

5. Analytik von Pflanzenschutzmitteln

5.1 Probenahme

Die Probenahme ist die Grundlage und häufig der kritischste Faktor eines jeden Umweltmonitorings. Jeder Probenahme sollte die Festlegung der Ziele und die Wahl der dafür nötigen Methoden vorausgehen. Neben den wissenschaftlichen Zielen sollten dabei Überlegungen zu rechtlichen Rahmenbedingungen, Repräsentativität von Probenahmen sowie physiko-chemische Eigenschaften der zu untersuchenden Substanzen eine Rolle spielen (BARCELÓ 1997).

Für die Untersuchung organischer Substanzen in wässrigen Matrices spielt die Auswahl eines geeigneten Probenahmematerials eine große Rolle. Die Nutzung von Kunststoffgefäßen für Probenahme, -transport und -lagerung ist aufgrund der Wechselwirkungen strikt zu vermeiden. In der Regel kommen Instrumente aus Glas, Edelstahl und gelegentlich Aluminium zur Anwendung. Bietet das zu beprobende Umweltkompartiment die Möglichkeit der mehrmaligen Probenahme, wie z.B. Flüsse oder Seen, so sollten mehrere Proben zu einer Mischprobe verarbeitet und Wiederholungsmessungen durchgeführt werden (HULPKE 1988).

Beinhaltet die Analytik die Untersuchung photolabiler Substanzen, ist zudem die Lichtexposition zu minimieren und der Transport der Proben idealerweise in dunklen Glasflaschen durchzuführen (BARCELÓ 1997, HULPKE 1988).

5.2 Probenaufarbeitung

Die Extraktion von Pflanzenschutzmitteln verschiedener Stoffklassen aus den unterschiedlichsten natürlichen Matrices ist in der Literatur sehr gut dokumentiert. Die Extraktion aus wässrigen Medien mittels Festphasenextraktion (solid phase extraction – SPE) wird in analytischen Laboratorien routinemäßig eingesetzt (HOOGENDORN 2000, LIŠKA 1998). Die zur Anwendung kommenden Festphasenmaterialien können in unpolare, polare und Ionenaustauscher unterteilt werden. Als Trägermaterial wird meist SiO_2 verwendet. Die unpolaren Materialien sind in der Regel mit Methyl-, Octyl- und Octadecylgruppen substituiert. Die polaren Materialien besitzen Cyano-, Amino- und Diolgruppen auf ihrer Oberfläche oder werden als unsubstituiertes Kieselgel angeboten (LOPEZ-AVILA, 1999). In neuerer Zeit werden zunehmend Festphasen verwendet, die auf Polystyrol-

Divinylbasis (PS-DVB) beruhen, die je nach Problemstellung chemisch unterschiedlich modifiziert sind (HUCK 2000). Auch der Einsatz von Festphasen mit Aktivkohle als stationäre Phase findet in Probenanreicherung immer breitere Verwendung, beinhaltet jedoch aufgrund ihres hohen Adsorptionspotentials mehr Fehlerquellen als herkömmliche Festphasenmaterialien (HENNION, 2000, HOOGENDORN 2000).

Eine neuere Variante ist die SPME (solid phase micro extraction), bei der die Analytmoleküle aus wässriger oder Gasphase auf eine Faser adsorbieren, die entweder eine chemisch gebundene aktive Oberfläche aufweist oder mit einer solchen überzogen ist. Als aktive Oberflächen werden in der Regel Polydimethylsiloxan (PDMS) Polyacrylate, Carboxen oder Gemische aus diesen angeboten (LOPEZ-AVILA 1999). Der Vorteil dieser Extraktionstechnik ist, dass der Zeitaufwand gegenüber der klassischen SPE reduziert ist und dass deutlich weniger Lösungsmittel und Probenvolumina benötigt werden. Die Desorption der Analyte erfolgt in der Regel im heißen Injektorblock eines Gaschromatographen. Seit einiger Zeit gibt es jedoch auch Techniken, diese Desorption mit einem Lösungsmittel im Injektionssystem einer HPLC durchzuführen. Flüssig/flüssig-Extraktionen werden vor allem aufgrund des hohen Lösungsmittelbedarfs, den meist toxischen Eigenschaften der Lösungsmittel sowie dem hohen Zeitaufwand im allgemeinen nicht eingesetzt. Eigene Erfahrungen im Rahmen der Vorarbeiten haben zudem gezeigt, dass die Vielzahl organischer Bestandteile wie Huminstoffe und Lignine sowie Algen, Rindenbestandteile und Schwebstoffe in Buchenstammabläufen sehr viele Schwierigkeiten bezüglich der flüssig/flüssig-Extraktion aufwirft (BERNHARDT 2001).

In der Analytik von Pflanzenschutzmitteln werden hauptsächlich stationäre Phasen auf Octadecyl-Basis eingesetzt (VIANA 1996, NOVAK 1997, MARTINEZ 2000, DRAPER 2001).

5.3 Analytik

Die Analytik von Pflanzenschutzmitteln ist ebenfalls in den meisten Laboratorien standardmäßig im Einsatz. Naturgemäß hängen die Analysemethoden stark von den Eigenschaften der untersuchten Substanzen ab. Sehr häufig beschrieben und

gut bekannt ist die Trennung mittels Gaschromatographie. Die Detektion erfolgt heute in aller Regel mit Hilfe von Massenspektrometern.

Sehr große Verbreitung besitzt auch die Trennung mittels Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC). Auch hier ist die Kombination der Trennungskomponente mit verschiedenen Detektorsystemen gelungen. Neben der Verwendung von Fluoreszenz-, UV- und Diodenarraydetektoren findet vor allem die Kopplung mit Massenspektrometern zunehmende Verbreitung (NIESSEN 1999) und hat dafür gesorgt, dass die HPLC auch in der Analytik von Pflanzenschutzmitteln eine wachsende Bedeutung erhält (HOOGENDORN 2000).

Des Weiteren wird vom vereinzelt Einsatz der meisten bekannten Trennungsmethoden in der Analytik von PSM in verschiedenen Arbeitsgruppen berichtet. So wurde von BABIĆ (1998) quantitative Dünnschichtchromatographie verwendet. Für die Analytik acider Verbindungen kann auch die Ionenchromatographie zur Trennung der Substanzen verwendet werden (BAUER 1999). Dennoch stellen die Gas- und die Flüssigchromatographie die mit Abstand am weitest verbreiteten Trennverfahren dar (CLEMENT 1999).

5.3.1 Flüssigchromatographie

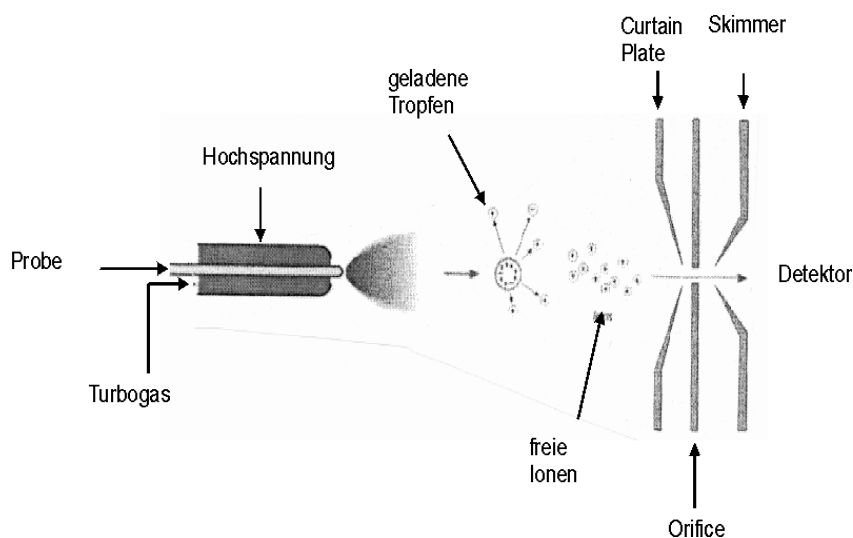
Die am häufigsten angewandte Flüssigchromatographie stellt die HPLC an chemisch gebundenen Umkehrphasen dar (reversed Phase HPLC). Bei ihr werden stationäre Phasen eingesetzt, die aus synthetischem hochreinen SiO₂ hergestellt und dessen äußere Hydroxylgruppen mit einem Reagenz umgesetzt werden, das die Hydroxylgruppen durch Alkylreste substituiert. Am gebräuchlichsten ist die Umsetzung mit Alkylchlorsilanen, vor allem Octadecylchlorsilan. Auf diese Weise kann man ungefähr die Hälfte aller Silanolgruppen ersetzen. Da man jedoch im Regelfall möglichst unpolare stationäre Phasen benötigt, wird häufig ein sogenanntes „endcapping“ durchgeführt, bei der die verbleibenden Silanolgruppen mit Trimethylchlorsilan umgesetzt werden, das, aufgrund seiner geringeren sterischen Hinderung, auch mit OH-Gruppen reagieren kann, die sich weiter im Inneren des Polymers befinden (ACED 1991). In der Regel erfolgt die Trennung von Substanzgemischen durch einen Gradienten aus einem organischen Laufmittel wie Acetonitril oder

Methanol und einem wässrigen pH-Puffer wie Essigsäure oder einem Phosphatpuffer.

5.3.2 Detektoren

Seit Anfang der 80er Jahre des letzten Jahrhunderts kann eine Vielzahl von Detektoren reproduzierbar und stabil mit der HPLC gekoppelt werden. Anfangs kamen vor allem UV- und Fluoreszenzdetektoren zum Einsatz. Durch die Entwicklung von Diodenarray-Detektoren (DAD) ist es möglich geworden neben der Retentionszeit zusätzlich Informationen über das komplette UV-Spektrum der detektierten

Substanzen zu erhalten. Dadurch lassen sich Substanzen mit unterschiedlichen funktionellen Gruppen häufig gut unterscheiden. Substanzen, die derselben



chemischen Klasse **Abbildung 10:** Schema der electro-spray-Ionisierung angehören,

besitzen jedoch häufig kaum oder gar nicht zu unterscheidende UV-Spektren. Fluoreszenzdetektoren stellen die sensitivste Nachweismethode dar, sind jedoch naturgemäß auf Substanzen beschränkt, die eine Fluoreszenzspektrum aufweisen. Durch Kopplung der Flüssigchromatographie mit der Massenspektroskopie ist es gelungen ein Verfahren zu entwickeln, das es erlaubt eine Vielzahl von Substanzen zu detektieren, die keinerlei UV- oder Fluoreszenzspektrum aufweisen wie z.B. Phosphorsäurederivate. Zudem bietet die MS eine ergänzende Möglichkeit zur Detektion von Substanzen, die ein sehr ähnliches UV-Spektrum aufweisen wie z.B. Phenylharnstoffe (HOGENDOORN 2000). Ob und in welchem Maße Substanzen über Massenspektrometrie detektierbar sind hängt vor allem von der zu untersuchenden Substanz sowie der verwendeten

Ionisierungstechnik ab. So müssen Substanzen beispielsweise bei der electrospray-Ionisierung zwingend freie Elektronenpaare, z.B. an Stickstoffatomen, aufweisen um durch die zugesetzte Säure bzw. den Puffer protoniert zu werden. Bis Mitte der 90er Jahre kamen vorwiegend particle-beam und Thermospray-Ionisationstechniken zum Einsatz, während in jüngster Zeit der Trend immer mehr zu API-Interfaces (Atmospheric pressure ionisation) geht (NIESSEN 1998). Der Hauptunterschied besteht darin, dass bei der API-Massenspektroskopie eine Fragmentierung der Analytmoleküle durch sanftere Ionisierungstechniken weitestgehend vermieden werden kann. Die API-Technik wird generell unterschieden in APCI (atmospheric pressure chemical ionisation) und in die ESI (electrospray ionisation). Bei der APCI wird das Analyt/Lösungsmittel-Gemisch im Interface durch hohe Temperaturen verdampft und anschließend im Gasraum durch eine Nadel, an der eine hohe Spannung anliegt, ionisiert. Bei der electrospray-Ionisierung hingegen werden die Analytmoleküle noch in der Lösung durch Anlegen einer Spannung ionisiert und anschließend verdampft. Wird die Verdampfung durch Druckluft unterstützt, so spricht man von Ionspray-Ionisation oder von Turbo-Ionspray (NIESSEN 1999).

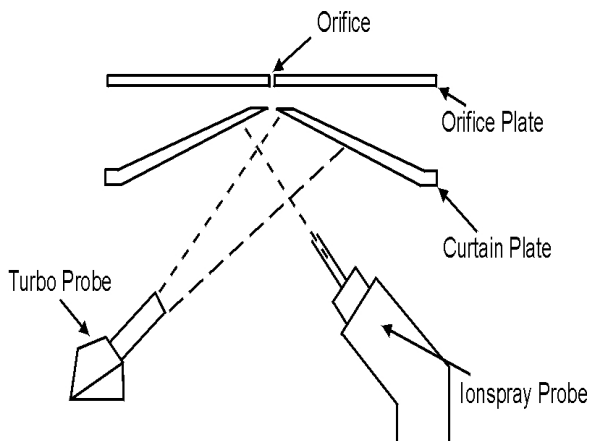


Abbildung 11: schematische Darstellung des Interfaces

Im Gasraum bilden sich geladene Tröpfchen, die ein oder mehrere Ionen enthalten. Diese verlieren durch den Stickstoffstrom des Turbo-Ion-Spray weiter an Lösungsmittel, bis die Coulomb-Abstoßung der gleichnamigen Ladungen in den Tropfen so groß wird, dass die Tropfen in einer sogenannten „Coulomb-Explosion“ auseinander bersten (BRUINS 1998) (s. Abb. 10).

Die freien Ionen werden nun, unterstützt durch den Turbo-Gas-Strom durch das Orifice-Loch in die erste Vakuum-Stufe gebracht.

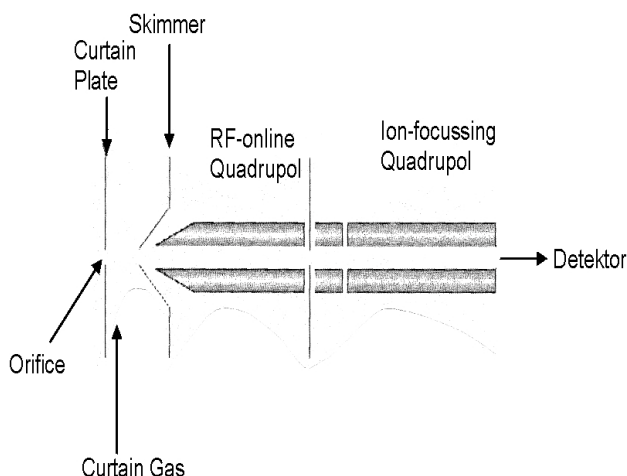


Abbildung 12: schematische Darstellung des Massenspektrometers

Dies erfolgt heute üblicherweise nicht mehr on-axis sondern off-axis, d.h. die zu analysierende Probe wird in einem von 90° verschiedenen Winkel auf die Öffnung gesprüht. Dies hat den Vorteil, dass die Verschmutzung und die den Detektor erreichende Stoffmenge reduziert wird (NIESSEN 1999). Im Fall des in dieser Untersuchung verwendeten Gerätes erfolgt die Einspritzung im 45° -Winkel (s. Abb. 11). Ist die Probe durch die Öffnung getreten, wird durch ein sogenanntes Curtain-Gas ein Großteil des Trägergases und der Lösungsmittel weggetragen. Die Analytmoleküle werden durch den Skimmer gesammelt und mittels eines Systems zweier Quadrupole fokussiert und detektiert (s. Abb. 12)