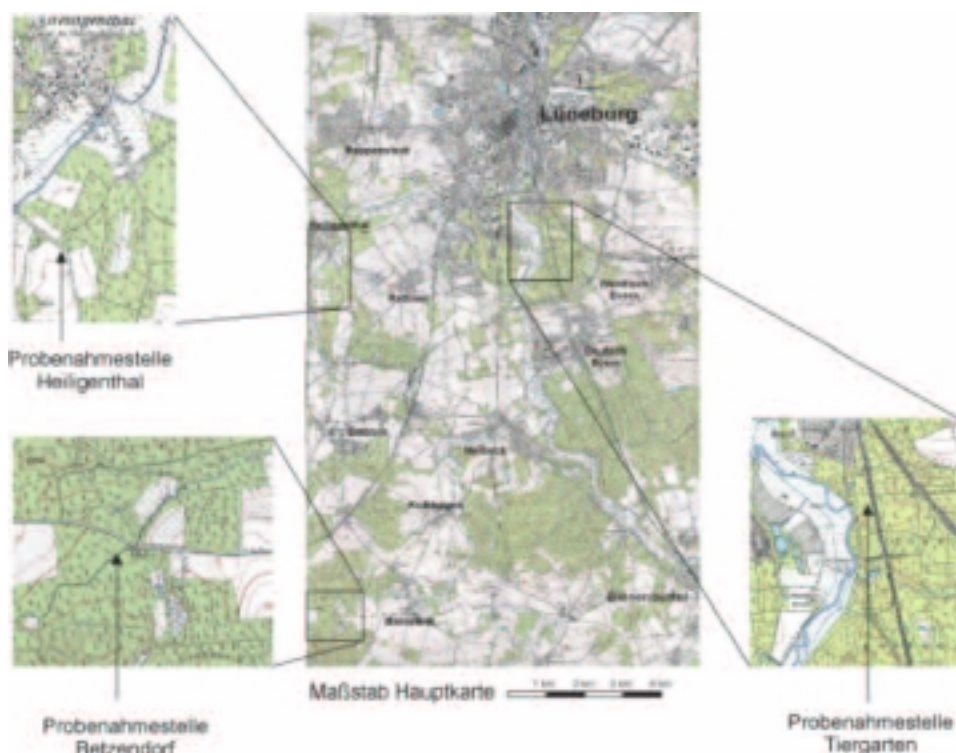


## 6. Methoden

### 6.1 Probenahme

#### 6.1.1 Vorrichtungen zur Probennahme 2001

Im ersten Jahr erfolgte die Probenahme in einem Waldstück etwa 5 Kilometer südwestlich von Lüneburg (s. Abbildung 13 – Probennahmestelle Heiligenthal). Die beprobten Bäume befanden sich in Hauptwindrichtung am Rand landwirtschaftlich genutzter Flächen. Sowohl in nördlicher als auch in südlicher und östlicher Richtung befinden sich ausgedehnte Waldstücke.



**Abbildung 13:** Probenahmestellen im Kreis Lüneburg

Insgesamt wurden in Heiligenthal an einem Waldrand 4 Buchen beprobt (WR1 – WR4, s. Abbildung 14). Anfang Mai 2001 wurden die vier Buchen dazu mit einer spiralförmigen Manschette aus Aluminiumfolie versehen. Diese wurde in zwei Windungen um den Stamm gelegt. Anfangs wurde handelsübliche Alufolie (Dicke laut Hersteller ca. 13 – 15  $\mu\text{m}$ ) verwendet. Bereits nach wenigen Wochen zeigte sich jedoch, dass diese Folie zu dünn war, da sie bei Windböen sehr schnell einriss. Daher wurden alle beprobten Bäume in der letzten Maiwoche mit einer

dickeren Folie (Dicke 30  $\mu\text{m}$ ) versehen. Diese zeigte sich als für die gesamte Probenahmedauer gut geeignet. In etwa 2.5 m und 1 m Höhe wurde ein jeweils starker Haltedraht um den Baum gelegt. Dieser wurde zuvor mit Hilfe einer Zange in der Mitte verdrillt. Der so entstandene Draht ring diente als Zugschlaufe zur Befestigung der Ablaufrinne. An diesen Zugschlaufen wurde ein dünner Draht befestigt, der in 2½ bis 3 Windungen locker um den Stamm gelegt wurde. Die Alufolie wurde nun hinter diesen Draht geschoben



**Abbildung 14:** schematische Darstellung der Probenahmestelle in Heiligenthal 2001

und dieser, mit Hilfe einer Zange, festgezogen. Anschließend wurde die Alufolie zu einer Rinne geformt. Die Rinnen wurden manuell an die Rindenstruktur angepasst. Eine Auffüllung der Zwischenräume erfolgte nicht (s. Abbildung 15). Am Ende der



**Abbildung 15:** Stammablaufrinne

Rinne wurde ein Glasrichter angebracht, der in eine, an den Stamm angebrachte Glasflasche mündete. Des weiteren wurde in unmittelbarer Nähe zu beiden Probenahmestellen ein Regenwassersammler aufgestellt, der aus einem quadratischen 50 x 50 cm großen Trichter aus V2A-Stahl bestand (R-WR1 und R-WR2, s. Abbildung 16).

Die Anordnung und die Benennung der Probenahmestellen südlich von Heiligenthal (Kreis Lüneburg) sind schematisch in Abbildung 14 dargestellt.

Mitte August 2001 wurden an der Probenahmestelle 1 an beiden Bäumen je zwei Rinnen aufgestellt, mit denen das Wasser, das bei einem Regenereignis durch die Krone tropft, aufgefangen wurde. Diese bestanden aus einem aufgeschnittenen PVC-Rohr, das mit Aluminiumfolie ausgekleidet und mit einem leichten Gefälle in etwa 50 cm Höhe tangential zum Baumstamm aufgestellt wurden. Die Auffangfläche dieser Rinne betrug  $1127 \text{ cm}^2$  (s. Abbildung 17). Diese Rinnen befanden sich in einem Abstand von 2.5 m (Durchtropfrinne innen, DI) und 4.5 m (Durchtropfrinne außen, DA) von den Buchenstämmen. Um die Wassermenge, die bei einem Regenereignis durch die Krone der Buche tropft, statistisch erfassen zu können, wurden Ende September 2001 rund um die



**Abbildung 16:** Regensammler

Buche WR1 24 runde Sammelgefäße aufgestellt. Der Abstand zwischen den Gefäßen betrug jeweils 2 m. Der Aufbau dieser Gefäße und der Auffangrinnen für die Kronendurchlässe ist schematisch in Abbildung 18 gezeigt. Die Benennung der Gefäße erfolgte entsprechend der Himmelsrichtung in der sie aufgestellt worden waren. Die Nummerierung erfolgte von innen nach außen. In nördlicher Himmelsrichtung wurden keine Sammelgefäße aufgestellt, da in dieser Himmelsrichtung eine weitere Buche stand.

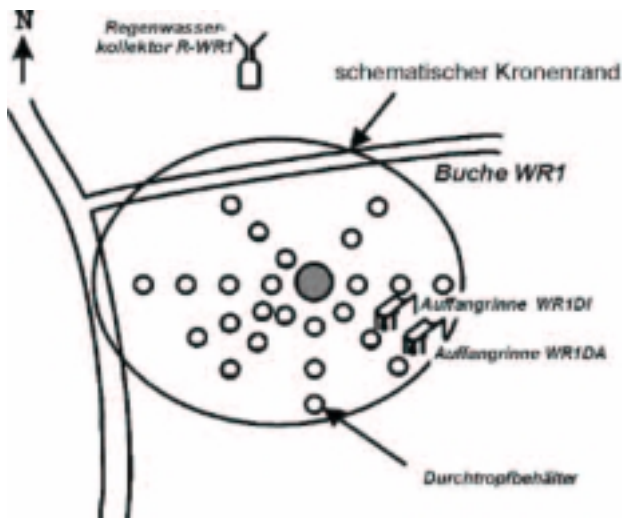


**Abbildung 17:** Durchtropfrinne

#### *6.1.2 Probenahme 2001*

Die Probenahme im Jahr 2001 begann Anfang Mai und wurde am 21. November aufgrund des einsetzenden Nachtfrostes beendet. Bis einschließlich 10. August 2001 sind nur Proben aus den beiden Regensammlern und den Stammablauftrinnen an den Buchen WR1 bis WR4 genommen worden. Im Verlauf der restlichen

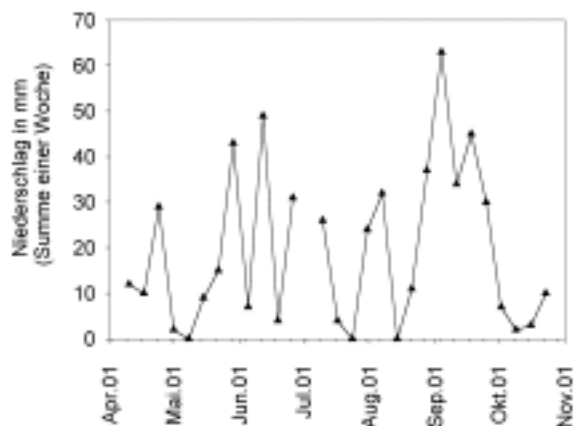
Probenahmesaison sind zusätzlich die Durchtropfproben an den Buchen WR1 und WR2 gesammelt worden.



**Abbildung 18:** schematische Darstellung der Probenahmestelle WR1

Bei der Entnahme der Proben aus den Flaschen ist jeweils etwa 1 Volumenprozent Methanol als Lösungsvermittler zugegeben worden. Die Daten der Probenahme sowie die Volumina der entnommenen Proben sind im Anhang in den Tabelle A1 und A2 dokumentiert.

Die für die statistische Erfassung der Durchtropfmengen gesammelten Proben in den Eimern unter der Buche WR1 sind am 31. Oktober sowie am 05. und am 21. November 2001 gesammelt worden. Die Ergebnisse dieser Messungen werden in Kapitel 7.2 diskutiert, die Daten sind im Anhang in Tabelle A3 gegeben.

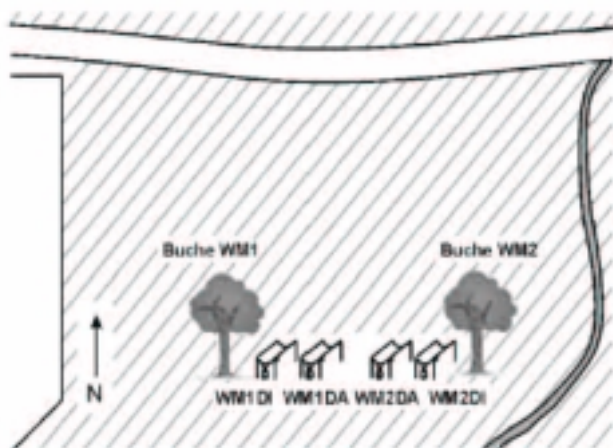


**Abbildung 19:** Niederschläge in Lüneburg im Sommer 2001

Häufig hat sich im Jahr 2001 das Problem ergeben, dass die Stammabläufe an den beprobten Buchen so intensiv waren, dass die entsprechenden Probenahmeflaschen übergelaufen sind. Diese Regenereignisse lassen nur eine eingeschränkte Aussage über die Frachten an Pflanzenschutzmitteln zu, da es in den Flaschen zur Verdünnung der Probe kam. Diesem Umstand ist im Jahr 2002 Rechnung getragen worden (s. Kapitel 6.1.3.). Die große Pause zwischen den Probenahmen am 03. September und dem 05. November erklärt sich durch die sehr intensiven und kontinuierlichen Regenfälle im September, die eine kontrollierte Entnahme der Proben nicht erlaubte (s. Abbildung 19). Außerdem hat aufgrund der sehr feuchten Witterung in dieser Zeit die landwirtschaftliche Aktivität auf den Äckern geruht.

### 6.1.3 Vorrichtungen zur Probenahme 2002

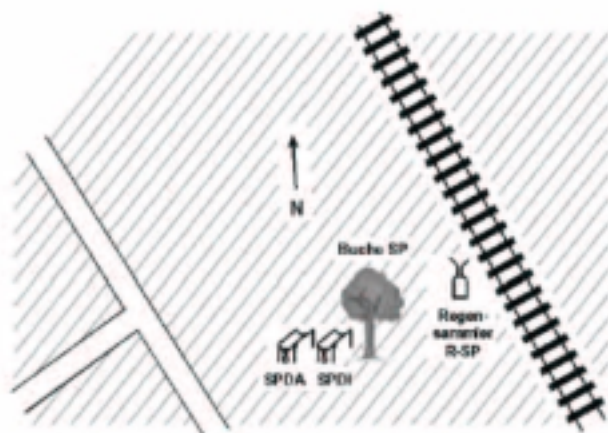
Im Jahr 2002 wurde in Heiligenthal nur die Probenahmestelle 1 wieder aufgebaut. Die Probenahmestelle 2 wurde aufgegeben. Statt dessen wurden zwei neue Probenahmestellen eingerichtet. Eine davon wurde etwa 10 km südwestlich von Lüneburg in der Nähe der Ortschaft Betzendorf installiert. Diese Probenahmestelle befindet sich in der Mitte eines Waldstreifens, der ungefähr 1 km breit ist (s. Abbildung 20).



**Abbildung 20:** schematische Darstellung der Probenahmestelle in der Waldmitte in Betzendorf

Die zweite Probenahmestelle befindet sich ca. 3 km südöstlich von Lüneburg. Diese Probenahmestelle befindet sich in einem sehr ausgedehnten Waldstück im Lüneburger Stadtpark (SP, sogenannter Tiergarten), so dass in einem Radius von

mindestens 5 km jegliche landwirtschaftliche Nutzung auszuschließen ist (s. Abbildung 21).



**Abbildung 21:** schematische Darstellung der Probenahmestelle im Stadtpark (SP)

Diese beiden Probenahmstellen wurden eingerichtet um zu ermitteln ob und in welchem Maße die Belastung von Wäldern mit Pflanzenschutzmitteln abhängig ist von der Entfernung zur landwirtschaftlichen Nutzfläche.

Um eine Aussage über die Effektivität der Stammablauffrinnen zu erhalten wurde an allen beprobten Bäumen unter die spiralförmig angebrachten Rinnen, die, wie im Jahr zuvor, nur manuell an die Rinde angedrückt wurden, eine weitere Rinne angebracht. An dieser Rinne wurden die Zwischenräume zwischen Aluminiumfolie und Rinde mit Silikon aufgefüllt. Diese Proben können nur der Bestimmung der Wassermengen dienen. Eine Untersuchung auf Pflanzenschutzmittel ist aufgrund des verwendeten Silikons nicht möglich.

Um ein, wie im Jahr 2001 häufig vorgekommenes, Überlaufen der Probenahmeflaschen zu verhindern, wurde an allen Flaschen ein Überlaufschutz angebracht. Dieser bestand aus einem doppelt durchbohrten Gummistopfen in dessen eine Bohrung ein Glas-T-Stück eingebracht wurde, dessen Abzweigung über einen Schlauch in ein Überlaufgefäß führte. In die zweite Bohrung wurde ein Entlüftungrohr eingesetzt. Bei Einsetzen des Regenereignisses läuft das Wasser über das gerade Teilstück des T-Stückes in die Probenahmeflasche. Sobald diese gefüllt ist, fließt das weitere Wasser über die Abzweigung in das Überlaufgefäß (s. Abbildung 22).



**Abbildung 22:** Überlaufschutz an Regensammler R-WR1

Die Funktionstüchtigkeit dieser Vorrichtung wurde im Laborbetrieb untersucht. Dazu wurde die Flasche mit Leitungswasser gefüllt. Anschließend wurde der Überlauf mittels Wasser, das mit  $\text{KMnO}_4$  eingefärbt wurde, getestet. Auch nach Einfüllen von mehr als einem Liter gefärbten Wassers konnte in der Probenahme flasche keine Verfärbung durch die Kaliumpermanganatlösung festgestellt werden, so dass eine Durchmischung der Probe weitestgehend ausgeschlossen werden

kann. Bis zum 1. Mai wurde der Überlauf nur mit Hilfe eines 30 Liter Kanisters aufgefangen.

Es zeigte sich jedoch, dass diese Kanister bei starken Regenereignissen nicht ausreichten. Daher wurde Anfang Mai an jeden Kanister eine handelsübliche Wasseruhr angeschlossen. Zu diesem Zweck wurden die Deckel der Kanister mit drei Löchern versehen. Durch das erste Loch wurde ein Entlüftungsrohr eingeführt. Durch das zweite, kurze Glasrohr läuft das von der Probenahme flasche kommende Wasser in den Kanister. Das dritte Rohr ragte mindestens bis zur Hälfte in den Kanister hinein und war am oberen Ende über einen Schlauch mit der Wasseruhr verbunden. Sobald der Kanister voll gelaufen war, füllte sich der Schlauch, führte das Wasser durch die Wasseruhr und saugte den Kanister bis zum unteren Ende des Abwasserrohres leer. Die übergelaufene Wassermenge konnte an der Wasseruhr bestimmt werden. Um eine sichere Bestimmung zu ermöglichen müssen mindestens 30 ml Wasser pro Minute durch die Uhr fließen.

In mehreren Labor- und Feldversuchen wurde sichergestellt, dass dies durch den beschriebenen Mechanismus gewährleistet wird.

Die gesamte Anordnung der Probenahmeverrichtungen ist anhand der Probenahmestelle Heiligenthal in Abbildung 23 gezeigt



**Abbildung 23:** Probenahmestelle WR1 am Waldrand in Heiligenthal

Zusätzlich wurde eine Vorrichtung entwickelt, die es erlaubt, das am Stamm herab laufende Wasser in verschiedenen Fraktionen zu sammeln. Dazu wurden an der Buche WR2 in Heiligenthal vier Probenahmeflaschen in Reihe installiert, die über den oben geschilderten Überlaufmechanismus miteinander verbunden waren. Dadurch konnte an der beprobten Buche vier aufeinander folgende Wasserproben mit einem Volumen von jeweils ca. 2.8 Liter entnommen und der Konzentrationsverlauf der Pflanzenschutzmittel im Stammablauf während eines Regenereignisses bestimmt werden.

#### 6.1.4 *Probenahme 2002*

Die Probenahmestellen sind zwischen dem 10. und dem 13. April eingerichtet worden. Zum Zeitpunkt der ersten Probenahme haben die Landwirte nach einer längeren trockenen Periode (der letzte Regen zuvor fiel am 23. März 2002) die Aussaat und die Behandlung der Ackerflächen gerade wieder aufgenommen. Die oben beschriebenen Vorrichtungen in der Waldmitte in Betzendorf und am Waldrand in Heiligenthal waren bereits fertig installiert. Die Probenahmestelle im Stadtpark wurde am 20. Mai eingerichtet. Die Probenahme im Jahr 2002 erfolgte



zwischen dem 15. April und dem 23. November. Die genauen Termine sowie die beprobten Wassermengen sind im Anhang in den Tabellen A6 – A8 gegeben.

## 6.2 Auswahl der analysierten Pflanzenschutzmittel

Bei Auswahl der untersuchten Pflanzenschutzmittel sind mehrere Kriterien berücksichtigt worden. Vor allem diente eine vom Industrieverband Agrar herausgegebene Liste über die mengenmäßig bedeutendsten Wirkstoffe in der Bundesrepublik Deutschland als Anhaltspunkt (IVA 2000). Um auch den regionalen Gegebenheiten Rechnung zu tragen wurde des weiteren eine Broschüre der Landberatung Nordost-Niedersachsen herangezogen, in der die Landwirtschaftskammer Lüneburg den Landwirten Hinweise zur Verwendung von Pflanzenschutzmitteln gibt (Landberatung Nordost-Niedersachsen 2000). Außerdem sind Substanzen, die zwar seit geraumer Zeit in Deutschland nicht mehr zugelassen sind aber dennoch in verschiedenen Untersuchungen gefunden wurden, in diese Arbeit einbezogen worden. Durch Vergleich dieser Auswahlkriterien wurde folgende Liste erarbeitet:

**Tabelle 4:** Liste der in die Untersuchung aufgenommenen PSM

- |                        |                    |                 |
|------------------------|--------------------|-----------------|
| • Atrazin              | • Desethyl-Atrazin | • Metamitron    |
| • Bentazon             | • Diuron           | • Metazachlor   |
| • Bromoxynil           | • Ethofumesat      | • Pendimethalin |
| • Chlortoluron         | • Isoproturon      | • Prosulfocarb  |
| • 2,4-D                | • Linuron          | • Simazin       |
| • Desisopropyl-Atrazin | • Metolachor       | • Terbutylazin  |

Zur Kalibration des Massenspektrometers sowie zur Durchführung von Wiederfindungsexperimenten wurde ein Mischstandard der ausgewählten Pflanzenschutzmittel hergestellt. Dazu wurde von jeder Einzelsubstanz ein Standard mit einer Konzentration von ca. 100 mg/L in Methanol erstellt. Von jedem dieser Einzelstandards wurden jeweils 3 ml in einem 100 ml-Kolben gegeben und mit Methanol aufgefüllt. Der so erstellte Mischstandard mit jeweils ca. 3 mg/L pro Pflanzenschutzmittel wurde in unterschiedlichen Verdünnungen zur Durchführung

der Vorversuche, als Kalibrierstandards sowie als Einpunktstandards zwischen den Proben der einzelnen Messreihen verwendet.

### **6.3 Probenaufarbeitung**

#### *6.3.1 Wiederfindungen aus wässrigen Standardlösungen*

Die Extraktion von Pflanzenschutzmitteln aus wässrigen Medien mittels Festphasenextraktion wird in analytischen Laboratorien routinemäßig eingesetzt (LIŠKA ET AL. 1998, PICHON 2000, SABIK ET AL. 2000).

##### *6.3.1.1 Allgemeines Vorgehen*

Die Festphasenextraktionen wässriger PSM-Standardlösungen in Vorversuchen wurden mit Einweg-Polypropylenkartuschen unterschiedlicher Hersteller durchgeführt. Zur Ermittlung des am besten geeigneten Sorbens wurden Festphasenkartuschen der Firma Macherey-Nagel, Baker, und Phenomenex verwendet. Alle anderen Proben sowie die Realproben wurden an Chromabond® C18 Kartuschen der Firma Macherey-Nagel angereichert.

Sofern bei der Methodenentwicklung nicht gesondert erwähnt, wurden alle Proben mit Chromabond® C18 Kartuschen wie folgt extrahiert. Auf das Festphasenbett wurde ein Rundfilter aus Filterpapier sowie ein Pfropfen aus Glaswolle aufgebracht um das Festphasenbett vor einem Verstopfen durch Schwebstoffe in der Probe zu schützen. Die Kartuschen wurden mit 6 ml Methanol gewaschen und mit 9 ml destilliertem Wasser konditioniert. Die Proben wurden jeweils mit 1 Vol% Methanol als Lösungsvermittler und 460 µl/L HCl (25%) versetzt. Mit diesem Schritt wird die Protonierung sowohl der Analytmoleküle als auch der noch vorhandenen freien Hydroxylgruppen auf der Oberfläche des Festphasenmaterials gewährleistet. Die Minimierung ionischer Wechselwirkungen zwischen Festphasenmaterial und Analytmolekülen ist unerlässlich um eine kontrollierte und reproduzierbare Anreicherung von Pflanzenschutzmitteln zu garantieren (WELLS ET AL. 2000, BARANOWSKA ET AL. 2000). In der Regel werden wässrige Proben dazu auf einen pH-Wert von 2 – 2.5 angesäuert. Die im Jahr 2001 genommenen Proben sind jedoch durch einen nicht mehr nachvollziehbaren Rechenfehler mit 32 ml HCl (25%) je Liter Probe auf einen pH-Wert von 0.6 angesäuert worden.

Anschließend wurde die Probe durch einen Teflonschlauch durch die Kartusche gesaugt. Der erforderliche Unterdruck wurde durch eine Vakuumextraktionskammer und eine Wasserstrahlpumpe erzeugt. Die Extraktionsgeschwindigkeit hing vom Unterdruck sowie vom Schwebstoffgehalt der zu extrahierenden Probe ab. Meist betrug sie zwischen 3 und 5 ml/h konnte aber bei einigen stark verschmutzten Proben so sehr abnehmen, dass die Extraktionen abgebrochen werden mussten. Die Realproben wurden nach erfolgter Anreicherung in der Regel bei  $-19\text{ °C}$  bis zur Analytik gelagert. Die Proben, die der Methodenentwicklung dienten wurden in der Regel sofort eluiert. Sofern nicht anders beschrieben wurden alle Proben mit Hilfe der Extraktionskammer mit 3 ml Methanol eluiert. Anschließend wurde das Volumen am Luftstrom auf 1 ml reduziert.

#### 6.3.1.2 Ermittlung eines geeigneten Sorbens

Zur Ermittlung des am besten geeigneten Sorbens für die Festphasenextraktion wurden die fünf folgenden unterschiedlich modifizierten Octadecyl-substituierten  $\text{SiO}_2$ -Phasen verwendet:

- Macherey-Nagel Chromabond<sup>®</sup> C18
- Macherey-Nagel Chromabond<sup>®</sup> C18ec
- Macherey-Nagel Chromabond<sup>®</sup> C18 Hydra
- Bakerbond Octadecyl
- Strata C18U

Außerdem wurden zwei hochvernetzte Polymerphasen sowie eine Aktivkohle-Kartusche verwendet:

- Macherey-Nagel Chromabond<sup>®</sup> Easy
- Macherey-Nagel HR-P
- Alltech Carbograph

Die modifizierten Octadecyl- sowie die Polymerphasen wurden wie in Kapitel 6.3.1.1. beschrieben behandelt. Die Aktivkohlephase wurde, entsprechend den Empfehlungen des Herstellers, mit 5 ml Dichlormethan/Methanol (80/20, v/v) und 1 ml Methanol gewaschen und mit 10 ml 2% Essigsäure konditioniert. Jeweils 500 ml destilliertes Wasser wurden mit einem Mischstandard so versetzt, dass eine Konzentration von ca. 210 ng/L erreicht wurde und angesäuert. Nach erfolgter

Extraktion wurden die Octadecyl- und die Polymerphasen mit 3 ml Methanol eluiert. Die Aktivkohlephase wurde mit 1 ml Methanol gewaschen und mit 7 ml Dichlormethan/Methanol (80:20, v/v) eluiert. Anschließend wurden alle Proben am Luftstrom auf 1 ml eingengt. Für jede der untersuchten Festphasenmaterialien wurde eine dreifach-Bestimmung durchgeführt.

#### 6.3.1.3 *Elutionsmittel und -volumen*

Methanol, Acetonitril und Acetessigester wurden auf ihre Eignung als Elutionsmittel für die Festphasenextraktion untersucht. Dazu wurden je drei wässrige Standardlösungen mit einer Konzentration von 210 ng/L einer Festphasenextraktion an einer Macherey-Nagel C-18 Kartusche unterworfen und mit jeweils drei Milliliter Lösungsmittel eluiert. Jeder Milliliter wurde separat aufgefangen und auf seinen Gehalt an Pflanzenschutzmittel untersucht. Im Anschluss wurde jede Kartusche mit 3 ml Dichlormethan gewaschen um eventuell noch auf der Kartusche verbliebene Pflanzenschutzmittel zu eluieren. Das Dichlormethan wurde am Luftstrom entfernt, der Rückstand in 1 ml Methanol aufgenommen und mittels HPLC-MS auf den Gehalt an Pflanzenschutzmitteln untersucht.

#### 6.3.1.4 *Bestimmung des Retardationsvermögens*

Um das Rückhaltevermögen der Festphasenkartuschen zu bestimmen wurden in einem weiteren Versuch drei Macherey-Nagel C-18 Kartuschen hintereinander geschaltet. Eine wässrige Standardlösung mit einer Konzentration von 600 ng/L wurde durch die Kartuschen gezogen. Jede Kartusche wurde anschließend mit 3 ml Methanol eluiert, das Lösungsmittel auf 1 ml eingengt und die Konzentrationen der Wirkstoffe im Eluat der drei Kartuschen ermittelt.

### 6.3.2 *Wiederfindungen aus Realproben*

#### 6.3.2.1 *Konzentrationsabhängigkeit*

Die Konzentrationsabhängigkeit der Wiederfindung wurde bestimmt, indem vier Proben der Buche Heiligenthal Nord mit 150, 300, 450 und 600 ng/L der 18 PSM-Mischung versetzt und der in Kapitel 6.3.1.1. beschriebenen Anreicherung unterzogen wurden.

### 6.3.2.2 *Abhängigkeit vom Elutionsvolumen und Retardationsvermögen*

Die Menge des Elutionsmittels, die nötig ist um die Pflanzenschutzmittel vollständig von der Festphase zu eluieren sowie das Durchbruchverhalten wurde, wie für destilliertes Wasser in Kapitel 6.3.1.3 beschrieben, auch für Stammabläufe der Buche WR1 durchgeführt.

### 6.3.2.3 *Wiederfindungen aus Stammabläufen, Durchtropfwasser und Regen*

Die Wiederfindungen der untersuchten Substanzen aus verschiedenen Stammabläufen wurden für alle fünf beprobten Stämme bestimmt. Dazu wurden im Sommer 2002 Proben mit einem Volumen von 2.5 Litern von allen beprobten Buchen, den Durchtropfrinnen sowie dem Regensammler entnommen. 500 ml jeder Probe wurde ohne Zugabe von Pflanzenschutzmitteln angereichert und analysiert. Jeweils 1500 ml wurden auf 375 ng/L je Wirkstoff aufgestockt, in drei Teilproben zu je 500 ml fraktioniert und angereichert. Dasselbe Verfahren wurde auf Proben von jeder Durchtropfrinne sowie einer Regenprobe aus Heiligenthal angewendet.

### 6.3.3 *Aufarbeitung der Realproben*

Aufgrund der ermittelten Wiederfindungen (siehe Kapitel 7.3) wurden die Realproben mit Hilfe der CHROMABOND® C 18 Festphasenkartusche von Macherey-Nagel nach der in Kapitel 6.3.1.1. beschriebenen Vorgehensweise angereichert. Sofern bei der Probenahme genügend Probenvolumen vorhanden war, wurden jeweils 500 ml Probe extrahiert. Nach erfolgter Anreicherung wurden die Proben bis zur Analytik bei -19°C gelagert.

## 6.4 **Analytik**

Die Analytik der Pflanzenschutzmittel erfolgte mit Hilfe eines single-quadrupole-Massenspektrometers gekoppelt mit einer HPLC-Einheit.

Aufgrund der sehr ähnlichen Retentionszeiten der Substanzen Bromoxynil, Atrazin, Chlortoluron, Isoproturon und Metazachlor erfolgte die Trennung der Herbizide in drei HPLC-Läufen mit jeweils unterschiedlichen Massenspuren. Als Eluenten kamen Methanol und 0.2% Essigsäure zum Einsatz. Die

chromatographischen Bedingungen für die Läufe 2 und 3 sind in Tabelle 5 gegeben. Im ersten Lauf wurde die Laufmittelzusammensetzung aufgrund der höheren Retentionszeit von Pendimethalin zwischen 21 und 26 Minuten konstant gehalten. Nach 26 Minuten wurde die Laufmittelzusammensetzung wie in Lauf 2 und 3 in 5 Minuten linear auf die Anfangsbedingungen gebracht.

**Tabelle 5:** Laufmittelprogramm zur Trennung der Herbizide in Lauf 2 und 3

Zeit [min]	Gradient	Anteil Methanol [%]	Anteil Essigsäure [%]
1	Isokratisch	20	80
21	Linear	90	10
26	Linear	20	80

Die Trennung erfolgte mit einem Fluss von 1 ml/min und bei einer konstanten Temperatur von 25 °C. Die Detektion der Substanzen erfolgte im SIM-Modus bei einer Ionisationsspannung von 5000 V im Positivmodus bzw. –5000 V im Negativmodus. Die detektierten Massen, bei denen es sich im Positivmodus um Addukte aus den untersuchten Substanzen entweder mit Protonen oder Natrium und im Negativmodus um deprotonierte Substanzen handelt, die Ionisationsmodi und die gefundenen Retentionszeiten sind in Tabelle 6 gegeben:

**Tabelle 6:** Detektierte Massen und Retentionszeiten der untersuchten PSM

LAUF 1		
Substanz	Detektierte Masse [amu] (Modus)	Retentionszeit [min]
Bentazon	239 (negativ)	15.45
Bromoxynil	276 (negativ)	18.26
Atrazin	218 (positiv)	18.74
Terbuthylazin	230 (positiv)	20.71
Metolachlor	248 (positiv)	22.11
Prosulfocarb	252 (positiv)	24.45
Pendimethalin	282 (positiv)	26.06
LAUF 2		
DIA	176 (positiv)	10.36
DEA	188 (positiv)	13.44
Simazin	202 (positiv)	16.68
Chlortoluron	235 (positiv)	18.45
Isoproturon	207 (positiv)	18.92
Ethofumesat	309 (positiv)	20.09
LAUF 3		
Metamitron	203 (positiv)	12.13
2,4-D	219 (negativ)	18.16
Metazachlor	300 (positiv)	18.54
Diuron	233 (positiv)	19.41
Linuron	249 (positiv)	20.58

Exemplarische Chromatogramme der untersuchten Pflanzenschutzmittel sind in Abbildungen 24 – 26 dargestellt:

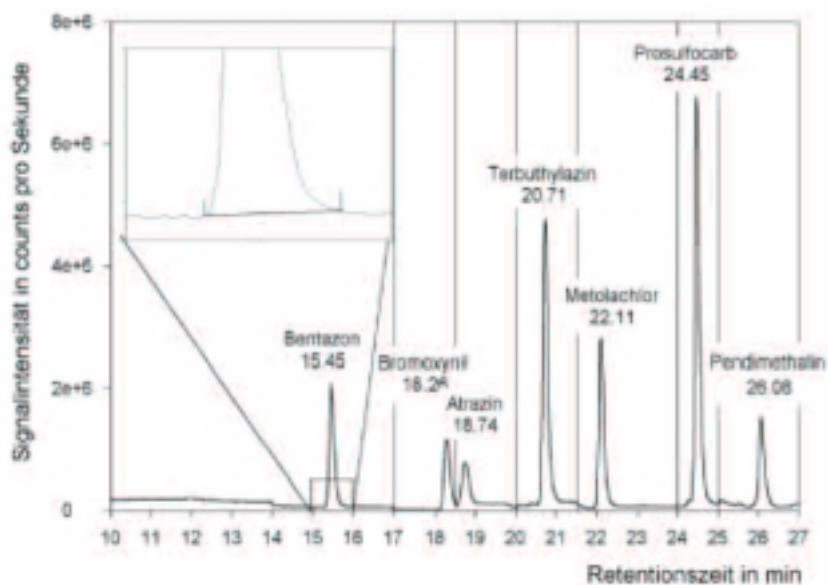


Abbildung 24: HPLC-MS-Chromatogramm Lauf 1 (Konzentration jeweils 100 µg/l)

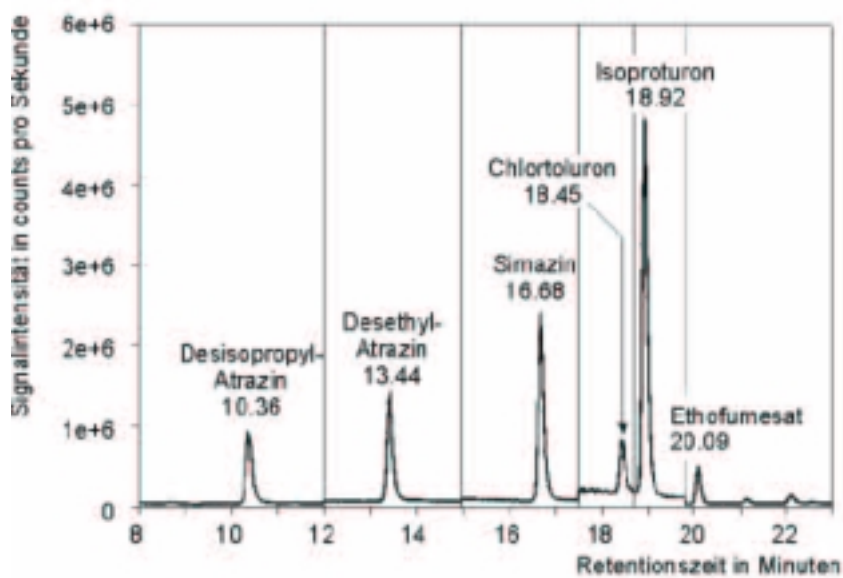
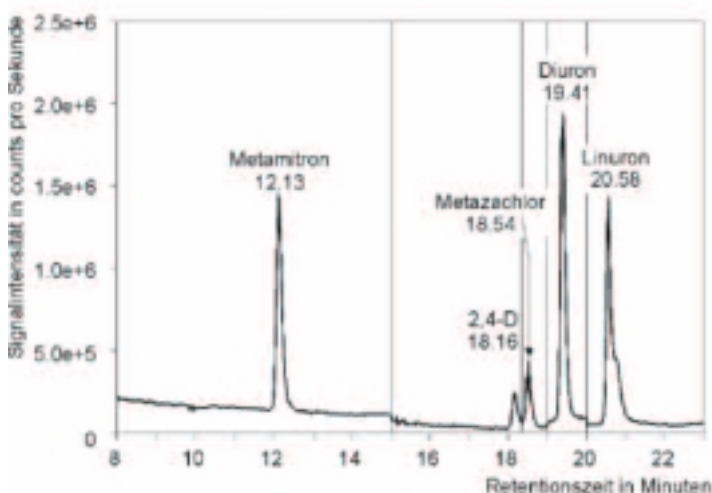


Abbildung 25: HPLC-MS-Chromatogramm Lauf 2 (Konzentration jeweils 100 µg/l)



Die Integration der detektierten Peaks erfolgte durch eine Integrationsroutine der verwendeten Analyst-Software. Diese berechnet über einen bestimmten Zeitraum den Mittelwert des Grundrauschens und bestimmt die zugehörige Standardabweichung. Weicht ein Datenpunkt um mehr als 5% von dieser ab, definiert die Software den Beginn eines Peaks. Das Ende des Peaks ist erreicht, wenn die Änderung der Intensität unter 25% der vor dem Beginn des Peaks berechneten Standardabweichung abfällt. Exemplarisch ist das Ergebnis dieser Integrationsroutine für Bentazon in Abbildung 24 dargestellt. In der Regel konnten die von der Software vorgeschlagenen Integrationsgrenzen übernommen werden. Nur in Ausnahmefällen, wie z.B. beim Auftreten von Schultern im Peak oder stark rauschenden Grundlinien musste eine manuelle Korrektur vorgenommen werden.



**Abbildung 26:** HPLC-MS-Chromatogramm Lauf 3 (Konzentration jeweils 100 µg/l)

Die Kalibrierung der untersuchten Substanzen erfolgte in der Regel in Konzentrationsbereichen zwischen 5 und 350 µg/L unter der Verwendung von 8 bis 10 Kalibrierstandards. Der Vergleich verschiedener Kalibrierungen zeigt, dass der Response des Massenspektrometers für einige Substanzen deutliche Unterschiede aufweist. Daher wurden in regelmäßigen kurzen Abständen Vergleichsstandards untersucht um diese Abweichungen zu detektieren.

Eine exemplarische Kalibrierung mit zugehörigen Korrelationskoeffizienten und den Nachweisgrenzen aus methanolischen Standards ist in Tabelle 7 gegeben:

**Tabelle 7:** Nachweisgrenzen ohne Probenanreicherung (berechnet nach DIN 32645 (DIN 1994) bei einem Vertrauensbereich von P=95%), Korrelationskoeffizienten und Geradengleichungen der Kalibration der untersuchten Substanzen

	Korrelationskoeffizient $R^2$	Steigung	Achsenabschnitt	Nachweisgrenze ( $\mu\text{g/L}$ )
Atrazin	0.9961	9.12E+04	-2.71E+05	23.0
Bentazon	0.9914	1.25E+05	2.72E+06	12.3
Bromoxynil	0.9965	1.41E+05	1.44E+06	16.7
Chlortoluron	0.9909	6.32E+04	2.23E+05	40.8
2,4-D	0.9984	1.05E+05	3.98E+05	36.4
DEA	0.9962	4.91E+04	-6.90E+05	4.5
DIA	0.9918	3.39E+04	-8.00E+05	8.0
Diuron	0.9978	8.11E+04	4.59E+05	10.7
Ethofumesat	0.9926	1.04E+04	-1.93E+05	12.0
Isoproturon	0.9916	2.34E+05	-7.84E+04	3.4
Linuron	0.9972	1.91E+04	3.71E+05	12.5
Metamitron	0.9976	4.82E+04	1.22E+05	4.3
Metazachlor	0.9912	1.51E+04	2.48E+05	17.3
Metolachlor	0.9998	2.27E+05	4.02E+05	13.3
Prosulfocarb	0.9995	2.87E+05	-6.68E+05	8.0
Pendimethalin	0.9976	5.83E+04	-4.66E+05	33.1
Simazin	0.9941	1.30E+05	-5.80E+05	1.5
Terbuthylazin	0.9921	4.38E+05	-2.01E+06	10.5

## 6.5 Geräte und Chemikalien

### 6.5.1 Geräte

#### 6.5.1.1 Probenahme

Die Rinnen zur Sammlung von Stammablaufproben sind mit 30  $\mu\text{m}$  dicker Aluminiumfolie der Firma Merck KGaA Darmstadt und handelsüblichen Drähten

erstellt worden. Der Überlauf ist in Kunststoffkanistern aufgefangen worden, die an den oberen Stammablauffrinnen ein Volumen von 34 Litern und an den unteren Rinnen von 11 Litern aufwiesen. Alle zur Analytik vorgesehenen Wasserproben sind ausschließlich durch Glasgeräte geleitet worden. Wasserproben, die lediglich der Messung von Wassermengen dienten wurden in der Regel durch Gummischläuche geleitet. Die zur Quantifizierung des Kanisterüberlaufes verwendeten Wasseruhren sind von der Firma Avacon in Lüneburg zur Verfügung gestellt worden.

Die Durchtropfrinnen sind aus halbierten PVC-Rohren hergestellt worden, die auf der Innenseite mit derselben Aluminiumfolie verkleidet wurden, die auch zur Erstellung der Stammablauffrinnen diente. Die statistische Erfassung der Durchtropfmengen an der Buche WR1 wurde mit Sammelgefäßen durchgeführt, die eine Öffnung zwischen 26.0 und 27.3 cm aufwiesen. Die Regensammler sind von einem ortsansässigen Schweißerbetrieb aus V2A-Stahl hergestellt worden. Sie wiesen eine obere Öffnung von 50 x 50 cm auf. Die Seitenwände hatten ein Gefälle von 20° und mündeten in eine 2.5 x 2.5 cm große quadratische Öffnung. Alle Wasserproben sind mittels Glastrichter in braune 2.5 Liter-Glasflaschen geleitet worden. Die Proben sind in braunen 1 Liter-Flaschen aus dem Wald ins Labor überführt worden.

#### 6.5.1.2 HPLC-MS

Die HPLC-Einheit ist mit einer Pumpe der Serie 200 der Firma Perkin Elmer (Rodgau-Jügesheim, Deutschland) und einem Autosampler der Serie 200 derselben Firma ausgestattet. Die Trennung erfolgte auf einer LiChroCart<sup>®</sup>250-4 Säule mit einer Länge von 250 mm und einem Innendurchmesser von 4 mm, der Firma Merck KGaA Darmstadt. Die Säule enthält die Füllung LiChrospher<sup>®</sup>100 RP-18 endcapped, 5 µm Partikelgröße, eine reversed phase Octadecylphase die nachg capped wurde. Die Thermostatisierung der Säule wurde durch einen Säulenthermostat „Mistral“ Typ 880 der Firma Spark Holland, Emmen, Niederlande gewährleistet.

Die Detektion erfolgte mit Hilfe eines single Quadrupol Massenspektrometers API 165 der Firma Perkin Elmer. Dieses Gerät ist mit einem auswechselbaren Interface versehen und wurde im Rahmen dieser Arbeit mit einem Turbo-Ionspray

genutzt. Dieses stellt eine druckluftunterstützte Variante des gewöhnlichen electro-spray-Interfaces dar.

Im ersten Jahr erfolgte die Gerätesteuerung durch einen Power Macintosh 7300/200 und die Datenakquisition durch das Programm Sample Control 1.4. Als Integrations-Software diente MacQuan 1.6, beide von der Firma Applied Biosystems/SCIEX, Foster City, Canada. Im zweiten Jahr wurde die Steuerung umgestellt auf einen PC mit Windows NT Betriebssystem. Die Steuerung, Datenaquisition und Auswertung erfolgte durch die Analyst 1.1 Software.

### 6.5.1.3 Festphasenextraktion

Zur Ermittlung des optimalen Festphasenmaterials wurden folgende Kartuschen verwendet:

Chromabond<sup>®</sup> C18 (500 mg Octadecyl-phase, nicht endcapped, Porengröße: 60 Å, Oberfläche: 500 m<sup>2</sup>/g, Partikelgröße: 45 µm, 14% C-Gehalt) (Macherey-Nagel, Düren, Deutschland)

Chromabond<sup>®</sup> C18ec (500 mg octadecyl-phase, endcapped, Porengröße: 60 Å, Oberfläche: 500 m<sup>2</sup>/g, Partikelgröße: 45 µm, 14% C-Gehalt) (Macherey-Nagel, Düren, Deutschland)

Chromabond<sup>®</sup> C18 Hydra (500 mg octadecyl-Phase, nicht endcapped, Porengröße: 60 Å, Oberfläche: 500 m<sup>2</sup>/g, Partikelgröße: 45 µm, 15% C-Gehalt) (Macherey-Nagel, Düren, Deutschland)

Bakerbond Octadecyl (500 mg trifunktionale Octadecyl-Phase, endcapped, Porengröße: 60 Å, Oberfläche: 500 m<sup>2</sup>/g; Partikelgröße: 40 µm, 17% C-Gehalt) (J.T. Baker, Deventer, Niederlande)

Strata C18U (500 mg trifunktionale Octadecyl-Phase, nicht endcapped, Oberfläche: 300m<sup>2</sup>/g, Partikelgröße, 50 µm) (Phenomenex, Torrance, California, USA)

Chromabond<sup>®</sup> Easy (200 mg bifunktionales Polystyrene Divinylbenzen Copolymer Porengröße 50 Å, Oberfläche 650-700 m<sup>2</sup>/g, Partikelgröße 80 µm,) (Macherey-Nagel, Düren, Deutschland)

HR-P (200 mg hoch poröses Polystyrene Divinylbenzen Copolymer, Oberfläche: 1200 m<sup>2</sup>/g, Partikelgröße: 50-100 µm) (Macherey-Nagel, Düren, Deutschland)

Alltech Carbograph (500 mg Aktivkohle-Phase, Oberfläche: 100 m<sup>2</sup>/g, Partikelgröße: 38-125 µm) (Alltech Associates, Deerfield, Illinois, USA)

Die Extraktion wurde mit Hilfe eines LICHROLUT<sup>®</sup>-Systems der Firma Merck KGaA Darmstadt mit 12 Ventilen durchgeführt.

### 6.5.2 Chemikalien

Isoproturon, Atrazin, 2,4-D, Chlortoluron, Bromoxynil, Terbutylazin und Metamitron wurden als Standards für analytische Zwecke von der Firma Riedel-de Haën, Laborchemikalien GmbH & Co. KG, Seelze, Deutschland bezogen. Die restlichen Pflanzenschutzmittel sind als Referenzmaterialien für die Rückstandsanalytik von der Firma Ehrenstorfer GmbH, Augsburg, Deutschland bezogen worden. Alle Standards sind ohne weitere Reinigung verwendet worden.

Alle verwendeten organischen Lösungsmittel wiesen für die Flüssigchromatographie geeignete Reinheiten auf und wurden je nach Angebotslage von den Firmen Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland, Promochem, Wesel, Deutschland und J.T.Baker, Deventer, Niederlande bezogen. Reinstwasser wurde in einer hauseigenen Reinstwasseranlage, Modell OptiLab, bestückt mit einer Aktiv-Kohle-Patrone, zwei Mischbett-Ionenaustauscher-Patronen sowie einem Scavenger-Element zur Entfernung niedermolekularer organischer Verunreinigungen der Firma MembraPure, Bodenheim hergestellt. Als Ionsisierungshilfen ist Essigsäure, 99.7 %, bezogen von der Firma Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland, verwendet worden.