

3 Bewertung der Pestizidbelastung in Bezug auf unterschiedliche Schutzgüter

Bei der Beurteilung der Gewässergüte von Fließgewässern werden chemische, ökologische sowie auch morphologische Aspekte berücksichtigt (vergl. Wasserrahmenrichtlinie (WRRL), 2000/60/EC, 2000). Zur Bewertung der chemischen Belastung sind stoffbezogene Qualitätskriterien notwendig. Diese werden seit den 90er Jahren für unterschiedliche Schutzgüter für eine zunehmende Anzahl von Stoffen, u.a. Pestizide, ermittelt. Dies erfolgt in Deutschland insbesondere durch die Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA) und durch Flusseinzugsgebiets-Kommissionen wie der Internationalen Kommission zum Schutze des Rheins (IKSR) oder der Internationalen Kommission zum Schutz der Elbe (IKSE). Auf europäischer Ebene sind die Gewässerschutzrichtlinie (76/464/EEC, 1976) und die WRRL und ihre Tochter-Direktiven sowie deren nationale Umsetzung als wesentliche Instrumente zu nennen.

Stoffbezogene Qualitätskriterien sind international mit einer Vielzahl von Begriffen belegt. Im Folgenden soll zwischen den Begriffen *Qualitätskriterien* ('quality criteria', QC) und *Qualitätszielen* ('quality objectives', QO) unterschieden werden. QC sind aus naturwissenschaftlichen Erkenntnissen abgeleitete Anforderungen zur Erreichung eines Schutzzieles, als Basis zur Festlegung von QO und Qualitätsstandards sowie auch für stoffrechtliche Regelungen. QO sind umweltpolitisch festgelegte Orientierungswerte bezüglich eines Schutzgutes und eines bestimmten Gebietes. Sofern diese zu erreichenden oder einzuhaltenden Werte rechtlich verbindlich sind, werden sie auch als *Qualitätsstandards* bezeichnet (vergl. Schudoma, 2000; Claussen et al., 2000).

Übliche Schutzgüter, für die QC- bzw. QO-Daten ermittelt werden, sind die aquatische Lebensgemeinschaft (AQL), Trinkwassergewinnung und Fischerei. Die Wertefestlegung basiert i.d.R. auf dem empfindlichsten Schutzgut. Einen internationalen Vergleich von Ableitungsmethoden für QC gibt Schudoma (2000). Die toxikologische Grundlage zur Ableitung von QC für das Schutzgut AQL sind NOEC-Werte aus (sub)chronischen Biotests für unterschiedliche trophische Ebenen. Bei unzureichender Datenlage werden akute Wirkungsdaten mit herangezogen, was größere Ausgleichs-/Sicherheitsfaktoren bei der Festlegung von QC zur Folge hat.

Für die Bewertung der Belastung der Elbe im Hinblick auf das Schutzgut „Trinkwasser“ wird der Grenzwert der EG-Trinkwasserrichtlinie (98/83/EC, 1998) herangezogen. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass der Trinkwassergrenzwert von 0,1 µg/L je Pestizidwirkstoff pragmatisch festgelegt ist. Ihm liegen keine toxikologischen Bewertungen der Einzelstoffe zugrunde. Insbesondere aus diesem Grund wurde die Übernahme des Trinkwassergrenzwertes für Pestizide als Qualitätsziel für Oberflächengewässer in Deutschland schon Anfang der 90er Jahre äußerst kontrovers diskutiert (Irmer et al., 1994).

Das Schutzgut „Fischerei bzw. Fischkonsum“ bleibt unberücksichtigt, weil für die hier betrachteten Substanzen im Gegensatz zu beispielsweise chlorierten unpolaren Wirkstoffen die Biokonzentrationsfaktoren (BCF) gering sind und/oder keine Höchstmengen für Fisch/Fischerzeugnisse (RHmV, 1999) festgelegt wurden. Wasserbezogene QC für das Schutzgut „Fischkonsum“ werden i.d.R. aus toxikologisch zulässigen Höchstmengen im Nahrungsmittel und BCF-Werten ermittelt.

Eine Übersicht von QC/QO-Werten für die in dieser Arbeit analysierten Pestizide hinsichtlich des Schutzgutes AQL gibt Tabelle 3-1. Von der IKSE, IKSR und LAWA waren insgesamt für

3 Bewertung der Pestizidbelastung in Bezug auf unterschiedliche Schutzgüter

Tab. 3-1: Qualitätskriterien und Qualitätsziele für Pestizide und das Schutzgut „aquatische Lebensgemeinschaft“

Wirkstoff	QC, QO ^a µg L ⁻¹	Gebiet / Referenz	Bezeichnung	Schutzgut	Bezug
Alachlor	0,2 (0,035)	Jahnel 2001	QC	FRESH	90-Perz.
		Lepper 2002	(EQS)	FRESH	AA
Aldicarb-sulfon	1 ^b	CAN	GL	FRESH	MAX
Ametryn	0,5	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
Anilazin	0,085	NL	EQS	SURF	MPC
Atrazin	0,1 2,9 2 ^c 0,34 1,8	IKSR 2000	ZV	FRESH	90-Perz.
		NL	EQS	SURF	MPC
		UK 76/464	EQS	FRESH	AA
		Lepper 2002	(EQS)	FRESH	AA
		CAN	GL	FRESH	MAX
Azinphos-ethyl	0,011 0,01	NL	EQS	SURF	MPC
		EEC 76/464	QC	SURF	
Azinphos-methyl	0,001 0,01 0,012 0,01 0,01	IKSR 2000	ZV	FRESH	90-Perz.
		LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
		NL	EQS	SURF	MPC
		UK 76/464	EQS	FRESH	AA
		EEC 76/464	QC	SURF	
Bentazon	1 70 64 500	IKSR 1995a	ZV	FRESH	90-Perz.
		LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
		NL	EQS	SURF	MPC
		UK 76/464	EQS	FRESH	AA
Bromacil	0,6 5	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
		CAN	GL	FRESH	MAX
Bromoxynil	5	CAN	GL	FRESH	MAX
Carbaryl	0,06 0,23 0,2	Jahnel 2001	QC	FRESH	90-Perz.
		NL	EQS	SURF	MPC
		CAN	GL	FRESH	MAX
Carbofuran	0,015 0,1 0,91 1,8	IKSR 1997c	QC	FRESH	90-Perz.
		Jahnel 2001	QC	FRESH	90-Perz.
		NL	EQS	SURF	MPC
		CAN	GL	FRESH	MAX
Chlorfenvinfos	0,002 0,01	NL	EQS	SURF	MPC
		Lepper 2002	(EQS)	FRESH	AA
Chloridazon	10 73	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
		NL	EQS	SURF	MPC
Chlorpyrifos	0,003 0,00046 0,0035 0,041	NL	EQS	SURF	MPC
		Lepper 2002	(EQS)	FRESH	AA
		CAN	GL	FRESH	MAX
		USA	QC	FRESH	CC
Chlortoluron	1 0,4	IKSR 1995b	QC	FRESH	90-Perz.
		LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
Coumaphos	0,07 0,0007	BRD 76/464	QO	FRESH	AA
		NL	EQS	SURF	MPC
Cyanazin	0,19 2	NL	EQS	SURF	MPC
		CAN	GL	FRESH	MAX

Tab. 3-1 (Forts.): Qualitätskriterien und Qualitätsziele für Pestizide und das Schutzgut „aquatische Lebensgemeinschaft“

Wirkstoff	QC, QO ^a µg L ⁻¹	Gebiet / Referenz	Bezeich- nung	Schutz- gut	Bezug
2,4-D	0,7	IKSR 1997b	ZV	FRESH	90-Perz.
	2,4	IKSR 1995b	QC	FRESH	90-Perz.
	2	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
	10	NL	EQS	SURF	MPC
	4	CAN	GL	FRESH	MAX
Deltamethrin	0,0003	NL	EQS	SURF	MPC
	0,0004	CAN	GL	FRESH	MAX
Diazinon	0,02	IKSR 2000	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,037	NL	EQS	SURF	MPC
Dicamba	10	CAN	GL	FRESH	MAX
Dichlorprop	10	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
	40	NL	EQS	SURF	MPC
Dichlorvos	0,0007	IKSR 2000	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,0006	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,0007	NL	EQS	SURF	MPC
	0,001	UK 76/464	EQS	FRESH	AA
	0,001	EEC 76/464	QC	SURF	
Dimethoat	0,01	IKSE 1997	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,2	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
	23	NL	EQS	SURF	MPC
	1	UK 76/464	EQS	FRESH	AA
	6,2	CAN	GL	FRESH	MAX
Dinoseb	0,03	NL	EQS	SURF	MPC
	0,05	CAN	GL	FRESH	MAX
Dinoterb	0,034	IKSR 1997c	QC	FRESH	90-Perz.
	0,3	Jahnel 2001	QC	FRESH	90-Perz.
	0,03	NL	EQS	SURF	MPC
Diuron	0,006	IKSR 2000	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,001	IKSR 1995b	QC	FRESH	90-Perz.
	0,05	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,43	NL	EQS	SURF	MPC
	0,046	Lepper 2002	(EQS)	FRESH	AA
DNOC	10	Jahnel 2001	QC	FRESH	90-Perz.
	21	NL	EQS	SURF	MPC
Etrimfos	0,004	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
Fenitrothion	0,001	IKSR 2000	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,009	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,009	NL	EQS	SURF	MPC
	0,01	UK 76/464	EQS	FRESH	AA
	0,01	EEC 76/464	QC	SURF	
Fluroxypyr	10	Jahnel 2001	QC	FRESH	90-Perz.
loxynil	0,1	Jahnel 2001	QC	FRESH	90-Perz.
Isoproturon	0,2	IKSR 1997b	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,32	IKSR 1995b	QC	FRESH	90-Perz.
	0,3	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,32	NL	EQS	SURF	MPC
	0,32	Lepper 2002	(EQS)	FRESH	AA

3 Bewertung der Pestizidbelastung in Bezug auf unterschiedliche Schutzgüter

Tab. 3-1 (Forts.): Qualitätskriterien und Qualitätsziele für Pestizide und das Schutzgut „aquatische Lebensgemeinschaft“

Wirkstoff	QC, QO ^a µg L ⁻¹	Gebiet / Referenz	Bezeich- nung	Schutz- gut	Bezug
Linuron	0,3	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,25	NL	EQS	SURF	MPC
	2	UK 76/464	EQS	FRESH	AA
	7	CAN	GL	FRESH	MAX
Malathion	0,02	IKSR 2000	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,02	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,013	NL	EQS	SURF	MPC
	0,01	UK 76/464	EQS	FRESH	AA
	0,01	EEC 76/464	QC	SURF	
MCPA	200	IKSR 1995b	QC	FRESH	90-Perz.
	2	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
	2	NL	EQS	SURF	MPC
	2,6	CAN	GL	FRESH	MAX
Mecoprop	0,3 ^d	IKSR 1997b	ZV	FRESH	90-Perz.
	330 ^d	IKSR 1995b	QC	FRESH	90-Perz.
	50	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
	4	NL	EQS	SURF	MPC
	20	UK 76/464	EQS	FRESH	AA
Metalaxyl	78	Jahnel 2001	QC	FRESH	90-Perz.
Metamitron	0,1	Jahnel 2001	QC	FRESH	90-Perz.
	10	NL	EQS	SURF	MPC
Metazachlor	0,4	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
	34	NL	EQS	SURF	MPC
Methabenzthiazuron	2	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
	1,8	NL	EQS	SURF	MPC
Metobromuron	10	NL	EQS	SURF	MPC
Metolachlor	0,2	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,2	NL	EQS	SURF	MPC
	7,8	CAN	GL	FRESH	MAX
Metribuzin	1	CAN	GL	FRESH	MAX
Mevinphos	0,0002	IKSR 2000	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,0002	BRD 76/464	QO	FRESH	AA
	0,002	NL	EQS	SURF	MPC
	0,02	UK 76/464	EQS	FRESH	MAX
Omethoat	0,01	UK 76/464	EQS	FRESH	AA
Oxamyl	1,8	NL	EQS	SURF	MPC
Parathion-ethyl	0,0002	IKSR 2000	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,005	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,002	NL	EQS	SURF	MPC
	0,01	EEC 76/464	QC	SURF	
	0,013	USA	QC	FRESH	CC
Parathion-methyl	0,01	IKSE 1997	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,01	IKSR 2000	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,02	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,011	NL	EQS	SURF	MPC
	0,01	EEC 76/464	QC	SURF	

Tab. 3-1 (Forts.): Qualitätskriterien und Qualitätsziele für Pestizide und das Schutzgut „aquatische Lebensgemeinschaft“

Wirkstoff	QC, QO ^a µg L ⁻¹	Gebiet / Referenz	Bezeich- nung	Schutz- gut	Bezug
Pirimicarb	0,09	IKSR 2000	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,09	NL	EQS	SURF	MPC
Prometryn	0,01	IKSR 1997c	QC	FRESH	90-Perz.
	0,5	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
Propachlor	0,2	Jahnel 2001	QC	FRESH	90-Perz.
	1,3	NL	EQS	SURF	MPC
Propoxur	0,01	NL	EQS	SURF	MPC
Pyrazophos	0,0006	IKSR 2000	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,04	NL	EQS	SURF	MPC
Simazin	0,06	IKSR 2000	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,1	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,14	NL	EQS	SURF	MPC
	2 ^c	UK 76/464	EQS	FRESH	AA
	1	EEC 76/464	QC	SURF	
	10	CAN	GL	FRESH	MAX
2,4,5-T	9	NL	EQS	SURF	MPC
	1 ^e	EEC 76/464	QC	SURF	
2,4,5-T-isobutyl-ester	1 ^e	EEC 76/464	QC	SURF	
2,4,5-T-methyl-ester	1 ^e	EEC 76/464	QC	SURF	
2,4,5-T-isooctylester	1 ^e	EEC 76/464	QC	SURF	
Terbutylazin	0,33	IKSR 1995b	QC	FRESH	90-Perz.
	0,5	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
Terbutryn	0,032	IKSR 1997a	QC	FRESH	90-Perz.
	0,1	Jahnel 2001	QC	FRESH	90-Perz.
Triallat	1,9	NL	EQS	SURF	MPC
	0,24	CAN	GL	FRESH	MAX
Triazophos	0,03	IKSR 2000	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,03	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,03	BRD 76/464	QO	FRESH	AA
	0,032	NL	EQS	SURF	MPC
	0,005	UK 76/464	EQS	FRESH	AA
Trifluralin	0,002	IKSR 2000	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,03	LAWA	ZV	FRESH	90-Perz.
	0,037	NL	EQS	SURF	MPC
	0,1	UK 76/464	EQS	FRESH	AA
	0,1	EEC 76/464	QC	SURF	
	0,03	Lepper 2002	(EQS)	FRESH	AA
	0,2	CAN	GL	FRESH	MAX

3 Bewertung der Pestizidbelastung in Bezug auf unterschiedliche Schutzgüter

Tab. 3-1 (Forts.): Qualitätskriterien und Qualitätsziele für Pestizide und das Schutzgut „aquatische Lebensgemeinschaft“

Legende

IKSE: Internationale Kommission zum Schutz der Elbe

IKSR: Internationale Kommission zum Schutze des Rheins

LAWA: Länderarbeitsgemeinschaft Wasser, Deutschland (LAWA, 2001)

BRD 76/464: Deutschland, Verordnung der Bundesländer für Qualitätsziele für gefährliche Stoffe der EG-Gewässerschutzrichtlinie 76/464/EEC (BRD 76/464/EEC, 2001)

Jahnel et al. (2001): Vorschläge für Zielvorgaben, abgeleitet nach den Leitlinien der IKSR.

NL: Niederlande (Crommentuijn et al., 2000)

UK 76/464: Großbritannien, Qualitätsstandards für gefährliche Stoffe der EG-Gewässerschutzrichtlinie 76/464/EEC (UK Environment Agency, 2002)

EEC 76/464: Europäische Gemeinschaft, Vorschläge für Qualitätsziele für gefährliche Stoffe der EG-Gewässerschutzrichtlinie 76/464/EEC (Bro-Rasmussen et al., 1994)

Lepper (2002): Europäische Gemeinschaft, Vorschläge für Qualitätsstandards für prioritäre Stoffe der Wasserrahmenrichtlinie.

CAN: Kanada (CCME, 2002)

USA: United States of America (U.S. EPA, 2002)

QC: Qualitätskriterium (quality criterion); **QO:** Qualitätsziel (quality objective);

EQS: environmental quality standard; **GL:** guideline; **ZV:** Zielvorgabe

FRESH: Süßwasser (fresh water); **SURF:** Oberflächenwasser (surface water)

90-Perz.: 90-Perzentil; **AA:** annual average; **CC:** continuous concentration; **MAX:** maximum value; **MPC:** maximum permissible concentration

^a Werte in Fettdruck: Zur Bewertung herangezogene QC/QO

^b Σ (Aldicarb, Aldicarb-sulfoxid, Aldicarb-sulfon); ^c Σ (Atrazin, Simazin); ^d Mecoprop-P;

^e Σ (2,4,5-T inkl. Ester, Salze)

lediglich 36 Wirkstoffe QC/QO-Werte verfügbar. Durch Ausdehnung der Recherche auf international verfügbare Daten konnten für insgesamt 65 der 106 Analyte (vergl. Tab. 4-8) QC/QO-Werte zusammengestellt werden.

Eine sich verbessernde toxikologische Datenbasis führt zur Überprüfung und gegebenenfalls zur Neufestlegung von QC bzw. QO. Dies und die Tatsache, dass sich die Konzepte unterschiedlicher Institutionen zur Ableitung von QC/QO-Werten unterscheiden, führt für einzelne Wirkstoffe zu zum Teil um mehr als eine Größenordnung voneinander abweichenden QC/QO-Werten (siehe Tabelle 3-1). Die Auswahl von QC/QO-Werten für die Bewertung im Hinblick auf das Schutzgut AQL (fettgedruckte Werte in Tab. 3-1) erfolgte u.a. nach folgenden Gesichtspunkten in der Reihenfolge abnehmender Priorität: (i) QO > QC, (ii) BRD > Europa > Sonst; (iii) IKSE > IKSR > LAWA. Die Bewertung der Analysenergebnisse erfolgt in Kapitel 5.6.

4 Chemisch-analytische Verfahren

In diesem Kapitel wird zunächst ein kurzer Überblick über gebräuchliche Methoden und den Trend in der Spurenanalytik von Pestiziden in Oberflächengewässern gegeben. Es werden die Kriterien dargestellt, aufgrund derer die chemisch-analytischen Verfahren entwickelt wurden. Diese und die mit dem jeweiligen Verfahren bestimmbaren Parameter werden vorgestellt, wobei auf wesentliche Ergebnisse der Optimierung und Besonderheiten eingegangen wird. Die entsprechenden Arbeitsvorschriften (SOP) sind im Anhang wiedergegeben. Es folgt eine vergleichende und zusammenfassende Diskussion der Leistungscharakteristika der einzelnen Verfahren.

4.1 Methoden zur Anreicherung, Trennung und Detektion von Pestiziden in Oberflächengewässern

Die Trennung durch chromatographische Methoden und anschließende Detektion ist die übliche Vorgehensweise zur Bestimmung von Pestiziden in Oberflächengewässern. Gaschromatographie (GC) und Flüssigchromatographie (LC) sind die Methoden der Wahl, wobei polarere und/oder thermolabile Analyte ohne vorhergehende Derivatisierung nicht gaschromatographisch getrennt werden können.

Klassische Pestizide, persistente chlorierte Insektizide und Phosphorsäureester-Insektizide, die unpolar bzw. mäßig polar sind, eine hohe thermische Stabilität sowie eine hinreichende Flüchtigkeit aufweisen, wurden seit Anfang der 70er Jahre zunehmend mit GC-Verfahren analysiert (Barceló & Hennion, 1997; Geerdink et al., 2000). Hierbei wurden vorrangig selektive Detektoren eingesetzt, die noch heute in der Routineanalytik Anwendung finden: Elektroneneinfangdetektor (ECD), Thermionischer Detektor (NPD) oder Flammenphotometrischer Detektor (FPD). Zudem werden instrumentell aufwendigere und kostenintensivere Gaschromatographie-Massenspektrometrie-Kopplungen (GC-MS) eingesetzt.

Die meisten Carbamat-Insektizide, einige Phenylharnstoff-Herbizide, Phenoxy-carbonsäure-Herbizide sowie weitere polare Wirkstoffe können ohne vorhergehende Derivatisierung nicht mit der GC analysiert werden. Hierfür werden LC-Verfahren eingesetzt, wobei die Detektion meist mittels Diodenarraydetektor (DAD, im UV-Bereich) oder Fluoreszenzdetektor erfolgt (Barceló & Hennion, 1997). Seit der Entwicklung leistungsfähiger LC-MS-Kopplungen ('atmospheric pressure ionisation', API) gewinnen LC-MS-Techniken zunehmend an Bedeutung (Hogenboom et al., 2001; Hogendoorn & van Zoonen, 2000).

Ursprünglich war die Flüssig-Flüssig-Extraktion (LLE, 'liquid-liquid extraction') die Methode der Wahl zur Anreicherung wässriger Proben. Durch die Entwicklung leistungsfähiger Sorbentien ist die Festphasenanreicherung ('solid-phase extraction', SPE) heute die gebräuchlichste Anreicherungsmethode (Hennion, 1999). Sie ist weniger arbeitsintensiv und benötigt deutlich verringerte Lösungsmittelmengen im Vergleich zur LLE.

Hinsichtlich weiterer, weniger häufig angewandeter Methoden zur Anreicherung, Trennung und Detektion einschließlich immunchemischer Methoden wird auf die bereits zitierten Arbeiten sowie auf Übersichtsartikel von Balinova (1996), Martín-Esteban et al. (1998) und Sherma (2001) verwiesen. Generell zu beobachten ist der Trend hin zu sogenannten "Multimethoden", die die gleichzeitige Bestimmung einer möglichst großen Anzahl unterschiedlicher Analyte erlauben sollen.

4.2 Kriterien für die Entwicklung der chemisch-analytischen Verfahren

Wesentliche Teile der Arbeiten zur Entwicklung chemisch-analytischer Verfahren und deren Anwendung zur Ermittlung der Belastung der Elbe mit Pestiziden wurden im Rahmen von vom Umweltbundesamt geförderten Forschungsprojekten durchgeführt (siehe Kapitel 1). Nachfolgend sollen die Kriterien vorgestellt werden, die für die Entwicklung und Optimierung der einzelnen Verfahren vorrangig waren. Bezüglich der Kriterien zur Auswahl der untersuchten Wirkstoffe wird auf Kapitel 5.2 verwiesen.

Unterschieden wird zwischen 'target'- und 'non-target'-Analyseverfahren. In der 'target'-Analytik werden ausgewählte Analyte identifiziert und quantifiziert, i.d.R. unter Benutzung von Kalibrierlösungen, die eben diese Analyte enthalten. Im Gegensatz dazu strebt die 'non-target'-Analytik die Identifizierung und gegebenenfalls nachfolgend die Quantifizierung nicht im voraus bekannter Probeninhaltsstoffe an. Massenspektrometrische Verfahren eignen sich hierfür, da Massenspektren strukturelevante Informationen liefern. Beim Einsatz von GC-MS-Methoden in Verbindung mit Elektronenstoßionisierung (EI) gelingt für übliche Umweltkontaminanten häufig eine Identifizierung über Spektrendatenbanken, wobei eine nachträgliche Absicherung ratsam ist. Im Gegensatz dazu sind LC-MS-(MS)-Spektren, die mit API ('atmospheric pressure ionisation') erhalten wurden, deutlich schwieriger zu interpretieren. Spektrendatenbanken stehen hier i.d.R. nicht zur Verfügung.

'Non-target'-Analytik (Screening)

Es sollte ein Screening-Verfahren (Kapitel 4.3) entwickelt werden, das die getrennte Erfassung von an Schwebstoffen (SPM) gebundenen und in der Wasserphase gelöst vorliegenden Stoffen erlaubt. Hierbei sollte die Probenvorbereitung so ausgerichtet sein, dass ein möglichst großes Spektrum unterschiedlicher Substanzen hinsichtlich ihrer chemischen Struktur und auch ihrer Polarität erfasst wird. Die Identifizierung/Quantifizierung sollte mittels GC-MS erfolgen, was das Polaritätsspektrum analysierbarer Substanzen hinsichtlich polarer Verbindungen deutlich einschränkte. Ein LC-MS-System stand zum damaligen Zeitpunkt nicht zur Verfügung. Die 'non-target'-Analyse unbekannter Verbindungen sollte im 'scan'-Modus erfolgen. Gleichzeitig sollte das Verfahren die 'target'-Analyse ausgewählter Stoffgruppen im SIM-Modus ('selected ion monitoring') erlauben.

Das Ziel war, einen Überblick über das vorliegende Stoffspektrum in der Elbe, d.h. Hauptkomponenten und ausgewählte Stoffgruppen, zu erlangen und nachfolgend Routineverfahren zur Quantifizierung ausgewählter Substanzklassen zu entwickeln.

'Target'-Analytik (Routineverfahren)

Zur Bestimmung von Pestiziden in der Wasserphase sollten Routineverfahren entwickelt werden, um das Stoffspektrum und die Belastung aus größeren Messreihen zu ermitteln. Angestrebt wurden daher möglichst einfach zu handhabende Verfahren, die die Bestimmung der Pestizide möglichst in Konzentrationsbereichen bis unterhalb des Trinkwassergrenzwertes von 0,1 µg/L je Einzelwirkstoff erlauben. Die Analyseverfahren im Einzelnen sind:

- SPE, GC-NPD (Kapitel 4.4.1)
- SPE, HPLC-DAD (Kapitel 4.4.2)

- DVGW-Analyseverfahren¹ zur Bestimmung polarer Pestizide, aliphatischer Chlorcarbon-säuren und Nitrofen (Analyte und Bestimmungsgrenzen siehe Tabelle 4-8)

'Target'-Analytik für Wirkstoffe mit niedrigen QC/QO-Werten

Ausgangspunkt und Motivation für die Entwicklung von im Vergleich zu den Routineverfahren deutlich nachweisstärkeren Verfahren war die Tatsache, dass mit den Routineverfahren viele Wirkstoffe nicht im Bereich ihrer QC/QO-Werte (Schutzgut „aquatische Lebensgemeinschaft“, AQL) identifiziert bzw. quantifiziert werden konnten. Um dies zu veranschaulichen sind in Abbildung 4-1 die zusammengefassten Positivbefunde für Pestizide im Untersuchungszeitraum 1994 - 1996 den QC/QO-Werten und den Bestimmungsgrenzen der eingesetzten Routineverfahren gegenübergestellt (Daten siehe Kapitel 5.6, Tab. 5-3). Es ist ersichtlich, dass eine Beurteilung hinsichtlich des Schutzgutes AQL für viele Pestizide aufgrund unzureichender Bestimmungsgrenzen nicht möglich war (vergl. Kapitel 5.6, Tab. 5-4).

Aus den QC/QO-Werten ergibt sich, dass die anzustrebenden Bestimmungsgrenzen für eine Reihe von Wirkstoffen im unteren ng/L- bzw. sub-ng/L-Bereich liegen müssen. Insbesondere, um die Anreicherung einer größeren Anzahl von Proben zeitnah zur Probennahme realisieren zu können, sollte die Probenvorbereitung möglichst wenig aufwendig sein. Die Anreicherung sollte möglichst über SPE erfolgen und es sollten keine Cleanup- oder Derivatisierungsschritte erforderlich sein.

Aufgrund des hohen Matrixgehaltes in Oberflächengewässern im Vergleich zu beispielweise Trinkwasser oder Grundwasser, ist für die angestrebten Bestimmungsgrenzen eine hinreichende Trennleistung (GC oder LC) erforderlich. Des Weiteren bestehen hohe Anforderungen an die Spezifität und Empfindlichkeit der Detektion. Hier kommen i.d.R. nur massenspektrometrische Methoden zur Detektion in Frage. Einige Eigenschaften der wichtigsten Typen von Massenspektrometern sind in Tabelle 4-1 dargestellt. Alle sind prinzipiell mit chromatographischen Trennmethoden (GC, LC) zu koppeln.

Für die Analytik von Pestiziden, die typischerweise kleiner 350 Da sind, ist der mögliche Massenbereich kein Kriterium. Entscheidend sind vielmehr Spezifität und Empfindlichkeit. Die gebräuchlichsten Massenanalysatoren sind Quadrupole und Ion Traps (Ionenfalle, Quistor). Sie weisen im SIM-Modus ('selected ion monitoring') vergleichbare Empfindlichkeiten und die gleiche Auflösung wie Quadrupole auf, während im 'scan'-Modus Ion Traps deutlich empfindlicher sind. Ion Traps wie auch FT-ICR-MS sind "Ionenspeicher", die es erlauben aus gespeicherten Ionen beispielsweise durch stoßinduzierte Dissoziation (CAD) Fragment-Ionen zu erzeugen. Diese Vorgehensweise wird als MS² bezeichnet, bei mehrfacher Wiederholung als MSⁿ. Es können also mit einem Massenanalysator Massenübergänge ('parent ion' → 'product ion') zur Detektion verwendet werden. Hiermit wird die gleiche Spezifitätssteigerung erzielt wie bei Tandem-Massenspektrometern (MS/MS) auf Quadrupol-Basis (QqQ), in denen drei Quadrupole "hintereinandergeschaltet" werden. Der erste und der letzte Quadrupol dienen als

¹ Vom DVGW-Technologiezentrum Wasser Karlsruhe, Außenstelle Dresden entwickelte Analyseverfahren, die im Rahmen eines Unterauftrages des Projektes UBA FuE 102 05 216 eingesetzt wurden (Gandraß et al., 1998; Pietsch et al. 1995).

4 Chemisch-analytische Verfahren

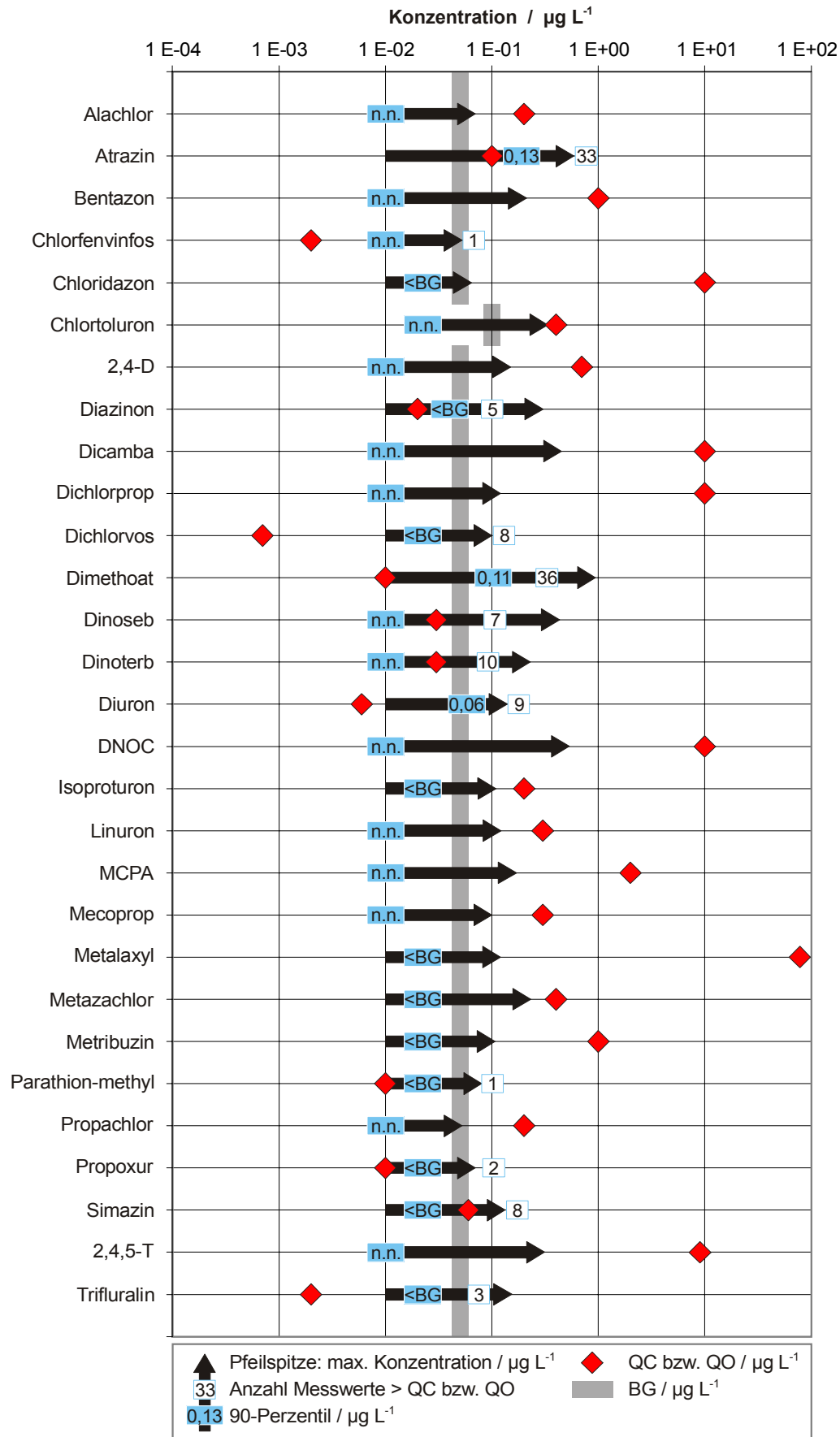


Abb. 4.1: Bewertung der Belastung der Elbe mit Pestiziden für das Schutzgut "aquatische Lebensgemeinschaft" im Zeitraum 1994-1996. QC/QO-Werte und analytische Bestimmungsgrenzen.

Tab. 4-1: Typen und Eigenschaften von Massenspektrometern (MS)

Massenanalysator	Massenbereich ^a	Auflösung	Kosten	Spezifitätssteigerung	Kosten
Quadrupol MS	bis 4.000	1 Da	+	MS/MS	++
Ion Trap MS	bis 2.000	1 Da	+	MS ⁿ	+
Doppelfokussierendes Sektorfeld MS	15.000 - 100.000 ^c	10.000 - 100.000 ^{b, c}	+++		
TOF MS	> 10.000	10.000 - 20.000 ^b	++	Quadrupol/TOF-MS bzw. (TOF/TOF-MS)	+++ (+)
FT-ICR MS	> 10.000 ^d	100.000 - 1.000.000 ^{b, e}	++++	FT-ICR-MS ⁿ	++++

TOF MS: Flugzeit-MS ('time-of-flight MS); **FT-ICR MS:** Fourier-Transform-Ionencyclotronresonanz-MS

^a Zum Teil größere Moleküle messbar bei Verwendung von Ionisierungsverfahren, wie 'electrospray ionisation' (ESI), die mehrfachgeladene Ionen erzeugen (z.B. FT-ICR MS: > 300.000 Da)

^b Auflösung = $m/\Delta m$

^c Verringerte Empfindlichkeit im oberen Bereich

^d Verringerte Auflösung in höheren Massenbereichen

Massenanalysator (Q), der mittlere als Stoßzelle (q). Teurere Massenanalysatoren bzw. Kopplungen mit größeren Massenbereichen und höheren Auflösungen werden häufig für die Analyse größerer Biomoleküle eingesetzt und weniger im Bereich der klassischen Umweltanalytik. FT-ICR MS-Geräte sind aufgrund ihres hohen Preises wenig vertreten und haben wegen ihrer hohen Auflösung ihre Berechtigung für spezielle Anwendungen wie z.B. der Strukturaufklärung. Nach diesem Exkurs in die Massenspektrometrie zurück zu den Kriterien für die Entwicklung empfindlicher und spezifischer Analyseverfahren für Pestizide in Oberflächengewässern. Es wurden zeitlich aufeinanderfolgend zwei Analyseverfahren entwickelt:

- SPE, GC-MS² (Ion Trap, Kapitel 4.4.3)
- SPE, LC-MS/MS (QqQ, Kapitel 4.4.4)

Das erste Verfahren, das im Rahmen eines Umweltbundesamt-Projektes entwickelt wurde, sollte hinreichend robust sein und einen vertretbaren Zeit- und Kostenaufwand aufweisen, um auch in Routine-Laboratorien durchgeführt werden zu können. Wegen der vergleichsweise hohen Spezifität und Empfindlichkeit im MS²-Modus und dem vergleichsweise niedrigen Anschaffungspreis fiel die Wahl auf ein Ion Trap MS mit GC-Kopplung und Elektronenstoßionisierung (EI) sowie chemischer Ionisierung (CI).

Wegen nicht zufriedenstellender Messunsicherheiten dieses Verfahrens für eine quantitative Bestimmung vieler Wirkstoffe (siehe Kapitel 4.4.3) und um auch polarere bzw. thermolabile Pestizide erfassen zu können, die nicht gaschromatographierbar sind, wurde ein weiteres Verfahren entwickelt. Bei diesem wurde ein Tandem-Massenspektrometer (QqQ) mit LC-Kopplung und Atmosphärendruckionisierung (API) eingesetzt, das 'electrospray ionisation' (ESI) und 'atmospheric chemical ionisation' (APCI) erlaubt.

4.3 'Non-target'-Analytik (SOP 1: LLE, Fraktionierung, GC-MS)

Verfahrensentwicklung

Das Verfahren sollte die Identifizierung von Hauptkomponenten im 'scan'-Modus ('non-target'-Analyse) und die Quantifizierung ausgewählter Stoffgruppen im SIM-Modus ('target'-Analyse) getrennt für Schwebstoff (SPM) und die Wasserphase erlauben (weitere Kriterien siehe Kapitel 4.2). Das Analysenverfahren ist schematisch in Abbildung 4-2 dargestellt. Die Arbeitsvorschrift (SOP 1) findet sich im Anhang.

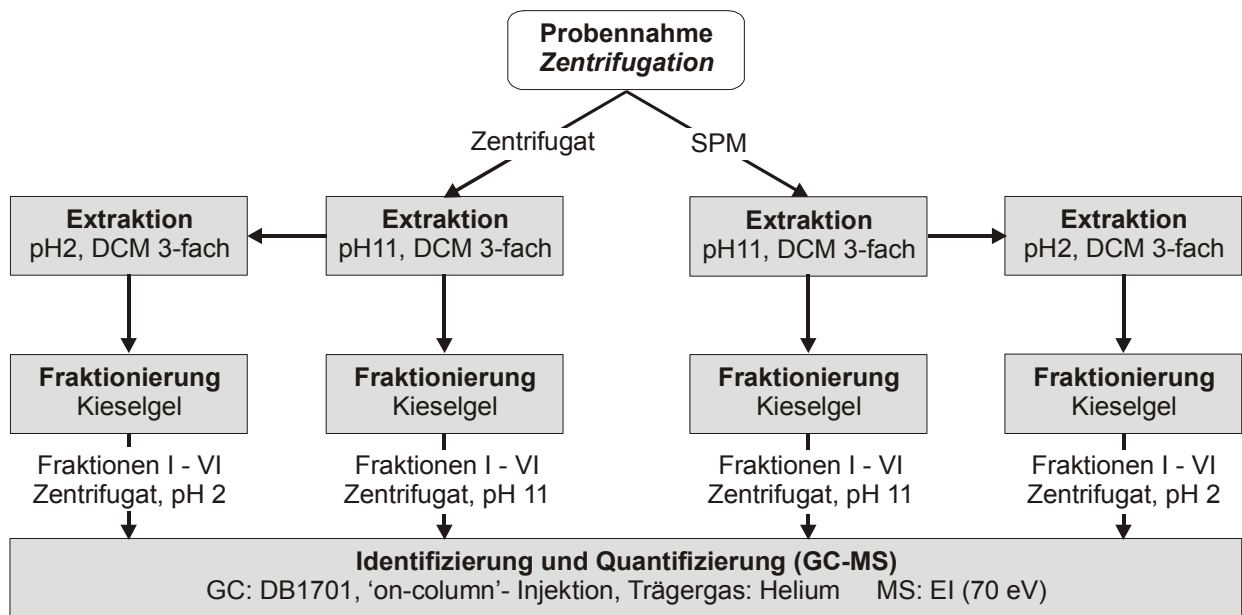


Abb. 4-2: Analysenschema GC-MS Screening-Verfahren

Die SPM/Wasser-Trennung erfolgt mittels Durchlaufzentrifugation, um ausreichende Mengen an SPM für die Analyse zu gewinnen. Zentrifugat und SPM werden mit Dichlormethan (DCM) bei unterschiedlichen pH-Werten mehrfach sequentiell extrahiert. Diese Vorgehensweise orientierte sich an der U.S. EPA Methode 625 (U.S. EPA, 1984), die für die Bestimmung von Substanzen aus der Liste der U.S. EPA 'priority pollutants' (U.S. EPA, 1979) in industriellem und kommunalen Abwasser ausgelegt ist. Andere Autoren verwendeten ähnliche oder leicht abgewandelte Verfahren für die Bestimmung von Pestiziden in Abwasser, Trink- und Grundwasser (Pelizzari et al, 1985; Rivera et al., 1987; Webb, 1978) oder adaptierten das Verfahren für die Anwendung auf Klärschlamm-, Boden- und Sedimentproben (Webb, 1978; Bishop, 1980; Kiang & Grob, 1986; Lopez-Avila, 1981; Lopez-Avila et al., 1983). Eine ausreichend empfindliche Identifizierung/Bestimmung in den DCM-Extrakten war wie vorhergesehen wegen der großen Menge extrahierter Probeninhaltsstoffe nicht möglich. Eine Fraktionierung birgt grundsätzlich die Gefahr der Diskriminierung von Probeninhaltsstoffen durch irreversible Adsorption oder Zersetzung, war aber nicht vermeidbar. Es wurde eine Fraktionierung an Kieselgel eingeführt, wobei sich die Abfolge und Zusammensetzung der Elutionsmittel an der Lösungsmittelstärke in Bezug auf Kieselgel (Snyder & Kirkland, 1979) orientierte.

Das Verfahren im 'scan'-Modus erlaubte die Identifizierung von Hauptkomponenten im oberen ng/L-Bereich in Zentrifugat und im oberen $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{TM}}$ -Bereich in SPM. Hierbei wurden in Proben aus dem Elbeästuar Pestizide identifiziert und anschließend unter Einschluss weiterer

Wirkstoffe über eine 'target'-Analytik quantifiziert (Kapitel 5.4). Daraufhin wurden für untersuchte Analyte Routineverfahren entwickelt: für Pestizide SOP 2 (Kapitel 4.4.1) und SOP 3 (Kapitel 4.4.2) sowie ein Verfahren zur Bestimmung von Chlorphenolen, welche in den sauren Extrakten von Wasserproben (Zentrifugat) festgestellt wurden. Die Eignung des Verfahrens für ein recht breites Spektrum an Substanzen wurde weiter dadurch bestätigt, dass Ergebnisse für schwerflüchtige Chlorkohlenwasserstoffe in SPM ('target'-Analyse) gut mit den Ergebnissen einer Routinemethode (WDDE ¹, GC-ECD ²) übereinstimmten.

Leistungscharakteristika und Besonderheiten der 'target'-Analyse für Pestizide

Die Kriterien für die Auswahl der Analyte sind in Kapitel 5.2 beschrieben. Die analysierten Wirkstoffe und MS-Parameter der 'target'-Analyse sind SOP 1 (siehe Anhang) zu entnehmen. Die Bestimmungsgrenzen wurden in einer Reihe von Proben individuell über das Signal/Rausch-Verhältnis ('signal/noise ratio', S/N = 10) bestimmt und lagen im Bereich 0,2 – 40 ng/L bzw. 0,7 – 40 µg/kg_{TM} (siehe Kapitel 4.5, Tab. 4-8).

Im Folgenden soll kurz auf wesentliche Probleme und deren Abhilfe eingegangen werden, die während der Entwicklung/Optimierung des Verfahrens auftraten:

- Zeitweise auftretende Diskriminierungen einer Reihe von Analyten war auf die Verwendung älterer Chargen von DCM zurückzuführen. DCM neigt bei längerer Lagerung insbesondere unter dem Einfluss von Licht und Luftfeuchtigkeit zur Bildung von Radikalen. Dies kann zur Zersetzung von Analyten während des Extraktionsschrittes, in den Extrakten selbst und während der Fraktionierung führen. DCM sollte daher nach Herstellung nicht länger als sechs Monate in Gebinden unter Ausschluss von Licht und Luftfeuchtigkeit gelagert werden. Entscheidend ist ferner, nach erfolgter Extraktion die DCM-Extrakte umgehend einzuengen und mit Natriumsulfat zu trocknen (siehe SOP 1).
- Bei der Fraktionierung traten Blindwertprobleme ab der vierten Fraktion auf. Versuche mit größeren Mengen Kieselgel zeigten, dass durch Methanol aus dem Kieselgel Material ausgewaschen wurde, das bei starkem Einengen sichtbar auspolymerisierte. Das Problem wurde durch eine in SOP 1 beschriebene Vorreinigung des Kieselgels beseitigt.
- Wiederfindungsraten wurden im Wesentlichen durch die Fraktionierung beeinträchtigt. Einige Phosphorsäureester-Pestizide (Demeton-O, Demeton-S, Demeton-S-methyl, Disulfoton, Fenthion und Thiometon) wurden nach der Fraktionierung reproduzierbar nicht wiedergefunden (Abb. 4-3). Zusätzliche Versuche ergaben, dass sich diese Substanzen in Methanol, das bei der Fraktionierung verwendet wird, bei Raumtemperatur innerhalb von 24 Stunden vollständig zersetzen. Sie sind bei der 'target'-Analyse nach SOP 1 nicht bestimmbar.

¹ ECD: Elektroneneinfangdetektor

² WDDE: Wasserdampfdestillation/Extraktion

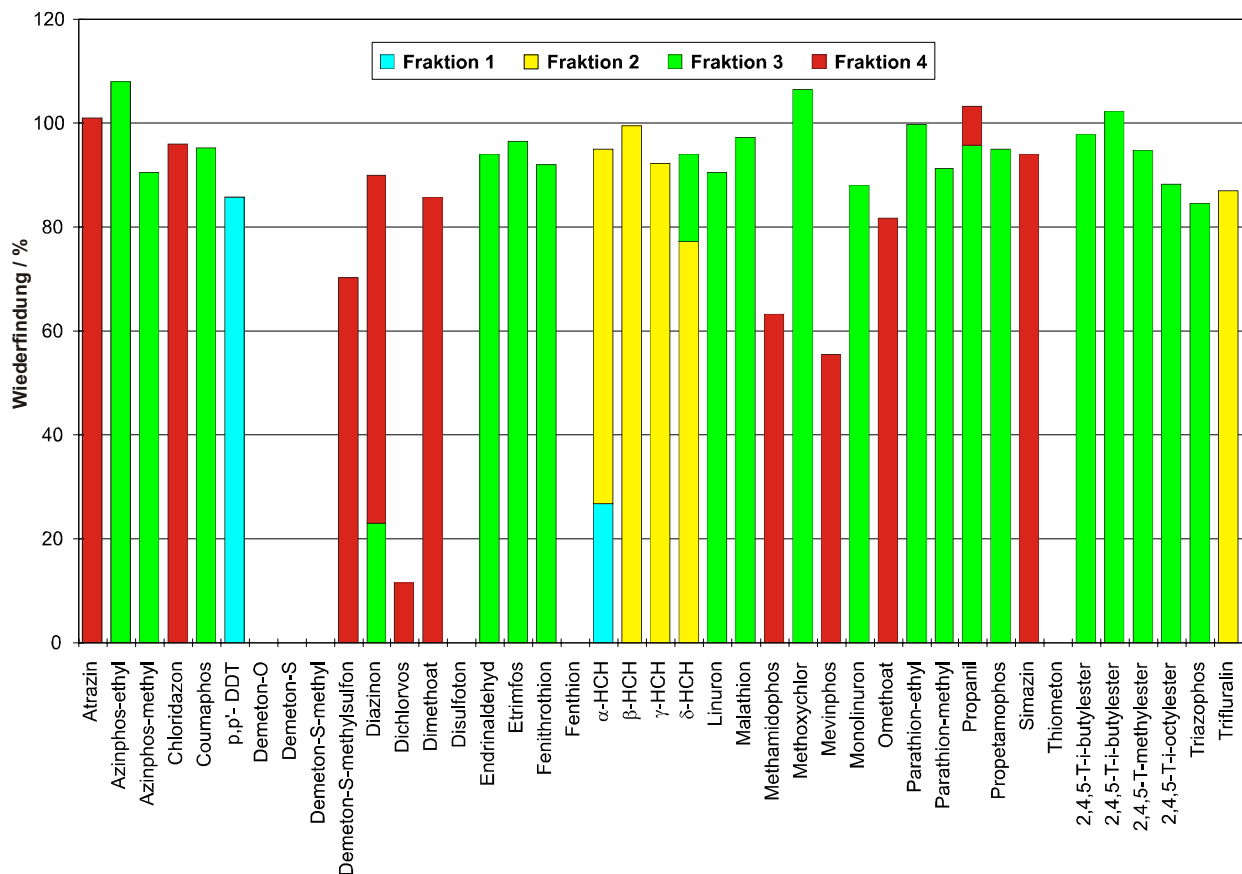


Abb. 4-3: Wiederfindungsraten für Pestizide und weitere Substanzen für die Fraktionierung (SOP 1, Dotierung ca. 20 ng je Einzelsubstanz, entsprechend ca. 7 ng/L im Zentrifugat)

4.4 'Target'-Analytik

Die folgenden Verfahren wurden für die 'target'-Analyse von Pestiziden in der Wasserphase entwickelt. "Moderne" Pestizide, abgesehen von Pyrethroiden, sind relativ gut wasserlöslich im Vergleich zu klassischen schwerflüchtigen chlorierten Pestiziden. Sie haben i.d.R. $\log K_{OW}$ -Werte < 5 und liegen deshalb in Oberflächengewässern überwiegend gelöst in der Wasserphase vor (siehe Kapitel 2.5, Abb. 2-4). Bei allen folgenden Verfahren erfolgte die Probenanreicherung über Festphasenextraktion (SPE). Die Bestimmung wurde mit GC-NPD (Kapitel 4.4.1), HPLC-DAD (Kapitel 4.4.2), GC-MS² (Kapitel 4.4.3) bzw. LC-MS/MS (Kapitel 4.4.3) durchgeführt.

4.4.1 Bestimmung von N/P-Pestiziden in Wasser (SOP2: SPE, GC-NPD)

Verfahrensentwicklung

Das Verfahren sollte die Bestimmung ausgewählter Stickstoff-/Phosphor-Pestizide (N/P-Pestizide) in der Wasserphase erlauben (weitere Kriterien siehe Kapitel 4.2). Das Analyseverfahren ist schematisch in Abbildung 4-4 dargestellt, die analysierten Wirkstoffe nach Stoffgruppen gegliedert in Tabelle 4-2 (Kriterien zur Auswahl der Analyte siehe Kapitel 5.2). Die Arbeitsvorschrift (SOP 2) befindet sich im Anhang.

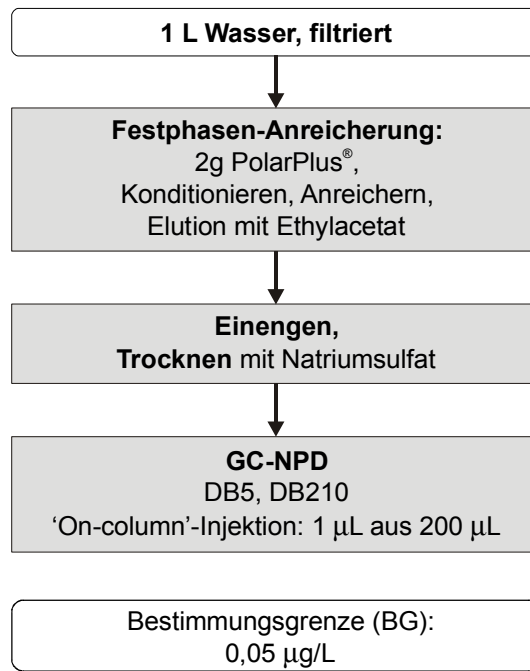


Abb. 4-4: Analysenschema GC-NPD-Verfahren

Tab. 4-2: Analytierte Parameter: N/P-Pestizide (SPE, GC-NPD)

Triazine	Phosphorsäure-ester	Carbamate	Acetamide, ~anilide		Sonstige	
Atrazin	Azinphos-ethyl	Carbaryl	Alachlor	Isoproturon	Phenylharnstoffe	
Cyanazin	Chlorfenvinfos	Pirimicarb	Dimethachlor	Linuron		
Propazin	Chlorpyrifos	Propham	Metazachlor	Metobromuron		
Sebuthylazin	Diazinon	Propoxur	Metolachlor	Monolinuron	Dinitroaniline	
Simazin	Dichlorvos	Prosulfocarb	Propachlor	Pendimethalin		
Terbuthylazin	Dimethoat	Triallat		Trifluralin	Triazinone	
Desethylatrazin	Methidathion			Metamitron		
Desethylterbutylazin	Parathion-ethyl			Metribuzin	Triazole	
Desisopropylatrazin	Parathion-methyl			Epoxiconazol		
				Triadimenol	Aminosäurederivat	
				Metalaxyl		
				Dichlobenil		Benzonitril
				Chloridazon		Pyridazinon
				Bromacil		Uracil

Bei Voruntersuchungen zeigte sich, dass die Auswahl eines geeigneten SPE-Materials kritisch ist. Es wurden C₁₈-modifizierte Kieselgele unterschiedlicher Hersteller getestet. Hierbei zeigten sich für einzelne Wirkstoffe stark variierende Wiederfindungsraten, wobei sogar deutliche Unterschiede für unterschiedliche Chargen desselben Anbieters auftraten. Hinsichtlich des Durchbruchvolumens bei der Probenaufgabe erwiesen sich u.a. die Metaboliten von Triazin-Herbiziden als kritisch. Als geeignetes SPE-Material erwies sich PolarPlus® C₁₈ Bakerbond, von der eine größere Menge gekauft wurde. Alle nachfolgenden Analysen auch die mit in den

folgenden Kapiteln beschriebenen Verfahren wurden mit derselben Charge des SPE-Materials durchgeführt.

Leistungscharakteristika und Besonderheiten des Verfahrens

Bei der Bestimmung mittels GC-NPD erfolgt die Probenaufgabe 'cool on-column' in Verbindung mit einer deaktivierten unbelegten Vorsäule ('retention gap'), um auch leicht thermolabile Wirkstoffe beispielsweise aus der Gruppe der Phenylharnstoffe und Carbamate erfassen zu können. Das 'retention gap' erlaubt eine automatische Injektion auf enge Kapillarsäulen und gewährleistet eine Rekonzentrierung der Analyte zu Beginn der chromatischen Trennung. Zudem verhinderte es die Ablagerung von nicht verdampfenden Probeninhaltsstoffen am Anfang der Trennsäule.

Der verwendete NP-Detektor (Thermionischer Detektor) weist eine relativ hohe Spezifität für Stickstoff- als auch Phosphor-Verbindungen auf (Selektivitätsfaktoren $\geq 10^4$ gegenüber Kohlenwasserstoffen; Oehme, 1982). Um Falsch-Positiv-Befunde der Analyte durch andere, ko-eluierende N/P-haltige Probeninhaltsstoffe weitestgehend auszuschließen erfolgt die Analyse mit zwei Kapillarsäulen unterschiedlichen Trennverhaltens. Kriterium für die Identifizierung/Quantifizierung ist die Übereinstimmung der Retentionszeiten in Bezug auf die jeweilige externe Kalibrierung unter Einhaltung enger Retentionszeitfenster.

Die Wiederfindungsraten für das Gesamtverfahren (0,1 µg/L Dotierung der Wasserprobe) waren > 90% mit Ausnahme von Dimethoat (80%), Diazinon (70%), Metalaxyl (50%) und Desisopropylatrazin (50%). Ursprüngliche Zielanalyte (Ametryn, Simetryn und Hexazinon) konnten mit dem Verfahren nicht bestimmt werden (Wiederfindungen < 20%).

Die Bestimmungsgrenzen (S/N = 10) für alle Wirkstoffe lagen unter 0,05 µg/L und wurden für die Auswertung einheitlich auf 0,05 µg/L festgesetzt.

4.4.2 Bestimmung von Pestiziden in Wasser (SOP3: SPE, HPLC-DAD)

Verfahrensentwicklung

Verschiedene Pestizide sind aufgrund ihrer größeren Polarität bzw. Thermolabilität nicht über gaschromatographische Verfahren bestimmbar. Deshalb wurde in Ergänzung zum im vorangegangenen Kapitel beschriebenen GC-NPD-Verfahren (SOP 2) ein flüssigchromatographisches (HPLC) Verfahren entwickelt, bei dem die Bestimmung mit einem Diodenarray-detektor (DAD) im UV-Bereich erfolgt. Das Analyseverfahren ist schematisch in Abbildung 4-5 dargestellt, die analysierten Wirkstoffe nach Stoffgruppen gegliedert in Tabelle 4-3. Die Arbeitsvorschrift (SOP 3) befindet sich im Anhang.

Bei Voruntersuchungen zeigte sich, dass bei der SPE mitangereicherte Wasserinhaltsstoffe bei der sicheren Bestimmung von Pestiziden mit dem DAD stören. Durch Verwendung von Acetonitril anstatt Ethylacetat (SOP 2) für die Elution bei der SPE, konnte der Anteil mitextrahierter, störender Probenbestandteile deutlich verringert werden.

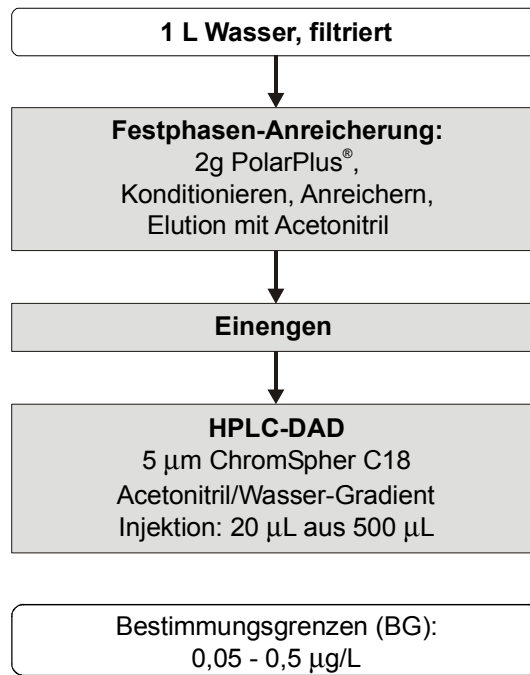


Abb. 4-5: Analysenschema HPLC-DAD-Verfahren

Tab. 4-3: Analytierte Parameter: Pestizide (SPE, HPLC-DAD)

Phenylharnstoffe	Carbamate	Triazine	Phosphorsäureester	Sonstige	
Bromuron	Pirimicarb	Ametryn	Chlorpyrifos	Alachlor	} Acetamide, ~anilide
Chlortoluron	Propham	Atrazin	Diazinon	Dimethachlor	
Diuron	Propoxur	Prometryn	Parathion-methyl	Propachlor	
Fenuron	Prosulfocarb	Simazin		Propyzamid	Benzamid
Isoproturon		Desethylatrazin		Proximpham	Oximcarbamat
Methabenzthiazuron				Deltamethrin	Pyrethroid
Metobromuron				Chloridazon	Pyridazinon
Monuron				Metamitron	Triazinon
				Triadimefon	Triazol
				Bromacil	Uracil

Leistungscharakteristika und Besonderheiten des Verfahrens

Aufgrund der relativ geringen Spezifität des Detektionsverfahrens mussten an die Auswertung der Chromatogramme (Retentionszeitabweichungen) und UV-Spektren (Spektrinkorrelationsfaktoren und Wellenlängenabweichungen der Extinktionsmaxima) strenge Kriterien festgelegt werden (siehe SOP 3).

Die Wiederfindungsraten für das Gesamtverfahren (Dotierung 0,1 und 1 µg/L) waren > 90% mit Ausnahme von Triadimenol (60%). Ursprüngliche Zielanalyte wiesen geringe (Lenacil, 40%) bzw. gar keine Wiederfindung (Metalaxyl, 0%) auf und können mit dem Verfahren nicht bestimmt werden. Für die meisten Analyte wurde eine Bestimmungsgrenze von 0,05 µg/L ermittelt. Für eine Reihe von Wirkstoffen mussten höhere Bestimmungsgrenzen (bis zu 0,5 µg/L,

siehe Tab. 4-8) festgesetzt werden, um die Identifizierung/Quantifizierung nach den oben genannten Kriterien zu gewährleisten.

4.4.3 Bestimmung von Pestiziden in Wasser (SOP 4: SPE, GC-MS²)

Verfahrensentwicklung

Das Verfahren sollte die sichere, d.h. hochspezifische, Identifizierung und Quantifizierung von Pestiziden im unteren ng/L- bzw. sub-ng/L-Bereich erlauben, um eine Bewertung der Pestizidbelastung in Oberflächengewässern bezüglich Wirkstoffen mit niedrigen QC/QO-Werten vornehmen zu können (vergl. Abb. 4-1). Das Verfahren ist schematisch in Abbildung 4-6 dargestellt, die analysierten Wirkstoffe nach Stoffgruppen gegliedert in Tabelle 4-4 (Kriterien zur Auswahl der Analyte siehe Kapitel 5.2). Die Arbeitsvorschrift (SOP 4) befindet sich im Anhang.

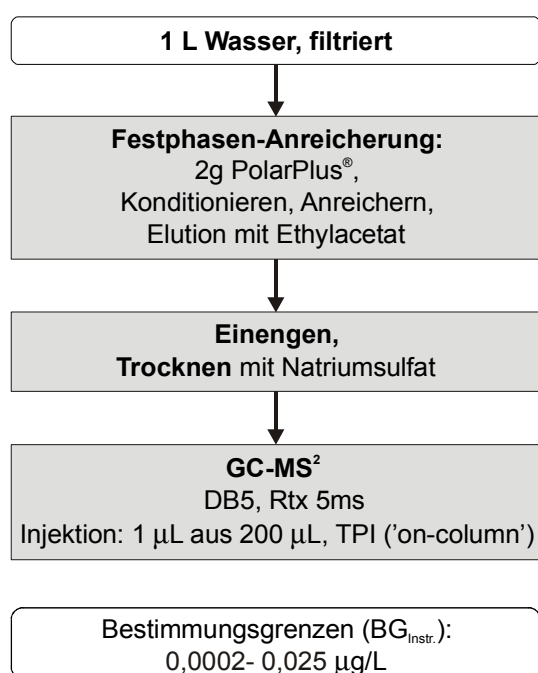


Abb. 4-6: Analysenschema GC-MS²-Verfahren

Das Verfahren sollte mit vertretbarem Kostenaufwand auch in Routinelaboratorien durchführbar sein. Aus diesem Grund und um gleichzeitig eine hinreichende Spezifität für die Identifizierung und Quantifizierung in niedrigen Konzentrationsbereichen zu erzielen, wurde für die Bestimmung ein Ion Trap MS² mit GC-Kopplung eingesetzt (Kriterien für diese Auswahl siehe Kapitel 4.2). Die vergleichsweise hohe Spezifität wird im MS²-Modus durch die Detektion substanzspezifischer Massenübergänge ('parent ion' → 'product ion') analog zum LC-MS/MS-Verfahren in Kapitel 4.4.4 erzielt. Während der Verfahrensentwicklung aufgetretene Probleme führten dazu, dass eine abschließende Validierung nicht erfolgen konnte. Das Verfahren ermöglicht nur die semi-quantitative wenn auch für die meisten Analyte nachweisstarke und sichere Bestimmung. Die folgende Darstellung ist deshalb im Vergleich zu den bisher diskutierten Verfahren ausführlicher.

Tab. 4-4: *Analysierte Parameter: Pestizide (SPE, GC-MS²)*

Triazine	Phosphorsäure-ester	Carbamate	Acetamide, ~anilide	Sonstige
Anilazin	Azinphos-ethyl	Benfuracarb	Alachlor	Diflubenzuron } Phenylhamstoffe
Atrazin	Azinphos-methyl	Carbaryl	Dimethachlor	Isoproturon } Phenylhamstoffe
Prometryn	Chlorfenvinphos	Carbofuran	Metazachlor	Pendimethalin } Dinitroaniline
Propazin	Chlorpyrifos	Fenoxycarb	Propachlor	Trifluralin } Dinitroaniline
Sebuthylazin	Diazinon	Propham		Metamitron } Triazinone
Simazin	Dichlorvos	Propoxur		Metribuzin } Triazinone
Terbuthylazin	Dimethoat	Prosulfocarb		Epoxiconazol } Triazole
Terbutryn	Etrifos	Triallat		Triadimenol } Triazole
Desethylatrazin	Fenitrothion			Bifenthrin } Pyrethroide
Desethylterbuthylazin	Isofenphos			Tau-Fluvalinat } Pyrethroide
Desisopropylatrazin	Malathion			Dichlobenil } Benzonitril
	Methidathion			Chloridazon } Pyridazinon
	Mevinphos			Bifenox } Nitrophenylether
	Parathion-ethyl			Fludioxonil } Pyrrolnitrilderivat
	Parathion-methyl			
	Pyrazophos			
	Triazophos			

Die Anreicherung erfolgte durch SPE entsprechend des GC-NPD-Verfahrens (SOP 2, Kapitel 4.4.1), wobei mit dem gleichen Anreicherungsfaktor gearbeitet wurde (1 µL injiziert, entsprechend 5 mL Ausgangsprobe). Ein ebenfalls getestetes SPE-Material (LiChrolut EN, Fa. Merck; Styrol-Divinylbenzol-Copolymer) war ebenfalls geeignet, zeigte aber keine Vorteile gegenüber dem bisher verwendeten C₁₈-modifiziertem Kieselgel.

Wiederholpräzision, instrumentelle Bestimmungsgrenzen und linearer Bereich

Die über alle Analyte gemittelte Wiederholpräzision (Kalibrierlösungen) lag bei Verwendung des 'splitless'-Injektors (SLI) bei 6,4 – 7,8 % (EI, MS², berechnet aus Messsequenzen an unterschiedlichen Tagen, n = 24 – 56). Nach Optimierung des temperaturprogrammierbaren Injektors (TPI) und der Injektionsbedingungen des automatischen Probengebers wurden im 'on-column' Modus Wiederholpräzisionen im Bereich von 3 - 4 % (EI, MS², gemittelt über alle Analyte) erzielt. Sowohl unter Verwendung des SLI als auch des TPI wurden im MS-Modus bessere Wiederholpräzisionen als im MS²-Modus erzielt, was darauf hin deutet, dass nicht nur die Probenaufgabe und das chromatographische System sondern auch die Ion Trap einen Einfluss auf die Reproduzierbarkeit der Analysen hat.

Mit Kalibrierlösungen ermittelte instrumentelle Bestimmungsgrenzen (EI, MS²) lagen im Bereich von 1 – 130 pg. Bei der hypothetischen Umrechnung auf das Gesamtverfahren ergibt sich ein Bereich von 0,2 – 25 ng/L (siehe Tab. 4-8):

- BG_{Instr} ≤ 1 ng/L 27 Wirkstoffe
- 1 ng/L < BG_{Instr} ≤ 10 ng/L 20 Wirkstoffe
- BG_{Instr} > 10 ng/L 7 Substanzen

Die vergleichsweise hohen instrumentellen Bestimmungsgrenzen einiger Analyte lassen sich durch Eigenschaften der Ion Trap erklären. Bei der Optimierung der Massenübergänge (CAD) waren einige 'product ions' so hochenergetisch, dass sie trotz Optimierung weiterer Parameter ('excitation time', q -Wert; vergl. SOP 4, Anhang, Tab. All-2) nicht effektiv in der Ion Trap gespeichert werden konnten.

Im Vergleich zur Elektronenstoßionisierung (EI) wurde ebenfalls die chemische Ionisierung (CI) getestet. Nach Optimierung der MS²-Parameter unter CI-Bedingungen ergaben sich für die meisten Analyte im Vergleich zur EI schlechtere instrumentelle Bestimmungsgrenzen, so dass die EI beibehalten wurde.

Die GC-MS²-Methode wurde für einen Kalibrierbereich von 1 – 3000 pg (entsprechend 0,2 – 600 ng/L) ausgelegt. Die in Elbwasserproben mit dem Verfahren semiquantitativ festgestellten Konzentrationen lagen im Bereich von 0,2 – 170 ng/L, was die Notwendigkeit eines großen Kalibrierbereiches bestätigte. Im Vergleich zu anderen Detektoren weist die Ion Trap einen geringen linearen Bereich auf. Für alle Analyte ließ sich der gesamte Kalibrierbereich weder durch eine lineare noch durch eine quadratische Kalibrierfunktion hinreichend genau erfassen. Demzufolge mussten für die Quantifizierung sechs Kalibrierlevel verwendet werden, aus denen für vier unterschiedliche Konzentrationsbereiche jeweils Kalibrierfunktionen berechnet wurden.

Matrixeffekte und Messunsicherheiten

Für eine Vielzahl der untersuchten Wirkstoffe ergaben sich in Aufstockversuchen stark überhöhte Wiederfindungsraten (WFR) für das Gesamtverfahren. Ursächlich hierfür waren aus den Wasserproben angereicherte Matrixbestandteile als auch aus dem SPE-Material stammende Substanzen. Dieser Effekt war beim GC-NPD-Verfahren (Kapitel 4.4.1), dem dieselbe Probenvorbereitung mit gleichem Anreicherungsfaktor zugrunde liegt, nicht beobachtet worden.

Aus Aufstockversuchen ergab sich, dass bei der Verwendung des TPI, insbesondere im 'on-column'-Modus die WFR bestimmter Pestizide weniger stark überhöht waren als bei Verwendung des SLI. Des Weiteren zeigte sich, dass die bereits beim GC-NPD-Verfahren eingeführte Vorgehensweise, nach jeder Messsequenz das 'retention gap' zu kürzen bzw. zu erneuern, notwendig war um Matrix-bedingte Signalüberhöhungen zu begrenzen (siehe auch Abb. 4-7). Dies deutet daraufhin, dass die Probenaufgabe und das chromatographische System zumindest mitverantwortlich für die auftretenden Signalüberhöhungen sind. Diese Effekte sind als 'matrix-enhanced chromatographic response' bekannt, wenn auch in der überwiegenden Zahl von Veröffentlichungen zur Analyse von Pestiziden in Wasser nicht darauf eingegangen wird. Einige Beispiele für überhöhte WFR bei der Analyse von Pestiziden in Wasser und Boden sind in Tabelle 4-5 zusammengefasst. Hierbei ist anzumerken, dass die Dotierungen meist höher lagen als bei den eigenen Untersuchungen (30 – 100 ng/L).

Hajslovà et al. (1998) untersuchten Matrixeffekte in der Pestizidrückstandsanalytik von Lebensmitteln eingehender. Eine Literaturrecherche über den Zeitraum 1988-1997 für sieben als im Hinblick auf Matrixeffekte besonders kritisch angesehene Wirkstoffe kam zu dem Ergebnis, dass für die Wirkstoffe Acephat, Methamidophos, Omethoat und Iprodion alle eingesetzten Verfahren überhöhte WFR aufwiesen, für die Wirkstoffe Dimethoat, Malathion und Methidathion

Tab. 4-5: Erhöhte Wiederfindungsraten durch Matrixeffekte bei der Bestimmung von Pestiziden in Wasser und Boden (Übersicht aus der Literatur)

Autor	Wirkstoffklassen	Anzahl Wirkstoffe	Matrix	Anreicherung	Cleanup	Injektor	Detektion	WFR, Beispiele
Hernández et al. (1993)	u.a. Chlor-Pestizide, Phosphorsäureester	37	Grundwasser	LLE (DCM)	-	SLI	GC/NPD, GC/ECD	Fenthion 94-183%, Phosalon 121-155%, Phosmet 124-134% (Dotierung 1 µg/L)
Baez et al. (1997)	u.a. Triazine, Phosphorsäureester	22	Laborwasser	SPE (RP-C ₁₈)	-	SLI	GC/NPD	Mevinphos 259% Phosmet 141% Triadimefon 149% (Dotierung 100 ng/L)
Tanabe et al. (1996)	u.a. Triazine, Chloracetamide	29	Flusswasser	SPE (SDVB)	-	SLI	GC-MS (Quadrupol)	ACN 128% Simetryn 120% (Dotierung 500 ng/L)
Papadopoulou-Mourkidou et al. (1997)	u.a. Triazine, Phosphorsäureester, Chlor-Pestizide	95	Boden	Schüttel-extraktion (Acetontril/Wasser)	Flüssig-Flüssig-Verteilung	SLI	GC-MS (Ion Trap)	Coumaphos 149%, Mevinphos 156%, Tetrachlorvinphos 175% (Dotierung 100 ppb)

WFR: Wiederfindungsrate; LLE: Flüssig-Flüssig-Extraktion; SPE: Festphasenanreicherung
 RP-C₁₈: 'reversed phase', C₁₈-modifiziertes Kieselgel; SDVB: Styroldivinylbenzol-Copolymer

≥ 50% der eingesetzten Verfahren. Die für die jeweiligen Pestizide höchsten WFR lagen im Bereich 165 – 244%.

Ursächlich für Matrix-bedingte, erhöhte Wiederfindungsraten können zumindest zwei Effekte sein:

- Aktive Stellen im chromatographischen System (GC-Säule, insbesondere aber der Glas-Liner des SLI) werden durch Matrixbestandteile „abgesättigt“ und dadurch die Adsorption der Analyte an diesen Stellen reduziert.
- Die katalytische Zersetzung von thermolabilen Analyten an Oberflächen wird durch die Anwesenheit von Matrix reduziert.

Ion Trap-Geräte der "zweiten Generation", zu der auch das verwendete Gerät gehört, weisen eine 'pre-scan'-Funktion auf, um die Anzahl der in die Ion Trap gelangenden und zu speichernen Ionen zu steuern und eine "Überladung" der Ion Trap zu vermeiden. Hierdurch soll die Möglichkeit von Ionen-Molekül-Reaktionen ('self-CI') vermieden werden, die zu unerwünschten Effekten im EI-Modus wie Protonierung des Molekül-Ions, zusätzliche Fragment-Ionen bzw. Addukte oder Veränderung der Intensitätsverhältnisse signifikanter Ionen führen können. (vergl. March 1997; March 1998). Typische Effekte für 'self-CI' wurden während der Untersuchungen nicht festgestellt. Trotzdem konnte ein Einfluss der Probenmatrix auf die Speicherung der Analytionen in der Ion Trap und die im MS²-Modus ablaufenden CAD-Prozesse prinzipiell nicht ausgeschlossen werden.

Wiederfindungsraten aus Aufstockversuchen von Elbe-Wasserproben unter Verwendung des TPI im 'on-column'-Modus sind in Abbildung 4-7 beispielhaft dargestellt. Vor der Messsequenz zur Untersuchung der Probe DT3 wurde versehentlich das 'retention gap' nicht ausreichend gekürzt, was deutliche, zusätzliche Signalerhöhungen und schlechtere Reproduzierbarkeiten bewirkte.

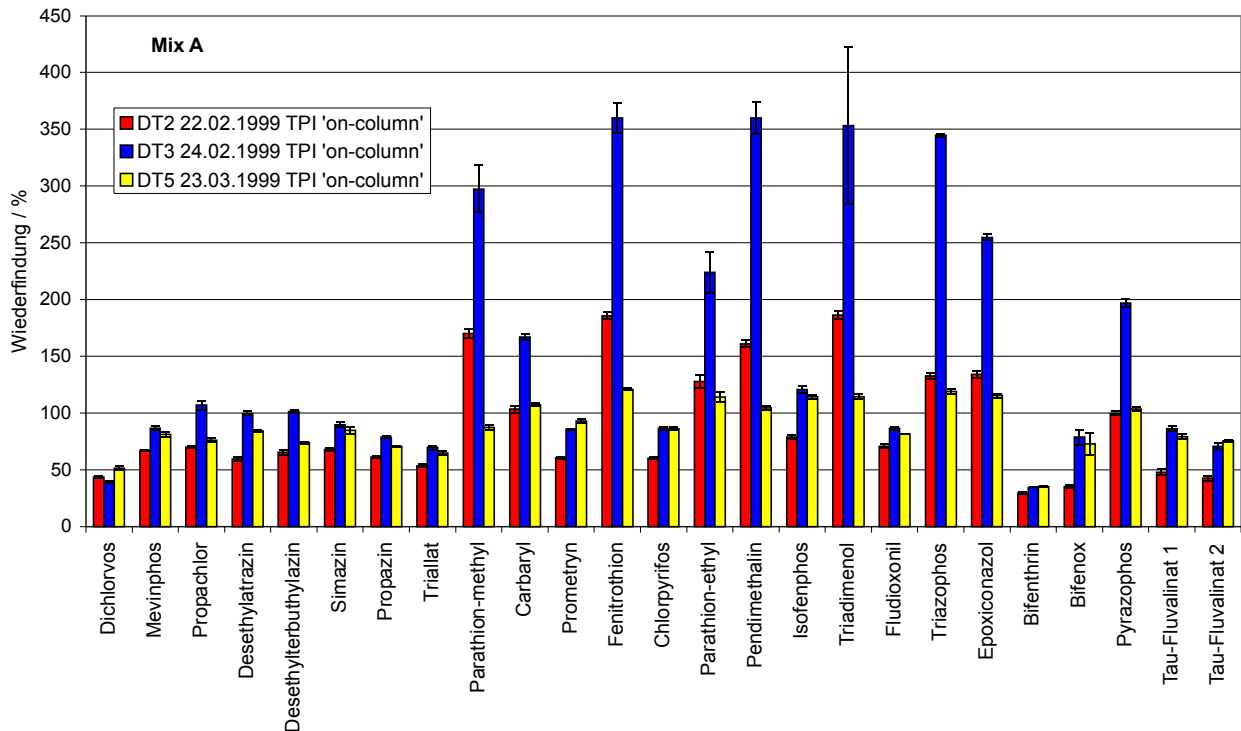


Abb. 4-7: Wiederfindungsraten aus Aufstockversuchen von Elbe-Wasserproben (GC-MS², TPI 'on-column', Dotierung Mix A 100 ng/L). Die dargestellten Fehlerbalken sind die Standardabweichungen aus den Ergebnissen der 3fach-Injektionen.

Gerätespezifische Besonderheiten und Probleme

In der ersten Projektphase wurden nach der Optimierung der GC- und MS-Parameter zufriedenstellende Wiederholpräzisionen für die Bestimmung von 2 Kalibrierlösungen erzielt:

- EI, MS: 5% (gemittelt über alle Analyte, 6 bzw. 4 Sequenzen an unterschiedlichen Tagen mit insgesamt 39 bzw. 24 Injektionen, Injektion 1 µL splitless, entsprechend 2,5 ng)
- EI, MS²: 6,4% (gemittelt über alle Analyte, 5 bzw. 6 Sequenzen an unterschiedlichen Tagen mit insgesamt 38 bzw. 49 Injektionen, Injektion 1 µL splitless, entsprechend 2,5 ng)

Im Anschluss daran stellten sich nicht akzeptable Wiederholpräzisionen im Bereich von 25% (EI, MS) und 32% (EI, MS²) ein (jeweils gemittelt über mehrere Messsequenzen, gleiche Bedingungen wie oben). Erst der komplette Austausch der Ion Trap inklusive Elektronik brachte Abhilfe und die bereits erzielten Wiederholpräzisionen ließen sich reproduzieren. Nach Ende der Projektlaufzeit stellten sich erneut nicht akzeptable Wiederholpräzisionen ein. Reparaturversuche bleiben erfolglos, die Verfahrensentwicklung und Validierung wurden nicht abgeschlossen und das Gerät wurde veräußert.

4.4.4 Bestimmung von Pestiziden in Wasser (SOP 5: SPE, LC-MS/MS)¹

Verfahrensentwicklung

Das Verfahren sollte die sichere, d.h. hochspezifische, Identifizierung und Quantifizierung von Pestiziden im unteren ng/L- bzw. sub-ng/L-Bereich erlauben, um eine Bewertung der Pestizidbelastung in Oberflächengewässern bezüglich Wirkstoffen mit niedrigen QC/QO-Werten vornehmen zu können (vergl. Abb. 4-1). Das GC-MS²-Verfahren (Kapitel 4.4.3) war ausreichend nachweisstark und erlaubte die sichere Identifizierung der überwiegenden Anzahl der Wirkstoffe im geforderten Konzentrationsniveau. Es war aufgrund von Matrixeffekten jedoch hinsichtlich vieler Analyte nur für semi-quantitative Bestimmungen geeignet. Aus diesem Grund sollte ein Verfahren entwickelt werden, dass bei vergleichbarer Spezifität und Nachweisstärke die Bestimmung mit akzeptablen Messunsicherheiten erlaubt. Um das untersuchte Stoffspektrum um polarere und thermolabile Wirkstoffe erweitern zu können, die nicht gaschromatographierbar sind, wurde die Bestimmung mit einem Tandem-Massenspektrometer (QqQ) und LC-Kopplung vorgenommen. Das Verfahren ist schematisch in Abbildung 4-8 dargestellt. Die analysierten Wirkstoffe, die ein breites Polaritätsspektrum ($\log K_{ow}$ –1 bis 5) aufweisen, sind nach Stoffgruppen gegliedert aus Tabelle 4-8 ersichtlich. Die Arbeitsvorschrift (SOP 5) befindet sich im Anhang.

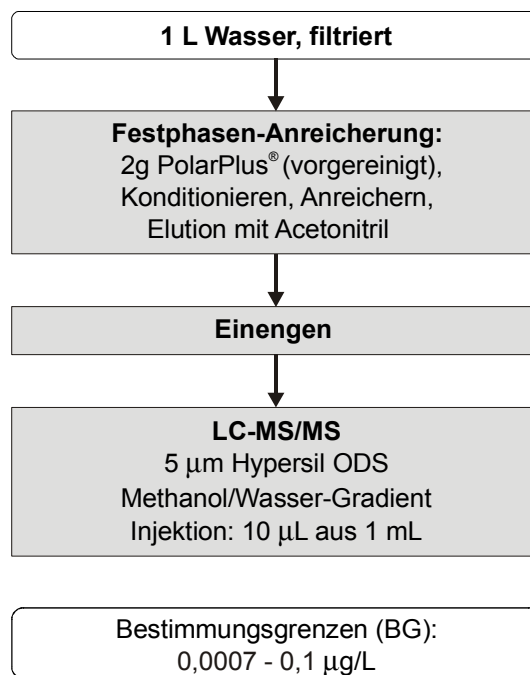


Abb. 4-8: Analysenschema LC-MS/MS-Verfahren

Die Anreicherung erfolgte durch SPE entsprechend des HPLC-DAD-Verfahrens (SOP 3, Kapitel 4.4.1). Abweichend von SOP 3 wurde das SPE-Material mit Acetonitril und Methanol vorgereinigt. Das SPE-Material Lichrolut EN (Fa. Merck), das bereits beim GC-MS²-Verfahren

¹ Die Verfahrensentwicklung und Validierung fand unter meiner fachlichen Betreuung in meiner Arbeitsgruppe im Rahmen einer Dissertation statt (Roos, 2003; Gandraß & Roos; 2005).

Tab. 4-6: *Analysierte Parameter: Pestizide (SPE, LC-MS/MS)*

Phosphorsäure-ester	Triazine	Sonstige	
Azinphos-methyl	Atrazin	Alachlor	Acetanilid
Diazinon	Propazin	Carbaryl	Carbamat
Dichlorvos	Terbuthylazin	Aldicarb-sulfon	} Oximcarbamate
Dimethoat	Desethylatrazin	Oxamyl	
Etrimfos	Desethylterbuthylazin	Diuron	} Phenylharnstoffe
Fenitrothion	Desisopropylatrazin	Teflubenzuron	
Mevinphos	Irgarol *	Triasulfuron	Triazinylharnstoff
Parathion-ethyl		Bromacil	Uracil
Parathion-methyl		Imidacloprid	Pyridinderivat
Pyrazophos			

* Biozid (Antifouling-Mittel)

(Kapitel 4.4.3) getestet wurde, sowie HR-P (Macherey & Nagel), ebenfalls ein Styrol-Divinylbenzol-Copolymer, brachten keine Vorteile gegenüber dem bisher eingesetzten SPE-Material.

Bei einem Vergleich zwischen 'electrospray ionisation' (ESI) und 'atmospheric pressure chemical ionisation' (APCI) zeigte sich bei Aufstockung von Extrakten von Elbe-Wasserproben für beide Ionisierungsmethoden eine Matrixabhängigkeit. Bei ESI waren dies für die Mehrzahl der Analyte Signal-unterdrückende Effekte, während bei APCI i.d.R. Signal-erhöhende Effekte vorlagen. Die Matrixeffekte waren bei APCI generell weniger stark ausgeprägt als bei ESI. Die Empfindlichkeit der Messung war jedoch bei ESI für alle Analyte bis auf Desisopropylatrazin deutlich höher (bis um den Faktor 23) als APCI. Aus diesem Grunde wurde für die Verfahrensentwicklung die ESI gewählt.

Matrix-bedingte Signalsuppression bei ESI ist ein häufig auftretendes Phänomen. Es beruht auf der Konkurrenz der Analyte und den Matrixbestandteilen um begrenzt vorhandene Überschussladungen in den Tröpfchen des Sprays der ESI-Quelle, bevor sie als ionische Spezies durch "Coulomb-Explosion" in die Gasphase übertreten (Enke, 1997). Um die auftretenden Matrix-Effekte zu begrenzen wurde der ursprünglicher Anreicherungsfaktor um den Faktor fünf gesenkt (Einengung des Extraktes auf 1 mL anstelle auf 200 µL, 10 µl injiziert entsprechend 10 mL Ausgangsprobe).

Leistungscharakteristika und Besonderheiten des Verfahrens

Die Bestimmungsgrenzen des Gesamtverfahrens bei Auswertung des 1. Massenübergangs (siehe SOP 5) liegen für die einzelnen Analyte im Bereich 0,7 – 20 ng/L (siehe Tab. 4-8), mit Ausnahme von Parathion-methyl und Fenitrothion (100 ng/L). Der Arbeitsbereich des Gesamtverfahrens ist für alle Analyte bis ≥ 80 ng/L linear (ausgenommen Mevinphos-Isomere: bis 20 bzw. 60 ng/L). Die Wiederfindungsraten der Messung (Verluste durch Signalsuppression aufgrund von Matrixeffekten) liegen im Bereich 65 – 100%, die Wiederfindungsraten der Anreicherung für drei Viertel der untersuchten Analyte im Bereich 70 - 110%. Für Aldicarb-sulfon, Carbaryl, Dichlorvos, Oxamyl und Triasulfuron ist die Wiederfindungsrate bzw.

die Präzision des Gesamtverfahrens so schlecht, dass nur semi-quantitative Bestimmungen möglich sind.

Zur "internen Qualitätskontrolle" werden alle Proben mit deuterierten Standardsubstanzen (Atrazin-D5, Diazinon-D10) vor der Aufarbeitung dotiert. Deren Wiederfindungsraten über das Gesamtverfahren dienen als Kontrolle der Probenvorbereitung bzw. möglicherweise variierender Matrixeffekte.

Die Ergebnisse werden bezüglich der Wiederfindung über das Gesamtverfahren, ermittelt aus parallel durchgeführten Aufstockversuchen, korrigiert. Für eine Längsprofil-Beprobung der Gesamtelbe mit 31 Stationen, mit stark variierenden Matrixbestandteilen, lag die erweiterte Messunsicherheit ($k = 2$) für die Analyte im Bereich 14 – 27% (ausgenommen Irgarol, 41%).

4.5 Leistungseigenschaften der Analyseverfahren im Vergleich

Im Folgenden soll die Leistungsfähigkeit der entwickelten Verfahren und deren Eignung für die Analyse von Pestiziden in Oberflächengewässern zusammenfassend diskutiert werden. Ein Überblick über die entwickelten und eingesetzten Verfahren und deren Leistungseigenschaften gibt Tabelle 4-7. Eine zusammenfassende Darstellung der Bestimmungsgrenzen für alle mit den Verfahren analysierten Wirkstoffe findet sich am Ende des Kapitels.

Das Screening-Verfahren (SOP 1) wurde entwickelt, um eine 'non-target'-Analyse von Hauptkomponenten zu ermöglichen und wurde auch erfolgreich für diesen Zweck eingesetzt. Aufgrund des hohen Arbeitsaufwandes der Probenextraktion und Fraktionierung ist es für den Einsatz als 'target'-Analytik wenig geeignet. Alle weiteren Verfahren wurden speziell für die 'target'-Analyse von Pestiziden in Oberflächengewässern entwickelt. Die Routineverfahren SOP 2 und SOP 3 gestatteten die Bestimmung eines breiten Spektrums von Pestiziden in größeren Messreihen in Konzentrationen unterhalb des Trinkwassergrenzwertes, abgesehen von einigen Analyten, die mit SOP 3 bestimmt wurden. Die Spezifität des Verfahrens SOP 3 ist sehr gering, was eine vergleichsweise hohe Unsicherheit bezüglich Falsch-Positiv-Befunden mit sich bringt. Es ist aus heutiger Sicht geeignet für Proben mit geringen Matrixgehalten wie Trinkwasser, aber weniger geeignet für Oberflächenwasserproben. Um die Belastungssituation von Oberflächengewässern mit Pestiziden mit niedrigen QC/QO-Werten bezüglich des Schutzgutes „aquatische Lebensgemeinschaft“ (AQL) bewerten zu können, sind Analyseverfahren mit Bestimmungsgrenzen für viele Analyte im unteren ng/L- bzw. sub-ng/L-Bereich erforderlich. Das Verfahren SOP 4 ist aufgrund seiner hohen Spezifität und niedrigen instrumentellen Bestimmungsgrenzen prinzipiell geeignet. Aufgrund starker, variierender Signalüberhöhungen (Matrixeffekte) sind für eine Reihe von Wirkstoffen jedoch nur semi-quantitative Bestimmungen möglich. Dies schränkt die Einsatzfähigkeit des Verfahrens auf Screening-Untersuchungen ein, bei denen das Auftreten von Pestiziden und deren Konzentrationsbereich hinreichende Aussagen sind. Das Verfahren SOP 5 weist eine vergleichbare hohe Spezifität auf in Verbindung mit Bestimmungsgrenzen, die für die meisten untersuchten Analyte unterhalb der jeweiligen QC/QO-Werte liegen. Ein Matrixeinfluss ist hier ebenfalls gegeben, im Vergleich zu SOP 4 aber deutlich geringer ausgeprägt, weniger stark von der Variabilität der Matrix innerhalb von Probenserien abhängig und für fast alle untersuchten Analyte unter Erzielung niedriger Messunsicherheiten über Gesamtwiederfindungsraten aus parallel durchgeführten Aufstockversuchen korrigierbar.

4 Chemisch-analytische Verfahren

Tab. 4-7: Vergleich der Leistungscharakteristika der Analyseverfahren ('target'-Analytik: SOP 1 – 5)

SOP	Verfahren	Anreicherungs- faktor ^a	Polaritätsbereich Analyte ^b	BG / ng L ⁻¹	Spezifität ^c	Linearität	Matrixeffekte
1	LLE, Fraktionierung, GC-MS	30 mL Zentrifugat 30 mg _{TM} SPM	+	0,2-40 0,7-40 µg/kg _{TM}	+++	+++	
2	SPE, GC-NPD	5 mL Wasser	+	50	++	+++	
3	SPE, HPLC-DAD	40 mL Wasser	+++	50-500	+	+++	X ^e
4	SPE, GC-MS ²	5 mL Wasser	+	(0,2-25) ^d	++++	+	XX ^f
5	SPE, LC-MS/MS	10 mL Wasser	+++	0,7-100	++++	+++	X ^g

^a Aliquot der Probe, das zur Bestimmung verwendet wird (gegeben durch Probenvolumen/-masse und endgültiges Extraktvolumen, aus dem ein entsprechender Volumenanteil injiziert wird).

^b +: geringer Polaritätsbereich, bei SOP 1, SOP 2 und SOP 4 beschränkt auf unpolare bis mittelpolare, thermostabile gaschromatographierbare Substanzen. +++: großer Polaritätsbereich, bei SOP 3 und SOP 5 im Wesentlichen beschränkt durch die Auslegung der SPE (Sorbens, Elutionsmittel).

^c Gegeben durch die Trennleistung des chromatographischen Systems und vor allem durch die Spezifität der Detektion. +: geringe Spezifität und vergleichsweise hohe Unsicherheit bei der Identifizierung/Quantifizierung, bei SOP 3 bedingt durch koeluiierende im UV absorbierende Probeninhaltsstoffe. ++: mittlere Spezifität, bei SOP 2 gegeben durch hohe Selektivität des Detektors bezüglich N/P-Verbindungen, der guten Trennleistung und der Absicherung über zwei analytische Säulen unterschiedlichen Trennverhaltens. +++: hohe Spezifität, bei SOP 1 gegeben durch gute Trennleistung (Fraktionierung und GC-Säule) in Verbindung mit guter Spezifität des Detektors (charakteristische *m/z* und deren Intensitätsverhältnisse). ++++: sehr hohe Spezifität: bei SOP 4 und SOP 5 bedingt durch hohe Spezifität der Detektion (Struktur-charakteristische Massenübergänge).

^d Instrumentelle BG (Methode nicht validiert, nur semi-quantitative Angaben möglich).

^e Möglichkeit der Signalerhöhung bzw. von Falschpositivbefunden (geringe Spezifität) durch koeluiierende UV-absorbierende Probeninhaltsstoffe.

^f Signalerhöhungen durch Probenmatrix für einige Analyte bis maximal 80% (für diese Analyte nur semi-quantitative Angaben möglich).

^g Signalsuppression durch Probenmatrix für einige Analyte bis maximal 35% (innerhalb einer Probenreihe reproduzierbar und daher korrigierbar über Gesamtwiederfindungsraten).

Für das Ziel, Multi-Analyt-Verfahren zu entwickeln, die ein möglichst breites Spektrum an Pestiziden unterschiedlicher Stoffgruppen abdecken, ist das Verfahren SOP 5 am besten geeignet. Die bereits analysierten Wirkstoffe weisen einen breiten Polaritätsbereich ($\log K_{ow} -1$ bis 5) auf. Das Spektrum untersuchbarer Wirkstoffe ist im Wesentlichen durch die Auslegung des Anreicherungsschrittes über SPE bedingt.

In der folgenden Tabelle 4-8 sind zusammenfassend die Bestimmungsgrenzen der Verfahren SOP 1 – 5 dargestellt. Enthalten sind zusätzlich die Bestimmungsgrenzen von Analyseverfahren, die vom DVGW Wassertechnologiezentrum Karlsruhe, Außenstelle Dresden im Rahmen eines Unterauftrages durchgeführt und zur Bewertung in Kapitel 5 mit herangezogen wurden.

Tab. 4-8: Übersicht der Analyseverfahren: Analyte und Bestimmungsgrenzen

Analyt	LLE, Frakt.	SPE	SPE	SPE, Deriv.	SPE	SPE
	GC-MS	GC-NPD	HPLC-DAD	GC-MS	GC-MS ²	LC-MS/MS
	SOP 1	SOP 2	SOP 3	DVGW	SOP 4	SOP 5
	Zentrifugat/SPM	Wasser	Wasser	Wasser	Wasser	Wasser
	BG	BG	BG	BG	BG _{Instr.} ^a	BG _{Instr.} ^b / BG
	ng L ⁻¹ / µg kg _{TM} ⁻¹	ng L ⁻¹	ng L ⁻¹	ng L ⁻¹	ng L ⁻¹	ng L ⁻¹ / ng L ⁻¹
Alachlor		50	250		0,2	3 / 5
Aldicarb-sulfon						2 / (15) ^c
Ametryn			250			
Anilazin					0,2	
Atrazin	1-3 / 1-10	50	50		2,5	0,5 / 2
Azinphos-ethyl	1-10 / 3-10	50			10	
Azinphos-methyl	3-10 / 3-10				5	1 / 1
Benfuracarb					5	
Bentazon				50		
Bifenox					5	
Bifenthrin					0,6	
Bromacil		50	250			2 / 5
Bromoxynil				50		
Bromuron			50			
Carbaryl		50			5	0,6 / (2) ^c
Carbofuran					1	
Chlorfenvinfos		50			1	
Chloridazon	2-40 / 3-40	50	100		25	
Chlorpyrifos		50	500		5	
Chlortoluron			100			
Coumaphos	2-20 / 3-20					
Cyanazin		50				
2,4-D				50		
Dalapon ^d						
Deltamethrin			250			
Dementon-S-methylsulfon	3-10 / 1-10					
Desethylatrazin		50	50		2,5	0,5 / 2
Desethylterbuthylazin		50			2,5	0,3 / 1
Desisopropylatrazin		50			5	2 / 7
Diazinon	0,7-10 / 3-7	50	500		2,5	0,3 / 2
Dicamba				50		
Dichlobenil		50			0,2	
Dichlorprop				50		
Dichlorvos	1-7 / 1-3	50			1	0,4 / (7) ^c
Dimethachlor		50	250		0,2	

4 Chemisch-analytische Verfahren

Tab. 4-8 (Forts.): Übersicht der Analyseverfahren: Analyte und Bestimmungsgrenzen

Analyt	LLE, Frakt.	SPE	SPE	SPE, Deriv.	SPE	SPE
	GC-MS SOP 1 Zentrifugat/SPM BG ng L ⁻¹ / µg kg _{TM} ⁻¹	GC-NPD SOP 2 Wasser BG ng L ⁻¹	HPLC-DAD SOP 3 Wasser BG ng L ⁻¹	GC-MS DVGW Wasser BG ng L ⁻¹	GC-MS ² SOP 4 Wasser BG _{Instr.} ^a ng L ⁻¹	LC-MS/MS SOP 5 Wasser BG _{Instr.} ^b / BG ng L ⁻¹ / ng L ⁻¹
Dimethoat	0,7-4 / 3	50			25	0,3 / 0,7
Dinoseb				50		
Dinoterb				50		
Diuron			50			3 / 7
DNOC				50		
Endrinaldehyd	3-40 / 7-40					
Epoxiconazol		50			2,5	
Etrimfos	1-3 / 0,7-3				1	0,2 / 1
Fenitrothion	1-10 / 3-10				5	10 / 100
Fenoprop				50		
Fenoxycarb					5	
Fenuron			50			
Fludioxonil					1	
Fluroxypyr				50		
Imidacloprid						0,5 / 2
Ioxynil				50		
Irgarol						0,4 / 1
Isofenphos					1	
Isoproturon		50	50		25	
Linuron	10-70 / 3-40	50				
Malathion	0,2-0,3 / 0,7-3				0,6	
MCPA				50		
Mecoprop				50		
Metalaxyl		50				
Metamitron		50	50		5	
Metazachlor		50			0,2	
Methabenzthiazuron			50			
Methamidophos	2-10 / 3-13					
Methidathion		50			1	
Metobromuron		50	50			
Metolachlor		50				
Metribuzin		50			1	
Mevinphos	0,7-0,3 / 1-3				1	0,2 / 3
Monolinuron	2-10 / 2-3	50				
Monuron			50			

Tab. 4-8 (Forts.): Übersicht der Analyseverfahren: Analyte und Bestimmungsgrenzen

Analyt	LLE, Frakt.	SPE	SPE	SPE, Deriv.	SPE	SPE
	GC-MS SOP 1 Zentrifugat/SPM BG ng L ⁻¹ / µg kg _{TM} ⁻¹	GC-NPD SOP 2 Wasser BG ng L ⁻¹	HPLC-DAD SOP 3 Wasser BG ng L ⁻¹	GC-MS DVGW Wasser BG ng L ⁻¹	GC-MS ² SOP 4 Wasser BG _{Instr.} ^a ng L ⁻¹	LC-MS/MS SOP 5 Wasser BG _{Instr.} ^b / BG ng L ⁻¹ / ng L ⁻¹
Nitrofen ^e						
Omethoat	1-3 / 1-7					
Oxamyl						1 / (3) ^c
Parathion-ethyl	2 / 1-3	50			25	6 / 20
Parathion-methyl	0,7-7 / 0,7-3	50	250		5	20 / 100
Pendimethalin		50			1	
Pirimicarb		50	100			
Prometryn			50		1	
Propanil	0,7-4 / 1-3					
Propachlor		50	250		2,5	
Propazin		50			1	0,6 / 2
Propetamophos	1-3 / 0,7-3					
Propham		50	50		1	
Propoxur		50	50		1	
Propyzamid			250			
Prosulfocarb		50	250		5	
Proximpham			50			
Pyrazophos					1	0,5 / 1
Sebuthylazin		50			1	
Simazin	1-3 / 3-7	50	50		2,5	
2,4,5-T				50		
2,4,5-T-isobutyl-ester	2-40 / 7-40					
2,4,5-T-methyl-ester	1-2 / 0,7-3					
2,4,5-T-isooctylester	1-20 / 3-10					
Tau-Fluvalinat					15	
Teflubenzuron						3 / 10
Terbuthylazin		50			1	0,7 / 1
Terbutryn					5	
Triadimefon			250			
Triadimenol		50			25	
Triallat		50			0,2	
Triasulfuron						0,4 / (7) ^c
Triazophos	2-20 / 3-7				5	
Trichloressigsäure ^d						
Triclopyr				50		

4 Chemisch-analytische Verfahren

Tab. 4-8 (Forts.): Übersicht der Analyseverfahren: Analyte und Bestimmungsgrenzen

Analyt	LLE, Frakt. GC-MS SOP 1 Zentrifugat/SPM BG ng L ⁻¹ / µg kg _{TM} ⁻¹	SPE GC-NPD SOP 2 Wasser BG ng L ⁻¹	SPE HPLC-DAD SOP 3 Wasser BG ng L ⁻¹	SPE, Deriv. GC-MS DVGW Wasser BG ng L ⁻¹	SPE GC-MS ² SOP 4 Wasser BG _{Instr.} ^a ng L ⁻¹	SPE LC-MS/MS SOP 5 Wasser BG _{Instr.} ^b / BG ng L ⁻¹ / ng L ⁻¹
Trifluralin	0,3-3 / 1-3	50			0,6	

LLE: Flüssig-Flüssig-Extraktion, **SPE:** Festphasenanreicherung, **Deriv.:** Derivatisierung, **Frakt.:** Fraktionierung

SOP: Standardarbeitsanweisung für das Analyseverfahren (siehe Anhang), **SPM:** Schwebstoff, **TM:** Trockenmasse

DVGW: Im Rahmen eines gemeinsamen Forschungsprojektes (Gandraß et al., 1998; Pietsch et al., 1995) vom DVGW-Technologiezentrum Wasser Karlsruhe (Außenstelle Dresden) analysierte Parameter

^a Hypothetische Umrechnung der absoluten instrumentellen Bestimmungsgrenzen (BG_{Instr.}, in pg) auf das Gesamtverfahren (1 L Probe, Anreicherung auf 200 µL Extraktvolumen, 1 µL injiziert)

^b Hypothetische Umrechnung der absoluten instrumentellen Bestimmungsgrenzen (BG_{Instr.}, in pg) auf das Gesamtverfahren (1 L Probe, Anreicherung auf 1 mL Extraktvolumen, 10 µL injiziert)

^c Aufgrund geringer Reproduzierbarkeit nur halbquantitative Angaben möglich

^d DVGW: LLE, Derivatisierung, GC-ECD, BG 100 ng/L

^e DVGW: LLE, GC-ECD, BG 20 ng/L