurden nicht zur Berechnung von Ergebnissen unbekannter Proben herangezogen!

In der vorliegenden Arbeit wurden die deuterierten Formen zweier Analyte, und zwar Atrazin-D5 und Diazinon-D10, als interne Standards verwendet. Diese beiden Substanzen wurden aus folgenden Gründen gewählt: Einerseits lassen sich Atrazin und Diazinon mit hoher Empfindlichkeit und hoher Präzision messen. Andererseits repräsentieren diese beiden Substanzen die beiden wichtigsten Substanzgruppen der untersuchten Analyte (Triazinderivate und Phosphorsäureester). (Allerdings weist Diazinon mit dem Pyrimidin-Rest eine starke strukturelle Ähnlichkeit zu Triazinderivaten auf.) Zudem sind die Retentionszeiten von Atrazin und Diazinon sehr unterschiedlich, so dass für die beiden Substanzen ein deutlich unterschiedlicher Einfluss der Probenmatrix bei der Messung zu erwarten ist (vergl. Abschnitt 3.3.4): Atrazin eluiert im mittleren Teil des Chromatogramms, in dem der Anteil an koeluierender Matrix wesentlich geringer ist als im hinteren Teil, in dem Diazinon eluiert (siehe Anhang III, Abbildung 12.14; Retentionszeit von Atrazin etwa wie bei Diuron, von Diazinon etwa wie bei Pyrazophos). Ein Nachteil dieser Auswahl ist, dass beide Substanzen

* Diese Vorgehensweise wird in der vorliegenden Arbeit als „interne Qualitätskontrolle“ bezeichnet, da sie auf dem Einsatz von internen Standards basiert.

bei der Anreicherung aus reinem Wasser im Gegensatz zur Anreicherung aus Elbewasser sehr niedrige Wiederfindungsraten aufweisen, ein Verhalten das dem der Mehrzahl der Analyte entgegengesetzt ist (siehe Abschnitt 5.6.2). Unter den gegebenen Bedingungen bilden Atrazin-D5 und Diazion-D10 die bestmögliche Auswahl für die internen Standards aus der sehr begrenzten Gruppe der in deuterierter Form verfügbaren Analyte.

Durch den Einsatz der beiden deuterierten Substanzen wurde eine einfache Möglichkeit geschaffen, die Qualität der Aufarbeitung und Messung einer Probe zu kontrollieren und durch einen stark veränderten Matrixeinfluss verursachte Abweichungen festzustellen. Allerdings darf dabei nicht übersehen werden, dass zwei interne Standards nicht notwendigerweise das chemisch-physikalische Verhalten einer größeren Gruppe von Substanzen mit sehr unterschiedlichen Eigenschaften repräsentieren müssen. Daher kann nicht ausgeschlossen werden, dass substanzabhängige Effekte auftreten, die nicht von der internen Qualitätskontrolle angezeigt werden. Aus eben diesem Grunde wurde die beschriebene Vorgehensweise gewählt, bei der die internen Standards ausschließlich als Qualitätskontrolle verwendet und nicht bei der Berechnung der Ergebnisse einbezogen wurden (vergl. Abschnitt 3.4).

6 VALIDIERUNG DES ANALYSENVERFAHRENS

In diesem Kapitel wird die Validierung des in der vorliegenden Arbeit entwickelten Analysenverfahrens beschrieben. Die Ermittlung der Messunsicherheit, die ein wichtiger Bestandteil der Validierung ist, wird für die Wasserproben des Elbelängsprofils in Abschnitt 8.2 dargestellt.

Im einleitenden Abschnitt dieses Kapitels werden neben allgemeinen Erläuterungen zum Begriff Validierung die Anforderungen an das Analysenverfahren sowie die zur Validierung durchgeführten Untersuchungen dargestellt. In den nachfolgenden Abschnitten werden die Ergebnisse dieser Untersuchungen beschrieben. Im letzten Abschnitt erfolgt eine Zusammenfassung der Ergebnisse der Validierung einschließlich der Messunsicherheit.

6.1 Einleitung

Im „Glossary of Analytical Terms (GAT)“ wird der Begriff Validierung wie folgt definiert: „Validierung ist der durch Untersuchungen gestützte objektive Nachweis, der bestätigt, dass die besonderen Forderungen für einen speziellen, beabsichtigten Gebrauch erfüllt werden. - Objektiver Nachweis: analytisch gesicherte Informationen, die sich auf Ergebnisse stützen, welche durch Beobachtung, Messung, Untersuchung oder auf eine andere Art und Weise gewonnen werden.“ [98, 99, 100]

Dementsprechend lässt sich der Begriff Validierung für ein Analysenverfahren interpretieren als der Prozeß der Festlegung von analytischen Anforderungen und dem Nachweis, dass das betrachtete Verfahren diese Anforderungen erfüllt, d.h. dass die Kenngrößen des Verfahrens den Erfordernissen der Anwendung entsprechen [101]. Kurz gefasst ist Validierung der Nachweis, dass ein Verfahren „fit for purpose“ ist.* Die Leistungsfähigkeit eines Verfahrens lässt sich charakterisieren durch analytisch-chemische Arbeitskenngrößen, wie z.B. Präzision, Richtigkeit, Nachweisgrenze, Bestimmungsgrenze, Selektivität, Spezifität, Linearität, Robustheit.

* In der Praxis kommt es häufig auch vor, dass ein Verfahren entwickelt wird, ohne eine spezielle Anwendung im Blick zu haben. In diesem Falle bezieht sich der Begriff Validierung auf die Ermittlung der Leistungsfähigkeit und Begrenzungen des Verfahrens. Zur Beurteilung der Eignung des Verfahrens für eine bestimmte Anwendung können dann diese Kenntnisse herangezogen werden; ggf. müssen auch noch weitere Untersuchungen durchgeführt werden.

Anforderungen an das Analysenverfahren

Das in der vorliegenden Arbeit entwickelte Analysenverfahren soll den Nachweis und die Quantifizierung einer ausgewählten Gruppe von Pestiziden in Flusswasser im unteren ng/L-Bereich ermöglichen. Insbesondere sollen die Nachweisgrenzen niedrig genug sein, um die Überwachung der Einhaltung von Zielvorgaben einiger Pestizide, die häufig im Bereich weniger ng/L liegen, zu ermöglichen. Daraus ergeben sich folgende Anforderungen an das Verfahren: Die Selektivität des Verfahrens muss ausreichend hoch sein, um die für einen Nachweis erforderliche eindeutige Identifizierung zu ermöglichen. Die Nachweisgrenzen sollen im Bereich weniger ng/L oder im sub-ng/L-Bereich liegen. Ein Arbeitsbereich des Verfahrens bis etwa 100 ng/L ist ausreichend, da es nicht Ziel des Verfahrens ist, Pestizide in hohen Konzentrationen zu bestimmen. Die mit der Quantifizierung verbundene Messunsicherheit muss in einem Bereich liegen, der die Beantwortung der untersuchten Fragestellung ermöglicht (vergl. Kapitel 1).

Untersuchungen zur Validierung

Entsprechend den genannten Anforderungen wurden im Rahmen der Validierung Untersuchungen zu den folgenden Arbeitskenngrößen des Verfahrens durchgeführt:

- Selektivität
- Nachweis- und Bestimmungsgrenzen
- Arbeitsbereich (Linearität)
- Wiederfindungsraten
- Präzision

Die Genauigkeit, also das Ausmaß der Übereinstimmung zwischen dem Messergebnis und dem wahren Wert der Messgröße, ist ein Maß, das die Präzision und die Richtigkeit (d.h. die Auswirkungen zufälliger und systematischer Fehler) miteinander kombiniert [98, 102]. Die Untersuchungen zur Richtigkeit stützen sich in der vorliegenden Arbeit auf die Ermittlung der Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens anhand von aufgestockten Realproben (siehe Abschnitt 5.6). Weitere Untersuchungen zu dieser Thematik wurden aufgrund der mangelnden Verfügbarkeit von zertifizierten Referenzmaterialien oder Ringversuchen für diesen Anwendungsbereich (Substanzgruppe, Konzentrationsbereich, Matrix) nicht durchgeführt.

Aus praktischen Gründen mussten bei der Untersuchung der Wasserproben des Elbelängsprofils (siehe Kapitel 7) die Proben vor der Anreicherung bis zu zwei Tage gelagert werden. Daher wurde im Rahmen der Validierung die Haltbarkeit der Analyte in den Wasserproben überprüft.

Folgende Experimente wurden zur Ermittlung der Leistungsfähigkeit des Verfahrens durchgeführt:

a) LC-MS/MS-Messung

- Messung von Einzel-Standardlösungen aller untersuchten Substanzen einschließlich der deuterierten Substanzen in hohen Konzentrationen (Injektion von etwa 1 - 6 ng) zur Untersuchung der Selektivität innerhalb der untersuchten Substanzgruppe
- Messung von Misch-Standardlösungen unterschiedlicher Konzentrationen zur Ermittlung der Nachweisgrenzen, des Arbeitsbereiches (Linearität) und der Präzision der LC-MS/MS-Messung

b) Gesamtverfahren

- Anreicherung von Wasserproben aus der Elbe mit und ohne Aufstockung von Standardlösungen zur Ermittlung der Nachweis-/Bestimmungsgrenzen, des Arbeitsbereiches (Linearität), der Wiederfindungsraten und der Präzision des Gesamtverfahrens (Angabe der Aufstockung entsprechend der Konzentration in der Wasserprobe, n = Anzahl der aufgearbeiteten Wasserproben)
 - Serie IX: ohne Aufstockung (n = 2), mit Aufstockung von 5 und 20 ng/L (n = 4)*
 - Serie X: ohne Aufstockung, mit Aufstockung von 5, 20 und 80 ng/L (n = 2)
 - alle Proben beider Serien mit internem Standard (ca. 20 ng/L)
- Anreicherung einer 2 Tage gelagerten, aufgestockten Wasserprobe aus der Elbe zur Ermittlung der Haltbarkeit der Analyte in den Wasserproben (im Vergleich zu sofortiger Anreicherung der gleichen Probe) (20 ng/L, jeweils n = 2, Serie X)
- Anreicherung von reinen Wasserproben (siehe Abschnitt 11.1.1.2: „organikarmes Laborwasser“) zur Ermittlung von Verfahrensblindwerten (mit Serie IX (n = 3) und mit den Wasserproben des Elbelängsprofils (n = 2))

Die im Rahmen der beschriebenen Untersuchungen eingesetzten Wasserproben der Elbe wurden im Uferbereich bei Geesthacht-Tesperhude entnommen. Für jede Serie wurde eine größere Wasserprobe frisch entnommen und direkt vor der Aufstockung und der Aufarbeitung filtriert.

Alle Messungen wurden mit ESI durchgeführt. Die Auswertung erfolgte für jede Substanz anhand des 1. Massenübergangs (siehe Abschnitt 5.2, Tabelle 5.1). Dies entspricht den Bedingungen des optimierten Verfahrens für die Quantifizierung der untersuchten Substanzen.

* - ungefähre Konzentrationsangaben (bei Mevinphos bezogen auf die Summe der beiden Isomere), exakte Konzentrationsangaben siehe Anhang IV, Tabelle 12.2
- Serie IX: Die Proben mit der Aufstockung von 80 ng/L waren bei der ESI-Messung aufgrund von messtechnischen Problemen nicht auswertbar.

In den folgenden Abschnitten werden die Ergebnisse dieser Untersuchungen dargestellt, einschließlich einer Bewertung anhand der oben formulierten Anforderungen an das Analysenverfahren. Vorweg werden jeweils die untersuchten Kenngrößen definiert und kurz erläutert. Die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens und einzelner Verfahrensschritte wurden in Abschnitt 5.6 dargestellt.

2. Massenübergang bzw. Messung mit APCI

Das Ziel der Messung eines 2. Massenübergangs für jede Substanz war die Erhöhung der Selektivität des Verfahrens. Die Auswertung der im Abschnitt 6.2: „Identifizierung / Selektivität“ beschriebenen Untersuchungen und die Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen erfolgte für alle gemessenen Massenübergänge.

Bei der Messung der Wasserproben des Elbelängsprofils beruhen die quantitativen Angaben zu den Konzentrationen in den Wasserproben (siehe Abschnitt 7.4.1) auf den anhand des 1. Massenübergangs ermittelten Ergebnissen. Die Positivbefunde (Befunde oberhalb der Nachweisgrenze) wurden durch Auswertung des 2. Massenübergangs abgesichert (siehe Abschnitt 7.5.1). Dabei wurde eine vollständige quantitative Auswertung des 2. Massenübergangs nur für die Substanzen durchgeführt, die häufig Positivbefunde deutlich oberhalb der Bestimmungsgrenze aufwiesen (siehe Tabelle 6.1). Da diese Ergebnisse nur zu Vergleichszwecken dienen, wurde im Bereich der Quantifizierung die Validierung für den 2. Massenübergang auf ein Minimum beschränkt. Dies umfaßte neben der Überprüfung der Linearität des Arbeitsbereiches die Ermittlung einer Größe, die eine Aussage über die Messunsicherheit im Vergleich zur Messung des 1. Massenübergangs ermöglicht. Dazu wurde die Wiederholpräzision des Gesamtverfahrens für die in Tabelle 6.1 genannten Substanzen auch für den 2. Massenübergang bestimmt.

Tabelle 6.1: Substanzen, für die in den Wasserproben des Elbelängsprofils häufig deutliche Positivbefunde festgestellt wurden

<u>Triazinderivate und deren Metabolite</u>	<u>Phosphorsäureester</u>
Atrazin, Desethylatrazin, Desethylterbuthylazin, Desisopropylatrazin, Irgarol, Terbuthylazin	Diazinon
	<u>Harnstoffderivate</u>
	Diuron

*siehe Abschnitt 7.4.1;
für Dimethoat und Alachlor wurden in jeweils einer Probe erhöhte Positivbefunde festgestellt*

Ebenfalls zu Vergleichszwecken wurden einige der Wasserproben des Elbelängsprofils, die deutliche Positivbefunde aufwiesen, mit der APCI gemessen (siehe Abschnitt 7.5.2). Auch in diesem Fall wurde die Validierung auf ein Minimum beschränkt. Da es sich um separate Messungen mit einer abweichenden Ionisierungsmethode handelte, war in diesem Fall der Umfang der Validierung etwas größer als für den 2. Massenübergang.

Zur Untersuchung des Arbeitsbereiches des Gesamtverfahrens wurden folgende Proben mit der APCI gemessen:

Serie IX: Wasserproben aus der Elbe

ohne Aufstockung (n = 1), mit Aufstockung von 5, 20 und 80 ng/L (n = 1)

Außerdem wurde im Rahmen der Kalibrierungen die Linearität der LC-MS/MS-Messung mit APCI überprüft. Als Maß für die Präzision der Messung wurden die Abweichungen zweier aufeinanderfolgender Messungen von Wasserproben der Elbe untersucht. Die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens bei der Messung mit APCI werden für ausgewählte Wasserproben des Elbelängsprofils in Abschnitt 7.5.2 dargestellt und mit den Wiederfindungsraten bei der Messung mit ESI verglichen.

Ermittlung der Messunsicherheit

Die Ermittlung der Messunsicherheit ist ein wichtiger Bestandteil der Validierung eines Analysenverfahrens. In Abschnitt 8.2 wird die Ermittlung der Messunsicherheit der Ergebnisse für die Wasserproben des Elbelängsprofils beschrieben. Die Grundlage dafür bildeten u.a. einige der in diesem Kapitel beschriebenen Daten und Ergebnisse, die während der Messung der Wasserproben des Elbelängsprofils ermittelt wurden.

Qualitätskontrollmaßnahmen

Zur Kontrolle der Stabilität der LC-MS/MS-Messung wurden in allen Serien während der Messung von Proben neben den Kalibrierstandards regelmäßig Standardlösungen mitgemessen. In diesem Kapitel werden beispielhaft ausgewählte Ergebnisse dieser Qualitätskontroll-Maßnahme für Messreihen mit ESI und APCI dargestellt (siehe Abschnitt 6.7).

Durch Aufstockung aller Wasserproben mit deuterierten Standards wurde die Möglichkeit geschaffen, die Qualität der Aufarbeitung und Messung einer Probe zu kontrollieren und festzustellen, wann stärkere Abweichungen auftreten („interne Qualitätskontrolle“, vergl. Abschnitt 5.7). Als Qualitätskriterium dienen die Wiederfindungsraten der deuterierten Substanzen, die im Rahmen der Untersuchungen zur Validierung ermittelt wurden (siehe Abschnitt 6.8).

6.2 Identifizierung / Selektivität

Selektivität ist die Fähigkeit eines Verfahrens den interessierenden Analyten in Anwesenheit anderer Komponenten der Probenmatrix störungsfrei zu analysieren. In diesem Abschnitt wird untersucht inwieweit ein Analyt a) in Anwesenheit der anderen Analyte und b) in Anwesenheit der Flusswassermatrix eindeutig identifiziert werden kann.

Die Selektivität des hier untersuchten Analysenverfahrens beruht auf der Selektivität der LC-MS/MS-Messung. Die Anreicherungsmethode ist naturgemäß nicht selektiv, da es sich um eine Methode für die Anreicherung von Substanzen mit sehr unterschiedlichen physikalischen und chemischen Eigenschaften handelt. Bei der LC-MS/MS-Messung sind der Massenübergang, also die Massen von Vorläufer- und Produkt-Ion, und die Retentionszeiten der Flüssigchromatographie die Kriterien für die Identifizierung einer Substanz.

6.2.1 Selektivität innerhalb der untersuchten Substanzgruppe

Zur experimentellen Überprüfung der Frage, ob innerhalb der untersuchten Substanzgruppe Querempfindlichkeiten auftreten, wurden Einzel-Standardlösungen aller Analyte und deuterierten Substanzen mit der LC-MS/MS gemessen. Die Substanzen wurden in hohen Konzentrationen injiziert (ca. 2 - 5 ng pro Injektion, Atrazin-D5 und Diazinon-D10 ca. 1 ng), es wurden jeweils der 1. und 2. Massenübergang (siehe Abschnitt 5.2, Tabelle 5.1) gemessen und ausgewertet. In den Abbildungen 6.2 und 6.3 sind die Chromatogramme für die Substanzpaare dargestellt, bei denen aufgrund von Überlappungen bzw. Ähnlichkeiten der Massenübergänge am ehesten Querempfindlichkeiten zu erwarten sind. Diese werden im Folgenden näher betrachtet.

Innerhalb der untersuchten Substanzgruppe kommt es bei vier Substanzpaaren zu Überlappungen von Massenübergängen (siehe Abschnitt 5.2, Tabelle 5.2). Der für die Messung von Propazin verwendete Massenübergang kommt auch bei Terbutylazin vor, entsprechendes gilt für Mevinphos / Dichlorvos, Oxamyl / Diuron und Triasulfuron / Teflubenzuron. Trotzdem können diese Substanzen in der Messung voneinander unterschieden werden, da sie jeweils unterschiedliche Retentionszeiten aufweisen (siehe Abbildung 6.1). Bei Propazin und Terbutylazin ist die flüssigchromatographische Trennung gerade ausreichend, bei den anderen Substanzpaaren sind die beiden Substanzen jeweils sehr deutlich voneinander getrennt. Die Chromatogramme der Einzelsubstanz-Injektionen von Propazin und Terbutylazin sind in Abbildung 6.2 dargestellt. Falls Terbutylazin in sehr hohen Konzentrationen auftreten und dadurch eine sehr breite Peakform aufweisen würde, könnte dies zu einer Störung des Nachweises oder der Bestimmung von Propazin (2. Massenübergang) führen. Dies würde aber nicht zu falsch-positiven Werten von Propazin führen, da die beiden Substanzen anhand ihrer Retentionszeiten und des 1. Massenübergangs eindeutig zu unterscheiden sind, und daher die Störung klar erkennbar wäre.

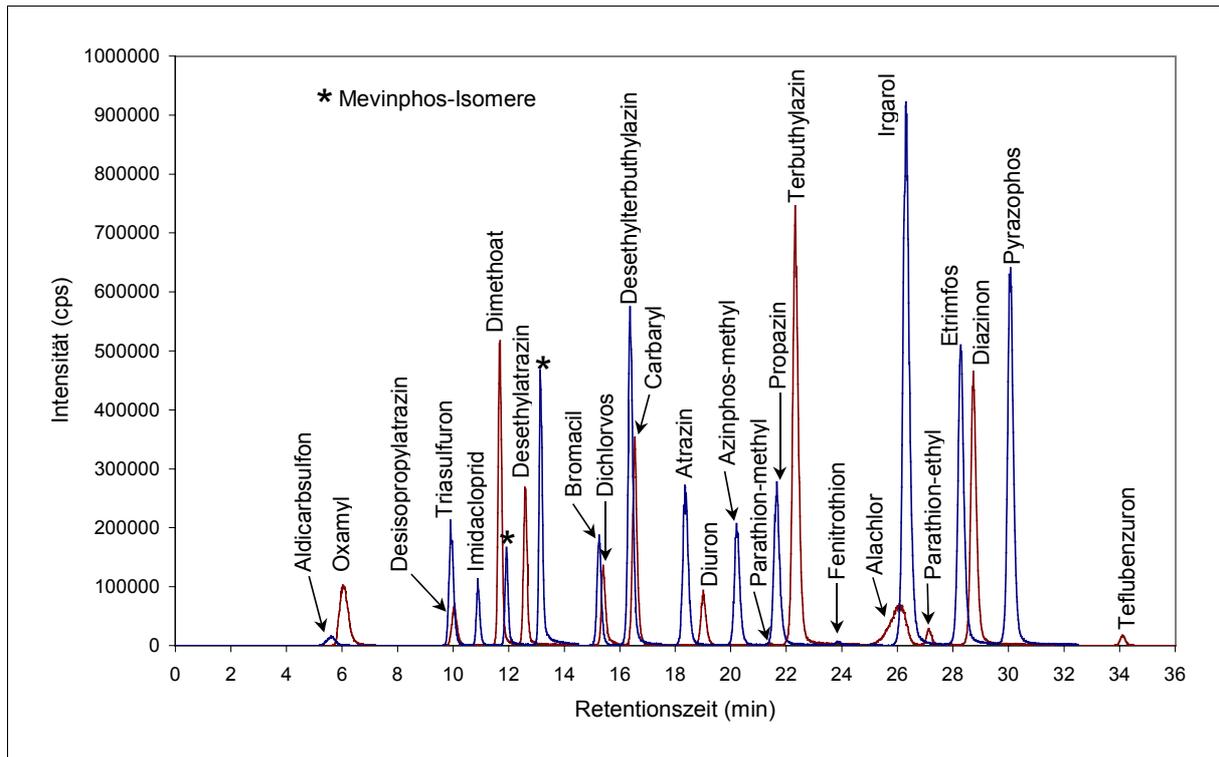


Abbildung 6.1: Chromatogramm eines Standardgemisches
Darstellung jeweils eines Massenübergangs pro Substanz (1. Massenübergang, siehe Abschnitt 5.2, Tabelle 5.1), injizierte Masse: jeweils ca. 1200 pg (bei Mevinphos bezogen auf die Summe der beiden Isomere), Exp. Bedingungen siehe Abschnitt 11.2.1

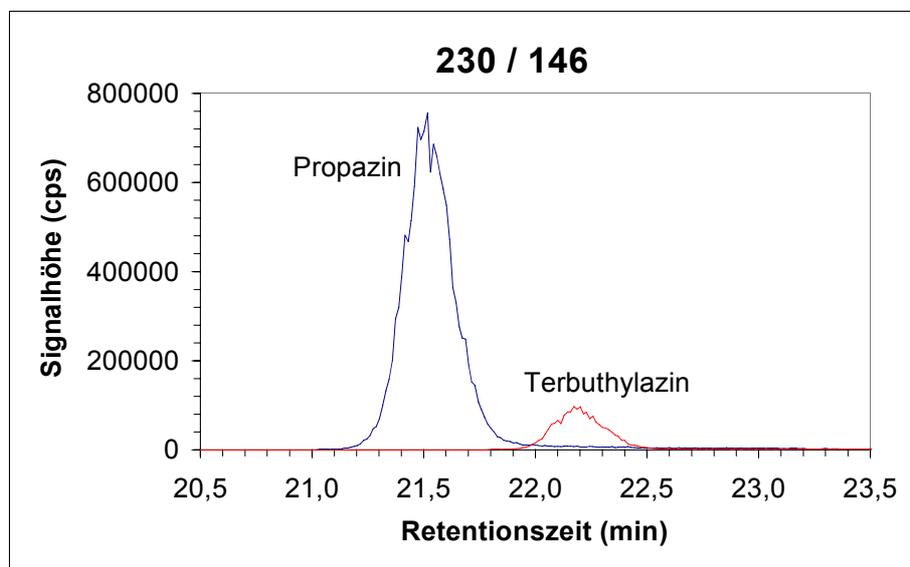


Abbildung 6.2: Chromatogramme der Einzelsubstanz-Injektionen von Propazin und Terbutylazin (einzeln gemessen, gemeinsam dargestellt), injizierte Masse jeweils ca. 5 ng, Exp. Bedingungen siehe Abschnitt 11.2.1

Die Massenübergänge von Desethylterbuthylazin und Carbaryl, Parathion-ethyl und Etrimfos bzw. Fenitrothion und Fenthion sind sich jeweils sehr ähnlich, Vorläufer- und Produkt-Ion unterscheiden sich jeweils nur um maximal eine Masseneinheit (siehe Abschnitt 5.2, Tabelle 5.3). Parathion-ethyl und Etrimfos bzw. Fenitrothion und Fenthion sind in der Flüssigchromatographie jeweils deutlich voneinander getrennt (siehe Abbildung 6.1 für Parathion-ethyl und Etrimfos^{*}). Daher sind in diesem Fall keine Querempfindlichkeiten zu erwarten. Die Chromatogramme der Einzelsubstanz-Injektionen von Parathion-ethyl und Etrimfos sind in Abbildung 6.3 dargestellt. Das deutlich erkennbare Signal im Massenübergang 293/265 bei der Injektion von Parathion-ethyl entspricht dem höheren Isotopenpeak (ein ¹³C-Atom im Molekül) von 292/264. Anhand der Retentionszeit ist es eindeutig von Etrimfos zu unterscheiden.

Desethylterbuthylazin und Carbaryl werden in der Flüssigchromatographie nicht vollständig voneinander getrennt. Bei der Injektion der Einzelsubstanzen wurden keine bzw. nur minimale Querempfindlichkeiten festgestellt (siehe Abbildung 6.3). Das zeigt, dass in der massenspektrometrischen Detektion Massendifferenzen von einer Masseneinheit ausreichend sind, um Substanzen eindeutig voneinander zu unterscheiden. Dies entspricht den Erwartungen, da die Auflösung der Quadrupole auf ca. 0,7 amu Halbwertsbreite (entsprechend ca. 1,0 amu Basisbreite) eingestellt war.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse der Messungen der Einzelsubstanzen, dass auch für die anderen, nicht dargestellten Substanzen keine Querempfindlichkeiten auftreten. In vereinzelt Fällen wurden die Massenübergänge einer Substanz auch bei einer anderen Substanz detektiert, die Signalhöhe war dann aber fast immer in der Größenordnung des Rauschens. Diese Überlappungen wurden bei dem Vergleich der Massenübergänge in Abschnitt 5.2 nicht aufgedeckt, da die entsprechenden Signale zu klein waren. Querempfindlichkeiten wurden von diesen Überlappungen, abgesehen von der meist vernachlässigbar kleinen Signalintensität, aufgrund der deutlichen Unterschiede in den Retentionszeiten nicht verursacht.

Bei der Messung der deuterierten Substanzen wurden keine Signale der undeuterierten Substanzen und vice versa detektiert (siehe Anhang V, Abbildung 12.15).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die MS/MS-Messung zwar eine hohe Selektivität bietet, diese aber in Abhängigkeit vom jeweiligen Massenübergang nicht in jedem Fall ausreichend ist, um eine Substanz eindeutig zu identifizieren. Durch die Messung mehrerer Massenübergänge lässt sich die Selektivität zwar erhöhen, trotzdem bleibt die Retentionszeit der Flüssigchromatographie ein sehr wichtiges Identifizierungskriterium. Dies wird im Folgenden bei der Untersuchung der Selektivität in Anwesenheit der Flusswassermatrix noch deutlicher.

* Fenthion ist in Abbildung 6.1 nicht dargestellt und wurde nicht als Einzelsubstanz gemessen, da es aus der Substanzgruppe herausgenommen wurde. Frühere Messungen zeigen eine deutliche Trennung von Fenitrothion und Fenthion (Retentionszeitdifferenz ca. 1 min mit Gradient 1 – siehe Abschnitt 11.2.2.8, Tabelle 11.9)

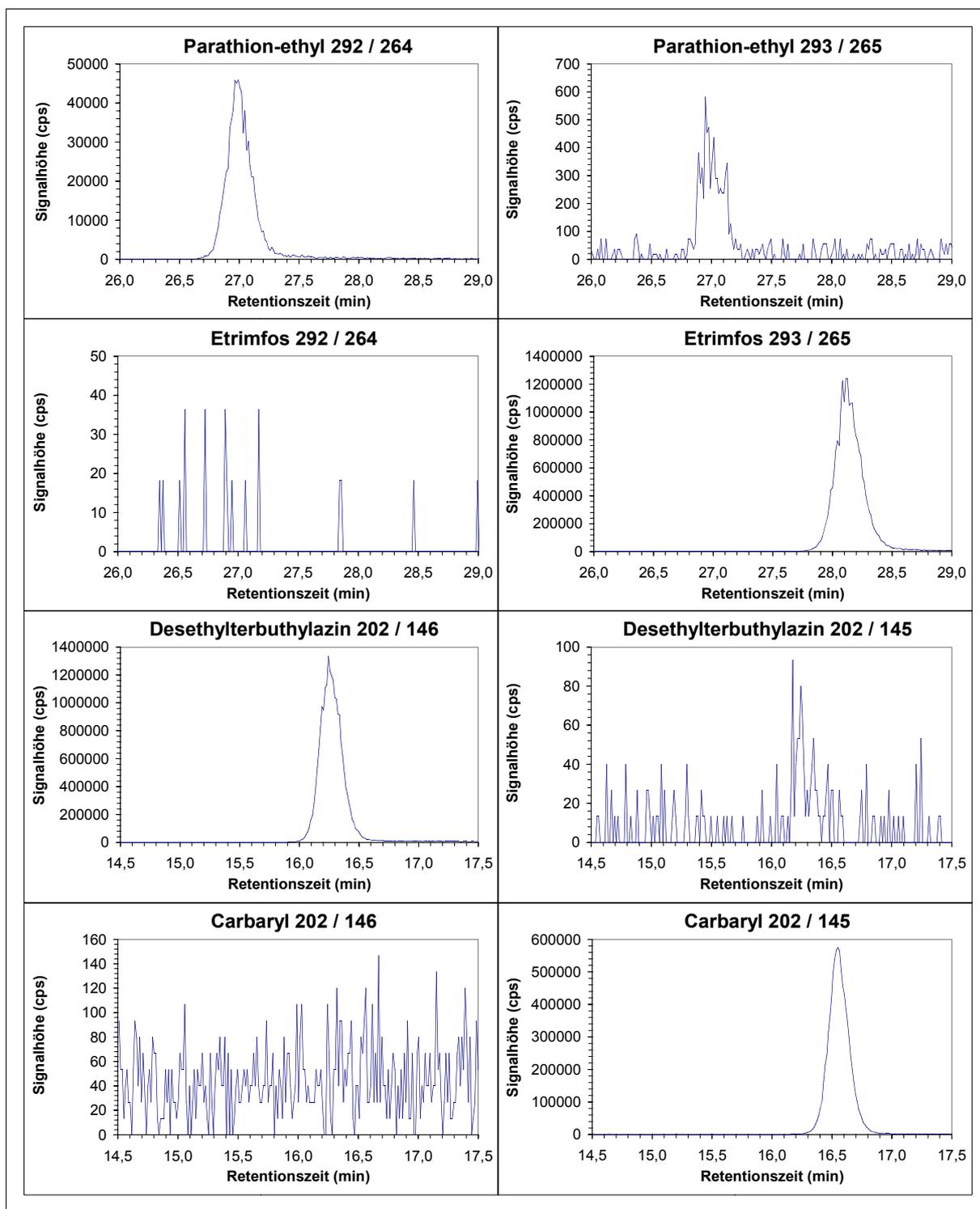


Abbildung 6.3: Chromatogramme der Einzelsubstanz-Injektionen von Parathion-ethyl und Etrimfos, Desethylterbuthylazin und Carbaryl, injizierte Masse jeweils ca. 2 - 6 ng

Die Retentionszeiten der untersuchten Analyte waren sehr gut reproduzierbar. Anhand einer dreitägigen Messreihe (Serie IX, vergl. Abschnitt 11.1.2, Tabelle 11.1) wurde beispielhaft ein Vergleich der Retentionszeiten aller Einzelmessungen (Proben und Kalibrierstandards) mit dem Mittelwert der Retentionszeiten aus den Kalibrierungen durchgeführt. Die maximalen Abweichungen von diesem Mittelwert betragen bis zu 0,5% (Ausnahmen: Aldicarbsulfon - max. Abw. 1,4%, Triasulfuron - max. Abw. 4%, Oxamyl - max. Abw. 0,7%), für die meisten Substanzen waren die maximalen Abweichungen deutlich kleiner.

Als Fazit lässt sich festhalten, dass innerhalb der untersuchten Substanzgruppe die Analyte anhand der Kriterien Retentionszeit und 1. Massenübergang eindeutig nebeneinander identifiziert und quantifiziert werden können. Die Messung des 2. Massenübergangs, der bei der Untersuchung der Wasserproben des Elbelängsprofils zur Absicherung von Positivbefunden herangezogen wurde, erhöht die Selektivität noch weiter.

Verunreinigungen der Standardsubstanzen

Die oben erwähnten Messungen von Standardlösungen der Einzelsubstanzen wurden auch zur Untersuchung der Standardsubstanzen auf gegenseitige Verunreinigungen eingesetzt. Dabei wurden bei einigen Substanzen aus der Gruppe der Triazinderivate und -metabolite (ohne Irgarol) Verunreinigungen mit anderen Substanzen dieser Gruppe festgestellt. Im Atrazin-Standard wurde ca. 1% Propazin gefunden. Weitere nennenswerte Verunreinigungen waren ca. 0,2% Atrazin im Propazin- und im Terbutylazin-Standard. Die nachgewiesenen Verunreinigungen standen nicht im Widerspruch zu den zertifizierten Gehalten der Reinsubstanzen.

6.2.2 Selektivität in Anwesenheit der Flusswassermatrix

In Abbildung 6.4 ist die Messung einer Wasserprobe aus der Elbe für zwei Substanzen dargestellt. Bei Desethylatrazin traten in den Chromatogrammen beider Massenübergänge störende Peaks aus der Flusswassermatrix auf, vor allem im 2. Massenübergang 188 / 104 war der gerade ausreichend vom Analytpeak abgetrennte Störpeak sehr intensiv. Im Gegensatz dazu traten bei Azinphos-methyl in den Chromatogrammen beider Massenübergänge keine störenden Matrixpeaks auf.

An diesem Beispiel lässt sich die unterschiedliche Selektivität der verschiedenen Massenübergänge erkennen. Trotz der Kombination zweier Massensignale (Vorläufer- und Produkt-Ion) ist die Selektivität der MS/MS-Messung nicht für alle Massenübergänge ausreichend hoch, um die Analyte störungsfrei in der Flusswassermatrix zu messen. Dieses und ein von Reemtsma [83] angeführtes Beispiel zeigen, dass bei der Untersuchung komplexer Realproben selbst bei der Messung zweier MS/MS-Übergänge eine effiziente flüssigchromatographische Trennung notwendig und die Retentionszeit ein essentielles Identifizierungskriterium ist.

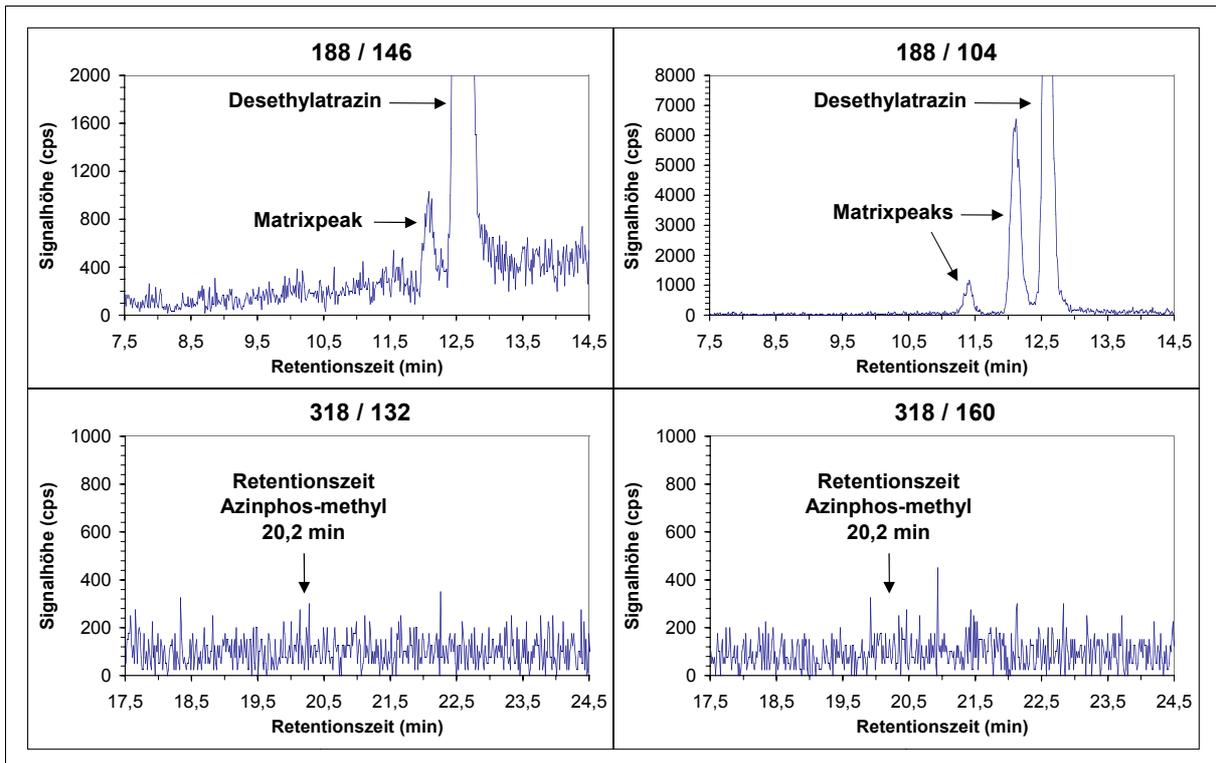


Abbildung 6.4: Messung einer Wasserprobe aus der Elbe (ohne Standardaufstockung) – ausgewählte Substanzen als Beispiele für a) das Auftreten von Matrixpeaks in beiden Massenübergängen (Desethylatrazin) und b) die störungsfreie Messung in beiden Massenübergängen (Azinphos-methyl)

Mit dem Ziel, eine möglichst hohe Selektivität zu erreichen, wurden daher eine effiziente flüssigchromatographische Trennung durchgeführt und pro Substanz zwei Massenübergänge gemessen. Die quantitative Auswertung erfolgte jeweils anhand des 1. Massenübergangs. Der 2. Massenübergang wurde bei der Untersuchung der Wasserproben des Elbelängsprofils zur Absicherung von Positivbefunden herangezogen (vergl. Abschnitt 7.5.1). Falsch-positive Resultate durch Störungen aus Realproben können grundsätzlich nicht ausgeschlossen werden, da normalerweise keine den Realproben entsprechende analytfreie Probenmatrix zur experimentellen Überprüfung verfügbar ist. Die hohe Selektivität, die durch die Anwendung der drei Identifizierungskriterien Retentionszeit, 1. und 2. Massenübergang erreicht wird, verringert aber die Wahrscheinlichkeit falsch-positiver Befunde auf ein Minimum.

6.3 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen

Im „Glossary of Analytical Terms“ werden folgende Definitionen für die Nachweis- (NG) und die Bestimmungsgrenze (BG) angegeben:

- „Die Nachweisgrenze eines Analysenverfahrens ist die kleinste (Stoff-)Menge eines Analyten in einer Probe, die nachgewiesen, aber nicht notwendigerweise als genauer Wert quantifiziert werden kann.“ [103, 104]
- „Die Bestimmungsgrenze eines Analysenverfahrens ist die kleinste (Stoff-)Menge eines Analyten in einer Probe, die noch als genauer Wert quantifiziert werden kann.“ [103]

Die NG und die BG entsprechen den Konzentrationen oder Mengen, die noch mit akzeptabler Messunsicherheit mit Hilfe des betrachteten Analysenverfahrens nachgewiesen bzw. bestimmt (quantifiziert) werden können.

Zur Ermittlung der NG und BG gibt es unterschiedliche Vorgehensweisen. In der vorliegenden Arbeit wurden diese Werte aus dem Signal-Rausch-Verhältnis (S/N) der LC-MS/MS-Detektion ermittelt. Dabei wurde für die NG ein Wert von $S/N = 3$ und für die BG ein Wert von $S/N = 10$ verwendet. (Häufig wird für die BG auch ein Wert von $S/N = 6$ verwendet.) [105, 103] Diese in der Praxis häufig angewandte Vorgehensweise stützt sich auf allgemeine Aussagen der Statistik. In der vorliegenden Arbeit wurde die Ermittlung der Messunsicherheit nicht in Abhängigkeit von der Konzentration durchgeführt (vergl. Abschnitt 8.2).

6.3.1 Nachweisgrenzen der LC-MS/MS-Messung

Die instrumentellen NG (d.h. die NG der LC-MS/MS-Messung) wurden anhand der Messungen von Standardlösungen (siehe Abschnitt 11.3.2) aus dem Signal-Rausch-Verhältnis ($S/N = 3$) ermittelt. Dazu wurden den NG entsprechende kleine Mengen injiziert. Die mittlere Signalthöhe des Untergrundes (Rauschen) bzw. deren Streubreite wurde „von Hand“ den Chromatogrammen entnommen. Die in Tabelle 6.2 dargestellten Ergebnisse entsprechen einer „worst-case“-Situation, da das Gerät durch vorhergehende Messung vieler Realproben kontaminiert war. Die Erfahrung zeigt, dass ohne derartige Kontaminationen niedrigere NG erreicht werden können.

Die absoluten instrumentellen NG lagen für die meisten Substanzen im Bereich weniger Picogramm (= injizierte Masse). Nur für Fenitrothion, Parathion-ethyl und -methyl waren sie aufgrund der geringen Empfindlichkeit der Messung deutlich höher. Diese Daten verdeutlichen die hohe Nachweisstärke der LC-MS/MS-Messung und ihre Eignung als Detektionsmethode für ein Analysenverfahren, das sehr niedrige NG aufweisen soll. Für die eigentliche Validierung des Analysenverfahrens sind diese Daten nicht relevant, da sie keine Aussagen über das Gesamtverfahren ermöglichen.

Tabelle 6.2: Absolute instrumentelle Nachweisgrenzen (instr. NG) = absolute Nachweisgrenzen der LC-MS/MS-Messung (ermittelt anhand von Standardlösungen, S/N = 3, Angabe als injizierte Masse)

	instr. NG (pg)		instr. NG (pg)
<u>Triazinderivate und deren Metabolite</u>			
Atrazin	1,5	Irgarol	1,1
Desethylatrazin	1,5	Propazin	1,7
Desethylterbuthylazin	0,9	Terbuthylazin	2,0
Desisopropylatrazin	6,5		
<u>Phosphorsäureester</u>			
Azinphos-methyl	4,0	Mevinphos (1. Isomer)	0,5
Diazinon	1,0	Mevinphos (2. Isomer)	0,7
Dichlorvos	1,3	Parathion-ethyl	19
Dimethoat	0,9	Parathion-methyl	58
Etrimfos	0,7	Pyrazophos	1,6
Fenitrothion	32		
<u>Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige</u>			
Diuron	7,7	Oxamyl	2,8
Teflubenzuron	10	Alachlor	8,0
Triasulfuron	1,3	Bromacil	4,8
Aldicarb-sulfon	7,0	Imidacloprid	1,6
Carbaryl	1,9		

6.3.2 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen des Gesamtverfahrens

Die NG und BG des Gesamtverfahrens wurden anhand der Elbe-Proben aus den Untersuchungen zur Validierung (Serie IX und X – siehe Abschnitt 6.1) und einiger Proben des Elbelängsprofils (siehe Kapitel 7) aus dem Signal-Rausch-Verhältnis (S/N = 3 bzw. 10) ermittelt. Dazu wurde die mittlere Signalhöhe des Untergrundes (Rauschen) bzw. deren Streubreite „von Hand“ den Chromatogrammen entnommen. Von den anhand der verschiedenen Proben ermittelten NG und BG wurde jeweils der größte Wert angegeben.* Die Ergebnisse für den 1. Massenübergang sind in Tabelle 6.3 dargestellt, die für den 2. Massenübergang in Anhang VI, Tabelle 12.3.

* Wenn Störpeaks in der Umgebung des Analyten vorhanden waren, wurden die NG / BG für diese Substanzen etwas höher angegeben, um eine möglichst hohe Identifizierungssicherheit an der NG zu erreichen. Dies gilt z.B. für Fenitrothion und Parathion-methyl (vergl. hierzu Abschnitt 6.5.2).

Die NG und BG wurden aus dem Signal-Rausch-Verhältnis von Proben mit höheren Konzentrationen extrapoliert. Bei den aufgestockten Proben entsprach die kleinste Aufstockung einer Konzentration von 5 ng/L in der Wasserprobe (siehe Abschnitt 6.1). D.h. für Substanzen, die in den Wasserproben der Elbe nicht nachgewiesen werden konnten, wurden die NG und BG aus den aufgestockten Proben mit einer Konzentration von 5 ng/L und mehr ermittelt. Bei den Substanzen, die in den Wasserproben der Elbe nachgewiesen werden konnten, wurden auch die unaufgestockten Proben für die Ermittlung herangezogen. Für einige Substanzen ergaben sich aufgrund der hohen Gehalte in den unaufgestockten Elbe-Proben sehr große Faktoren bei der Extrapolation (insbesondere bei Atrazin und Desethylatrazin). (vergl. Anhang IV, Tabelle 12.2 und Anhang IX Tabelle 12.5)

Tabelle 6.3: Nachweisgrenzen (NG) und Bestimmungsgrenzen (BG) des Gesamtverfahrens (ermittelt anhand von Wasserproben aus der Elbe , S/N = 3 bzw. 10)

	NG (ng/L)	BG (ng/L)		NG (ng/L)	BG (ng/L)
<u>Triazinderivate und deren Metabolite</u>					
Atrazin	0,6	2,0	Irgarol	0,4	1,3
Desethylatrazin	0,6	2,0	Propazin	0,6	2,0
Desethylterbuthylazin	0,3	1,0	Terbuthylazin	0,4	1,3
Desisopropylatrazin **	2,2 (3,0)	7,3 (10)			
<u>Phosphorsäureester</u>					
Azinphos-methyl	0,4	1,3	Mevinphos (1. Isomer)	0,8	2,6
Diazinon	0,5	1,7	Mevinphos (2. Isomer)	0,8	2,6
Dichlorvos *	2	-	Parathion-ethyl	5,0	17
Dimethoat	0,2	0,7	Parathion-methyl	30	100
Etrimfos	0,3	1,0	Pyrazophos	0,3	1,0
Fenitrothion	30	100			
<u>Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige</u>					
Diuron	2,0	6,6	Oxamyl *	1	-
Teflubenzuron	3,0	10	Alachlor	1,5	5,0
Triasulfuron *	2	-	Bromacil	1,5	5,0
Aldicarb-sulfon *	4	-	Imidacloprid	0,6	2,0
Carbaryl *	0,5	-			

* Substanzen für die aufgrund der geringen Reproduzierbarkeit nur halbquantitative Angaben gemacht werden (vergl. Abschnitt 8.2) – keine Angabe einer Bestimmungsgrenze

** Ermittlung der NG und BG für einige Proben anhand des 2. Massenübergangs (Angabe in Klammern), vergl. Text

Für fast alle Substanzen lagen die NG bei Messung des 1. Massenübergangs im Bereich von 0,2 bis 5 ng/L, wobei sich für mehr als die Hälfte der Substanzen sehr niedrige Werte von < 1 ng/L ergaben (siehe Tabelle 6.3). Nur für Fenitrothion und Parathion-methyl waren die NG mit 30 ng/L deutlich größer. Damit ist die oben genannte Forderung von NG im unteren ng/L- und sub-ng/L-Bereich für fast alle Substanzen erfüllt. Ein Vergleich der NG mit den Zielvorgaben wird in Abschnitt 7.4.3 zusammen mit der Bewertung der Befunde in den Wasserproben der Elbe dargestellt.

Bei Messung des 2. Massenübergangs lagen die NG zwischen 0,5 und 8 ng/L (Ausnahme: 30 ng/L für Parathion-methyl und Fenitrothion) und damit im Vergleich zum 1. Massenübergang um den Faktor 1 bis 6 höher (siehe Anhang VI, Tabelle 12.3). Erst oberhalb dieser Werte erfolgt der Nachweis der Substanzen mit der erhöhten Identifizierungssicherheit, der durch die Messung eines zusätzlichen Massenübergangs erreicht wird. Unterhalb dieser Werte beruht der Nachweis auf den Identifizierungskriterien Retentionszeit und 1. Massenübergang, die in den meisten Fällen eine ausreichend hohe Selektivität für einen zuverlässigen Nachweis bieten.

Sonderfälle

Für die Wasserprobe aus der Bilinamündung (Elbelängsprofil) waren die NG und BG bei einigen Substanzen aufgrund der geringeren Signalintensität (vergl. Abschnitt 7.3.1) und/oder des stärkeren Rauschens etwas höher als die in Tabelle 6.3 angegebenen Werte (siehe Anhang IX, Tabelle 12.5).

Bei einigen Wasserproben traten in den Chromatogrammen des 1. Massenübergangs von Desiospropylatrazin Störsignale nahe beim Analytsignal auf. Für diese Proben wurden die anhand des 2. Massenübergangs ermittelten NG und BG herangezogen (siehe Tabelle 6.3 - Angabe in Klammern - und Anhang IX Tabelle 12.5).

Prüfung auf Verfahrensblindwerte

Durch Anreicherung von reinen Wasserproben wurde sichergestellt, dass keine Verfahrensblindwerte auftreten. Vereinzelt Blindwerte bei Mevinphos und Triasulfuron werden auf Substanzverschleppungen zurückgeführt und wurden bei der Ermittlung der NG und BG berücksichtigt.

6.4 Arbeitsbereich

Der Arbeitsbereich eines Analysenverfahrens entspricht dem Konzentrationsbereich des Analyten, in dem das Verfahren angewendet werden kann. Die untere Grenze des Arbeitsbereiches bildet die Nachweis- bzw. die Bestimmungsgrenze, die obere Grenze wird z.B. durch „Sättigungseffekte“ des Detektionssystems gesetzt. Häufig gibt es innerhalb des Arbeitsbereiches einen Bereich, in dem das Verhältnis zwischen Analyt-Konzentration und Signal der Detektion (Ansprechfunktion) durch eine lineare Funktion beschrieben werden kann. Schon aus praktischen Gründen wird im Allgemeinen angestrebt, im linearen Bereich zu arbeiten, da der Kalibrieraufwand geringer ist als bei nicht-linearen Ansprechfunktionen.

6.4.1 Arbeitsbereich der LC-MS/MS-Messung

Anhand der Messung von Standardlösungen (siehe Abschnitt 11.3.2) wurde der lineare Bereich der Ansprechfunktion der LC-MS/MS-Messung grob abgeschätzt, um beurteilen zu können, ob in dem angestrebten Kalibrierbereich mit einer linearen Kalibrierfunktion gearbeitet werden kann. Dazu wurden verschiedene Analyt-Mengen je einmal injiziert und die Linearität der Ansprechfunktion optisch beurteilt.

Im vorgesehenen Kalibrierbereich bis etwa 1200 pg* war die Ansprechfunktion für die meisten Substanzen linear. Dies wurde bei den Kalibrierungen für die verschiedenen Messreihen bestätigt. Für Desethylatrazin, Desethylterbutylazin, Desisopropylatrazin, Irgarol, Dimethoat war die Ansprechfunktion bis etwa 700 - 900 pg linear, bei höheren Mengen begann der Übergang in den nicht-linearen Bereich, wobei die Abweichung von der Linearität im Bereich von 1200 pg noch klein war (meist - 4 bis - 10%). Für die in Tabelle 6.1 genannten Substanzen zeigte die Ansprechfunktion bei Messung des 2. Massenübergangs bezüglich der Linearität das gleiche Verhalten wie bei Messung des 1. Massenübergangs.

Für die Kalibrierungen wurden Misch-Standardlösungen verwendet, deren Konzentrationen injizierten Massen von etwa 15, 45, 130, 400, 700 und 1200 pg entsprachen (vergl. Abschnitt 11.3.2, Tabelle 11.10). Bei einigen Substanzen kam noch eine 5 pg-Injektion dazu, z.T. wurde die 1200 pg-Injektion weggelassen. Bei Fenitrothion, Parathion-ethyl, -methyl und Teflubenzuron, die in der Messung die geringste Empfindlichkeit aufwiesen, entsprach der kleinste für die Kalibrierung verwendete Standard 45 bzw. 130 pg.

Für die Kalibrierung der APCI-Messung wurden Standardmengen zwischen 15 und 1200 pg injiziert (siehe oben). Die Kalibrierfunktionen aller untersuchten Substanzen waren in diesem Bereich linear, mit Ausnahme der für Triasulfuron, dessen Kalibrierfunktion nur bis 700 pg linear war. Für Fenitrothion und Parathion-methyl war die Empfindlichkeit der APCI-Messung in diesem Bereich zu gering, erst ab einer injizierten Masse von etwa 400 bis 700 pg waren die Signale auswertbar. Für Parathion-ethyl und Teflubenzuron war die Empfindlichkeit etwas besser, die Signale waren ab einer injizierten Masse von etwa 45 bis 130 pg auswertbar.

* Angaben der ungefähren Massen bei Mevinphos bezogen auf die Summe der beiden Isomere

6.4.2 Arbeitsbereich des Gesamtverfahrens

Anhand der Untersuchung von aufgestockten Wasserproben aus der Elbe (Serie X, siehe Abschnitt 6.1) wurde der Arbeitsbereich des Gesamtverfahrens hinsichtlich der Linearität der Ansprechfunktion überprüft. Dabei wurde entsprechend dem vorgesehenen Anwendungsbereich des Verfahrens nur ein relativ kleiner Konzentrationsbereich (Aufstockung von 5 bis 80 ng/L, siehe Tabelle 6.4) geprüft.

Tabelle 6.4: Linearität der Kalibrierfunktion des Gesamtverfahrens - Regressionskoeffizienten (R^2) und Konzentrationsbereich (Standard-Aufstockung + Gehalt der Elbewasserprobe), Serie X

	R^2	Konzentration (ng/L)		R^2	Konzentration (ng/L)
<u>Triazinderivate und deren Metabolite</u>					
Atrazin	0,99919	34 - 115	Irgarol	0,99932	2 - 83
Desethylatrazin	0,99978	14 - 96	Propazin	0,99972	< BG - 87
Desethylterbuthylazin	0,99980	3 - 84	Terbuthylazin	0,99943	6 - 88
Desisopropylatrazin	0,99995	< BG - 88			
<u>Phosphorsäureester</u>					
Azinphos-methyl	0,99991	5** - 85	Mevinphos (1. Isomer)	0,99949	5** - 21
Diazinon	0,99917	2 - 83	Mevinphos (2. Isomer)	0,99990	5** - 60
Dichlorvos	0,99913	5** - 78	Parathion-ethyl	0,99992*	5** - 84
Dimethoat	0,99981	1 - 83	Parathion-methyl	0,99809*	5** - 81
Etrimfos	0,99960	5** - 83	Pyrazophos	0,99976	5** - 78
Fenitrothion	0,99975*	5** - 82			
<u>Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige</u>					
Diuron	0,99975	13 - 96	Oxamyl	1,00000	5** - 83
Teflubenzuron	1,00000*	5** - 83	Alachlor	0,99819	14 - 96
Triasulfuron	0,99969	5** - 78	Bromacil	0,99996	5** - 80
Aldicarbulsulfon	0,99950	5** - 84	Imidacloprid	0,99997	< BG - 80
Carbaryl	0,99994	5** - 76			

Angabe des Konzentrationsbereiches: „Konzentration in der Originalprobe“ - „... + 80 ng/L“

Lineare Regression: vier Konzentrationen (jeweils Mittelwert aus 2 Proben) - Originalprobe aus der Elbe ohne Aufstockung und mit Aufstockung von ca. 5, 20 und 80 ng/L (bis auf Mevinphos),

* Ausnahmen: ohne kleinste Aufstockung (ca. 5 ng/L)

** Untergrenze: 5 ng/L = kleinste Aufstockung (Befund in der unaufgestockten Probe: < NG)

Ermittlung der Konzentration in der Originalprobe aus der Linearen Regression (entsprechend dem Verfahren der Standardaddition)

In Tabelle 6.4 sind die Regressionskoeffizienten R^2 (lineare Regression) der Ansprechfunktionen des Gesamtverfahrens (Signalfläche in Abhängigkeit von der aufgestockten Konzentration) dargestellt. Alle Substanzen wiesen in dem untersuchten Konzentrationsbereich eine sehr gute Linearität auf. D.h. die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens waren in diesem Konzentrationsbereich konstant. Daher kann bei der Quantifizierung die für eine Konzentration ermittelte Wiederfindungsrate für die Berechnung der Ergebnisse im gesamten Konzentrationsbereich verwendet werden (vergl. Abschnitt 7.3.2).

Bei Messung des 2. Massenübergangs wurden vergleichbare Regressionskoeffizienten ermittelt wie bei Messung des 1. Massenübergangs.

Einige Proben der Serie IX (jeweils eine Probe ohne Aufstockung und mit Aufstockung von 5, 20 und 80 ng/L) wurden ebenfalls mit der APCI gemessen. Dabei wurde für fast alle Substanzen eine gute Linearität erreicht, die Regressionskoeffizienten R^2 lagen über 0,99900, meistens über 0,99950 (Ausnahmen: 0,99848 - 0,99892 für Triasulfuron, Atrazin und Alachlor). Für Parathion-methyl und Fenitrothion war die Signalintensität mit der APCI für die Messung dieser Proben zu niedrig; für Parathion-ethyl war die Empfindlichkeit gerade ausreichend für die Messung der 20 ng/L- und 80 ng/L-Aufstockungen ($R^2 = 0,99547$).

6.5 Präzision

Die Präzision ist ein Maß für die zufällige Streuung der Ergebnisse eines Analysenverfahrens (zum Begriff Genauigkeit vergl. Abschnitt 6.1). Im „Glossary of Analytical Terms“ [98, 106] wird die Präzision folgendermaßen definiert: „Das Ausmaß der Übereinstimmung zwischen unabhängigen Messergebnissen, die unter festgelegten Bedingungen erhalten wurden.“

Die experimentellen Bedingungen sind frei wählbar und werden davon bestimmt, welche Aussage mit der Angabe der Präzision gemacht werden soll. Von der „Wiederholpräzision“ eines Analysenverfahrens spricht man, wenn die Messergebnisse unter folgenden Bedingungen ermittelt wurden: *derselbe* Bearbeiter, *dasselbe* Messinstrument, *derselbe* Ort, *dieselben* Versuchsbedingungen sowie Wiederholung innerhalb eines *kurzen Zeitintervalls* [107, 102].

6.5.1 Präzision der LC-MS/MS-Messung

Die Wiederholpräzision der LC-MS/MS-Messung wurde durch Messung von Standardlösungen (siehe Abschnitt 11.3.2) verschiedener Konzentrationen ermittelt. In Tabelle 6.5 sind die Ergebnisse als relative Standardabweichungen der Signale von zehn aufeinanderfolgenden Messungen für die Injektion von etwa 1250 und 50 pg angegeben.

Die relativen Standardabweichungen lagen für die meisten Substanzen zwischen 0,9 und 2,8%, Triasulfuron und Teflubenzuron wiesen Werte bis 3,5% auf. Bei Parathion-ethyl-, -methyl und Fenitrothion, die in der Messung die geringste Empfindlichkeit aufwiesen, lagen die Werte mit 3,1 bis 6,4% etwas höher (ohne die unterhalb der absoluten instrumentellen Nachweisgrenze liegenden 50 pg-Injektion bei Parathion-methyl).

Bei den Carbamaten (Aldicarb-sulfon, Carbaryl und Oxamyl) traten in der 50 pg-Messreihe sehr starke Schwankungen auf, die auch in einigen anderen Messreihen beobachtet wurden. In der 1250 pg-Messreihe traten diese Schwankungen nicht auf und mit 3,2 bis 4,2% lagen die relativen Standardabweichungen zwar etwas höher als für die anderen Substanzen, bewegten sich aber noch in einem akzeptablen Bereich. Die Ursache für diese unregelmäßig auftretenden Schwankungen ist unklar. Auffällig ist, dass Oxamyl und Carbaryl sich analog verhielten, d.h. dass die besonders starken Abweichungen für beide Substanzen das gleiche Vorzeichen hatten und in der gleichen Größenordnung lagen. Das Verhalten von Aldicarb-sulfon zeigte Ähnlichkeiten mit dem Verhalten der beiden anderen Substanzen.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die LC-MS/MS-Messung für alle Substanzen bis auf Aldicarb-sulfon, Carbaryl und Oxamyl sehr gute bis befriedigende Wiederholpräzisionen aufwies. Damit wurde die Eignung der LC-MS/MS-Messung als Detektionsmethode für das entwickelte Analysenverfahren unter dem Gesichtspunkt der Präzision belegt. Für die eigentliche Validierung des Analysenverfahrens sind diese Daten nicht relevant, da sie keine Aussagen über das Gesamtverfahren ermöglichen.

Tabelle 6.5: Wiederholpräzision der LC-MS/MS-Messung - relative Standardabweichungen des Signals (Peakfläche) bei der Messung einer Standardlösung

	RSD (n=10): ~ 1250 pg	RSD (n=10): ~ 50 pg		RSD (n=10): ~ 1250 pg	RSD (n=10): ~ 50 pg
<u>Triazinderivate und deren Metabolite</u>					
Atrazin	1,6%	1,4%	Irgarol	1,3%	1,8%
Desethylatrazin	1,5%	2,0%	Propazin	1,5%	1,4%
Desethylterbuthylazin	2,4%	1,4%	Terbuthylazin	1,0%	1,7%
Desisopropylatrazin	1,7%	2,8%			
<u>Phosphorsäureester</u>					
Azinphos-methyl	1,3%	2,4%	Mevinphos (1. Isomer)	2,2%	2,3%
Diazinon	0,9%	1,2%	Mevinphos (2. Isomer)	1,2%	2,5%
Dichlorvos	1,6%	2,8%	Parathion-ethyl	1,6%	5,5%
Dimethoat	1,8%	1,8%	Parathion-methyl	3,1%	(14%)**
Etrimfos	0,7%	1,1%	Pyrazophos	1,0%	2,2%
Fenitrothion	3,2%	6,4%			
<u>Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige</u>					
Diuron	1,7%	2,6%	Oxamyl	4,2%	(20%)*
Teflubenzuron	1,9%	3,5%	Alachlor	0,6%	1,4%
Triasulfuron	2,5%	3,2%	Bromacil	1,5%	2,2%
Aldicarb-sulfon	3,2%	(11%)*	Imidacloprid	2,5%	2,6%
Carbaryl	3,9%	(18%)*			

Injektion von ca. 1250 bzw. 50 pg (bei Mevinphos bezogen auf die Summe der beiden Isomere)

* starke Schwankungen innerhalb der Messreihe

** Parathion-methyl: Empfindlichkeit zu gering, 50 pg < absolute instrumentelle NG (58 pg)

Zur Ermittlung der Wiederholpräzision der Messung mit APCI wurden die Messungen von Wasserproben aus der Elbe (Serie IX und Elbelängsprofil) herangezogen. Als Maß für die Wiederholpräzision der Messung werden in diesem Fall die mittleren Abweichungen der Signale zweier aufeinanderfolgender Messungen angegeben. Für die in Tabelle 6.1 genannten Substanzen und Dimethoat lagen diese Abweichungen im Mittel bei 1,6 bis 4,4%. D.h. dass auch die APCI-Messung für diese Substanzen gute Präzisionen aufweist.

Für die Carbamate traten auch bei der Messung mit APCI in manchen Serien starke Schwankungen auf.

6.5.2 Präzision des Gesamtverfahrens

Reproduzierbarkeit innerhalb einer Serie (Wiederholpräzision)

Zur Ermittlung der Wiederholpräzision des Gesamtverfahrens wurden mit Standardlösungen aufgestockte Wasserproben aus der Elbe aufgearbeitet und gemessen. Dies wurde parallel für jeweils vier Aliquote der gleichen Wasserprobe und für zwei verschiedene Aufstockkonzentrationen (5 und 20 ng/L, siehe Anhang IV, Tabelle 12.2: Serie IX) durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6.6 als relative Standardabweichungen der Signale (Mittelwert zweier Messungen) dargestellt. Von den beiden Werten wurde jeweils der größere angegeben, welcher in den meisten Fällen der 5 ng/L-Aufstockung entsprach. Bei Teflubenzuron, Parathion-ethyl, -methyl und Fenitrothion wurden die Werte für die 20 ng/L-Aufstockung angegeben, da die Bestimmungsgrenzen dieser Substanzen oberhalb von 5 ng/L liegen (vergl Tabelle 6.3 in Abschnitt 6.3.2).

Tabelle 6.6: Wiederholpräzision des Gesamtverfahrens – relative Standardabweichungen der Signale (Peakflächen) innerhalb einer Serie bei paralleler Aufarbeitung und Messung von vier Aliquoten der gleichen Wasserprobe

	RSD (n=4)		RSD (n=4)
<u>Triazinderivate und deren Metabolite</u>			
Atrazin	2,1%	Irgarol	15%
Desethylatrazin	2,9%	Propazin	3,6%
Desethylterbuthylazin	3,4%	Terbuthylazin	2,1%
Desisopropylatrazin	2,7%		
<u>Phosphorsäureester</u>			
Azinphos-methyl	4,3%	Mevinphos (1. Isomer)	10%
Diazinon	2,6%	Mevinphos (2. Isomer)	3,0%
Dichlorvos	12%	Parathion-ethyl	4,8%*
Dimethoat	3,5%	Parathion-methyl	6,1%*
Etrimfos	2,6%	Pyrazophos	2,3%
Fenitrothion	6,3%*		
<u>Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige</u>			
Diuron	2,8%	Oxamyl	3,8%
Teflubenzuron	1,9%*	Alachlor	3,3%
Triasulfuron	18%	Bromacil	4,0%
Aldicarbulfon	2,6%	Imidacloprid	5,3%
Carbaryl	3,4%		

Peakflächen: jeweils Mittelwert zweier Messungen

Serie IX (Konzentration der Aufstockung ca. 5 und 20 ng/L (bei Mevinphos bezogen auf die Summe der beiden Isomere) – vergl. Anhang IV, Tabelle 12.2; jeweils Angabe der größten RSD der beiden Aufstockungen (* mit Ausnahme von Fenitrothion, Parathion-methyl, Parathion-ethyl und Teflubenzuron: RSD für 20 ng/L, da NG > 5 bzw. 20 ng/L))

Die Wiederholpräzision des Gesamtverfahrens lag für die meisten Substanzen zwischen 2,1 und 5,3%. Für einige Substanzen lagen die Werte deutlich höher, und zwar für Mevinphos 1. Isomer (10%), Dichlorvos (12%), Irgarol (15%) und Triasulfuron (18%).

Für die in Tabelle 6.1 genannten Substanzen entsprachen die Wiederholpräzisionen bei Auswertung des 2. Massenübergangs ungefähr den in Tabelle 6.6 dargestellten Werten. Dies zeigt, dass die Unsicherheit bei der Messung des 2. Massenübergangs einer Substanz in der gleichen Größenordnung liegt wie bei der Messung des 1. Massenübergangs.

Für einige Substanzen waren die Werte für die Wiederholpräzision unerwartet klein in Anbetracht der Tatsache, dass die Konzentrationen, für die diese Werte ermittelt wurden, unterhalb der Nachweis- oder der Bestimmungsgrenzen lagen. Dies gilt für Fenitrothion und Parathion-methyl mit Wiederholpräzisionen von etwa 6% bei einer Konzentration von 20 ng/L, die deutlich unterhalb der in Tabelle 6.3 angegebenen Nachweisgrenzen von 30 ng/L liegt. Ebenso gilt dies für Teflubenzuron und Parathion-ethyl mit Wiederholpräzisionen von etwa 6% für die 5 ng/L-Aufstockung (nicht in Tabelle 6.6 angegeben), die deutlich unterhalb der Bestimmungsgrenzen von 10 bzw. 17 ng/L liegt. Dieser scheinbare Widerspruch hat seine Ursache darin, dass die NG und BG nicht anhand von Präzisionsdaten, sondern auf der Grundlage des Signal-Rausch-Verhältnisses der LC-MS/MS-Messung und allgemeinen statistischen Annahmen ermittelt wurden und die Abschätzung sehr großzügig erfolgte.

Die in Tabelle 6.6 dargestellten Daten für die Wiederholpräzision des Gesamtverfahrens wurden bei der Berechnung der Messunsicherheit verwendet (siehe Abschnitt 8.2).

Reproduzierbarkeit mehrerer Serien

Als Maß für die Streuung der Ergebnisse verschiedener Serien sind in Tabelle 6.7 die relativen Standardabweichungen der Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens dreier Serien angegeben. Diese wurden anhand der Untersuchung von aufgestockten Wasserproben der Elbe ermittelt. Folgende experimentelle Bedingungen wichen von denen zur Ermittlung der Wiederholpräzision des Gesamtverfahrens ab:

- a) Vergleich von drei verschiedenen Serien über einen längeren Zeitraum (etwa drei Monate),
- b) in jeder Serie neues Probenmaterial (jeweils frisch entnommene Wasserproben aus der Elbe von der gleichen Probennahmestelle bei Geesthacht-Tesperhude),
- c) Konzentration der Aufstockung 20 ng/L in Serie IX und X, variabel in Serie VIII (siehe Abschnitt 5.6.1 und Anhang IV, Tabelle 12.2),
- d) Vergleich anhand der Wiederfindungsraten anstelle der Signale (Peakflächen).

Die relativen Standardabweichungen der Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens der drei Serien lagen für die meisten Substanzen zwischen 0,9 und 9,2%. Etwas höhere Werte wiesen Irgarol mit 16% und Mevinphos 2. Isomer mit 15% auf.

Sehr starke Abweichungen zwischen den Serien (RSD > 23%) traten bei Aldicarbulsulfon, Oxamyl, Triasulfuron, Mevinphos 1. Isomer, Dichlorvos und Carbaryl auf. In diesen starken Abweichungen drückt sich einerseits eine geringe Reproduzierbarkeit des Analysenverfahrens aus. Andererseits kann sich in den Werten auch die Variabilität des Matrixeinflusses auf die Anreicherung oder die Messung widerspiegeln, da für die drei Serien jeweils andere Proben verwendet wurden, deren Zusammensetzung sich möglicherweise unterscheidet.

Tabelle 6.7: Präzision des Gesamtverfahrens – relative Standardabweichungen der Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens mehrerer Serien (Serien VIII, IX und X; Aufarbeitung und Messung unterschiedlicher Wasserproben der gleichen Probennahmestelle)

	RSD (n=3)		RSD (n=3)
<u>Triazinderivate und deren Metabolite</u>			
Atrazin	6,0%	Irgarol	16%
Desethylatrazin	9,2%	Propazin	3,2%
Desethylterbuthylazin	5,5%	Terbuthylazin	3,4%
Desisopropylatrazin	8,4%		
<u>Phosphorsäureester</u>			
Azinphos-methyl	3,9%	Mevinphos (1. Isomer)	27%
Diazinon	0,9%	Mevinphos (2. Isomer)	15%
Dichlorvos	64% (14%)*	Parathion-ethyl	5,6% (3,1%)*
Dimethoat	8,4%	Parathion-methyl	4,1% (0,1%)*
Etrimfos	2,1%	Pyrazophos	6,6%
Fenitrothion	1,3% (0,9%)*		
<u>Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige</u>			
Diuron	2,4% (1,5%)*	Oxamyl	23%
Teflubenzuron	7,2% (1,0%)*	Alachlor	2,3%
Triasulfuron	55% (5,8%)*	Bromacil	3,2%
Aldicarbulsulfon	27%	Imidacloprid	3,4% (2,1%)*
Carbaryl	26%		

Konzentration der Aufstockung Serie IX und X: ca. 20 ng/L (bei Mevinphos bezogen auf die Summe der beiden Isomere), Serie VIII variabel, meist 5 - 80 ng/L - vergl. Anhang IV, Tabelle 12.2

** Konzentration der Aufstockung von Serie VIII höher als 80 ng/L (außerhalb des überprüften Arbeitsbereiches): Dichlorvos 133 ng/L, Fenitrothion 420 ng/L, Parathion-ethyl 132 ng/L, Parathion-methyl 150 ng/L, Triasulfuron 167 ng/L, Teflubenzuron 277 ng/L, Imidacloprid 115 ng/L → Angabe des RSD der drei Serien und zusätzlich in Klammern Angabe der Abweichung vom Mittelwert von Serie IX und X - vergleiche dazu Text in Abschnitt 5.6.1*

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Präzision des Gesamtverfahrens für die meisten Substanzen sowohl innerhalb einer Serie als auch zwischen mehreren Serien sehr gute bis befriedigende Werte aufwies. Damit wurde die Eignung des entwickelten Analysenverfahrens für den Einsatz zur Quantifizierung dieser Substanzen unter dem Gesichtspunkt der Präzision belegt. Für Irgarol und Mevinphos 2. Isomer gilt dies nur eingeschränkt, hier traten etwas stärkere Schwankungen auf als bei den anderen Substanzen. Bei Aldicarb-sulfon, Oxamyl, Triasulfuron, Mevinphos 1. Isomer, Dichlorvos und Carbaryl traten sehr deutliche Schwankungen auf, so dass die Quantifizierung dieser Substanzen mit einer sehr großen Unsicherheit verbunden ist. Eine endgültige Bewertung der Eignung des Analysenverfahrens für die Quantifizierung der untersuchten Substanzen erfolgt anhand der für das Gesamtverfahren ermittelten, umfassenden Messunsicherheit (siehe Abschnitt 8.2).

6.6 Haltbarkeit der Analyte in den Wasserproben

Während der Untersuchung der Wasserproben des Elbelängsprofils (siehe Kapitel 7) mussten die Proben aus praktischen Gründen vor der Anreicherung bis zu zwei Tagen im Kühlschrank gelagert werden. Daher wurde im Rahmen der Validierung die Haltbarkeit der Analyte in den Wasserproben überprüft. Dazu wurden 4 L einer filtrierten Wasserprobe aus der Elbe bei Geesthacht-Tesperhude mit Standardlösung (siehe Abschnitt 11.3.2) aufgestockt. Die Aufstockung entsprach einer Konzentration in der Wasserprobe von etwa 20 ng/L (bei Mevinphos bezogen auf die Summe der beiden Isomere). Je 2 x 1 L dieser Probe wurden sofort und nach zweitägiger Lagerung im Kühlschrank angereichert. Die Acetonitril-Eluate aus der Festphasen-Extraktion der zuerst angereicherten Wasserproben wurden im Tiefkühlfach gelagert und zusammen mit den später angereicherten Proben weiter aufgearbeitet und gemessen. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Tabelle 6.8 als Abweichungen der Signale (Peakflächen) aus der Messung der zwei Tage gelagerten Proben vom Mittelwert aller vier Proben dargestellt.

Tabelle 6.8: Haltbarkeit der Analyte in einer aufgestockten Wasserprobe – Abweichung der Signale (Peakfläche) aus der Messung der zwei Tage gelagerten Proben vom gemeinsamen Mittelwert (MW) aller vier Proben (siehe unten)

	Abweichung vom MW		Abweichung vom MW
<u>Triazinderivate und deren Metabolite</u>			
Atrazin	- 2,1%	Irgarol	0,0%
Desethylatrazin	- 2,4%	Propazin	- 2,3%
Desethylterbuthylazin	- 2,2%	Terbuthylazin	- 2,4%
Desisopropylatrazin	+ 9,2%		
<u>Phosphorsäureester</u>			
Azinphos-methyl	- 1,2%	Mevinphos (1. Isomer)	- 3,9%
Diazinon	- 1,2%	Mevinphos (2. Isomer)	- 3,0%
Dichlorvos	- 8,2%	Parathion-ethyl	- 3,6%
Dimethoat	- 0,7%	Parathion-methyl	- 8,0%
Etrimfos	- 1,0%	Pyrazophos	- 3,1%
Fenitrothion	+ 0,4%		
<u>Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige</u>			
Diuron	- 3,4%	Oxamyl	+ 3,9%
Teflubenzuron	- 7,9%	Alachlor	- 1,9%
Triasulfuron	+ 8,2%	Bromacil	- 1,7%
Aldicarb-sulfon	+ 6,1%	Imidacloprid	- 3,1%
Carbaryl	- 2,1%		

4 L Wasserprobe aus der Elbe (filtriert) mit Standardlösung aufgestockt (entsprechend einer Konzentration von etwa 20 ng/L in der Wasserprobe (bei Mevinphos bezogen auf die Summe der beiden Isomere)), 2 x 1 L sofort angereichert und 2 x 1 L nach zweitägiger Lagerung im Kühlschrank angereichert, gemeinsame Messung; Peakflächen: jeweils Mittelwert zweier Messungen

Die Abweichungen lagen für die meisten Substanzen zwischen 0,0 und $\pm 3,9\%$. Stärkere Abweichungen von + 6 bis 9% bzw. - 8% traten bei Desisopropylatrazin, Triasulfuron und Aldicarb-sulfon bzw. Dichlorvos, Parathion-methyl und Teflubenzuron auf. Auch diese stärkeren Abweichungen lagen noch im Rahmen der in Abschnitt 6.5.2 ermittelten Präzision des Gesamtverfahrens, wie im Folgenden gezeigt wird. Die experimentellen Bedingungen dieser Untersuchung lagen zwischen den Bedingungen zur Ermittlung der Wiederholpräzision und der Präzision mehrerer Serien (Vergleich zwischen zwei Serien, mittlerer Zeitraum von zwei Tagen, gleiches Probenmaterial). D.h. als Präzisionsangabe ist eine relative Standardabweichung anzunehmen, die zwischen den in den Tabellen 6.6 und 6.7 angegebenen Werten liegt. Durch Multiplikation der relativen Standardabweichung mit einem Faktor von 2 resultiert ein Wert, der etwa der maximalen Abweichung eines Einzelwertes vom Mittelwert entspricht. Die oben genannten Abweichungen liegen innerhalb dieser aus den Präzisionsdaten abgeschätzten Spannweiten und lassen sich somit als Streuung der Ergebnisse interpretieren.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass im Rahmen dieser Überprüfung keine eindeutigen Hinweise auf eine Zersetzung der Analyte in den Wasserproben bei zweitägiger Lagerung im Kühlschrank festgestellt wurden. Stärkere Abweichungen der Ergebnisse, die auf eine Zersetzung hindeuten könnten, ließen sich im Rahmen der Präzision des Verfahrens als Streuung erklären. Allerdings war der Umfang dieser Überprüfung nicht ausreichend groß, um eindeutige statistische Aussagen machen zu können.

6.7 Stabilität der Messung

Mit dem Ziel, die Stabilität der Messung, d.h. das Gleichbleiben der Empfindlichkeit, zu kontrollieren, wurden bei allen Messreihen im Verlauf der Messung von Proben zusätzlich zu den Kalibrierungen in regelmäßigen Abständen Standardlösungen (Qualitätskontroll- oder QK-Standards) mitgemessen. Als Beispiel werden die Ergebnisse der QK-Messungen, die im Verlauf der Messung der Proben des Elbelängsprofils gemacht wurden, dargestellt. Dieses Beispiel wurde ausgewählt, da diese Messreihe mit einer Dauer von 5,5 Tagen die umfangreichste der in der vorliegenden Arbeit gemachten Messreihen war.

Die Konzentration der verwendeten Standardlösung entsprach einer injizierten Masse von 400 pg und lag im mittleren Bereich der Kalibriergerade (etwa 5 bis 1200 pg).^{*} Die Messung des QK-Standards erfolgte in der Regel nach der Messung von jeweils sechs Proben, also etwa alle 6,5 Stunden. Während der Messreihe wurden insgesamt 16 QK-Messungen und vier Kalibrierungen gemacht.

In Tabelle 6.9 sind die Ergebnisse der QK-Messungen und der Messungen der entsprechenden Kalibrierstandards als relative Standardabweichungen und als Spannweiten (Differenz zwischen maximalem und minimalem Wert bezogen auf den Mittelwert) der Signale (Peakflächen) dargestellt. Außerdem wurde als Maß für die Drift die Differenz der Mittelwerte der Signale der letzten vier und der ersten vier Messungen angegeben.

Für die meisten Substanzen lagen die relativen Standardabweichungen zwischen 2,1 und 5,7% und die Spannweiten zwischen 7,3 und 22%. In der Spannweite zeigte sich neben zufälligen Schwankungen eine Drift der Messwerte, die hauptsächlich im Verlauf der ersten beiden Messtage zwischen der ersten und zweiten Kalibrierung auftrat. Mit Ausnahme von drei Substanzen (Atrazin, Desethylatrazin und Alachlor) handelte es sich um eine Empfindlichkeitsabnahme. Die Beträge der Drift lagen für die meisten Substanzen zwischen 2,5 und 12%. Bei Parathion-methyl waren die Schwankungen etwas größer als bei den anderen Substanzen, vermutlich aufgrund der geringeren Empfindlichkeit.

Bei den Carbamaten (Aldicarb-sulfon, Carbaryl und Oxamyl) traten sehr starke Schwankungen der Messwerte auf, die relativen Standardabweichungen und die Spannweiten erreichten sehr hohe Werte. Bei Carbaryl und Oxamyl trat außerdem eine sehr deutliche Drift von etwa - 20% auf. Diese starken Schwankungen zeigten sich bereits in Abschnitt 6.5.1 bei der Ermittlung der Wiederholpräzision der LC-MS/MS-Messung.

* - Im Verlauf der Messreihe wurde zweimal eine neue, frisch angesetzte Standardlösung eingesetzt. Die Konzentrationen dieser beiden Lösungen wichen um - 0,2 und + 0,4% von der Konzentration der ersten Lösung ab. Dies wurde bei der Berechnung der in Tabelle 6.9 dargestellten Daten nicht berücksichtigt.
- Angaben der ungefähren Massen bei Mevinphos bezogen auf die Summe der beiden Isomere

Tabelle 6.9: Stabilität der ESI-Messung - Messreihe: Elbelängsprofil (Dauer: 5,5 Tage) - relative Standardabweichungen, Spannweiten und Drift der Signale (Peakflächen) aus der Messung der 16 Qualitätskontroll-Standards und der 4 Kalibrierstandards der entsprechenden Konzentration

	RSD (n=20)	Spann- weite	Drift		RSD (n=20)	Spann- weite	Drift
<u>Triazinderivate und deren Metabolite</u>							
Atrazin	2,3%	7,8%	+ 2,5%	Irgarol	2,2%	7,9%	- 3,4%
Desethylatrazin	3,9%	13%	+ 9,5%	Propazin	4,9%	19%	- 12%
Desethylterbuthylazin	3,0%	12%	- 4,3%	Terbuthylazin	4,8%	19%	- 11%
Desisopropylatrazin	2,9%	12%	- 4,7%				
<u>Phosphorsäureester</u>							
Azinphos-methyl	2,4%	8,0%	- 3,8%	Mevinphos (1. Isomer)	3,1%	14%	- 6,2%
Diazinon	2,1%	7,3%	- 5,2%	Mevinphos (2. Isomer)	3,1%	13%	- 6,4%
Dichlorvos	5,7%	22%	- 12%	Parathion-ethyl	3,6%	14%	- 4,1%
Dimethoat	5,3%	19%	- 12%	Parathion-methyl	7,8%	32%	- 6,5%*
Etrimfos	2,8%	9,4%	- 5,8%	Pyrazophos	2,8%	11%	- 5,5%
Fenitrothion	4,3%	17%	- 7,5%				
<u>Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige</u>							
Diuron	4,4%	16%	- 10%	Oxamyl	13%	54%	- 19%*
Teflubenzuron	3,6%	13%	- 6,6%	Alachlor	2,4%	9,3%	+ 6,1%
Triasulfuron	3,9%	14%	- 6,9%	Bromacil	5,1%	20%	- 11%
Aldicarb-sulfon	21%	70%	-	Imidacloprid	3,2%	11%	- 5,7%
Carbaryl	12%	49%	- 25%*				

siehe Fußnote vorherige Seite

Spannweite = Differenz des max. und min. Wertes (bezogen auf den MW aller Messungen)

Drift = Differenz der Mittelwerte der letzten vier und der ersten vier Messungen (bezogen auf den MW dieser acht Messungen)

* Drift anhand der letzten und ersten fünf Messungen berechnet, da stark schwankende Werte

grau unterlegt: Substanzen, bei denen sehr starke Schwankungen auftraten

Aldicarb-sulfon: keine Drift, sehr starke Schwankungen der Messwerte

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass für alle Substanzen, mit Ausnahme der Carbamate, in Anbetracht der Dauer der Messung und der großen Anzahl der gemessenen Realproben die Stabilität der Messung als gut eingestuft werden kann. Die dargestellten relativen Standardabweichungen wurden bei der Berechnung der Messunsicherheit verwendet (siehe Abschnitt 8.2).

Eine Auswahl der Wasserproben des Elbelängsprofils wurde auch mit der APCI gemessen. In dieser Messreihe, die etwa 1,5 Tage dauerte, wurden zwei Kalibrierungen gemacht und fünf QK-Standards gemessen. Für die in Tabelle 6.1 genannten Substanzen und Dimethoat sind die Ergebnisse in Tabelle 6.10 als relative Standardabweichungen und als Drift der Signale (Peakfläche) dargestellt. In diesem Fall wurde die Drift als Differenz der Signale der letzten und der ersten Messung angegeben.

Tabelle 6.10: Stabilität der APCI-Messung - Messreihe: Elbelängsprofil (ausgewählte Proben, Dauer 1,5 Tage) - relative Standardabweichungen und Drift der Signale (Peakflächen) aus der Messung der 5 Qualitätskontroll-Standards und der 2 Kalibrierstandards der entsprechenden Konzentration

	RSD (n=7)	Drift		RSD (n=7)	Drift
<i><u>Triazinderivate und deren Metabolite</u></i>					
Atrazin	6,8%	- 20%	Desisopropylatrazin	5,3%	- 17%
Desethylatrazin	6,5%	- 20%	Irgarol	3,9%	- 12%
Desethylterbuthylazin	5,6%	- 17%	Terbuthylazin	5,0%	- 14%
<i><u>Phosphorsäureester</u></i>					
Diazinon	5,9%	- 18%	Dimethoat	5,9%	- 19%
<i><u>Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige</u></i>					
Diuron	3,6%	- 9,8%	Alachlor	8,0%	- 25%

Drift = Differenz der Signale der letzten und der ersten Messung (= Kalibrierung 2 und 1) (bezogen auf den MW aller Messungen), für alle Substanzen gleich der Spannweite

In der betrachteten APCI-Messreihe zeigten die Kalibrierungen und die QK-Messungen eine starke Drift von - 10 bis - 25%. Dadurch lagen auch die relativen Standardabweichungen mit 3,6 bis 8,0% hoch im Vergleich zu den oben dargestellten Ergebnissen der wesentlich längeren ESI-Messreihe. D.h. die Stabilität war für diese APCI-Messreihe deutlich schlechter als für die ESI-Messreihe. Für eine allgemeine Bewertung der Stabilität von APCI-Messungen und einen allgemeinen Vergleich mit ESI-Messungen ist die Datenmenge allerdings nicht ausreichend. Für die Quantifizierung der gemessenen Proben zu Vergleichszwecken (siehe Abschnitt 7.5.2) war die Stabilität der APCI-Messung ausreichend gut.

6.8 Deuterierte Substanzen für die interne Qualitätskontrolle

Mit Hilfe von Atrazin-D5 und Diazinon-D10 als internen Standards wurde eine „interne Qualitätskontrolle“ durchgeführt (Näheres dazu siehe Abschnitt 5.7). Im Rahmen der Untersuchungen zur Validierung (Serie IX und X) wurden die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für Atrazin-D5 und Diazinon-D10 in allen untersuchten Wasserproben der Elbe bestimmt. Tabelle 6.11 und die Abbildungen 6.5 und 6.6 zeigen die Ergebnisse zusammen mit den Ergebnissen der entsprechenden Proben für die undeuterten Substanzen. Die Standardaufstockungen entsprachen einer Konzentration in der Wasserprobe von etwa 20 ng/L für die deuterierten Substanzen und 5, 20 bzw. 80 ng/L für die undeuterten Substanzen.

Tabelle 6.11: Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens und Retentionszeiten der deuterierten Substanzen (Atrazin-D5 und Diazinon-D10) im Vergleich mit den Werten der entsprechenden undeuterten Substanzen (Serien IX und X)

	Wiederfindungsrate des Gesamtverfahrens					Retentionszeit (min)		
	Wasserproben aus der Elbe				Reines W.	Wasserproben aus der Elbe		
	MW	MW	RSD	RSD	MW (n=2)	MW	MW	Differenz MW (min - max)
	IX	X	IX	X	IX	IX	X	IX und X
Atrazin-D5	78%	75%**	2,8%	3,2%**	5,0%	18,24	18,25	0,12
Atrazin	68%*	75%*	7,7%*	5,2%*	5,0%	18,36	18,37	(0,11 - 0,15)
Diazinon-D10	89%	86%**	3,4%	3,3%**	0,2%	28,49	28,48	0,25
Diazinon	85%	81%**	3,3%	5,9%**	0,05%	28,74	28,73	(0,22 - 0,28)

siehe auch Abbildung 6.5 und 6.6

Wasserproben aus der Elbe bei Geesthacht-Tesperhude, Reines W. = Reine Wasserproben
Konzentration der Aufstockung ca. 20 ng/L für die deuterierten Substanzen, ca. 5 / 20 / 80 ng/L für die undeuterten Substanzen (plus Konzentration in den Wasserproben der Elbe, siehe Text)

* ohne „low“-Proben, ** ohne Probe „Elbe X low 1“ (low = 5 ng/L-Aufstockung)

Die relativen Standardabweichungen der Wiederfindungsraten innerhalb einer Serie lagen für die deuterierten Substanzen bei max. 3,5% (gerundet) (ohne die Probe „Elbe X low 1“ – siehe unten). Aus diesem Wert wurden die Grenzen für die interne Qualitätskontrolle bei der Untersuchung der Wasserproben des Elbelängsprofils abgeleitet (siehe Abschnitt 7.2).

Die Wiederfindungsrate von Diazinon-D10 lag in der Serie X für die Probe „Elbe X low 1“ deutlich unter denen der anderen Proben (52% anstelle 86%, siehe Abbildung 6.6). Daher wurde die Probe als fehlerhaft eingestuft und nicht bei der Berechnung der in Tabelle 6.11 angegebenen Daten einbezogen (für alle Substanzen). Bei Atrazin-D5 war dagegen kein deutlicher Unterschied zwischen den Wiederfindungsraten dieser Probe (70%) und dem Mittelwert der anderen Proben (75%) erkennbar.

Die Wiederfindungsraten der undeuterten Substanzen stimmten im Rahmen der Streubreiten gut mit denen der deuterten Substanzen überein, mit Ausnahme von Atrazin in der Serie IX, dort lagen die Werte niedriger als bei Atrazin-D5. Bei diesem Vergleich ist allerdings zu beachten, dass die Wiederfindungsraten für die undeuterten Substanzen aufgrund der in den unaufgestockten Wasserproben auftretenden Gehalte dieser Substanzen durch Differenzbildung aus zwei Proben (aufgestockte minus unaufgestockte Probe) berechnet wurden. Für die deuterten Substanzen erfolgte die Berechnung nur anhand der aufgestockten Probe, da diese Substanzen erwartungsgemäß nicht in den Wasserproben der Elbe vorkamen. Für Atrazin waren die Werte der Wiederfindungsraten aufgrund der hohen Gehalte in den Wasserproben (60 bzw. 34 ng/L in Serie IX bzw. X) daher mit größeren Ungenauigkeiten behaftet als bei Atrazin-D5. Dies gilt vor allem für die 5 ng/L-Aufstockung (low), bei der die Werte deutlich niedriger lagen als für die anderen Aufstockungen und als für Atrazin-D5 (siehe Abbildung 6.5). Bei Diazinon lagen die Gehalte in den Wasserproben nur bei 3 bzw. 2 ng/L, die Wiederfindungsraten konnten daher mit höherer Genauigkeit bestimmt werden. Wie bei Diazinon-D10 lag die Wiederfindungsrate von Diazinon für die Probe „Elbe X low 1“ deutlich unter denen der anderen Proben.

Anhand der Wiederfindungsraten der Probe „Elbe X low 1“ lässt sich erkennen, dass in diesem Fall die beiden Substanzen Atrazin-D5 und Diazinon-D10 die gesamte Substanzgruppe gut repräsentierten: Bei Atrazin-D5, fast allen im vorderen und den meisten im mittleren Teil des Chromatogramms eluierenden Substanzen stimmten die Wiederfindungsraten der Probe „Elbe X low 1“ gut mit den Werten der anderen Proben überein.* Bei Diazinon-D10, Diazinon und den spät-eluierenden Substanzen waren die Wiederfindungsraten der Probe „Elbe X low 1“ wesentlich kleiner als die der anderen Proben. D.h. es traten bei dieser Probe für einige Substanzen starke Abweichungen auf, die sich auch bei einem der beiden internen Standards, Diazinon-D10, zeigten. Aufgrund dieses unterschiedlichen Verhaltens von Atrazin-D5 und Diazinon-D10 ist die Kombination dieser beiden Substanzen gut für die interne Qualitätskontrolle geeignet (zur Auswahl der beiden Substanzen vergl. Abschnitt 5.7).

Der Vergleich der Retentionszeiten (Tabelle 6.11) zeigt, dass die deuterten Substanzen jeweils etwas früher eluierten als die undeuterten Substanzen. Die Differenz lag im Mittel bei 0,12 min (7,2 s) für Atrazin und bei 0,25 min (15 s) für Diazinon. Dies zeigt, dass selbst zwischen der deuterten und der undeuterten Form einer Substanz schon deutliche Unterschiede im physikalisch-chemischen Verhalten auftreten können. D.h. auch bei Verwendung der deuterten Substanz als internem Standard zur Kontrolle oder Korrektur substanzabhängiger Effekte muss überprüft werden, ob das Verhalten dem der undeuterten Substanz entspricht.

* Bei Atrazin stimmten die Signale (Peakflächen) aus der Messung der beiden Proben „Elbe X low 1“ und „...low 2“ gut überein, die Wiederfindungsraten beider Proben wichen stark von den Werten der anderen Proben ab (zur Ungenauigkeit der Werte für die Wiederfindungsraten von Atrazin siehe Text).

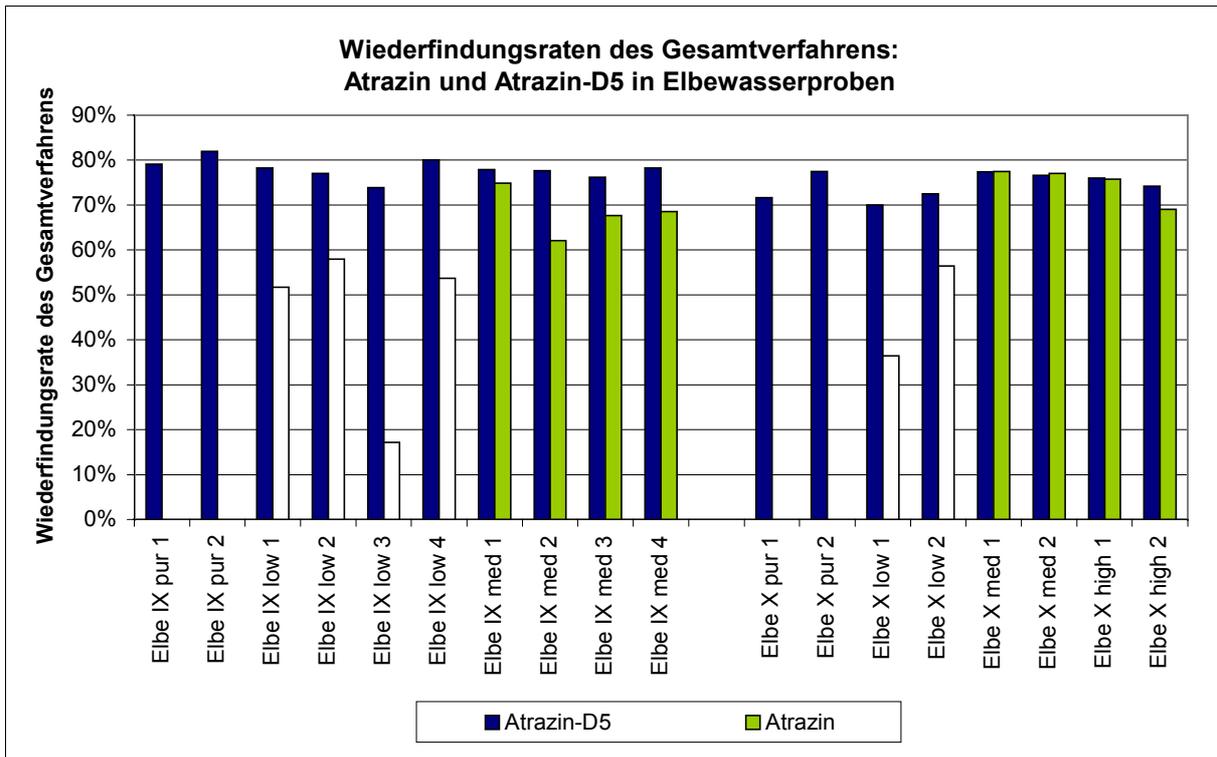


Abbildung 6.5: Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens von Atrazin-D5 und Atrazin für Wasserproben aus der Elbe - (Serien IX und X, siehe auch Tabelle 6.11)
farblos dargestellt: Werte für Atrazin, die mit einer großen Ungenauigkeit behaftet sind (siehe Text)

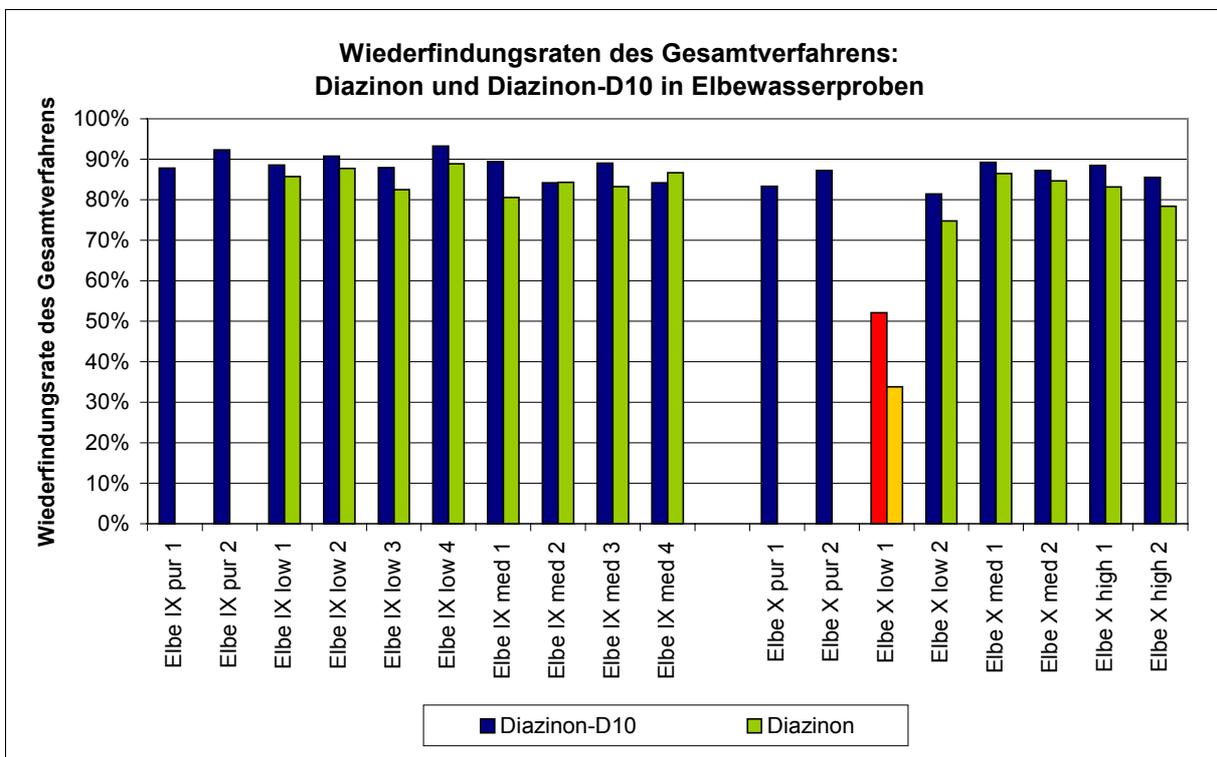


Abbildung 6.6: Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens von Diazinon-D10 und Diazinon für Wasserproben aus der Elbe - (Serien IX und X, siehe auch Tabelle 6.11)
Probe „Elbe X low 1“ stark abweichende Wiederfindungsraten → fehlerhaft (siehe Text)

Konzentration der Aufstockung ca. 20 ng/L für die deuterierten Substanzen, ca. 5 / 20 / 80 ng/L (low / med / high) für die undeuterierten Substanzen (plus Konz. in den Wasserproben der Elbe, siehe Text)

6.9 Zusammenfassung der Ergebnisse der Validierung

Die Ergebnisse der Validierung zeigen, dass für den Großteil der Substanzen die zu Beginn dieses Kapitels formulierten Anforderungen an das Analysenverfahren erfüllt werden. Im Folgenden werden die Ergebnisse der Validierung einschließlich der Messunsicherheit (siehe Abschnitt 8.2) zusammenfassend dargestellt.

Identifizierung / Selektivität

Das in der vorliegenden Arbeit entwickelte Analysenverfahren weist durch die Anwendung dreier Identifizierungskriterien (Retentionszeit, 1. und 2. Massenübergang) eine hohe Selektivität auf. Dadurch können Störungen bei der Identifizierung der Analyte innerhalb der untersuchten Substanzgruppe ausgeschlossen werden. Störungen aus der Probenmatrix können grundsätzlich nicht ausgeschlossen werden, die hohe Selektivität des Verfahrens verringert aber die Wahrscheinlichkeit des Auftretens derartiger Störungen. Somit können die Analyte in Realproben mit hoher Wahrscheinlichkeit eindeutig identifiziert werden.

Nachweisgrenzen des Gesamtverfahrens

Die Nachweisgrenzen des Gesamtverfahrens liegen bei Auswertung des 1. Massenübergangs für fast alle Substanzen zwischen 0,2 und 5 ng/L und bei Auswertung des 2. Massenübergangs zwischen 0,5 und 8 ng/L (Ausnahmen: Fenitrothion und Parathion-methyl, jeweils 30 ng/L für beide Massenübergänge). Damit ist die Forderung nach Nachweisgrenzen im unteren ng/L-Bereich oder im sub-ng/L-Bereich erfüllt. Unter der Annahme, dass die Identifizierungskriterien Retentionszeit und 1. Massenübergang in den meisten Fällen eine ausreichend hohe Selektivität für einen zuverlässigen Nachweis bieten, wurden die Nachweisgrenzen entsprechend den erstgenannten Werten angegeben. Ein Vergleich mit den Zielvorgaben bzw. Effektkonzentrationen der untersuchten Substanzen erfolgt in Abschnitt 7.4.3.

Arbeitsbereich des Gesamtverfahrens

Der Arbeitsbereich des Gesamtverfahrens ist für alle Analyte im untersuchten Bereich bis etwa 80 ng/L linear. Bei einigen Substanzen liegt die Obergrenze des untersuchten Arbeitsbereiches etwas höher (bis zu 115 ng/L für Atrazin). Für Mevinphos liegen die Obergrenzen des untersuchten Arbeitsbereiches bei 20 ng/L für das 1. Isomer und bei 60 ng/L für das 2. Isomer.

Wiederfindungsraten und Präzision des Gesamtverfahrens. Stabilität der Messung und Messunsicherheit

Die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens werden bestimmt durch die Wiederfindungsraten der Messung und der Anreicherung (vergl. Abschnitt 5.1). Die Wiederfindungsraten der Messung liegen zwischen 65 und 100%, für vier Fünftel der Substanzen liegen sie zwischen 80 und 100%. Die Wiederfindungsraten der Anreicherung liegen für drei Viertel der Substanzen zwischen 70 und 110%. Für die meisten Substanzen liegen die Werte für die

Wiederholpräzision des Gesamtverfahrens zwischen 2,1 und 5,3% (angegeben als RSD der Signalfächen) und die Abweichungen der Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens zwischen verschiedenen Serien zwischen 0,9 und 9,2% (angegeben als RSD der Wiederfindungsraten dreier Serien). Diese Ergebnisse zeigen, dass das Analysenverfahren für den Großteil der untersuchten Substanzen gut geeignet ist.

In Tabelle 6.12 sind die Substanzen dargestellt, deren Ergebnisse für das Gesamtverfahren auf eine weniger gute Eignung des Analysenverfahrens, insbesondere des Anreicherungsverfahrens, hinweisen. Bis auf Carbaryl weisen die dargestellten Substanzen sehr niedrige Wiederfindungsraten der Anreicherung auf (16 bis 56% in Serie VIII; siehe Abschnitt 5.6.1), was zu den in der Tabelle dargestellten niedrigen Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens führt. Für Irgarol, Mevinphos 1. Isomer, Dichlorvos und Triasulfuron liegen die Werte für die Wiederholpräzision des Gesamtverfahrens mit 10 bis 18% wesentlich höher als für die übrigen untersuchten Substanzen. Mit Ausnahme von Irgarol und Mevinphos 2. Isomer weisen die in Tabelle 6.12 genannten Substanzen sehr starke Abweichungen der Wiederfindungsraten zwischen den Serien auf, in welchen sich neben einer geringen Reproduzierbarkeit des Verfahrens möglicherweise auch ein mit den Proben variierender Matrixeinfluss ausdrückt. Bei der Untersuchung der Wasserproben des Elbelängsprofils wiesen die Wiederfindungsraten für alle Substanzen bis auf Carbaryl ähnliche Schwankungsbreiten auf (siehe Abschnitt 7.3.1). Diese teilweise schlechten Werte der Präzision des Gesamtverfahrens führen für einige Substanzen zu einer großen Messunsicherheit (siehe unten und Abschnitt 8.2).

Tabelle 6.12: Auswahl einiger Ergebnisse der Validierung - Substanzen mit sehr niedrigen Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens bzw. geringerer Reproduzierbarkeit des Gesamtverfahrens

	Wiederfindungsraten Gesamtverfahren Mittelwert Serien VIII, IX, X	Wiederholpräzision Gesamtverfahren RSD Serie IX (n = 4)	Abweichungen zwischen den Serien Gesamtverfahren RSD Serien VIII, IX, X
Irgarol	53%	15%	16%
Mevinphos 2. Isomer	61%	3,0%	15%
Mevinphos 1. Isomer	55%	10%	27%
Dichlorvos	53% / 16%	12%	64% (14%)
Triasulfuron	39% / 12%	18%	55% (5,8%)
Aldicarbulsulfon	27%	2,6%	27%
Oxamyl	50%	3,8%	23%
Carbaryl	95%	3,4%	26%

Auswahl einiger Ergebnisse aus den Tabellen 6.6 und 6.7 (Details zu den Angaben siehe dort)

Mit Hilfe der Messung von QK-Standards konnte für alle Analyte eine gute Stabilität der Empfindlichkeit während längerer Messreihen nachgewiesen werden. Die Carbamate (Aldicarbulfon, Oxamyl und Carbaryl) müssen allerdings von dieser Aussage ausgenommen werden. Bei diesen Substanzen traten immer wieder stark abweichende Messwerte auf, was schon bei der Bestimmung der Wiederholpräzision der LC-MS/MS-Messung beobachtet wurde. Dies gilt auch für die Messung mit APCI. Diese unregelmäßig auftretenden Schwankungen in der Messung führen zu einer großen Messunsicherheit bei der Bestimmung der Carbamate (siehe unten und Abschnitt 8.2).

In Abschnitt 8.2 wird die Ermittlung einer umfassenden Messunsicherheit der Ergebnisse für die Wasserproben des Elbelängsprofils dargestellt. Bei der Berechnung dieser Messunsicherheit wurden u.a. die Wiederholpräzision des Gesamtverfahrens, die Streuung der für die Wasserproben des Elbelängsprofils ermittelten Wiederfindungsraten, die Stabilität der Messung und die Schwankungen in der Empfindlichkeit der Kalibrierungen einbezogen. Für drei Viertel der Substanzen liegt die erweiterte Messunsicherheit ($k = 2$) im Bereich von 14 - 27%. Diese Ergebnisse zeigen, dass das Verfahren für die Quantifizierung des Großteils der untersuchten Substanzen in Flusswasserproben gut geeignet ist.

Von den in Tabelle 6.12 genannten Substanzen können Irgarol, Mevinphos 1. und 2. Isomer mit guten bis befriedigenden Präzisionen bestimmt werden (erweiterte Messunsicherheit 41%, 37% bzw. 25%^{*}). Für die übrigen in Tabelle 6.12 genannten Substanzen erweist sich das Analysenverfahren als schlecht geeignet. Bei Dichlorvos, Triasulfuron, Aldicarbulfon, Carbaryl und Oxamyl liegt die Messunsicherheit aufgrund der schlechten Präzision des Gesamtverfahrens und/oder der Schwankungen bei der Messung so hoch, dass für diese Substanzen nur halb-quantitative Angaben gemacht werden können (vergl. Abschnitt 8.2)

Haltbarkeit der Analyte in den Wasserproben

Die Überprüfung der Haltbarkeit der Analyte in den Wasserproben liefert keine Hinweise auf die Zersetzung von Analyten bei zweitägiger Lagerung im Kühlschrank.

Deuterierte Standards für die interne Qualitätskontrolle

Für die deuterierten Substanzen, die als interne Standards eingesetzt wurden, lagen die relativen Standardabweichungen der Wiederfindungsraten innerhalb einer Serie bei max. 3,5%. Aus diesem Wert wurden die Grenzen für die interne Qualitätskontrolle bei der Untersuchung der Wasserproben des Elbelängsprofils abgeleitet (siehe Abschnitt 7.2).

* Bei der Ermittlung der Messunsicherheit für Mevinphos wurde der systematische Fehler, der bei der Bestimmung des Isomerenverhältnisses im verwendeten Standard gemacht wurde, nicht berücksichtigt (vergl. Abschnitt 5.2, Abschnitt 8.2 und Abschnitt 11.4)

2. Massenübergang (quantitative Auswertung)

Der Arbeitsbereich des Gesamtverfahrens ist für alle untersuchten Substanzen auch bei Messung des 2. Massenübergangs im untersuchten Bereich bis etwa 80 ng/L linear. Die Wiederholpräzision des Gesamtverfahrens ist für die in Tabelle 6.1 genannten Substanzen bei Auswertung des 2. Massenübergangs vergleichbar mit den Werten für den 1. Massenübergang. D.h. die mit der Messung des 2. Massenübergangs verbundene Unsicherheit liegt in der gleichen Größenordnung wie für den 1. Massenübergang, und damit in einem Bereich, der einen sinnvollen Vergleich ermöglicht. Damit sind die Voraussetzungen erfüllt, um die Ergebnisse des 2. Massenübergangs zu Vergleichszwecken heranzuziehen (siehe Abschnitt 7.5.1).

APCI (quantitative Auswertung)

Der Arbeitsbereich des Gesamtverfahrens ist für alle untersuchten Substanzen auch bei Messung mit APCI im untersuchten Bereich bis etwa 80 ng/L linear. Für Parathion-methyl, -ethyl und Fenitrothion ist die Empfindlichkeit für die Messung der aufgestockten Wasserproben mit der APCI zu niedrig.

In Abschnitt 7.5.2 wird für einige Wasserproben des Elbelängsprofils ein Vergleich zwischen den Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für die Messung mit ESI und mit APCI dargestellt. Mit der APCI liegen die Werte für vier Fünftel der Substanzen über 70%, bei einigen Substanzen liegen sie sogar deutlich über 100%. Die Schwankungsbreiten der Wiederfindungsraten sind bei der Messung mit ESI und mit APCI für fast alle Substanzen etwa gleich groß.

Die Messung mit APCI weist gute Präzisionen auf, die Abweichungen zweier aufeinanderfolgender Messungen liegen für die in Tabelle 6.1 genannten Substanzen und Dimethoat im Mittel bei 1,6 bis 4,4%. Die Stabilität der Empfindlichkeit war für die in Tabelle 6.1 genannten Substanzen und Dimethoat bei der APCI-Messung der Wasserproben des Elbelängsprofils aufgrund einer relativ starken Drift von - 10 bis - 25% wesentlich schlechter als bei der ESI-Messung.

Anhand dieser Ergebnisse lässt sich grob abschätzen, dass die Messunsicherheit für die Ergebnisse der APCI-Messungen etwa in der gleichen Größenordnung liegt, wie bei der ESI-Messung, und damit in einem Bereich, der einen sinnvollen Vergleich ermöglicht. Damit sind die Voraussetzungen erfüllt, um die Ergebnisse der APCI-Messungen zu Vergleichszwecken heranzuziehen (siehe Abschnitt 7.5.2).

7 ERGEBNISSE EINES ELBELÄNGSPROFILS

Das in der vorliegenden Arbeit entwickelte Analysenverfahren wurde für die Untersuchung von Wasserproben aus der Elbe eingesetzt. Die Ergebnisse werden im Folgenden beschrieben. Der erste Abschnitt beinhaltet Angaben zur Herkunft der Proben und zur Durchführung der Untersuchung. Der zweite Abschnitt befasst sich mit den Ergebnissen der internen Qualitätskontrolle anhand der deuterierten Standardsubstanzen. Die für die untersuchten Wasserproben ermittelten Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens werden im dritten Abschnitt dargestellt, in dem auch das Vorgehen bei der quantitativen Auswertung erläutert wird. Anschließend werden die in den Wasserproben ermittelten Konzentrationen dargestellt und mit den Zielvorgaben der Substanzen und Daten aus der Literatur verglichen. Der letzte Abschnitt befasst sich mit der Absicherung der Ergebnisse durch die Auswertung des 2. Massenübergangs bzw. durch die Messung einiger Proben mit der APCI-Quelle. Außerdem werden die Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle und die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für die Messung mit APCI dargestellt.

7.1 Allgemeines

Vom 20. bis 22. August 2001 wurde von der Wassergütestelle Elbe in Hamburg eine Hub-schrauber-Beprobung des gesamten Elbeverlaufs vom Ästuar bis zum Quellbereich durchgeführt. Die Wasserproben wurden aus dem Flussverlauf und aus Nebenflüssen kurz vor der Einmündung in die Elbe entnommen. Von 31 Probennahmestellen (siehe Tabelle 7.1 und Anhang VII, Abbildung 12.16) wurden die Wasserproben nach dem in der vorliegenden Arbeit entwickelten Verfahren auf Pestizide untersucht.

Zur Untersuchung der Variabilität des Matrixeinflusses im Verlauf der Elbe (vergl. Abschnitt 5.7) wurden für 15 der 31 Wasserproben (siehe Tabelle 7.1 und Anhang VII, Abbildung 12.16) die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens bestimmt. Dazu wurden diese Proben einmal ohne und einmal mit Aufstockung eines Standardgemisches der Analyte in einer Konzentration von etwa 20 ng/L* aufgearbeitet (Ergebnisse siehe Abschnitt 7.3).

Für die interne Qualitätskontrolle (siehe Abschnitt 5.7) wurden alle Proben vor der Anreicherung mit einem Gemisch von Atrazin-D5 und Diazinon-D10 (16 bzw. 20 ng/L) aufgestockt (Ergebnisse siehe Abschnitt 7.2). Für alle Wasserproben wurden Einfachbestimmungen durchgeführt.

* bei Mevinphos bezogen auf die Summe der beiden Isomere

Tabelle 7.1: Elbelängsprofil - Liste der Probennahmestellen mit Angabe der Fluss-km (unterstrichen: Probennahmestellen, bei denen die Wasserproben zusätzlich mit Standardaufstockung untersucht wurden)

Bundesrepublik Deutschland		Tschechische Republik	
<u>Vogelsander Norderelbe</u>	Ästuar	Dobcivice, linkes Ufer	- 20 km
<u>Tonne 53 (oberhalb Ostemündung)</u>	704 km	<u>Bilinamündung</u>	- 38 km
Tonne 91 (Kollmar)	665 km	Ohremündung	- 65 km
<u>Seemannshöft (Hamburg)</u>	629 km	Berkovice, linkes Ufer	- 104 km
<u>Bunthaus Spitze (Hamburg)</u>	609 km	Moldaumündung (Vltavamündung)	- 109 km
<u>Geesthacht, Strommitte</u>	586 km	Obristvi	- 116 km
<u>Schnackenburg, rechtes Ufer</u>	475 km	Jizeramündung	- 141 km
Hinzdorf, rechtes Ufer	449 km	<u>Lysa</u>	- 151 km
Havelmündung	438 km	<u>Valy</u>	- 228 km
Tangermünde, linkes Ufer	389 km	<u>Filirovice Verdek</u>	- 314 km
<u>Magdeburg, linkes Ufer</u>	318 km		
Schönebeck, linkes Ufer	312 km		
<u>Saalemündung</u>	291 km		
Breitenhagen, linkes Ufer	287 km		
<u>Muldemündung</u>	260 km		
Wittenberg, rechtes Ufer	214 km		
Schwarze Elster, Mündung	199 km		
<u>Dommitzsch, linkes Ufer</u>	173 km		
Zehren, rechtes Ufer	90 km		
Zehren, linkes Ufer	90 km		
<u>Schmilka, linkes Ufer</u>	4 km		

*Angabe der Fluss-km nach der deutschen Stromkilometrierung (Grenze zur Tschechischen Republik = 0 km), Fluss-km für die Tschechische Republik von der Grenze zu Deutschland an als negative Werte angegeben; Filirovice Verdek liegt etwa 60 km vom Quellbereich entfernt
Flussmündungen = Probennahme in Nebenflüssen kurz vor der Einmündung in die Elbe*

7.2 Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle mit deuterierten Standardsubstanzen

Mit Hilfe von Atrazin-D5 und Diazinon-D10 als internen Standards wurde eine „interne Qualitätskontrolle“ durchgeführt (Näheres dazu siehe Abschnitt 5.7).

In den Abbildungen 7.1 und 7.2 sind für alle Wasserproben (mit und ohne Standardaufstockung) des Elbelängsprofils die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens von Atrazin-D5 und Diazinon-D10 dargestellt. In den Diagrammen sind jeweils der Mittelwert der Wiederfindungsraten aller Proben und die Streugrenzen, innerhalb derer die Werte liegen sollen, markiert. Die Streugrenzen wurden im Rahmen der Untersuchungen zur Validierung ermittelt (siehe Abschnitt 6.8). Dort traten relative Standardabweichungen (RSD) der Wiederfindungsraten von maximal 3,5% auf (Anzahl der Proben 7 - 10). Entsprechend den Warn- und Eingriffsgrenzen einer Shewhart-Regelkarte [108] wurden für die Streugrenzen die zwei- und dreifache RSD (7,0 und 10,5%) festgelegt. Weichen die Werte mehr als die dreifache RSD vom Mittelwert ab, entsprechen sie nicht den festgelegten Qualitätsanforderungen.

Bei Atrazin-D5 lagen fast alle Werte innerhalb der inneren Streugrenze (2 RSD), kein Wert lag außerhalb der äußeren Streugrenze (3 RSD). Bei Diazinon-D10 streuten die Werte etwas stärker; zwei Werte lagen außerhalb der äußeren Streugrenze. Diese Werte gehören zu den Proben aus Magdeburg (mit und ohne Standardaufstockung), d.h. diese Proben entsprachen nicht den festgelegten Qualitätsanforderungen und die Ergebnisse dieser Proben müssen kritisch betrachtet werden. Aufgrund der relativ geringen Abweichungen vom Mittelwert (17 bzw. 12%) wurden diese Proben aber nicht aus der Gesamtbetrachtung herausgenommen. Da die Abweichungen nur bei Diazinon-D10 und nicht bei Atrazin-D5 auftraten, ist zu vermuten, dass nur ein Teil der Substanzen, wahrscheinlich die später-eluierenden, davon betroffen war (vergl. Abschnitt 6.8).

Für alle anderen Proben zeigten die Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle, dass bei der Bearbeitung keine gravierenden Abweichungen oder Fehler aufgetreten waren.

Die Wasserproben aus der Bilinamündung unterschieden sich deutlich von den anderen Wasserproben. Für diese Proben wichen die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens bei vielen Analyten deutlich von denen der anderen Proben ab (vergl. Abschnitt 7.3). Bei Atrazin-D5 und Diazinon-D10 konnten keine entsprechenden Abweichungen festgestellt werden, die Werte lagen im Rahmen der Streugrenzen.

In Tabelle 7.2 werden die Mittelwerte und die relativen Standardabweichungen (RSD) der Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens von Atrazin-D5 und Diazinon-D10, die im Rahmen der Untersuchungen zur Validierung und während der Messung der Wasserproben des Elbelängsprofils ermittelt wurden, gegenübergestellt. Die Mittelwerte stimmten gut überein, die RSD lagen bei der Untersuchung der Proben des Elbelängsprofils etwas höher.

Tabelle 7.2: Vergleich der Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens der internen Standards für die Proben des Elbelängsprofils (ELP) und die Untersuchungen zur Validierung (Serien IX und X)

	Wiederfindungsrate des Gesamtverfahrens					
	Mittelwert			RSD		
	ELP (n=46)	IX (n=10)	X (n=7)	ELP (n=46)	IX (n=10)	X (n=7)
Atrazin-D5	73%	78%	75%	3,8%	2,8%	3,2%
Diazinon-D10	84%	89%	86%	5,0%	3,4%	3,3%

7.3 Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens und Vorgehensweise bei der Auswertung

7.3.1 Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens

Für 15 der 31 Wasserproben des Elbelängsprofils (siehe Tabelle 7.1) wurden die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens ermittelt. (Konzentration der Aufstockung etwa 20 ng/L* - exakte Konzentrationsangaben siehe Anhang IV, Tabelle 12.2)

Die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens sind für alle Substanzen und alle aufgestockten Wasserproben des Elbelängsprofils in Anhang VIII, Tabelle 12.4 zusammengefasst. Tabelle 7.3 zeigt die Mittelwerte und die relativen Standardabweichungen für die einzelnen Substanzen. In Abbildung 7.3 sind beispielhaft die Werte aller Proben für fünf Substanzen dargestellt. Die gezeigten Verläufe sind typisch für die meisten untersuchten Substanzen. Entgegen den Erwartungen blieben die Wiederfindungsraten über den gesamten Verlauf der Elbe einschließlich der untersuchten Flussmündungen und des Ästuarbereiches weitgehend konstant. Nur die Probe aus der Bilinamündung wies für viele Substanzen deutlich niedrigere Wiederfindungsraten auf (siehe Tabelle 7.3). Diese Probe unterschied sich auch stark von den anderen Proben. Schon der Geruch liess erkennen, dass diese Probe aus dem Einzugsgebiet der Abwassereinleitung einer chemischen Fabrik stammt. Anstelle des typischen Flusswassergeruchs, hatte diese Probe einen unangenehmen Geruch „nach Chemie“.

* bei Mevinphos bezogen auf die Summe der beiden Isomere

Tabelle 7.3: Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens – Mittelwert (MW) und relative Standardabweichung (RSD) der Wasserproben des Elbelängsprofils (ohne Bilinamündung), Wert für die Bilinamündung, MW und RSD aus den Untersuchungen zur Validierung anhand von Wasserproben der Elbe aus Geesthacht-Tesperhude (Serien VIII, IX, X)

	Wiederfindungsrate des Gesamtverfahrens				
	Elbelängsprofil		Bilinamdg.	Validierung: Geesth.-Tesp.	
	MW	RSD		MW	RSD
<u>Triazinderivate und deren Metabolite</u>					
Atrazin	78%	9,0%	66%	73%	6,0%
Desethylatrazin	63%	8,1%	55%	59%	9,2%
Desethylterbuthylazin	66%	3,8%	55%*	69%	5,5%
Desisopropylatrazin	44%	8,6%	29%*	42%	8,4%
Irgarol	52%	13%	52%	53%	16%
Propazin	73%	3,6%	61%*	76%	3,2%
Terbuthylazin	70%	6,6%	50%*	73%	3,4%
<u>Phosphorsäureester</u>					
Azinphos-methyl	65%	3,5%	55%*	72%	3,9%
Diazinon	83%	6,1%	68%	84%	0,9%
Dichlorvos	54%	35%	58%	53% / 16%**	64% (14%)**
Dimethoat	59%	3,4%	51%*	59%	8,4%
Etrimfos	86%	6,1%	78%	87%	2,1%
Fenitrothion	75%	6,6%	61%	76% / 77%**	1,3% (0,9%)**
Mevinphos (1. Isomer)	64%	13%	73%	55%	27%
Mevinphos (2. Isomer)	65%	11%	67%	61%	15%
Parathion-ethyl	55%	9,5%	47%	58% / 57%**	5,6% (3,1%)**
Parathion-methyl	78%	7,5%	62%	87% / 81%**	4,1% (0,1%)**
Pyrazophos	68%	5,9%	53%*	73%	6,6%
<u>Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige</u>					
Diuron	65%	4,3%	48%*	68% / 67%**	2,4% (1,5%)**
Triasulfuron	30%	31%	27%	39% / 12%**	55% (5,8%)**
Teflubenzuron	69%	12%	63%	73% / 65%**	7,2% (1,0%)**
Aldicarb-sulfon	28%	21%	18%	27%	27%
Carbaryl	99%	5,4%	88%	95%	26%
Oxamyl	47%	20%	25%	50%	23%
Alachlor	81%	4,4%	70%	83%	2,3%
Bromacil	68%	4,0%	57%*	72%	3,2%
Imidacloprid	55%	4,8%	43%*	68% / 69%**	3,4% (2,1%)**

grau unterlegt: Substanzen mit starken Abweichungen der Wiederfindungsraten

* Wiederfindungsrate Bilinamündung nach Grubbs-Test als Ausreißer eingestuft (siehe auch Tab. 7.4)

Daten der Validierung : siehe Abschnitt 5.6.1, Abbildung 5.13 und Abschnitt 6.5.2, Tabelle 6.7

** Konzentration der Aufstockung von Serie VIII höher als 80 ng/L (außerhalb des überprüften Arbeitsbereiches) → Angabe des Mittelwertes der beiden Serien IX und X (links) und des Einzelwertes von Serie VIII (rechts), → Angabe des RSD der drei Serien und zusätzlich in Klammern Angabe der Abweichung vom Mittelwert von Serie IX und X

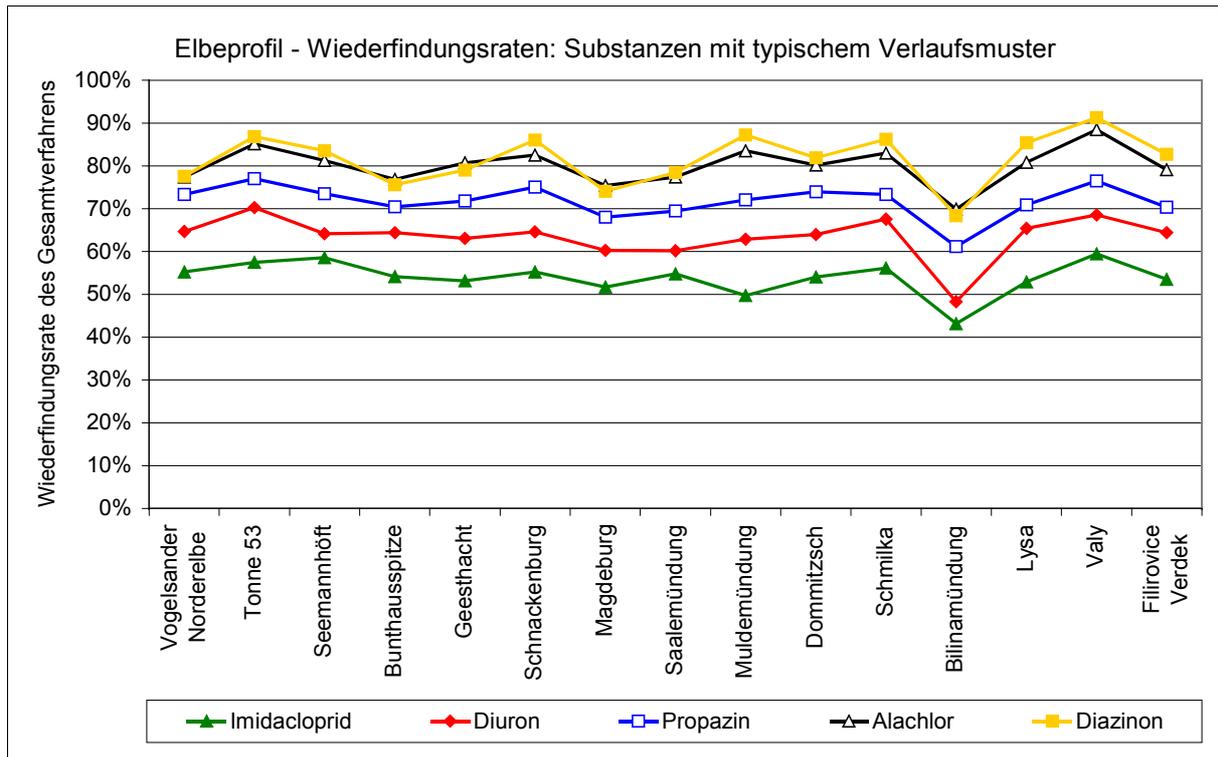


Abbildung 7.3: Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für Wasserproben über den gesamten Verlauf der Elbe, beispielhafte Substanzauswahl

Die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens wurden für jede Substanz mit Hilfe eines statistischen Tests, dem Grubbs-Test (vergl. Anhang XI), auf Ausreißer untersucht. Die als Ausreißer eingestuft Proben sind in Tabelle 7.4 dargestellt, in Klammern wird jeweils die Abweichung des Ausreißers vom Mittelwert des zu prüfenden Datensatzes (einschließlich des Ausreißers) angegeben. Bei einigen Substanzen wurden nach Eliminierung des ersten Ausreißers aus dem Datensatz weitere Werte als Ausreißer eingestuft.

Der Wert für die Bilinamündung wurde bei 10 von 27 Substanzen als Ausreißer eingestuft. Darüberhinaus wurden bei fünf Substanzen vereinzelt weitere Proben als Ausreißer eingestuft (siehe Tabelle 7.4 und Abbildung 7.4). Teilweise waren die Abweichungen dieser Werte vom Mittelwert nicht groß, aber aufgrund der geringen Schwankungsbreite des Datensatzes wurden die Werte als Ausreißer eingestuft (Dimethoat – Vally, Terbutylazin – Vally und Magdeburg; Abweichung vom Mittelwert bis 11%). Nur vier Wiederfindungsraten wiesen deutliche Abweichungen vom Mittelwert auf (Desisopropylatrazin – Vogelsander Norderelbe, Atrazin – Vally, Terbutylazin – Tonne 53, Irgarol – Dommitzsch; Abweichung vom Mittelwert 18 bis 32%). Die anhand der Proben aus Magdeburg ermittelten Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens wiesen keine signifikanten Abweichungen auf, sie wurden nur bei einer Substanz (Terbutylazin), neben drei anderen Proben, als Ausreißer eingestuft.

Tabelle 7.4: Wasserproben des Elbelängsprofils – nach dem Grubbs-Test als Ausreißer eingestufte Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens (in Klammern: Abweichung vom Mittelwert)

Wiederfindungsrate des Gesamtverfahrens: Ausreißer	
<u>Triazinderivate und deren Metabolite</u>	
Desethylterbutylhazin	Bilinamündung (-16%)
Desisopropylatrazin	Bilinamündung (-32%), Vogelsander Nordereibe (22%)
Atrazin	Valy (27%)
Irgarol	Dommitzsch (-32%)
Propazin	Bilinamündung (-15%)
Terbutylhazin	Bilinamündung (-27%), Tonne 53 (18%), Valy (11%), Magdeburg (-7,4%)
<u>Phosphorsäureester</u>	
Azinphos-methyl	Bilinamündung (-15%)
Dimethoat	Bilinamündung (-13%), Valy (8,7%)
Pyrazophos	Bilinamündung (-20%)
<u>Harnstoffderivate und Sonstige</u>	
Diuron	Bilinamündung (-24%)
Bromacil	Bilinamündung (-15%)
Imidacloprid	Bilinamündung (-20%)

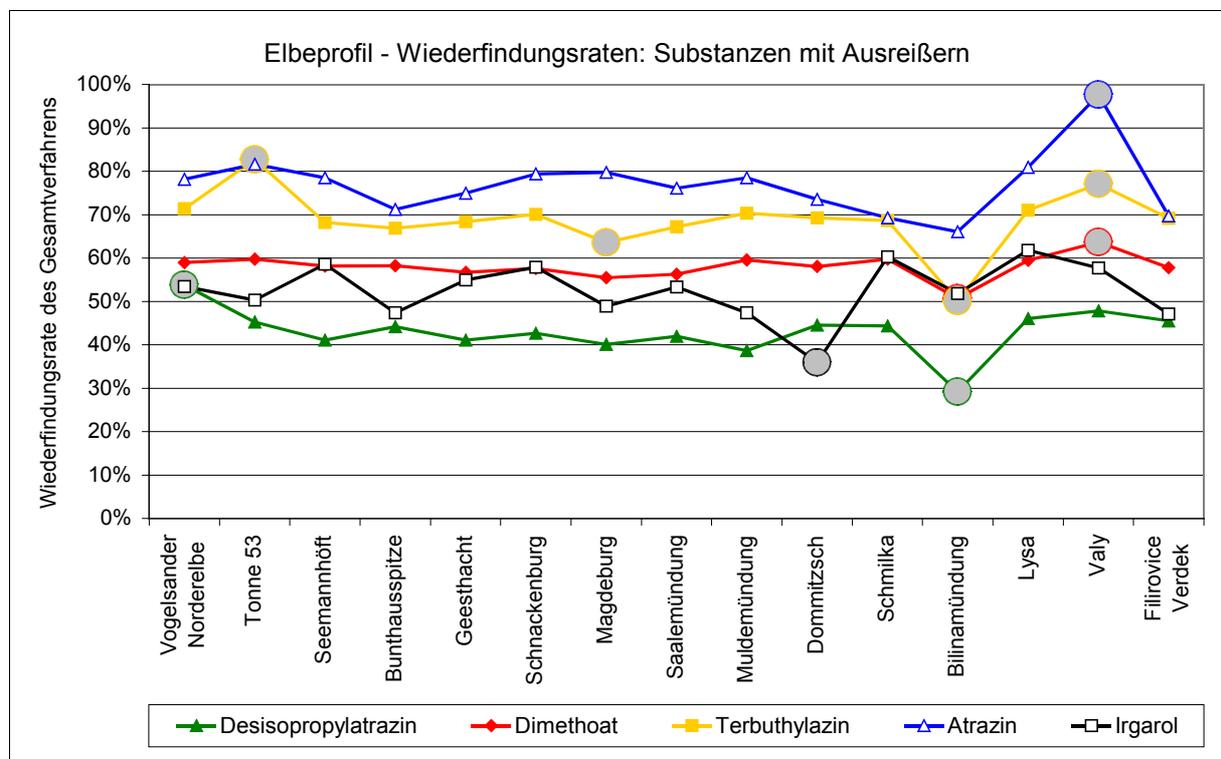


Abbildung 7.4: Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für Wasserproben des Elbelängsprofils; Substanzen, die außer der Probe aus der Bilinamündung noch weitere Ausreißer aufwiesen (Ausreißer als große Punkte markiert); Grubbs-Ausreißertest

Aufgrund der häufig deutlich niedrigeren Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens, die bei etwa zwei Fünftel der Substanzen als Ausreißer eingestuft wurden, und des stark von den anderen Proben abweichenden Geruchs wurde die Probe aus der Bilinamündung als gesonderte Probe betrachtet. Für alle anderen Proben wurden aufgrund dieser Ergebnisse die Variationen in den Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens als mit der Probenaufarbeitung und Messung verbundene Abweichungen interpretiert und nicht als unterschiedliche Einflüsse der Probenmatrices. Auch die vier als Ausreißer eingestuften, stärker abweichenden Werte wurden aufgrund ihrer geringen Anzahl entsprechend interpretiert.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die für die Wasserproben des Elbelängsprofils (mit Ausnahme der Probe aus der Bilinamündung) ermittelten Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens bei allen Analyte ebenso wie bei den beiden deuterierten Standards weitgehend konstant blieben und keine Tendenzen aufwiesen (Ausnahmen: Aldicarb-sulfon, Oxamyl, Triasulfuron und Dichlorvos - siehe unten). Die Mittelwerte der Wiederfindungsraten für das Elbelängsprofil (ohne Bilinamündung) stimmten sehr gut mit den im Rahmen der Validierung ermittelten Wiederfindungsraten überein (Mittelwert aus drei Serien, siehe Tabelle 7.3). Die Abweichungen betragen maximal 9%, mit Ausnahme von Dichlorvos (33%; siehe unten), Imidacloprid (- 20%) und Mevinphos 1. Isomer (16%).

Diese Ergebnisse zeigen, dass der Einfluss der Probenmatrix auf die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für die Mehrzahl der untersuchten Substanzen nur wenig variiert, obwohl zu erwarten ist, dass sich die Matrices der Proben über den Verlauf der Elbe vom Quell- bis zum Ästuarbereich und in den Nebenflüssen deutlich unterscheiden.

Substanzen mit starken Schwankungen der Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens

Bei Aldicarb-sulfon, Oxamyl, Triasulfuron und Dichlorvos variierten die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens über den Verlauf der Elbe sehr stark (siehe Abbildung 7.5 und Tabelle 7.3), die relativen Standardabweichungen (ohne die Wasserprobe aus der Bilinamündung) betragen 20 bis 35%. Auch im Rahmen der Validierung wurden bei diesen Substanzen sehr starke Schwankungen beobachtet (siehe Tabelle 7.3 oder Abschnitt 6.5.2). In diesen Werten kann sich einerseits eine geringe Reproduzierbarkeit des Verfahrens und andererseits die Variabilität des Matrixeinflusses der verschiedenen Proben auf die Anreicherung und die Messung dieser Analyte ausdrücken.

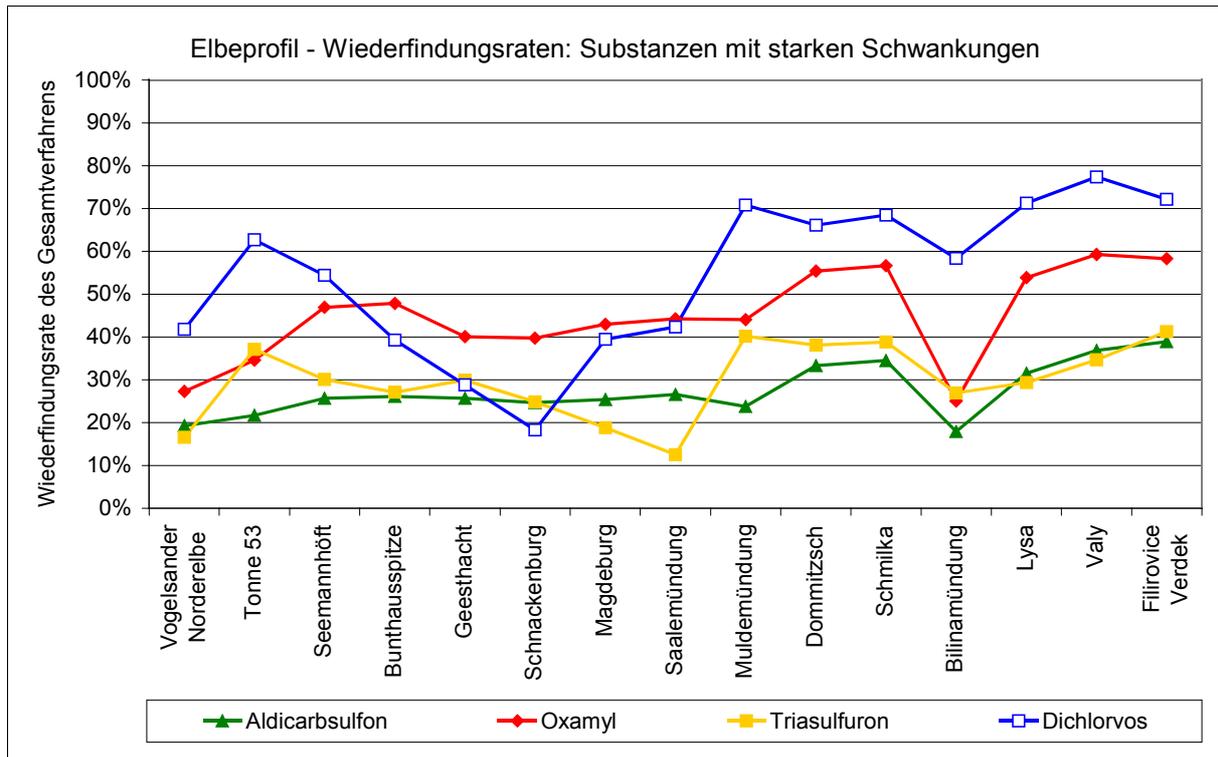


Abbildung 7.5: Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für Wasserproben über den gesamten Verlauf der Elbe, Substanzen mit sehr starken Schwankungen

7.3.2 Vorgehensweise bei der Auswertung

Für die Auswertung wurde für jede Substanz ein Mittelwert aus allen Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens über den gesamten Flussverlauf ohne die Bilina-Probe gebildet. Mit diesem Wert wurden die über die externe Kalibrierung ermittelten Ergebnisse aller Probenahme Stellen korrigiert. Die Bilina-Probe wurde mit der einzelnen Aufstockung dieser Probe ausgewertet. Die Messung der Proben des Elbelängsprofils dauerte 5,5 Tage. Daher wurden im Verlauf dieser Messungen mehrere Kalibrierungen gemacht. Die Proben wurden jeweils mit den beiden vor und nach der Messung der Proben liegenden Kalibrierungen ausgewertet.

Die Auswertung für Dichlorvos, Triasulfuron, Aldicarbulfon und Oxamyl wurde ebenfalls in der oben beschriebenen Weise durchgeführt. Aufgrund der starken Schwankungen der Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens und anderer Ursachen war die Quantifizierung dieser Substanzen mit sehr großen Messunsicherheiten verbunden (siehe Abschnitt 8.2). Daher werden für diese Substanzen nur halbquantitative Angaben gemacht.

In der Wasserprobe aus der Jizeramündung wurde eine sehr hohe Alachlor-Konzentration im $\mu\text{g/L}$ -Bereich festgestellt (siehe Abschnitt 7.4.1). Für die Messung wurde diese Probe 1 : 50 verdünnt, die Auswertung erfolgte anhand einer externen Kalibrierung. Das Ergebnis ist nur als Näherungswert anzusehen, da die Konzentration außerhalb des validierten Anwendungsbereiches dieses Verfahrens lag.

7.4 Ergebnisse

Im folgenden Abschnitt werden die in den Wasserproben des Elbelängsprofils ermittelten Konzentrationen der Analyte dargestellt. Die Daten des Elbelängsprofils werden dabei mit den im Laufe der Verfahrensentwicklung und Validierung bestimmten Konzentrationen in Wasserproben der Elbe bei Geesthacht-Tesperhude und Daten aus der Literatur verglichen und bezüglich der Einhaltung der Zielvorgaben bewertet.

7.4.1 Konzentrationen in den Wasserproben des Elbelängsprofils

In den Wasserproben des Elbelängsprofils konnte die Hälfte der untersuchten Substanzen nicht nachgewiesen werden (siehe Tabelle 7.5).

Tabelle 7.5: Liste der Substanzen, die in den Wasserproben des Elbelängsprofils (Elbe und Flussmündungen) nicht nachgewiesen werden konnten (mit Angabe der Nachweisgrenzen)

	Nachweisgrenze (ng/L)		Nachweisgrenze (ng/L)
<i><u>Phosphorsäureester</u></i>			
Azinphos-methyl	0,4	Mevinphos (1. Isomer)	0,8
Dichlorvos	2	Mevinphos (2. Isomer)	0,8
Etrimfos	0,3	Parathion-ethyl	5,0
Fenitrothion	30	Parathion-methyl	30
		Pyrazophos	0,3
<i><u>Harnstoffderivate und Carbamate</u></i>			
Triasulfuron	2	Carbaryl	0,5
Teflubenzuron	3,0	Oxamyl	1
Aldicarb-sulfon	4		

In Tabelle 7.6 und 7.7 sind die Ergebnisse für die Substanzen mit Positivbefunden (Befunde > NG) dargestellt. Tabelle 7.6 zeigt eine zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse für die Wasserproben aus der Elbe. Tabelle 7.7 listet die Ergebnisse für die Wasserproben aus den Einmündungen der Nebenflüsse in die Elbe auf. Alle Einzelergebnisse für die Substanzen mit Positivbefunden sind in Anhang IX, Tabelle 12.5 dargestellt. Die Abbildungen 7.6 bis 7.9 zeigen die Ergebnisse ausgewählter Substanzen.

Tabelle 7.6: Zusammenfassende Darstellung der Positivbefunde (Befunde > NG) in den Wasserproben des Elbelängsprofils ohne Flussmündungen (alle Einzelergebnisse siehe Anhang IX, Tabelle 12.5)

	Bereich der ermittelten Konzentrationen (ng/L)			Anzahl der Befunde	NG (ng/L)	BG (ng/L)		
	10-Perz.	90-Perz.	Maximaler Wert				< BG	≥ BG
<u>Triazinderivate und deren Metabolite</u>								
Atrazin	39	67	83	Tonne 91	0	23	0,6	2,0
Desethylatrazin	19	31	35	Filirovice Verdek	0	23	0,6	2,0
Desethylterbutylhazin	2,3	5,5	9,4	Tonne 91	0	23	0,3	1,0
Desisopropylatrazin	< BG	9,6	12	Tonne 91	5	17	2,2*	7,3*
Irgarol	n.n.	3,1	5,4	Tonne 53	8	12	0,4	1,3
Propazin	< BG	< BG	2,3	Tonne 91	20	2	0,6	2,0
Terbutylhazin	3,3	14	25	Tonne 91	1	22	0,4	1,3
<u>Phosphorsäureester</u>								
Diazinon	2,7	7,8	12	Schmilka	1	21	0,5	1,7
Dimethoat	n.n.	3,3	5,7	Breitenhagen	8	11	0,2	0,7
<u>Harnstoffderivate und Sonstige</u>								
Diuron	n.n.	30	50	Tonne 53	6	14	2,0	6,6
Alachlor	n.n.	< BG	< BG		11	0	1,5	5,0
Bromacil	n.n.	< BG	< BG		3	0	1,5	5,0
Imidacloprid	n.n.	< BG	2,6	Lysa	13	1	0,6	2,0

* Desisopropylatrazin: für einige Wasserproben höhere NG und BG (vergl. Abschnitt 6.3.2 und Anhang IX, Tabelle 12,5)

Die Triazinderivate und deren Metabolite konnten in fast allen Wasserproben festgestellt werden (siehe Abbildung 7.6 bis 7.8). Die deutlichsten Befunde wiesen Atrazin und Desethylatrazin mit Konzentrationen bis 84 bzw. 35 ng/L auf. Desisopropylatrazin und Terbutylhazin traten überwiegend in Konzentrationen um 10 ng/L auf. Von Desethylterbutylhazin, Irgarol und Propazin wurden meist nur geringe Mengen (bis 5 ng/L) gefunden. In den Flussmündungen wurden teilweise deutlich von der Elbe abweichende Konzentrationen festgestellt. Die auffälligsten Unterschiede traten bei Terbutylhazin auf, das in der Bilina- und in der Muldemündung in Konzentrationen von 130 ng/L* bzw. 33 ng/L bestimmt wurde. Für Irgarol wurden in der Havel- und in der Saalemündung höhere Konzentrationen (7 bzw. 9 ng/L) festgestellt als in der Elbe, für Desisopropylatrazin in der Bilinamündung (19 ng/L). Dagegen wurden in der Havel-, der Saale-, der Mulde- und der „Schwarze Elster“-Mündung deutlich niedrigere Atrazin- und Desethylatrazin-Gehalte als in der Elbe gefunden.

* Dieser Wert liegt außerhalb des validierten Arbeitsbereiches (bis 88 ng/L - siehe Tabelle 6.4).

Tabelle 7.7: Positivbefunde (Befunde > NG) in den Wasserproben der Einmündungen der Elbe-Nebenflüsse (Elbelängsprofil); Angabe als Konzentration in ng/L

	Havel	Saale	Mulde	Schw. Elster	Bilina*	Ohre	Moldau	Jizera
<u>Triazinderivate und deren Metabolite</u>								
Atrazin	14	7,8	8,1	< BG	84	26	72	47
Desethylatrazin	5,2	6,4	4,7	< BG	19	12	33	22
Desethylterbutylhazin	4,8	3,6	11	2,0	9,3	2,7	2,3	2,4
Desisopropylatrazin	< BG	7,8	11	< BG	19	< BG	9,8	< BG
Irgarol	7,1	8,9	1,7	< BG	3,3	< BG	< BG	n.n.
Propazin	< BG	2,4	5,6	n.n.	< BG	< BG	< BG	< BG
Terbutylhazin	7,9	8,1	33	6,5	130**	2,9	2,6	17
<u>Phosphorsäureester</u>								
Diazinon	n.n.	3,7	< BG	n.n.	29	10	6,2	8,0
Dimethoat	n.n.	1,8	76	n.n.	< BG	n.n.	< BG	n.n.
<u>Harnstoffderivate und Sonstige</u>								
Diuron	31	26	31	8,8	< BG	< BG	< BG	< BG
Alachlor	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	< BG	< BG	< BG	3200***
Bromacil	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	< BG	n.n.	n.n.
Imidacloprid	n.n.	< BG	< BG	n.n.	n.n.	< BG	n.n.	n.n.

* Bilinamündung: für einige Substanzen höhere NG und BG als für die anderen Proben (siehe Anhang IX, Tabelle 12.5)

** siehe Fußnote S. 108

*** Alachlor: Messwert in der Jizeramündung (3200 ng/L) weit außerhalb des Anwendungsbereiches des Analysenverfahrens

Von den untersuchten Phosphorsäureestern wurden in den Wasserproben des Elbelängsprofils nur Diazinon (siehe Abbildung 7.9) und Dimethoat festgestellt. Die Konzentrationen lagen meistens im Bereich bis 8 bzw. bis 3 ng/L, allerdings traten in jeweils einer Flussmündung auffällig höhere Befunde auf. Diazinon wurde in der Bilinamündung in einer Konzentration von 29 ng/L gefunden, und Dimethoat in der Muldemündung in einer Konzentration von 76 ng/L.

Das Phenylharnstoffderivat Diuron wurde in den Wasserproben aus der Elbe im Bereich von Deutschland fast durchgehend in Konzentrationen von 10 - 20 ng/L festgestellt, im Gebiet des Hamburger Hafens und unterhalb von Hamburg sogar in Konzentrationen von 30 - 50 ng/L (siehe Abbildung 7.9). Auch in der Havel-, Saale- und Muldemündung wurden 25 - 30 ng/L Diuron gefunden. Dagegen lagen die Konzentrationen im Bereich der Tschechischen Republik alle unterhalb der Bestimmungs- oder unterhalb der Nachweisgrenze.

Im Ästuarbereich war ein deutlicher Verdünnungseffekt erkennbar. Die Triazinderivate, deren Metabolite und Diuron wurden im Vergleich zu den davor liegenden Probennahmestellen in der Vogelsander Norderelbe in etwa um den Faktor 4 - 6 niedriger liegenden Konzentrationen gefunden.

Ein besonders auffälliger und ungewöhnlich hoher Befund trat bei Alachlor auf. In der Jizera-mündung wurde eine Konzentration von etwa 3 $\mu\text{g/L}$ festgestellt. (Diese Konzentrationsangabe ist nicht abgesichert, da der Messwert etwa um den Faktor 30 über der Obergrenze des validierten Anwendungsbereiches des Analyseverfahrens liegt.) In allen anderen Wasserproben lagen die Konzentrationen unterhalb der Bestimmungs- oder Nachweisgrenze von 5,0 bzw. 1,5 ng/L. Diese Ergebnisse und der Vergleich mit weiteren Daten, die zu anderen Zeitpunkten in der Elbe bei Geesthacht-Tesperhude gemessen wurden (siehe Abschnitt 7.4.2), deuten darauf hin, dass kurz vor der Probennahme ein erheblicher Eintrag von Alachlor in die Jizera stattgefunden haben muss.

Die Konzentrationen in der Elbe bei Magdeburg sind denen der umgebenden Probennahmestellen der Elbe sehr ähnlich. Dies ist plausibel und weist darauf hin, dass trotz der in der internen Qualitätskontrolle festgestellten Abweichungen (siehe Abschnitt 7.2) bei der Bearbeitung der Wasserproben aus Magdeburg keine gravierenden Fehler aufgetreten sind.

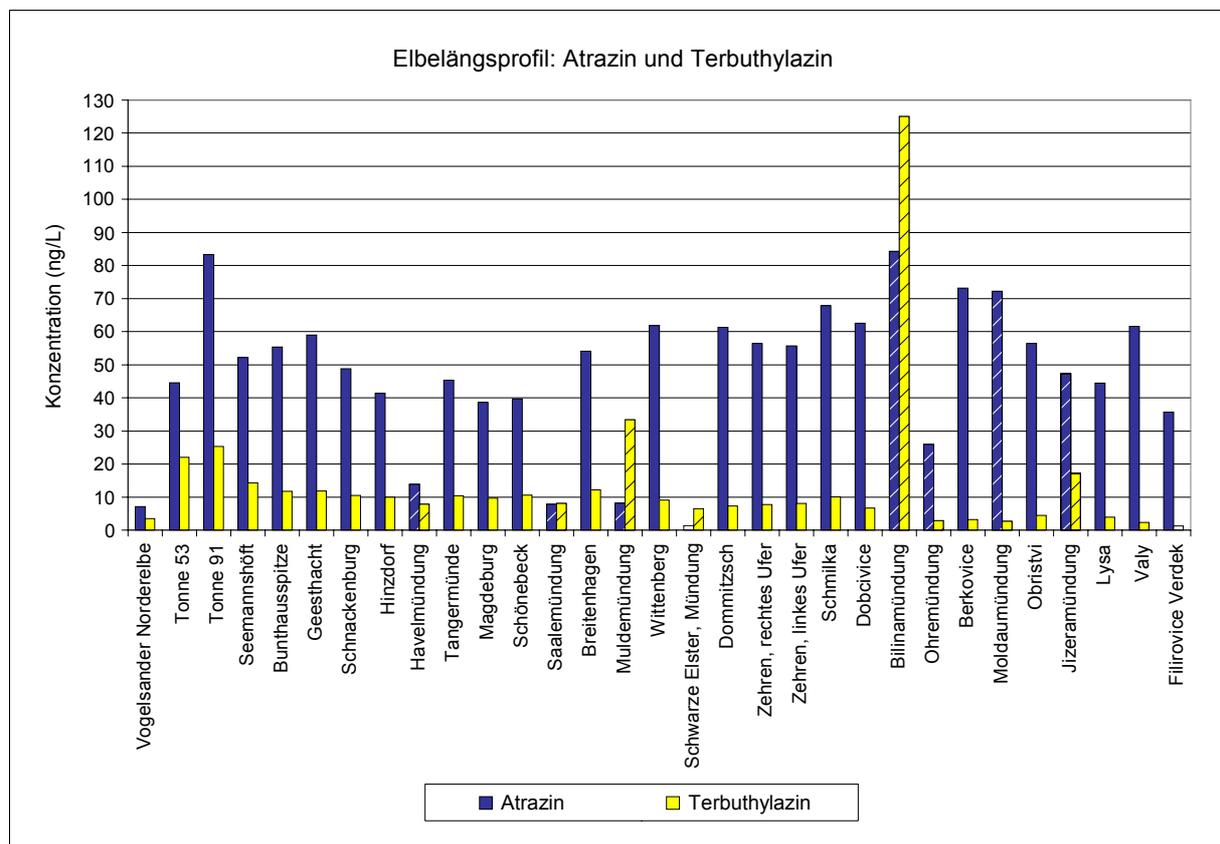


Abbildung 7.6: Wasserproben des Elbelängsprofils: Konzentrationen von Atrazin und Terbutylazin (schraffiert = Flussmündungen, farblos = Konzentrationen < BG)

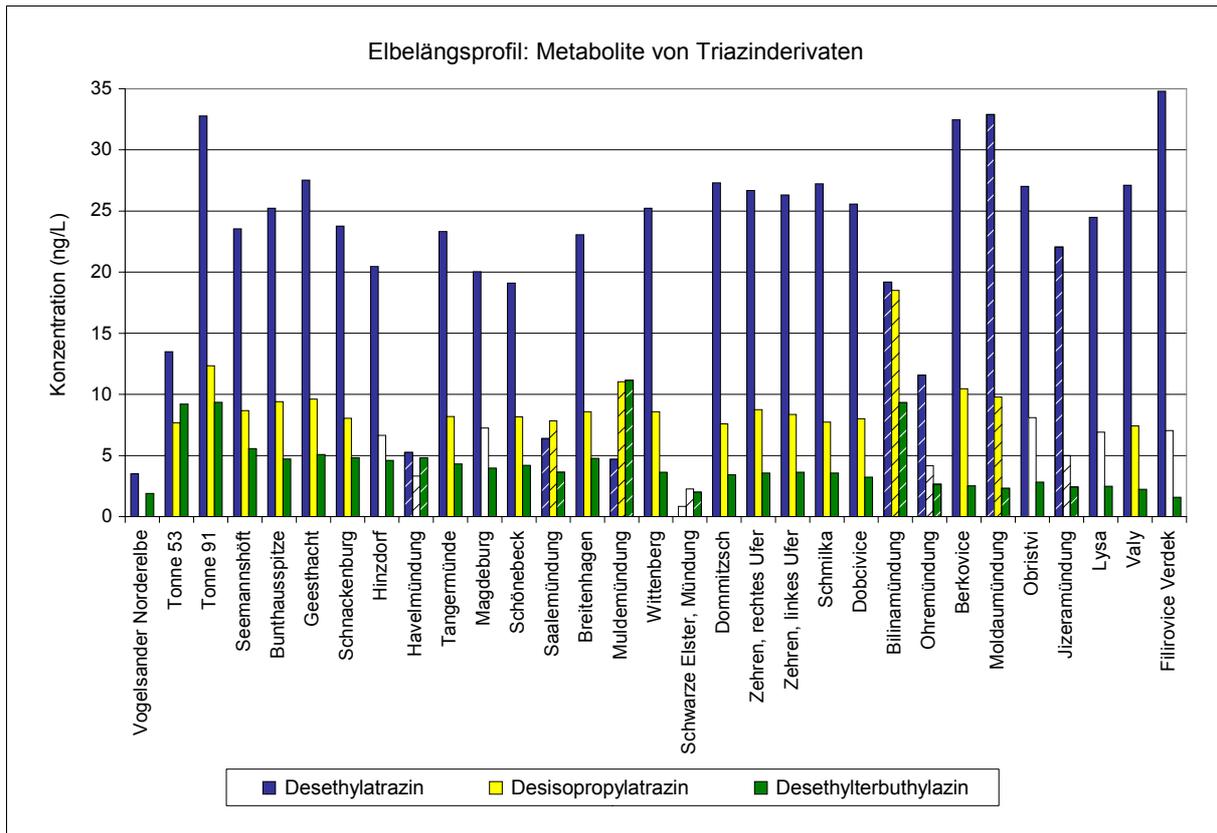


Abbildung 7.7: Wasserproben des Elbelängsprofils: Konzentrationen der Metabolite von Triazinderivaten

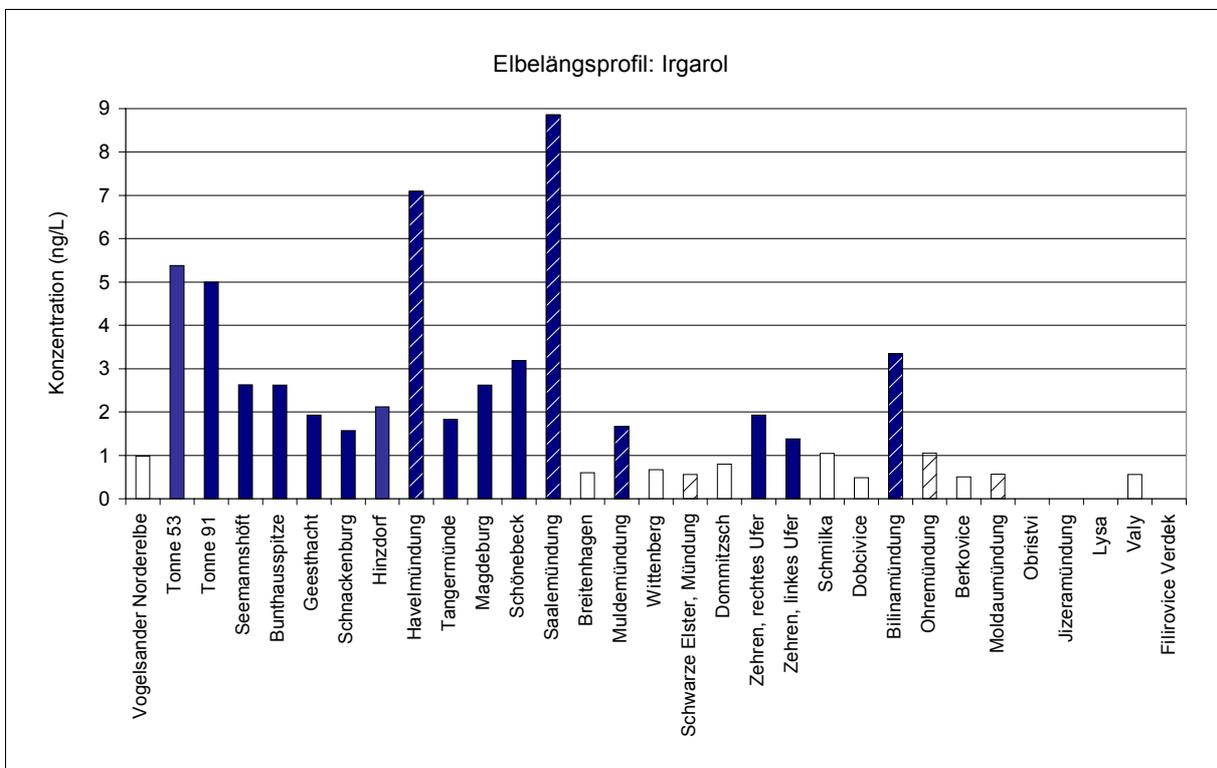


Abbildung 7.8: Wasserproben des Elbelängsprofils: Konzentrationen von Irgarol (schraffiert = Flussmündungen, farblos = Konzentrationen < BG)

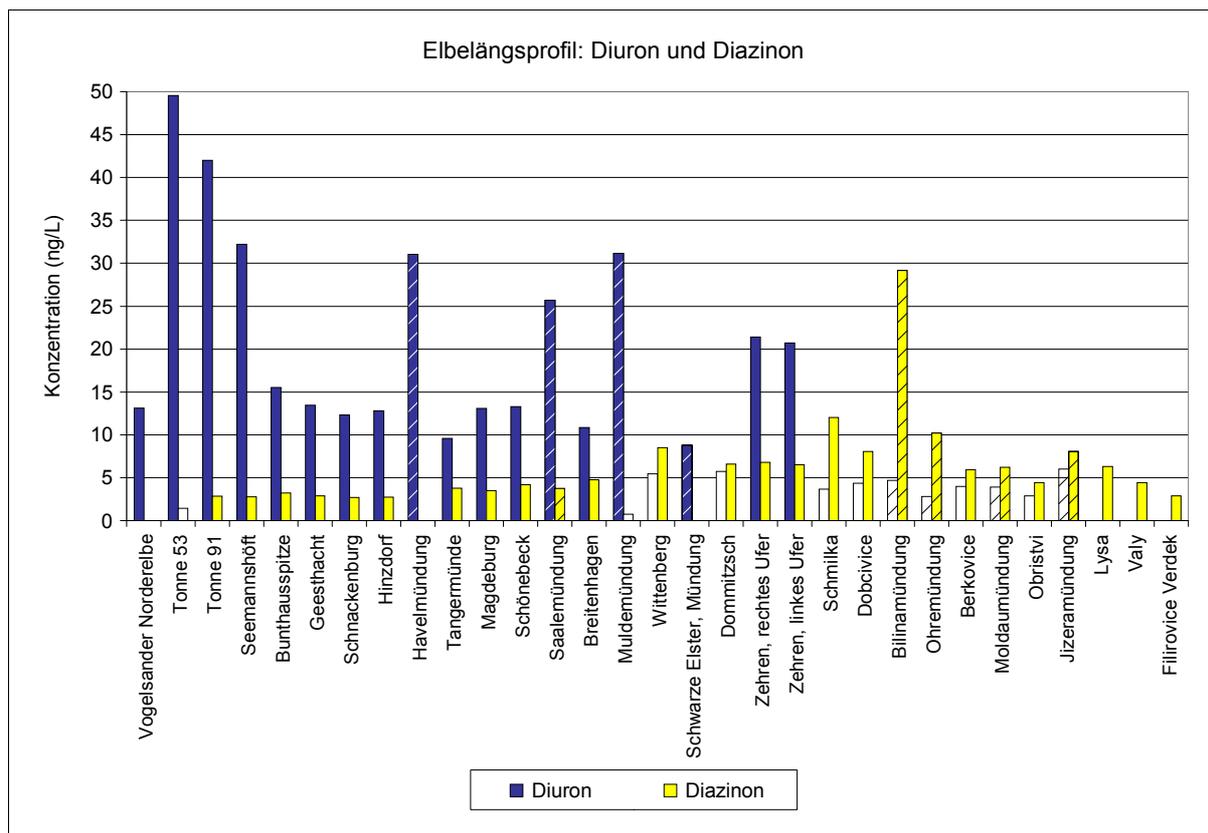


Abbildung 7.9: Wasserproben des Elbelängsprofils: Konzentrationen von Diuron und Diazinon (schraffiert = Flussmündungen, farblos = Konzentrationen < BG)

7.4.2 Konzentrationen in Wasserproben der Elbe bei Geesthacht-Tesperhude

Im Rahmen der Verfahrensentwicklung und der Validierung wurden Wasserproben aus der Elbe bei Geesthacht-Tesperhude untersucht. Die dabei ermittelten Konzentrationen der Analyte werden im Folgenden dargestellt und mit den Ergebnissen des Elbelängsprofils verglichen. Die Konzentrationsbestimmung erfolgte nach dem Standardadditionsverfahren anhand von unaufgestockten und aufgestockten Wasserproben (Anzahl der Parallelproben: $n = 2 - 4$, Anzahl der unterschiedlichen Aufstockkonzentrationen: $1 - 3$). Die Werte der Serien I, II und VII sind nur als Näherungswerte anzusehen, da sie nicht nach dem validierten optimierten Verfahren ermittelt wurden.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen des Elbelängsprofils konnte die Hälfte der Substanzen in den Wasserproben aus Geesthacht-Tesperhude nicht nachgewiesen werden (siehe Tabelle 7.5). Dies gilt auch für Bromacil in allen untersuchten Wasserproben der Elbe bei Geesthacht.

Insgesamt lagen die bei Geesthacht-Tesperhude festgestellten Positivbefunde in der gleichen Größenordnung wie bei den Wasserproben des Elbelängsprofils. Bei einigen Substanzen ließen sich in der kleinen Zeitreihe von Juli (bzw. Februar) bis September 2001 Tendenzen der Konzentrationen erkennen (siehe Tabelle 7.8). So wiesen Atrazin und Desethylatrazin im August die höchsten Werte auf. Bei Terbutylazin und Desethylterbutylazin lagen die Konzentrationen im Juli am höchsten und nahmen im August und September ab. Diuron wies im Juni und Juli die höchsten Werte auf. Im Februar waren die Diuron-Konzentrationen am niedrigsten, die Unterschiede zu August und September waren aber nicht groß genug, um von einem klaren Unterschied zwischen den Befunden im Sommer und im Winter zu sprechen. Etwa gleichbleibende Konzentrationen in allen Proben wurden für Desisopropylatrazin, Propazin, Irgarol, Dimethoat, Diazinon und Imidacloprid ermittelt.

Tabelle 7.8: Positivbefunde (Befunde > NG) in Wasserproben der Elbe bei Geesthacht-Tesperhude (im Laufe der Verfahrensentwicklung und der Validierung ermittelt) und in der Probe „Geesthacht Strommitte“ aus dem Elbelängsprofil (ELP, 20.8.01); Angabe als Konzentration in ng/L

	Datum der Probennahme - Serie						
	07.02.01 Serie I	22.02.01 Serie II	26.06.01 Serie VII	17.07.01 Serie VIII	13.08.01 Serie IX	20.08.01 ELP	24.09.01 Serie X
<u>Triazinderivate und deren Metabolite</u>							
Atrazin				13	59	59	34
Desethylatrazin				9	28	28	14
Desethylterbutylazin				12	6	5	3
Desisopropylatrazin				9	9	10	< BG
Irgarol				2	< BG	2	2
Propazin				3	3	< BG	< BG
Terbutylazin				16	12	12	6
<u>Phosphorsäureester</u>							
Diazinon				3	3	3	2
Dimethoat	1	4	2	3	2	< BG	1
<u>Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige</u>							
Diuron	8	8	27	26	17	13	13
Alachlor				n.n.	n.n.	n.n.	14
Imidacloprid	n.n.	n.n.	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG

grau unterlegt: Probe „Geesthacht Strommitte“ aus dem Elbelängsprofil (abweichende Probennahme-stelle)

Serie I, II, VII: angewandtes Verfahren entspricht nicht dem validierten Verfahren, Werte nur als Näherungswerte anzusehen

Nachweis- und Bestimmungsgrenzen vom validierten Verfahren angewendet, für die Serien I, II und VII keine NG / BG ermittelt

Besonderes Augenmerk ist im Zusammenhang mit dem sehr hohen Befund in der Jizera-mündung auf die Ergebnisse für Alachlor in der Elbe bei Geesthacht zu richten. Im Juli und August 2001 wurde in den Wasserproben aus Geesthacht (einschließlich der Probe aus dem

Elbelängsprofil) kein Alachlor nachgewiesen. Dagegen wurden im September deutliche Positivbefunde festgestellt. Für den 24.9.01 wurde eine Alachlor-Konzentration von 14 ng/L ermittelt. Im Rahmen einer in der vorliegenden Arbeit nicht dargestellten Messreihe wurde am 3.9.01 Alachlor in einer Konzentration von etwa 40 ng/L bestimmt. Vermutlich spiegelt sich in diesen Werten der in der Jizeramündung etwa für den 22.8.01 festgestellte Eintrag wieder. Die abnehmende Konzentration weist darauf hin, dass der Eintrag nur kurzzeitig erfolgte. Allerdings reichen zwei Proben nicht aus, um zu beurteilen, ob wirklich eine abnehmende Tendenz vorlag.

7.4.3 Bewertung der Ergebnisse des Elbelängsprofils und der Nachweisgrenzen des Verfahrens im Hinblick auf Zielvorgaben und Effektkonzentrationen

In Tabelle 7.9 ist ein Vergleich zwischen den Nachweisgrenzen des Verfahrens, den Zielvorgaben (ZV) bzw. Effektkonzentrationen (EC) und den Positivbefunden in den Wasserproben des Elbelängsprofils dargestellt. Es sind nur die Substanzen aufgeführt, für die Zielvorgaben (Schutzgut „Aquatische Lebensgemeinschaften“ oder „Trinkwasserversorgung“) oder Angaben zu den Effektkonzentrationen bekannt sind (vergl. Kapitel 4, Tabelle 4.2). Im Allgemeinen wird nur die niedrigere der beiden Zielvorgaben aufgeführt.

Für die Phosphorsäureester Dichlorvos, Fenitrothion, Mevinphos, Parathion-ethyl und -methyl liegen die Nachweisgrenzen des Verfahrens oberhalb der Zielvorgaben für das Schutzgut „Aquatische Lebensgemeinschaften“. Dichlorvos und Mevinphos weisen zwar mit 2 bzw. 0,8 ng/L sehr niedrige Nachweisgrenzen auf, diese sind aber nicht ausreichend, da die Zielvorgaben dieser beiden Substanzen mit 0,6 bzw. 0,2 ng/L extrem niedrig liegen. Eine Beurteilung der Einhaltung der Zielvorgaben für das Schutzgut „Aquatische Lebensgemeinschaften“ ist für diese fünf Substanzen mit den gezeigten Ergebnissen nicht möglich.

Für vier Substanzen wurden in den Wasserproben des Elbelängsprofils Befunde oberhalb der Zielvorgaben für das Schutzgut „Aquatische Lebensgemeinschaften“ festgestellt. Diuron wurde in fast allen Proben aus dem innerhalb von Deutschland liegenden Elbe-Abschnitt deutlich oberhalb der Zielvorgabe von 6 ng/L gefunden. In der Bilinamündung lag die Konzentration von Diazinon mit 29 ng/L über der Zielvorgabe von 20 ng/L, die Dimethoat-Konzentration lag in der Muldemündung mit 76 ng/L deutlich oberhalb der Zielvorgabe von 10 ng/L. Die Konzentration von Alachlor in der Jizeramündung überstieg die Zielvorgabe von 200 ng/L um ein Vielfaches.

Zwei Befunde lagen oberhalb der Zielvorgaben für das Schutzgut „Trinkwasserversorgung“ von 100 ng/L: Alachlor in der Jizeramündung mit ca. 3 µg/L und Terbutylazin in der Bilinamündung mit 130 ng/L*. Weitere Überschreitungen des Trinkwassergrenzwertes für Pestizide von 100 ng/L [10] wurden nicht festgestellt.

* Dieser Wert liegt außerhalb des validierten Arbeitsbereiches (bis 88 ng/L - siehe Tabelle 6.4).

Tabelle 7.9: Vergleich der Nachweisgrenzen und der Befunde des Elbelängsprofils mit den Zielvorgaben (ZV; Schutzgut „Aquatische Lebensgemeinschaften“ (AQL) oder „Trinkwasserversorgung“ (T)) oder Effektkonzentrationen (EC) (vergl. Kapitel 4, Tabelle 4.2)

	NG (ng/L)	ZV (ng/L)	Schutz- gut	EC* (ng/L)	Befunde > NG	Befunde > ZV (oder Befunde > 10 ng/L*)	
<u>Triazinderivate</u>							
Atrazin	0,6	100	T		31	0	
Propazin	0,6	100	T		29	0	
Terbuthylazin	0,4	100	T		31	1	Bilinamündung
<u>Phosphorsäureester</u>							
Azinphos-methyl	0,4	1	AQL	< 100	0	0	
Diazinon	0,5	20	AQL	< 1000	28	1	Bilinamündung
Dichlorvos	2	0,6	AQL	< 100	0	(0)	
Dimethoat	0,2	10	AQL	< 100	23	1	Muldemündung
Etrimfos	0,3	4	AQL		0	0	
Fenitrothion	30	1	AQL	< 100	0	(0)	
Mevinphos	0,8	0,2	AQL	< 100	0	(0)	
Parathion-ethyl	5,0	0,2	AQL	< 100	0	(0)	
Parathion-methyl	30	10	AQL	< 100	0	(0)	
Pyrazophos	0,3	0,6	AQL	< 100	0	0	
<u>Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige</u>							
Diuron	2,0	6	AQL		28	18	Elbe-Abschnitt in BRD
Teflubenzuron	3,0			< 100	0	0*	
Triasulfuron	2			< 100	0	0*	
Carbaryl	0,5	(60)**	AQL	< 1000	0	0	
Oxamyl	1			< 100	0	0*	
Alachlor	1,5	100	T		15	1	Jizeramündung
		200	AQL		15	1	Jizeramündung
Bromacil	1,5	100	T		4	0	
Imidacloprid	0,6			< 100	17	0*	

Gesamtanzahl der Proben: 31

(NG für Bilinamündung bei manchen Substanzen etwas höher, siehe Anhang IX, Tabelle 12.5)

* soweit keine ZV vorhanden, Bewertung anhand des EC-Wertes: EC maximal 100 ng/L, Umrechnungsfaktor 0,1 (vergl. Abschnitt 3.2) --> „ZV“ maximal 10 ng/L

EC: Schutzgut „Aquatische Lebensgemeinschaften“ [89]

** Carbaryl: Zielvorgabe aus der Literatur [91]

grau unterlegt: Nachweisgrenze zu hoch, um die Einhaltung der Zielvorgabe zu beurteilen

Für einige Substanzen waren keine Zielvorgaben bekannt, aber es lagen Angaben über die Größenordnung der Effektkonzentrationen für das Schutzgut „Aquatische Lebensgemeinschaften“ (EC; < 100 bzw. < 1000 ng/L) vor. Diese Angaben wurden ersatzweise für eine Bewertung herangezogen. Unter Zuhilfenahme eines Umrechnungsfaktors von 0,1 (vergl. Abschnitt 3.2) wurde für Teflubenzuron, Triasulfuron, Oxamyl und Imidacloprid aus der Angabe „EC < 100 ng/L“ eine maximale Zielvorgabe von 10 ng/L berechnet. Für diese Sub-

stanzen lagen die Nachweisgrenzen unterhalb von 10 ng/L, so dass eine Bewertung der Einhaltung dieser „mutmaßlichen“ Zielvorgabe anhand der gezeigten Ergebnisse möglich ist. Für Teflubenzuron, Triasulfuron und Oxamyl wurden keine Positivbefunde (Befunde > NG) festgestellt. Für Imidacloprid lag der höchste Befund bei 2,6 ng/L. Bei den dargestellten Untersuchungen wurde also keine Gefährdung des Schutzguts „Aquatischen Lebensgemeinschaften“ festgestellt. Trotzdem kann eine Gefährdung aufgrund der fehlenden Zielvorgaben nicht ausgeschlossen werden.

7.4.4 Vergleich der Ergebnisse des Elbelängsprofils mit Daten aus der Literatur

Im Folgenden werden einige Ergebnisse aus der Fachliteratur zur Untersuchung von Wasserproben aus der Elbe dargestellt und mit den in der vorliegenden Arbeit ermittelten Ergebnissen verglichen. Die meisten der zum Vergleich herangezogenen Daten aus der Fachliteratur umfassen Untersuchungen, bei denen ein bis mehrere Jahre lang regelmäßig in etwa 2- bis 4-wöchigen Abständen Wasserproben aus der Elbe untersucht wurden [96, 97, 109, 110, 111]*. Da die in der Fachliteratur veröffentlichten Daten überwiegend älteren Datums sind (1989 bis 1998) und die innerhalb der vorliegenden Arbeit ermittelten Ergebnisse des Elbelängsprofils nur eine Stichprobe darstellen, kann die Belastungssituation der Elbe in den letzten Jahren auf dieser Grundlage nicht bewertet werden. Für eine Bewertung der Belastungssituation sind aufgrund der starken räumlichen und zeitlichen Variabilität der Pestizid-Konzentrationen in der Elbe [96] längere Messreihen notwendig.

Dimethoat, Parathion-methyl, Atrazin und einige andere Triazinderivate wurden 1989/90 in sehr hohen Konzentrationen in der Elbe gefunden. Von den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Substanzen wurden zwischen Schnackenburg (475 km) und Grauerort (661 km) in der Elbe bis zu 38 µg/L Dimethoat, 2,2 µg/L Parathion-methyl, 1,5 µg/L Atrazin und 0,6 µg/L Propazin festgestellt [97, 112]. Die hohen Belastungen konnten teilweise auf Emissionen von industriellem Abwasser aus der Pestizid-Produktion - mit Standort in Bitterfeld-Wolfen - in die Elbe über den Fluss Mulde zurückgeführt werden. Im Juli 1990 wurden in der Mulde Konzentrationen für Dimethoat von 200 µg/L und für Parathion-methyl von 92 µg/L gemessen [97]. Seit 1991 haben die Konzentrationen stark abgenommen. 1992/93 wurden in der Elbe im Bereich von Hamburg maximale Konzentrationen von 3,2 µg/L Dimethoat, 0,33 µg/L Parathion-methyl, 0,35 µg/L Atrazin und 0,03 µg/L Propazin gemessen [109].

* Insbesondere in [96] sind sehr umfangreiche Untersuchungen dargestellt, die 1994 bis 1996 im Rahmen eines Projekts für das Umweltbundesamt durchgeführt wurden.

Die 1990 bis 1996 in der Elbe gemessenen Dimethoat-Konzentrationen schwankten sehr stark und zeigten keine saisonale Verteilung [96, 97, 109, 110]. Im Laufe der 1990er Jahre nahmen die Konzentrationen in der Elbe und der Mulde weiter ab, 1996 wurde Dimethoat in Konzentrationen von maximal 0,08 µg/L in der Elbe gefunden; bei Untersuchungen von Elbelängsprofilen wurden im Mai 1994 und im September 1995 etwa 0,9 µg/L Dimethoat in der Muldemündung festgestellt [96]. Im September 1998 wurde in sieben Wasserproben eines Elbelängsprofils und in einer einzelnen Probe aus der Muldemündung kein Dimethoat nachgewiesen [22]. Allerdings waren bei den beiden letztgenannten Untersuchungen die Bestimmungsgrenzen mit 50 bzw. 25 ng/L zu hoch, um beurteilen zu können, ob die Zielvorgabe für das Schutzgut „Aquatische Lebensgemeinschaften“ (AQL) von 10 ng/L überschritten wurde. Die in der vorliegenden Arbeit untersuchte Stichprobe bestätigt die abnehmende Tendenz der Dimethoat-Konzentrationen in Elbe und Mulde; nur in der Wasserprobe aus der Muldemündung wurde ein Befund oberhalb der Zielvorgabe festgestellt.

Auch für Parathion-methyl setzte sich die abnehmende Tendenz der Konzentrationen in Elbe und Mulde fort; 1995/96 wurde Parathion-methyl nicht mehr oberhalb von 50 ng/L (= Bestimmungsgrenze) gefunden [96]. Im September 1998 wurden in einem Elbelängsprofil (s.o.) nur sehr geringe Konzentrationen festgestellt, die die Zielvorgabe (Schutzgut AQL) von 10 ng/L nicht überschritten [22]. Bei den in der vorliegenden Arbeit ermittelten Ergebnissen traten keine Positivbefunde auf, allerdings ist die Nachweisgrenze des Verfahrens mit 30 ng/L zu hoch für eine Beurteilung der Einhaltung der Zielvorgabe.

Bei zahlreichen Messungen von Wasserproben der Elbe im Zeitraum von 1994 bis 1996 lag das 90-Perzentil für Atrazin bei 0,13 µg/L, die maximal festgestellte Konzentration betrug 0,59 µg/L [96]. Dabei wurden in der oberen Elbe höhere Atrazin-Konzentrationen festgestellt als in der mittleren Elbe (Vergleich von Monatsmischproben bei Schmilka, 0 km und Wittenberge, 455 km) [96]. Die höchsten Konzentrationen wurden 1991 bis 1996 während der Vegetationsperiode festgestellt [96, 109, 110, 111], was darauf hinweist, dass der Haupteintrag von Atrazin in die Elbe von landwirtschaftlichen Quellen verursacht wurde. Der abnehmende Trend der Atrazin-Konzentration in der Elbe zu Beginn der 1990er Jahre [111] ist in den vorliegenden Daten für 1994 bis 1996 [96] nicht mehr erkennbar. Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Konzentrationen liegen etwa in der Größenordnung der für 1994 bis 1998 vorliegenden Daten bzw. nur geringfügig niedriger [22, 96].

Diuron wurde bei 1995 in der unteren Elbe häufig in Konzentrationen zwischen < 50 ng/L (= Bestimmungsgrenze) und 0,14 ng/L gefunden [96]. D.h. die Befunde lagen 1995 häufig oberhalb der Zielvorgabe (Schutzgut AQL) von 6 ng/L, wobei eine Beurteilung der Einhaltung der Zielvorgabe oft aufgrund der hohen Bestimmungsgrenze nicht möglich war. Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Konzentrationen lagen etwa in der gleichen Größenordnung wie 1995. In fast allen Wasserproben aus dem Bereich von Deutschland lagen die Konzentrationen deutlich oberhalb der Zielvorgabe.

Alachlor wurde im September 1998 in der oberen Elbe (bis Torgau, 156 km) in Konzentrationen zwischen 20 und 50 ng/L bestimmt [22]. 1994 bis 1996 wurden vereinzelte Positivbefunde bis zu 0,07 µg/L in der Elbe festgestellt [96]. Da in der Literatur keine Daten für den Fluss Jizera (Iser) gefunden wurden, ist nicht bekannt, ob bereits früher extrem erhöhte Befunde, wie der in der vorliegenden Arbeit ermittelte Gehalt von 3 µg/L, in der Jizeramündung festgestellt wurden.

Zahlreiche Positivbefunde von Diazinon und Dichlorvos in der Elbe von 1994/95 begründeten den Verdacht, dass diese beiden Substanzen als prioritäre Stoffe einzustufen sind; aufgrund der hohen Bestimmungsgrenzen war eine Bewertung allerdings nicht möglich [96]. In der vorliegenden Arbeit wurde nur für die Bilinamündung ein Befund oberhalb der Zielvorgabe (Schutzgut AQL) für Diazinon festgestellt, Dichlorvos wurde nicht nachgewiesen, allerdings lag auch in diesem Fall die Nachweisgrenze zu hoch für eine Bewertung der Einhaltung der Zielvorgabe (Schutzgut AQL) (siehe Abschnitt 7.4.3).

Für folgende Substanzen waren die Nachweis- bzw. Bestimmungsgrenzen der in der zitierten Literatur angewandten Analysenverfahren zu hoch, um eine Beurteilung der Einhaltung der Zielvorgaben (Schutzgut AQL) zu ermöglichen: Azinphos-methyl, Diazinon (mit Ausnahme von [22]), Dichlorvos, Dimethoat (mit Ausnahme von [109]), Fenitrothion, Mevinphos, Parathion-ethyl, Parathion-methyl (mit Ausnahme von [22, 109]), Pyrazophos und Diuron. Das in der vorliegenden Arbeit entwickelte Verfahren weist hingegen für Azinphos-methyl, Diazinon, Dimethoat, Pyrazophos und Diuron Nachweisgrenzen auf, die eine Beurteilung der Einhaltung der Zielvorgaben ermöglichen. Für die vier übrigen Substanzen liegen die Nachweisgrenzen oberhalb der Zielvorgaben (siehe Abschnitt 7.4.3).

7.5 Absicherung der Daten durch Auswertung des 2. Massenübergangs und Messung mit APCI

Zur Absicherung der Ergebnisse wurde für die Substanzen mit Positivbefunden (Befunde oberhalb der Nachweisgrenze) jeweils der 2. Massenübergang ausgewertet. Außerdem wurde eine Auswahl von Wasserproben des Elbelängsprofils mit der zweiten zur Verfügung stehenden Ionisierungsmethode, der APCI, gemessen. Im Folgenden werden die Ergebnisse dieser Untersuchungen dargestellt und mit den anhand des 1. Massenübergangs und der ESI ermittelten Ergebnissen verglichen.

7.5.1 Auswertung des 2. Massenübergangs

Die Auswertung des zweiten, für jede Substanz gemessenen Massenübergangs führt zu einer Erhöhung der Selektivität des Verfahrens (siehe Abschnitt 6.2). Die Absicherung von Positivbefunden mit Hilfe des 2. Massenübergangs verringert die Wahrscheinlichkeit von falsch-positive Befunden, die durch Störsignale aus der Probenmatrix verursacht werden können.

Für sämtliche in den Wasserproben des Elbelängsprofils festgestellten Positivbefunde (siehe Abschnitt 7.4.1) wurde der 2. Massenübergang ausgewertet. Dabei wurde für einige Substanzen mit höheren Positivbefunden (siehe unten und Abschnitt 6.1, Tabelle 6.1) entsprechend der in Abschnitt 7.3.2 beschriebenen Vorgehensweise eine vollständige quantitative Auswertung durchgeführt. Für die übrigen Positivbefunde wurde eine Absicherung des Nachweises einschließlich einer groben quantitativen Abschätzung durchgeführt.

quantitative Auswertung des 2. Massenübergangs

Für folgende Substanzen und Massenübergänge wurde eine vollständige quantitative Auswertung für alle Wasserproben des Elbelängsprofils durchgeführt:

Atrazin	216 / 104
Desethylatrazin	188 / 104
Desethylterbuthylazin	204 / 148 und 202 / 104
Desisopropylatrazin	174 / 96
Irgarol	254 / 108
Terbuthylazin	230 / 132
Diazinon	305 / 153
Diuron	235 / 72

Die Ergebnisse und die Abweichungen von den anhand des 1. Massenübergangs ermittelten Ergebnissen sind in Anhang X, Tabelle 12.6 dargestellt. Die Ergebnisse der beiden Massenübergänge stimmten jeweils sehr gut überein. Für Befunde oberhalb der Bestimmungsgrenzen lagen die Abweichungen meistens im Bereich von 0 bis 4%, die maximale Abweichung

lag bei 10%. Auch für die Positivbefunde, die unterhalb der Bestimmungsgrenzen lagen, wurde eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse festgestellt. Die Abweichungen betragen maximal 17%, die meisten Abweichungen lagen unterhalb von 10%.

Für Dimethoat und Alachlor wurde keine vollständige Auswertung des 2. Massenübergangs durchgeführt, da höhere Positivbefunde nur in jeweils einer Probe auftraten. Bei der Berechnung der Dimethoat-Konzentration in der Wasserprobe der Muldemündung anhand der entsprechenden aufgestockten Probe weichen die Ergebnisse der beiden Massenübergänge um 6,2% voneinander ab. Zur Bestimmung der Alachlor-Konzentration wurde die Probe aus der Jizera-Mündung aufgrund des extrem hohen Befunds stark verdünnt gemessen (siehe Abschnitt 7.3.2). Bei dieser Messung wichen die Ergebnisse der beiden Massenübergänge um 1,1% voneinander ab.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die anhand der beiden Massenübergänge ermittelten quantitativen Ergebnisse für alle überprüften Positivbefunde jeweils sehr gut übereinstimmten. D.h. dass die angegebenen Ergebnisse mit einer hohen Sicherheit belegt sind. Falsch-positive oder zu hohe Befunde aufgrund von Störungen aus der Probenmatrix können mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden (vergl. Abschnitt 6.2).

qualitative Auswertung des 2. Massenübergangs

Für folgende Substanzen und Massenübergänge wurde eine qualitative Auswertung durchgeführt, und zwar für die Wasserproben des Elbelängsprofils, die bei Auswertung anhand des 1. Massenübergangs Positivbefunde (Befunde > NG) aufwiesen:

Propazin	230 / 146
Dimethoat	230 / 125
Alachlor	270 / 162
Bromacil	280 / 207
Imidacloprid	256 / 175

Anhand einiger willkürlich ausgewählter aufgestockter Proben wurde eine grobe Abschätzung der Konzentration vorgenommen. Die Ergebnisse sind in Anhang X, Tabelle 12.7 dargestellt. In vielen Fällen lagen die Konzentrationen in den Proben unterhalb der Nachweisgrenze für den 2. Massenübergang, so dass diese anhand des 1. Massenübergangs festgestellten Positivbefunde nicht anhand des 2. Massenübergangs abgesichert werden konnten. In allen anderen Fällen konnten die Positivbefunde mit Hilfe des 2. Massenübergangs bestätigt werden. Für diese Befunde können falsch-positive Nachweise aufgrund von Störungen aus der Probenmatrix mit hoher sehr Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden (vergl. Abschnitt 6.2).

7.5.2 Messung mit APCI

Bei der Absicherung von Befunden anhand der Messung mit der alternativen Ionisierungsmethode APCI ist vor allem der Vergleich der quantitativen Ergebnisse für Wasserproben mit höheren Gehalten der Analyte interessant. Da sich die durch die Probenmatrix verursachten Effekte bei der Messung mit ESI und APCI stark unterscheiden, kann ein Vergleich der quantitativen Ergebnisse Aufschluss darüber geben, inwieweit trotz dieser Matrixeffekte eine korrekte Quantifizierung der Analyte möglich ist.

Im Folgenden wird ein Vergleich der Ergebnisse der Messung mit ESI und APCI für ausgewählte Wasserproben des Elbelängsprofils und die Substanzen, die die höchsten Befunde aufwiesen, dargestellt. Vorweg werden die Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle und die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für die Messung der ausgewählten Wasserproben mit APCI beschrieben.

Die Wasserproben des Elbelängsprofils, die mit der APCI gemessen wurden, sind in Tabelle 7.10 aufgeführt. Außerdem wurde für die Bestimmung von Alachlor die Probe aus der Jizeramündung in einer Verdünnung von 1:50 gemessen.

Tabelle 7.10: Wasserproben des Elbelängsprofils, die mit der APCI gemessen wurden

ohne Standardaufstockung	mit Standardaufstockung
Tonne 51, Tonne 93, Magdeburg, Saalemündung, Muldemündung, Schmilka, Bilinamündung, Valy	Tonne 51, Magdeburg, Saalemündung, Muldemündung, Schmilka, Bilinamündung, Valy

Interne Qualitätskontrolle

In den Abbildungen 7.10 und 7.11 sind die Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle (IQK) für die mit der APCI gemessenen Proben, bis auf die verdünnte Probe aus der Jizera-Mündung, dargestellt. Als Grenzen wurden die relativen Standardabweichungen aus der Validierung der Messung mit ESI übernommen, da für die Messung mit APCI nicht ausreichend Daten zur Verfügung standen.

Die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens von Atrazin-D5 und Diazinon-D10 lagen für alle Proben innerhalb der Streugrenzen mit Ausnahme der Wiederfindungsrate von Diazinon-D10 für die unaufgestockte Probe aus Magdeburg. Diese Probe erfüllte schon bei der Messung mit ESI nicht die festgelegten Anforderungen der IQK und die Ergebnisse dieser Probe müssen kritisch betrachtet werden. Da die Abweichung insgesamt nur klein war, wurden die Ergebnisse nicht aus der Gesamtbetrachtung herausgenommen. Alle anderen Proben entsprachen den Anforderungen der IQK.

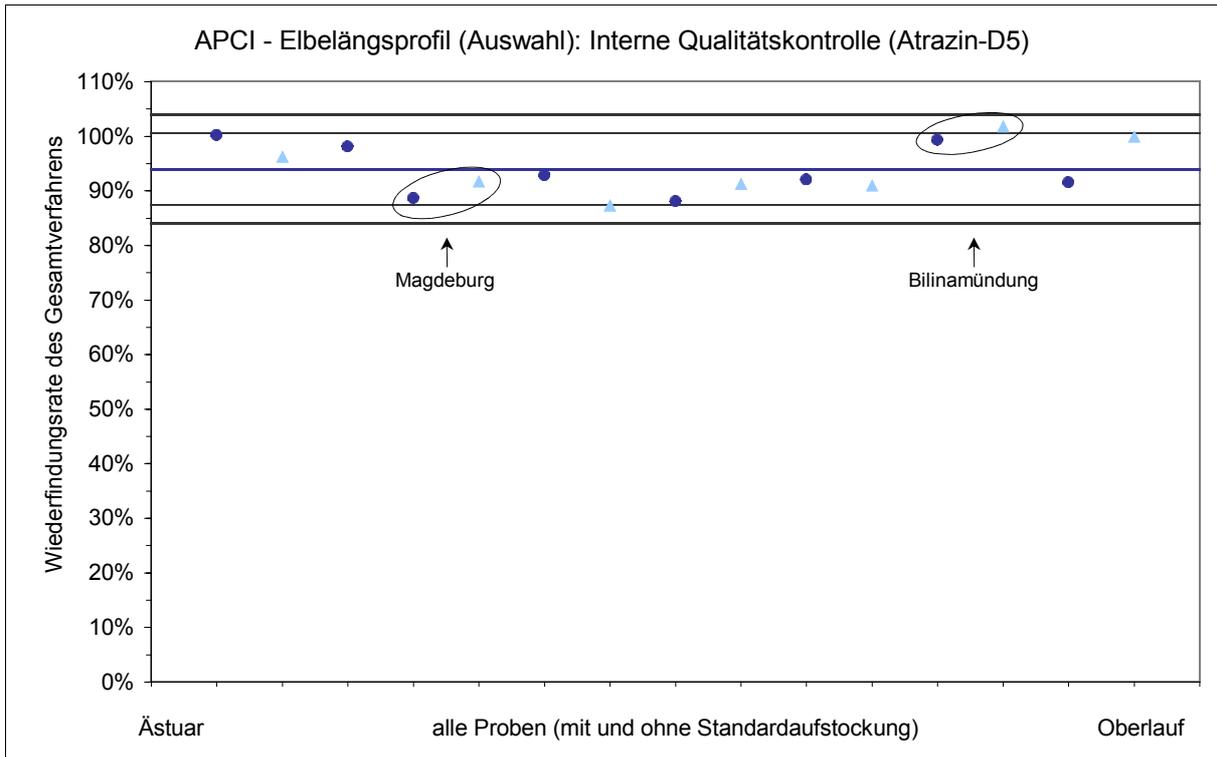


Abbildung 7.10: Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für Atrazin-D5 von ausgewählten Proben des Elbelängsprofils (siehe Tabelle 7.10, von links nach rechts abnehmende Fluss-km; ohne die verdünnte Probe aus der Jizeramündung)

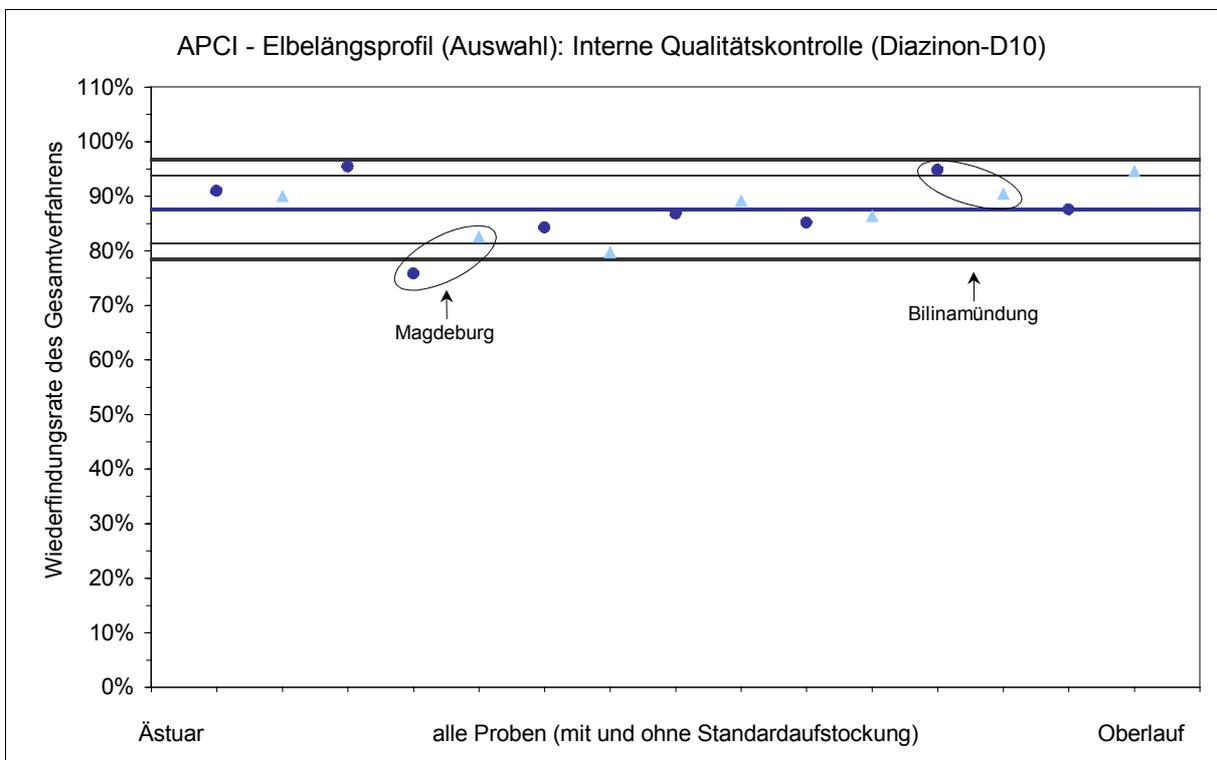


Abbildung 7.11: Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für Diazinon-D10 von ausgewählten Proben des Elbelängsprofils (siehe Tabelle 7.10, von links nach rechts abnehmende Fluss-km; ohne die verdünnte Probe aus der Jizeramündung)

Kreise: Proben ohne Standardaufstockung, Dreiecke: Proben mit Standardaufstockung
 Linien: Mittelwert aller Proben und Streugrenzen (Mittelwert \pm 2 RSD bzw. 3 RSD aus Val. ESI)

Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens

In Abbildung 7.12 sind die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens bei Messung mit ESI und mit APCI für ausgewählte Wasseproben des Elbelängsprofils (siehe Tabelle 7.10) dargestellt.

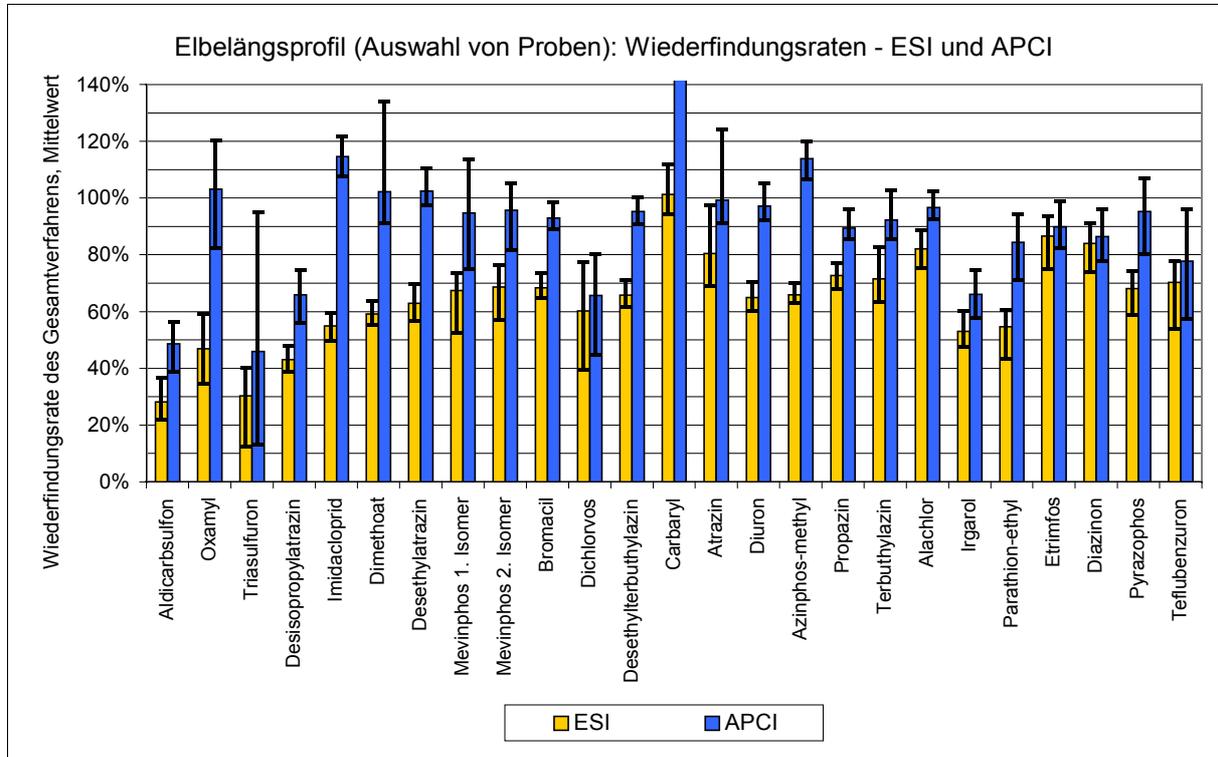


Abbildung 7.12: Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für die Messung mit ESI und mit APCI - ausgewählte Wasserproben des Elbelängsprofils (siehe Tabelle 7.10)
Darstellung als Mittelwert, Fehlerbalken: minimaler und maximaler Wert
nicht vollständig dargestellt. Carbaryl (APCI): 186% (178 - 196%)

Bei der Messung mit APCI lagen die Wiederfindungsraten der Messung für fast alle Substanzen deutlich höher als bei der Messung mit ESI. Mit der APCI wiesen vier Fünftel der untersuchten Substanzen Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens von > 70% auf. Für einige Substanzen lagen die Werte sogar deutlich über 100% (Imidacloprid, Carbaryl, Azinphos-methyl). Da die dargestellten Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für die ESI und die APCI anhand der gleichen Proben ermittelt wurden, können die unterschiedlichen Werte nur durch unterschiedliche Wiederfindungsraten der Messung verursacht werden. D.h. bei der Messung mit APCI sind die signalunterdrückenden Effekte der Probenmatrix wesentlich geringer als bei der Messung mit ESI bzw. es kommt bei der Messung mit APCI im Gegensatz zur ESI zu signalverstärkenden Effekten der Probenmatrix. Ähnliche Beobachtungen wurden schon im Rahmen der Verfahrensentwicklung gemacht (siehe Abschnitt 5.4.2 Auswahl der Ionisierungsmethode).

Die Schwankungsbreiten der Wiederfindungsraten (in Abbildung 7.12 als Fehlerbalken markiert) waren für die Messung mit ESI und APCI ungefähr gleich groß. Nur bei Triasulfuron und Dimethoat wichen die Werte für die Messung mit APCI wesentlich stärker voneinander ab als für die Messung mit ESI.

Ergebnisse der Messung mit APCI

Die Ergebnisse der Messung mit APCI wurden entsprechend der in Abschnitt 7.3.2 beschriebenen Vorgehensweise ermittelt. Dabei wurden im Gegensatz zur Messung mit ESI die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens nur aus sechs aufgestockten Wasserproben (siehe Tabelle 7.10, ohne Bilinamündung) berechnet. Die Konzentrationen in den Wasserproben und die Abweichungen von den mit der ESI ermittelten Ergebnissen sind in Tabelle 7.11 dargestellt.

Die Messungen mit ESI und mit APCI lieferten sehr gut übereinstimmende Ergebnisse, die Abweichungen betragen maximal 9,3% (mit Ausnahme von Irgarol in der Wasserprobe der Bilinamündung: 13%).

Die mittels APCI ermittelte Konzentration von Dimethoat in der Wasserprobe der Muldemündung betrug 69 ng/L (Abweichung von ESI: - 8,2%). In der verdünnten Probe der Jizeramündung wurde für Alachlor mittels APCI eine Konzentration von etwa 2850 ng/L* ermittelt (Abweichung von ESI: - 11%). Die Auswertung erfolgte in diesem Fall wie bei der ESI über eine externe Kalibrierung.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die mittels ESI ermittelten quantitativen Ergebnisse einiger ausgewählter Proben durch die Ergebnisse der Messung mit APCI bestätigt wurden. Dies weist darauf hin, dass mit Hilfe der gewählten Vorgehensweise für die Auswertung trotz der bei beiden Ionisierungsmethoden auftretenden Matrixeffekte eine Quantifizierung möglich ist.

* Dieser Wert liegt weit außerhalb des validierten Anwendungsbereiches des Analysenverfahrens und ist daher nur als Näherungswert anzusehen.

Tabelle 7.11: Messung ausgewählter Proben des Elbelängsprofils mit APCI: Konzentrationen (ng/L) in den Wasserproben und Abweichung von den mit der ESI ermittelten Ergebnissen (Substanzen mit nennenswerten Positivbefunden)

	Atrazin		Desethyl- atrazin		Desethyl- terbutylazin		Desisopropyl- atrazin	
	Konz. (ng/L)	Abw. v. ESI	Konz. (ng/L)	Abw. v. ESI	Konz. (ng/L)	Abw. v. ESI	Konz. (ng/L)	Abw. v. ESI
Tonne 53	45	0,3%	13	-1,0%	9,1	-1,1%	8,0	3,7%
Tonne 91	79	-5,5%	31	-4,1%	9,4	0,5%	12	-0,9%
Magdeburg, linkes Ufer	38	-2,9%	19	-6,7%	3,9	-0,7%		
Saalemündung	7,1	-8,8%	6,0	-6,6%	3,5	-4,5%	7,5	-4,3%
Muldemündung	7,5	-8,1%	4,6	-2,2%	11	-3,6%	11	-0,4%
Schmilka, linkes Ufer	62	-9,3%	26	-4,1%	3,3	-7,0%	7,8	0,7%
Bilinamündung	77	-9,3%	19	-3,6%	9,5	2,5%	18	-2,9%
Valy	56	-8,5%	26	-3,5%	2,1	-5,6%	7,4	0,4%

	Irgarol		Terbutylazin		Diazinon		Diuron	
	Konz. (ng/L)	Abw. v. ESI						
Tonne 53	5,4	0,6%	25	13%	1,4	-2,9%	49	-0,7%
Tonne 91	4,7	-6,0%	26	1,7%	2,7	-5,2%	42	-1,0%
Magdeburg, linkes Ufer	2,6	-1,3%	10	3,8%	3,7	7,1%	13	-2,3%
Saalemündung	9,1	2,8%	7,9	-2,0%	3,7	-0,3%	24	-5,1%
Muldemündung	1,6	-4,4%	32	-5,1%			29	-5,4%
Schmilka, linkes Ufer			9,3	-6,6%	11	-5,2%		
Bilinamündung	2,9	-13%	116	-7,4%	28	-5,3%		
Valy			2,4	0,9%	4,4	-1,0%		

keine Darstellung der Werte, die bei der Messung mit ESI unterhalb der Bestimmungsgrenze lagen

8 MESSUNSICHERHEIT

8.1 Allgemeines

Ein wichtiges Kriterium zur Bewertung von Messergebnissen ist der zu erwartende Grad der Übereinstimmung mit Vergleichsergebnissen. Dieser wird durch die Messunsicherheit beschrieben. (Anstelle von „Messunsicherheit“ wird auch häufig der Begriff „Ergebnisunsicherheit“ benutzt). Im „Glossary of Analytical Terms“ ist der Begriff Messunsicherheit wie folgt definiert: „Ein dem Messergebnis zugeordneter Parameter, der die Streuung der Messwerte beschreibt, die sinnvollerweise der Messgröße zugeordnet werden können.“ [102, 107]. Die Messunsicherheit bestimmt die Grenzen, innerhalb derer ein Messwert als genau, d.h. als richtig und präzise angesehen werden kann [107].

Die Messunsicherheit setzt sich aus mehreren Komponenten zusammen. Daher reicht es bei der Ermittlung der Messunsicherheit in der Regel nicht aus, nur die mit dem Quantifizierungsschritt verbundenen Streuungen anzugeben. Alle Schritte des Analysenverfahrens und die damit verbundenen Quellen der Unsicherheit müssen berücksichtigt werden, um Angaben über die Messunsicherheit machen zu können. Dabei ist stets der Grundsatz zu beachten, dass der Aufwand für die Ermittlung der Messunsicherheit nicht unangemessen hoch sein soll. Da die Gesamtmessunsicherheit von den Hauptkomponenten dominiert wird, ist es entscheidend, die Hauptquellen der Unsicherheit des gesamten Analysenverfahrens zu identifizieren. Komponenten mit geringerem Einfluss wirken sich nach dem Fehlerfortpflanzungsgesetz nur wenig auf die Gesamtmessunsicherheit aus, daher ist es ausreichend sich bei der Ermittlung der Messunsicherheit auf die Hauptkomponenten zu konzentrieren. Sofern die notwendigen Daten zur Ermittlung der Messunsicherheit nicht mit vertretbarem Aufwand auf der Grundlage von Messungen zugänglich sind, sind Schätzungen aufgrund von Erfahrungen und Expertenwissen zulässig. [113]

Eine einmal für ein bestimmtes Analysenverfahren und für die Anwendung in einem bestimmten Labor ermittelte Messunsicherheit kann für weitere Ergebnisse dieses Verfahrens im gleichen Labor angewendet werden, solange die Qualitätskontroll-Daten keine Veränderung relevanter Einflussgrößen anzeigen. Bei Veränderungen des Verfahrens oder der apparativen Ausrüstung erfolgt eine Überprüfung der Messunsicherheit im Rahmen der üblichen Untersuchungen zur Re-Validierung. [113]

Das im Folgenden vorgestellte Verfahren zur Ermittlung der Messunsicherheit wird im EURACHEM / CITAC Guide „Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement“ [113] beschrieben. Dieser Leitfaden zeigt, wie die Konzepte des „Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement“, der 1993 von der ISO in Zusammenarbeit mit anderen Organisationen veröffentlicht wurde, im Bereich chemischer Messungen angewendet werden können. Das Verfahren zur Ermittlung der Messunsicherheit gliedert sich in folgende Schritte:

1. Schritt: Spezifizierung der Messgröße

Im ersten Schritt wird genau dargelegt, was gemessen werden soll und welche Beziehung zwischen den Messwerten und den Parametern besteht, von denen sie abhängen. Dieser Zusammenhang kann durch die Formel zur Berechnung der Messwerte dargestellt werden. Soweit dies möglich ist, werden dabei Korrekturen bekannter systematischer Effekte einbezogen. Es muss eindeutig geklärt werden, welche Verfahrensschritte in die Ermittlung der Messunsicherheit einbezogen werden und welche nicht. Dies betrifft häufig die Probenahme. Ein Ablaufdiagramm des Verfahrens kann zur Verdeutlichung der Darstellung dienen.

2. Schritt: Identifizierung der Quellen für Unsicherheit

Im zweiten Schritt wird eine Liste der relevanten Quellen für Unsicherheiten für jeden Teil des Prozesses oder jeden Parameter erstellt. Zu Beginn ist es hilfreich, sich an der im ersten Schritt aufgestellten Formel zu orientieren. Darüberhinaus können noch weitere Parameter hinzukommen, die zwar nicht bei der Berechnung des Ergebnisses einbezogen werden, aber trotzdem einen Effekt auf den Messwert haben, z.B. Extraktionszeit oder -temperatur. Alle diese Parameter sind potentielle Quellen für Unsicherheiten. Unter Umständen bietet es sich an, das Analysenverfahren schrittweise zu betrachten (z.B. Probennahme, Probenvorbereitung, Messung, Kalibrierung des Instrumentes). Ein geeignetes Hilfsmittel ist die Darstellung der Einflussgrößen und Parameter in einem Diagramm, das deren Zusammenhänge verdeutlicht.

3. Schritt: Quantifizierung der Quellen für Unsicherheit

Im dritten Schritt wird die Größe jeder Unsicherheit bestimmt. In der Praxis stehen meistens ausreichend Daten für die Ermittlung der Messunsicherheit zur Verfügung, so dass häufig keine zusätzlichen Untersuchungen erforderlich sind. So können die im Rahmen der Methodenentwicklung und der Validierung eines Analysenverfahrens gewonnenen Daten verwendet werden. Die in der Routine-Analytik eingesetzten Qualitätskontroll-Maßnahmen liefern viele der für die Ermittlung der Messunsicherheit erforderlichen Informationen. Außerdem können Daten aus der Teilnahme an Ringversuchen Anwendung finden. Weitere Informationsquellen sind Herstellerangaben oder bekannt physikalische Zusammenhänge (z.B. die Abhängigkeit der Dichte von der Temperatur). Wenn experimentelle Daten nicht in ausreichendem Maße zugänglich sind, sind Schätzungen auf der Grundlage von Erfahrungen und Kenntnissen der Fachleute („professional judgement“) eine wichtige Grundlage für die Ermittlung der Messunsicherheit.

Bei der Verwendung von Leistungsparametern des Verfahrens ist sorgfältig zu prüfen, welche Quellen der Unsicherheit erfasst werden und welche zusätzlich einzeln evaluiert werden müssen.

Zur Vereinfachung des Verfahrens ist es sinnvoll, vorab die Beiträge der einzelnen Komponenten nur angenähert abzuschätzen. Komponenten, die kleiner als ein Drittel der größten sind, brauchen nicht detailliert quantifiziert zu werden. Sie können bei der Berechnung weggelassen werden, da ihr Einfluss nicht signifikant ist, es sei denn, sie sind sehr zahlreich. In einem nachfolgenden Schritt können die signifikanten Werte genauer quantifiziert werden.

Die Beiträge aller Komponenten werden in Form von Standardunsicherheiten, d.h. Größen, die einer Standardabweichung entsprechen, ausgedrückt.

4. Schritt: Berechnung der kombinierten Unsicherheit und Multiplikation mit einem Erweiterungsfaktor

Aus den im dritten Schritt quantifizierten Komponenten wird nach dem Fehlerfortpflanzungsgesetz die kombinierte Messunsicherheit (bisher als Gesamtmessunsicherheit bezeichnet) berechnet. Dies erfolgt auf der Grundlage des im ersten Schritt aufgestellten Zusammenhangs zwischen dem Messwert und den Parametern, von denen dieser abhängt.

Die kombinierte Messunsicherheit wird mit einem Erweiterungsfaktor k multipliziert, um ein höheres Konfidenzniveau zu erreichen. Die Auswahl von k wird bestimmt vom erforderlichen Konfidenzniveau, von der Anzahl der Freiheitsgrade der zugrunde liegenden Untersuchungen und von der zugrundeliegenden Verteilung. Im Allgemeinen wird $k = 2$ gesetzt. Dies entspricht einem Konfidenzniveau von etwa 95% unter der Voraussetzung, dass die Anzahl der Freiheitsgrade der zugrundeliegenden Untersuchungen ausreichend hoch ist, und dass eine Normalverteilung zugrunde gelegt werden kann. Der Erweiterungsfaktor entspricht etwa dem zweiseitigen Student-t-Faktor für eine Normalverteilung. Die Angabe des Ergebnisses erfolgt plus / minus diese "erweiterte, kombinierte Messunsicherheit".

8.2 Ermittlung der Messunsicherheit der Ergebnisse für die Wasserproben des Elbelängsprofils

Entsprechend dem oben beschriebenen Verfahren wurde für die Untersuchung der Wasserproben des Elbelängsprofils die Messunsicherheit abgeschätzt.

1. Schritt: Spezifizierung der Messgröße

Die Messgröße ist die Konzentration des Analyten in der untersuchten Wasserprobe. Die Berechnung des Ergebnisses erfolgt nach den Gleichungen 8-1 bis 8-5.

$$c_{\text{ext},i} = \frac{A_{p,i}}{b_i} \cdot \frac{V_e}{V_{\text{inj}} \cdot V_w} \quad \text{Gleichung 8-1}$$

$$w_i = \frac{A_{\text{ps},i} - A_{p,i}}{b_i \cdot m_{\text{add}}} \quad \text{Gleichung 8-2}$$

$$W = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n w_i \quad \text{Gleichung 8-3}$$

$$c_i = \frac{c_{\text{ext},i}}{W} \quad \text{Gleichung 8-4}$$

Daraus ergibt sich die Gleichung 8-5.

$$c_i = \frac{A_{p,i}}{b_i} \cdot \frac{V_e}{V_{\text{inj}} \cdot V_w} \cdot \frac{n}{\sum_{i=1}^n \frac{A_{\text{ps},i} - A_{p,i}}{b_i \cdot m_{\text{add}}}} \quad \text{Gleichung 8-5}$$

- $c_{\text{ext},i}$: Konzentration in der Wasserprobe i, ermittelt über die externe Kalibrierung
- b_i : Steigung der Kalibriergeraden (Angabe als Flächeneinheit pro Masseneinheit), der externen Kalibrierung, die für die Auswertung der Probe i verwendet wurde
- V_e : Volumen der messfertigen Lösung (Volumen des Extraktes)*
- V_i : Injektionsvolumen (für alle Proben einheitlich)
- V_w : Volumen der Wasserprobe (für alle Proben einheitlich)
- $A_{p,i}$: Signal (Fläche) für die Probe i
- $A_{\text{ps},i}$: Signal (Fläche) für die mit dem Standardgemisch aufgestockte Probe i
- m_{add} : Masse der Standardaufstockung der Probe i, entsprechend dem injizierten Aliquot
- w_i : Wiederfindungsrate des Gesamtverfahrens, ermittelt für die Probe i
- W : Mittelwert der Wiederfindungsraten aller aufgestockten Proben
- n : Anzahl der aufgestockten Proben
- c_i : Konzentration in der Wasserprobe i, Endergebnis

* Abweichungen der einzelnen Proben vom vorgesehenen Volumen (bis zu 5%) wurden bei der Berechnung berücksichtigt (der Einfachheit halber in den Gleichungen nicht dargestellt).

In Abbildung 8.1 ist der Ablauf des Analysenverfahrens schematisch dargestellt. Die hier ermittelte Messunsicherheit bezieht sich nur auf das eigentliche Analysenverfahren, die Probennahme wurde nicht miteinbezogen. Mit der Filtration verbundene Unsicherheiten wurden nicht untersucht. Im Rahmen der Validierung wurde festgestellt, dass es keine eindeutigen Hinweise auf eine Zersetzung der Analyte während der bis zu zweitägigen Lagerung der Wasserproben gab (siehe Abschnitt 6.6). Mit der Lagerung verbundene Unsicherheiten wurden nicht in diese Rechnung einbezogen.

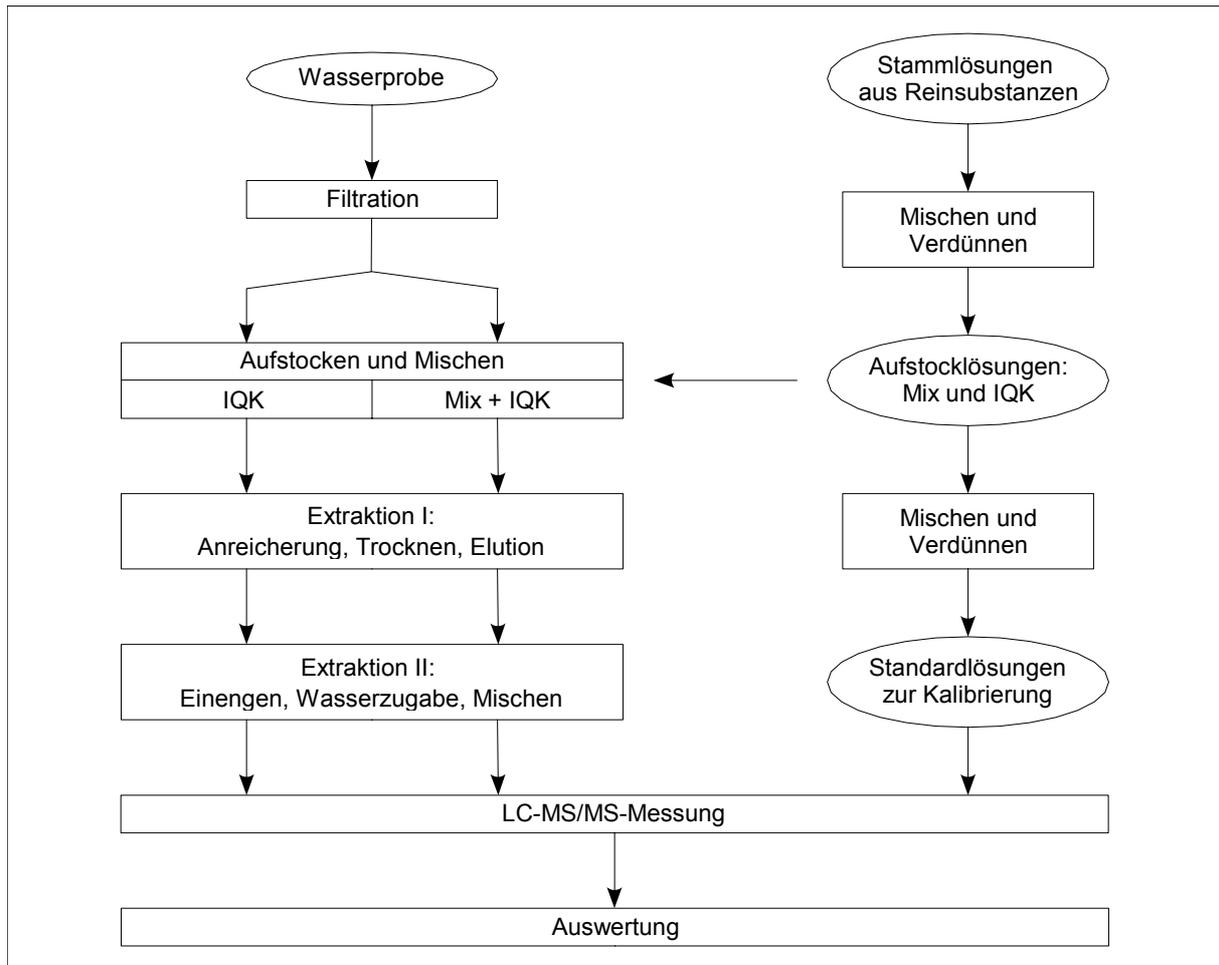


Abbildung 8.1: Ablauf des Analysenverfahrens

(Mix = Standardgemisch der Analyte, IQK = Gemisch der beiden deuterierten Standards Atrazin-D5 und Diazinon-D10 für die interne Qualitätskontrolle)

2. Schritt: Identifizierung der Quellen für Unsicherheit

In Abbildung 8.2 sind die in den Gleichungen 8-1 bis 8-5 für die Berechnung des Messwertes verwendeten Parameter dargestellt, um ihren Zusammenhang untereinander und ihren Einfluss auf das Ergebnis zu verdeutlichen. Die Messunsicherheit des Ergebnisses setzt sich aus den Unsicherheiten dieser Parameter zusammen. Die in Gleichung 8-1 bzw. 8-5 genannten Volumina tauchen in dieser Darstellung nicht auf; sie werden als Einflussgrößen auf die übrigen Parameter aufgefasst (siehe unten).

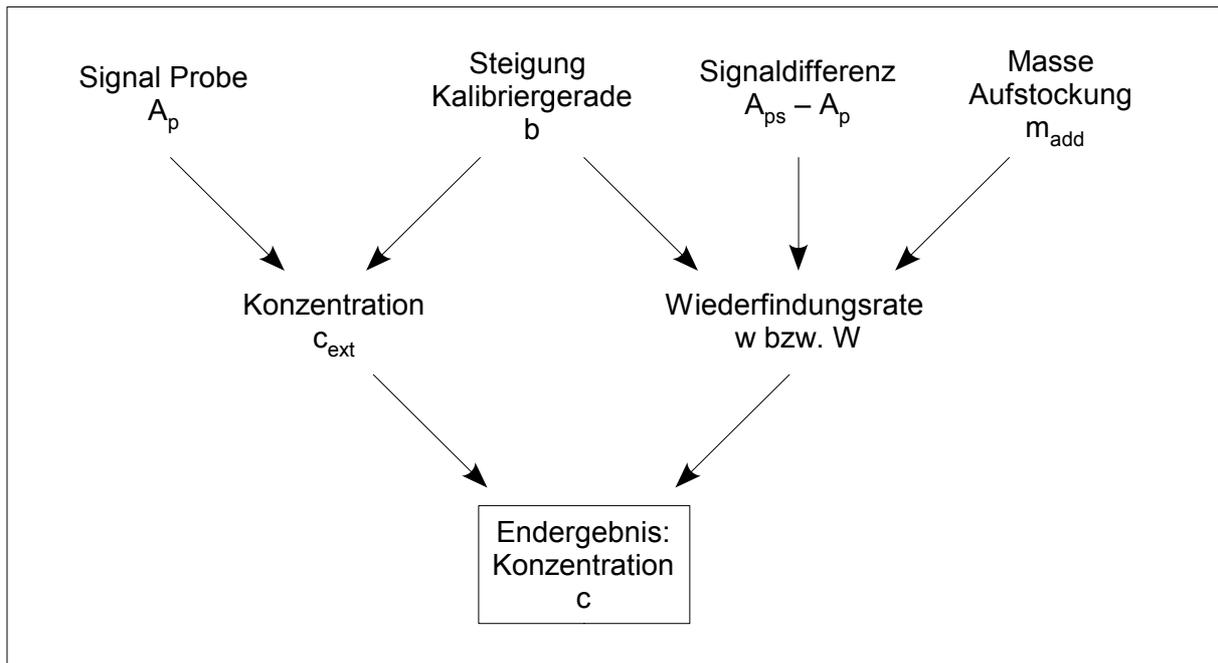


Abbildung 8.2: Zusammenhang des Messwertes und der für die Berechnung verwendeten Parameter

Im Folgenden wird dargelegt, von welchen Einflussgrößen diese Parameter abhängen. In Abbildung 8.3 ist dies für das Signal aus der Messung der Probe A_p dargestellt. Die meisten Einflussgrößen werden durch die im Rahmen der Validierung ermittelte Wiederholpräzision des Gesamtverfahrens erfasst. Unsicherheiten von Volumina werden unterteilt in systematische Abweichungen und Streuungen. Letztere werden von der Wiederholpräzision miterfasst, erstere müssen einzeln ermittelt werden. Die systematische Abweichung des Injektionsvolumens wird nicht in die Rechnung einbezogen, da ihr Einfluss auf alle Messungen (Proben, aufgestockte Proben, Kalbrierstandards) gleich ist. Der Ausdruck „Extraktion“ beinhaltet u.a. die mit der Wiederfindungsrate der Anreicherung verbundenen Unsicherheiten und Schwankungen, die während der Probenaufarbeitung bis zur Messung auftreten. Der Ausdruck „Matrixeffekt auf Messung“ bezieht sich auf die Variabilität des Einflusses, den die Matrixbestandteile der Wasserproben auf die Empfindlichkeit der Messung ausüben. „Stabilität der Messung“ beschreibt die Schwankungen des Signals aus der Messung einer Probe über einen längeren Zeitraum.

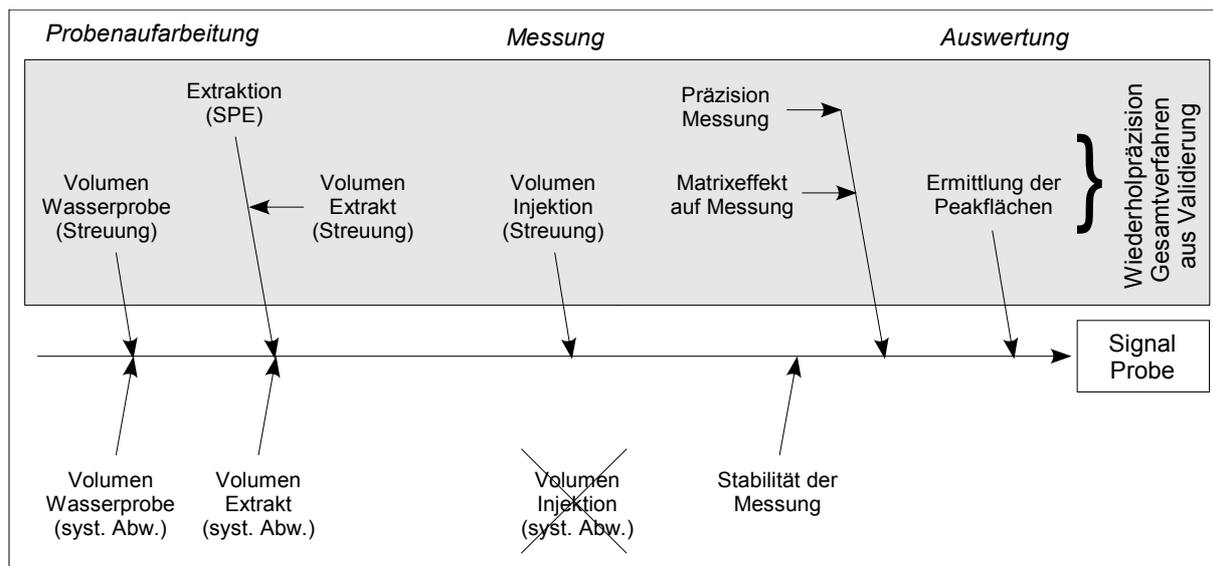


Abbildung 8.3: Einflussgrößen auf die Unsicherheit des Signals für die Probe

Die Einflussgrößen auf die Unsicherheit der Signaldifferenz zwischen aufgestockter und der unaufgestockter Probe $A_{ps} - A_p$ sind in Abbildung 8.4 dargestellt. Im Vergleich mit Abbildung 8.3 kommt der Vorgang der Aufstockung der Wasserprobe mit dem Standardgemisch als weitere Einflussgröße dazu. Alle Einflussgrößen werden durch die Streuung der Wiederfindungsraten der aufgestockten Proben des Elbelängsprofils erfasst. Systematische Abweichungen des Volumens der Wasserprobe und des Extrakts spiegeln sich durch die Differenzbildung ebenfalls in diesem Maß für die Streuung der Wiederfindungsraten wider. Das Gleiche gilt aufgrund der Mittelung über die anhand mehrerer Proben ermittelten Wiederfindungsraten für die Stabilität der Messung.

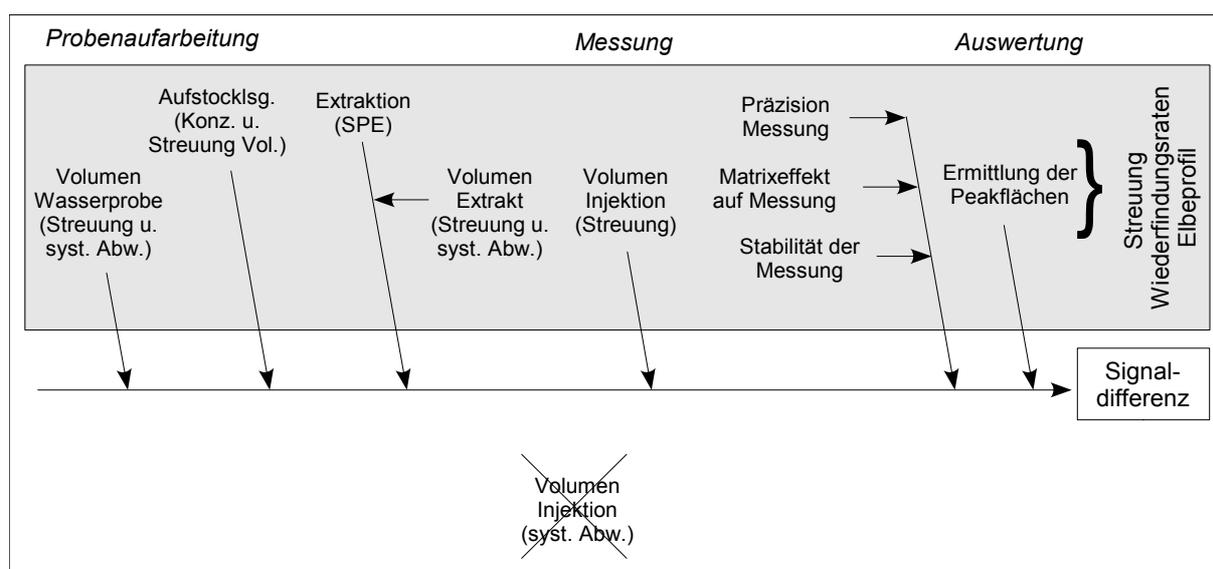


Abbildung 8.4: Einflussgrößen auf die Unsicherheit der Signaldifferenz zwischen aufgestockter und unaufgestockter Probe

Die Unsicherheit der Masse der Aufstockung m_{add} wird bestimmt durch die Unsicherheit der Konzentration und die systematische Abweichung des zugegebenen Volumens der Standardlösung (Aufstocklösung). Diese wird nicht durch die Streuung der Wiederfindungsraten der aufgestockten Proben des Elbelängsprofils erfasst, da für alle Proben die gleiche Aufstocklösung und die gleiche Spritze zum Abmessen der Lösung verwendet wurde.

Die Einflussgrößen auf die Steigung der Kalbriergeraden b der externen Kalibrierung (Kalibrierung des Messvorgangs mit Standardlösungen) sind in Abbildung 8.5 dargestellt. Die Ermittlung der Unsicherheit der Kalbriergeraden erfolgt nach einer stark vereinfachten Vorgehensweise, indem die Einflüsse der Messung und der Auswertung in den Schwankungen der Empfindlichkeit der Messung zwischen verschiedenen Kalibrierungen zusammengefasst werden.

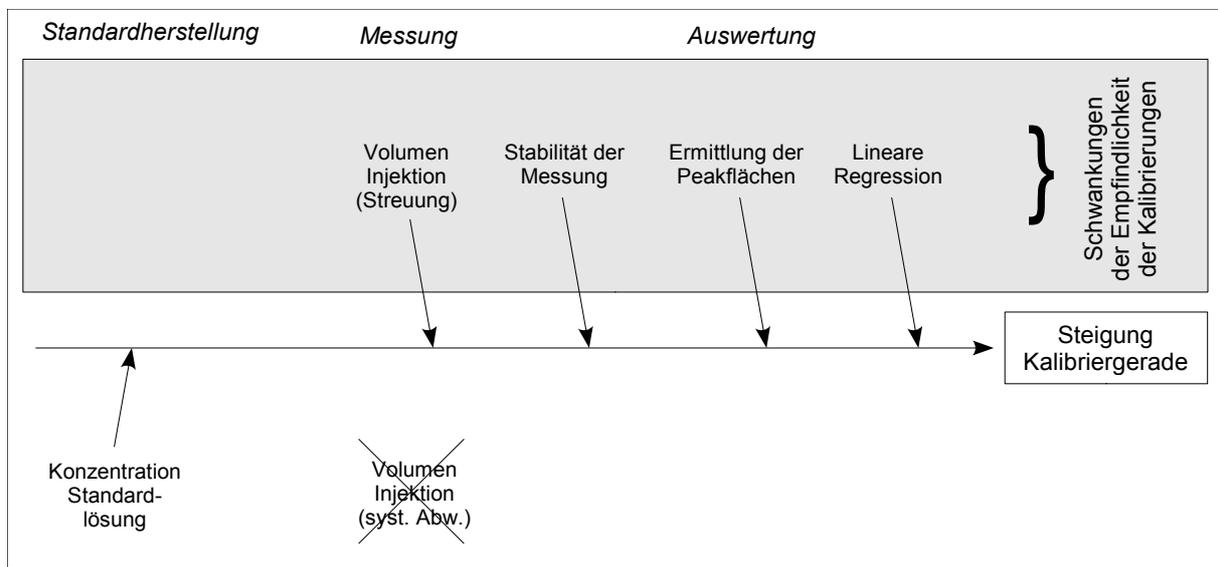


Abbildung 8.5: Einflussgrößen auf die Unsicherheit der Steigung der Kalbriergeraden der externen Kalibrierung

3. Schritt: Quantifizierung der Quellen für Unsicherheit

Anhand von vorhandenem Datenmaterial, von zusätzlichen Messungen, Herstellerangaben und Schätzungen wurden die einzelnen Quellen für Unsicherheit quantifiziert. Alle Angaben wurden in relative Standardunsicherheiten umgerechnet.

Wiederholpräzision des Gesamtverfahrens

Die Wiederholpräzision des Gesamtverfahrens wurde im Rahmen der Validierung ermittelt (siehe Tabelle 8.1 und Abschnitt 6.5.2, Tabelle 6.6).

Schwankungen der Wiederfindungsraten bei den Proben des Elbelängsprofils

Die relativen Standardabweichungen (RSD) der Wiederfindungsraten der 14 mit Aufstockung untersuchten Wasserproben des Elbelängsprofils (ohne die Probe aus der Bilinamündung) sind in Tabelle 8.1 angegeben (siehe auch Abschnitt 7.3.1, Tabelle 7.3).

Schwankungen der Empfindlichkeit der Messung

Die Schwankungen der Empfindlichkeit der Messung (= Steigung der Kalibriergeraden) wurden aus den Unterschieden der vier externen Kalibrierungen ermittelt, die im Verlauf der Messung der Proben des Elbelängsprofils gemacht wurden. Dazu wurden die maximalen Abweichungen der Steigungen zweier aufeinanderfolgender Kalibrierungen vom gemeinsamen Mittelwert als Spannweite einer Rechteckverteilung zugrunde gelegt. Daraus wurden durch Division mit $\sqrt{3}$ die in Tabelle 8.1 angegebenen Standardunsicherheiten berechnet. Diese Rechnung basiert auf der für die Auswertung der Proben angewandten Vorgehensweise: eine Probe wurde jeweils mit den beiden vor und nach der Messung der Probe liegenden Kalibrierungen ausgewertet.

Die in Tabelle 8.1 angegebenen Werte für die Schwankungen der Empfindlichkeit von Aldicarb-sulfon und Oxamyl beruhen auf einer Schätzung. Da bei diesen Substanzen sehr starke Schwankungen bei der Messung der Kalibrierstandards auftraten, konnten die Werte nicht genau bestimmt werden. Bei Carbaryl sind in anderen Messreihen ebenfalls starke Schwankungen aufgetreten, der in Tabelle 8.1 angegebene Wert, der mit 10% auch schon sehr hoch liegt, täuscht möglicherweise eine unrealistische Situation vor (vergl. hohe Streuung bei den QK-Messungen, Abschnitt 6.7, Tabelle 6.9, und die schlechte Wiederholpräzision der LC-MS/MS-Messung, Abschnitt 6.5.1, Tabelle 6.5).

Stabilität der Messung

Während der Messung der Proben des Elbelängsprofils wurden in regelmäßigen Abständen Standardlösungen als Qualitätskontrolle (QK) gemessen (siehe Abschnitt 6.7, Tabelle 6.9). Die aus diesen Messungen ermittelte Standardabweichung ist in Tabelle 8.1 als Stabilität der Messung angegeben. Sie stellt ein Maß dafür dar, wie stark die Signale bei der Messung einer Probe im Verlauf einer längeren Messreihe schwanken. In diesem Fall handelte es sich um eine 5,5 Tage andauernde Messreihe, d.h. die angegebenen Werte sind eher zu groß als zu klein.

Tabelle 8.1: Unsicherheiten der analyt-abhängigen Einflussgrößen

	Wiederholpräzi- sion Gesamtverf. Elbe (RSD)	Wieder- findungsraten Elbeprofil (RSD)	Schwankung Empfindl. Kalibrierung	Stabilität Messung aus QK (RSD)
<u>Triazinderivate und deren Metabolite</u>				
Atrazin	2,1%	9,0%	1,1%	2,3%
Desethylatrazin	2,9%	8,1%	1,8%	3,9%
Desethylterbuthylazin	3,4%	3,8%	0,5%	3,0%
Desisopropylatrazin	2,7%	8,6%	1,2%	2,9%
Irgarol	15,4%	13,2%	0,8%	2,2%
Propazin	3,6%	3,6%	2,5%	4,9%
Terbuthylazin	2,1%	6,6%	2,1%	4,8%
<u>Phosphorsäureester</u>				
Azinphos-methyl	4,3%	3,5%	1,3%	2,4%
Diazinon	2,6%	6,1%	1,6%	2,1%
Dichlorvos	11,9%	34,6%	3,2%	5,7%
Dimethoat	3,5%	3,4%	1,5%	5,3%
Etrimfos	2,6%	6,1%	1,6%	2,8%
Fenitrothion	6,3%	6,6%	1,7%	4,3%
Mevinphos 1. Isomer	10,2%	12,7%	0,9%	3,1%
Mevinphos 2. Isomer	3,0%	10,6%	1,2%	3,1%
Parathion-ethyl	4,8%	9,5%	1,5%	3,6%
Parathion-methyl	6,1%	7,5%	3,1%	7,8%
Pyrazophos	2,3%	5,9%	1,9%	2,8%
<u>Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige</u>				
Diuron	2,8%	4,3%	1,9%	4,4%
Teflubenzuron	1,9%	11,8%	2,0%	3,6%
Triasulfuron	18,5%	30,6%	2,2%	3,9%
Aldicarb-sulfon	2,6%	20,9%	(20%)	21,4%
Carbaryl	3,4%	5,4%	10,0%	12,5%
Oxamyl	3,8%	20,3%	(20%)	12,5%
Alachlor	3,3%	4,4%	1,0%	2,4%
Bromacil	4,0%	4,0%	2,4%	5,1%
Imidacloprid	5,3%	4,8%	1,8%	3,2%

Volumen der Wasserprobe (systematische Abweichungen)

Der Hersteller gibt für das Volumen der verwendeten 1000 mL-Messzylinder eine Schwankungsbreite von ± 5 mL an. Legt man diesen Wert als Spannweite einer Rechteckverteilung zugrunde, ergibt sich eine Standardabweichung von 2,9 mL (Umrechnung durch Division mit $\sqrt{3}$) bzw. 0,29%. Diese Komponente wurde nicht in die Berechnung der Messunsicherheit einbezogen, da ihr Einfluss vernachlässigbar klein ist.

Volumen Extrakt (systematische Abweichungen)

Für das Volumen des Extrakts wurde aus Messungen zur Genauigkeit der Abmessung von 200 μ L Acetonitril, aus dem maximalen Rundungsfehler bei der Zuwaage von 0,8 g Wasser und aus dem geschätzten Fehler der Dichte bei der Mischung der beiden Phasen eine relative Standardunsicherheit von 1,1% ermittelt.

Volumen der Aufstocklösung (systematische Abweichungen)

Bei der Überprüfung der für das Abmessen der Aufstocklösung verwendeten Spritze ergab sich eine Abweichung vom Sollwert des Volumens von 0,5% (für 20 μ L). Legt man diesen Wert als Spannweite einer Rechteckverteilung zugrunde, ergibt sich eine relative Standardabweichung von 0,29%. Diese Komponente wurde nicht in die Berechnung der Messunsicherheit einbezogen, da ihr Einfluss vernachlässigbar klein ist.

Konzentration der Standardlösungen für die Kalibrierung und für die Aufstockung

Zur Herstellung der Standardlösungen wurden zuerst Stammlösungen aus den Reinsubstanzen in Acetonitril oder Methanol angesetzt. Aus diesen Stammlösungen wurden Mischstandards hergestellt, die anschließend in Acetonitril verdünnt wurden. Diese Lösungen wurden zum Aufstocken der Wasserproben und zur Herstellung der Kalibrierstandards durch Verdünnen in Acetonitril / Wasser verwendet. Die Gesamtunsicherheit der Konzentrationen dieser Lösungen wurde aus den Herstellerangaben über die Reinheit der Substanzen*, aus Schätzungen der Unsicherheiten bei der Einwaage und Verdünnung und aus Schätzungen der Unsicherheiten der Dichte der Gemische ermittelt. Für die Aufstocklösungen ergab sich eine relative Standardunsicherheit von 1,6%, für die Kalibrierstandards von 1,9%.

Der systematische Fehler, der bei der Bestimmung des Verhältnisses der Isomere von Mevinphos gemacht wurde (siehe Abschnitt 5.2 und 11.4), wurde bei der Ermittlung der Messunsicherheit nicht einbezogen.

* Die Toleranz der Reinheitsangabe wurde bei der Berechnung für alle Substanzen auf $\pm 1,0\%$ gesetzt. (Herstellerangabe für einige Substanzen, u.a. Propazin, nur $\pm 0,5\%$; Etrifos $\pm 2,0\%$). Die Ungenauigkeit, die sich für Propazin aus der ca. 1%igen Propazin-Verunreinigung im Atrazin-Standard (vergl. Abschnitt 6.2) ergibt, ist vernachlässigbar klein bzw. von dieser Toleranzangabe teilweise abgedeckt.

4. Schritt: Berechnung der kombinierten Unsicherheit und Multiplikation mit einem Erweiterungsfaktor

Entsprechend dem Fehlerfortpflanzungsgesetz werden die Unsicherheiten der in Abbildung 8.2 dargestellten Parameter aus den Standardunsicherheiten der Einflussgrößen nach der allgemeinen Gleichung 8-6 kombiniert. Die Standardunsicherheiten u sind in allen Formeln als relative Größen angegeben, d.h. sie sind auf die jeweilige Einflussgröße bezogen. Die dargestellten Formeln gelten für den Fall, dass y proportional zu x_i oder $1/x_i$ ist.

$$y = f(x_1, x_2, x_3, \dots)$$

$$u_{\text{rel}}(y) = \sqrt{u_{\text{rel}}(x_1)^2 + u_{\text{rel}}(x_2)^2 + u_{\text{rel}}(x_3)^2 + \dots} \quad \text{Gleichung 8-6}$$

In Tabelle 8.2 wird dargestellt, aus welchen Einflussgrößen bzw. deren Unsicherheiten die Unsicherheiten der einzelnen Parameter berechnet werden (vergl. Abbildungen 8.3, 8.4 und 8.5). Die Einflussgrößen, die vernachlässigbar kleine Unsicherheiten aufweisen und daher nicht in die Rechnung einbezogen werden, sind entsprechend markiert.

Tabelle 8.2: Komponenten für die Berechnung der Unsicherheiten der in Abbildung 8.2 dargestellten Parameter

y	x_1, x_2, \dots bzw. $u_{\text{rel}}(x_1), u_{\text{rel}}(x_2), \dots$
Signal Probe A_p	Wiederholpräzision Gesamtverfahren Stabilität Messung (QK-Messungen) Volumen Extrakt (syst. Abw.) <i>vernachlässigbar klein: Volumen Wasserprobe (syst. Abw.)</i>
Signaldifferenz $A_{ps} - A_p$	RSD Wiederfindungsraten Elbelängsprofil
Masse Aufstockung m_{add}	Konzentration Aufstocklösung <i>vernachlässigbar klein: Volumen Aufstocklösung (syst. Abw.)</i>
Steigung Kalbriergerade b	Konzentration Standardlösung Schwankungen der Empfindlichkeit (Kalbrierungen)

Entsprechend der im ersten Schritt dargestellten Gleichung 8-5 für die Berechnung des Messwertes ergibt sich Gleichung 8-7 für die kombinierte Messunsicherheit. Bei der Aufstellung dieser Gleichung wurde die für eine einzelne Wiederfindungsrate ermittelte Unsicherheit als Maß für die Unsicherheit des Mittelwertes der Wiederfindungsraten aller aufgestockten Proben angenommen.

$$u_{\text{rel}} = \sqrt{u_{\text{rel}}(A_{p,i})^2 + u_{\text{rel}}(b_i)^2 + u_{\text{rel}}(A_{ps,j} - A_{p,j})^2 + u_{\text{rel}}(b_j)^2 + u_{\text{rel}}(m_{\text{add},j})^2} \quad \text{Gleichung 8-7}$$

Die auf diese Weise berechnete kombinierte Messunsicherheit wurde mit einem Erweiterungsfaktor von 2 multipliziert. Die Ergebnisse dieser Berechnungen sind in Tabelle 8.1 dargestellt. Die Angabe des Ergebnisses erfolgt plus / minus diese "erweiterte, kombinierte Messunsicherheit".

Tabelle 8.3: *Erweiterte, kombinierte Messunsicherheit für die Untersuchung der Wasserproben des Elbelängsprofils*

	erweiterte, komb. Messunsicherheit		erweiterte, komb. Messunsicherheit
<u>Triazinderivate und deren Metabolite</u>			
Atrazin	20%	Irgarol	41%
Desethylatrazin	21%	Propazin	17%
Desethylterbuthylazin	14%	Terbuthylazin	19%
Desisopropylatrazin	20%		
<u>Phosphorsäureester</u>			
Azinphos-methyl	14%	Mevinphos (1. Isomer)	(37%)*
Diazinon	16%	Mevinphos (2. Isomer)	(25%)*
Dichlorvos	(75%)	Parathion-ethyl	24%
Dimethoat	16%	Parathion-methyl	27%
Etrimfos	16%	Pyrazophos	16%
Fenitrothion	22%		
<u>Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige</u>			
Diuron	16%	Oxamyl	(75%)
Teflubenzuron	26%	Alachlor	14%
Triasulfuron	(73%)	Bromacil	18%
Aldicarbulsulfon	(83%)	Imidacloprid	18%
Carbaryl	(40%)		

* *systematischer Fehler aus der Ermittlung des Isomerenverhältnisses (vergl. Abschnitt 5.2 und 11.4) nicht einbezogen (Größe des Fehlers nicht bekannt)*

Die erweiterte, kombinierte Messunsicherheit liegt für drei Viertel der Substanzen im Bereich von 14 - 27%, für Irgarol und Carbaryl (siehe unten) liegen die Werte bei 40%.

Die für die beiden Mevinphos-Isomere ermittelte Messunsicherheit von 37% bzw. 25% berücksichtigt nicht den systematischen Fehler aus der Bestimmung des Isomerenverhältnisses (vergl. Abschnitt 5.2 und 11.4). Obwohl diese Werte daher zu klein sind, liefern die Angaben interessante Hinweise auf die übrigen mit dem Analysenverfahren verbundenen Fehlerquellen.

Dichlorvos, Triasulfuron, Aldicarbulsulfon und Oxamyl weisen extrem hohe Messunsicherheiten von etwa 70 - 85% auf, d.h. die Messunsicherheit liegt in der Größenordnung des Messwertes. Daher können für diese Analyte nur halbquantitative Angaben gemacht werden.

Die Ursache für diese hohen Messunsicherheiten liegen bei Dichlorvos und Triasulfuron in der schlechten Wiederholpräzision des Gesamtverfahrens und in der starken Streuung der Wiederfindungsraten der Proben des Elbelängsprofils. Bei Aldicarb-sulfon und Oxamyl ist die Wiederholpräzision des Gesamtverfahrens gut. Die starke Streuung der Wiederfindungsraten der Proben des Elbelängsprofils und die starken Schwankungen bei der Messung und der Empfindlichkeit verursachen in diesem Falle die hohen Messunsicherheiten.

Bei Carbaryl traten in einigen Messreihen sehr starke Schwankungen auf, die sich im Rahmen der Validierung in den teilweise schlechten Werten für die Wiederholpräzision der LC-MS/MS-Messung und in der schlechten Stabilität der Messung (QK-Messungen) zeigten (vergl. Abschnitt 6.5.1 und 6.7). Diese Schwankungen werden nur teilweise von den für die Berechnung der Messunsicherheit verwendeten Daten wiedergegeben, so dass der in Tabelle 8.1 angegebene Wert von 40% für die Messunsicherheit von Carbaryl möglicherweise zu niedrig ist. Aufgrund dieser Vermutung werden auch für Carbaryl nur halbquantitative Angaben gemacht.

9 FAZIT UND AUSBLICK

Fazit

In der vorliegenden Arbeit wurde zur Untersuchung von Flusswasser ein leistungsfähiges Analysenverfahren für den Nachweis und die Quantifizierung eines breiten Spektrums von Pestiziden mit sehr unterschiedlichen Eigenschaften (Wasserlöslichkeit von 600 g/L bis 20 µg/L, Polarität: log Kow von - 1 bis 5) entwickelt. Die in den Kapiteln 1 und 2 formulierten Anforderungen an das Verfahren werden für die Mehrzahl der untersuchten Substanzen erfüllt (vergl. auch Abschnitt 6.1 und 6.9):

- Das Verfahren weist eine hohe Selektivität auf, die den Nachweis der Analyte mit einer hohen Identifizierungssicherheit ermöglicht (siehe Abschnitt 6.2).
- Die Nachweisgrenzen für die Untersuchung von Flusswasserproben liegen bei der Mehrzahl der Analyte im Bereich weniger ng/L bzw. im sub-ng/L-Bereich (siehe Abschnitt 6.3.2). Das Verfahren ermöglicht die Überwachung der Einhaltung der Zielvorgaben, mit Ausnahme von Dichlorvos, Fenitrothion, Mevinphos, Parathion-ethyl, -methyl, für die die Nachweisgrenzen oberhalb der Zielvorgaben liegen (siehe Abschnitt 7.4.3). Dies liegt z.T. an den sehr niedrig liegenden Zielvorgaben (0,6 / 0,2 / 0,2 ng/L für Dichlorvos, Mevinphos und Parathion-ethyl), z.T. an der aufgrund der geringen Ionisierungseffizienz zu unempfindlichen Messung mit der ESI oder der APCI (Fenitrothion, Parathion-methyl, (-ethyl)).
- Die Messunsicherheit für die Ergebnisse der Wasserproben des Elbelängsprofils liegt zwischen 14 und 41%, mit Ausnahme von Aldicarb-sulfon, Triasulfuron, Oxamyl, Dichlorvos und Carbaryl, für die aufgrund der hohen Messunsicherheit nur halbquantitative Angaben gemacht werden können (vergl. Abschnitt 8.2). Damit ist das Verfahren für die Quantifizierung der Mehrzahl der untersuchten Substanzen in Flusswasserproben gut geeignet.

Die während der Messung auftretenden Matrixeffekte bewegen sich in einem akzeptablen Bereich (siehe Abschnitt 5.6). Das Ausmaß dieser Effekte ist deutlich kleiner als die Effekte, die bei der Entwicklung eines gaschromatographischen Verfahrens zur Bestimmung von Pestiziden in Oberflächenwasser beobachtet wurden ([22], vergl. Abschnitt 3.1). Damit kann das Verfahren für Substanzen, die bei der Quantifizierung mit der GC besondere Probleme bereiten, eine Alternative darstellen.

Die Praxistauglichkeit des Verfahrens, einschließlich der „internen Qualitätskontrolle“ mit deuterierten Standardsubstanzen, wurde bei der Untersuchung von Wasserproben eines Elbelängsprofils unter Beweis gestellt. Dabei variierten die Wiederfindungsraten für die Mehrzahl der untersuchten Substanzen nur wenig, d.h. die Matrixeffekte zeigten für die Proben unterschiedlicher Herkunft nur eine geringe Variabilität (siehe Abschnitt 7.3.1). Daher kann bei zukünftigen Messreihen der Aufwand zur Bestimmung der Wiederfindungsraten deutlich reduziert werden.

Bei der Untersuchung der Wasserproben eines Elbelängsprofils (August 2001) wurden, mit Ausnahme von Diuron, für die Elbe (ohne die Nebenflüsse) keine Befunde oberhalb der Zielvorgaben festgestellt (siehe Abschnitt 7.4.3). Die Ergebnisse des Elbelängsprofils und die Ergebnisse der Wasserproben aus Geesthacht-Tesperhude (siehe Abschnitt 7.4.2) legen die Schlussfolgerung nahe, dass Diuron für die Elbe im Bereich von Deutschland von prioritärer Bedeutung ist. Daten aus der Literatur (siehe Abschnitt 7.4.4) zeigen, dass Diuron 1995 für die mittlere Elbe als prioritärer Stoff einzustufen war. In der vorliegenden Arbeit und in älteren Untersuchungen aus der Literatur wurden in der Elbe deutliche Befunde von Atrazin festgestellt. Atrazin und Diuron gehören zu den „prioritären gefährlichen Stoffen“ nach der Wasserrahmenrichtlinie der Europäischen Union (WRRL) [12], für die die Zielsetzung eine (schrittweise) Beendigung der Einträge in Gewässer ist (siehe Abschnitt 3.2). D.h. für diese beiden Substanzen besteht Handlungsbedarf zur Reduzierung / Beendigung der Einträge.

Ausblick

Zur Verbesserung des in der vorliegenden Arbeit entwickelten Verfahrens ergeben sich folgende Ansatzpunkte:

- Optimierung des Anreicherungsverfahrens, um die Wiederfindungsraten bzw. die Reproduzierbarkeit der Anreicherung bei den Substanzen mit großer Messunsicherheit (s.o.) zu verbessern. Eine Optimierungsmöglichkeit ist der Einsatz einer anderen Festphase für die SPE, z.B. ein „graphitized carbon black (GCB)“-Material. (Crescenzi et al. [49] erzielten mit einem GCB-Material für Substanzen eines breiten Polaritätsbereiches hohe Wiederfindungsraten und eine gute Präzision; allerdings wurde für Flusswasser keine Validierung im unteren ng/L-Bereich durchgeführt (siehe Abschnitt 3.3.6).)
- Einsatz eines empfindlicheren Massenspektrometers (z.B. API 4000 von Applied Biosystems / MDS Sciex), um eine höhere Nachweisstärke für die Substanzen mit unzureichenden Nachweisgrenzen (s.o.) zu erreichen (Nachteil: weitere Erhöhung des ohnehin schon sehr hohen Kostenaufwands für das Massenspektrometer). Weitere Möglichkeiten sind die stärkere Anreicherung bzw. die Injektion größerer Volumina oder der Einsatz der GC, die für einen Teil dieser Substanzen eine höhere Empfindlichkeit aufweist. Beide Möglichkeiten sind allerdings mit dem Auftreten stärkerer Matrixeffekte in der Messung verbunden und erfordern daher weitere Maßnahmen zur Abtrennung von Matrixbestandteilen, z.B. einen zusätzlichen „Clean-up“-Schritt (vergl. Abschnitt 3.1). Eine andere interessante Möglichkeit ist der Einsatz von „restricted access“-Materialien (RAM) als Festphase für die LC, um hochmolekulare Matrixbestandteile während der Messung abzutrennen (vergl. Abschnitt 3.3.3).
- stärkere Automatisierung des Extraktionsvorganges, um den Arbeitsaufwand zu verringern. In diesem Zusammenhang sind die Verfahren zur on-line-SPE besonders interessant, allerdings erfordern diese Verfahren, insbesondere für Multimethoden, eine gründliche Optimierung zur Abstimmung der Bedingungen entsprechend den Erfordernissen von SPE und LC (vergl. Abschnitt 3.3.6). D.h. ein „off-line“-SPE-Verfahren ist nicht direkt auf ein „on-line“-SPE-Verfahren übertragbar.

10 ZUSAMMENFASSUNG

10.1 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde ein leistungsfähiges Analysenverfahren zum Nachweis und zur Quantifizierung eines breiten Spektrums von Pestiziden mit sehr unterschiedlichen Eigenschaften in Flusswasser entwickelt, validiert und angewendet. Das Einsatzgebiet des Verfahrens ist die Untersuchung der Belastungssituation von Flüssen mit Pestiziden, insbesondere für Substanzen mit niedrigen Effektkonzentrationen (EC) bzw. Zielvorgaben im ng/L- und sub-ng/L-Bereich. Die aus dieser Aufgabenstellung resultierenden Anforderungen werden für die Mehrzahl der Analyte erfüllt: Das Verfahren weist eine hohe Selektivität auf, die den Nachweis der Analyte mit einer hohen Identifizierungssicherheit ermöglicht. Die Nachweisgrenzen liegen für fast alle untersuchten Substanzen im Bereich weniger ng/L bzw. im sub-ng/L-Bereich. Für die Mehrzahl der Analyte ermöglicht das Verfahren die Quantifizierung in einem Konzentrationsbereich bis etwa 100 ng/L im Rahmen einer akzeptablen Messunsicherheit.

Die Anreicherung der Analyte aus den Wasserproben erfolgt mit Hilfe der Festphasen-Extraktion (SPE). Für die Messung wird die Kopplung eines „triple stage quadrupole“-Tandem-Massenspektrometers mit einer flüssigchromatographischen Trennung (LC) eingesetzt. Die Kopplung erfolgt mittels Elektrospray-Ionisierung (ESI), für Vergleichszwecke wurde auch die „atmospheric pressure chemical ionization“ (APCI) eingesetzt.

Für das zu entwickelnde Verfahren wurden Substanzen mit niedrigen Zielvorgaben für das Schutzgut „Aquatische Lebensgemeinschaften“ (0,6 bis 20 ng/L) oder niedrigen Effektkonzentrationen (< 100 ng/L) ausgewählt. Außerdem wurden einige Pestizide und Metabolite aus dem Messprogramm der Wassergütestelle Elbe in Hamburg untersucht. Die ausgewählten Substanzen decken einen breiten Polaritätsbereich ab (Wasserlöslichkeit: 20 µg/L bis 600 g/L, log K_{OW}-Werte: -1 bis 5). Folgende Substanzen wurden untersucht: Atrazin, Desethylatrazin, Desethylterbuthylazin, Desisopropylatrazin, Propazin, Irgarol, Terbuthylazin; Azinphos-methyl, Diazinon, Dichlorvos, Etrimfos, Fenitrothion, Mevinphos (zwei Isomere), Parathion-ethyl, Parathion-methyl, Pyrazophos; Diuron, Triasulfuron, Teflubenzuron; Aldicarb-sulfon, Carbaryl, Oxamyl; Alachlor, Bromacil, Imidacloprid.

Verfahrensentwicklung

Die Verfahrensentwicklung wurde anhand einer Gruppe von ausgewählten Substanzen durchgeführt (in der obigen Aufzählung unterstrichen). Für die Ionisierung mittels ESI und APCI wurden folgende Parameter optimiert: das Ionisierungshilfsmittel, der organische Eluent für die LC, die Temperatur der Ionenquelle, die Flussrate des Eluats und die „Ion-spray“-Spannung bzw. der „Nebulizer“-Strom. Die Variation der vier zuerst genannten Parameter hatte einen deutlichen Einfluss auf die Signalintensität.

Bei der Messung von Realproben (Wasserproben aus der Elbe) zeigte sich, dass bei beiden Ionisierungsmethoden Matrixeffekte auftreten, die bei der ESI zu einer Signalsuppression und bei der APCI meistens zu einer Signalverstärkung führen (siehe Abschnitt 5.4.2 und 7.5.2). Insgesamt ist das Ausmaß der Matrixeffekte bei der APCI deutlich kleiner als bei der ESI. Da die Messung mit ESI unter den gewählten Bedingungen für viele Substanzen aber wesentlich empfindlicher ist als die Messung mit APCI, wurde für die weitere Verfahrensentwicklung die ESI als Ionisierungsmethode gewählt. Bei der Untersuchung von Realproben wurde die Messung mit APCI zur Absicherung der Ergebnisse herangezogen.

Für die Anreicherung der Analyte aus den Wasserproben wurde ein etabliertes Verfahren zur Festphasen-Extraktion (SPE) an C₁₈-modifiziertem Kieselgel (RP-C18) weiterentwickelt. Da die Ergebnisse der ersten Versuchsreihen nicht befriedigend waren, insbesondere aufgrund starker Matrixeffekte bei der Messung, wurden Versuche zur Optimierung des Verfahrens durchgeführt. Beim Test zweier Polymermaterialien (Styrol-Divinylbenzol-Copolymere) für die SPE wurden keine Verbesserungen gegenüber dem RP-C18-Material erreicht. Veränderungen des Gesamtverfahrens (Vorreinigung des RP-C18-Materials, Verringerung des Anreicherungsfaktors, Veränderung des LC-Gradienten) führten zu der angestrebten Verringerung der Matrixeffekte bei der Messung. Das entsprechend modifizierte Verfahren wurde für die gesamte Substanzwahl validiert und für die Untersuchung von Wasserproben aus der Elbe eingesetzt.

Validierung

Die Validierung des Verfahrens wurde anhand der Messung von reinen Standardlösungen und der Anreicherung und Messung von unaufgestockten und aufgestockten Wasserproben aus der Elbe durchgeführt. Alle Substanzen werden mit ESI im positiven Ionisierungsmodus gemessen. Die massenspektrometrische Detektion erfolgt im „multiple reaction monitoring“-Modus.

Für jeden Analyten werden zwei Massenübergänge gemessen; die Quantifizierung wird anhand des 1. Massenübergangs durchgeführt, der 2. Massenübergang wird bei der Untersuchung von Realproben zur Absicherung der Ergebnisse herangezogen. Die durch die Anwendung dreier Identifizierungskriterien (Retentionszeit und zwei Massenübergänge) bedingte hohe Selektivität des Verfahrens wurde anhand der Messung von Standardlösungen und Realproben bestätigt und ermöglicht den Nachweis der Analyte mit einer hohen Identifizierungssicherheit.

Die Nachweisgrenzen des Gesamtverfahrens liegen bei Auswertung des 1. Massenübergangs für fast alle Substanzen zwischen 0,2 und 5 ng/L und bei Auswertung des 2. Massenübergangs zwischen 0,5 und 8 ng/L (Ausnahmen: Fenitrothion und Parathion-methyl, jeweils 30 ng/L für beide Massenübergänge). Damit ermöglicht das Verfahren für die Mehrzahl der Substanzen die Überwachung der Einhaltung der Zielvorgaben, mit Ausnahme von Dichlorvos, Fenitrothion, Mevinphos, Parathion-ethyl, -methyl, für die die Nachweisgrenzen oberhalb der Zielvorgaben (0,6 / 1 / 0,2 / 0,2 bzw. 10 ng/L) liegen.

Der Arbeitsbereich des Gesamtverfahrens ist für alle Analyte im untersuchten Bereich bis mindestens 80 ng/L linear (Ausnahme Mevinphos: untersuchter Bereich für das 1. Isomer bis 20 ng/L, für das 2. Isomer bis 60 ng/L). Die Überprüfung der Haltbarkeit der Analyte in den Wasserproben lieferte keine Hinweise auf die Zersetzung von Analyten bei zweitägiger Lagerung im Kühlschrank.

Die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens werden bestimmt durch die Wiederfindungsraten der beiden Verfahrensschritte „Anreicherung“ und „Messung“ (vergl. Abschnitt 5.1). Die Wiederfindungsraten der Messung liegen zwischen 65 und 100%, für vier Fünftel der Analyte liegen sie zwischen 80 und 100%. Die Wiederfindungsraten der Anreicherung liegen für drei Viertel der untersuchten Substanzen zwischen 70 und 110%. Für die Mehrzahl der Analyte liegen die Werte für die Wiederholpräzision des Gesamtverfahrens zwischen 2,1 und 5,3% (angegeben als RSD der Signalflächen, n = 4) und die Abweichungen der Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens zwischen verschiedenen Serien zwischen 0,9 und 9,2% (angegeben als RSD der Wiederfindungsraten dreier Serien, Zeitraum insgesamt drei Monate, jeweils frische Wasserproben aus der Elbe). Mit Hilfe der Messung von Qualitätskontroll-Standards konnte für alle Analyte, mit Ausnahme der Carbamate, eine gute Stabilität der Empfindlichkeit während längerer Messreihen nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse zeigen, dass das Analysenverfahren für die Mehrzahl der untersuchten Substanzen gut geeignet ist.

Einige Analyte weisen niedrigere Wiederfindungsraten bzw. eine schlechtere Präzision auf. Insbesondere für Dichlorvos, Triasulfuron, Aldicarbulsulfon, Oxamyl und Carbaryl ist die Präzision des Gesamtverfahrens bzw. der Messung schlecht, so dass aufgrund der daraus resultierenden hohen Messunsicherheit (s.u.) nur halbquantitative Angaben für diese Substanzen gemacht werden können.

„Interne Qualitätskontrolle“

Durch die Einführung einer sogenannten „internen Qualitätskontrolle“* wurde die Möglichkeit geschaffen, die Qualität der Aufarbeitung und Messung einer Probe zu kontrollieren und durch einen stark veränderten Matrixeinfluss verursachte Abweichungen festzustellen. Als Qualitätskriterium dienen die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für zwei deuterierte Standardsubstanzen (Atrazin-D5 und Diazinon-D10), die jeder Probe vor der Anreicherung zugesetzt werden. Die Streubreiten der Wiederfindungsraten wurden im Rahmen der Untersuchungen zur Validierung ermittelt (RSD: maximal 3,5%). Als Akzeptanzbereich für Proben wurde eine maximale Abweichung von 3 RSD (10,5%) vom Mittelwert festgelegt.

* Diese Vorgehensweise wird in der vorliegenden Arbeit als „interne Qualitätskontrolle“ bezeichnet, da sie auf dem Einsatz von internen Standards basiert.

Untersuchung von Wasserproben eines Elbelängsprofils

Im August 2001 wurde von der Wassergütestelle Elbe in Hamburg eine Beprobung des gesamten Elbeverlaufs vom Ästuar bis zum Quellbereich einschließlich der Einmündungen einiger Nebenflüsse durchgeführt. Von 31 Probennahmestellen wurden die Wasserproben nach dem in der vorliegenden Arbeit entwickelten Verfahren auf Pestizide untersucht. Zur Untersuchung der Variabilität des Matrixeinflusses im Verlauf der Elbe wurden für 15 der 31 Wasserproben durch zusätzliche Aufstockversuche die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens bestimmt.

Die Wiederfindungsraten der deuterierten Substanzen lagen für alle Proben des Elbelängsprofils innerhalb der festgelegten Grenzen, mit Ausnahme von zwei Proben (Magdeburg), bei denen die Werte etwas stärker vom Mittelwert abwichen (Abweichung: 17 / 12%). Die Anforderungen der „internen Qualitätskontrolle“ wurden also für fast alle Proben erfüllt.

Für die Mehrzahl der Analyte blieben die Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens über den gesamten Verlauf der Elbe einschließlich der untersuchten Flussmündungen und des Ästuarbereiches weitgehend konstant (RSD: 3,4 bis 13%). Abweichend davon wies die Probe aus der Bilinamündung, welche aus dem Einzugsgebiet der Abwassereinleitung einer chemischen Fabrik stammt, für viele Substanzen deutlich niedrigere Wiederfindungsraten auf. Die Wiederfindungsraten von Dichlorvos, Triasulfuron, Aldicarb-sulfon und Oxamyl wiesen ebenso wie bei den Untersuchungen zur Validierung starke Streuungen auf (RSD: 20 bis 35%). Für die Quantifizierung wurden die Ergebnisse mit der über alle aufgestockten Proben (mit Ausnahme der Bilinamündung) gemittelten Wiederfindungsrate korrigiert.

Positivbefunde wurden in den Wasserproben des Elbelängsprofils für Atrazin, Desethylatrazin, Terbutylazin, Diuron und Desethylterbutylazin, Desisopropylatrazin, Irgarol, Propazin, Diazinon, Dimethoat, Alachlor, Bromacil, Imidacloprid festgestellt. Mit Ausnahme der vier erstgenannten Substanzen lagen die Befunde meistens unterhalb von 10 ng/L. Für vier Substanzen wurden Konzentrationen oberhalb der Zielvorgaben für das Schutzgut „Aquatische Lebensgemeinschaften“ ermittelt: Diuron wurde in fast allen Proben aus dem deutschen Elbe-Abschnitt deutlich oberhalb der Zielvorgabe von 6 ng/L gefunden. In der Bilinamündung lag die Konzentration von Diazinon mit 29 ng/L über der Zielvorgabe von 20 ng/L, die Dimethoat-Konzentration lag in der Muldemündung mit 76 ng/L deutlich oberhalb der Zielvorgabe von 10 ng/L. Der hohe Befund von Alachlor in der Jizeramündung (ca. 3 µg/L, ausserhalb des validierten Arbeitsbereichs) überstieg die Zielvorgabe von 200 ng/L um ein Vielfaches. Zwei Befunde lagen oberhalb der Zielvorgaben für das Schutzgut „Trinkwasserversorgung“ bzw. des Trinkwassergrenzwertes von 100 ng/L: Alachlor in der Jizeramündung mit ca. 3 µg/L und Terbutylazin in der Bilinamündung mit 130 ng/L.

Zur Absicherung der Ergebnisse wurde für alle Positivbefunde in den Wasserproben des Elbelängsprofils der 2. Massenübergang ausgewertet. Dabei wurden alle Ergebnisse, die oberhalb der Nachweisgrenzen für den 2. Massenübergang lagen, bestätigt. Bei der Überprüfung der Ergebnisse ausgewählter Proben mit höheren Befunden durch Messung mit der

APCI (im positiven Ionisierungsmodus) ergab sich eine sehr gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen der ESI-Messungen: Die Abweichungen lagen zwischen 0,3 und 13%.

Messunsicherheit

Für die Ergebnisse aus der Untersuchung der Wasserproben des Elbelängsprofils wurde eine umfassende Messunsicherheit ermittelt. Bei der Berechnung wurden u.a. die Wiederholpräzision des Gesamtverfahrens, die Streuung der für die Wasserproben des Elbelängsprofils ermittelten Wiederfindungsraten, die Stabilität der Messung und die Schwankungen in der Empfindlichkeit der Kalibrierungen einbezogen. Für drei Viertel der Substanzen liegt die erweiterte Messunsicherheit ($k = 2$) im Bereich von 14 - 27%. Diese Ergebnisse zeigen, dass der Großteil der untersuchten Substanzen mit einer guten Präzision bestimmt werden kann. Damit ist das Verfahren gut für die Quantifizierung dieser Analyte in Flusswasserproben geeignet. Bei Dichlorvos, Triasulfuron, Aldicarbulsulfon, Carbaryl und Oxamyl liegt die Messunsicherheit aufgrund der schlechten Präzision des Gesamtverfahrens und/oder der Schwankungen bei der Messung so hoch, dass für diese Substanzen nur halb-quantitative Angaben gemacht werden können.

10.2 Summary

This work describes the development, validation and application of a powerful analytical method for the detection and quantification of several pesticides with strongly varying chemical and physical properties. The purpose of this method was to evaluate the degree of pesticide contamination in rivers, especially for substances with low effect concentrations (EC) and water quality objectives, which have a concentration range from sub-ng/L to a few ng/L. For the majority of the investigated substances, the requirements which result from this purpose were fulfilled: The method shows a high selectivity which enables the detection of the analytes with high certainty of identification. The detection limits for nearly all investigated substances lie in the range of a few ng/L or below 1 ng/L. For the majority of the analytes, the quantification to approximately 100 ng/L can be done with an acceptable measurement uncertainty.

The pesticides were extracted and concentrated from water samples by solid phase extraction (SPE). The quantification of the pesticides was performed using a triple stage quadrupole tandem mass spectrometer which was coupled to a liquid chromatograph (LC). The coupling was mainly done by electrospray ionization (ESI) but atmospheric pressure chemical ionization (APCI) was also done for comparative investigations.

The group of pesticides that were investigated includes substances with low quality objectives concerning the protection of aquatic organisms (0,6 to 20 ng/L) or low effect concentrations (< 100 ng/L). The selected substances have a wide range of polarity (water solubility 20 µg/L to 600 g/L, log K_{ow}^* : -1 to 5). Also, some pesticides and metabolites from the survey program of the "Wassergütestelle Elbe" in Hamburg were analysed. The following compounds were investigated: atrazine, desethylatrazine, desethylterbutylazine, desisopropylatrazine, propazine, irgarol, terbuthylazine; azinphos-methyl, diazinone, dichlorvos, etrimfos, fenitrothion, mevinphos (2 isomers), parathion-ethyl, parathion-methyl, pyrazophos; diuron, triasulfuron, teflubenzuron; aldicarbsulfone, carbaryl, oxamyl; alachlor, bromacil, imidacloprid.

Method development

The method development was done on a group of selected substances (those underlined in the list above). For the ionization with ESI and APCI, the following parameters were optimized: the eluent composition (electrolyte as ionization aid and organic solvent), the temperature of the ion source, the eluent flow rate, the ionspray voltage for ESI and the nebulizer current for APCI. Except for the ionspray voltage and the nebulizer current, the variation of these parameters had a clear influence on the signal intensity.

The results from aquatic samples taken from the river Elbe, showed that with both ionization techniques, the signal intensity was affected by matrix effects. This lead to a signal suppression with ESI and in most cases to a signal increase with APCI (see chapters 5.4.2

* K_{ow} (= P): octanol-water partitioning coefficient

and 7.5.2). The extent of these matrix effects was clearly smaller with APCI than with ESI. Nevertheless, ESI was selected as an ionization technique for further method development because under the conditions used, the signal intensity for the majority of the compounds was clearly higher with ESI than with APCI. When investigating river samples, the APCI method was used to confirm the results.

For the extraction of the analytes from water samples, an established method based on solid phase extraction (SPE) with C₁₈-modified silica was used. Because the results of the first extraction experiments were not satisfactory, especially when matrix effects on the signal intensity are considered, the method was further optimized. Two polymer materials (styrol-divinylbenzene-copolymers) were tested as solid phases for extraction, but the results showed no improvement in performance compared with the C₁₈-modified silica. The following modifications to the method resulted in the desired decrease in the matrix effects on the signal intensity; cleaning of the C₁₈-modified silica before use, decrease of the concentration factor and modification of the LC elution program. Thus, this modified method was validated for the entire group of analytes and used for the investigation of water samples from the river Elbe.

Method validation

Method validation was done by standard solutions and by extraction of untreated and spiked water samples from the river Elbe. ESI in the positive ionization mode was used for all compounds. For the mass spectrometric detection, the multiple reaction monitoring (MRM) mode was used.

For each compound, two MRM signals were measured; the first one was used for quantification, the second one was used to confirm the results when investigating river samples. The use of three identification criteria (retention time and two MRM signals) ensured a high method selectivity, which was shown by the analysis of standard solutions and of environmental samples. Thus, the detection and the identification of the analytes can be done with a high degree of certainty.

Except for two substances, the method detection limits lie between 0,2 and 5 ng/L for the analysis of the first MRM signal and between 0,5 and 8 ng/L for the analysis of the second MRM signal (the exceptions are fenitrothion and parathion-methyl, 30 ng/L from both MRM signals). Thus, this method is suitable for comparison between the determined concentrations and the quality objectives for the majority of the investigated compounds. The exceptions are dichlorvos, fenitrothion, mevinphos, parathion-ethyl and -methyl, for which the detection limits are higher than the quality objectives (0,6 / 1 / 0,2 / 0,2 resp. 10 ng/L).

For all analytes the method's working range has a linear response to the upper investigated concentration (minimum 80 ng/L). The exception is mevinphos where the upper investigated concentration is 20 ng/L for the first isomer and 60 ng/L for the second isomer. The

analytes' stability in water samples during storage in the refrigerator for two days were investigated and no degradation was found.

The overall method recovery consists of two parts; an extraction and an instrumental recovery (see chapter 5.1). The instrumental recoveries lie between 65 and 100% and for 4/5 of the analytes, they lie between 80 and 100%. For 3/4 of the investigated substances, the extraction recoveries lie between 70 and 110%. For the majority of the analytes, the values for the method repeatability lie between 2,1 and 5,3% (reported as RSD in the signal areas, n = 4) and the deviations in the method recoveries from different series range from 0,9 to 9,2% (reported as RSD in the recoveries of three series. The three series covered a period of three months and for each series, a fresh water sample from the river Elbe was used). Quality control measurements of standard solutions between samples over a long series indicated a high instrumental stability, except for the carbamates. These results show that the developed method is well suited for the majority of the investigated substances.

Some of the analytes have lower recoveries and/or worse precision. Especially for dichlorvos, triasulfuron, aldicarb sulfone, oxamyl and carbaryl, where the overall method precision and/or instrumental precision is worse, thus resulting in a high degree of uncertainty (see below), only semi-quantitative results can be given.

"Internal quality control"

A so-called "internal quality control"* was used to monitor the sample quality throughout the analysis and to determine any deviations arising from large changes in matrix effects. The method recoveries for two deuterated standard substances (atrazine-D5 and diazinone-D10) were used as quality criteria. These substances were added to each sample prior to extraction. The variation in the recoveries were determined during the method validation experiments (RSD: maximum 3,5%). For investigation of river samples, a maximum deviation of 3 RSD (10,5%) from the mean value was set as the accepted range.

Investigation of water samples from an Elbe profile

In August 2001, water samples were taken by the "Wassergütestelle Elbe" from the entire length of the Elbe river from the estuary up to the source region including the mouths of some tributary rivers. Samples from 31 sites were examined for pesticides using the analytical method developed in this work. To investigate the variations due to matrix effects along the Elbe profile, the method recoveries were determined for 15 of these samples.

The recoveries for the two deuterated substances lay within the fixed limits for all these Elbe samples, except for two samples (Magdeburg) for which the values showed larger deviations from the mean value (17 / 12%). Thus, the criteria for the internal quality control were fulfilled for nearly all samples.

* This procedure was called "internal quality control" because it is based on the use of internal standards.

For the majority of the analytes, there was little variation in the method recoveries along the entire Elbe profile (RSD: 3,4 to 13%). Only for the sample from the mouth of the river Bilina, which was taken downstream from the discharge of sewage water from a chemical factory, the method recoveries lay clearly lower compared to the other samples for many analytes. The recoveries for dichlorvos, triasulfuron, aldicarbsulfone and oxamyl showed large variations (RSD: 20 to 35%) in accordance with the results from the method validation. For quantification, the results for all samples of the Elbe profile were corrected with the mean value of the recoveries determined for the spiked samples (excluding the sample from the river Bilina).

For atrazine, desethylatrazine, terbuthylazine, diuron and desethylterbuthylazine, desisopropylatrazine, irgarol, propazine, diazinone, dimethoat, alachlor, bromacil, imidacloprid positive results were found in the samples of the Elbe profile. Except for the first four mentioned substances, the results lay below 10 ng/L for the majority of the samples. For the following four substances, concentrations above the quality objectives for the protection of aquatic organisms were found. In nearly all samples from the German part of the river Elbe diuron was found in concentrations clearly above the quality objective of 6 ng/L. The concentration of diazinone in the mouth of the river Bilina (29 ng/L) lay above the quality objective of 20 ng/L. The concentration of dimethoat in the mouth of the river Mulde (76 ng/L) lay clearly above the quality objective of 10 ng/L. The high concentration of alachlor in the mouth of the river Jizera (~ 3 µg/L, not within the validated working range) lay far above the quality objective of 200 ng/L. Two findings lay above the quality objectives for river water concerning its use as drinking water and the drinking water guidelines (100 ng/L), alachlor in the mouth of the river Elbe (~ 3 µg/L) and terbuthylazine in the mouth of the river Bilina (130 ng/L).

For the Elbe samples, all positive findings were checked by analysing the second MRM signal. Thus, all results that lay above the detection limits of the second MRM signal were confirmed. A selected group of samples with higher concentrations was measured with APCI (positive mode). These results showed very good agreement with the results of the ESI measurements as the deviations lay between 0,3 and 13%.

Uncertainty of measurement

For the results of the samples of the Elbe profile, an overall uncertainty was evaluated. Among other things, the method repeatability, the variation in the recoveries determined for the Elbe samples, the instrumental stability and the variation in the sensitivity of the calibration were included in the calculation. For 3/4 of the investigated substances, the expanded uncertainty ($k = 2$) lies between 14 and 27%. These results show that the majority of the substances can be quantified with good precision and the method is well suited for the quantification of these analytes in river water samples. However, for dichlorvos, triasulfuron, aldicarbsulfon, carbaryl and oxamyl poor method precision and/or instrumental precision result in such a high degree of uncertainty that for these substances only semi-quantitative results can be given.

11 EXPERIMENTELLES

11.1 Experimentelle Bedingungen für die Festphasen-Extraktion

11.1.1 Optimiertes Verfahren für die Festphasen-Extraktion

11.1.1.1 Geräte und Arbeitsmaterialien für die Festphasen-Extraktion

Geräte

- Vakuumanlage mit Membranpumpe (für die Vorbereitung der Säulen für die Festphasen-Extraktion (SPE))
- Vakuumanlage mit Membranpumpe und Druckmessung (für die Durchführung der SPE)
- Rotationsverdampfer mit Membranpumpe und Druckmessung (zum Einengen der Extrakte)
- Anlage zum Einengen mit Stickstoff: TCS-Probenaufbereitungs-System vapo therm, Fa. Labor Technik Barkey (Reinheitsgrad des verwendeten Stickstoffs: 5.5)

Glasgeräte

- Probennahmegefäße: 2 L-Glasflaschen mit Schraubdeckel und Teflondichtung oder Schliffstopfen
- Glasspritzen (10 / 25 µL) zum Aufstocken der Wasserproben mit Standardlösungen (Volumen gravimetrisch überprüft), Fa. Hamilton
- Glassäulen mit Fritte, Hahn und Schliff-Übergängen für die SPE (Spezialanfertigung)
- Schütteltrichter mit Schliff-Übergang für die SPE (Spezialanfertigung)
- 2 mL-Konusgläser mit Skalierung zur Abmessung des Extraktvolumens von 200 µL bzw. 1 mL (Volumen gravimetrisch überprüft), Fa. Wheaton
- übliche Laborglasgeräte (Meßzylinder, Spitzkolben, Filtrationseinheit)
- Pasteur-Pipetten

Alle Glasgeräte wurden vor der Verwendung entweder mit Aceton und Methanol (wenn möglich im Ultraschallbad) oder in einer Labor-Spülmaschine (Mielabor G 7783, Fa. Miele) gründlich gereinigt und, mit Ausnahme volumetrischer Geräte, über Nacht bei 250°C ausgeheizt.

Sonstige Arbeitsmaterialien

- Glasfaserfilter GF/C, Durchmesser 47 mm, Partikel-Rückhaltevermögen: 1,2 µm), Fa. Whatman (über Nacht ausgeheizt bei 250 °C)
- PTFE-Fritten, Durchmesser 12 mm, Fa. Baker
- Viskose Verbandswatte (gereinigt durch Soxhlett-Extraktion mit Aceton)
- Patronen mit gekörnter Aktivkohle (ca. 1,5 mm, reinst, Fa. Merck; über Nacht ausgeheizt bei 300°C)

11.1.1.2 Chemikalien für die Festphasen-Extraktion

- Sorbens: Modifiziertes Kieselgel, PolarPlus® C₁₈ Bakerbond Bonded Phase für polare Substanzen (RP-C18-Material), Fa. J. T. Baker, LOT G26086
- Reines Wasser aus einer Wasseraufbereitungsanlage: Elix S und Milli-Q-Plus 185, Fa. Milipore („organikarmes Laborwasser“)
- Methanol, gradient grade - für die Flüssigchromatographie, LiChroSolv, Fa. Merck
- Acetonitril, gradient grade - für die Flüssigchromatographie, LiChroSolv, Fa. Merck
- Aceton, picograde - für die Rückstandsanalyse, Fa. Promochem
- Standardlösungen der Analyte und der deuterierten Substanzen: siehe Abschnitt 11.3

11.1.1.3 Durchführung der Festphasen-Extraktion

- Vorreinigung des Sorbens:
Vor der Verwendung wurde das Sorbens (RP-C18-Material) täglich frisch vorgereinigt. Dazu wurde es in Acetonitril (ca. 2 mL/g) aufgeschlämmt und über einen Glasfaserfilter abfiltriert. Anschließend wurde es mit Acetonitril und Methanol (jeweils ca. 2 mL/g) gewaschen, trockengesaugt und an der Luft getrocknet.
- Befüllen der Säule und Konditionieren des Sorbens:
Je Säule wurden 2,00 g des vorgereinigten Sorbens eingewogen. In die Glassäule wurde mit Hilfe eines Glasstabs eine Teflonfritte vor die Fritte der Säule platziert. Für das Befüllen der Säule und die anschließende Konditionierung wurden insgesamt 40 mL Methanol und 40 mL Wasser verwendet. Das Sorbens wurde in einem Teil des Methanols aufgeschlämmt und in die Säule gefüllt. Mit Hilfe eines schwachen Vakuums (ca. 700 hPa) wurde das Methanol durch das Sorbens gesaugt. (Während des gesamten Konditionierungsvorgangs darf die Säulenpackung nicht trockenlaufen!) Um Aufwirbeln des Sorbens zu vermeiden, wurde etwas Watte vorsichtig oberhalb der Säulenpackung platziert. Anschließend wurde zuerst das restliche Methanol (bei ca. 700 hPa) und dann das Wasser (bei ca. 30 hPa) langsam portionsweise durch die Säulenpackung gesaugt, so dass am Ende ein Überstand von 3 - 4 cm Wasser blieb.
- Filtration der Wasserprobe:
Direkt vor der Anreicherung wurde die Wasserprobe über Glasfaserfilter filtriert. Je nach Schwebstoffgehalt der Probe wurden dazu 1 - 3 Filter je Liter benötigt.
- Aufstocken der Wasserprobe mit Standardlösungen (deuterierte Substanzen für die IQK, ggf. Analyte für Aufstockversuche):
1000 mL der Wasserprobe wurden abgemessen und etwa die Hälfte der Probe in das Vorratsgefäß (Schütteltrichter) der Anreicherungsapparatur eingefüllt. Mit Hilfe einer Spritze wurden 9 µL der Lösung der deuterierten Substanzen (IQK) abgemessen und möglichst weit unter die Wasseroberfläche injiziert. Ggf. wurde für Aufstockversuche anschließend mit 20 µL einer Lösung der Analyte ebenso verfahren. Danach wurde der Rest

der Probe in das Vorratsgefäß gefüllt. Zum weiteren Mischen wurde der verschlossene Schütteltrichter leicht geschwenkt. (Vorsicht: Kontakt der Probe mit dem Schliff und starke Bildung von Luftblasen vermeiden!)

- Festphasen-Extraktion der Wasserprobe:

Bei einem Unterdruck von etwa 700 hPa wurde die Wasserprobe durch die Säule mit dem Sorbens gesaugt. Der Anreicherungsprozess dauerte etwa 1 - 2¼ Stunden, je nach Art der Probe. Anschließend wurde 1½ Stunden lang Luft durch die Säulenpackung gesaugt, um diese zu trocknen. Dazu wurde auf die Säule eine Aktivkohlepatrone aufgeschraubt, um Kontaminationen aus der Luft zu vermeiden.* Die Elution der Analyte von dem Sorbens wurde mit insgesamt 20 mL Acetonitril durchgeführt. Zunächst wurden etwa 5 mL Acetonitril in die Säule gefüllt und mit Hilfe eines sanften Vakuums (ca. 700 hPa) durch die Säulenpackung in einen Spitzkolben gesaugt, so dass ein kleiner Überstand blieb. Nach 10 min Einwirkzeit wurde die Säule mit dem restlichen Acetonitril portionsweise eluiert und trocken gesaugt.

- Lagerung des Extrakts:

Wenn aus organisatorischen Gründen eine längere Zwischenlagerung des Extrakts notwendig war, wurde der an diesem Punkt des Verfahrens erhaltene Extrakt (in 20 mL Acetonitril) in einer Tiefkühltruhe gelagert. Die maximale Lagerdauer betrug 8 Tage.

- Einengen des Extrakts und Vorbereitung für die Messung:

Der Extrakt wurde am Rotationsverdampfer auf etwa 1 mL eingengt (Badtemperatur ca. 30°C, Druck ca. 100 hPa). Anschließend wurde der Extrakt in ein skaliertes Konusglas umgefüllt und mit Stickstoff auf 200 µL eingengt. Durch Zugabe von 0,8 mL Wasser wurde der Extrakt auf 1,0 mL aufgefüllt. Nach dem Mischen wurde ein Aliquot für die LC-MS/MS-Messung in ein Mikrovial abgefüllt.

11.1.2 Verfahrensentwicklung (Festphasen-Extraktion)

Tabelle 11.1 gibt einen Überblick über die während der Verfahrensentwicklung und Validierung durchgeführten Versuchsreihen zur Anreicherung und die jeweils veränderten experimentellen Bedingungen. Im Folgenden werden die vom optimierten Verfahren (siehe Abschnitt 11.1.1) abweichenden Bedingungen erläutert. Die Serien VIII, IX, X und ELP (Validierung und Untersuchung der Wasserproben des Elbelängsprofils) wurden nach den Bedingungen des optimierten Verfahrens durchgeführt.

* Da die Anreicherung in einem Reinraum durchgeführt wurde, kann möglicherweise auf diese Vorsichtsmaßnahme verzichtet werden.

Tabelle 11.1: Übersicht über die während der Verfahrensentwicklung und Validierung durchgeführten Versuchsreihen zur Anreicherung und die jeweils veränderten Bedingungen

Serie Nr.	Probe	Substanzgruppe	Aufstockung	Anreicherung	Aliquot Msg. entspricht ...	LC-Gradient
I	reines Wasser Elbe 7.2.01	klein	v / n 1,0 - 28 ng/L**	RP-C18	50 mL Wasserprobe	Gradient 1
II	reines Wasser Elbe 22.2.01	klein	v / n 1,0 - 28 ng/L**	RP-C18	50 mL Wasserprobe	Gradient 1
III	reines Wasser	klein	n 1,0 - 28 ng/L**	RP-C18 RP-C18, vorger.	50 mL Wasserprobe	Gradient 1
IV	reines Wasser	klein	v / n 1,0 - 28 ng/L**	RP-C18, vorger. HRP, LiChrolut EN	50 mL Wasserprobe	Gradient 1
V	reines Wasser	klein	v / n 1,0 - 28 ng/L**	HRP***	50 mL Wasserprobe	Gradient 1
VI	reines Wasser	klein	v / n 1,0 - 28 ng/L**	RP-C18, vorger.	10 mL Wasserprobe	Gradient 2
VII	reines Wasser Elbe 26.6.01	klein	v / n 2,6 - 74 ng/L**	RP-C18, vorger.	10 mL Wasserprobe	Gradient 2
VIII	reines Wasser Elbe 17.7.01	gesamt	v / n 7,2 - 419 ng/L**	RP-C18, vorger.	10 mL Wasserprobe	Gradient 3
IX	reines Wasser Elbe 13.8.01	gesamt + deut. Std.	v 5 / 20 / (82) ng/L	RP-C18, vorger.	10 mL Wasserprobe	Gradient 3
ELP	Elbelängsprofil 20.-22.8.01	gesamt + deut. Std.	v 20 ng/L	RP-C18, vorger.	10 mL Wasserprobe	Gradient 3
X	Elbe 24.9.01	gesamt + deut. Std.	v 5 / 20 / 82 ng/L	RP-C18, vorger.	10 mL Wasserprobe	Gradient 3

Probe: Elbe-Tespherude, Uferbereich, außer in Serie ELP

Aufstockung:

v: Aufstockung vor der Anreicherung der Probe, n: Aufstockung nach dem Einengen des Extraktes
** Konzentration der Aufstockung für die einzelnen Substanzen unterschiedlich (angepasst an die Empfindlichkeit) (siehe Anhang IV, Tabelle 12.1 und 12.2)

Anreicherung:

Elution mit Acetonitril, außer in Serie V: ***Elution mit Methanol / Aceton / Dichlormethan
In Serie I und II wurde der Extrakt vor dem Einengen mit Stickstoff über Natriumsulfat getrocknet.

LC-Gradient: siehe Abschnitt 11.2: Bedingungen für die LC-MS/MS-Messung

Ionisierungsbedingungen: abweichende Bedingungen in Serie IV - siehe Abschnitt 11.2.2.8

Parallelproben: jeweils n = 2 (teilweise n = 3)

Gruppe der untersuchten Substanzen

In den Serien I bis VII wurde nur die kleine Substanzgruppe für die Verfahrensentwicklung (siehe Kapitel 4) untersucht. Ab Serie VIII wurde die gesamte Substanzauswahl untersucht. Ab Serie IX wurde die interne Qualitätskontrolle mit Hilfe der deuterierten Substanzen (Atrazin-D5 und Diazinon-D10) durchgeführt.

Aufstockung: Konzentrationen und Durchführung der Aufstockung nach der Anreicherung

In den Serien I bis VIII wurde die Konzentration der Aufstockung mit den Substanzen variiert, in Abhängigkeit von der Empfindlichkeit der jeweiligen Substanz bei der Messung. Ab Serie IX wurde aus Gründen der Übersichtlichkeit für alle Substanzen eine einheitliche Aufstockkonzentration verwendet. (Angaben zu den Konzentrationen siehe Abschnitt 11.3.2)

In den Serien I bis VIII wurden die Wasserproben nicht nur vor der Anreicherung, sondern auch nach der Anreicherung aufgestockt, um die Wiederfindungsraten der Messung zu ermitteln (vergl. Abschnitt 5.1). Dazu wurde der in Acetonitril (bzw. in Serie V in Methanol) gelöste Extrakt auf 40 µL anstelle 60 µL (Serie I bis V) bzw. 180 µL anstelle 200 µL (Serie VI bis VIII) eingengt und mit 20 µL der Standardlösung aufgestockt. Anschließend erfolgte die Wasserzugabe, das Mischen und das Abfüllen der messfertigen Lösung in Mikrovials.

Vorreinigung des Sorbens (RP-C18-Material)

In Serie I und II wurde das RP-C18-Material ohne Vorreinigung (siehe Abschnitt 11.1.1.3) für die Festphasen-Extraktion eingesetzt. In Serie III wurde ein direkter Vergleich des vorgereinigten und nicht-vorgereinigten Materials durchgeführt (Ergebnisse siehe Abschnitt 5.5.2).

Verwendung alternativer Sorbentien (Polymermaterialien)

- LiChrolut® EN, Fa. Merck, Artikel-Nr. 119853 (Partikelgröße 40 - 120 µm)
- Chromabond® Sorbens HR-P, Fa. Macherey & Nagel, Artikel-Nr. 730 615 (Partikelgröße 50 - 100 µm, Oberfläche 1200 m²/g)

In den Serien IV und V wurden die beiden Styrol-Divinylbenzyl-Copolymere LiChrolut EN und HRP (s.o.) für die Festphasen-Extraktion eingesetzt. Bei der Verwendung dieser Materialien wichen folgende experimentelle Bedingungen vom optimierten Verfahren ab (weitere hier nicht genannte Abweichungen: Substanzgruppe, Aufstockung, Extraktvolumen).

Es wurden jeweils 0,50 g der beiden Polymermaterialien ohne Vorreinigung eingesetzt. In Serie V wurde das Sorbens nach der Anreicherung nur 30 - 40 min getrocknet. Die Elution erfolgte in Serie V nacheinander mit jeweils 20 mL Methanol, Aceton und Dichlormethan (p.a., Fa. Merck), die drei Eluate wurden anschließend vereinigt. Um sicher zu gehen, dass keine Reste von Aceton oder Dichlormethan im Extrakt zurückblieben wurden nach dem

Einengen mit Stickstoff auf ca. 100 μL erneut ca. 400 μL Methanol zugegeben und weiter eingengt.

Extraktvolumen

In Serie I bis V wurden die Wasserproben stärker angereichert als im optimierten Verfahren (vergl. Abschnitt 5.5.2). Dazu wurde der in Acetonitril bzw. Methanol gelöste Extrakt auf 60 μL eingengt und mit Wasser auf 200 μL aufgefüllt. Bei dieser Vorgehensweise entspricht das für die Messung eingesetzte Aliquot 50 mL der Wasserprobe, beim optimierten Verfahren entspricht es 10 mL der Wasserprobe.

11.2 Experimentelle Bedingungen für die LC-MS/MS-Messung

11.2.1 Optimiertes Verfahren für die LC-MS/MS-Messung

11.2.1.1 Geräte für die LC-MS/MS-Messung

Für die Flüssigchromatographie wurde die LC-Anlage HP 1100 der Firma Agilent Technologies bestehend aus einer binären Pumpe, einem Autosampler, einem Säulenofen und einem Vakuumentgaser, verwendet.

Für die massenspektrometrische Detektion wurde das „triple stage quadrupole“-Tandem-Massenspektrometer API 3000 der Firma Applied Biosystems / MDS Sciex eingesetzt. Die Ionisierung erfolgte mit Hilfe der beheizten ESI-Quelle („Turboionspray®“) und der APCI-Quelle („Heated Nebulizer®“). Als Vorpumpen wurden zwei Drehschieber-Vakuum-Pumpen der Firma Leybold (Typ S 25 B und D 10 E) eingesetzt. Die Steuerung des Flüssigchromatographen und des Massenspektrometers und die Datenaufnahme wurde mit Hilfe eines Computers und der Software „Analyst 1.1“ der Firma Applied Biosystems / MDS Sciex durchgeführt.

Für den Betrieb des Massenspektrometers sind Stickstoff und Druckluft erforderlich. Mit Hilfe eines Kompressors der Firma JUN-AIR (Modell 4000-40M) wurde Druckluft erzeugt. Aus dieser Druckluft wurde mit Hilfe eines Stickstoff-Generators der Firma Whatman (Modell 75-72) Stickstoff erzeugt. Die für den Betrieb des Massenspektrometers erforderliche Druckluft wurde nach den beiden Vor-Filtrationsstufen am Stickstoff-Generator entnommen. Je nach Entnahmemenge betrug die Reinheit des Stickstoffs etwa $\geq 99\%$. Die Druckregelung für die Gasversorgung des Massenspektrometers wurde mit Hilfe von Gasarmaturen der Fa. Messer bewerkstelligt.

11.2.1.2 Chemikalien für die LC-MS/MS-Messung

- Methanol, gradient grade - für die Flüssigchromatographie, LiChroSolv, Fa. Merck
- Reines Wasser aus einer Wasseraufbereitungsanlage: Elix S und Milli-Q-Plus 185, Fa. Milipore („organikarmes Laborwasser“)
- Ammoniumacetat p.a. - Merck
- Isopropanol p.a. - Merck
- Standardlösungen der Analyte und der deuterierten Substanzen: siehe Abschnitt 11.3

11.2.1.3 Experimentelle Bedingungen für die Flüssigchromatographie

Vorsäule	Hypersil ODS 10 mm x 2,1 mm, 5 µm, Fa. Agilent
Analytische Säule	Hypersil ODS 100 mm x 2,1 mm, 5 µm, Fa. Agilent
Eluent A	Wasser + 0,63 mmol/L Ammoniumacetat
Eluent B	Methanol + 0,63 mmol/L Ammoniumacetat
Flussrate	150 µL/min
Gradient	Gleichgewichtseinstellung vor der Messung: 20% B (13 min) Messung: 20 - 50% B (3 min), 50 - 90% B (30 min), 90% B (2 min), 90 - 100% B (1 min), 100% B (3 min), 100 - 20% B (1 min)
Kompressibilität Pumpe A	$50 \cdot 10^{-13}/\text{Pa}$ ($50 \cdot 10^{-6}/\text{bar}$)
Kompressibilität Pumpe B	$120 \cdot 10^{-13}/\text{Pa}$ ($120 \cdot 10^{-6}/\text{bar}$)
Injektionsvolumen	10 µL
Nadelhöhe (needle level)	2 mm
Wash vial	Methanol
Temperatur des Säulenofens	30°C

(Angabe aller Einstellungen, die nicht automatisch vom Gerät eingestellt werden bzw. von den Standardeinstellungen des Geräts abweichen)

- Hinterkolbenspülung für die LC-Pumpe: Wasser + 20 - 30 % (v/v) Isopropanol

11.2.1.4 Experimentelle Bedingungen für die MS/MS-Messung

- nicht-variable Einstellungen der Ionenoptik (vergl. Anhang I, Abbildung 12.1):
IQ1 = EP - 1 V, ST = EP - 5 V, IE1 = 0,5 V, IQ2 = EP - 8 V, IE3 = - 0,5 V, DF = -200 V,
CEM = 1900 bis 2000 V
- Einstellungen der ESI-Quelle (Standard-Ionisierungsmethode des Verfahrens):

„Ionspray“-Spannung	4500 V (positive Ionisierung)
Temperatur „Turbo“-Gas	225°C
„Nebulizer“-Gas (Gas 1)	8
„Turbo“-Gas (Gas 2)	6 L/min (Einstellung von Hand)
- Einstellungen bei Verwendung der APCI-Quelle (alternative Ionisierungsmethode):

„Nebulizer“-Strom	3 µA (positive Ionisierung)
Temperatur Quarzrohr	225°C
„Auxiliary“-Gas (Gas 1)	8
„Nebulizer“-Gas (Gas 2)	80 psi (Einstellung von Hand)

- weitere Gaseinstellungen:
Kollisions-Gas (CAD) 4
Vorhang-Gas (Curtain Gas, CUR) 11
- Auflösung: unit resolution (Halbwertsbreite 0,6 bis 0,8 amu) in Q1 und Q3
- Messmodus: MRM (multiple reaction monitoring)
- Massenübergänge und variable Einstellungen der Ionenoptik: siehe Tabelle 11.2

Tabelle 11.2: Einstellungen der Massenübergänge und variable Einstellungen der Ionenoptik für die LC-MS/MS-Messung

Analyt	Masse (amu)		„Dwell time“ (ms)	Ionenoptik (Ionpath)				
	Q1	Q3		DP	FP	EP	CE	CXP
<i>Periode Nr. 1: Dauer 7,505 min</i>								
Oxamyl	237,1	72,1	150	12	110	-5	30	4
	237,1	90,0	150	12	110	-5	13	5
Aldicarb-sulfon	240,1	86,0	150	10	150	-6	33	7
	240,1	148,0	150	10	150	-6	21	9
	240,1	166,1	150	10	150	-6	21	5
<i>Periode Nr. 2: Dauer 7,000 min</i>								
Desisopropylatrazin	174,1	96,0	65	47	200	-11	27	5
	174,1	104,0	65	47	200	-11	33	6
Desethylatrazin	188,1	104,0	65	40	180	-10	37	6
	188,1	146,0	65	40	180	-10	27	9
Dimethoat	230,1	125,0	65	34	180	-5	30	8
	230,1	199,0	65	34	180	-5	15	13
Mevinphos	225,1	127,0	65	36	180	-5	25	8
	242,1	193,0	65	10	80	-5	16	5
Triasulfuron	402,0	141,1	65	44	200	-10	31	9
	402,0	167,1	65	44	200	-10	26	11
Imidacloprid	256,1	175,1	65	42	200	-10	29	12
	256,1	209,1	65	42	200	-10	23	14
<i>Periode Nr. 3: Dauer 3,000 min</i>								
Desethylterbutylazin	202,1	104,0	75	41	220	-10	41	8
	202,1	146,0	75	41	220	-10	24	9
	204,1	148,0	75	41	220	-10	24	9
Dichlorvos	221,0	109,0	75	50	235	-9	26	6
	221,0	127,0	75	50	235	-9	26	8
Carbaryl	202,1	127,1	75	36	200	-5	43	8
	202,1	145,0	75	36	200	-5	15	9
	219,1	145,0	75	17	120	-5	22	10
Bromacil	261,0	205,0	75	38	190	-10	21	6
	280,0	207,0	75	6	110	-5	27	6
<i>Periode Nr. 4: Dauer 7,096 min</i>								
Diuron	233,0	72,1	40	50	220	-9	41	4
	235,0	72,1	40	50	220	-9	41	4
Atrazin	216,1	104,0	40	47	250	-10	41	7
	216,1	174,1	40	47	250	-10	26	5

Analyt	Mass (amu)		Dwell time (ms)	Ionenoptik (Ionpath)				
	Q1	Q3		DP	FP	EP	CE	CXP
Parathion-methyl	264,0	125,0	40	53	250	-10	28	7
	264,0	232,0	40	53	250	-10	25	7
Fenitrothion	278,0	125,0	40	55	245	-10	31	8
	278,0	246,1	40	55	245	-10	25	8
Terbutylazin	230,1	131,9	40	43	200	-10	38	8
	230,1	174,1	40	43	200	-10	25	5
Azinphos-methyl	317,9	132,0	40	32	160	-8	23	8
	317,9	160,1	40	32	160	-8	12	10
Propazin	230,1	146,0	40	50	230	-6	35	8
	230,1	188,1	40	50	230	-6	27	5
Atrazin-D5	221,1	179,2	40	47	250	-10	28	5
	223,1	181,2	40	47	250	-10	28	5
<i>Periode Nr. 5: Dauer 7,896 min</i>								
Irgarol	254,1	108,0	55	45	230	-10	44	7
	254,1	198,0	55	45	230	-10	27	5
Etrimfos	293,0	125,0	55	48	235	-11	36	8
	293,0	265,0	55	48	235	-11	25	8
Diazinon	305,0	153,0	55	41	180	-9	31	10
	305,0	169,0	55	41	180	-9	31	12
Alachlor	270,1	162,1	55	30	160	-10	30	10
	287,1	238,1	55	6	90	-5	18	7
Diazinon-D10	315,1	154,1	55	41	180	-9	33	11
	315,1	170,1	55	41	180	-9	33	11
Pyrazophos	374,0	194,0	55	61	280	-9	47	13
	374,0	222,1	55	61	280	-9	32	14
Parathion-ethyl	291,9	236,0	55	52	235	-10	22	7
	291,9	264,0	55	52	235	-10	16	7
<i>Periode Nr. 6: Dauer 7,503 min</i>								
Teflubenzuron	380,9	141,0	200	56	240	-10	55	10
	380,9	158,0	200	56	240	-10	25	10
<i>Gesamtdauer: 40 min</i>								

Anmerkung: zur Optimierung von Einstellungszeiten der Ionenoptik wurden die Massenübergänge in einer Periode nach aufsteigender Q3-Masse geordnet in die Software eingegeben, der Übersichtlichkeit halber sind sie in dieser Tabelle nach Substanzen geordnet dargestellt

DP = declustering potential, FP = focusing potential, EP = entrance potential, CE = collision energy, CXP = collision cell exit potential (vergl. Anhang I, Abbildung 12.1)

Die „Dwell time“ wurde so gewählt, dass ein Messzyklus („Cycle time“) maximal 0,86 s beträgt.

Zur Auswertung wurden die Chromatogramme jeweils zweimal geglättet.

11.2.2 Verfahrensentwicklung (LC-MS/MS-Messung)

Während der Verfahrensentwicklung (Abschnitt 5.2 und 5.3) wurde neben dem Massenspektrometer API 3000 auch das API 2000, ebenfalls ein „triple stage quadrupole“-Tandem-Massenspektrometer der Firma Applied Biosystems / MDS Sciex eingesetzt. Die Ionisierung erfolgte ebenfalls mit Hilfe der beheizten ESI-Quelle („Turboionspray®“) und der APCI-Quelle („Heated Nebulizer®“). Als Vorpumpe wurde eine Drehschieber-Vakuum-Pumpe der Firma Leybold (Typ D 16 E) verwendet.

In den Abschnitten 11.2.2.2 bis 11.2.2.6, Tabelle 11.3 bis 11.8 werden die experimentellen Bedingungen für die Optimierung der Parameter für die Ionisierung mit ESI und APCI dargestellt. Darüberhinaus wichen die folgenden MS-Einstellungen und verwendeten Chemikalien vom optimierten Verfahren ab.

MS-Einstellungen (vergl. Abschnitt 11.2.1.4)

- Einstellungen für das API 2000:
ESI-Quelle: Gas 1 = 20, Gas 2 = 80, APCI-Quelle: Gas 1 = 50, Gas 2 = 20
CUR = 45, CAD = 3
- Einstellungen für das API 3000:
ESI-Quelle: Gas 1 = 5 oder 8
- Massenübergänge:
Messung der 1. Massenübergänge, teilweise auch des 2. Massenübergangs (siehe Abschnitt 5.2, Tabelle 5.1)
Dichlorvos: Messung von 221 / 109 (API 2000) bzw. von 221 / 127 (API 3000)

zusätzlich verwendete Chemikalien

- Ameisensäure, p.a., Fa. Merck (alternatives Ionisierungshilsmittel)
- Essigsäure, p.a., Fa. Merck (alternatives Ionisierungshilsmittel)
- Acetonitril, gradient grade - für die Flüssigchromatographie, LiChroSolv, Fa. Merck (alternativer Eluent für die Flüssigchromatographie)
- Standardlösungen der Analyte: siehe Abschnitt 11.3

11.2.2.1 Auswahl der Massenübergänge und Optimierung der Einstellungen der Ionenoptik

Direktinfusion

- Standardlösungen der einzelnen Substanzen (siehe Abschnitt 11.3)
- Elektrospray-Ionisierung ohne „Turbo“-Gas (Einstellung von Temperatur und Gas 2: 0)
- Flussrate 5 - 10 µL/min
- Spritzenpumpe: Pump 11, Fa. Harvard Apparatus
- Spritze: 1 mL-Glasspritze, Fa. Hamilton

11.2.2.2 Variation der „Ionspray“-Spannung bzw. des „Nebulizer“-Stroms

Tabelle 11.3: Experimentelle Bedingungen für die Optimierung der „Ionspray“-Spannung (ESI) bzw. des „Nebulizer“-Stroms (APCI)

Thema	Variation „Ionspray“-Spannung (IS)	Variation „Nebulizer“-Strom (NC)
Abbildung	12.2 (Anhang)	12.3 (Anhang)
Gerät (MS)	API 3000	API 3000
Ionenquelle	ESI	APCI
FIA oder LC	LC	LC
Ionisierungshilfsmittel	Ammoniumacetat 0,63 mmol/L**	Ammoniumacetat 0,63 mmol/L**
Eluent B	Methanol	Methanol
LC-Gradient (Anteil B)	30 - 90% (10 min); 90% (10 min); 30 - 90% (1min); 30% (20 min, Vorlauf)	30 - 90% (10 min); 90% (10 min); 90 - 30% (1 min); 30% (10 min, Vorlauf)
Temp. Säulenofen	23°C	23°C
Flussrate	150 µL/min	150 µL/min
Temp. Ionenquelle	200°C	225°C
„Ionspray“-Spannung	Variation	-
„Nebulizer“-Strom	-	Variation
Injizierte Masse	1,1 ng (0,8 / 2,2 / 2,3 ng)*	1,2 (1,0 / 2,4 / 33 ng)*

* in Klammern injizierte Masse für Fenthion, Fenitrothion und Teflubenzuron

** Ionisierungshilfsmittel im wässrigen und im organischen Eluenten

11.2.2.3 Variation des Ionisierungshilfsmittels (IHM)

Tabelle 11.4: Experimentelle Bedingungen für die Optimierung der Art und Konzentration des Ionisierungshilfsmittels (IHM) - Teil 1

Thema	Variation IHM	Variation IHM	Variation IHM
Abbildung	5.1	12.4 und 12.5 (Anhang)	5.3 und 5.4
Gerät (MS)	API 2000	API 2000	API 2000
Ionenquelle	ESI	ESI	ESI
FIA oder LC	FIA	FIA	LC
Ionisierungshilfsmittel	Variation	Variation	Variation
Eluent B	Methanol	Methanol	Methanol
LC-Gradient (Anteil B)	50% konstant	50% konstant	30 - 90% (10 min); 90% (8 min); 90 - 30% (1 - 3 min); mit Vorlauf
Temp. Säulenofen	RT	RT	RT
Flussrate	200 µL/min	200 µL/min	200 µL/min
Temp. Ionenquelle	450°C	450°C	450°C
„Ionspray“-Spannung	5500 V	5500 V	5500 V
„Nebulizer“-Strom	-	-	-
Injizierte Masse	17 ng (14 / 35 / 37 ng)*	7,0 ng (5,4 / 14 / 15 ng)*	7,0 ng (5,4 / 14 / 15 ng)*

* in Klammern injizierte Masse für Fenthion, Fenitrothion und Teflubenzuron

Tabelle 11.5: Experimentelle Bedingungen für die Optimierung der Art und Konzentration des Ionisierungshilfsmittels (IHM) - Teil 2

Thema	Variation IHM	Matrizeinfluss ***	Variation IHM
Abbildung	12.6 (Anhang)	keine	5.2
Gerät (MS)	API 3000	API 3000	API 2000
Ionenquelle	ESI	ESI	APCI
FIA oder LC	LC	LC	FIA
Ionisierungshilfsmittel	Variation	Variation	Variation
Eluent B	Methanol	Methanol	Methanol
LC-Gradient (Anteil B)	20 - 90% (12 min); 90% (15 min); 90 - 100% (1 min); 100% (3 min); 100 - 20% (1 min); 20% B (16 min, Vorlauf)	30 - 90% (10 min); 90% (10 min); 90 - 100% (1min); 100% (10 min); 100 - 30% (1min); 30% (8 min, Vorlauf)	50% konstant
Temp. Säulenofen	30°C	23°C	RT
Flussrate	150 µL/min	150 µL/min	200 µL/min
Temp. Ionenquelle	225°C	200°C	200°C
„Ionspray“-Spannung	4500 V	4500 V	-
„Nebulizer“-Strom	-	-	3 µA
Injizierte Masse	300 pg (50 pg / 1,4 ng)**	0,7 ng (0,6 / 1,5 / 20 ng)*	7,0 ng (5,4 / 14 / 15 ng)*

* in Klammern injizierte Masse für Fenthion, Fenitrothion und Teflubenzuron

** bezogen auf Fenthion (Pyrazophos / Fenitrothion) - vergl. Anhang IV, Tabelle 12.1: Serie I bis VI

*** Probe: ältere SPE-Extrakte der Elbe (gelagert in Tiefkühlschrank), aufgestockt mit Standardlösungen

11.2.2.4 Variation des organischen Eluenten für die LC

Tabelle 11.6: Experimentelle Bedingungen für die Auswahl des organischen Eluenten für die Flüssigchromatographie (LC)

Thema	Variation org LM	Variation org LM
Abbildung	5.5	5.5
Gerät (MS)	API 3000	API 3000
Ionenquelle	ESI	ESI
FIA oder LC	LC	LC
Ionisierungshilfsmittel	Variation	Variation
Eluent B	Methanol	Acetonitril + 5,9 % (v/v) Wasser
LC-Gradient (Anteil B)	20 - 90% (12 min); 90% (15 min); 90 - 100% (1 min); 100% (3 min); 100 - 20% (1 min); 20% B (16 min, Vorlauf)	21,2 - 96,0% (12 min); 96,0% (15 min); 96,0 - 100% (1 min); 100% (3 min); 100 - 21,2% (1 min); 21,1% (16 min, Vorlauf)
Temp. Säulenofen	30°C	30°C
Flussrate	150 µL/min	150 µL/min
Temp. Ionenquelle	225°C	225°C
„Ionspray“-Spannung	4500 V	4500 V
Injizierte Masse	300 pg (50 pg / 1,4 ng)*	300 pg (50 pg / 1,4 ng)*

* bezogen auf Fenthion (Pyrazophos / Fenitrothion) - vergl. Anhang IV, Tabelle 12.1: Serie I bis VI (Gradientenprogramm für Acetonitril entspricht dem mit Methanol, Mischungsverhältnisse verändert aufgrund des Wasseranteils im Eluenten B)

11.2.2.5 Variation der Temperatur der Ionenquelle

Tabelle 11.7: Experimentelle Bedingungen für die Optimierung der Temperatur der Ionenquelle

Thema	Variation Temperatur der Ionenquelle	Variation Temperatur der Ionenquelle
Abbildung	5.6	5.7
Gerät (MS)	API 3000	API 3000
Ionenquelle	ESI	APCI
FIA oder LC	LC	LC
Ionisierungshilfsmittel	Ammoniumacetat 0,63 mmol/L**	Ammoniumacetat 0,63 mmol/L**
Eluent B	Methanol	Methanol
LC-Gradient (Anteil B)	30 - 90% (10 min); 90% (10 min); 90 - 100% (1 min); 100% (10 min); 100 - 30% (1 min); 30% (13 min, Vorlauf)	30 - 90% (10 min); 90% (10 min); 90 - 30% (1 min); 30% (10 min, Vorlauf)
Temp. Säulenofen	23°C	23°C
Flussrate	150 µL/min	150 µL/min
Temp. Ionenquelle	Variation	Variation
„Ionspray“-Spannung	4500 V	-
„Nebulizer“-Strom	-	3 µA
Injizierte Masse	1,1 ng (0,8 / 2,2 / 2,3 ng)*	1,2 (1,0 / 2,4 / 33 ng)*

* in Klammern injizierte Masse für Fenthion, Fenitrothion und Teflubenzuron

** Ionisierungshilfsmittel im wässrigen und im organischen Eluenten

11.2.2.6 Variation der Flussrate des Eluats

Tabelle 11.8: Experimentelle Bedingungen für die Optimierung der Flussrate des Eluats

Thema	Variation Flussrate
Abbildung	5.8
Gerät (MS)	API 2000
Ionenquelle	ESI
FIA oder LC	LC
Ionisierungshilfsmittel	Ammoniumacetat 0,63 mmol/L**
Eluent B	Methanol
LC-Gradient (Anteil B)	30 - 90% (10 min); 90% (8 - 10 min); 90 - 30% (1 min); 30% (11 - 16 min, Vorlauf)
Temp. Säulenofen	RT
Flussrate	Variation
Temp. Ionenquelle	450°C
„Ionspray“-Spannung	5500 V
Injizierte Masse	7 ng (5 / 14 / 15 ng)*

* in Klammern injizierte Masse für Fenthion, Fenitrothion und Teflubenzuron

** Ionisierungshilfsmittel im wässrigen und im organischen Eluenten

11.2.2.7 Auswahl der Ionisierungsmethode (ESI oder APCI)

Der Vergleich der Empfindlichkeit der Messung mit ESI und APCI wurde anhand von der Steigungen von Kalibriergeraden aus den Messungen der Proben von Serie IX und ELP (s. Tabelle 11.1) durchgeführt. Die Effekte der Probenmatrix bei der Messung wurden anhand von Ergebnissen der Serie VII dargestellt.

11.2.2.8 Versuchsreihen zur Anreicherung

Tabelle 11.1 in Abschnitt 11.1.2 gibt einen Überblick über die während der Verfahrensentwicklung und Validierung durchgeführten Versuchsreihen zur Anreicherung und die jeweils veränderten experimentellen Bedingungen. Im Folgenden werden die vom optimierten Verfahren (siehe Abschnitt 11.2.1) abweichenden Bedingungen erläutert. Die Serien VIII, IX, X und ELP (Validierung und Untersuchung der Wasserproben des Elbelängsprofils) wurden nach den Bedingungen des optimierten Verfahrens durchgeführt.*

* Serie VIII: geringfügige Abweichungen vom optimierten Verfahren - Messzyklus bis zu 1,3 s (durch Messung zusätzlicher Massenübergänge)

LC-Gradient

Im Laufe der Verfahrensentwicklung wurde der Gradient der Flüssigchromatographie verändert (vergl. Abschnitt 5.5.2). Tabelle 11.9 zeigt die Gradienten aus den Serien I bis V und VI bis VII zusammen mit dem Gradienten des optimierten Verfahrens.

Tabelle 11.9: Messung der Proben aus den Serien I bis X (siehe Tabelle 11.1) - LC-Gradienten

Gradient 1	Gradient 2	Gradient 3 (optimiertes Verfahren)
Vorlauf: 30% B (9 bzw. 13 min)	Vorlauf: 20% B (13 min)	Vorlauf: 20% B (13 min)
Messung: 30 - 90% B (10 min), 90% B (10 min), 90 - 100% B (1 min), 100% B (3 min), 100 - 30% B (1 min)	Messung: 20% B (5 min), 20 - 90% B (15 min), 90% B (10 min), 90 - 100% B (1 min), 100% B (3 min), 100 - 20% B (1 min)	Messung: 20 - 50% B (3 min), 50 - 90% B (30 min), 90% B (2 min), 90 - 100% B (1 min), 100% B (3 min), 100 - 20% B (1 min)

Vorlauf = Zeit zur Gleichgewichtseinstellung vor der Messung

Ionisierungsbedingungen

Aufgrund von technischen Problemen wurde die Serie IV mit anderen Ionisierungsbedingungen gemessen.

Temperatur „Turbo“-Gas	250°C anstelle 225°C
Auxiliary Gas (Gas 2)	4 L/min anstelle 6 L/min
Curtain Gas (CUR)	10 anstelle 11

Variable Einstellungen der Ionenoptik

In den Serien I bis VII entsprachen die Spannungseinstellungen der Ionenoptik den Einstellungen im optimiertem Verfahren (siehe Tabelle 11.2). Für jeden untersuchten Analyten wurde der 1. Massenübergang, teilweise auch der 2. Massenübergang (siehe Abschnitt 5.2, Tabelle 5.1) gemessen. Bei den Serien I bis V erfolgte die Messung in vier Perioden; die „Dwell time“ betrug 200 ms, ein Meßzyklus dauerte 0,8 bis 1,2 s. Bei den Serien VI und VII wurden alle Massenübergänge gleichzeitig gemessen; die „Dwell time“ betrug 50 ms, ein Meßzyklus dauerte etwa 1,2 s.

11.2.2.9 full scan-Messungen

- Matrixproben (Reines Wasser und Elbewasser) aus Serie VII, Injektionsvolumen: 10 µL
- LC: Gradient 1 (siehe Tabelle 11.9, außer: 100% B (6min)), Flussrate 150 µL/min, Säulenofen 30°C
- MS: full scan 20 - 1000 amu („dwell time“: 2 s), Schrittgröße: 0,5 amu, Einheitsauflösung, Einstellungen der Ionenoptik: DP 60, FP 300, EP 10

11.3 Standardlösungen

11.3.1 Chemikalien, Arbeitsmaterialien und Geräte

- Reinsubstanzen der Analyte (Reinheitsgrad 95,5 bis 99,9% ± 0,5 bis 1%) der Firmen Dr. Ehrenstorfer und Riedel-de Haën
Etrimfos: techn. Produkt (Reinheitsgrad 42% ± 2%), Fa. Dr. Ehrenstorfer,
Mevinphos: Gemisch von (E)- und (Z)-Isomer (Reinheitsgrad Summe 91% ± 1%), Fa. Dr. Ehrenstorfer
- deuterierte Substanzen: Atrazin-(ethylamin-D5) (Deuterierungsgrad: 98%, Reinheitsgrad: > 98%) und Diazinon-(diethyl-D10) (Deuterierungsgrad: 98%, Reinheitsgrad: > 98%) der Fa. Cambridge Isotope Laboratories
- Methanol, gradient grade - für die Flüssigchromatographie, LiChroSolv, Fa. Merck
- Acetonitril, gradient grade - für die Flüssigchromatographie, LiChroSolv, Fa. Merck
- Reines Wasser aus einer Wasseraufbereitungsanlage: Elix S und Milli-Q-Plus 185, Fa. Milipore („organikarmes Laborwasser“)
- Schraubdeckelgläschen mit Teflondichtungen für Standardlösungen, Fa. Suppelco
- Pasteur-Pipetten
- Analysenwaage AE 163, Fa. Mettler

11.3.2 Herstellung und Konzentrationen der Standardlösungen

Bei der Herstellung der Standardlösungen wurden alle Messvorgänge, also auch die Dosierung von Flüssigkeiten, mit Hilfe der Analysenwaage durchgeführt. Bei der Berechnung der Konzentrationen wurden Volumeneffekte bei der Mischung von Acetonitril und Methanol bzw. der organischen Lösungsmittel mit Wasser nicht berücksichtigt. Die sich daraus ergebenden Ungenauigkeiten wurden bei der Berechnung der Messunsicherheit einbezogen. Bei der Berechnung der Konzentrationen wurden die vom Hersteller angegebenen Reinheitsgrade der Substanzen einkalkuliert, die vom Hersteller angegebene Unsicherheit der Reinheitsgrade wurde bei der Berechnung der Messunsicherheit berücksichtigt.

Stammlösungen von Einzelsubstanzen

Stammlösungen der einzelnen Analyte und der deuterierten Substanzen wurden durch Einwaage von 4 - 11 mg (in Einzelfällen 25 mg) der Reinsubstanzen und Zugabe von Methanol oder Acetonitril hergestellt. Die Konzentrationen der Stammlösungen lagen im Bereich von 200 - 3000 ng/ μ L, meist um 1000 ng/ μ L. Die Stammlösungen wurden im Tiefkühlschrank gelagert, mit Ausnahme der Stammlösungen der Triazinderivate, -metabolite und von Teflubenzuron, die im Kühlschrank gelagert wurden.

Lösungen von Einzelsubstanzen für die Direktinfusion

Für die Auswahl der Massenübergänge und die Optimierung der Einstellungen der Ionenspektrometrie wurden Lösungen der einzelnen Analyte und der deuterierten Substanzen hergestellt. Die Lösungen wurden in einem Gemisch von Methanol und Wasser (50/50) angesetzt, das 2 - 4 mmol/L Ammoniumacetat als Ionisierungshilfsmittel enthielt. Die Konzentrationen lagen im Bereich von 1 - 5 ng/ μ L.

Mischstandardlösungen für die Aufstockung von Proben

Aus den Stammlösungen wurden Mischstandardlösungen der kleinen Substanzgruppe für die Verfahrensentwicklung und der gesamten Substanzgruppe hergestellt. Aus diesen wurden durch Verdünnung in Acetonitril die Lösungen zum Aufstocken der Wasserproben hergestellt, die im Tiefkühlschrank gelagert wurden.

Die Aufstocklösungen, die für die Serien IX, X und ELP (Validierung und Untersuchung der Wasserproben des Elbelängsprofils, siehe Tabelle 11.1) verwendet wurden, enthielten alle Analyte in etwa der gleichen Konzentration. Diese betragen etwa 250, 1000 und 4100 pg/ μ L für das niedrige, das mittlere und das hohe Aufstockniveau. Bei einer Aufstockung von 20 μ L je Liter Wasserprobe entspricht dies einer Konzentration von etwa 5, 20 und 82 ng/L in der Wasserprobe.

Im Laufe der Verfahrensentwicklung wurden Mischstandardlösungen verwendet, die die Analyte in unterschiedlichen Konzentrationen enthielten. Die Konzentrationen der Standardlösungen betragen 300 pg/ μ L (Serie I bis VI) bzw. 786 pg/ μ L (Serie VII) bezogen auf Fenthion und 1047 pg/ μ L (Serie VIII) bezogen auf Carbaryl. In Anhang IV, Tabelle 12.1 und 12.2 sind die Konzentrationen der Aufstockungen (als Konzentrationen in der Wasserprobe) der Serien I bis VIII für alle Analyte einzeln aufgeführt. Anhand dieser Tabellen lassen sich die Verhältnisse der Konzentrationen der Analyte in den verschiedenen Mischstandardlösungen ablesen.

Für die interne Qualitätskontrolle (Serie IX, X und ELP) wurde aus den Stammlösungen der deuterierten Substanzen eine Aufstocklösung hergestellt. Diese Lösung enthielt 1,77 ng/ μ L Atrazin-D5 und 2,25 ng/ μ L Diazinon-D10. Bei einer Aufstockung von 9 μ L je Liter Wasserprobe entspricht dies einer Konzentration von 15,9 bzw. 20,3 ng/L in der Wasserprobe.

Mischstandardlösungen für die Optimierung der Parameter für die Ionisierung

Für die Optimierung der Parameter für die Ionisierung mit ESI und APCI wurde eine Mischstandardlösung der Analyte der kleinen Substanzgruppe für die Verfahrensentwicklung in Gemischen aus Wasser und Acetonitril oder Methanol verdünnt. Es wurde jeweils das Lösungsmittel verwendet, das dem Eluenten bei der FIA bzw. dem Anfangsgemisch des Gradienten bei der LC entsprach (siehe Abschnitt 11.2.2.2 bis 11.2.2.6, Tabellen 11.3 bis 11.8). Bei FIA-Versuchen wurde dem Lösungsmittel das jeweils verwendete Ionisierungsmittel in gleicher Menge zugesetzt wie dem Eluenten. Angaben zu den injizierten Massen sind den obengenannten Tabellen zu entnehmen.

Mischstandardlösungen für die Kalibrierung der LC-MS/MS-Messung

Durch Verdünnung der für die Aufstockung der Proben verwendeten Mischstandardlösungen in Acetonitril-Wasser-Gemischen* wurden die Standardlösungen für die Kalibrierung der LC-MS/MS-Messung hergestellt. Der Wasseranteil entsprach dem jeweiligen Anfangsgemisch des Gradienten der LC. Die Standardlösungen wurden für jede Serie frisch hergestellt und maximal einige Tage im Kühlschrank gelagert. Für die Serien IX, X und ELP wurde für diesen Zweck eine Mischung aus einer Aufstocklösung der Analyten und der Aufstocklösung der deuterierten Substanzen verwendet, die die Analyte und die deuterierten Substanzen etwa in der gleichen Konzentration enthielt.

Tabelle 11.10: Konzentrationen der in den Versuchsreihen zur Anreicherung verwendeten Aufstock- und Kalibrierstandardlösungen und Injektionsvolumina für die Kalibrierung der LC-MS/MS-Messung

Serie	Ausgangs-Mix	Konz. Aufstocklsg. (pg/ μ L)	Konz. Kalibrierstandardlsg. (pg/ μ L)	Injektionsvolumina Kalibrierung
I	Mix A: klein	300 *	3 und 30 *	1,4 bis 10 μ L
II	Mix A: klein	300 *	30 *	2,0 bis 10 μ L
III	Mix A: klein	300 *	30 *	2,0 bis 10 μ L
IV	Mix A: klein	300 *	30 *	2,0 bis 10 μ L
V	Mix A: klein	300 *	30 *	2,0 bis 10 μ L
VI	Mix A: klein	300 *	30 *	1,0 bis 5,0 μ L
VII	Mix B: klein	786 *	13 *	2,8 bis 14 μ L
VIII	Mix C: gesamt	1047 **	25 **	2,0 bis 10 μ L
IX	Mix D: gesamt	250 / 1000 / 4100	3 bis 117 (4 Lsg.)	1,7 bis 10 μ L
ELP	Mix D: gesamt	1000	0,5 bis 117 (7 Lsg.)	10 μ L
X	Mix D: gesamt	250 / 1000 / 4100	0,5 bis 117 (7 Lsg.)	10 μ L

* bezogen auf Fenthion, ** bezogen auf Carbaryl, Verhältnisse der Konzentrationen der einzelnen Analyte in den Mischstandardlösungen vergl. Anhang IV, Tabelle 12.1 und 12.2
Anzahl der Kalibrierpunkte: im allgemeinen 5 bis 7

* Obwohl für die Flüssigchromatographie Methanol und Wasser als Eluenten verwendet wurden, wurden die Standardlösungen in einem Acetonitril-Wasser-Gemisch angesetzt, da auch die Proben nach der Aufarbeitung in Acetonitril und Wasser vorlagen. (Ausnahme: Für Serie V wurden die Kalibrierstandardlösungen in Methanol und Wasser angesetzt, da auch die Proben in diesem Gemisch vorlagen.)

Mischstandardlösungen für die Validierung der LC-MS/MS-Messung

Für die Validierung der LC-MS/MS-Messung wurden entsprechende Mischstandardlösungen wie für die Kalibrierung der LC-MS/MS-Messung (siehe oben) verwendet. Die Gerätnachweisgrenzen und die Wiederholpräzision der Messung wurden mit Mix D bestimmt, der lineare Bereich der Messung wurde mit Mix C und Mix D bestimmt.

11.4 Durchführung der Berechnungen für Mevinphos

Das Isomerenverhältnis bei Mevinphos (siehe Abschnitt 5.2) wurde durch ESI-Messungen des zur Quantifizierung eingesetzten Massenübergangs 242/193 bestimmt. Anhand der Kalibrierungen der Serien IX, ELP und X (Validierung und Untersuchung der Wasserproben des Elbelängsprofils, siehe Tabelle 11.1) wurde aus den Verhältnissen der Signalfächen der beiden Isomere ein Verhältnis vom 1. Isomer zum 2. Isomer (bezogen auf die Elutionsreihenfolge) von 25,7 : 74,3 ermittelt.

12 ANHANG

- Anhang I:** Ionoptik des Massenspektrometers API 3000
- Anhang II:** Verfahrensentwicklung - Optimierung von Parametern für die Ionsierung
- Anhang III:** Verfahrensentwicklung - Wiederfindungsraten und „full scan“-Messungen von matrixhaltigen Proben
- Anhang IV:** Konzentrationen der Aufstockungen für alle Serien und Konzentrationen in den Wasserproben für die Serien VIII, IX und X
- Anhang V:** Chromatogramme von Einzelsubstanz-Injektionen von Atrazin, Atrazin-D5, Diazinon und Diazinon-D10
- Anhang VI:** Nachweis- und Bestimmungsgrenzen des Gesamtverfahrens für den 2. Massenübergang
- Anhang VII:** Elbelängsprofil - Probennahmestellen
- Anhang VIII:** Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens in den Wasserproben des Elbelängsprofils
- Anhang IX:** Konzentrationen in den Wasserproben des Elbelängsprofils
- Anhang X:** Elbelängsprofil - Absicherung der Positivbefunde durch Auswertung des 2. Massenübergangs
- Anhang XI:** Grubbs-Ausreißertest
- Anhang XII:** Toxizitätsdaten, Gefahren- und Sicherheitshinweise zu den verwendeten Chemikalien

Anhang I: Ionenoptik des Massenspektrometers API 3000

In Abbildung 12.1 ist die Ionenoptik des Tandem-Massenspektrometers API 3000 schematisch dargestellt. Die Abkürzungen bezeichnen die in der Software einzustellenden Spannungen (siehe Abschnitt 11.2.1.4).

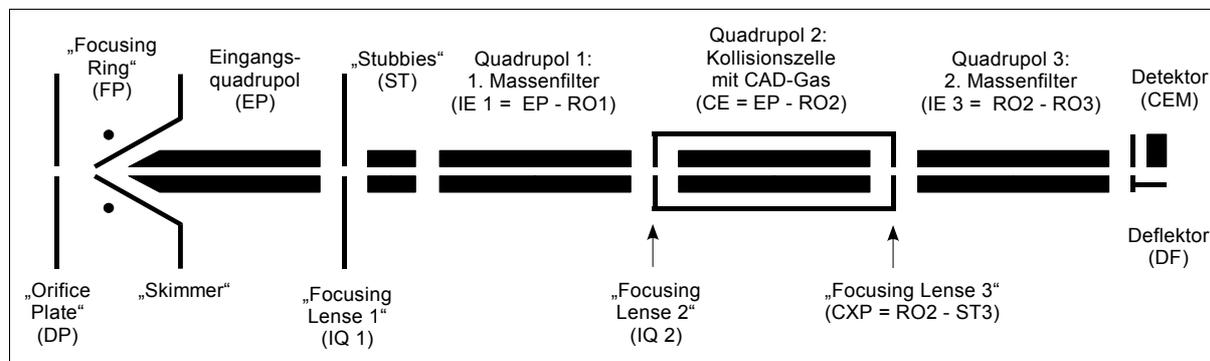


Abbildung 12.1: Schematische Darstellung der Ionenoptik des Massenspektrometers API 3000 von Applied Biosystems / MDS Sciex

Anhang II: Verfahrensentwicklung - Optimierung von Parametern für die Ionisierung

Die Optimierung von Parametern für die Ionisierung mit ESI und APCI wurde in Abschnitt 5.3 dargestellt. Die Abbildungen 12.2 bis 12.6 zeigen einige zusätzliche Ergebnisse.

Hinweis: In den Diagrammen sind die Substanzen immer in der Elutionsreihenfolge dargestellt, d.h. mit von links nach rechts zunehmender Retentionszeit

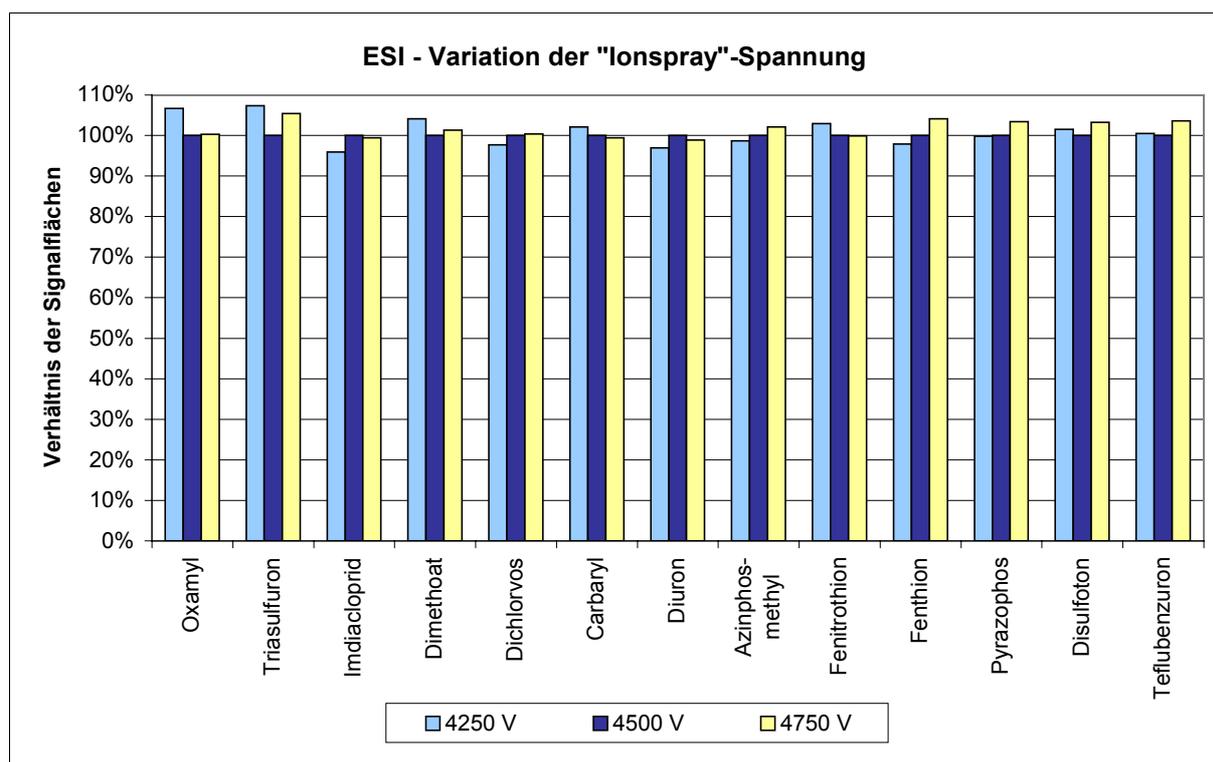


Abbildung 12.2: ESI - Vergleich der Signalintensität bei verschiedenen „Ionspray“-Spannungen; Bezugspunkt (100%): 4500 V; LC; H₂O/MeOH; NH₄Ac 0,63 mmol/L; 30 - 90% MeOH; 150 µL/min; Säule 23°C; Ionenquelle 200°C; IS Variation; API 3000

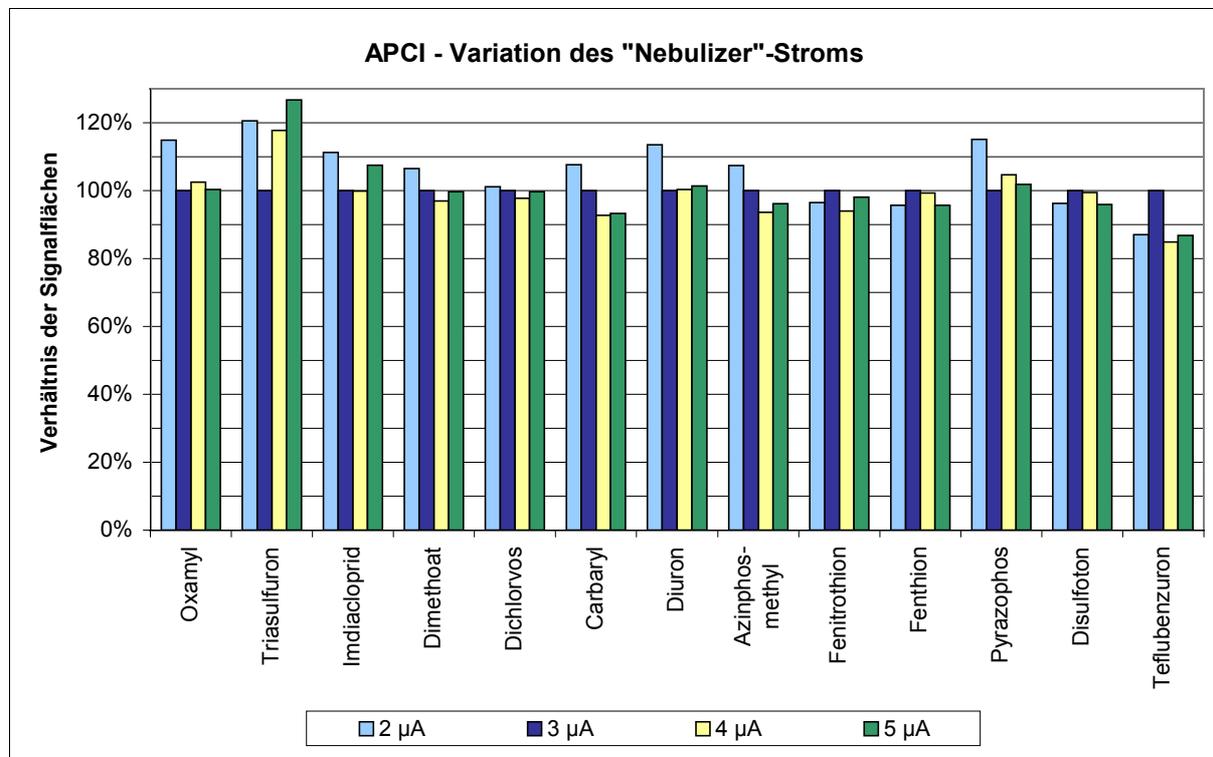


Abbildung 12.3: APCI - Vergleich der Signalintensität bei verschiedenen „Nebulizer“-Strom-Einstellungen; Bezugspunkt (100%): 3 µA; LC; H₂O/MeOH; NH₄Ac 0,63 mmol/L; 30 - 90% MeOH; 150 µL/min; Säule 23°C; Ionenquelle 225°C; NC Variation; API 3000

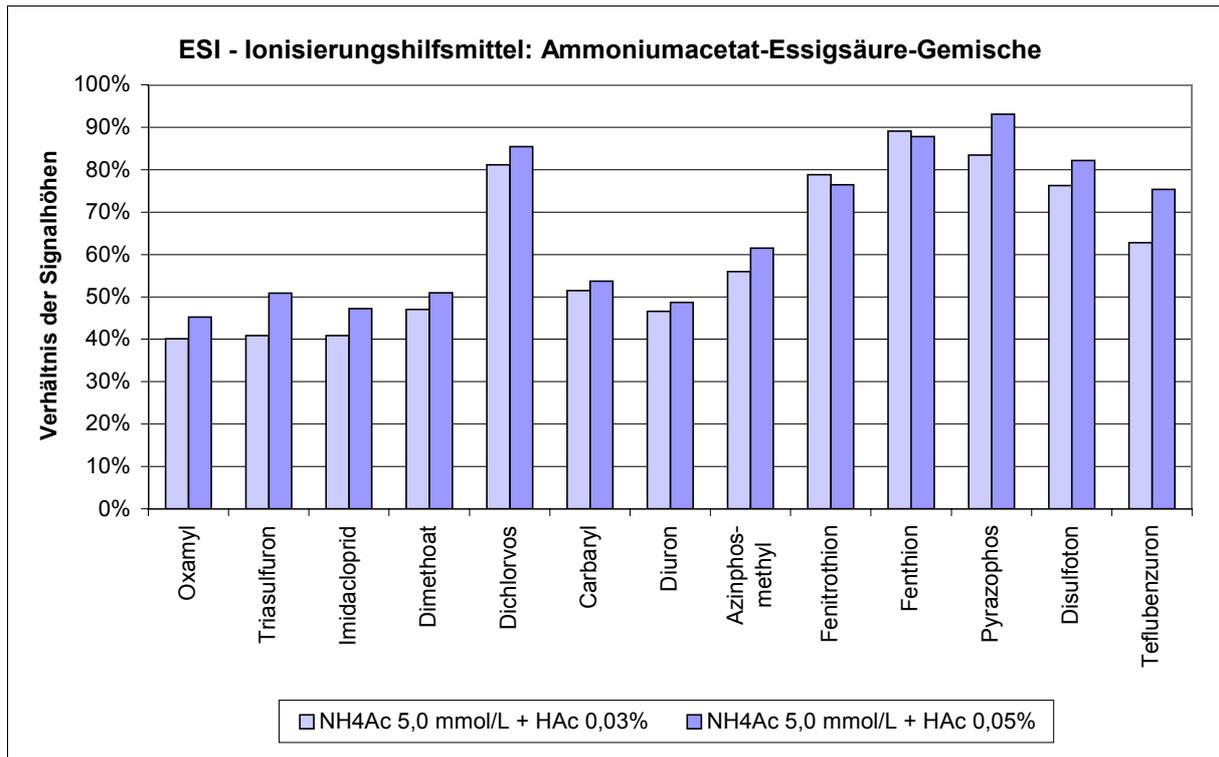


Abbildung 12.4: ESI - Vergleich verschiedener Ammoniumacetat-Essigsäure-Gemische als Ionisierungshilfsmittel; Bezugspunkt (100%): NH₄Ac 5,0 mmol/L + HAc 0,07% (Prozentangaben: v/v); FIA; H₂O/MeOH; Variation IHM; 50% MeOH; 200 µL/min; Ionenquelle 450°C; IS 5500 V; API 2000

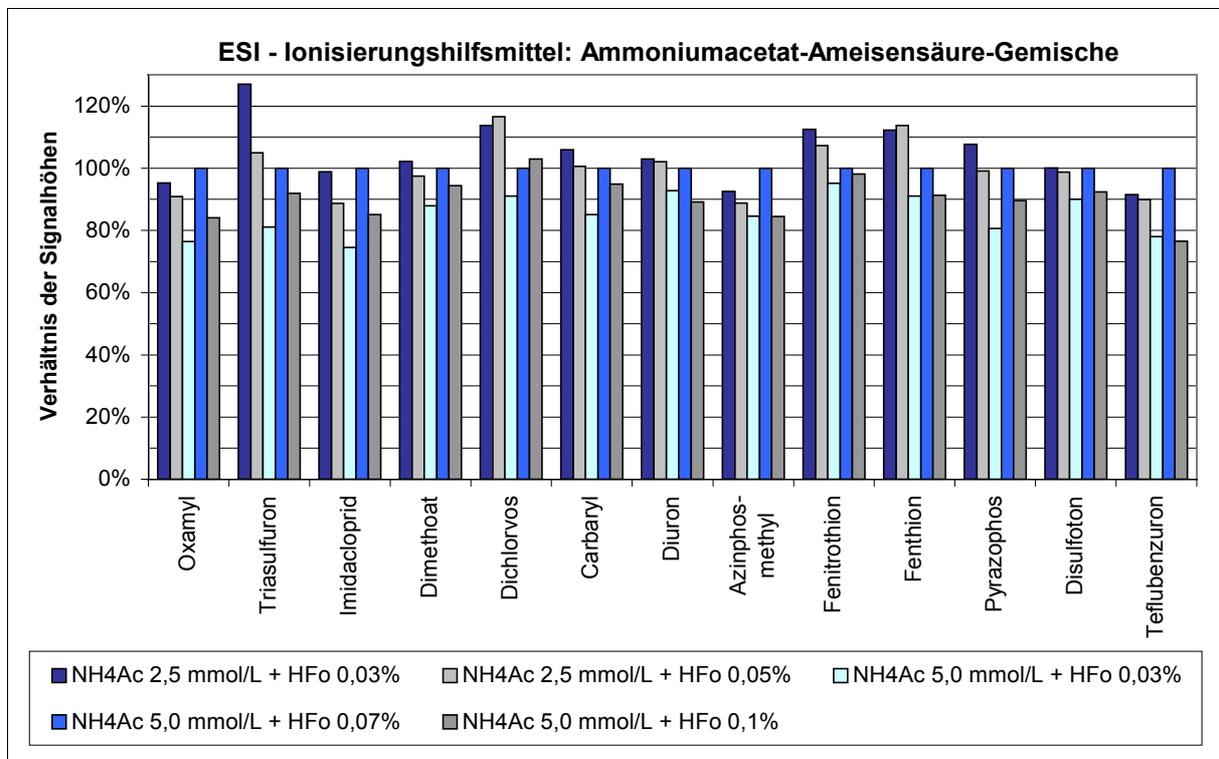


Abbildung 12.5: ESI - Vergleich verschiedener Ammoniumacetat-Ameisensäure-Gemische als Ionisierungshilfsmittel; Bezugspunkt (100%): NH₄Ac 5,0 mmol/L + HAc 0,07% (Prozentangaben: v/v); FIA; H₂O/MeOH; Variation IHM; 50% MeOH; 200 µL/min; Ionenquelle 450°C; IS 5500 V; API 2000

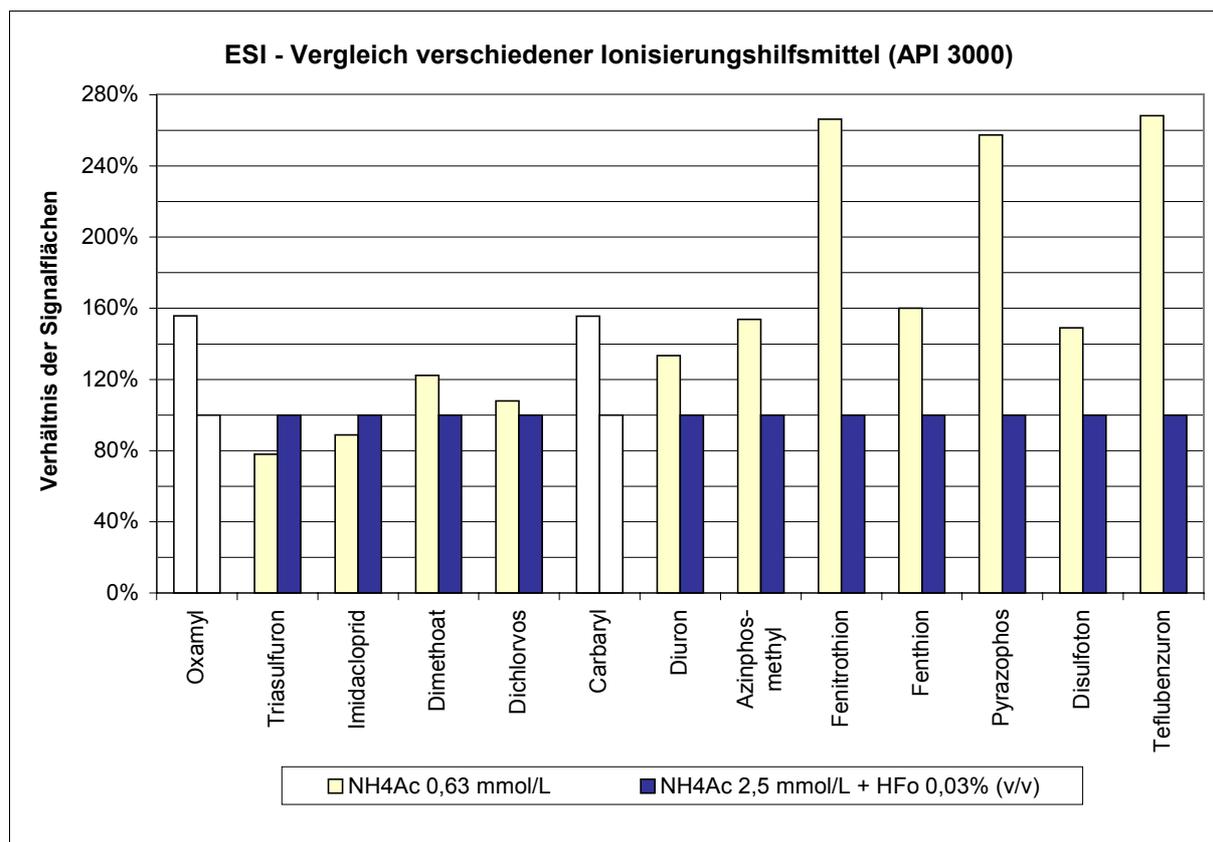


Abbildung 12.6: ESI - Vergleich einer Ammoniumacetat-Lösung und eines Ammoniumacetat-Ameisensäure-Gemisches als Ionisierungshilfsmittel; Bezugspunkt (100%): NH₄Ac + HFO; LC; H₂O/MeOH; Variation IHM; 20 - 90% MeOH; 150 µL/min; Säule 30°C; Ionenquelle 225°C; IS 4500 V; API 3000

Anhang III: Verfahrensentwicklung - Wiederfindungsraten und „full scan“-Messungen von matrixhaltigen Proben

Tabelle 11.1 in Abschnitt 11.1.2 gibt einen Überblick über die während der Verfahrensentwicklung und Validierung durchgeführten Versuchsreihen zur Anreicherung und die jeweils veränderten experimentellen Bedingungen. In den Abbildungen 12.7 bis 12.12 sind alle im Rahmen dieser Untersuchungen bestimmten Wiederfindungsraten der Anreicherung, der Messung und des Gesamtverfahrens für die kleine Substanzgruppe (siehe Kapitel 4) dargestellt. Für die Serien IX und X sind jeweils die für die 20 ng/L*-Aufstockung ermittelten Wiederfindungsraten dargestellt. Die in Abbildung 12.6 für die Serie ELP (Elbelängsprofil) dargestellte Wiederfindungsrate wurde für die Probe „Geesthacht Strommitte“ vom 20.8.01 ermittelt.

In den Abbildungen 12.13 und 12.14 sind „full scan“-MS-Messungen von Extrakten aus der Anreicherung von reinem Wasser und von Elbewasser auf RP-C18 (Serie VII) dargestellt (vergl. Abschnitt 5.5.2). In den Darstellungen wurde jeweils die „full scan“-MS-Messung einer Standardlösung als Untergrund subtrahiert. Um eine Zuordnung der eluierenden Matrix zu den Retentionszeiten der Analyte zu ermöglichen sind in den beiden Abbildungen zusätzlich MS/MS-Messungen einer Standardlösung dargestellt. (Experimentelle Bedingungen siehe Abschnitt 11.1.2 und 11.2.2.8)

* bei Mevinphos bezogen auf die Summe der beiden Isomere

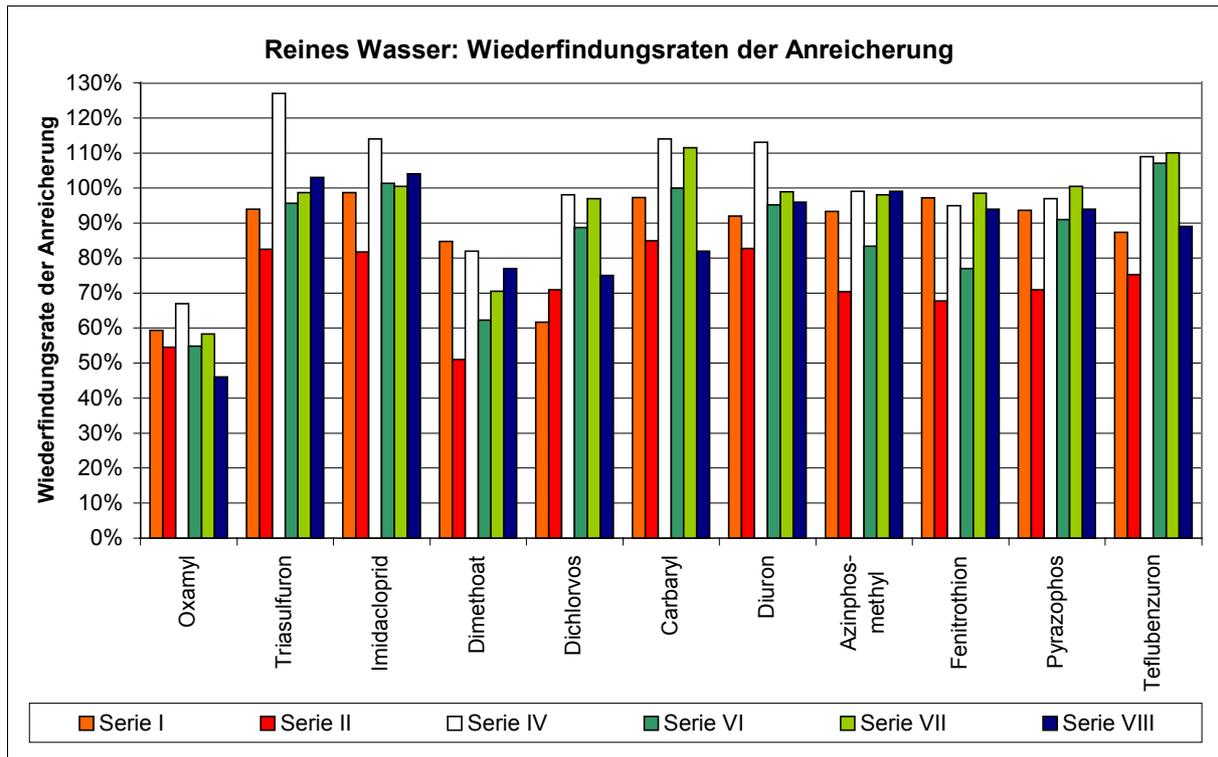


Abbildung 12.7: Im Laufe der Verfahrensentwicklung und Validierung ermittelte Wiederfindungsraten der Anreicherung für reine Wasserproben (nähere Angaben siehe Text oben)

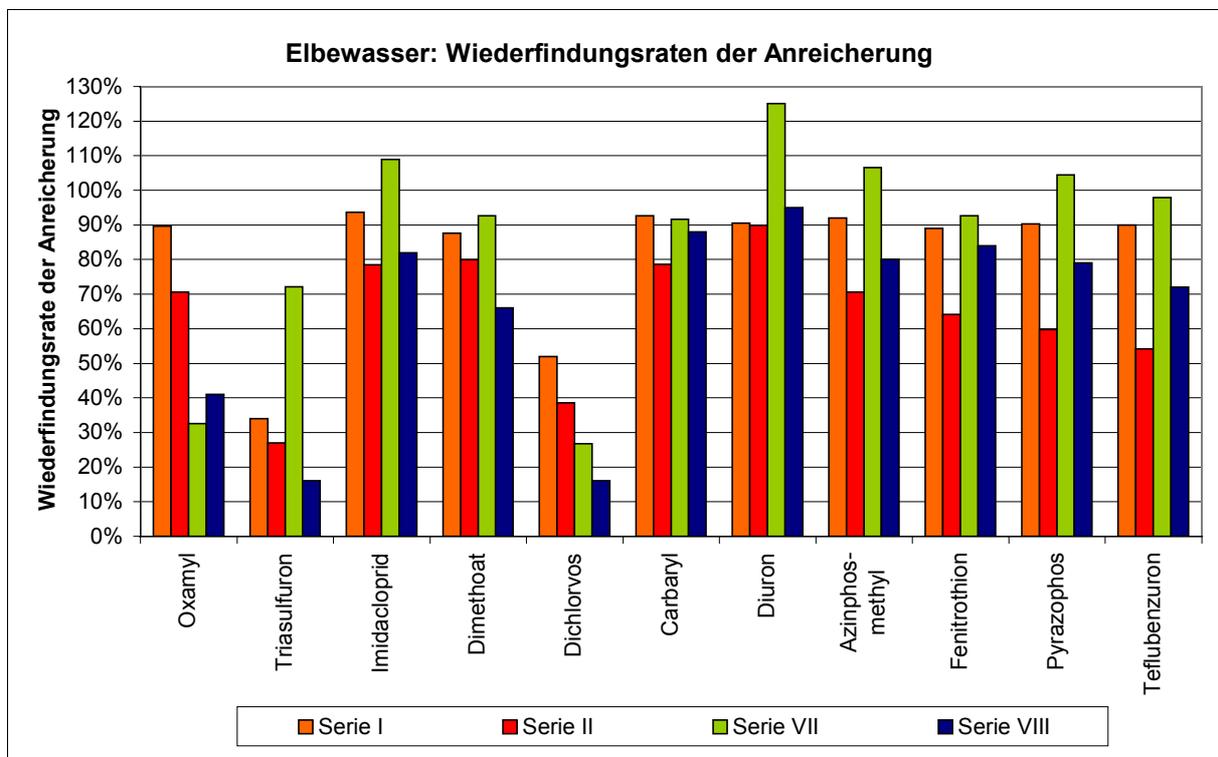


Abbildung 12.8: Im Laufe der Verfahrensentwicklung und Validierung ermittelte Wiederfindungsraten der Anreicherung für Wasserproben der Elbe bei Geesthacht (nähere Angaben siehe Text oben)

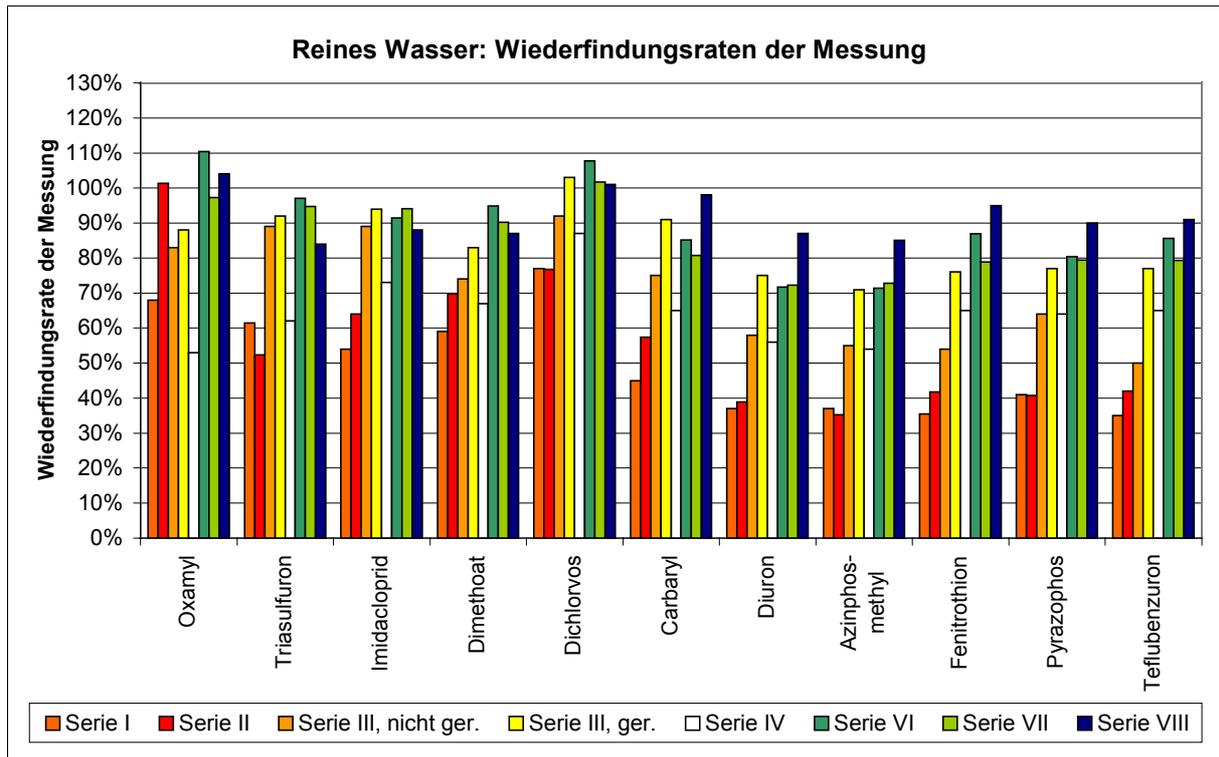


Abbildung 12.9: Im Laufe der Verfahrensentwicklung und Validierung ermittelte Wiederfindungsraten der Messung für reine Wasserproben (nähere Angaben siehe Text oben)

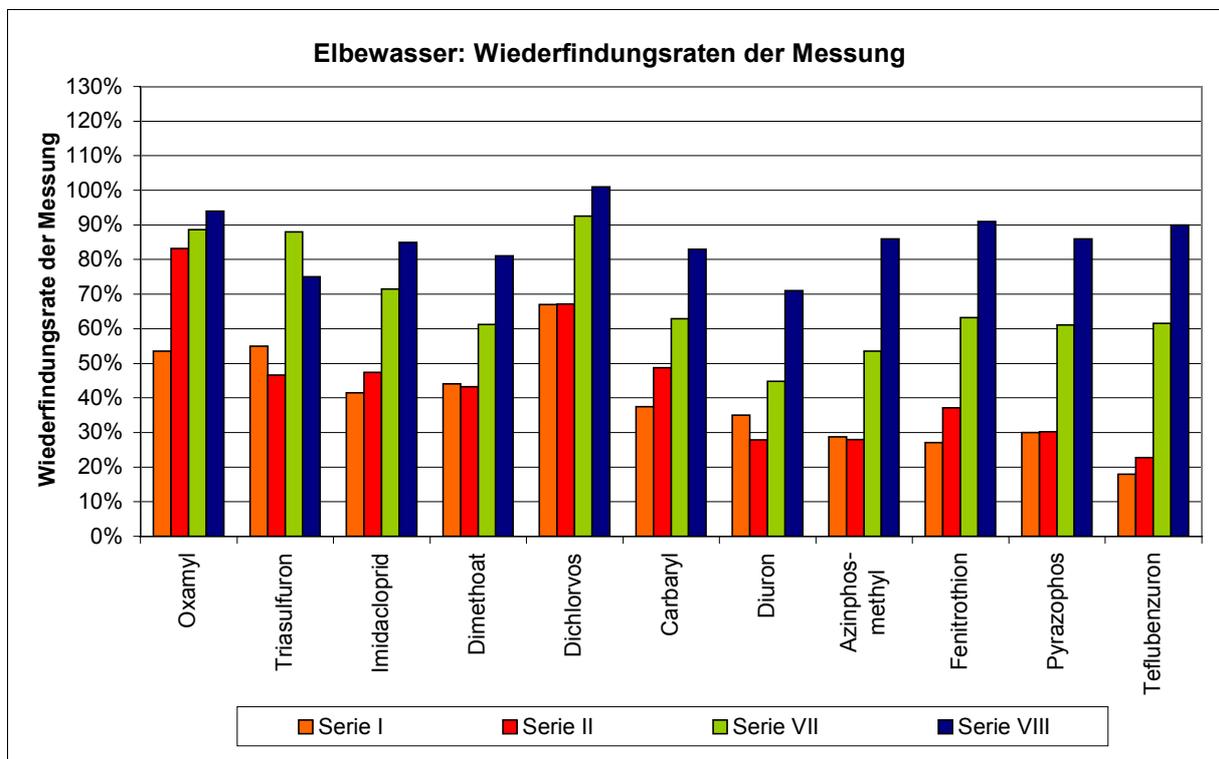


Abbildung 12.10: Im Laufe der Verfahrensentwicklung und Validierung ermittelte Wiederfindungsraten der Messung für Wasserproben der Elbe bei Geesthacht (nähere Angaben siehe Text oben)

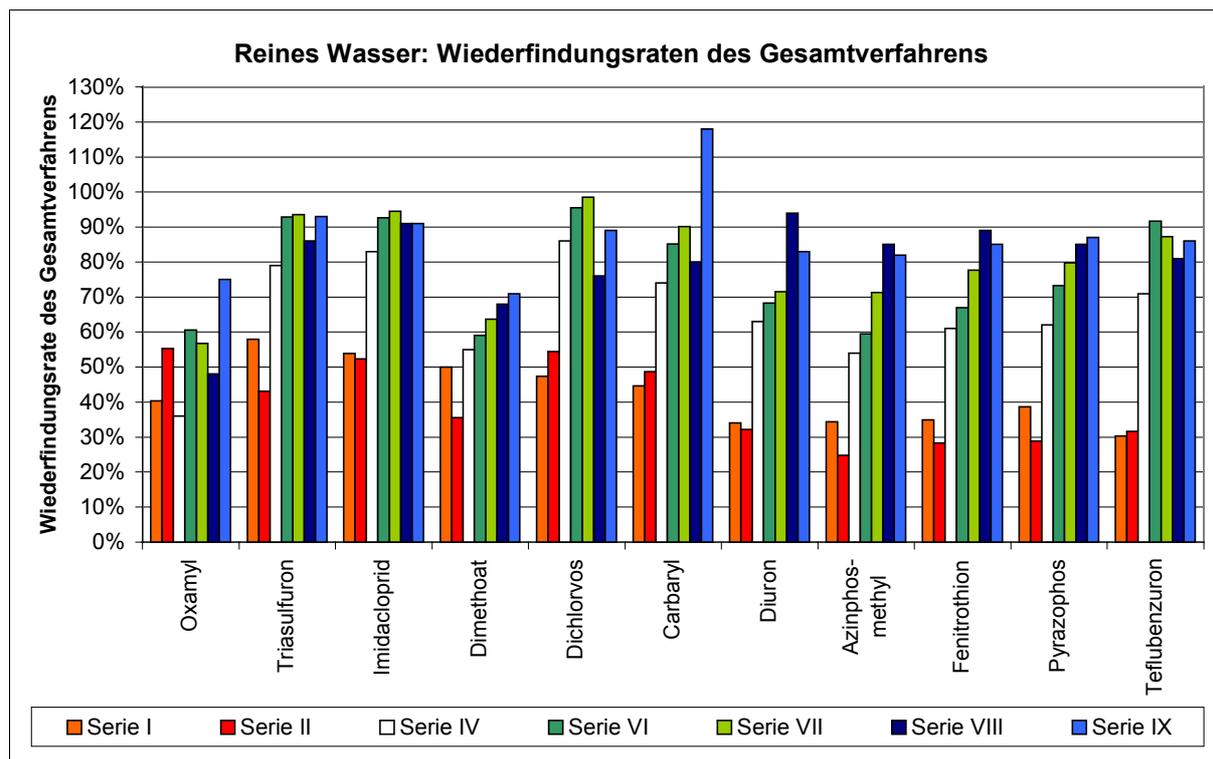


Abbildung 12.11: Im Laufe der Verfahrensentwicklung und Validierung ermittelte Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für reine Wasserproben (nähere Angaben siehe Text oben)

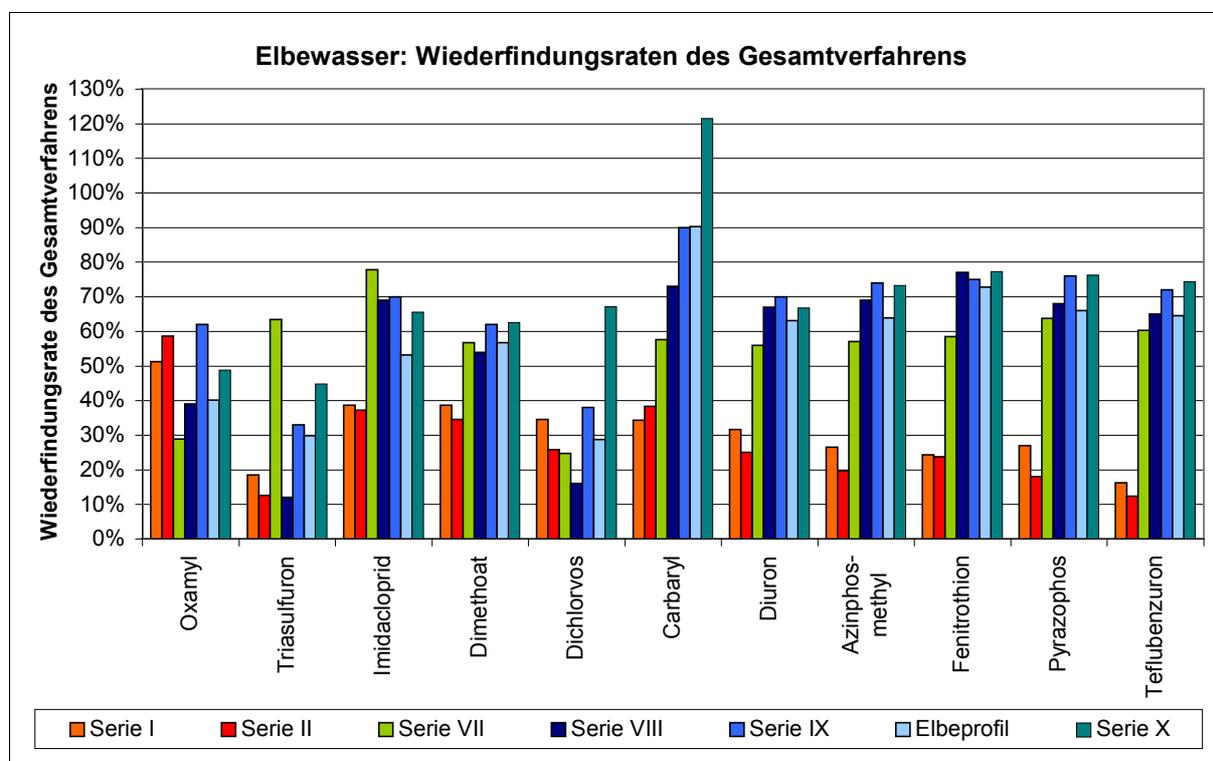


Abbildung 12.12: Im Laufe der Verfahrensentwicklung, Validierung und Untersuchung der Proben des Elbelängsprofils ermittelte Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für Wasserproben der Elbe bei Geesthacht (nähere Angaben siehe Text oben)

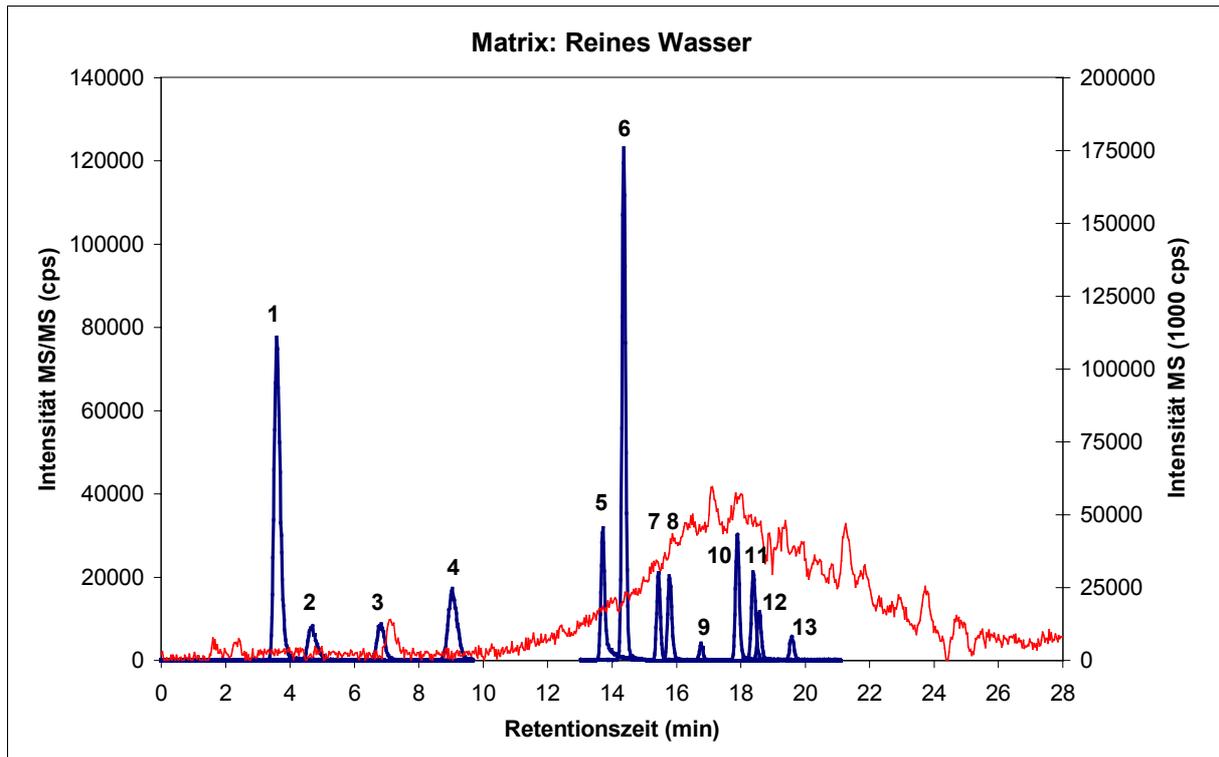


Abbildung 12.13: „full scan“-MS-Messung eines Extrakts aus der Anreicherung von reinem Wasser auf RP-C18 (Serie VII, rot)* und MS/MS-Messung einer Standardlösung (blau, fett)

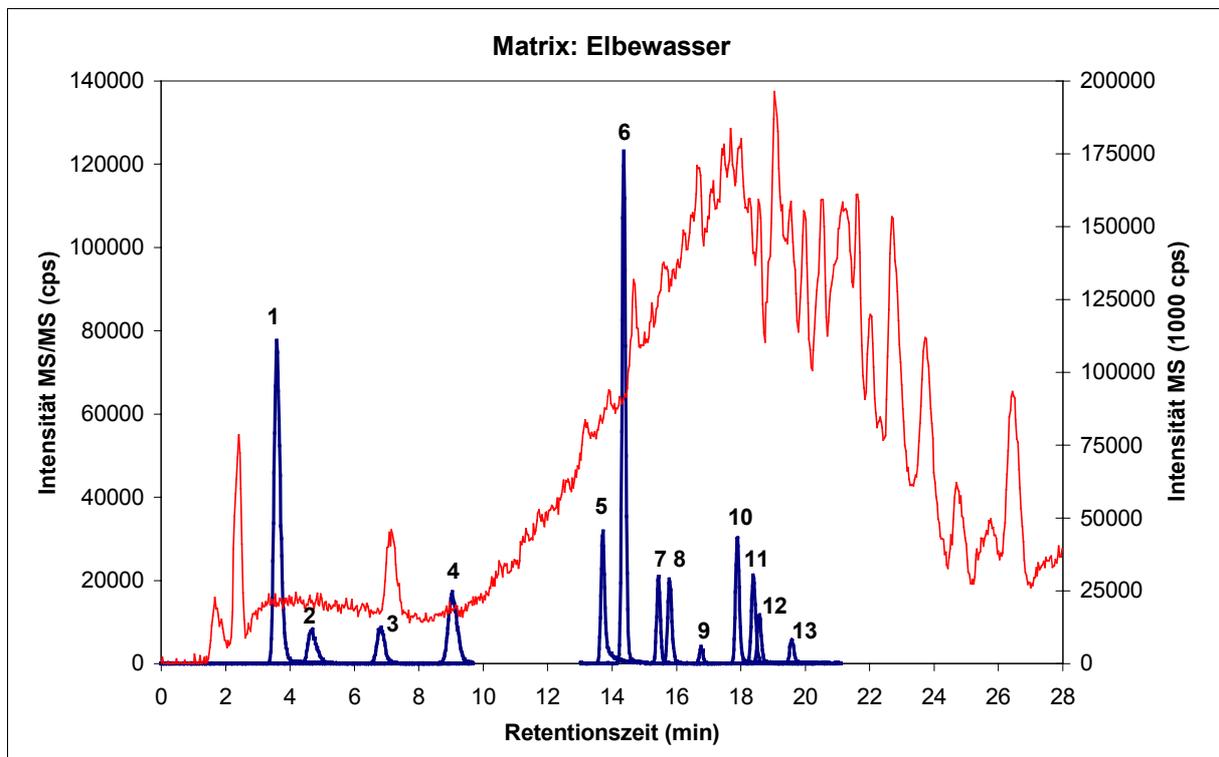


Abbildung 12.14: „full scan“-MS-Messung eines Extrakts aus der Anreicherung von Elbewasser auf RP-C18 (Serie VII, rot)* und MS/MS-Messung einer Standardlösung (blau, fett)

*„full scan“-MS-Messung einer Standardlösung als Untergrund subtrahiert

Elutionsreihenfolge: 1 = Oxamyl, 2 = Triasulfuron, 3 = Imidaclopid, 4 = Dimethoat, 5 = Dichlorvos, 6 = Carbaryl, 7 = Diuron, 8 = Azinphos-methyl, 9 = Fenitrothion, 10 = Fenthion, 11 = Pyrazophos, 12 = Disulfoton, 13 = Teflubenzuron

(30 - 90% MeOH, ... : s. Abschnitt 11.2.2.8, Tabelle 11.9 - Gradient 1, full scan 20 - 1000 amu)

Anhang IV: Konzentrationen der Aufstockungen für alle Serien und Konzentrationen in den Wasserproben für die Serien VIII, IX und X

Tabelle 12.1: Konzentrationen (ng/L) der Aufstockung für die Serien I bis VI und VII (Angabe als Konzentration in der Wasserprobe)

	Serie I bis VI (Mix A)	Serie VII (Mix B)		Serie I bis VI (Mix A)	Serie VII (Mix B)
Azinphos-methyl	3,0	7,8	Diuron	3,8	10,0
Dichlorvos	9,5	25,0	Teflubenzuron	26,4	64,9
Dimethoat	2,9	7,5	Triasulfuron	4,9	12,8
Disulfoton	3,9	10,1	Carbaryl	6,7	17,7
Fenitrothion	28,3	74,2	Oxamyl	9,7	25,5
Fenthion	6,0	15,7	Imidacloprid	7,8	20,4
Pyrazophos	1,0	2,6			

Tabelle 12.2: Konzentrationen (ng/L) in den Wasserproben der Elbe und Konzentrationen der Aufstockung für die Serien VIII, IX, X und das Elbelängsprofil (ELP)

	Serie VIII (Mix C)		Serie IX, X, ELP (Mix D)				
	Elbe	Aufstockung	Elbe Serie IX	Elbe Serie X	Aufstockung		
					low	medium	high
Atrazin	13,4	19,0	59,2	34,0	4,9	19,3	81,0
Atrazin-D5	-	-	-	-	15,9	15,9	15,9
Desethylatrazin	9,4	32,0	27,5	14,3	5,0	19,5	82,0
Desethylterbutylazin	12,0	32,0	6,1	3,1	4,9	19,4	81,3
Desisopropylatrazin	9,2	41,2	9,3	(5,4)	5,0	19,8	82,9
Irgarol	1,8	12,3	(0,9)	2,1	4,9	19,2	80,5
Propazin	3,0	26,7	3,2	(1,4)	5,2	20,5	85,8
Terbutylazin	16,2	22,0	12,3	6,1	4,9	19,5	81,7
Azinphos-methyl	n.n.	19,9	n.n.	n.n.	5,2	20,3	85,2
Diazinon	2,6	39,2	3,3	2,2	4,9	19,2	80,7
Diazinon-D10	-	-	-	-	20,3	20,3	20,3
Dichlorvos	n.n.	133	n.n.	n.n.	4,7	18,6	78,0
Dimethoat	2,6	19,4	2,4	1,01	5,0	19,6	82,2
Etrimfos	n.n.	19,9	n.n.	n.n.	5,0	19,8	82,9
Fenitrothion	n.n.	419	n.n.	n.n.	5,0	19,6	82,4
Mevinphos 1. Isomer	n.n.	7,2	n.n.	n.n.	1,3	4,9	20,7
Mevinphos 2. Isomer	n.n.	20,8	n.n.	n.n.	3,6	14,3	59,9
Mevinphos Summe	n.n.	28,0	n.n.	n.n.	4,9	19,2	80,6
Parathion-ethyl	n.n.	132	n.n.	n.n.	5,1	20,1	84,2
Parathion-methyl	n.n.	150	n.n.	n.n.	4,9	19,3	80,9
Pyrazophos	n.n.	7,2	n.n.	n.n.	4,7	18,5	77,8
Diuron	25,9	90,4	16,5	13,4	5,0	19,7	82,7
Teflubenzuron	n.n.	277	n.n.	n.n.	5,0	19,7	82,8
Triasulfuron	n.n.	167	n.n.	n.n.	4,7	18,7	78,4
Aldicarbulfon	n.n.	30,5	n.n.	n.n.	5,1	20,0	84,0
Carbaryl	n.n.	20,9	n.n.	n.n.	4,6	18,2	76,2
Oxamyl	n.n.	75,8	n.n.	n.n.	5,0	19,7	82,7
Alachlor	n.n.	31,1	n.n.	13,6	5,0	19,6	82,4
Bromacil	n.n.	30,3	n.n.	n.n.	4,8	19,1	80,1
Imidacloprid	(1,1)	114	(1,4)	(1,0)	4,8	18,8	78,7

Angaben in Klammern: Konzentration in der Elbe < BG

Anhang V: Chromatogramme von Einzelsubstanz-Injektionen von Atrazin, Atrazin-D5, Diazinon und Diazinon-D10

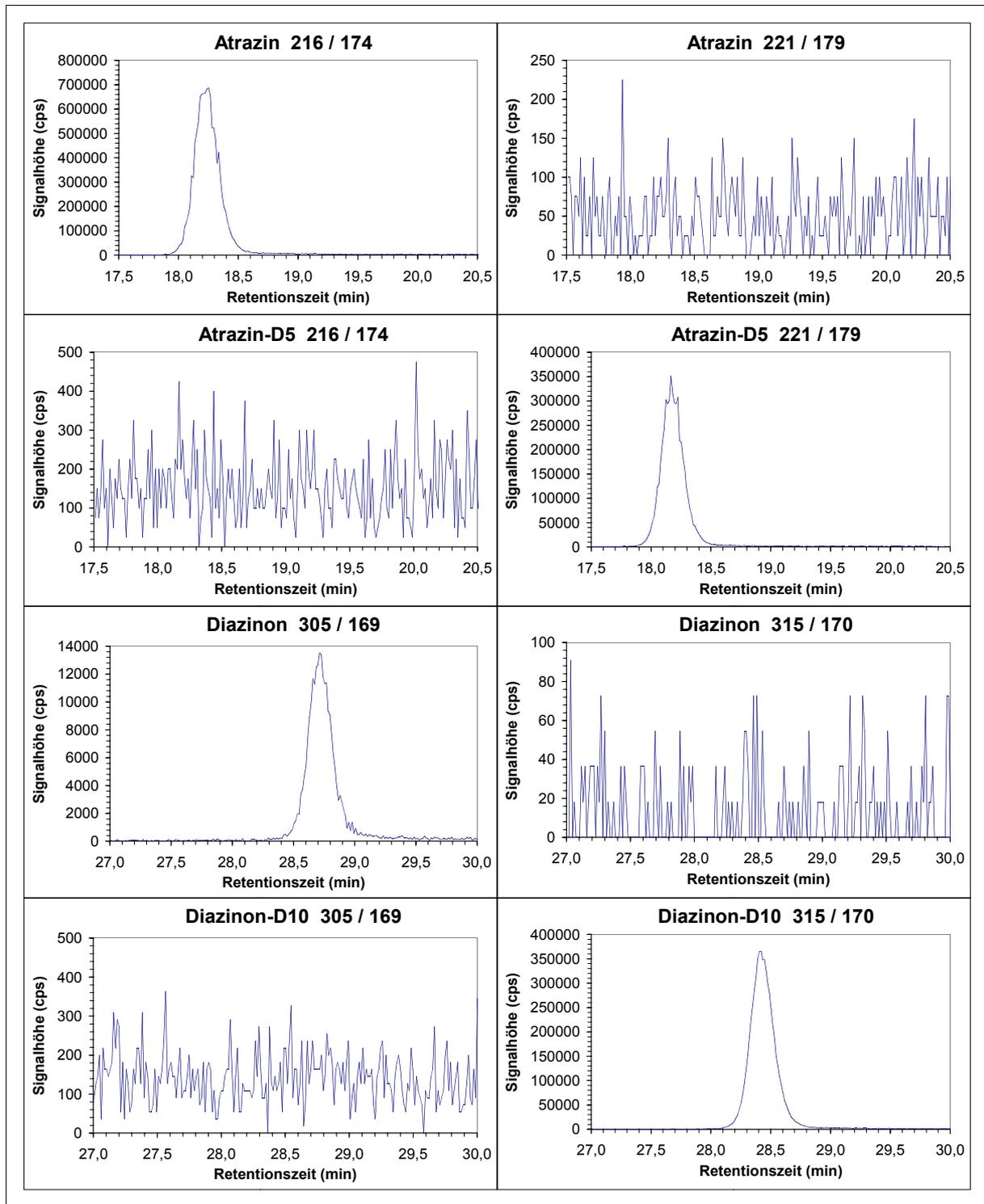


Abbildung 12.15 : Chromatogramme der Einzelsubstanz-Injektionen von Atrazin und Diazinon (injizierte Masse jeweils ca. 6 ng), Atrazin-D5 und Diazinon-D10 (injizierte Masse jeweils ca. 1 ng) Exp. Bedingungen: optimiertes Verfahren (siehe Abschnitt 11.2.1)

Anhang VI: Nachweis- und Bestimmungsgrenzen des Gesamtverfahrens für den 2. Massenübergang

Tabelle 12.3: Nachweisgrenzen (NG) und Bestimmungsgrenzen (BG) des Gesamtverfahrens für den 2. Massenübergang (ermittelt anhand von Wasserproben aus der Elbe, S/N = 3 bzw. 10)

	NG (ng/L)	BG (ng/L)		NG (ng/L)	BG (ng/L)
<u>Triazinderivate und deren Metabolite</u>					
Atrazin	0,8	2,7	Irgarol	1,0	3,3
Desethylatrazin	3,0	10	Propazin	1,0	3,3
Desethylterbuthylazin	0,7 (0,9)	2,3 (3,0)	Terbuthylazin	1,0	3,3
Desisopropylatrazin	3,0	10			
<u>Phosphorsäureester</u>					
Azinphos-methyl	0,6	2,0	Mevinphos (1. Isomer)	0,8	2,6
Diazinon	0,5	1,7	Mevinphos (2. Isomer)	0,8	2,6
Dichlorvos *	8	-	Parathion-ethyl	6,0	20
Dimethoat	1,0	3,3	Parathion-methyl	30	100
Etrimfos	0,6	2,0	Pyrazophos	0,3	1,0
Fenitrothion	30	100			
<u>Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige</u>					
Diuron	2,0	6,6	Oxamyl *	1	-
Triasulfuron *	2	-	Alachlor	4,0	13
Teflubenzuron	4,0	13	Bromacil	3,0	10
Aldicarb-sulfon *	4 (5)	-	Imidacloprid	3,5	12
Carbaryl *	0,5 (1)	-			

* Substanzen für die aufgrund der geringen Reproduzierbarkeit nur halbquantitative Angaben gemacht werden – keine Angabe einer Bestimmungsgrenze
Angaben in Klammern: Werte für den 3. Massenübergang

Anhang VII: Elbelängsprofil - Probennahmestellen

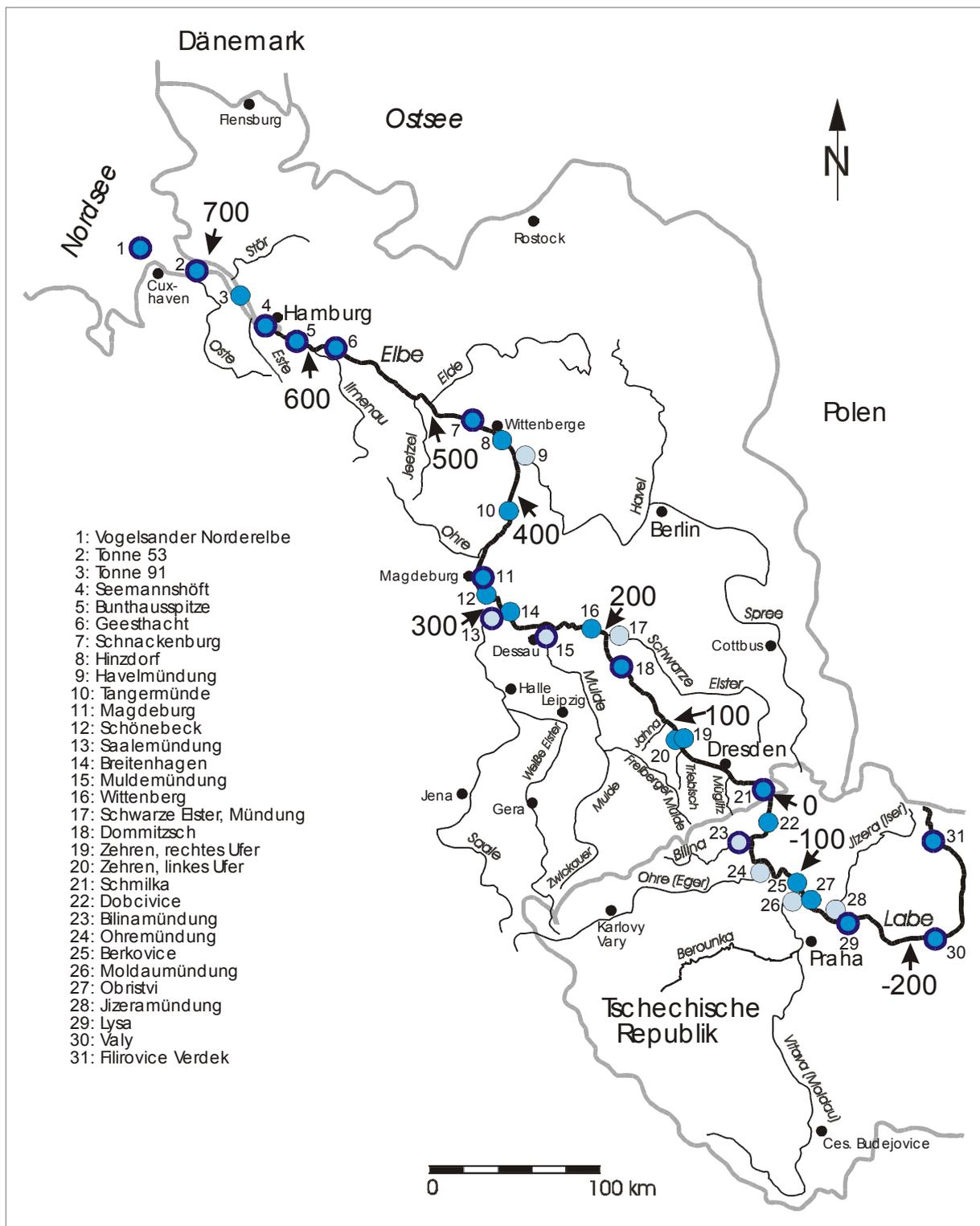


Abbildung 12.16: Verlauf der Elbe mit Markierung der Probennahmestellen

dunkle Punkte: Elbe

helle Punkte: Nebenflüsse, kurz vor der Einmündung in die Elbe

dunkel umrandete Punkte: Wasserproben, die zusätzlich mit Standardaufstockung zur Ermittlung der Wiederfindungsraten untersucht wurden

Anhang VIII: Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens in den Wasserproben des Elbelängsprofils

Tabelle 12.4: Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für die Wasserproben des Elbelängsprofils (vergl. Abschnitt 7.3.1)

	Atrazin	Desethyl- atrazin	Desethyl- terbuthyl- atrazin	Desiso- propyl- atrazin	Irgarol	Propazin	Terbuthyl- atrazin
Vogels. Norderelbe	78%	69%	68%	54%	53%	73%	71%
Tonne 53	82%	67%	69%	45%	50%	77%	83%
Seemannshöft	78%	65%	66%	41%	59%	74%	68%
Bunthaus spitze	71%	63%	65%	44%	47%	70%	67%
Geesthacht	75%	61%	66%	41%	55%	72%	68%
Schnackenburg	79%	69%	67%	43%	58%	75%	70%
Magdeburg	80%	64%	64%	40%	49%	68%	64%
Saalemündung	76%	62%	65%	42%	53%	69%	67%
Muldemündung	78%	57%	62%	39%	47%	72%	70%
Dommitzsch	73%	59%	65%	45%	36%	74%	69%
Schmilka	69%	58%	64%	44%	60%	73%	69%
Bilinamündung	66%	55%	55%	29%	52%	61%	50%
Lysa	81%	66%	67%	46%	62%	71%	71%
Valy	98%	70%	71%	48%	58%	77%	77%
Filirovice Verdek	70%	53%	63%	46%	47%	70%	69%
Mittelwert (ohne Bilina)	78%	63%	66%	44%	52%	73%	70%
RSD (ohne Bilina)	9,0%	8,1%	3,8%	8,6%	13,2%	3,6%	6,6%

	Azinphos- methyl	Diazinon	Dichlor- vos	Dimethoat	Etrifos	Fenitro- thion
Vogels. Norderelbe	63%	78%	42%	59%	80%	67%
Tonne 53	69%	87%	63%	60%	91%	80%
Seemannshöft	66%	84%	54%	58%	87%	82%
Bunthaus spitze	64%	76%	39%	58%	80%	75%
Geesthacht	64%	79%	29%	57%	82%	73%
Schnackenburg	64%	86%	18%	58%	89%	79%
Magdeburg	64%	74%	39%	55%	75%	64%
Saalemündung	63%	78%	42%	56%	81%	76%
Muldemündung	65%	87%	71%	60%	91%	78%
Dommitzsch	65%	82%	66%	58%	86%	73%
Schmilka	64%	86%	68%	60%	88%	76%
Bilinamündung	55%	68%	58%	51%	78%	61%
Lysa	68%	85%	71%	59%	88%	77%
Valy	70%	91%	77%	64%	94%	75%
Filirovice Verdek	66%	83%	72%	58%	85%	78%
Mittelwert (ohne Bilina)	65%	83%	54%	59%	86%	75%
RSD (ohne Bilina)	3,5%	6,1%	34,6%	3,4%	6,1%	6,6%

grau unterlegt: Flussmündungen

Tabelle 12.4 Forts.: Wiederfindungsraten des Gesamtverfahrens für die Wasserproben des Elbelängsprofils (vergl. Abschnitt 7.3.1)

	Mevinphos 1. Isomer	Mevinphos 2. Isomer	Parathion-ethyl	Parathion-methyl	Pyrazophos	Diuron	Teflubenzuron
Vogels. Norderelbe	60%	64%	49%	72%	61%	65%	59%
Tonne 53	72%	73%	57%	84%	70%	70%	72%
Seemannshöft	66%	66%	56%	79%	69%	64%	72%
Bunthauspitze	55%	57%	50%	76%	67%	64%	68%
Geesthacht	56%	56%	51%	80%	66%	63%	65%
Schnackenburg	50%	54%	52%	76%	67%	65%	54%
Magdeburg	52%	57%	53%	65%	66%	60%	66%
Saalemündung	61%	65%	43%	72%	59%	60%	54%
Muldemündung	72%	70%	57%	83%	70%	63%	78%
Dommitzsch	66%	68%	56%	77%	69%	64%	73%
Schmilka	73%	70%	57%	78%	70%	68%	75%
Bilinamündung	73%	67%	47%	62%	53%	48%	63%
Lysa	68%	71%	61%	75%	71%	65%	75%
Valy	74%	76%	61%	82%	74%	69%	76%
Filirovice Verdek	68%	68%	62%	88%	70%	64%	75%
Mittelwert (ohne Bilina)	64%	65%	55%	78%	68%	65%	69%
RSD (ohne Bilina)	12,7%	10,6%	9,5%	7,5%	5,9%	4,3%	11,8%

	Triasulfuron	Aldicarb-sulfon	Carbaryl	Oxamyl	Alachlor	Bromacil	Imidacloprid
Vogels. Norderelbe	17%	19%	96%	27%	77%	72%	55%
Tonne 53	37%	22%	103%	35%	85%	70%	58%
Seemannshöft	30%	26%	101%	47%	81%	69%	59%
Bunthauspitze	27%	26%	95%	48%	77%	65%	54%
Geesthacht	30%	26%	90%	40%	81%	65%	53%
Schnackenburg	25%	25%	94%	40%	83%	64%	55%
Magdeburg	19%	25%	94%	43%	75%	65%	52%
Saalemündung	13%	27%	97%	44%	77%	65%	55%
Muldemündung	40%	24%	101%	44%	83%	68%	50%
Dommitzsch	38%	33%	102%	55%	80%	68%	54%
Schmilka	39%	35%	102%	57%	83%	68%	56%
Bilinamündung	27%	18%	88%	25%	70%	57%	43%
Lysa	29%	32%	104%	54%	81%	70%	53%
Valy	35%	37%	112%	59%	88%	74%	59%
Filirovice Verdek	41%	39%	101%	58%	79%	68%	54%
Mittelwert (ohne Bilina)	30%	28%	99%	47%	81%	68%	55%
RSD (ohne Bilina)	30,6%	20,9%	5,4%	20,3%	4,4%	4,0%	4,8%

grau unterlegt: Flussmündungen

Anhang IX: Konzentrationen in den Wasserproben des Elbelängsprofils

Tabelle 12.5: Konzentrationen (ng/L) in den Wasserproben des Elbelängsprofils für Substanzen mit Positivbefunden (vergl. Abschnitt 7.4.1)

	Atrazin	Desethyl- atrazin	Desethyl- terbuthyl- atrazin	Desiso- propyl- atrazin	Irgarol	Propazin	Terbuthyl- atrazin
Vogelsander Norderelbe	7,1	3,5	1,9	n.n.	< BG	n.n.	3,5
Tonne 53	45	13	9,2	7,7	5,4	< BG	22
Tonne 91	83	33	9,4	12	5,0	2,3	25
Seemannshöft	52	24	5,5	8,7	2,6	< BG	14
Bunthaus Spitze	55	25	4,7	9,4	2,6	< BG	12
Geesthacht Strommitte	59	28	5,1	9,6	1,9	< BG	12
Schnackenburg, rechtes Ufer	48	24	4,8	8,0	1,6	< BG	10
Hinzdorf, rechtes Ufer	41	20	4,6	< BG	2,1	< BG	10
Havelmündung	14	5,2	4,8	< BG	7,1	< BG	7,9
Tangermünde, linkes Ufer	45	23	4,3	8,2	1,8	< BG	10
Magdeburg, linkes Ufer	39	20	4,0	< BG	2,6	< BG	9,6
Schönebeck, linkes Ufer	40	19	4,2	8,2	3,2	2,0	11
Saalemündung	7,8	6,4	3,6	7,8	8,9	2,4	8,1
Breitenhagen, linkes Ufer	54	23	4,8	8,6	< BG	< BG	12
Muldemündung	8,1	4,7	11	11*	1,7	5,6	33
Wittenberg, rechtes Ufer	62	25	3,6	8,6	< BG	< BG	9,1
Schwarze Elster, Mündung	< BG	< BG	2,0	< BG	< BG	n.n.	6,5
Dommitzsch, linkes Ufer	61	27	3,4	7,6	< BG	< BG	7,3
Zehren, rechtes Ufer	56	27	3,6	8,8	1,9	< BG	7,8
Zehren, linkes Ufer	56	26	3,6	8,3	1,4	< BG	8,1
Schmilka, linkes Ufer	68	27	3,6	7,7	< BG	< BG	10
Dobcivice, linkes Ufer	63	26	3,2	8,0	< BG	< BG	6,7
Bilinamündung	84	19	9,3	19*	3,3	< BG	130
Ohremündung	26	12	2,7	< BG	< BG	< BG	2,9
Berkovice, linkes Ufer	73	32	2,5	10	< BG	< BG	3,2
Moldaumündung	72	33	2,3	9,8	< BG	< BG	2,6
Obristvi	56	27	2,8	< BG*	n.n.	< BG	4,5
Jizeramündung	47	22	2,4	< BG	n.n.	< BG	17
Lysa	45	24	2,5	< BG*	n.n.	< BG	3,9
Valy	62	27	2,2	7,4	< BG	< BG	2,4
Filirovice Verdek	36	35	1,6	< BG	n.n.	< BG	< BG
NG (ng/L)	0,6	0,6	0,3	2,2	0,4	0,6	0,4
BG (ng/L)	2,0	2,0	1,0	7,3	1,3	2,0	1,3
Bilinamündung: NG (ng/L)	0,8	1,1	0,3	4,0	0,4	0,8	1,0
Bilinamündung: BG (ng/L)	2,6	3,6	1,0	13	1,3	2,6	3,3
Erw. Messunsicherheit (k = 2)							

NG: Nachweisgrenze, BG: Bestimmungsgrenze

n.n.: nicht nachweisbar (< NG für 1. Massenübergang)

Konzentrationsangaben in Klammern: halbquantitative Angaben, grau unterlegt: Flussmündungen

* Desisopropylatrazin – Wasserproben, bei denen die NG und BG anhand des 2. Massenübergangs ermittelt wurde, da der 1. Massenübergang ein Störpeak nahe dem Analyten aufwies (NG 3,0 ng/L, BG 10 ng/L für Muldemündung, Obristvi, Lysa; NG / BG für Bilinamündung siehe Tabelle)

Tabelle 12.5 Forts.: Konzentrationen (ng/L) in den Wasserproben des Elbelängsprofils für Substanzen mit Positivbefunden (vergl. Abschnitt 7.4.1)

	Diazi- non	Dime- thoat	Diuron	Alachlor	Bromacil	Imidaclo- prid
Vogelsander Norderelbe	n.n.	n.n.	13	n.n.	n.n.	n.n.
Tonne 53	< BG	< BG	50	n.n.	n.n.	< BG
Tonne 91	2,9	2,5	42	n.n.	n.n.	< BG
Seemannhöft	2,8	1,3	32	n.n.	n.n.	< BG
Bunthauspitze	3,2	< BG	16	n.n.	n.n.	< BG
Geesthacht Strommitte	2,9	< BG	13	n.n.	n.n.	< BG
Schnackenburg, rechtes Ufer	2,7	0,8	12	n.n.	n.n.	< BG
Hinzdorf, rechtes Ufer	2,7	1,1	13	n.n.	n.n.	< BG
Havelmündung	n.n.	n.n.	31	n.n.	n.n.	n.n.
Tangermünde, linkes Ufer	3,8	2,0	9,6	n.n.	n.n.	< BG
Magdeburg, linkes Ufer	3,5	3,1	13	n.n.	n.n.	< BG
Schönebeck, linkes Ufer	4,2	3,4	13	n.n.	n.n.	< BG
Saalemündung	3,7	1,8	26	n.n.	n.n.	< BG
Breitenhagen, linkes Ufer	4,8	5,7	11	n.n.	n.n.	< BG
Muldemündung	< BG	76	31	n.n.	n.n.	< BG
Wittenberg, rechtes Ufer	8,5	< BG	< BG	< BG	n.n.	n.n.
Schwarze Elster, Mündung	n.n.	n.n.	8,8	n.n.	n.n.	n.n.
Dommitzsch, linkes Ufer	6,6	< BG	< BG	< BG	n.n.	n.n.
Zehren, rechtes Ufer	6,8	1,3	21	< BG	< BG	< BG
Zehren, linkes Ufer	6,5	1,0	21	< BG	< BG	< BG
Schmilka, linkes Ufer	12	< BG	< BG	< BG	n.n.	n.n.
Dobcivice, linkes Ufer	8,0	< BG	< BG	< BG	< BG	n.n.
Bilinamündung	29	< BG	< BG	< BG	n.n.	n.n.
Ohremündung	10	n.n.	< BG	< BG	< BG	< BG
Berkovice, linkes Ufer	5,9	< BG	< BG	< BG	n.n.	n.n.
Moldaumündung	6,2	< BG	< BG	< BG	n.n.	n.n.
Obristvi	4,4	n.n.	< BG	< BG	n.n.	n.n.
Jizeramündung	8,0	n.n.	< BG	3200*	n.n.	n.n.
Lysa	6,3	n.n.	n.n.	< BG	n.n.	2,6
Valy	4,4	3,4	n.n.	< BG	n.n.	n.n.
Filirovice Verdek	2,9	n.n.	n.n.	< BG	n.n.	n.n.
NG (ng/L)	0,5	0,2	2,0	1,5	1,5	0,6
BG (ng/L)	1,7	0,7	6,6	5,0	5,0	2,0
Bilinamündung: NG (ng/L)	0,5	0,2	2,0	1,5	1,5	1,1
Bilinamündung: BG (ng/L)	1,7	0,7	6,6	5,0	5,0	3,6
Erw. Messunsicherheit (k = 2)						

NG: Nachweisgrenze, BG: Bestimmungsgrenze

n.n.: nicht nachweisbar (< NG für 1. Massenübergang)

Konzentrationsangaben in Klammern: halbquantitative Angaben, grau unterlegt: Flussmündungen

* stark erhöhter Befund von Alachlor in der Jizeramündung, außerhalb des Messbereiches des Analysenverfahrens

Anhang X: Elbelängsprofil - Absicherung der Positivbefunde durch Auswertung des 2. Massenübergangs

Tabelle 12.6: Konzentrationen (ng/L) in den Wasserproben des Elbelängsprofils, ermittelt anhand des 2. Massenübergangs, und Angabe der Abweichung von den anhand des 1. Massenübergangs ermittelten Ergebnissen (vergl. Abschnitt 7.5.1)

	Desethylatrazin		Desethylterbuthylazin (204 / 148)		Desethylterbuthylazin (202 / 104)	
	Konz. (ng/L)	Abwei- chung	Konz. (ng/L)	Abwei- chung	Konz. (ng/L)	Abwei- chung
Vogelsander Norderelbe	< BG	(12%)	< BG	(- 2%)	< BG	(1%)
Tonne 53	14	5,1%	9,4	1,7%	9,3	0,9%
Tonne 91	33	0,4%	9,4	0,7%	9,4	0,9%
Seemannshöft	24	3,5%	5,8	3,7%	5,5	-0,9%
Bunthaus Spitze	26	1,6%	4,6	-2,4%	4,6	-1,7%
Geesthacht Strommitte	27	-0,8%	5,0	-1,0%	5,3	3,8%
Schnackenburg, rechtes Ufer	24	0,1%	4,9	0,9%	4,8	-0,1%
Hinzdorf, rechtes Ufer	20	-1,8%	4,7	3,4%	4,4	-3,8%
Havelmündung	< BG	(0,1%)	4,8	-1,3%	5,0	3,4%
Tangermünde, linkes Ufer	22	-3,6%	4,5	3,2%	4,4	2,5%
Magdeburg, linkes Ufer	20	0,5%	4,1	3,8%	3,9	-1,7%
Schönebeck, linkes Ufer	21	8,4%	4,3	1,6%	4,4	5,8%
Saalemündung	< BG	(11%)	3,7	3,0%	3,7	3,6%
Breitenhagen, linkes Ufer	24	5,6%	4,6	-3,2%	4,7	-0,4%
Muldemündung	< BG	(6%)	11,1	-0,5%	11,2	0,7%
Wittenberg, rechtes Ufer	26	3,2%	3,7	2,6%	3,8	5,4%
Schwarze Elster, Mündung	n.n.		< BG	(5%)	< BG	(2%)
Dommitzsch, linkes Ufer	28	1,9%	3,6	4,9%	3,5	2,5%
Zehren, rechtes Ufer	27	0,9%	3,6	-0,7%	3,4	-3,5%
Zehren, linkes Ufer	27	0,9%	3,5	-1,6%	3,5	-3,5%
Schmilka, linkes Ufer	28	3,2%	3,7	2,7%	3,6	0,0%
Dobcivice, linkes Ufer	26	2,6%	3,3	4,2%	3,0	-5,6%
Bilinamündung	20	2,1%	10,1	8,9%	9,6	3,3%
Ohremündung	12	0,8%	2,6	-2,8%	< BG	(1%)
Berkovice, linkes Ufer	33	1,7%	2,5	1,0%	< BG	(7%)
Moldaumündung	33	-0,6%	2,4	4,6%	< BG	(2%)
Obristvi	29	7,8%	3,0	4,9%	< BG	(3%)
Jizeramündung	24	10%	2,6	6,5%	< BG	(3%)
Lysa	26	6,2%	2,5	2,2%	< BG	(6%)
Valy	29	6,4%	< BG	(- 1%)	< BG	(- 1%)
Filirovice Verdek	36	2,7%	< BG	(- 4%)	< BG	(0%)
Nachweisgrenzen (ng/L)	3,0		0,7		0,9	
Bestimmungsgrenze (ng/L)	10		2,3		3,0	

Angabe der Abweichung in Klammern für Positivbefunde unterhalb der BG 2. Massenübergangs
grau unterlegt: Flussmündungen

Tabelle 12.6 Forts.: Konzentrationen (ng/L) in den Wasserproben des Elbelängsprofils, ermittelt anhand des 2. Massenübergangs, und Angabe der Abweichung von den anhand des 1. Massenübergangs ermittelten Ergebnissen (vergl. Abschnitt 7.5.1)

	Desisopropylatrazin		Atrazin		Irgarol	
	Konz. (ng/L)	Abweichung	Konz. (ng/L)	Abweichung	Konz. (ng/L)	Abweichung
Vogelsander Norderelbe	n.n.		7,3	2,2%	< BG	(5%)
Tonne 53	< BG	(- 6%)	43,9	-1,5%	5,6	3,2%
Tonne 91	12	- 1,2%	82,3	-1,2%	5,1	2,4%
Seemannshöft	< BG	(- 6,6%)	51,3	-1,6%	< BG	(12%)
Bunthaus Spitze	< BG	(1%)	54,4	-1,8%	< BG	(6%)
Geesthacht Strommitte	< BG	(- 11%)	56,9	-3,4%	< BG	(6%)
Schnackenburg, rechtes Ufer	< BG	(- 8%)	46,5	-4,8%	< BG	(- 1%)
Hinzdorf, rechtes Ufer	< BG	(- 1%)	40,2	-2,9%	< BG	(2%)
Havelmündung	< BG	(- 7%)	13,0	-6,2%	6,8	-4,0%
Tangermünde, linkes Ufer	< BG	(- 7%)	45,6	0,5%	< BG	(11%)
Magdeburg, linkes Ufer	< BG	(- 2%)	37,9	-2,0%	< BG	(0%)
Schönebeck, linkes Ufer	< BG	(- 17%)	40,9	3,1%	< BG	(3%)
Saalemündung	< BG	(- 10%)	7,8	-0,4%	9,1	3,0%
Breitenhagen, linkes Ufer	< BG	(- 15%)	54,4	0,6%	n.n.	
Muldemündung	10	- 4,9%	8,2	1,2%	< BG	(5%)
Wittenberg, rechtes Ufer	< BG	(- 9%)	63,5	2,7%	n.n.	
Schwarze Elster, Mündung	n.n.		< BG	(-3%)	n.n.	
Dommitzsch, linkes Ufer	< BG	(6%)	60,0	-2,1%	n.n.	
Zehren, rechtes Ufer	< BG	(- 4%)	57,1	1,2%	< BG	(5%)
Zehren, linkes Ufer	< BG	(2%)	56,8	1,9%	< BG	(14%)
Schmilka, linkes Ufer	< BG	(1%)	67,1	-1,2%	< BG	(16%)
Dobcivice, linkes Ufer	< BG	(- 1%)	62,1	-0,8%	n.n.	
Bilinamündung	16	- 12%	91,3	8,3%	3,7	9,8%
Ohremündung	< BG	(- 2%)	26,0	0,2%	< BG	(1%)
Berkovice, linkes Ufer	< BG	(- 7%)	71,9	-1,7%	n.n.	
Moldaumündung	< BG	(1%)	71,3	-1,2%	n.n.	
Obristvi	< BG	(- 14%)	56,4	0,0%	n.n.	
Jizeramündung	< BG	(- 8%)	45,9	-2,9%	n.n.	
Lysa	< BG	(- 13%)	45,9	3,2%	n.n.	
Valy	< BG	(- 3%)	63,2	2,6%	n.n.	
Filirovice Verdek	< BG	(- 3%)	36,4	2,1%	n.n.	
Nachweisgrenzen (ng/L)	3,0		0,8		1,0	
Bestimmungsgrenze (ng/L)	10		2,7		3,3	

Angabe der Abweichung in Klammern für Positivbefunde unterhalb der BG 2. Massenübergangs grau unterlegt: Flussmündungen

Tabelle 12.6 Forts.: Konzentrationen (ng/L) in den Wasserproben des Elbelängsprofils, ermittelt anhand des 2. Massenübergangs, und Angabe der Abweichung von den anhand des 1. Massenübergangs ermittelten Ergebnissen (vergl. Abschnitt 7.5.1)

	Terbutylazin		Diazinon		Diuron	
	Konz. (ng/L)	Abweichung	Konz. (ng/L)	Abweichung	Konz. (ng/L)	Abweichung
Vogelsander Norderelbe	3,6	5,0%	n.n.		14	4,1%
Tonne 53	22,4	1,7%	< BG	(- 3%)	51	2,1%
Tonne 91	26,0	2,6%	2,7	-4,0%	42	-0,5%
Seemannshöft	14,4	0,8%	2,7	-1,2%	32	-0,2%
Bunthaus Spitze	11,9	0,7%	2,8	-13%	16	0,8%
Geesthacht Strommitte	12,2	2,6%	3,0	5,2%	13	-3,9%
Schnackenburg, rechtes Ufer	10,7	2,7%	2,8	3,2%	11	-7,3%
Hinzdorf, rechtes Ufer	9,9	-0,2%	2,7	-0,6%	12	-4,8%
Havelmündung	8,0	2,5%	n.n.		31	-1,4%
Tangermünde, linkes Ufer	10,6	2,4%	3,7	-1,0%	8,8	-8,4%
Magdeburg, linkes Ufer	10,1	5,2%	3,5	0,2%	12	-7,3%
Schönebeck, linkes Ufer	10,7	1,1%	4,2	1,8%	13	0,9%
Saalemündung	8,4	4,1%	3,7	-1,0%	25	-2,5%
Breitenhagen, linkes Ufer	12,1	-0,5%	4,8	0,0%	11	0,6%
Muldemündung	33,3	-0,3%	< BG	(2%)	31	-0,8%
Wittenberg, rechtes Ufer	9,1	0,8%	8,5	0,7%	< BG	(- 2%)
Schwarze Elster, Mündung	6,4	-0,8%	n.n.		8,4	-4,8%
Dommitzsch, linkes Ufer	7,5	1,7%	6,7	2,2%	< BG	(- 6%)
Zehren, rechtes Ufer	8,0	2,7%	6,9	1,8%	20	-6,2%
Zehren, linkes Ufer	8,2	1,2%	6,5	0,1%	21	-0,9%
Schmilka, linkes Ufer	10,0	-0,4%	12	-0,5%	< BG	(- 1%)
Dobcivice, linkes Ufer	6,8	1,7%	8,2	1,8%	< BG	(7%)
Bilinamündung	119	-5,2%	28	-3,5%	< BG	(0%)
Ohremündung	< BG	(4%)	10	-1,8%	< BG	(3%)
Berkovice, linkes Ufer	< BG	(- 1%)	5,7	-3,1%	< BG	(- 2%)
Moldaumündung	< BG	(1%)	6,0	-3,4%	< BG	(7%)
Obristvi	4,5	0,0%	4,5	1,1%	< BG	(- 7%)
Jizeramündung	17,3	0,6%	8,0	-0,4%	< BG	(- 1%)
Lysa	3,9	1,2%	6,2	-2,1%	n.n.	
Valy	< BG	(7%)	4,4	0,2%	n.n.	
Filirovice Verdek	< BG	(3%)	2,9	-0,2%	n.n.	
Nachweisgrenzen (ng/L)	1,0		0,5		2,0	
Bestimmungsgrenze (ng/L)	3,3		1,7		6,6	

Angabe der Abweichung in Klammern für Positivbefunde unterhalb der BG 2. Massenübergangs
grau unterlegt: Flussmündungen

Tabelle 12.7: Wasserproben des Elbelängsprofils - Absicherung kleiner Positivbefunde durch Auswertung des 2. Massenübergangs: Angaben über Art des Befunds mit dem 2. Massenübergang und bei Befunden > BG Angabe der ungefähren Abweichung vom Ergebnis, das anhand des 1. Massenübergangs ermittelt wurde (vergl. Abschnitt 7.5.1)

	Propazin	Dimethoat	Alachlor	Bromacil	Imidacloprid
Vogelsander Norderelbe					
Tonne 53	< BG	n.n.			n.n.
Tonne 91	(- 11%)	< BG			n.n.
Seemannshöft	< BG	< BG			n.n.
Bunthaus Spitze	< BG	n.n.			n.n.
Geesthacht Strommitte	< BG	n.n.			n.n.
Schnackenburg, rechtes Ufer	< BG	< BG			n.n.
Hinzdorf, rechtes Ufer	< BG	< BG			n.n.
Havelmündung	< BG				
Tangermünde, linkes Ufer	< BG	< BG			n.n.
Magdeburg, linkes Ufer	< BG	(14%)			n.n.
Schönebeck, linkes Ufer	< BG	(9%)			n.n.
Saalemündung	(- 5%)	< BG			n.n.
Breitenhagen, linkes Ufer	< BG	(2%)			n.n.
Muldemündung	(-27%)	s. Anmerkung			n.n.
Wittenberg, rechtes Ufer	< BG	< BG	n.n.		
Schwarze Elster, Mündung					
Dommitzsch, linkes Ufer	< BG	n.n.	< BG		
Zehren, rechtes Ufer	< BG	< BG	< BG	n.n.	n.n.
Zehren, linkes Ufer	< BG	< BG	< BG	n.n.	n.n.
Schmilka, linkes Ufer	< BG	n.n.	< BG		
Dobcivice, linkes Ufer	< BG	< BG	n.n.	< BG	
Bilinamündung	< BG	n.n.	n.n.		
Ohremündung	< BG		n.n.	n.n.	n.n.
Berkovice, linkes Ufer	< BG	n.n.	< BG		
Moldaumündung	< BG	n.n.	< BG		
Obristvi	< BG	n.n.	n.n.		
Jizeramündung	< BG		s. Anmerkung		
Lysa	< BG		n.n.		n.n.
Valy	< BG		n.n.		
Filirovice Verdek	< BG		n.n.		
Nachweisgrenzen (ng/L)	0,6	1,0	4,0	3,0	3,5
Bestimmungsgrenze (ng/L)	2,0	3,3	13	10	12

*keine vollständige quantitative Auswertung des 2. Massenübergangs (vergl. Abschnitt 7.5.1)
grau unterlegt: Flussmündungen*

Dimethoat in der Wasserprobe aus der Muldemündung (Konzentration 75 ng/L): Abweichung vom Ergebnis des 1. Massenübergangs bei Auswertung anhand der Aufstockung der Wasserprobe aus der Muldemündung - 6,2%

Alachlor in der Wasserprobe aus der Jizeramündung (Konzentration etwa 3200 ng/L): Abweichung vom Ergebnis des 1. Massenübergangs bei Auswertung über eine externe Kalibrierung (Messung der Probe in einer Verdünnung von 1:50) - 1,1%

Anhang XI: Grubbs-Ausreißertest

Zur Aufdeckung einzelner Ausreißerwerte werden zunächst der Mittelwert MW und die Standardabweichung SD der n Werte berechnet. Der Wert X mit der größten Differenz zum Mittelwert wird nach folgender Bedingungsgleichung getestet:

$$PW = \frac{|X - MW|}{SD}$$

Entscheidung:

	$PW \leq rM (n, P = 90\%)$	zufälliger Unterschied
$rM (f, P = 90\%) <$	$PW \leq rM (n, P = 95\%)$	wahrscheinlicher Unterschied
	$PW > rM (n, P = 95\%)$	signifikanter Unterschied

Die für die Wasserproben des Elbelängsprofils ermittelten Wiederfindungsraten wurden auf signifikante Unterschiede geprüft (vergl. Abschnitt 7.3.1). Dazu wurden folgende Werte für rM verwendet (Grubbs-Tabelle):

<u>n</u>	<u>Peinseitig</u>	<u>95%</u>
11		2,234
12		2,285
13		2,331
14		2,371
15		2,409

Literatur: [108]

Anhang XII: Toxizitätsdaten, Gefahren- und Sicherheitshinweise zu den verwendeten Chemikalien

Tabelle 12.8: Hinweise auf besondere Gefahren (R-Sätze), Sicherheitsratschläge (S-Sätze), Gefahrensymbole und Daten zur akuten Toxizität (LD50, LC50) der verwendeten Chemikalien

	R-Sätze ³	S-Sätze ³	Sym- bol ³	LD50 (mg/kg)	LC50 (mg/L)
<i>Triazinderivate und deren Metabolite</i>					
Atrazin	20/22-36-40-43	36/37-46	Xn	3080 ^{1,2}	8,8 ²
Desethylatrazin	20/22-36	26	Xn		
Desethylterbuthylazin	22	22-24/25	Xn		
Desisopropylatrazin	20/22-36	26	Xn		
Irgarol	43-50/53	24-37-61	Xi, N		
Propazin	40	36/37	Xn	> 7700 ²	17,5 ^{1,2}
Terbuthylazin	22	22-24/25	Xn	2000 ²	3,8 ¹
<i>Phosphorsäureester</i>					
Azinphos-methyl	24-26/28-43-50/53	28.1-36/37-45-60-61	T+, N	10 ^{1,2}	0,02 ^{1,2}
Diazinon	22-50/53	24/25-60-61	Xn, N	300 - 400 ^{1,2}	2,6 - 3,2 ^{1,2}
Dichlorvos	24/25	23-36/37-45	T	56 ²	0,17 ^{1,2}
Dimethoat	21/22	36/37	Xn	425 ²	6,2 ^{1,2}
Disulfoton	27/28-50/53	28.1-36/37-45-60-61	T+, N	2,5 - 12 ²	
Etrimfos	22	-	Xn	1600 - 1800 ¹	0,024 ¹
Fenitrothion	22-50/53	60-61	Xn, N	503 ²	1,7 ¹
Fenthion	21/22-23-40-48/25-50/53	36/37-45-60-61	T, N	190 ²	1,58 ¹
Mevinphos	27/28	23-28.1-36/37-45	T+	4 ²	0,033 ²
Parathion-ethyl	27/28-50/53	28.1-36/37-45-60-61	T+, N	2 ²	1,5 ²
Parathion-methyl	24-28	28.1-36/37-45	T+	6 ²	2,7 ²
Pyrazophos	22	-	Xn	151 - 242 ^{1,2}	0,48 ^{1,2}
<i>Harnstoffderivate, Carbamate und Sonstige</i>					
Diuron	22-40-48/22-50/53	13-22-23-37-46-60-61	Xn, N	> 5000 ²	5,6 ^{1,2}
Teflubenzuron	-	-	-	> 5000 ^{1,2}	5000 ¹
Triasulfuron	50/53	60-61	N	> 5000 ^{1,2}	> 100 ^{1,2}
Aldicarb-sulfon	21-25-26	26-45	T+		
Carbaryl	22-40-50	22-24-36/37-46-61	Xn, N	300 ²	1,3 ²
Oxamyl	21-26/28-51/53	36/37-45-61	T+, N	2,5 ¹	4,2 ^{1,2}
Alachlor	22-40-43	36/37/38	Xn	1200 ²	1,8 ^{1,2}
Bromacil	20	24/25	Xn	5200 ²	75 ^{1,2}
Imidacloprid	22	22-24/25-46	Xn	424 ^{1,2}	211 ^{1,2}
Trifluralin	36-43	24-37	Xi	1930 - 10000 ²	0,01 - 0,04 ²

	R-Sätze ³	S-Sätze ³	Sym- bol ³	LD50 (mg/kg)	LC50 (mg/L)
<u>weitere Chemikalien</u>					
Aceton	11-36-66-67	9-16-26	F, Xi		
Acetonitril	11-23/24/25	16-27-45	F, T		
Ameisensäure	35	23-26-45	C		
Ammoniumacetat	36/37/38	26-36	Xi		
Dichlormethan	40	23-24/25-36/37	Xn		
Essigsäure	10-35	23-26-45	C		
Isopropanol	11-36-67	7-16-24/25-26	F, Xi		
Methanol	11-23/24/25- 39/23/24/25	7-16-36/37-45	F, T		

Lethale Dosis LD50: Ratte (oral), Lethale Konzentration LC50: Regenbogenforelle (oder Forelle) 96h

besondere Gefahren:

Alachlor und Propazin: gelten als krebserregend (EG-Kategorie 3),

Atrazin: gilt als krebserregend und möglicherweise erbgutverändernd (EG-Kategorie 3)

Quellen:

¹ [3], ² [63], ³ [114]

Hinweise auf besondere Gefahren (R-Sätze)

- 10 Entzündlich.
- 11 Leicht entzündlich.
- 20 Gesundheitsschädlich beim Einatmen.
- 21 Gesundheitsschädlich bei Berührung mit der Haut.
- 22 Gesundheitsschädlich beim Verschlucken.
- 23 Giftig beim Einatmen.
- 24 Giftig bei Berührung mit der Haut.
- 25 Giftig beim Verschlucken.
- 26 Sehr giftig beim Einatmen.
- 27 Sehr giftig bei Berührung mit der Haut.
- 28 Sehr giftig beim Verschlucken.
- 35 Verursacht schwere Verätzungen.
- 36 Reizt die Augen.
- 37 Reizt die Atmungsorgane.
- 38 Reizt die Haut.
- 39/23/24/25 Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen, Berührung mit der Haut und durch Verschlucken.
- 40 Irreversibler Schaden möglich.
- 43 Sensibilisierung durch Hautkontakt möglich.
- 48/22 Gesundheitsschädlich: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen.

- 48/25 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Verschlucken.
- 50 Sehr giftig für Wasserorganismen.
- 51 Giftig für Wasserorganismen.
- 53 Kann in Gewässern längerfristig schädliche Auswirkungen haben.
- 66 Wiederholter Kontakt kann zu spröder oder rissiger Haut führen.
- 67 Dämpfe können Schläfrigkeit oder Benommenheit verursachen.

Sicherheitsratschläge (S-Sätze)

- 7 Behälter dicht geschlossen halten.
- 9 Behälter an einem gut gelüfteten Ort aufbewahren.
- 13 Von Nahrungsmitteln, Getränken und Futtermitteln fernhalten.
- 16 Von Zündquellen fernhalten - nicht rauchen.
- 22 Staub nicht einatmen.
- 23 Dampf nicht einatmen.
- 24 Berührung mit der Haut vermeiden.
- 25 Berührung mit den Augen vermeiden.
- 26 Bei Berührung mit den Augen gründlich mit Wasser spülen und Arzt konsultieren.
- 27 Beschmutzte, getränkte Kleidung sofort ausziehen.
- 28.1 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser.
- 36 Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen.
- 37 Geeignete Schutzhandschuhe tragen.
- 38 Bei unzureichender Belüftung Atemschutzgerät anlegen.
- 45 Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen (wenn möglich, dieses Etikett vorzeigen).
- 46 Bei Verschlucken sofort ärztlichen Rat einholen und Verpackung oder Etikett vorzeigen.
- 60 Dieser Stoff und/oder sein Behälter sind als gefährlicher Abfall zu entsorgen.
- 61 Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Besondere Anweisungen einholen / Sicherheitsdatenblatt zu Rate ziehen.

Gefahrensymbole

- F Leichtentzündliche Stoffe
- T+ Sehr giftige Stoffe
- T Giftige Stoffe
- Xn Gesundheitsschädliche Stoffe
- C Ätzende Stoffe
- Xi Reizend wirkende Stoffe
- N Umweltgefährliche Stoffe

13 LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Risk assessment of chemicals - An Introduction, Herausgeber C.J. van Leeuwen, J.L.M. Hermens, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht (NL) 1995, ISBN 0-7923-3740-9
- [2] O.-A. Neumüller, Römpps Chemie-Lexikon, 8. neubearbeitete und erweiterte Auflage, Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart 1979, ISBN 3-440-04510-2
- [3] W. Perkow, H. Ploss: Wirksubstanzen der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel - Loseblattsammlung (Stand September 2001), Verlag Paul Parey, Berlin
- [4] Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft: Liste der Wirkstoffe in zugelassenen Pflanzenschutzmitteln (Stand 1. Januar 2002), www.bba.de
- [5] D. Barceló, M.-C. Hennion: Trace determinations of pesticides and their degradation products in water, Techniques and instrumentation in analytical chemistry, Volume 19, Elsevier, Amsterdam (1997), ISBN 0-444-81842-1
- [6] H.-P. Thier, H. Frehse: Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln, aus der Reihe: Analytische Chemie für die Praxis (Herausgeber: H. Hulpke, H. Hartkamp, G. Tölg), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York (1986)
- [7] U. Claussen et al.: Umweltqualitäts- und Umwelthandlungsziele im Gewässerschutz - Sachstand und Ausblick, UBA-Texte 91/99, Umweltbundesamt, Berlin (1999)
- [8] Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA): Zielvorgaben zum Schutz oberirdischer Binnengewässer, Band I, Teil I: Konzeption zur Ableitung von Zielvorgaben zum Schutz oberirdischer Binnengewässer vor gefährlichen Stoffen, Berlin 1997
- [9] Richtlinie 74/440/EWG des Rates vom 16. Juni 1975 über die Qualitätsanforderungen an Oberflächengewässer für die Trinkwassergewinnung, Amtsblatt L 194 vom 15.7.1975
- [10] [EG 1980] Richtlinie 80/778/EWG des Rates vom 15. Juli 1980 über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch, Amtsblatt L 229 vom 30.8.1980
- [11] Richtlinie 2000/60/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 23. Oktober 2000 zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik, Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften Nr. L 327 vom 22.12.2000
- [12] Entscheidung Nr. 2455/2001/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 20. November 2001 zur Festlegung der Liste prioritärer Stoffe im Bereich der Wasserpolitik und zur Änderung der Richtlinie 2000/60/EG, Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften Nr. L 331 vom 15.12.2001
- [13] A. Martín-Esteban, P. Fernández, A. Fernández-Alba, C. Cámara: Analysis of polar pesticides in environmental waters: A review, Quimica Analytica 17 (2): 51 - 66 (1998)
- [14] E. Hogendoorn, P. van Zoonen: Recent and future developments of liquid chromatography in pesticide trace analysis, J. Chromatogr. A 892: 435 - 453 (2000) (Review)
- [15] A.C. Hogenboom, W.M.A. Niessen, U.A.T. Brinkman: The role of column liquid-chromatography-mass spectrometry in environmental trace-level analysis - Determination and identification of pesticides in water, J. Separation Science 24 (5): 331 - 354 (2001) (Review)

- [16] J. Sherma: Pesticide residue analysis (1999 - 2000): A review, *JAOAC Int.* 84 (5): 1303 - 1312 (2001)
- [17] G.R. van der Hoff, P. van Zoonen: Trace analysis of pesticides by gas chromatography, *J. Chromatogr. A* 843: 301 - 322 (1999) (Review)
- [18] P.L. Tejedor, A. Tejedor, M.D. Hernando, A. Aguera, D. Barceló, A. Fernández-Alba: Screening of antifouling pesticides in sea water samples at low ppt levels by GC-MS and LC-MS, *Chromatographia* 52 (9 - 10): 631 - 638 (2000)
- [19] D.R. Erney, T.M. Pawlowski, C.F. Poole: Matrix-induced peak enhancement of pesticides in gas chromatography: Is there a solution?, *J. High Resol. Chromatogr.* 20: 375 - 378 (1997)
- [20] J. Hajšlová, K. Holadová, V. Kocourek, J. Poustka, M. Godula, P. Cuhra, M. Kempný: Matrix-induced effects: a critical point in the gas chromatographic analysis of pesticide residues, *J. Chromatogr. A* 800: 283 - 295 (1998)
- [21] J.L. Bernal, M.J. del Nozal, J.J. Jiménez, J.M. Rivera: Matrix effects in the determination of acaricides and fungicides in must by gas chromatography with electron-capture and nitrogen-phosphorus detection, *J. Chromatogr. A* 778: 111 - 117 (1997)
- [22] J. Gandraß et al.: Erfassung und Beurteilung der Belastung der Elbe mit ökosystemrelevanten Organika, Band II: Pestizide mit niedrigen Effektkonzentrationen im aquatischen Bereich - Entwicklung eines Ion Trap GC/MS² Verfahrens, Umweltbundesamt Forschungsvorhaben 293 24 216, Bericht des GKSS Forschungszentrums, Geesthacht (1999)
- [23] F. Menzinger, P. Schmitt-Kopplin, D. Freitag, A. Kettrup: Analysis of agrochemicals by capillary electrophoresis, *J. Chromatogr. A* 891: 45 - 67 (2000)
- [24] M.-C. Hennion: Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 856: 3 - 54 (1999) (Review)
- [25] M.-C. Hennion: Graphitized carbons for solid-phase extraction, *J. Chromatogr. A* 885: 73 - 95 (2000)
- [26] B. Sturm, H.-D. Knauth, N. Theobald, G. Wünsch: Hydrophobic organic micropollutants in samples of coastal waters: efficiencies of solid-phase extraction in the presence of humic substances, *Fresenius J. Anal. Chem.* 361: 803 - 810 (1998)
- [27] D. G. Hela, I.K. Sakellarides, I.K. Konstantinou, T.A. Albanis: Influence of salinity and dissolved humic acids on pesticides extraction from water using solid-phase extraction disks, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 68: 69 - 82 (1997)
- [28] Applied Biosystems: „Ion source principles“, Poster EM 116 ELSC
- [29] W.M.A. Niessen: State-of-the-art in liquid chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 856: 179 - 197 (1999) (Review)
- [30] A.P. Bruins: Mechanistic aspects of electrospray ionisation (review), *J. Chromatogr. A* 794: 345 - 357 (1998)
- [31] J. Abian, A.J. Oosterkamp, E. Gelpí: Comparison of conventional, narrow-bore and capillary liquid chromatography/mass spectrometry for electrospray ionization mass spectrometry: Practical considerations, *J. Mass Spectrom.* 34 (4): 244 - 254 (1999)
- [32] D. M. Garcia, S.K. Huang, W.F. Stansbury: Optimization of the atmospheric pressure chemical ionization liquid chromatography mass spectrometry interface, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 7: 59 - 65 (1996)

- [33] A.P. Bruins: Atmospheric-pressure-ionization mass spectrometry - I. Instrumentation and ionization techniques, *Trends Anal. Chem.* 13: 37 - 43 (1994)
- [34] D. Temesi, B. Law: The effect of LC eluent composition on MS responses using electrospray ionisation, *LC GC Int.*: 175,176,179,180 (1999)
- [35] B.K. Choi, D.M. Hercules, A.I.Gusev: LC-MS/MS signal suppression effects in the analysis of pesticides in complex environmental matrices, *Fresenius J. Anal. Chem.* 369: 370 - 377 (2001)
- [36] S.L. Zhou, M. Hamburger: Application of liquid chromatography atmospheric pressure ionization mass spectrometry in natural product analysis - Evaluation and optimization of electrospray and heated nebulizer interfaces, *J. Chromatogr. A* 755: 189 - 204 (1996)
- [37] H. Itoh, S. Kawasaki, J. Tadano: Application of liquid chromatography-atmospheric-pressure chemical -ionization mass spectrometry to pesticide analysis, *J. Chromatogr. A* 754: 61 - 76 (1996)
- [38] A. Schreiber: Untersuchungen zum Ionisierungs- und Fragmentierungsverhalten umweltrelevanter Substanzen bei der HPLC/MS-Kopplung - Aufbau und Nutzung von HPLC/MS-Spektrenbibliotheken, Dissertation, Universität Leipzig (2001), Shaker Verlag, Aachen
- [39] R.B. Geerdink, A. Kooistra-Sijpersma, J. Tiesnitsch, P.G.M. Kienhuis, U.A.T. Brinkman: Determination of polar pesticides with atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry-mass spectrometry using methanol and / or acetonitrile for solid-phase desorption and gradient liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 863: 147 - 155 (1999)
- [40] R.J.C.A. Steen, A.C. Hogenboom, P.E.G. Leonards, R.A.L. Peerboom, W.P. Cofino, U.T.A. Brinkman: Ultra-trace-level determination of polar pesticides and their transformation products in surface and estuarine water samples using column liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 857: 157 - 166 (1999)
- [41] R. Pascoe, J.P. Foley, A.I. Gusev: Reduction in matrix-related signal suppression effects in electrospray ionization mass spectrometry using on-line two-dimensional liquid chromatography, *Anal. Chem.* 73 (24): 6014 - 6023 (2001)
- [42] R. Bonfiglio, R.C. King, T.V. Olah, K. Merkle: The effects of sample preparation methods on the variability of the electrospray ionization response of model drug compounds, *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 13 (12): 1175 - 1185 (1999)
- [43] E.T. Furlong, M.R. Burkhardt, P.M. Gates, S.L. Werner, W. Battaglin: Routine determination of sulfonylurea, imidazolinone, and sulfonamide herbicides at nanogram-per-liter concentrations by solid-phase extraction and liquid chromatography / mass spectrometry, *The Science of the Total Environment* 248: 135 - 146 (2000)
- [44] K.A. Barnes, R.J. Fussell, J.R. Startin, M.K. Pegg, S.A. Thorpe, S.L. Reynolds: High-performance liquid chromatography atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry with ionization polarity switching for the determination of selected pesticides, *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 11 (1): 117 - 123 (1997)

- [45] P.G.M. Kienhuis, R.B. Geerdink: Liquid chromatography-tandem mass spectrometric analysis of surface and waste water with atmospheric pressure chemical ionisation. II: Applications, TRAC - Trends Anal. Chem. 19 (7): 460-474 (2000)
- [46] K. Bester, G. Bordin; A. Rodriguez, H. Schimmel, J. Pauwels, G. Van Vyncht: How to overcome matrix effects in the determination of pesticides in fruit by HPLC-ESI-MS-MS, Fresenius J. Anal. Chem. 371 (4): 550 - 555 (2001)
- [47] I. Liška, J. Slobodník: Comparison of gas and liquid chromatography for analysing polar pesticides in water samples, J. Chromatogr. A 733: 235 - 258 (1996)
- [48] R.B. Geerdink, W.M.A. Niessen, U.A.T. Brinkman: Trace-level determination of pesticides in water by means of liquid and gas chromatography, J. Chromatogr. A 970: 65 - 93 (2002)
- [49] C. Crescenzi, A. Di Corcia, E. Guerriero, R. Samperi: Development of a multiresidue method for analyzing pesticide traces in water based on solid-phase extraction and electrospray liquid chromatography ,mass spectrometry, Environ. Sci. Technol. 31 (2): 479 - 488 (1997)
- [50] R. Curini, A. Gentili, S. Marchese, A. Marino, D. Perret: Solid-phase extraction followed by high-performance liquid chromatography-ionspray interface-mass spectrometry for monitoring of herbicides in environmental water, J. Chromatogr. A 874: 187 - 198 (2000)
- [51] R. Bossi, K.V. Vejrup, B.B. Mogensen, W.A.H. Asman.: Analysis of polar pesticides in rainwater in Denmark by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, J. Chromatogr. A 957: 27 - 36 (2002)
- [52] Hernández F.; Sancho O.; Pozo O.; Lara A.; Pitarch E.: Rapid 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, J. Chromatogr. A 939: 1 - 11 (2001)
- [53] A. Asperger, J. Efer, T. Koal, W. Engewald: Trace determination of priority pesticides in water by means of high-speed on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry using turbulent-flow chromatography columns for enrichment and a short monolithic column for fast liquid chromatographic separation, J. Chromatogr. A 960: 109 - 119 (2002)
- [54] C. Aguilar, I. Ferrer, F. Borrull, R.M. Marcé, D. Barceló: Comparison of automated on-line solid-phase extraction followed by LC/MS with atmospheric pressure chemical ionization and particle beam mass spectrometry for the determination of a priority group of pesticides in environmental waters, J. Chromatogr. A 794: 147 - 163 (1998)
- [55] Pignon V.; Jeannot R.; Sauvard E.: Multi-residue analysis by liquid chromatography-mass spectrometry coupling. Application to drinking and river waters, Internat. J. Environ. Anal. Chem. 75 (4): 345 - 366 (1999)
- [56] J. Y. Hu, T. Aizawa, Y. Magara: Analysis of pesticides in water with liquid chromatography atmospheric pressure chemical ionization, Water Research 33 (2): 417-425 (1999)
- [57] A. Di Corcia, M. Nazzari, R. Rao, R. Samperi R., E. Sebastiani: Simultaneous determination of acidic and non-acidic pesticides in natural waters by liquid chromatography-mass spectrometry, J. Chromatogr. A 878: 87 - 98 (2000)

- [58] B. Kjøppen, N.H. Spliid: Determination of acidic herbicides using liquid chromatography with pneumatically assisted electrospray ionization mass spectrometric and tandem mass spectrometric detection, *J. Chromatogr. A* 803: 157 - 168 (1998)
- [59] G. D'Ascenzo, A. Gentili, S. Marchese, A. Marino, D. Perret: Multiresidue method for determination of post-emergence herbicides in water by HPLC/ESI/MS in positive ionization mode, *Environ. Sci. Technol.*, 32 (9): 1340 - 1347 (1998)
- [60] M. Rodriguez, D.B. Orescan D.B.: Confirmation and quantitation of selected sulfonyl-urea, imidazolinone, and sulfonamide herbicides in surface water using electrospray LC/MS, *Anal. Chem.* 70 (13): 2710-2717 (1998)
- [61] T.C.R. Santos, J.C. Rocha, D. Barceló: Determination of rice herbicides, their transformation products and clofibric acid using on-line solid-phase extraction followed by liquid chromatography with diode array and atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometric detection, *J. Chromatogr. A* 879: 3 - 12 (2000)
- [62] G. D'Ascenzo, A. Gentili, S. Marchese, A. Marino, D. Perret: Simultaneous determination of base/neutral and acid herbicides in natural water at the part per trillion level, *Chromatographia* 48 (7 - 8): 497 - 505 (1998)
- [63] Biozid - Pestiziddatenbank, Version 2.6, Stand Frühjahr 2001, Firma Reith + Pfister, Kirchweg 3, 79268 Bötzingen
- [64] G. D'Ascenzo, A. Gentili, S. Marchese, D. Perret: Determination of arylphenoxypropionic herbicides in water by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 813: 285 - 297 (1998)
- [65] G. D'Ascenzo, A. Gentili, S. Marchese, D. Perret: Development of a method based on liquid chromatography electrospray mass spectrometry for analyzing imidazolinone herbicides in environmental water at part-per-trillion levels, *J. Chromatogr. A* 800: 109 - 119 (1998)
- [66] A. Laganà, A. Bacaloni, I. De Leva, A. Faberi, G. Fago, A. Marino: Occurrence and determination of herbicides and their major transformation products in environmental waters, *Analytica Chimica Acta* 462: 187 - 198 (2002)
- [67] K. Martínez, I. Ferrer, D. Barceló: Part-per-trillion level determination of antifouling pesticides and their byproducts in seawater samples by off-line solid phase extraction followed by high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 879: 27 - 37 (2000)
- [68] D. de Almeida Azevedo, S. Lacorte, T. Vinhas T., P. Viana, D. Barceló D.: Monitoring of priority pesticides and other organic pollutants in river water from Portugal by gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 879: 13 - 26 (2000)
- [69] A.C. Hogenboom, M.P. Hofman, D.A. Jolly, W.M.A. Niessen, U.A.T. Brinkman U.A.T.: On-line dual-precolumn-based trace enrichment for the determination of polar and acidic microcontaminants in river water by liquid chromatography with diode-array UV and tandem mass spectrometric detection, *J. Chromatogr. A* 885: 377 - 388 (2000)
- [70] V. Pichon, C. Cau Dit Coumes, L. Chen, S. Guenu, M.-C. Hennion: Simple removal of humic and fulvic acid interferences using polymeric sorbents for the simultaneous solid-phase extraction of polar acidic, neutral and basic pesticides, *J. Chromatogr. A* 737: 25 - 33 (1996)

- [71] R.A. Gimeno, C. Aguilar, R.M. Marcé, F. Borrull: Monitoring of antifouling agents in water samples by on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 915: 139 - 147 (2001)
- [72] I. Ferrer, D. Barceló: Simultaneous determination of antifouling herbicides in marina water samples by on-line solid-phase extraction followed by liquid chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 854: 197 - 206 (1999)
- [73] J.J. Jiménez, J.L. Bernal, M.J. del Nozal, J.M. Rivera: Determination of pesticide residues in waters from small loughs by solid-phase extraction and combined use of gas chromatography with electron-capture and nitrogen-phosphorus detection and high-performance liquid chromatography with diode array detection, *J. Chromatogr. A* 778: 289 - 300 (1997)
- [74] K.V. Thomas: Determination of selected antifouling booster biocides by high-performance liquid chromatography chemical ionisation mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 825: 29 - 35 (1998)
- [75] A.C. Hogenboom, P. Speksnijder, R.J. Vreeken, W.M.A. Niessen, U.A.T. Brinkman: Rapid target analysis of microcontaminants in water by on-line single-short-column liquid chromatography combined with atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 777: 81 - 90 (1997)
- [76] A.C. Hogenboom, U.A.T. Brinkman, W.M.A. Niessen: A single-short-column approach to the LC determination of organic microcontaminants in water using diode-array UV and mass spectrometric detection, *LC GC-Magazin Sep. Science* 16 (3): 264 - 274 (1998)
- [77] A.C. Hogenboom, W.M.A. Niessen, U.A.T. Brinkman: Rapid target analysis of microcontaminants in water by on-line single-short column liquid chromatography combined with atmospheric pressure chemical ionization ion-trap mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 794: 201 - 210 (1998)
- [78] B.A. Ingelse, R.C.J. van Dam, R.J. Vreeken, H.G.J. Mol, O.M. Steijger: Determination of polar organophosphorus pesticides in aqueous samples by direct injection using liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 918: 67 - 78 (2001)
- [79] R. Jeannot, E. Sauvard: Determination of pesticides and some of their degradation products in ground and surface waters by LC/MS, *Italian Journal of Food Science* 12 (2): 219 - 231 (2000)
- [80] R. Jeannot, E. Sauvard: High-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry applied to analyses of pesticides in water. Results obtained in HPLC/MS/APCI in positive mode, *Analisis* 27 (3): 271-280 (1999)
- [81] R. Jeannot, H. Sabik, E. Sauvard, E. Genin: Application of liquid chromatography with mass spectrometry combined with photodiode array detection and tandem mass spectrometry for monitoring pesticides in surface waters, *J. Chromatogr. A* 879: 51 - 71 (2000)
- [82] N.H. Spliid, B. Køppen: Determination of polar pesticides in ground water using liquid chromatography-mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization, *J. Chromatogr. A* 736: 105 - 114 (1996)

- [83] T. Reemtsma: The use of liquid chromatography-atmospheric pressure ionization-mass spectrometry in water analysis - Part II: Obstacles, TRAC - Trends Anal. Chem. 20 (10): 533 - 542 (2001)
- [84] A.F. Hollemann, E. Wiberg: Lehrbuch der Anorganischen Chemie, 91.-100. Auflage, Walter de Gruyter, Berlin, New York 1985
- [85] M. Adriaanse, H.A.G. Niederländer, P.B.M. Stortelder: Monitoring water quality in the future - Vol. 1: Chemical Monitoring, Ministry of Housing, Spatial Planning and the Environment, The Netherlands (1995)
- [86] Ciba Geigy: Summary on ecological and health effects of Irgarol 1051, Information Brochure Ciba Geigy 5/1/1995
- [87] Syracuse Research Corporation, <http://esc.syrres.com/interkow/kowdemo.htm> (2002)
- [88] <http://chemfinder.cambridgesoft.com> (2002)
- [89] Dr. V. Mohaupt, Umweltbundesamt (1997): Pestizidwirkstoffe, deren Effektkonzentrationen in aquatischen Tests unterhalb von 1 µg/L bzw. unterhalb von 0,1 µg/L liegen. Persönliche Mitteilung, Oktober 1997. *Effektkonzentrationen (EC), zugrundeliegende Angaben sind NOEC, LOEC und LC50*
- [90] Internationale Kommission zum Schutz des Rheins, Zielvorgaben, Stand Juli 2000, Koblenz 1993
- [91] J. Jahnel, C. Zwiener, T.J. Gremm, G. Abbt-Braun, F.H. Frimmel, C. Kussatz, D. Schudoma, W. Rucker: Zielvorgaben für Pflanzenschutzmittelwirkstoffe und andere Schadstoffe in Oberflächengewässern, Acta hydrochim. hydrobiol. 29 (4): 246 - 253 (2001)
- [92] C. Kussatz, D. Schudoma, C. Throl, N. Kirchhoff, C. Rauer: Zielvorgaben für Pflanzenschutzmittelwirkstoffe zum Schutz oberirdischer Binnengewässer, UBA-Texte 76/99, Umweltbundesamt, Berlin (1999)
- [93] Pflanzenschutz-Anwendungsverordnung in der Fassung der Verordnung zur Bereinigung pflanzenschutzrechtlicher Vorschriften vom 10. November 1992 (BGBl. I S. 1887), zuletzt geändert durch das Gesetz zur Neuregelung des Rechts des Naturschutzes und der Landschaftspflege und zur Anpassung anderer Rechtsvorschriften (BNatSchGNeuregG) vom 25. März 2002 (BGBl. I S. 1193)
- [94] A. Asperger, J. Efer, T. Koal, W. Engewald: On the signal response of various pesticides in electrospray and atmospheric pressure chemical ionization depending on the flow-rate of eluent applied in liquid chromatography-tandem mass spectrometry, J. Chromatogr. A 937: 65 - 72 (2001)
- [95] Thurman E.M.; Ferrer I.; Barceló D.: Choosing between atmospheric pressure chemical ionization and electrospray ionization interfaces for the HPLC/MS analysis of pesticides, Anal. Chem. 73 (22): 5441 - 5449 (2001)
- [96] J. Gandraß et al.: Erfassung und Beurteilung der Belastung der Elbe mit ökosystemrelevanten Organika, Band I: Schwerflüchtige Chlorkohlenwasserstoffe in Sedimenten und Pestizide in der Wasserphase, Umweltbundesamt Forschungsvorhaben 102 05 216, Bericht des GKSS Forschungszentrums, Geesthacht (1998)
- [97] J. Gandraß, G. Bormann, R.-D. Wilken: N-/P-pesticides in the Czech and German part of the river Elbe - Analytical methods and trends of pollution, Fresenius J. Anal. Chem. 353: 70 - 74 (1995)

- [98] J. Fleming, H. Albus, B. Neidhart, W. Wegscheider: Glossary of Analytical Terms (II), *Accred Qual Assur* 1: 87 - 88 (1996)
- [99] ISO 8402 (1994): Quality management and quality assurance - Vocabulary
- [100] Accreditation for chemical laboratories (EURACHEM Guidance Document No 1 / WELAC (EAL) Guidance Document WGD 2)
- [101] EURACHEM: The Fitness for Purpose of Analytical Methods, First English Edition 1.0 (1998), First Internet Version (Dez. 1998)
<http://www.uni-stuttgart.de/eurachem/publikationen.htm>
- [102] International vocabulary of basic and general terms in metrology, 1993, (BIPM, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, IUPAP, OIML)
- [103] J. Fleming, H. Albus, B. Neidhart, W. Wegscheider: Glossary of Analytical Terms (VII), *Accred Qual Assur* 2: 51 - 52 (1997)
- [104] Draft International Harmonisation of Pharmacopoeias, Text on Validation of Analytical procedures, *Pharmaeuropa* 5 (4): 341 (1993)
- [105] V.R. Meyer: Praxis der Hochleistungs-Flüssigchromatographie, 8. Aufl., Otto Salle Verlag, Frankfurt/M., Verlag Sauerländer Verlag, Aarau, Frankfurt/M., Salzburg (1999)
- [106] ISO 3534-1 (1993): Statistics - Vocabulary and symbols - Part 1: Probability and general statistical terms
- [107] J. Fleming, B. Neidhart, C. Tausch, W. Wegscheider: Glossary of Analytical Terms, *Accred. Qual. Assur.* 1: 41 - 43 (1996)
- [108] W. Funk, V. Damann, G. Donnevert: Qualitätssicherung in der Analytischen Chemie, VCH, Weinheim (1992), ISBN 3-527-282291-2
- [109] R. Götz, O.H. Bauer, P. Friesel, K. Roch: Organic trace compounds in the water of the river Elbe near Hamburg - Part II, *Chemosphere* 36 (9): 2103 - 2118 (1998)
- [110] G. Bormann, J. Gandraß, H.-D. Knauth, R.-D. Wilken: Stickstoff-/Phosphor-Pestizide in der Elbe von der tschechischen Grenze bis zur Mündung, *Vom Wasser* 80: 15 - 27 (1993)
- [111] J. Pietsch, W. Schmidt, F. Sacher, S. Fichtner, H.-J. Brauch: Pesticides and other organic micro pollutants in the river Elbe, *Fresenius J. Anal. Chem.* 353: 75 - 82 (1995)
- [112] R. Götz, P. Friesel, K. Roch, C. Ebel, J. Siebert, H. Reincke, S. Wolff, W. Specht, R.D. Weeren, J. Pahnke, P. Rußbült: Pesticides in the river Elbe, in tributaries of the river Elbe and small surface waters of the river Elbe catchment area, *Vom Wasser* 83: 43 - 55 (1994)
- [113] Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, EURACHEM / CITAC Guide, 2. Edition (2000), Herausgeber S. L. R. Ellison, M. Rosslein, A. Williams <http://www.uni-stuttgart.de/eurachem/publikationen.htm>
- [114] Fluka, Riedel-de Haen, Katalog: Laboratory Chemicals 2001/2002 (© Fluka Chemie GmbH, Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH)

DANKSAGUNG

Besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr.-Ing. Bernd Neidhart für die Möglichkeit, meine Arbeit im Institut für Küstenforschung / Physikalische und Chemische Analytik des GKSS Forschungszentrums Geesthacht durchzuführen, und für die Betreuung meiner Arbeit.

Für die Vertretung meiner Arbeit gegenüber dem Fachbereich Chemie an der Universität Hamburg möchte ich Herrn Prof. Dr. José A.C. Broekaert herzlich danken. Für die Erstellung des zweiten Gutachtens danke ich Herrn PD Dr. Andreas Prange.

Dem GKSS Forschungszentrum Geesthacht danke ich für die finanzielle Unterstützung meiner Arbeit.

Jürgen Gandraß möchte ich besonders danken für die Unterstützung mit Rat und Tat und die fachlichen Gespräche, Diskussionen und Anregungen, die zu dieser Arbeit beigetragen haben.

Bei der Wassergütestelle Elbe in Hamburg, insbesondere bei Dr. Burkhard Stachel, möchte ich mich für die Bereitstellung von Wasserproben eines Elbelängsprofils bedanken.

Bei Armando Caba möchte ich mich herzlich bedanken für die stete Hilfsbereitschaft und die Unterstützung bei der Extraktion von Wasserproben. Ebenso gilt mein Dank Raimo Kopetzky, der mich im Rahmen seines Praktikums mit großer Ausdauer bei der Extraktion von Wasserproben unterstützt hat und mir bei der Untersuchung der Proben des Elbelängsprofils eine unverzichtbare Hilfe war.

Dr. Regina Bruhn möchte ich für das Korrekturlesen meiner Arbeit danken. Dr. Louise Durham danke ich für die Unterstützung bei der Übersetzung der Zusammenfassung ins Englische.

Bei Erika Arndt möchte ich mich bedanken für die stete Hilfsbereitschaft bei allen verwaltungstechnischen und sonstigen Fragen, mit denen man das Sekretariat bestürmt.

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich bei meinen Kolleginnen und Kollegen aus der Abteilung „Organische Spurenanalytik“ und anderen Abteilungen, unserem Abteilungsleiter Dr. Ralf Ebinghaus und „last but not least“ unserer Institutsleitung für die freundliche, hilfsbereite, gutgelaunte und humorvolle Atmosphäre, die dafür gesorgt hat, dass ich mich im Institut wohl gefühlt und gern dort gearbeitet habe.

Mein herzlicher Dank gilt meinen Freundinnen und Freunden, die mich durch ein geduldiges offenes Ohr und ihre Freundschaft in den letzten Jahren unterstützt haben; besonders erwähnen möchte ich Bettina Leydel und Dr. Birgit Neumann.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern

