

Ökologische Risikoabschätzung von Pestiziden in kleinen Fließgewässern anhand von Felduntersuchungen in Mittel- und Nordeuropa

Kumulative Dissertationsschrift zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

an der Fakultät III - Umwelt und Technik
der Leuphana Universität Lüneburg

Vorgelegt von

Ralf Bernhard Schäfer

geboren am 8.05.1977 in Kassel

Gutachter:

1. Prof. Dr. W. Ruck

(Institut für Ökologie und Umweltchemie, Leuphana Universität Lüneburg)

2. PD Dr. M. Liess

(Department Systemökotoxikologie, UFZ – Helmholtz-Zentrum für
Umweltforschung)

Das Problem der Verunreinigung des Wassers durch Schädlingsbekämpfungsmittel kann nur in einem größeren Zusammenhang verstanden werden, als Teil des Ganzen, zu dem es gehört – der Verunreinigung der gesamten Umwelt des Menschen.

Rachel Carson, *Silent Spring*, 1962

Die vorliegende kumulative Dissertationsschrift basiert auf den nachfolgend aufgeführten wissenschaftlichen Publikationen:

- I. Schäfer, R. B., R. Mueller, W. Brack, K.-D. Wenzel, G. Streck, W. Ruck, and M. Liess. 2007. Determination of 10 particle-associated multiclass polar and semi-polar pesticides from small streams using accelerated solvent extraction. *Chemosphere* 70: 1952-1960.
- II. Gunold, R., R. B. Schäfer, A. Paschke, G. Schüürmann, and M. Liess. 2007. Calibration of the Chemcatcher[®] passive sampler for monitoring selected polar and semi-polar pesticides in surface water. *Environmental Pollution*, in press. doi:10.1016/j.envpol.2007.1010.1037.
- III. Schäfer, R. B., A. Paschke, B. Vrana, R. Mueller, and M. Liess. 2008. Performance of the Chemcatcher[®] passive sampler when used to monitor 10 polar and semi-polar pesticides in 16 Central European streams, and comparison with two other sampling methods. *Water research*, in press. doi:10.1016/j.watres.2008.01.023.
- IV. Schäfer, R. B., T. Caquet, K. Siimes, R. Mueller, L. Lagadic, and M. Liess. 2007. Effects of pesticides on community structure and ecosystem functions in agricultural streams of three biogeographical regions in Europe. *Science of the Total Environment* 382:272-285.

Die zitierten Beiträge sind in internationalen, englischsprachigen „peer-reviewed“ Fachzeitschriften (sämtliche Impact Factors >2) bereits erschienen oder in Druck und sind in der vorliegenden Arbeit mit Genehmigung der jeweiligen Herausgeber wiedergegeben.

Danksagung

Die vorliegende Arbeit entstand im Department Systemökotoxikologie am Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung (UFZ) in Leipzig in Zusammenarbeit mit dem Institut für Ökologie und Umweltchemie der Leuphana Universität Lüneburg. Ich möchte an dieser Stelle all den Menschen ganz herzlich danken, die mich während der Doktorarbeit unterstützt haben.

Ich danke Prof. Dr. Wolfgang Ruck für die fortwährende Unterstützung seit dem Studium und für die Möglichkeit die sehr interessante Aufgabenstellung zu bearbeiten.

PD Dr. Matthias Liess möchte ich für die Unterstützung in allen Bereichen, die interessanten Diskussionen über fachliche und nicht-fachliche Themen und für die großen Freiräume bei der Arbeit in seiner Arbeitsgruppe danken.

Der Studienstiftung des deutschen Volkes danke ich für die materielle und ideelle Förderung, die erheblich zur Horizonterweiterung beitrug.

Bei Dr. Peter von der Ohe möchte ich mich für die intensive Zusammenarbeit, vielfaches Korrekturlesen, Hilfe bei den Felduntersuchungen und viele Unternehmungen außerhalb des UFZ bedanken.

Bei Dr. Ralf Mueller, Bettina Egert und Henning Freitag bedanke ich mich für die Erste-Hilfe bei der chemischen Analytik und nette Aufenthalte in Oldenburg und Cloppenburg.

Frau Dr. Carola Schriever danke ich für die gute Zusammenarbeit, die vielen anregenden Diskussionen und kritisches Korrekturlesen.

Klaus Seyfarth, Ingrid Ränker, Anke Minner, Dr. Laurent Lagadic, Dr. Thierry Caquet, Marc Roucaute, Katri Siimes, Dr. Martin Lodenius, Dr. Hans-Rudi Voigt, Esa Tulosa und viele weitere Personen waren unersetzlich bei der Organisation und Durchführung der Felduntersuchungen und vieler Laborarbeiten.

Dr. Albrecht Paschke und Uwe Schröter danke ich für die Unterstützung in allen analytischen Angelegenheiten und die Einführung in das Gebiet der Passivsammler.

Dr. Branislav Vrana, Dr. Klaus-Dieter Wenzel und Dr. Jochen Müller möchte ich für die Unterstützung bei der Verwendung von Passivsammlern und hilfreiche Hinweise für die Feldstudien danken.

Dr. Werner Brack, Ines Rein und Angela Sperreuter danke ich für die theoretische und praktische Unterstützung bei der Extraktion und Aufreinigung der Schwebstoffproben.

Ein großes Dankeschön auch an Kaarina Foit für die angenehme Zimmernachbarschaft, die gemeinsame Durchführung der Statistik-Lehrveranstaltung und für ihre organisatorische Unterstützung in vielen Angelegenheiten.

Oliver Kaske, Andreas Marwitz, Dr. Mikhail Beketov, Magdalene Kutyniok, Iris Schiöberg, Dr. Sabine Duquesne und allen weiteren sowie ehemaligen KollegInnen des Departments Systemökotoxikologie sei für die gemeinsamen Kaffeerunden, anregenden Diskussionen, netten Freizeitaktivitäten und die herzliche Atmosphäre gedankt.

Ein großer Dank geht auch an Björn Müller für spontane Hilfsmaßnahmen bei Computerproblemen, der Unterstützung bei den Felduntersuchungen und Ablenkung von der Promotion.

Prof. Dr. Gerrit Schüürmann möchte ich für die fachlichen Diskussionen und erheiternden Gespräche danken.

Dr. Wolf-Ulrich Palm danke ich für seine fachliche und organisatorische Hilfe in vielen Angelegenheiten.

Für die Hilfe beim abschließenden Korrekturlesen der Arbeit geht ein großes Dankeschön an Claudia Schwadtke.

Ich danke meiner Freundin Petra Birnkraut für ihr Verständnis und die zahllosen Aufmunterungen auch in den schwierigen Phasen der Arbeit.

Schließlich bedanke ich mich bei meinen Eltern, die mit der Unterstützung meiner Ausbildung die Anfertigung der vorliegenden Arbeit überhaupt erst möglich gemacht haben.

Inhaltsverzeichnis

Summary	9
Zusammenfassung	11
Kapitel 1: Allgemeiner Teil	13
Überblick	13
Einführung	14
Konzept und Ziele	26
Literaturverzeichnis Kapitel 1	31
Kapitel 2: Determination of 10 particle-associated multiclass polar and semi-polar pesticides from small streams using accelerated solvent extraction	41
Introduction	42
Methods and materials	43
Results and discussion	48
Conclusions	55
Kapitel 3: Calibration of the Chemcatcher[®] passive sampler when used to monitor 10 polar and semi-polar pesticides in 16 Central European streams, and comparison with two other sampling methods	61
Introduction	62
Theory	63
Experimental	65
Results	69
Discussion	72
Conclusions	77
Kapitel 4: Performance of the Chemcatcher[®] passive sampler, and comparison of its performance with two other sampling methods	81
Introduction	82
Materials and methods	83
Results	89
Discussion	92
Conclusions	97

Kapitel 5: Effects of pesticides on community structure and ecosystem functions in agricultural streams of three biogeographical regions in Europe **103**

Introduction 104

Methods 105

Results 115

Discussion 121

Conclusions 125

Kapitel 6: Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse und Ausblick **141**

Zusammenfassung der Ergebnisse 141

Diskussion der wichtigsten Ergebnisse und Ausblick 148

Literaturverzeichnis Kapitel 6 156

Abkürzungsverzeichnis

ACN	acetonitrile
ASE	accelerated solvent extraction
CV	coefficient of variation
DCM	dichloromethane
DIS	deuterated internal standard
EA	ethyl acetate
EDS	event-driven water sampler
GC	gas chromatography
HPLC	high-performance liquid chromatograph
IS	internal standard
K_{OC}	soil organic carbon partition coefficient
K_{ow}	octanol water partition coefficient
LC50	median lethal concentration
LOQ	limit of quantification
MDS	method development samples
MeOH	methanol
MS	mass Spectrometry
PRC	performance reference compound
PS-DVB	polystyrene-divinylbenzene
PTFE	polytetraflouroethylene
RSD	relative standard deviation
R_s	sampling rate
RT	retention time
SEC	size exclusion chromatography
STU	sediment toxic unit
SPE	solid phase extraction
SPS	suspended particles sampler
SPEAR	species at risk
TOC/TIC	total organic/inorganic carbon content
TU	toxic unit
TWA	time-weighted-average
PRC	performance reference compound
WRRL	europäische Wasserrahmenrichtlinie

Summary

Freshwater ecosystems deliver various goods and services for human societies such as provisioning of water and fish resources. Modern agriculture is associated with the release of a large amount of agrochemicals that may enter into streams and result in deterioration of freshwater ecosystems. The present thesis contributes to the assessment of exposure and effects resulting from pesticide input into stream ecosystems and presents one of the largest field studies on the impacts of pesticide contamination in agricultural streams. The field study was conducted in 29 streams of two regions in France and Finland and comprised monitoring of invertebrate community composition and of an important ecosystem process, the leaf-litter breakdown. Furthermore, pesticide monitoring was performed for selected compounds that were previously found at ecotoxicologically relevant concentrations in streams of the study area according to information from local authorities. After the general introduction (Chapter 1), Chapters 2-4 introduce and evaluate sampling and determination methods for pesticide exposure. The results concerning the effects of pesticides in the field studies are presented in Chapter 5. In Chapter 2, a new method for the determination of 10 particle-bound pesticides using accelerated solvent extraction (ASE) is presented. The method developed here showed good results in terms of accuracy and precision in the extraction of polar and semi-polar pesticides belonging to different chemical classes. When applied to the extraction of field samples from streams, the detected concentrations reached levels that may have toxic effects on invertebrate species. In addition, the use of 6 deuterated analogues of the target compounds as internal standards during extraction, cleanup and analysis was examined. The study demonstrates that dissimilarities may occur in the behaviour of target compounds and deuterated analogues for analogues with less than 10 deuterium atoms. The following chapter describes a calibration approach to derive sampling rates for the Chemcatcher[®] passive sampler equipped with a receiving phase for polar and semi-polar pesticides. Sampling rates are needed to estimate time-weighted average water concentrations from field deployments of non-equilibrium passive samplers. The sampling rates obtained in the experiment were in the range of 0.1 to 0.5 L/day for the study compounds. In general, the experiment demonstrated that the Chemcatcher[®] passive sampler is suitable for field deployments up to 14 days in the configuration without a diffusion-limiting membrane. In Chapter 4 the provided sampling rates are used to

compute time-weighted average water concentrations for the field deployment of the Chemcatcher® in the French streams. Furthermore, this chapter compares the performance of the Chemcatcher® to the performance of two other sampling systems when used to detect pesticide exposure in streams. The study suggests that sampling waterborne exposure with the Chemcatcher® or an event-driven water sampler gives a more appropriate picture of the contamination with polar and semi-polar pesticides than sampling suspended particles. Chapter 5 is devoted to the effect side, where the risk assessment of the pesticide input in the French and Finnish streams for invertebrate communities is presented. In addition, the impact of pesticides on leaf-litter breakdown was investigated and the applicability of the trait-based Species At Risk (SPEAR) index to detect pesticide stress in large-scale biomonitoring was evaluated. The results of this chapter show that pesticides may alter invertebrate community composition and lead to an impairment of the leaf-litter breakdown at levels that were considered to be protective previously. Moreover, the study demonstrates the suitability of the SPEAR index to detect effects of pesticides when used on biomonitoring data including different biogeographical regions. In conclusion, the thesis adds to the growing evidence that pesticides present an important stressor for aquatic ecosystems and provides tools that can be applied in future studies on the exposure and the effects of pesticides in aquatic systems.

Zusammenfassung

Süßwasserökosysteme stellen für menschliche Gesellschaften verschiedene Ökosystemdienstleistungen wie zum Beispiel Trinkwasser oder Fischressourcen bereit. In der modernen Landwirtschaft kommen große Mengen von Agrochemikalien zum Einsatz, die in die Fließgewässer gelangen und dort zur Schädigung des Ökosystems führen können. Die vorliegende Arbeit trägt wichtige Erkenntnisse zur Abschätzung von Exposition und Effekten bei, die aus dem Eintrag von Pestiziden in Fließgewässerökosysteme resultieren können. Dabei wird eine der umfangreichsten Feldstudien zu den Auswirkungen der Pestizidbelastung in kleinen landwirtschaftlichen Fließgewässern vorgestellt. Die Feldstudie wurde an 29 Bächen in zwei Gebieten Finnlands und Frankreichs durchgeführt und umfaßte die Aufnahme der Zusammensetzung der Invertebratengemeinschaften und eines wichtigen Ökosystemprozesses, dem Blattabbau. Des Weiteren wurde ein Pestizidmonitoring für Verbindungen durchgeführt, die nach den Ergebnissen behördlicher Untersuchungen in ökotoxikologisch relevanten Konzentrationen in den Gewässern vorkommen. Nach der Einleitung (Kapitel 1), werden in den Kapiteln 2-4 neue Methoden zur Erfassung der Pestizidbelastung von Fließgewässern vorgestellt und bewertet. Die Ergebnisse aus der Feldstudie zu den Auswirkungen von Pestiziden werden im Kapitel 5 präsentiert. Im 2. Kapitel wird eine neue Methode zur Erfassung von schwebstoffadsorbierten Pestiziden vorgestellt, bei der die Extraktion mit der beschleunigten Lösemittelextraktion (ASE) durchgeführt wurde. Die Methode zeigte gute Ergebnisse bezüglich Exaktheit und Genauigkeit der Wiederfindung bei der Extraktion 10 polarer und semi-polarer Pestizide verschiedener chemischer Klassen. Bei der Anwendung der Methode auf Schwebstoffproben aus den französischen Bächen wurden Konzentrationen gefunden, die auf Invertebraten toxisch wirken könnten. Zusätzlich wurde in dieser Studie die Geeignetheit von deuterierten Standards der Analyten zur Verwendung als interne Standards während der Extraktion, Aufreinigung und Analytik untersucht. Dabei zeigte sich, daß bei deuterierten Standards mit weniger als 10 Deuteriumatomen Unterschiede im Verhalten zur nicht-deuterierten Verbindung auftreten können. Das folgende Kapitel stellt ein Kalibrationsexperiment zur Ermittlung von Sammelraten für den Chemcatcher® Passivsammler mit polarer Empfängerphase vor. Sammelraten für Passivsammler werden benötigt, um nach der Ausbringung in Gewässern zeitlich-gewichtete

Durchschnittskonzentrationen (engl. TWA) berechnen zu können. Für den Chemcatcher® bewegten sich die Sammelraten im Bereich von 0.1 bis 0.5 L pro Tag. Das Kalibrationsexperiment ergab zudem, daß der Chemcatcher® ohne diffusionslimitierende Membran für Felduntersuchungen mit bis zu 14 Tagen Expositionszeit geeignet ist. Die ermittelten Sammelraten werden im 4. Kapitel verwendet, um TWAs für die Freilandexposition des Chemcatchers® in den französischen Bächen zu berechnen. Ferner wird die Leistungsfähigkeit des Chemcatchers® mit zwei weiteren Verfahren zur Erfassung von gewässerbezogener Pestizidbelastung verglichen. Dabei zeigte sich, daß die Probenahme der Wasserphase mit dem Chemcatcher® oder einem ereignisbezogenen Wasserprobenehmer bei polaren und semipolaren Pestiziden ein angemesseneres Bild der Belastung liefert als die Probenahme der Schwebstoffphase. Das 5. Kapitel ist den Auswirkungen von Pestiziden gewidmet und präsentiert eine Risikoabschätzung für die Auswirkungen der Pestizideinträge in die französischen und finnischen Gewässer. Zusätzlich werden potentielle Effekte auf den Blattabbau untersucht und die Anwendbarkeit des „Gefährdete Arten“ (SPEcies At Risk - SPEAR) Index für das länderübergreifende Biomonitoring beurteilt. Das Hauptergebnis der Studie ist, daß Pestizide selbst in Konzentrationen, die bisher als unbedeutend angesehen wurden, sowohl die Struktur der Invertebratengemeinschaften verändern als auch den Blattabbau hemmen können. Des Weiteren war der SPEAR Indikator geeignet, Effekte von Pestiziden über verschiedene Regionen hinweg nachzuweisen. Zusammenfassend weist diese Arbeit nach, daß Pestizide einen wichtigen Störfaktor für Fließgewässerökosysteme darstellen können und liefert Methoden zur Expositions- und Effektabschätzung die in zukünftigen Studien Anwendung finden könnten.

Kapitel 1: Allgemeiner Teil

Überblick

Die vorliegende kumulative Dissertation hat zum Ziel, einen wichtigen Beitrag zur ökologischen Risikoabschätzung von Pestiziden in kleinen Fließgewässern zu leisten. Dafür werden sowohl in methodischer Hinsicht neue Verfahren für die Expositionsabschätzung und die Effektabschätzung eingeführt bzw. überprüft und bewertet als auch eine Risikoabschätzung auf Basis von eigenen Felduntersuchungen zu den Auswirkungen von Pestiziden präsentiert.

Die Arbeit gliedert sich in 6 Kapitel. Im 1. Kapitel wird ein Überblick über den Stand der Wissenschaft in den verschiedenen Bereichen gegeben, die in dieser Arbeit berührt werden. Zunächst wird in das Biomonitoring in Fließgewässern eingeführt und die Gründe für die Verwendung von Makroinvertebraten als Indikatororganismen werden dargestellt. Danach folgt ein kurzer Überblick über Methoden zur Auswertung von aquatischen Biomonitoringdaten mit Fokus auf der aktuellen Entwicklung bezüglich ökologischer Indizes. Im Anschluss daran findet eine Charakterisierung der Einträge von Pestiziden in Fließgewässer statt, mit den daraus folgenden Anforderungen an Probenahmemethoden zur realistischen Abschätzung der Exposition. In den folgenden Abschnitten wird auf den aktuellen Stand der Entwicklung von Passivsammlern zur kontinuierlichen Erfassung der Exposition eingegangen sowie auf die Extraktion von partikelgebundenen Pestiziden, die ebenfalls zur realistischen Expositionsabschätzung dienen könnten. Schließlich wird der aktuelle Wissensstand bezüglich der Effekte von Pestiziden in Fließgewässerökosystemen skizziert, zum einen bezüglich der Strukturveränderung der Makroinvertebratengemeinschaft und zum anderen bezüglich der funktionalen Änderung von Ökosystemprozessen. Das 1. Kapitel endet mit der Darstellung des Konzeptes und der Ziele dieser Arbeit. An dieser Stelle werden auch die Problemstellungen und Ziele der einzelnen Publikationen dieser kumulativen Dissertation vorgestellt. Die Publikationen folgen in den Kapiteln 2 bis 5. Im Kapitel 6 werden die wichtigsten Ergebnisse kurz zusammengefasst und Perspektiven für weitere Arbeiten gegeben.

Einführung

Grundlagen des Biomonitoring

Fließgewässer stellen für menschliche Gesellschaften eine Vielfalt von Ökosystemdienstleistungen bereit. Sie werden unter anderem zur Trinkwassergewinnung, zum Abwassertransport, zum Fischen und zum Warentransport genutzt (Klee 1991). Aus diesen unterschiedlichen Nutzungsinteressen resultierten in den letzten Jahrhunderten Konflikte (Radkau 2002), denn für einige Nutzungsformen spielt die Reinheit des Wassers eine entscheidende Rolle, während andere menschliche Aktivitäten wiederum zur Verschmutzung der Fließgewässer führen. Dabei verfügen Fließgewässerökosysteme in begrenztem Maße über die Fähigkeit zur Selbstreinigung, das heißt, dass ein gewisse Menge von eingetragener allochthoner organischer Substanz abgebaut werden kann (Lampert und Sommer 1999). Anthropogene Stressoren können aquatische Lebensgemeinschaften verändern, wodurch auch das Funktionieren von Ökosystemprozessen wie z.B. die Selbstreinigungsfähigkeit beeinträchtigt werden kann. Die europäische Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) strebt deshalb einen sehr guten oder guten ökologischen Zustand für die europäischen Gewässer an, was sich als keine oder nur geringe Veränderung der Ökosysteme durch anthropogene Stressoren übersetzen lässt (EU 2000). Um den ökologischen Zustand eines Fließgewässers zu beurteilen, gibt es chemische (z.B. Bestimmung der Ammoniumkonzentration) und biologische Monitoringmethoden. Das Biomonitoring beruht konzeptionell auf der Reaktion von Lebewesen auf ihre Umweltbedingungen. Die Wirkung eines bestimmten Stressors kann auf verschiedenen Ebenen der biologischen Organisation beobachtet werden:

1. Suborganismische Ebene (z.B. Veränderungen bei der Enzymaktivität (Sturm et al. 2007) oder der chemischen Signalübertragung).
2. Ebene des einzelnen Organismus (Mortalität (Schulz und Liess 1999b) sowie Veränderungen der Morphologie (Vuori und Kukkonen 2002), des Wachstums, der Reproduktion oder des Verhaltens (Sih et al. 2004))
3. Populationsebene (Veränderungen der Populationsstruktur (Liess et al. 2006) oder der Mortalitätsrate (Schulz und Liess 1999b, Arndt et al. 1987))
4. Ebene der Lebensgemeinschaft (Abweichung der Gemeinschaftszusammensetzung gegenüber einem unbeeinträchtigten Referenzzustand oder die Abnahme des Anteils von empfindlichen Arten (Wright et al. 1998, Stoddard et al. 2006))
5. Ökosystemebene (Änderungen bei Ökosystemprozessen (Gessner und Chauvet 2002, Lecerf et al. 2006))

Bei den Schutzgütern im Natur- und Umweltschutz handelt es sich meist um Populationen, Gemeinschaften, Biodiversität oder Ökosystemfunktionen (MEA 2005). Die Relevanz von suborganismischen oder organismischen Beobachtungen ist für diese aggregierten Ebenen aufgrund der schlechten Übertragbarkeit meist gering (Forbes et al. 2006). Allerdings ist der Nachweis der Kausalität zwischen einem Stressor und Effekten auf den unteren Organisationsebenen leichter (Hyne und Maher 2003). Umgekehrt erlaubt die Beobachtung von Lebensgemeinschaften oder Ökosystemprozessen im Freiland eine realistische Beurteilung der Umweltqualität, während die spezifischen Ursachen für Abweichungen vom Referenzzustand aufgrund von natürlicher Variation und möglichen Kombinationswirkungen von Stressoren nicht einfach zu identifizieren sind (Heugens et al. 2001, Liess et al. 2005). Beim Biomonitoring von Fließgewässern dominiert das Erfassen der Makroinvertebratengemeinschaften, vor allem bei den regelmäßigen behördlichen Monitoringprogrammen (von der Ohe et al. 2007).

Makroinvertebraten als Zeigergruppe beim Biomonitoring

Zur Gruppe der Makroinvertebraten werden alle größeren aquatischen Invertebraten gezählt. Dazu gehören die aquatischen Insekten, Würmer, Mollusken und Krebse. Sie werden zum Beispiel mit einem Surber-Sampler mit einer Maschenweite von 500 µm erfasst (Schwoerbel 1994). Im Fließgewässerökosystem nehmen Makroinvertebraten als Konsumenten eine mittlere Stellung bezüglich der Trophieebene ein und ernähren sich von Bakterien, Detritus, Phytoplankton, Pflanzen, allochthonem organischen Material wie Blättern oder räuberisch von anderen Invertebraten (Cummins 1973). Sie beeinflussen verschiedene Ökosystemprozesse wie den Nährstoffzyklus, die Primärproduktion oder Abbauprozesse (Wallace und Webster 1996). Neben der Relevanz für das Funktionieren des Fließgewässerökosystems sprechen folgende Gründe für die Verwendung von Makroinvertebraten beim Biomonitoring (Bonada et al. 2006):

- Makroinvertebraten kommen weltweit in allen Fließgewässern vor
- sie besitzen eine hohe Artendiversität, wodurch sich ein großes Spektrum von Reaktionen auf Umweltveränderungen ergibt
- sie sind relativ ortsgebunden, so dass der Einfluss von Stressoren noch nach Wochen bis Jahren in der Gemeinschaft zu detektieren ist (Niemi et al. 1990)
- einige Arten zeigen durch Drift eine direkte Reaktion auf den Eintrag eines Schadstoffes (Schulz und Liess 1999a)

- der Aufwand für Felduntersuchungen ist relativ gering und es existiert eine umfangreiche taxonomische Literatur zur Bestimmung der Arten
- bei einigen Arten handelt es sich um die empfindlichsten Glieder der aquatischen Fauna gegenüber bestimmten Schadstoffen

Im Rahmen des Biomonitorings der Makroinvertebratenfauna werden entweder die Abundanzen der unterschiedlichen Arten aufgenommen (quantitatives Monitoring) oder die Gemeinschaft wird lediglich qualitativ charakterisiert, d.h. nur die Anwesenheit eines Taxons wird protokolliert. Damit die Umweltqualität auf Grundlage dieser Beobachtungen beurteilt werden kann, gibt es verschiedene Ansätze um die Informationen zu aggregieren und zu visualisieren. Am bedeutsamsten ist hier die Verwendung von multivariaten statistischen Methoden oder von Indizes. Für das vergleichende Biomonitoring in größeren geografischen Einheiten wie Flusseinzugsgebieten, das im Rahmen der Umsetzung der WRRL stark an Bedeutung gewonnen hat, ist der Einsatz von Indizes, die auf biologischen Merkmalen beruhen, am erfolgversprechendsten (Statzner et al. 2001, Bonada et al. 2006).

Biologische Indexsysteme für aquatische Monitoringdaten

Eine der ersten Methoden zur Beurteilung der biologischen Gewässergüte war der Saprobienindex (DIN 1990). Er wurde zu Beginn des 20. Jahrhunderts entwickelt, um die Belastung der Gewässer mit organischen Verunreinigungen, welche aus der Einleitung von Abwässern resultierte, zu erfassen (Bonada et al. 2006). Das Saprobienindexsystem weist Organismen anhand ihrer Toleranz gegenüber biologisch abbaubare organische Substanzen einen Saprobienwert zu, der empirisch aus der Beobachtung belasteter und unbelasteter Gewässer abgeleitet wurde. Die Saprobienwerte der Organismen werden dann gewichtet (z.B. nach der Abundanz), in einem Indexwert für die jeweilige Probestelle zusammengefasst (Klee 1991). Die Höhe dieses Indexwertes bestimmt die Zuordnung zu einer Gewässergüteklasse. Der Saprobienindex hat sich als recht erfolgreich für das Monitoring der Belastung mit organischen Verbindungen erwiesen. Durch den flächendeckenden Ausbau von Kläranlagen hat die Bedeutung dieser Belastung für die ökologische Qualität der Fließgewässer in den meisten europäischen Ländern abgenommen (Allan 1995, BMU 2005). Das grundlegende Konzept des Saprobienindexsystems, nämlich die Klassifizierung der beobachteten Taxa anhand ihrer Empfindlichkeit gegenüber einem Stressor, findet sich jedoch bei vielen anderen Indexsystemen wieder (Wildhaber und Schmitt 1998). Generell wird bei diesen Systemen eine Beeinträchtigung der ökologischen Qualität durch eine signifikante Abweichung des

Indexwertes einer Probestelle vom Indexwert eines Referenzzustandes bzw. durch Unter- oder Überschreitung von definierten Klassengrenzwerten angezeigt. Ein großes Problem ist hierbei die beschränkte geografische Anwendbarkeit, da der Indexwert des Referenzzustandes sowohl in Abhängigkeit vom Fließgewässertyp als auch von der jeweiligen geografischen Region variieren kann (Sandin und Verdonschot 2006, von der Ohe et al. 2007). Diese Variation resultiert zum einen daraus, dass viele Taxa der Makroinvertebratenfauna in ihrer Ausbreitung geografisch limitiert sind, was sich auch in der Einteilung Europas in 25 biogeografische Regionen äußert (Illies 1978). Zum anderen bewirken klimatische Faktoren grundlegende Unterschiede in den Gemeinschaftszusammensetzungen. So ist die Anzahl von unterschiedlichen Gattungen im Mittelmeerraum höher als in Zentraleuropa (Bonada et al. 2007).

In der letzten Dekade haben verschiedene Autoren aufgezeigt, dass Indizes, die auf biologischen Merkmalen beruhen, viel versprechend für das Biomonitoring in größeren Regionen sind (Doledec et al. 1999, Usseglio-Polatera et al. 2000, Haybach et al. 2004, Liess und von der Ohe 2005, Statzner et al. 2005). Die theoretische Grundidee dieser Ansätze ist, dass Taxa aufgrund bestimmter Ausprägungen von physiologischen oder ökologischen Merkmalen empfindlich bzw. tolerant gegenüber einem Stressor sind. Beispielsweise sind Makroinvertebraten mit einem stromlinienförmigen Körperbau und geringer Körpergröße widerstandsfähiger gegenüber erhöhten Fließgeschwindigkeiten z.B. bei Sturmfluten (Statzner et al. 2004). Ein weiteres Beispiel ist, dass sich Arten mit einer hohen Reproduktionsrate besser von den Auswirkungen von toxischem Stress erholen können als Arten mit niedrigeren Reproduktionsraten (Stark et al. 2004, Liess und von der Ohe 2005). Die Auswirkungen eines bestimmten Stressors sollten sich also dadurch nachweisen lassen, dass der Anteil von Arten mit dem unempfindlichen Modus des jeweiligen Merkmals in der Gemeinschaft zunimmt (Naeem und Wright 2003). Dieses Konzept wird in Abbildung 1 veranschaulicht. Hier weist jede Art in der Gemeinschaft (Symbol) drei biologische Merkmale auf (Form, Farbe und Größe). Der hypothetische Stressor wirkt nun analog zu einem Filter auf ein Merkmal (Größe), wodurch der Anteil von Arten mit einer geringen Größe zunimmt (Abbildung 1). Der konzeptionelle Unterschied zu taxonomiebasierten Indizes besteht also darin, dass nicht mehr konkrete Arten im Mittelpunkt der Analyse stehen, sondern die Ausprägung der ökologischen oder physiologischen Merkmale einer Gemeinschaft.

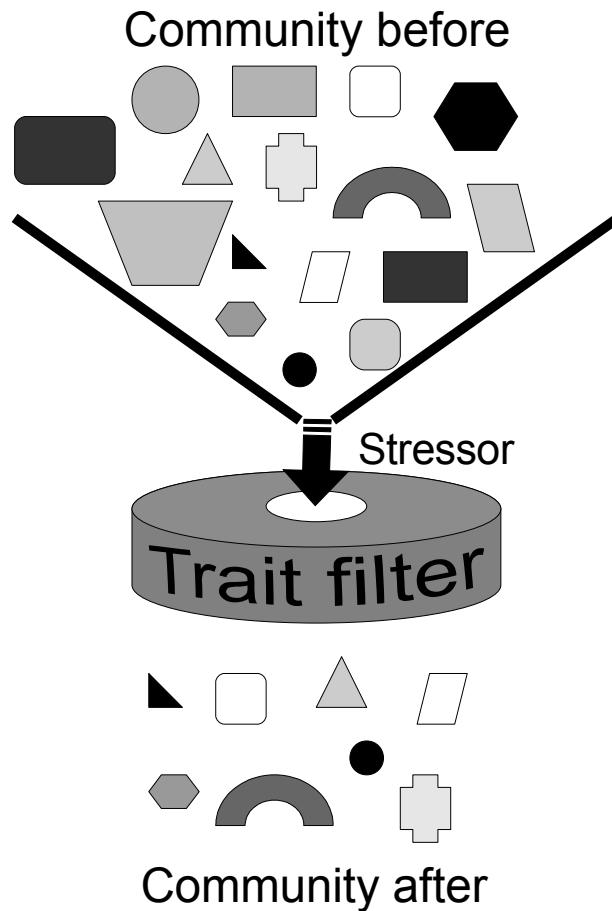


Abbildung 1: Auswirkungen eines Stressors auf die Merkmalsausprägungen in einer Gemeinschaft. Durch den Stressor werden die Arten (Symbole) anhand ihrer Größe selektiert, Farbe und Form werden nicht beeinflusst. Der Stressor wirkt somit analog eines Filters, der den Anteil kleiner Arten in der Gemeinschaft erhöht.

Die bisherigen Arbeiten auf dem Gebiet merkmalsbasierter Indizes haben hauptsächlich gezeigt, dass die Invertebratengemeinschaften an europäischen Referenzstellen eine ähnliche Zusammensetzung bei der Ausprägung ihrer Merkmale aufweisen. Das bedeutet, dass im Gegensatz zu taxonomischen Ansätzen die Referenzstellen über größere Regionen hinweg ähnliche Anteile von Merkmalsausprägungen besitzen (Gayraud et al. 2003, von der Ohe et al. 2007). Weitere Ergebnisse zeigen zudem, dass unterschiedliche Belastungssituationen mit signifikanten Unterschieden bei ausgewählten biologischen Merkmalen korrespondieren. So wurde für den Stressor Salinität nachgewiesen, dass sich der Anteil einiger Merkmalsausprägungen (z.B. lange Generationszeit, Filtrieren als Ernährungstyp) der Invertebratengemeinschaft bei steigender Belastung signifikant verringerte (Piscart et al. 2006). Auch für unterschiedliche Landnutzungsformen (Doledec et al. 2006) konnten signifikante Unterschiede zwischen bestimmten Merkmals-

ausprägungen (z.B. zwischen Reproduktionstypen oder Körperformen) gezeigt werden. Die entsprechenden biologischen Merkmale könnten somit als Index für die Umweltqualität des betrachteten Stressors verwendet werden. Diesbezüglich haben Stutzner et al. (2005) einen konzeptionellen Rahmen für die Entwicklung von merkmalsbasierten Indizes für verschiedene Stressoren aufgespannt, indem die Autoren Hypothesen aufgestellt haben, welche biologischen Merkmale bei den verschiedenen Stressoren eine Reaktion zeigen könnten. Bisher existiert nur ein konsistentes Indexsystem: der „Gefährdete Arten“ (Species At Risk -SPEAR) Index (Liess und von der Ohe 2005), der entwickelt wurde um aquatische Biomonitoringdaten hinsichtlich potentiell Stress durch Pestizide auszuwerten. Der Index beruht auf physiologischen (relative Empfindlichkeit gegenüber toxischen organischen Substanzen wie Pestiziden (von der Ohe und Liess 2004)) und ökologischen Merkmalen (Emergenzzeitpunkt, Wanderungsfähigkeit und Generationszeit) und teilt die beobachtete Invertebratengemeinschaft in empfindliche und tolerante Arten gegenüber dem Stressor „Pestizide“ ein. Der SPEAR Index wurde bei der Auswertung einer Feldstudie an 20 deutschen Fließgewässern angewendet und reagierte im Vergleich zu unbelasteten Referenzstellen bei Probestellen mit Pestizidbelastung mit einer signifikant Abnahme des Anteils an empfindlichen Arten (Liess und von der Ohe 2005).

Charakterisierung von Pestizideinträgen in Bäche in Regionen mit landwirtschaftlicher Landnutzung

In der konventionellen und integrierten Landwirtschaft wird zur Sicherung und Steigerung der Ernteerträge auf organische Insektizide, Herbizide und Fungizide (im Folgenden unter dem Sammelbegriff „Pestizide“ zusammengefasst) zurückgegriffen (Oerke und Dehne 2004). Beispielsweise wurden für Deutschland in den Jahren 1993 bis 2006 für die Anwendung im Inland zwischen 33.660 und 38.880 Tonnen abgegebener Wirkstoffmenge bei der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (BBA) registriert (BBA 2002, BVL 2007). Die ausgebrachten Pestizide können über verschiedene Pfade in die Oberflächengewässer gelangen (Bach et al. 2001). Studien zur Relevanz der Eintragspfade haben gezeigt, dass Runoff (engl. Fachbegriff für niederschlagsbedingten Oberflächenabfluss vom Feld) hinsichtlich der Eintragsmenge aber auch der Höhe der Konzentrationen im Gewässer eine der wichtigsten Quellen des Pestizideintrags ist (Wauchope 1978, Liess et al. 1999, Raupach et al. 2001, Neumann et al. 2002). Runoff wird durch starke Regenereignisse ausgelöst und tritt somit nur episodisch auf (Guo et al. 2004). In Abbildung 2 sind der Abfluss (A) und der Verlauf der

Konzentrationen dreier Pestizide in einem Fließgewässer (B) während des ersten Starkregenereignisses (46 mm) 23 Tage nach der Pestizidausbringung dargestellt. Im Fließgewässer wurden nach Einsetzen des Niederschlags Spitzenkonzentrationen von bis zu 8 µg/L gefunden, die nach rund 48 Stunden auf unter 10% der Spitzenkonzentration gefallen waren. Eine monatliche Punktwasserprobe, wie sie bei behördlichen Monitoringprogrammen üblich ist, hat eine hohe Wahrscheinlichkeit, solche Eintragsereignisse nicht zu erfassen (Richards und Baker 1993, Schäfer et al. 2004). Für eine realistische Abschätzung des Expositionsnieaus muss die Probenahmestrategie deswegen an den Charakter dieses ereignisbezogenen Eintragspfades angepasst werden.

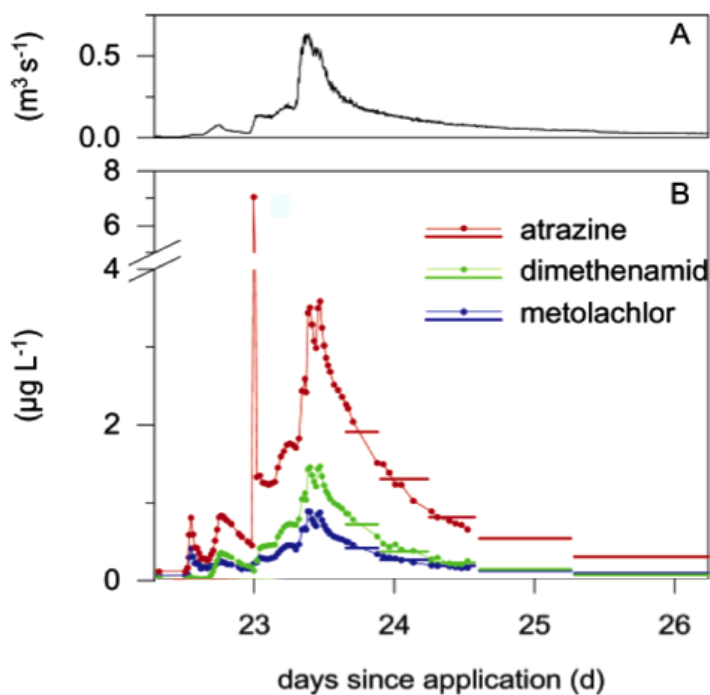


Abbildung 2: Abfluss (A) und Konzentrationen von 3 Pestiziden in einem angrenzenden kleinen Fließgewässer (B) beim ersten Starkregenereignis nach der Pestizidausbringung. Entommen aus Leu et al. (2004) und modifiziert.

Verwendung von Passivsammlern zur Expositionsabschätzung

Eine neuere Entwicklung der letzten zwei Dekaden beim Gewässermonitoring organischer Substanzen ist die Verwendung von Passivsammlern zur kontinuierlichen Erfassung der Gewässerbelastung (Stuer-Lauridsen 2005). Passivsammlern kann als Probenahmemethode definiert werden, bei der die Analyten von dem Probenahmemedium durch freie Diffusion in die Empfängerphase gelangen und dort akkumulieren (Gorecki und Namiesnik 2002). Als Empfängerphase kann z.B. ein Lösungsmittel, ein poröses Sorptionsmittel oder eine Festphasenextraktionsmembran verwendet werden. Passivsammler, die im Freiland ausgebracht werden, bestehen aus

einem Gehäuse, in dem die Empfängerphase fixiert ist und ggf. einer diffusionslimitierenden Membran. Wenn die Sammler für eine lange Zeit im Probenahmemedium belassen werden, nähert sich die Verteilung des Analyten zwischen dem Medium und der Empfängerphase einem thermodynamischen Gleichgewicht (Abbildung 3), welches abhängig von der jeweiligen Substanz und der Empfängerphase ist (Vrana et al. 2005). Es wird davon ausgegangen, dass bis zur Halbwertszeit des Gleichgewichtszustandes eine quasi-lineare Aufnahme in die Empfängerphase des Passivsammlers stattfindet (Abbildung 3). Das heißt, dass sich der Passivsammler bis zu diesem Zeitpunkt in einer zeitlich-integrierenden Aufnahmephase befindet. In diesem Fall kann aus der aufgenommenen Masse des Analyten die zeitlich-gewichtete Wasserdurchschnittskonzentration (time-weighted average - TWA) berechnet werden. Allerdings wird für die Berechnung eine substanz- und sammlerspezifische Sammelrate benötigt, die in Kalibrationsexperimenten im Labor bestimmt werden kann. Dabei wird die Aufnahmerate des Sammlers bei konstanter Exposition ermittelt (Booij et al. 2007). Aus den Ergebnissen des Kalibrationsexperiments kann zusätzlich die Dauer abgeleitet werden, die der jeweilige Passivsammler bei Feldversuchen in der zeitlich-integrierenden Aufnahmephase verbleibt. Insbesondere für polare organische Substanzen sind bisher kaum Sammelraten ermittelt worden, so dass der Einsatz von Passivsammlern für diese Substanzen die Durchführung von Kalibrationsexperimenten erfordert (Mills et al. 2007). Im aquatischen Milieu können Passivsammler meist 1 bis 4 Wochen als zeitlich-integrierende Sammler eingesetzt werden, um die Belastung des Gewässers in Form der TWA-Konzentrationen zu bestimmen (Vrana et al. 2005, Tran et al. 2007). Da es eine gewisse Verzögerung gibt bis die Moleküle in die Empfängerphase diffundiert sind, ist ungeklärt, inwiefern auch kurzfristige Eintragsereignisse zum Beispiel durch Runoff erfasst werden (Greenwood et al. 2007).

Wie jede Probenahmetechnik hat die Verwendung von Passivsammlern Vor- und Nachteile. Der große Vorteil gegenüber anderen Probenahmemethoden liegt sicherlich in der Langzeiterfassung der Gewässerbelastung, die zudem mit weniger Arbeits- und Kostenaufwand verbunden ist (Kot et al. 2000). Des Weiteren findet in den Sammlern auch eine direkte Anreicherung im Gewässer statt, was die Detektion von Konzentrationen im Bereich von bis zu wenigen Picogramm pro Liter erlaubt (Vrana et al. 2005). Ein großer Nachteil ist jedoch, dass von der TWA-Konzentration eines Analyten nicht auf die Dauer und Höhe der Spitzenkonzentration geschlossen werden kann, diese erscheint jedoch ökotoxikologisch höchst relevant (Van Straalen 1997).

Allerdings fehlen bisher vergleichende Studien zur Eignung von Passivsammlern und anderen Probenahmemethoden für die Erklärung von ökologischen Effekten. Ein weiterer Nachteil ist, dass die Aufnahme- und Abgabekinetik von Substanzen von Umweltbedingungen wie Temperatur und Fließgeschwindigkeit beeinflusst wird (Vrana et al. 2007). Dies kann bei Freilandausbringung die Vergleichbarkeit zwischen Gewässern verzerren. Sind die Aufnahme- und Abgabekinetik von Substanzen bei einem Sammler gleich (= isotrop), kann jedoch vor der Ausbringung eine so genannte Performance Reference Compound (PRC) hinzugegeben und aus der Freisetzung dieser Substanz auf die Umweltbedingungen geschlossen werden (Huckins et al. 2002). Ferner erfassen Passivsammler nur den gelösten Anteil der Schadstoffe in der Wasserphase, während die Exposition gegenüber partikelgebundenen Schadstoffen ebenfalls ökotoxikologisch relevant sein kann (Schulz und Liess 2001, Sturm et al. 2007).

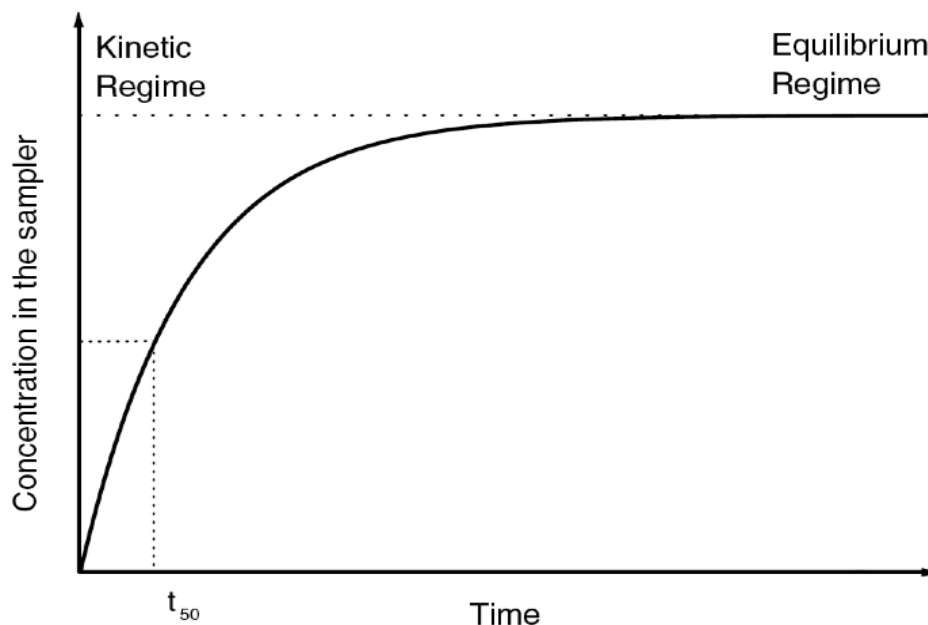


Abbildung 3: Aufnahmekinetik eines Analyten in einen Passivsammler. Bis zur Halbwertszeit (t_{50}) befindet sich der Sammler in der quasi-linearen Aufnahme-Phase. Entnommen aus Vrana et al. (2005) und modifiziert.

Bestimmung von Schwebstoffkonzentrationen mit der beschleunigten Lösemittel-Extraktion für die Expositionsabschätzung von Pestiziden

Nach der Ausbringung befinden sich die Pestizide meist auf der Pflanzenoberfläche oder sind an Bodenpartikel adsorbiert. Bei Eintritt eines Starkregenereignisses können sie von den Pflanzen gespült oder partikeladsorbiert in die aquatischen Ökosysteme eingetragen werden. Wegen der langsamen Desorptionskinetik stellt sich bei einigen Substanzen nicht

sofort das auf Grundlage des K_{oc} (Verteilungskoeffizient zwischen dem organischen Kohlenstoff im Boden und Wasser) erwartete Gleichgewicht zwischen der Wasserphase und der Partikelphase ein, so dass die Konzentrationen an den Schwebstoffen höher sind als im Gleichgewichtszustand (Pereira und Rostad 1990, Inoue et al. 2002). Bei bisherigen Untersuchungen lagen Substanzen mit einem K_{oc} von 100 oder größer zumindest partiell partikeladsorbiert vor (Long et al. 1998, Inoue et al. 2002). Im Gewässer können partikeladsorbierte Substanzen dann schrittweise desorbieren und zur Belastung der aquatischen Biozönose beitragen (Mayer und Reichenberg 2006).

Zur Bestimmung der partikeladsorbierten Exposition ist die Extraktion der Analyten von den Schwebstoffen notwendig. Wichtige Indikatoren für die Güte eines Extraktionsverfahrens sind die Exaktheit und Genauigkeit der Wiederfindung. Diese werden dadurch ermittelt, dass mehrere unbelastete Proben mit dem Analyten angereichert und extrahiert werden. Der mittlere Anteil der ursprünglichen Konzentration (in %), der bei der Analyse gefunden wird, entspricht der Exaktheit und die Variation drückt die Genauigkeit des Extraktionsverfahrens aus.

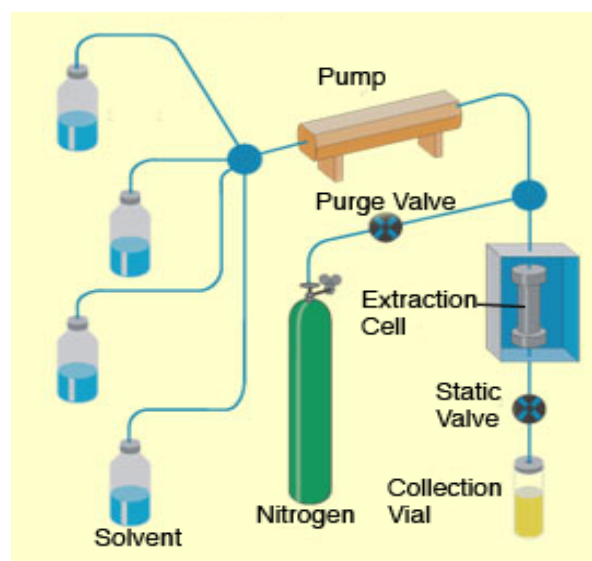


Abbildung 4: Schematische Darstellung der beschleunigten Lösemittelextraktion (ASE).
Quelle: Dionex Corporation, <http://www1.dionex.com/en-us/instruments/ins7387.html>,
modifiziert

Eine Extraktionsmethode, die hoch automatisiert und schnell ist, und dabei eine hohe Extraktionseffizienz aufweist, ist die beschleunigte Lösemittelextraktion (accelerated solvent extraction – ASE). Im Vergleich mit anderen Extraktionsmethoden wie z.B. der Soxhlet-Extraktion lieferte die ASE bei der Extraktion von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen und verschiedenen Pestiziden gleiche oder bessere Ergebnisse in Bezug auf die Extraktionseffizienz (Conte et al. 1997, Fisher et al. 1997, Frost et al. 1997,

Hubert et al. 2001). Hinsichtlich der Umweltfreundlichkeit und Ressourcenschonung des Verfahrens ist hervorzuheben, dass der Lösungsmittelverbrauch mit 20-100 mL pro Probe in Abhängigkeit von der Extraktionsmenge, sehr gering ist.

Der schematische Aufbau der ASE ist in Abbildung 4 dargestellt. Zunächst wird die Probe in die Extraktionszelle gegeben und diese im Gerät platziert. Die Extraktionszelle wird nun automatisch mit dem Lösungsmittel befüllt und der Druck und Temperatur werden entsprechend den gewählten Extraktionsbedingungen erhöht. Der Temperaturbereich geht von Zimmertemperatur bis zu 200°C, der Druckbereich von 3.5 bis 20 MPa. Während die hohe Temperatur dazu dient, die Extraktionsstärke zu verbessern, hindert der hohe Druck das Lösungsmittel am Übergang in die gasförmige Phase (Giergielewicz-Mozajska et al. 2001). Nach der gewählten Extraktionsdauer (üblicherweise im Minutenbereich) wird der Extrakt in ein Auffangfläschchen befördert (Abbildung 4). Wenn die Extraktion nicht vollständig war, kann der Extraktionsprozess mit frischem Lösungsmittel beliebig oft wiederholt werden, häufig werden zwei Extraktionsschritte durchgeführt (Giergielewicz-Mozajska et al. 2001).

Ein großes Problem bei der Extraktion von Sedimenten und Schwebstoffen ist die Koextraktion von Substanzen wie z.B. Huminstoffen oder Fulvinsäuren (Concha-Grana et al. 2004). Diese koextrahierten Stoffe können während der Analytik stören, weshalb in den meisten Fällen eine Aufreinigung der Extrakte notwendig ist. Für die Extraktion von polaren und semipolaren Pestiziden von Schwebstoffen wurde bisher noch keine ASE-Methode entwickelt. Auch bezüglich des Aufreinigungsschrittes bei der Bestimmung polarer Substanzen besteht Entwicklungsbedarf (Dabrowska et al. 2003). Schließlich steht ein Vergleich der ökotoxikologischen Relevanz von partikeladsorbierten Pestizideinträgen mit dem Eintrag über die Wasserphase aus.

Effekte von Pestizideinträgen auf das Fließgewässerökosystem

Pestizide können einen wichtigen Stressor für Organismen in Fließgewässern darstellen (Liess et al. 2005). Das betrifft im Besonderen kleinere Fließgewässer (1.-3. Ordnung nach Strahler (1957)), da hier Verdünnungseffekte weniger zum Tragen kommen und die Konzentrationen somit höher sind. Kleinere Fließgewässer spielen eine wichtige Rolle im Wasserhaushalt, zum einen hinsichtlich der Länge des Gewässernetzes (Liess et al. 2001) und zum anderen, weil sie im Austausch mit dem Grundwasser stehen und es dadurch zur Weiterleitung von Verunreinigungen kommen kann (Pereira und Hostettler 1993). Ferner

haben sie eine große ökologische Bedeutung, da sie als Rückzugs- und Laichraum für Fische dienen können und einen wichtigen Energielieferanten für stromabwärts-befindliche Fischgemeinschaften darstellen (Wipfli 2005).

In einer Vielzahl von Studien wurde gezeigt, dass Pestizide die Zusammensetzung der aquatischen Invertebratenfauna verändern können (Heckman 1981, Wallace et al. 1982, Hatakeyama und Yokoyama 1997, Liess und Schulz 1999, Schulz und Liess 1999a, Leonard et al. 2000, Hanazato 2001, Friberg et al. 2003, Jergentz et al. 2004, Anderson et al. 2006). Beispielsweise untersuchten Schulz und Liess (1999) die Auswirkungen von Runoff nach Insektizid-Applikation auf die Makroinvertebratengemeinschaft kleiner Fließgewässer. Insektizidbelasteter Runoff führte zum Verschwinden von 8 der 11 vorher gefundenen Arten und die verbleibenden Arten waren signifikant in ihrer Abundanz reduziert. Runoff außerhalb der Zeit der Insektizid-Anwendung rief diese Effekte nicht hervor (Liess und Schulz 1999, Schulz und Liess 1999a). Ähnliche Ergebnisse lieferte eine Untersuchung der Makroinvertebratenfauna in Flussabschnitten mit und ohne landwirtschaftliche Nutzung von Insektiziden, Herbiziden und Fungiziden (Hatakeyama und Yokoyama 1997). Nach der Pestizidausbringung wurde eine starke Abnahme von Diversität und Populationsdichte in Gewässerabschnitten mit angrenzender landwirtschaftlicher Nutzung beobachtet, während in Abschnitten oberhalb der Ausbringungsflächen diese Effekte nicht auftraten. Eine weitere Studie an drei Fließgewässern in Argentinien zeigte, dass die Makroinvertebratenfauna nur in den beiden Gewässern verändert wurde, in denen Endosulfan in Runoffproben nachgewiesen wurde (Jergentz et al. 2004).

Die bisherigen Untersuchungen zu den Effekten von Pestiziden auf die Invertebratenfauna wurden meist an einer geringen Zahl von Fließgewässern durchgeführt ($n \leq 5$), so dass ungeklärt ist, ob es sich bei den Beobachtungen nur um lokale Phänomene handelt. Ausnahmen bilden eine Studie an 29 dänischen Fließgewässern, die einen Zusammenhang zwischen der Summe der Insektizid-, Herbizid- und Fungizidkonzentrationen im Sediment und der Zusammensetzung der Makroinvertebratenfauna nahe legte (Friberg et al. 2003), und eine Studie an 20 deutschen Fließgewässern, die eine Abnahme des Anteils der empfindlichen Arten (% SPEAR) an der Gemeinschaft mit zunehmenden Pestizidstress aufzeigte (Liess und von der Ohe 2005). Inwiefern durch die Beeinträchtigung der Gemeinschaftsstruktur die Funktionen des Ökosystems verändert werden, wurde jedoch nicht untersucht. Eine wichtige Funktion im aquatischen Ökosystem kleiner Fließgewässer stellt der Abbau von allochthonem organischen

Material dar (Wallace et al. 1997). Dieser Prozess ist auch deshalb relevant, weil flussabwärts befindliche Abschnitte energetisch auf den Eintrag des zerkleinerten organischen Materials angewiesen sind (Vannote et al. 1980, Wipfli 2005). Die Geschwindigkeit des Abbauprozesses von Blättern wird deshalb als funktionsbezogener Index für die Güte der Wasserqualität verwendet (Pascoal et al. 2001, Gessner und Chauvet 2002). Dafür werden Blatttaschen in den Fließgewässern ausgebracht, deren verbleibende Blattmasse in Intervallen oder nach einer bestimmten Zeit bestimmt wird (Benfield 1996). Für verschiedene Stressoren wie Schwermetalle, Eutrophierung (Lecerf et al. 2006) oder Versauerung wurde gezeigt, dass sich die Abbaurate von Blättern in den betroffenen Fließgewässern änderte (Gessner und Chauvet 2002). Zu den Auswirkungen von Pestiziden auf die Blattabbaurate liegt bisher erst eine Studie vor, die bei einem insektizidbehandelten Bach eine Reduktion der Abbaurate im Vergleich zu einem Kontrollbach fand (Chung et al. 1993). Da in dieser Studie das Insektizid direkt in das Gewässer eingebracht wurde, um die Effekte von Moskitokontrollmaßnahmen zu simulieren, ist ungeklärt, ob auch der landwirtschaftlich bedingte Eintrag von Pestiziden diesen Ökosystemprozess beeinflusst.

Konzept und Ziele

Das übergeordnete Ziel der vorliegenden Arbeit ist, einen wichtigen Beitrag zur ökologischen Risikoabschätzung von Pestiziden in Fließgewässerökosystemen zu leisten. Dabei sah die Konzeption des Promotionsprojektes vor, dass die Effekte von Pestizideinträgen anhand von Felduntersuchungen in zwei unterschiedlichen biogeografischen Regionen mit kontrastierendem Pestizideinsatz untersucht werden sollten (Abbildung 5). Hierfür wurden zwei Regionen in Frankreich und Finnland ausgewählt, da für diese Gebiete Ergebnisse behördlicher Monitoringprogramme und Anwendungsmengendaten vorlagen, die benötigt wurden, um aus den Hunderten von zugelassenen Wirkstoffen potentiell ökotoxikologisch relevante Substanzen zu identifizieren. Für jedes Gebiet wurden die 10 Pestizide mit der höchsten Ökotoxizität gegenüber dem Standardtestorganismus *Daphnia magna* ausgewählt. Die Untersuchungen umfassten zum einen die Aufnahme des ökologischen Gewässerzustandes und zum anderen die Bestimmung der Konzentrationen der ausgewählten Pestizide (Abbildung 5). Dieser zweite Aspekt bildete einen Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit, da eine präzise Charakterisierung der Exposition entscheidend ist, um eine kausale Verbindung zu

Effekten herzustellen (Schulz 2004). Wie in Abbildung 5 ersichtlich, wurden drei verschiedene Probenahmemethoden eingesetzt, um die Pestizidbelastung zu bestimmen. Die Auswahl der Methoden orientierte sich an dem Ziel, zum einen unterschiedliche Eintragspfade und zum anderen Belastungen sowohl der Wasser- als auch der Schwebstoffphase zu erfassen. Dabei machte die Methodenauswahl die Entwicklung einer Bestimmungsmethode für partikelgebundene Pestizide (Kapitel 2) und die Kalibration und Anpassung eines Passivsammlers notwendig (Kapitel 3-4).

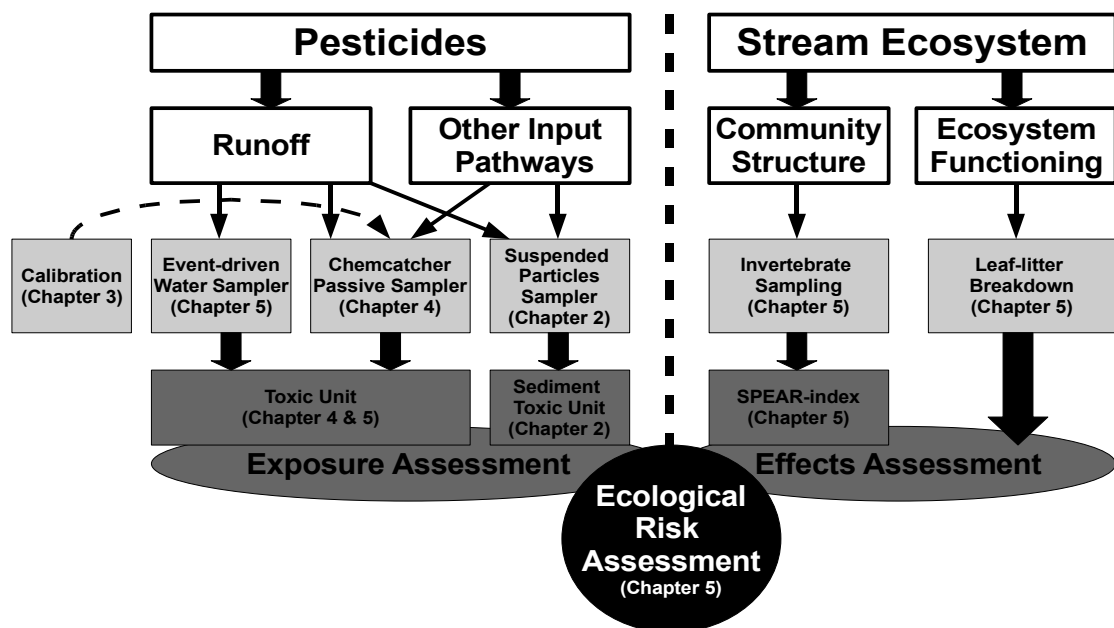


Abbildung 5: Konzeptioneller Ansatz der vorliegenden Dissertation. Weiße Kästen = Prozesse und Entitäten in der Umwelt. Hellgraue Kästen = Monitoringmethoden für den jeweiligen Prozess/Entität. Dunkelgraue Kästen = Datenauswertungsmethoden.

Um die Ergebnisse des chemischen und biologischen Monitorings miteinander in Beziehung setzen zu können, mussten sowohl die Informationen auf der Expositions- wie der Effektseite aggregiert werden. Auf der Effektseite wurde dafür das SPEAR-Konzept verwendet, auf das schon oben eingegangen wurde und im Detail in Kapitel 5 erklärt wird. Zum Vergleich der Pestizidbelastung an den verschiedenen Messstellen wurde das Konzept der Toxischen Einheiten (toxic unit - TU) verwendet, dass die beobachteten Pestizidkonzentrationen anhand der Toxizität der jeweiligen Substanz gegenüber dem Standardtestorganismus *Daphnia magna* standardisiert (Sprague 1970, Liess und von der Ohe 2005). Anhand dieser normierten Werte konnte dann der Zusammenhang zwischen Pestizidtoxizität und Gemeinschaftsstruktur bzw. Blattabbaurate untersucht und die

Abschätzung eines ökologischen Risikos durch Pestizide durchgeführt werden (Abbildung 5). Nähere Informationen und die genaue Analyse sind in Kapitel 5 beschrieben. Abstrakter betrachtet, beschreibt diese Arbeit also auch ein methodisches Konzept, um die Ergebnisse von abiotischen und biotischen Monitoringdaten zusammenzubringen. Im Folgenden werden die Problemstellungen und Ziele der einzelnen Publikationen vorgestellt aus denen sich die kumulative Dissertation zusammensetzt, die Ergebnisse werden in Kapitel 6 zusammengefasst:

Publikation 1 (Kapitel 2): Bestimmung von 10 polaren und semi-polaren Pestiziden verschiedener chemischer Klassen an Schwebstoffen aus Bächen unter Verwendung der beschleunigten Lösemittlextraktion

Originaltitel

„Determination of 10 particle-associated multiclass polar and semi-polar pesticides from small streams using accelerated solvent extraction“ (Schäfer et al. 2007a)

Problemstellung

Die ASE stellt ein effizientes Extraktionsverfahren dar, um matrixgebundene Pestizide zu extrahieren (Hubert et al. 2001). Allerdings existiert bisher noch keine ASE-Methode zur Extraktion und Bestimmung von schwebstoffgebundenen Pestiziden, die verschiedenen chemischen Stoffklassen angehören. Ferner stellt sich das Problem, dass die Höhe der Wiederfindung von Stoffen in Proben mit unterschiedlichen Eigenschaften (z.B. TOC-Gehalt) variieren kann (Steinheimer et al. 1994). Für Freilandproben von verschiedenen Standorten wäre deswegen ein interner Standard wünschenswert, der vor der Extraktion der Probe hinzugegeben wird und die Güte der Extraktion anzeigt.

Ziele

- Entwicklung und Anwendung einer Extraktionsmethode für partikelgebundene polare und semi-polare Pestizide aus Fließgewässern mit der ASE
- Untersuchung der Eignung von deuterierten Standards der Analyten als interne Standards

Publikation 2 (Kapitel 3): Kalibrierung des Chemcatcher® Passivsammlers für das Monitoring von ausgewählten polaren und semipolaren Pestiziden in Oberflächengewässern

Originaltitel

„Calibration of the Chemcatcher® passive sampler for monitoring selected polar and semi-polar pesticides in surface water“ (Gunold et al. 2007)

Problemstellung

Damit nach der Freilandexposition von Passivsammlern die TWA-Konzentration bestimmt werden kann, muss die substanz- und empfängerphasen-spezifische Sammelrate bekannt sein (Booij et al. 2007). Diese kann im Rahmen von Labor-Kalibrationsexperimenten ermittelt werden (Vrana et al. 2006). Für polare und semi-polare Pestizide sind bisher jedoch nur wenige Sammelraten verfügbar. Ferner stellt sich die Frage, ob die Sammelraten aufgrund von physikochemischen Substanzeigenschaften vorhergesagt werden können und somit auf aufwändige Laborexperimente verzichtet werden könnte. Schließlich wurde bisher noch nicht untersucht, ob die Austauschkinetik von Substanzen bei einer Empfängerphase für polare Substanzen isotrop ist. Nur in diesem Fall könnte das Performance Reference Compound (PRC)-Konzept angewendet werden, um Variation in den Umweltbedingungen zwischen verschiedenen Probestellen bei der Freilandausbringung berücksichtigen zu können.

Ziele

- Bestimmung von Sammelraten für den Chemcatcher® Passivsammler
- Beurteilung der Vorhersagbarkeit von Sammelraten auf Basis von physikochemischen Eigenschaften der Analyten
- Beurteilung der Anwendbarkeit des PRC-Konzeptes für polare Substanzen

Publikation 3 (Kapitel 4): Leistungsfähigkeit des Chemcatcher® Passivsammlers zur Bestimmung von 10 polaren und semi-polaren Pestiziden in 16 mitteleuropäischen Fließgewässern und Vergleich mit zwei anderen Probenahmemethoden

Originaltitel

„Performance of the Chemcatcher® passive sampler when used to monitor 10 polar and semi-polar pesticides in 16 Central European streams, and comparison with two other sampling methods“ (Schäfer et al. 2007b)

Problemstellung

Bisher wurden Passivsammler im aquatischen Bereich hauptsächlich eingesetzt, um unpolare Substanzen zu erfassen. Der Chemcatcher[®] Passivsammler sollte mit entsprechender Empfängerphase für das kontinuierliche Monitoring der Belastung mit polaren Substanzen geeignet sein. Bisher wurden jedoch keine umfangreicheren Feldstudien durchgeführt (Kingston et al. 2000). Speziell die Erfassung von kurzzeitigen Expositionen wurde noch nicht untersucht (Greenwood et al. 2007). Darüber hinaus wurde der Chemcatcher[®] bisher nicht mit anderen ereignisbezogenen Probenahmemethoden für die Erfassung der Pestizidbelastung verglichen. Ein solcher Vergleich wäre wichtig, um die Geeignetheit verschiedener Probenahmemethoden für die Charakterisierung des Expositions-niveaus beurteilen zu können.

Ziele

- Untersuchung der Eignung des Chemcatcher[®] Passivsammlers für die Erfassung von runoff-bedingten Pestizideinträgen
- Beurteilung verschiedener Probenahmemethoden zur realistischen Charakterisierung des Expositions-niveaus gegenüber Pestiziden

Publikation 4 (Kapitel 5): Auswirkungen von Pestiziden auf die Gemeinschaftsstruktur und Ökosystemfunktionen in Bächen in landwirtschaftlich genutzten Gebieten in drei biogeografischen Regionen Europas

Originaltitel

„Effects of pesticides on community structure and ecosystem functions in agricultural streams of three biogeographical regions in Europe“ (Schäfer et al. 2007c)

Problemstellung

Obwohl verschiedene Untersuchungen gezeigt haben, dass Pestizide Effekte auf die Makroinvertebratengemeinschaften haben können, gibt es bisher wenige Untersuchungen, die über das lokale Niveau hinausgehen. Ferner ist nicht bekannt, ob die Strukturveränderungen in der Invertebratengemeinschaft Auswirkungen auf wichtige Ökosystemprozesse haben. Kürzlich wurde der SPEAR-Index entwickelt, der sich auf ökologische und biologische Merkmale einer Gemeinschaft bezieht, um Pestizidstress nachzuweisen (Liess und von der Ohe 2005). Theoretisch sollte dieser merkmalsbasierte Index zur vergleichenden Beurteilung des Einflusses von Pestiziden auf den Gewässerzustand in verschiedenen biogeografische Regionen geeignet sein, doch das

wurde bisher nicht untersucht.

Ziele

- Abschätzung, ob und ab welchem Belastungsgrad Pestizide die Struktur der Invertebratenfauna und den Abbau von allochthonem organischen Material beeinträchtigen
- Beurteilung der Eignung des SPEAR-Indexes zur Detektion von Pestizidstress über biogeografische Regionen

Literaturverzeichnis Kapitel 1

- Allan, J. D. 1995. Stream Ecology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Anderson, B. S., B. M. Phillips, J. W. Hunt, V. Connor, N. Richard, und R. S. Tjeerdema. 2006. Identifying primary stressors impacting macroinvertebrates in the Salinas River (California, USA): Relative effects of pesticides and suspended particles. *Environmental Pollution* 141:402.
- Arndt, U., W. Nobel, und B. Schweizer. 1987. Bioindikatoren: Möglichkeiten, Grenzen und neue Erkenntnisse Ulmer, Stuttgart.
- Bach, M., A. Huber, und H. G. Frede. 2001. Modeling pesticide losses from diffuse sources in Germany. *Water Science and Technology* 44:189-196.
- BBA. 2002. Jahresbericht 2002, Berlin; Braunschweig.
- Benfield, E. F. 1996. Leaf Breakdown in Stream Ecosystems. Pages 579-589 in F. R. Hauer und G. A. Lamberti, editors. *Methods in Stream Ecology*. Academic Press, San Diego.
- BMU. 2005. Die Wasserrahmenrichtlinie - Ergebnisse der Bestandsaufnahme 2004 in Deutschland. Berlin.
- Bonada, N., S. Doledec, und B. Statzner. 2007. Taxonomic and biological trait differences of stream macroinvertebrate communities between mediterranean and temperate regions: implications for future climatic scenarios. *Global Change Biology* 13:1658-1671.
- Bonada, N., N. Prat, V. H. Resh, und B. Statzner. 2006. Developments in aquatic insect biomonitoring: A comparative analysis of recent approaches. *Annual Review of Entomology* 51:495-523.

- Booij, K., B. Vrana, und J. N. Huckins. 2007. Theory, modelling and calibration of passive samplers used in water monitoring. Pages 141-169 in R. Greenwood, G. A. Mills, und B. Vrana, editors. *Comprehensive Analytical Chemistry 48: Passive sampling techniques in environmental monitoring*. Elsevier, Amsterdam.
- BVL. 2007. Absatz an Pflanzenschutzmitteln in der Bundesrepublik Deutschland: Ergebnisse der Meldungen gemäß §19 Pflanzenschutzgesetz für das Jahr 2006. BVL, Braunschweig.
- Chung, K., J. B. Wallace, und J. W. Grubaugh. 1993. The Impact of Insecticide Treatment on Abundance, Biomass and Production of Litterbag Fauna in a Headwater Stream: A Study of Pretreatment, Treatment and Recovery. *Limnologia* 23:93-106.
- Concha-Grana, E., M. I. Turnes-Carou, S. Muniategui-Lorenzo, P. Lupez-Mahia, E. Fernandez-Fernandez, und D. Prada-Rodriguez. 2004. Development of pressurized liquid extraction and cleanup procedures for determination of organochlorine pesticides in soils. *Journal of Chromatography A* 1047:147-155.
- Conte, E., R. Milani, G. Morali, und F. Abballe. 1997. Comparison between accelerated solvent extraction and traditional extraction methods for the analysis of the herbicide diflufenican in soil. *Journal of Chromatography A* 765:121-125.
- Cummins, K. W. 1973. Trophic Relations of Aquatic Insects. *Annual Review of Entomology* 18:183-206.
- Dabrowska, H., L. Dabrowski, M. Biziuk, J. Gaca, und J. Namiesnik. 2003. Solid-phase extraction clean-up of soil and sediment extracts for the determination of various types of pollutants in a single run. *Journal Of Chromatography A* 1003:29-42.
- DIN. 1990. Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Biologisch-ökologische Gewässeruntersuchung (Gruppe M); Bestimmung des Saprobienindex (M2). Pages 18 in. Deutsches Institut für Normung e.V., Beuth Verlag, Berlin, Germany.
- Doledec, S., N. Phillips, M. Scarsbrook, R. H. Riley, und C. R. Townsend. 2006. Comparison of structural and functional approaches to determining landuse effects on grassland stream invertebrate communities. *Journal of the North American Benthological Society* 25:44-60.
- Doledec, S., B. Statzner, und M. Bournard. 1999. Species traits for future biomonitoring across ecoregions: patterns along a human-impacted river. *Freshwater Biology* 42.
- EU. 2000. Richtlinie 2000/60/EG des europäischen Parlaments und des Rates vom 23. Oktober 2000 zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik. *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften* L327:1-72.
- Fisher, J. A., M. J. Scarlett, und A. D. Stott. 1997. Accelerated solvent extraction: An evaluation for screening of soils for selected U.S. EPA semivolatile organic priority pollutants. *Environmental Science and Technology* 31:1120-1127.
- Forbes, V. E., A. Palmqvist, und L. Bach. 2006. The use and misuse of biomarkers in ecotoxicology. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25:272-280.

- Friberg, N., M. Lindstrom, B. Kronvang, und S. E. Larsen. 2003. Macroinvertebrate/sediment relationships along a pesticide gradient in Danish streams. *Hydrobiologia* 494:103-110.
- Frost, S. P., J. R. Dean, K. P. Evans, K. Harradine, C. Cary, und M. H. I. Comber. 1997. Extraction of hexaconazole from weathered soils: A comparison between Soxhlet extraction, microwave-assisted extraction, supercritical fluid extraction and accelerated solvent extraction. *Analyst* 122:895-898.
- Gayraud, S., B. Statzner, P. Bady, A. Haybach, F. Scholl, P. Usseglio-Polatera, und M. Bacchi. 2003. Invertebrate traits for the biomonitoring of large European rivers: an initial assessment of alternative metrics. *Freshwater Biology* 48:2045-2064.
- Gessner, M. O., und E. Chauvet. 2002. A case for using litter breakdown to assess functional stream integrity. *Ecological Applications* 12:498-510.
- Giergielewicz-Mozajska, H., L. Dabrowski, und J. Namiesnik. 2001. Accelerated Solvent Extraction (ASE) in the analysis of environmental solid samples - Some aspects of theory and practice. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 31:149-165.
- Gorecki, T., und J. Namiesnik. 2002. Passive sampling. *Trac-Trends in Analytical Chemistry* 21:276-291.
- Greenwood, R., G. A. Mills, B. Vrana, I. J. Allan, R. Aguilar-Martinez, und G. Morrison. 2007. Monitoring of priority pollutants in water using Chemcatcher passive sampling devices. Pages 199-229 in R. Greenwood, G. A. Mills, und B. Vrana, editors. *Comprehensive Analytical Chemistry 48: Passive sampling techniques in environmental monitoring*. Elsevier, Amsterdam.
- Gunold, R., R. B. Schäfer, A. Paschke, G. Schüürmann, und M. Liess. 2007. Calibration of the Chemcatcher[®] passive sampler for monitoring selected polar and semi-polar pesticides in surface water. *Environmental Pollution*, in press. doi:10.1016/j.envpol.2007.1010.1037.
- Guo, L., C. E. Nordmark, F. C. Spurlock, B. R. Johnson, L. Y. Li, J. M. Lee, und K. S. Goh. 2004. Characterizing dependence of pesticide load in surface water on precipitation and pesticide use for the Sacramento River watershed. *Environmental Science and Technology* 38:3842-3852.
- Hanazato, T. 2001. Pesticide effects on freshwater zooplankton: an ecological perspective. *Environmental Pollution* 112:1-10.
- Hatakeyama, S., und N. Yokoyama. 1997. Correlation between overall pesticide effects monitored by shrimp mortality test and change in macrobenthic fauna in a river. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 36:148-161.
- Haybach, A., F. Schöll, B. König, und F. Kohmann. 2004. Use of biological traits for interpreting functional relationships in large rivers. *Limnologica* 34:451-459.
- Heckman, C. W. 1981. Long-term effects of intensive pesticide applications on the aquatic community in orchard ditches near Hamburg, Germany. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 10:393-426.

- Heugens, E., A. Hendriks, T. Dekker., N. M. Van Straalen, und W. Amiraal. 2001. A review of the effects of multiple stressors on aquatic organisms and analysis of uncertainty factors for use in risk assessment. *Critical Reviews in Toxicology* 31:247-284.
- Hubert, A., K.-D. Wenzel, W. Engelwald, und G. Schüürmann. 2001. Accelerated solvent extraction - More efficient extraction of POPs and PAHs from real contaminated plant and soil samples. *Reviews in Analytical Chemistry* 20:101-144.
- Huckins, J. N., J. D. Petty, J. A. Lebo, F. V. Almeida, K. Booij, D. A. Alvarez, R. C. Clark, und B. B. Mogensen. 2002. Development of the permeability/performance reference compound approach for in situ calibration of semipermeable membrane devices. *Environmental Science and Technology* 36:85-91.
- Hyne, R. V., und W. A. Maher. 2003. Invertebrate biomarkers: links to toxicosis that predict population decline. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 54:366-374.
- Illies, J. 1978. *Limnofauna Europaea, A Compilation of the European Freshwater Species with Emphasis on their Distribution and Ecology*, 2nd edition. G. Fischer, Jena.
- Inoue, T., S. Ebise, A. Numabe, O. Nagafuchi, und Y. Matsui. 2002. Runoff characteristics of particulate pesticides in a river from paddy fields. *Water Science and Technology* 45:121-126.
- Jergentz, S., H. Mugni, C. Bonetto, und R. Schulz. 2004. Runoff-related endosulfan contamination and aquatic macroinvertebrate response in rural basins near Buenos Aires, Argentina. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 46:345-352.
- Kingston, J. K., R. Greenwood, G. A. Mills, G. M. Morrison, und L. B. Persson. 2000. Development of a novel passive sampling system for the time-averaged measurement of a range of organic pollutants in aquatic environments. *Journal of Environmental Monitoring* 2:487-495.
- Klee, O. 1991. *Angewandte Hydrobiologie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- Kot, A., B. Zabiegala, und J. Namiesnik. 2000. Passive sampling for long-term monitoring of organic pollutants in water. *Trac-Trends in Analytical Chemistry* 19:446-459.
- Lampert, W., und U. Sommer. 1999. *Limnoökologie*. Thieme, Stuttgart; New York.
- Lecerf, A., P. Usseglio-Polatera, J. Y. Charcosset, D. Lambrigt, B. Bracht, und E. Chauvet. 2006. Assessment of functional integrity of eutrophic streams using litter breakdown and benthic macroinvertebrates. *Archiv für Hydrobiologie* 165:105-126.
- Leonard, A. W., R. V. Hyne, R. P. Lim, F. Pablo, und P. J. Van den Brink. 2000. Riverine endosulfan concentrations in the Namoi River, Australia: Link to cotton field runoff and macroinvertebrate population densities. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19:1540-1551.

- Leu, C., H. Singer, C. Stamm, S. R. Muller, und R. P. Schwarzenbach. 2004. Simultaneous assessment of sources, processes, and factors influencing herbicide losses to surface waters in a small agricultural catchment. *Environmental Science and Technology* 38:3827-3834.
- Liess, M., C. Brown, P. Dohmen, S. Duquesne, F. Heimbach, J. Kreuger, L. Lagadic, W. Reinert, S. Maund, M. Streloke, und J. Tarazona. 2005. *Effects of Pesticides in the Field – EPIF*. SETAC Press, Brussels, Belgium
- Liess, M., B. J. Pieters, und S. Duquesne. 2006. Long-term signal of population disturbance after pulse exposure to an insecticide: Rapid recovery of abundance, persistent alteration of structure. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25:1326-1331.
- Liess, M., und R. Schulz. 1999. Linking insecticide contamination and population response in an agricultural stream. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18:1948-1955.
- Liess, M., R. Schulz, N. Berenzen, J. Nanko-Drees, und J. Wogram. 2001. *Pesticide contamination and macroinvertebrate communities in running waters in agricultural areas*. Umweltbundesamt, Berlin.
- Liess, M., R. Schulz, M. H.-D. Liess, B. Rother, und R. Kreuzig. 1999. Determination of insecticide contamination in agricultural headwater streams. *Water Research* 33:239-247.
- Liess, M., und P. C. von der Ohe. 2005. Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24:954-965.
- Long, J. L. A., W. A. House, A. Parker, und J. E. Rae. 1998. Micro-organic compounds associated with sediments in the Humber rivers. *Science of the Total Environment* 210:229-253.
- Maltby, L., S. A. Clayton, R. M. Wood, und N. McLoughlin. 2002. Evaluation of the *Gammarus pulex* in situ feeding assay as a biomonitor of water quality: Robustness, responsiveness, and relevance. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21:361-368.
- Mayer, P., und F. Reichenberg. 2006. Can highly hydrophobic organic substances cause aquatic baseline toxicity and can they contribute to mixture toxicity? *Environmental Toxicology and Chemistry* 25:2639-2644.
- MEA. 2005. *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*. Island Press, Washington, DC.
- Mills, G. A., B. Vrana, I. J. Allan, D. A. Alvarez, J. N. Huckins, und R. Greenwood. 2007. Trends in monitoring pharmaceuticals and personal-care products in the aquatic environment by use of passive sampling devices. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387:1153-1157.
- Naeem, S., und J. P. Wright. 2003. Disentangling biodiversity effects on ecosystem functioning: Deriving solutions to a seemingly insurmountable problem. *Ecology Letters* 6:567-579.

- Neumann, M., R. Schulz, K. Schäfer, W. Müller, W. Mannheller, und M. Liess. 2002. The significance of entry routes as point and non-point sources of pesticides in small streams. *Water Research* 36:835-842.
- Niemi, G. J., P. DeVore, D. Taylor, A. Lima, und J. Pastor. 1990. Overview of case studies on recovery of aquatic systems from disturbance. *Environ. Management* 14:571-587.
- Oerke, E. C., und H. W. Dehne. 2004. Safeguarding production - losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Protection* 23:275-285.
- Pascoal, C., F. Cassio, und P. Gomes. 2001. Leaf breakdown rates: A measure of water quality? *International Review of Hydrobiology* 86:407-416.
- Pereira, W. E., und F. D. Hostettler. 1993. Nonpoint-Source Contamination of the Mississippi River and Its Tributaries by Herbicides. *Environmental Science & Technology* 27:1542-1552.
- Pereira, W. E., und C. E. Rostad. 1990. Occurrence, distributions, and transport of herbicides and their degradation products in the lower Mississippi river and its tributaries. *Environmental Science and Technology* 24:1400-1406.
- Piscart, C., P. Usseglio-Polatera, J. C. Moreteau, und J. N. Beisel. 2006. The role of salinity in the selection of biological traits of freshwater invertebrates. *Archiv Fur Hydrobiologie* 166:185-198.
- Radkau, J. 2002. *Natur und Macht. Eine Weltgeschichte der Umwelt.* C.H. Beck, München.
- Raupach, M. R., P. R. Briggs, P. W. Ford, J. F. Leys, M. Muschal, B. Cooper, und V. E. Edge. 2001. Endosulfan transport: I. Integrative assessment of airborne and waterborne pathways. *Journal of Environmental Quality* 30:714-728.
- Richards, R. P., und D. B. Baker. 1993. Pesticide concentration patterns in agricultural drainage networks in the Lake Erie basin. *Environmental Toxicology and Chemistry* 12:13-26.
- Sandin, L., und P. F. M. Verdonschot. 2006. Stream and river typologies - Major results and conclusions from the STAR project. *Hydrobiologia* 566:33-37.
- Schäfer, R. B., W.-U. Palm, D. Steffen, und W. Ruck. 2004. Pflanzenbehandlungs- und Schädlingsbekämpfungsmittel in niedersächsischen Fließgewässern von 1994 bis 2001. *Hydrologie und Wasserbewirtschaftung* 48:117-125.
- Schäfer, R. B., R. Mueller, W. Brack, K.-D. Wenzel, G. Streck, W. Ruck, und M. Liess. 2007a. Determination of 10 particle-associated multiclass polar and semi-polar pesticides from small streams using accelerated solvent extraction. *Chemosphere* 70: 1952-1960.
- Schäfer, R. B., A. Paschke, B. Vrana, R. Mueller, und M. Liess. 2007b. Performance of the Chemcatcher® passive sampler when used to monitor 10 polar and semi-polar pesticides in 16 Central European streams, and comparison with two other sampling methods *Water research*, in press. doi:10.1016/j.watres.2008.01.023.

- Schäfer, R. B., T. Caquet, K. Siimes, R. Mueller, L. Lagadic, and M. Liess. 2007c. Effects of pesticides on community structure and ecosystem functions in agricultural streams of three biogeographical regions in Europe. *Science of the Total Environment* 382:272-285.
- Schulz, R. 2004. Field Studies on Exposure, Effects, and Risk Mitigation of Aquatic Nonpoint-Source Insecticide Pollution: A Review. *Journal of Environmental Quality* 33:419-448.
- Schulz, R., and M. Liess. 1999a. A field study of the effects of agriculturally derived insecticide input on stream macroinvertebrate dynamics. *Aquatic Toxicology* 46:155-176.
- Schulz, R., and M. Liess. 1999b. Validity and ecological relevance of an active in situ bioassay using *Gammarus pulex* and *Limnephilus lunatus*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18:2243-2250.
- Schulz, R., and M. Liess. 2001. Acute and chronic effects of particle-associated fenvalerate on stream macroinvertebrates: a runoff simulation study using outdoor microcosms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 40:481-488.
- Schwoerbel, J. 1994. *Methoden der Hydrobiologie*. Fischer, Stuttgart; Jena; New York.
- Sih, A., A. M. Bell, and J. L. Kerby. 2004. Two stressors are far deadlier than one. *Trends in Ecology & Evolution* 19:274-276.
- Sprague, J. B. 1970. Measurement of pollutant toxicity to fish, II-Utilizing and applying bioassay results. *Water Research* 4:3-32.
- Stark, J. D., J. E. Banks, and R. Vargas. 2004. How risky is risk assessment: The role that life history strategies play in susceptibility of species to stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:732-736.
- Statzner, B., P. Bady, S. Doledec, and F. Scholl. 2005. Invertebrate traits for the biomonitoring of large European rivers: an initial assessment of trait patterns in least impacted river reaches. *Freshwater Biology* 50:2136-2161.
- Statzner, B., B. Bis, S. Dolédec, and P. Usseglio-Polatera. 2001. Perspectives for biomonitoring at large spatial scales: A unified measure for the functional composition of invertebrate communities in European running waters. *Basic and Applied Ecology* 2:73-85.
- Statzner, B., S. Doledec, and B. Hugueny. 2004. Biological trait composition of European stream invertebrate communities: assessing the effects of various trait filter types. *Ecography* 27:470-488.
- Steinheimer, T. R., R. L. Pfeiffer, and K. D. Scoggin. 1994. Extraction of Atrazine, Cyanazine, Desethylatrazine, Desisopropylatrazine, and Metolachlor from Fortified Western Corn-Belt Soils by Sfe with Co₂. *Analytical Chemistry* 66:645-650.

- Stoddard, J. L., D. P. Larsen, C. P. Hawkins, R. K. Johnson, und R. H. Norris. 2006. Setting expectations for the ecological condition of streams: The concept of reference condition. *Ecological Applications* 16:1267-1276.
- Strahler, A. N. 1957. Quantitative analysis of watershed geomorphology. *Transactions, American Geophysical Union* 38:913-920.
- Stuer-Lauridsen, F. 2005. Review of passive accumulation devices for monitoring organic micropollutants in the aquatic environment. *Environmental Pollution* 136:503-524.
- Sturm, A., T. S. Radau, T. Hahn, und R. Schulz. 2007. Inhibition of rainbow trout acetylcholinesterase by aqueous and suspended particle-associated organophosphorous insecticides. *Chemosphere* 68:605-612.
- Tran, A. T. K., R. V. Hyne, und P. Doble. 2007. Calibration of a passive sampling device for time-integrated sampling of hydrophilic herbicides in aquatic environments. *Environmental Toxicology and Chemistry* 26:435-443.
- Usseglio-Polatera, P., M. Bournaud, P. Richoux, und H. Tachet. 2000. Biological and ecological traits of benthic freshwater macroinvertebrates: relationships and definition of groups with similar traits. *Freshwater Biology* 43:175-205.
- Van Straalen, N. M. 1997. How to measure no effect. Part II: Threshold effects in ecotoxicology. *Environmetrics* 8:249-253.
- Vannote, R. L., W. G. Minnshall, K. W. Cummins, J. R. Sedell, und C. E. Cushing. 1980. The river continuum concept. *Canadian Journal of and Aquatic Sciences* 37:130-137.
- von der Ohe, P., und M. Liess. 2004. Relative Sensitivity Distribution (RSD) of Aquatic Invertebrates to Organic and Metal Compounds. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23:150-156.
- von der Ohe, P. C., A. Prüß, R. B. Schäfer, M. Liess, E. d. Deckere, und W. Brack. 2007. Water quality indices across Europe - a comparison of the good ecological status of five river basins. *Journal of Environmental Monitoring* 9:970-978.
- Vrana, B., I. J. Allan, R. Greenwood, G. A. Mills, E. Dominiak, K. Svensson, J. Knutsson, und G. Morrison. 2005. Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 24:845-868.
- Vrana, B., G. A. Mills, E. Dominiak, und R. Greenwood. 2006. Calibration of the Chemcatcher passive sampler for the monitoring of priority organic pollutants in water. *Environmental Pollution* 142:333-343.
- Vrana, B., G. A. Mills, M. Kotterman, P. Leonards, K. Booij, und R. Greenwood. 2007. Modelling and field application of the Chemcatcher passive sampler calibration data for the monitoring of hydrophobic organic pollutants in water. *Environmental Pollution* 145:895-904.
- Vuori, K. M., und J. V. K. Kukkonen. 2002. Hydropsychid (Trichoptera, Hydropsychidae) gill abnormalities as morphological biomarkers of stream pollution. *Freshwater Biology* 47:1297-1306.

- Wallace, J. B., S. L. Eggert, J. L. Meyer, und J. R. Webster. 1997. Multiple trophic levels of a forest stream linked to terrestrial litter inputs. *Science* 277:102-104.
- Wallace, J. B., und J. R. Webster. 1996. The role of macroinvertebrates in stream ecosystem function. *Annual Review of Entomology* 41:115-139.
- Wallace, J. B., J. R. Webster, und T. F. Cuffney. 1982. Stream Detritus Dynamics: Regulation by Invertebrate Consumers. *Oecologia* 53:197-200.
- Wauchope, R. D. 1978. The pesticide content of surface water draining from agricultural fields - a review. *Journal of Environmental Quality* 7:459-472.
- Wildhaber, M. L., und C. J. Schmitt. 1998. Indices of benthic community tolerance in contaminated Great Lakes sediments: Relations with sediment contaminant concentrations, sediment toxicity, and the sediment quality triad. *Environmental Monitoring and Assessment* 49:23-49.
- Wipfli, M. S. 2005. Trophic linkages between headwater forests and downstream fish habitats: implications for forest and fish management. *Landscape and Urban Planning* 72:205.
- Wright, J. F., M. T. Furse, und D. Moss. 1998. River classification using invertebrates: RIVPACS applications. *Aquatic Conservation Marine and Freshwater* 8:617-631.

Kapitel 2: Determination of 10 particle-associated multiclass polar and semi-polar pesticides from small streams using accelerated solvent extraction

Ralf Bernhard Schäfer^{a,b*}, Ralf Mueller^c, Werner Brack^d, Klaus-Dieter Wenzel^e, Georg Streck^d, Wolfgang Ruck^b and Matthias Liess^a. 2007. *Chemosphere* 70: 1952-1960.

^a UFZ - Helmholtz Centre for Environmental Research, Dept. System Ecotoxicology, Permoser Straße 15, 04318 Leipzig, Germany

^b University Lüneburg, Institute for Ecology and Environmental Chemistry, Scharnhorststraße 1, 21335 Lüneburg, Germany

^c EWE AG, Department ET – Laboratory for Environmental Analytics, Bürgerparkstraße 11, 49661 Cloppenburg, Germany

^dUFZ - Helmholtz Centre for Environmental Research, Dept. Effect-Directed Analysis, Permoser Straße 15, 04318 Leipzig, Germany

^e Passamtec e.K., Torgauer Str. 116, 04347 Leipzig, Germany

* Correspondence author: Ralf.Schaefer@ufz.de

Abstract

A new analytical method using accelerated solvent extraction was developed for the determination of 10 particle-associated polar and semipolar pesticides. In addition, 6 deuterated analogues of the target compounds were evaluated as internal standards. The method yielded acceptable accuracy (73 – 103% recovery) and precision (< 25% relative standard deviation) for 8 compounds. Using size exclusion chromatography (SEC) as cleanup step resulted in higher recoveries compared to solid phase extraction (SPE) cleanup. Deuterated standards with 10 or more deuterium atoms performed well as internal standards concerning similar recovery and correlation with the target analytes. The method was employed to extract particle-associated pesticides from 16 streams located in an area with intense agriculture in France. Acetochlor, pirimicarb, tebuconazole, fenpropidin, α -endosulfan and chlorfenvinphos were detected at concentrations up to 1 mg kg⁻¹ dry weight. A comparison with aquatic toxicity data indicated potential risk to the benthic fauna exposed to these concentrations of pirimicarb, α -endosulfan and chlorfenvinphos. We suggest that the method presented here be used for the extraction and quantitation of particle-associated polar pesticides.

Introduction

Modern agriculture uses large amounts of pesticides, which may be subject to transport processes that convey them into ground and surface waters (Carabias-Martinez et al., 2000). Field runoff represents one of the most important entry routes for small streams in agricultural areas (Liess et al., 1999; Lopes et al., 2007; Schriever et al., 2007). When runoff occurs, the pesticides are transported on eroded field particles or freely dissolved in the water phase. The distribution between the particle and water phases depends on the soil characteristics and the physico-chemical properties of the compound, such as the soil organic carbon partition coefficient (K_{OC}). Several field studies have shown that pesticides with $\log K_{OC}$ -values > 2 are partly or ($\log K_{OC} > 5$) primarily transported on suspended particles (Long et al., 1998; Inoue et al., 2002; Liu et al., 2004). Since pesticides bound to suspended particles may adversely affect the benthic fauna, their determination is relevant for environmental risk assessment (Schulz and Liess, 2001; Jergentz et al., 2004; Sturm et al., 2007).

Accelerated solvent extraction (ASE; also named PLE for pressurized solvent extraction) is a relatively new extraction technique that has been applied successfully in the extraction of pesticide residues from various matrices (Hubert et al., 2001). Compared to traditional methods like ultrasonic or Soxhlet extraction, it has similar or sometimes even higher extraction efficiencies but consumes less solvent and labour time (Hubert et al., 2000). To our knowledge, no study exists on the extraction of pesticides from suspended particles with ASE, although has been shown to give good results in the extraction of herbicides (Kremer et al., 2004), fungicides (Frost et al., 1997) and insecticides (Dabrowska et al., 2003) from soils and sediments. However, these studies focused on few classes of pesticides with a narrow range of polarity, and investigations on the extraction of multiclass pesticides from suspended particles, soils or sediments with ASE are scarce. The major difficulty concerning the extraction from suspended particles is the large amount of organic coextractants, such as humic substances that may interfere with the target analytes and make a cleanup step mandatory (Bergamaschi et al., 1999). However, efficient cleanup methods to separate polar organic contaminants from coextractants are scarce (Dabrowska et al., 2003).

In the present study, we aimed at (1) developing an ASE-based extraction method with subsequent cleanup for the determination of polar and semi-polar pesticides on suspended particles and (2) applying this method to assess the exposure and associated risk of 16

small streams in a region with intense agriculture in France. In addition, we (3) evaluated the use of deuterated analogues of the target compounds as deuterated internal standard (DIS). The analytes were chosen on the basis of ecotoxicological relevance (Schäfer et al., 2007) and comprised 10 mainly polar and semi-polar pesticides belonging to different chemical classes (Table 1).

Methods and materials

Reagents

Acetonitrile (ACN), ethyl acetate (EA), methanol (MeOH), ethanol, dichloro methane (DCM), acetone and anhydrous sodium sulfate were obtained from Merck (Darmstadt, Germany) and were of GC-grade, except ethanol and anhydrous sodium sulfate which were of analytical grade. All compounds, deuterated analogues and the internal standard (IS) triphenyl phosphate (Table 1) were purchased from Dr. Ehrenstorf (Augsburg, Germany) and had a purity of at least 96.5% (except acetochlor 92%). Chromabond HR-P 6-mL SPE cartridges containing 500 mg of adsorbent polystyrene-divinylbenzene (PS-DVB) and Chromabond Easy 6 mL solid phase extraction (SPE) cartridges containing 500 mg bifunctional modified PS-DVB were purchased from Macherey-Nagel (Düren, Germany).

Study region, monitoring and sample treatment

Brittany, located in northwestern France, was chosen as sampling region as agriculture is the main land use type, accounting for 18437 (65.4%) of the 27510 km². Overall, 16 sampling sites were selected in small streams (max. width: 5 m, max. depth: 0.8 m) with adjacent agricultural production, and were monitored for suspended particles from April 19th to May 25th in 2005 (Schäfer et al., 2007). For this purpose, a suspended particle sampler was deployed in the streambed, similar to the one described previously (Liess et al., 1996). Briefly, the sampler (Supplementary material, Figure S1) consisted of a 3-L glass bottle (diameter: 12 cm, height: 30 cm) as sedimentation vessel, which was buried in the streambed and was covered by a stainless steel plate (25 × 25 cm). Stream water and the particles, suspended therein could enter the sedimentation vessel through an upstream-directed inlet tube (diameter: 4 cm) attached to the steel plate, with an opening

Table 1: Physicochemical and analytical data for 10 measured compounds, 8 deuterated analogues and the internal standard (IS)

Compound	Type ^a	Class ^a	log K_{ow} ^b	log K_{oc} ^b	RT (min) ^c	Quantifying ion (m/z)	Qualifying ions (m/z)	LOQ ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) ^d
Carbofuran	I	carbamate	2.32	1.75	6.363	164	164, 149, 131, 122	125
Carbofuran D3 ^e	-	-	-	-	6.363	164	164, 149, 131, 123	125
Linuron ^f	H	urea	3.20	2.7	7.722	161	161, 163, 99, 90	125
Linuron D6 ^{e,f}	-	-	-	-	7.738	161	161, 163, 99, 90	125
Pirimicarb D6	-	-	-	-	15.682	244	244, 166, 78	125
Pirimicarb	I	carbamate	1.70	1.9	15.768	238	238, 166, 72	125
Acetochlor D11	-	-	-	-	16.416	173	173, 157, 233	125
Acetochlor	H	chloroacetamide	2.39	2.32	16.615	146	146, 162, 59	125
Alachlor D13	-	-	-	-	16.854	200	200, 173, 172	125
Alachlor	H	chloroacetamide	3.52	2.28	17.101	160	160, 188, 146	125
Fenpropidin	F	piperidine	2.90 ^a	3.2 ^g	17.696	273	273, 274, 272, 98	125
Chlorfenvinphos D10	-	-	-	-	21.459	271	271, 269, 333	125
Chlorfenvinphos	I	organic phosphorous acid	3.10	2.47	21.668	267	267, 323, 269	125
α -Endosulfan D4	-	-	-	-	22.590	172	172, 237, 235	125
α -Endosulfan	I	organochlorine	3.83	4.13	22.691	241	241, 195, 237	125
Oxadiazon	H	oxadiazole	4.80	3.51	24.492	175	175, 177, 258, 260	125
Tebuconazole D6	-	-	-	-	27.477	256	256, 125, 87	125 ^h
Tebuconazole	F	triazole	3.7 ^a	3.5 ^g	27.537	125	250, 125, 70	125 ^h
Triphenyl phosphate ⁱ	-	-	-	-	27.797	326	326, 325	125

^ataken from Tomlin (2003), I = insecticide, H = herbicide, F = fungicide ^btaken from Sabljic et al. (1995) ^cRetention time

^dLimit of quantification ^eexcluded from study since not distinguishable from target analytes in mass spectrometry ^fas 3,4-dichloroaniline

^gestimated with Chemprop 4.1 (<http://www.ufz.de/index.php?en=6738>) ^h250 and 1000 for some samples with high matrix interference

slit (height: 0.2 cm) located 5 cm above the cover. In contrast, the outlet tube (diameter: 4 cm, upper end cut at a 45° angle) was directed downstream. The efficacy of the sampling system to retain suspended particles decreased with increasing flow rate and with decreasing grain size (Liess et al., 1996).

The suspended particles in the samplers were collected twice at a two-weeks interval, after discarding the water phase in the samplers by gentle decantation. During the second sampling, a sample of the stream-bed sediment (0 – 2 cm depth) was taken with a metal spoon at 3 sites because of insufficient sample volume of suspended particles. In the laboratory, the samples were freeze-dried (temperature: -35°C; pressure: 22 Pa) using a beta2-16 system (Christ, Osterode im Harz, Germany), sieved by 2 mm and stored at -30 °C. Total organic and inorganic carbon content (TOC/TIC) of the samples was determined using a Leco RC-412 instrument (Mönchengladbach, Germany).

Spiking and sample extraction using accelerated solvent extraction

We evaluated the influence of some ASE parameters and solvent type on analytical recoveries. Samples of 8-10 g of suspended particles from an uncontaminated site were spiked (100 µg kg⁻¹) with all target compounds (hereinafter referred to as method development samples (MDS)) and their deuterated analogues (Table 1) and extracted using 22-mL extraction cells on an ASE 200-system (Dionex, Idstein, Germany). No deuterated analogue was used when (1) it was not commercially available (fenpropidin and oxadiazon) or (2) it interfered in mass-spectrometric detection with the target analyte due to similar retention time and qualifying ions (carbofuran and linuron; Table 1). Initially, we tested different solvent mixtures (acetone-DCM (7:3), ACN-MeOH (8:2), EA-ACN (2:1), EA-acetone (2:1)) at 80 °C and 120 °C. EA-ACN (2:1) and EA-acetone (2:1) had highest recoveries (except for fenpropidin where ACN-MeOH (8:2) had highest recoveries), but EA-acetone (2:1) was selected as solvent because of lower matrix coextraction (extracts were less coloured). Subsequently, temperature (80 °C – 140 °C), pressure (7.58 MPa – 12.41 MPa) and static cycle duration (3 – 7 min) were systematically varied to find the optimum for analytical recoveries (not shown). According to the results of these experiments, the extraction of the field samples spiked with deuterated standards (100 µg kg⁻¹) was carried out with two extraction cycles (static time: 6 min.) using EA-acetone (2:1) at 110 °C and 11 MPa.

Post-extraction procedures and sample cleanup

After extraction, the solvent volume (40 – 50 mL) was gently reduced to 1 mL or dryness (for SPE) under nitrogen at 30 °C using a TurboVap II (Caliper Life Sciences, Russelsheim, Germany). SPE and size exclusion chromatography (SEC) were evaluated as cleanup step using MDS extracts. SPE was carried out on a Baker spe-12G glass vacuum manifold (Mallinckrodt Baker, Griesheim, Germany), connected to a Laboport N820 AT.18 vacuum pump (KNF Neuberger, Freiburg, Germany). Chromabond HR-P columns were used for SPE cleanup because of better extraction performance (fewer compounds with recovery < 60%) compared to the Chromabond Easy columns (Supplementary material, Table S1). The column was preconditioned (6 mL MeOH, 6 mL EA), then the water-dissolved (300 mL) MDS extract was taken through (5 mL min⁻¹) and the column was dried for 30 min under vacuum. Subsequently, the column was eluted with 12 mL EA-ACN (1:1) under gravity flow and traces of water were removed with anhydrous sodium sulfate. The eluate was evaporated to 300 µL as described above and 10 µL IS were added prior to analysis.

SEC was performed with a system consisting of a high-performance liquid chromatograph (HPLC) equipped with two Kontron 422 pumps (Kontron Instruments, Neufahrn, Germany), an 535 UV detector (Bio-tek, Neufahrn, Germany), an SF-2120 fraction collector (Advantec MFS, Pleasanton, United States) and a Biobeads S-X3 cleanup column (a chromatographic glass column 70 × 2.7 cm i.d. packed with 55 g of the dry material; Antec GmbH, Sindelsdorf, Germany). DCM was used as eluting solvent (4 mL min⁻¹) and the fraction was collected between 27.5 and 43 min. This collection time window was selected to maximise cleanup efficiency while minimizing losses of the target compounds. Fenpropidin and tebuconazole D6 partly eluted before 27.5 min and were therefore not fully collected (56% and 26.9% reduction in analytical recovery (n = 3), respectively). The collected fraction was evaporated as described above to 1 mL and 50 µL of IS added. Aliquots of this extract were injected for GC/MS. SEC was selected for cleanup of the field samples because of higher analytical recoveries for most compounds and because of higher automation (see *Results and Discussion*).

Pesticide determination and quantification

The compounds were quantified by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). This was done on an Agilent 6890N gas chromatograph (Agilent Technologies Germany, Boeblingen, Germany) equipped with a MPS2 autosampler, a KAS4 injector, both from

Gerstel (Muehlheim a.d. Ruhr, Germany) and an Agilent 5973 mass selective detector. A HP-5MS capillary column, 30m × 0.25mm × 0.25 μm, from Agilent was used for separation. The column was held at a temperature of 70°C for 2 minutes, heated by 25°C per minute up to 150°C, then by 3°C per minute up to 200°C. The end value of 280°C was achieved by increasing the temperature 8°C per minute and was held constant for 10 minutes. The MS operated in single-ion monitoring (SIM) with one quantifying and three or four qualifying ions (except triphenylphosphate with only two qualifiers) (Table 1). The limit of quantification (LOQ) was defined as the lowest concentration with a signal-to-noise ratio of at least 9. LOQs and retention times (RT) are given in Table 1. External calibration was used for quantitation of MDS. The IS was employed to detect deteriorations in analytical performance. The analytes extracted from field samples were quantified using the deuterated analogue as DIS that exhibited most similar behavior (see below). Due to the absence of a suitable DIS, fenpropidin was quantified in the field samples with external calibration and corrected for the highest observed recovery on MDS (0.3) as a conservative estimate of the real concentration.

Risk assessment of particle-associated pesticide concentrations

Except for α-endosulfan, insufficient sediment toxicity data were available to assess the risk of the measured pesticide concentrations to benthic organisms. Therefore a sediment toxic unit (STU) was computed for each pesticide, site and date (DiToro et al., 1991):

$$\text{STU} = \frac{C_s}{\text{TOC} \times K_{\text{OC}} \times \text{LC50}}$$

where C_s is the particle-associated pesticide concentration (μg kg⁻¹) (Table 3) and LC50 is the water-based 48-h acute median lethal concentration for *Daphnia magna* (μg L⁻¹) (Table 4). The values for K_{OC} were derived from the log K_{OC} as given in Table 1 and the values for the TOC are given in Table 3. However, the computed STUs should be regarded as a worst-case estimate since sediment concentrations are usually lower than suspended particle concentrations (Long et al., 1998).

Data analysis

Pearson's correlation coefficient r was computed to indicate the strength of a linear relationship between two compounds followed by a t -test to detect significant correlations. Similarity of the relationship among the deuterated standards between two

groups of samples was checked using the Mantel-test on Euclidean distance matrices (Legendre and Legendre, 1998). Simultaneous testing for a significant difference of several means between two groups of samples was done with Hotelling's T^2 -test (Johnson and Wichern, 2003). All statistical computations and graphics were created with the open source software package R (www.r-project.org) using version 2.5.1 (for Mac OS X, 10.4.10).

Results and discussion

Recovery study with two different cleanup methods

For extraction with subsequent SEC cleanup, analytical recoveries ranged from 80 to 103% for most compounds (Figure 1). When SPE was used for cleanup, the analytical recoveries were in general lower (37 – 66%). Six compounds with SPE cleanup and two compounds with SEC cleanup exhibited high variation ($> 25\%$ relative standard deviation (R.S.D.), see Figure 1). The lower recoveries associated with SPE cleanup presumably resulted from the coextraction of natural organic matter, indicated by deeply coloured extracts, which can bind to the sorbents or analytes (Ridal et al., 1997; Kremer et al., 2004). Irrespective of the cleanup method employed after extraction, fenpropidin and linuron were the analytes with the lowest recoveries. We suggest that fenpropidin either degraded during extraction or that the extraction was not exhaustive because analytical recoveries were higher when the fenpropidin standard was spiked to the sample after extraction (28.9% for SEC cleanup and 60.3% for SPE cleanup). Moreover, losses of fenpropidin occurred during SEC since the analyte was partly eluted prior the collection time window. To our knowledge, there are no other studies on the extraction of fenpropidin. Better recoveries for fenpropidin should be obtained by selecting a different extraction solvent because higher recoveries (76.2%, $n = 1$) were observed during method development for ACN-MeOH (8:2).

The low recoveries of linuron may originate from both the extraction and the cleanup step. Concerning extraction, Crescenzi et al. (2000) observed up to 100% decomposition of linuron at temperatures higher than 90°C with phosphate-buffered water. During method development when most extraction temperatures were $> 100^\circ\text{C}$, we did not find linuron recoveries $> 50\%$ for any of the various solvents and ASE parameters. Nevertheless, other authors reported linuron recoveries with ASE in different grains

from 43.5 to 101.3% at 80°C (Pang et al., 2006) and of 75% in a cucumber matrix at 100°C (Frenich et al., 2005). Concerning cleanup, a reduction in recoveries of linuron up to 53% have been observed in SPE in the presence of coextracted humic acids, possibly by binding of the analyte to the humic acids (Boti et al., 2007). Binding to organic macromolecules could also explain a decrease in linuron concentrations associated with SEC cleanup as this would lead to earlier elution and therefore discarding of the linuron fraction. However, further research would be needed to identify the mechanism responsible for the losses of linuron.

Overall, SEC represented an appropriate cleanup method after ASE. Nevertheless, SPE had higher cleanup power, and therefore analytical sensitivity in terms of LOQ was a factor of 3 to 4 higher. The cleanup strength of SEC could be increased by delaying the collection time window, but depending on the selected analytes, this could compromise the recovery.

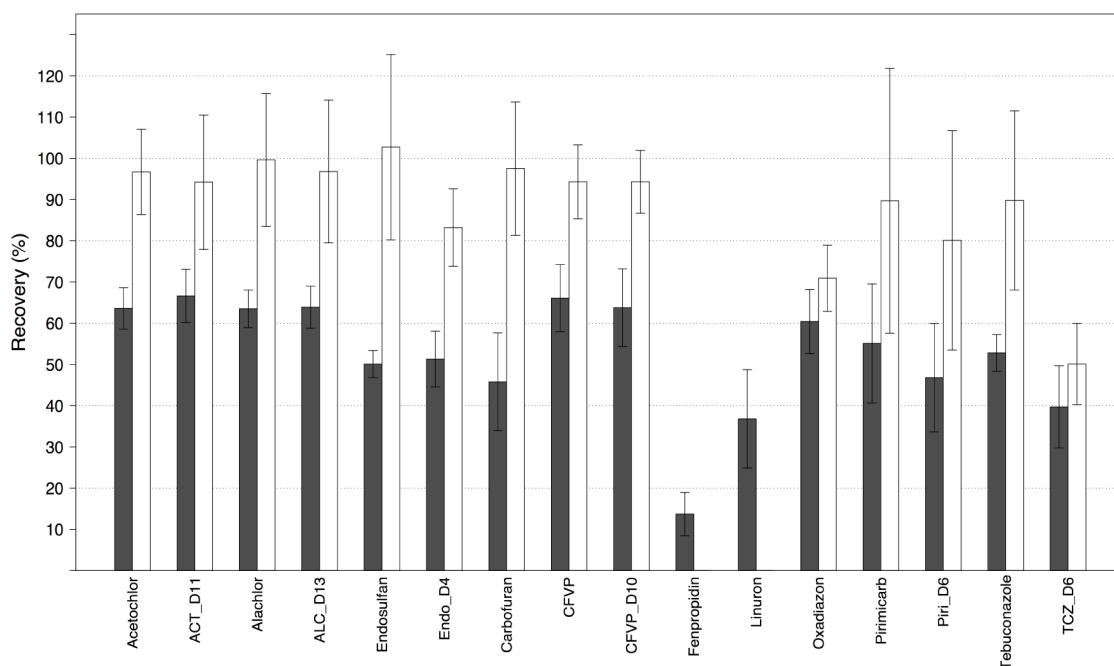


Figure 1: Analytical recoveries \pm % of relative standard deviations for SPE (black bars) and SEC (white bars) cleanup after accelerated solvent extraction ($n=6$ for both) of MDS. See Table 3 for full names of abbreviated compounds

Table 2: Correlations between the analytical recoveries of the target analytes and the deuterated analogues for SEC as cleanup step (n= 15)^a

	Chlorfenvinphos D10	α-Endosulfan D4^d	Tebuconazole D6^b	Alachlor D13	Pirimicarb D6	Acetochlor D11
Chlorfenvinphos	0.93**	0.88**	0.68*	0.59*	0.49	0.53*
α-Endosulfan	0.54*	0.89**	0.1	0.69**	0.45	0.78**
Tebuconazole ^b	0.69**	0.29	0.75**	-0.02	0.51	0.01
Alachlor	0.75**	0.76*	0.55	0.97**	0.64*	0.93**
Pirimicarb	0.72**	0.51	0.58*	0.78**	0.76**	0.79**
Acetochlor	0.76**	0.81**	0.43	0.89**	0.55*	0.88**
Carbofuran ^c	0.76*	0.34	0.4	0.65	0.69	0.74
Oxadiazon	0.69**	0.93**	0.36	0.84**	0.48	0.87**

^a except linuron and fenpropidin due to low recoveries in SEC. Results of the extractions from MDS were used as input data. Bold values indicate the deuterated compound that constituted the DIS for the respective analyte. * p< 0.05; ** p< 0.01. For further details refer to the Methods section.

^bn= 13 ^cn= 7 ^dn= 10

Performance of deuterated analogues as deuterated internal standards

DIS are used to increase accuracy and precision in the determination of analytes, assuming similar behavior during sample treatment, chromatography and mass spectrometry (Grasso et al., 1998). Perfect similarity between a compound and the deuterated analogue would comprise (1) the same recovery in the analytical method and (2) strong correlation of the measurements (r close to 1). In our study, differences in recovery $> 10\%$ compared to the target analyte were observed for the deuterated analogues α -endosulfan D4 with SEC cleanup as well as for tebuconazole D6 and pirimicarb D6 for both cleanup steps for the MDS samples (Figure 1). Surprisingly, there is a paucity of studies on the relationship of analytes and their deuterated analogues during extraction (Stokvis et al., 2005). However, a study on the extraction of the drug haloperidol also reported a 28% lower recovery for the deuterated analogue (Hempenius et al., 1999). Two mechanisms have been proposed to explain these differences in behavior: (1) stronger binding of deuterium atoms with the carbon atoms compared to hydrogen atoms may alter the physicochemical properties of the deuterated analogue and (2) an exchange of deuterium atoms for hydrogen atoms may cause losses in the recovery of the deuterated analogue (Stokvis et al., 2005). The latter mechanism would lead to reduced recoveries of the deuterated analogue compared to the associated analyte. Indeed, for all pairs with differences lower recoveries of the deuterated analogue were observed (Table 2). However, for tebuconazole D6 with SEC cleanup the losses can presumably be attributed to elution before collection of the fraction. More studies would be needed to clarify the responsible mechanisms.

Concerning the correlation of the measurements, again tebuconazole D6 and pirimicarb D6 were the only compounds that correlated with $r < 0.85$ to the respective analyte in MDS for SEC cleanup (Table 2). Acetochlor and pirimicarb showed slightly higher correlation withalachlor D13 and acetochlor D11, respectively, compared to their deuterated analogues (Table 2). A high intercorrelation between acetochlor,alachlor and the deuterated analogues was expected due to the similarity in molecule structure and physicochemical properties (Table 1) and was also observed foralachlor with acetochlor D11 ($r = 0.93$). Strong correlations ($r > 0.8$) between compounds and deuterated standards were also reflected in close retention times in chromatography (except oxadiazon with bothalachlor D13 and acetochlor D11, see Table 1).

For quantitation of the analytes in field samples we selected the deuterated standard with the highest correlation in MDS as DIS (Table 2). Hence, we assumed the correlations also to be valid for the field samples. This hypothesis was not directly testable; therefore, it was tested if the relationship among deuterated standards was similar for both groups of samples (MDS and field samples with SEC cleanup). Although the mean recoveries of the deuterated compounds were significantly lower for the field samples ($p < 0.01$, $n = 38$, Hotelling's T^2 -test; compare Table 3 and Figure 1), the relationship among the deuterated compounds was similar (Mantel statistic $r = 0.89$, $p < 0.01$, Mantel-test). Thus, we suggest that the relationship between the target analytes and the deuterated compounds also remained stable.

The recoveries for the deuterated compounds as DIS in field samples varied widely (R.S.D.s of 20 to 53%) and ranged from values below LOQ to 107% (Table 3). Similar behavior was expected for the target analytes, and this highlights the benefit of using deuterated standards to indicate variation in extraction efficiency or matrix interference when applying an extraction method to samples with different physicochemical properties.

Overall, our results show that deuterated standards, with more than 10 hydrogen atoms replaced by deuterium, performed well in terms of similarity in accuracy, precision (variation) and correlation with the respective analyte. However, inaccuracies may arise when assuming similarity between analytes and the deuterated analogue without testing (for example 44% unexplained variance and about 10% difference in recoveries for pirimicarb-pirimicarb D6).

Pesticide concentrations in the field samples and associated risk for aquatic communities

The field samples were characterized by a high variation in organic carbon content ranging from 0.94 to 16.28%, while the inorganic carbon content was of minor importance with values $< 0.32\%$ (Table 3). A previous study showed that increasing TOC resulted in lower recoveries, presumably through higher extraction of interfering matrix compounds (Hrdlicka and Dolinova, 2001). However, we did not find a significant correlation between the recovery of deuterated compounds and the TOC or TIC ($p > 0.05$, $n = 24$ ($n = 15$ for α -endosulfan D4 and $n = 14$ for tebuconazole D6)). Presumably, the reduction of recoveries through matrix interference is more dependent on the particular kind of organic carbon than on the TOC (Zhou et al., 1995).

Table 3: Carbon content, analytical recovery of deuterated equivalents and pesticide concentrations of suspended particles collected in 16 small streams

Sample information			Carbon content		Recovery of deuterated analogues (%) ^b						Concentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$ dry weight) ^{c,d}					
Stream	Date ^a	Sample type	TOC	TIC	CFVP D10	Endo D4	TCZ D6	ALC D13	Piri D6	ACT D11	CFVP	Endo	FPP	TCZ	Piri	ACT
1	6.5.	Particles	4.78	0.02	86.5	30.38	bq	74.1	61.2	87.4	<17.2	<17.2	<17.2	<137.4 ^e	<17.2	53.1
1	25.5.	Particles	4.96	0.05	73.4	73.41	17.4	73.8	75.8	76.7	24.2	137.5	<13.2	<13.2	<13.2	66.9
2	6.5.	Particles	5.11	0.02	81.6	bq	bq	67.3	39.9	80.7	<27.1	<27.1	<27.1	<217 ^e	<27.1	<27.1
3	6.5.	Particles	8.31	0.01	70.4	22.57	42.9	73.2	97.5	75.7	<21.9	<21.9	195.3	61.1	<21.9	<21.9
3	25.5.	Particles	3.21	0.27	82.5	79.30	27.6	87.7	95.9	89.4	911.9	<22	<22	110.5	<22	<22
4	6.5.	Particles	3.32	0.27	33.6	bq	19.8	30.9	45.0	47.9	<19.8	<19.8	<19.8	<19.8	<19.8	<19.8
4	26.5.	Particles	5.03	0.04	73.8	21.80	16.1	61.8	64.6	68.9	<15.7	<15.7	241.6	<15.7	<15.7	<15.7
5	26.5.	Sediment	1.39	0.00	48.4	bq	26.5	55.3	22.1	58.9	15.8	<3.7	15.2	<29.4 ^e	<3.7	21.0
6	6.5.	Particles	6.26	0.07	64.7	bq	bq	51.5	45.5	51.8	<19.7	<19.7	<19.7	<19.7	<19.7	<19.7
6	25.5.	Sediment	0.94	0.00	75.7	bq	bq	66.2	21.4	73.8	<9.7	<9.7	<9.7	<77.7 ^e	<9.7	<9.7
7	6.5.	Particles	4.79	0.02	77.7	bq	bq	64.5	40.0	63.8	<28.6	<28.6	<28.6	<28.6	<28.6	<28.6
7	25.5.	Particles	6.71	0.04	99.2	30.00	bq	85.5	71.9	103.4	<276.4 ^f	<276.4 ^f	<276.4 ^f	<2211.2 ^{e,f}	<276.4 ^f	<276.4 ^f
8	6.5.	Particles	3.17	0.06	68.1	22.31	26.7	59.4	49.1	57.9	<23.6	<23.6	<23.6	<23.6	<23.6	<23.6
8	23.5.	Particles	3.52	0.00	62.8	74.97	6.9	66.8	39.4	70.2	22.2	<9	59.1	22.1	<9	<9
9	6.5.	Particles	5.30	0.05	64.9	61.39	17.4	62.5	43.3	63.9	<13.8	<13.8	<13.8	27.5	50.5	<13.8
9	24.5.	Particles	3.89	0.08	76.4	23.36	17.9	63.7	55.5	65.1	<17.2	<17.2	253.4	<17.2	<17.2	789.7
10	6.5.	Particles	4.15	0.07	104.1	90.52	34.5	86.3	106.8	92.5	953.4	<25.2	<25.2	335.2	<25.2	<25.2
10	25.5.	Particles	4.69	0.16	69.1	63.28	30.3	61.1	90.0	67.8	<33.3	<33.3	<33.3	49.1	<33.3	<33.3
11	19.5.	Particles	12.04	0.02	67.1	bq	bq	53.9	32.8	54.2	<29.9	<29.9	<29.9	<29.9	<29.9	<29.9
12	19.5.	Particles	14.51	0.06	85.0	bq	bq	70.8	65.1	78.8	<39.5	<39.5	<39.5	<315.8 ^e	<39.5	<39.5
13	19.5.	Particles	8.26	0.32	84.8	91.11	28.1	85.0	79.1	83.4	72.4	<48	<48	65.0	<48	<48
14	19.5.	Particles	16.28	0.17	67.7	bq	bq	54.6	48.5	60.5	<33.8	<33.8	232.4	<270.2 ^e	<33.8	<33.8
15	19.5.	Particles	5.95	0.06	60.7	21.49	bq	52.0	28.9	56.3	<19.3	<19.3	<19.3	<154.2 ^e	<19.3	<19.3
16	19.5.	Sediment	1.40	0.00	63.6	63.11	23.8	69.3	13.9	73.0	17.9	14.3	27.3	10.2	<3.1	<3.1
Mean					72.6	51.3	24.0	65.7	55.5	70.9						
R.S.D. (%)					20.4	53.3	37.5	20.0	46.1	19.7						

Abbreviations: TOC = Total organic carbon (%), TIC = Total inorganic carbon (%), CFVP = chlorfenvinphos, Endo = α -endosulfan, TCZ = tebuconazole, ALC = alachlor, ACT = acetochlor, Piri = pirimicarb, FPP = fenpropidin ^ain 2005 ^bbq = below limit of quantification ^conly detected analytes shown ^d"<" indicates sample LOQ based upon the amount of extracted material ^ehigh limit of quantification due to matrix interferences ^fhigh limit of quantification due to low amount of sample material

Of the 10 pesticides, chlorfenvinphos, fenpropidin and tebuconazole were found in approximately 25% of the field samples, while acetochlor, α -endosulfan and pirimicarb were found occasionally. The concentrations peaked at 1 mg kg⁻¹, which is in accordance with previous measurements of pesticides on suspended particles in the Koise river, Japan (Inoue et al., 2002) or the Lourens river, South Africa (Schulz, 2001). Nevertheless, real concentrations were probably higher for fenpropidin, α -endosulfan and tebuconazole. In the case of fenpropidin, we assigned the maximum recovery (0.3) observed for MDS but real recovery was presumably lower (see above; compare Figure 1). α -Endosulfan and tebuconazole were detected 2 and 8 times in samples with concentrations of the respective DIS above LOQ, but never in samples with DIS concentrations below LOQ, suggesting the existence of false-negatives in the latter samples.

More pesticides were detected for the second sampling (12 compared to 7) at sites where sample material was available for both dates (n = 8). The measured α -endosulfan concentrations of 14.3 and 137.5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ were in the range of values that were reported to have toxic effects on benthic organisms. Jergentz et al. (2004) showed that the macroinvertebrate density and abundance were reduced in two streams after receiving particle-associated α -endosulfan input of 43 and 318 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectively. Furthermore, particle-associated concentrations between 50 and 200 $\mu\text{g kg}^{-1}$ reduced the abundance and reproduction of a benthic polychaete and copepod (Chandler and Scott, 1991).

Table 4: Maximum sediment toxic units (STU) for the particle-associated analytes detected in 16 streams

Compound	LC50 ($\mu\text{g L}^{-1}$) ^a	Highest particle-associated concentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$) ^b	Maximum STU
acetochlor	9000	789.7	0.011
chlorfenvinphos	0.3	911.9	320.9
fenpropidin	500	253.4	0.008
pirimicarb	17	50.5	0.706
tebuconazole	4200	335.2	0.001

^a taken from Tomlin (2003) ^b dry weight

The concentrations of other compounds were evaluated on the base of STUs, as no sediment toxicity data were available. The STUs were in the range of 1/10,000 to 320 times the LC50 for *Daphnia magna* (Table 4). Assuming a dose-response relationship similar to that in the water column (DiToro et al., 1991), pesticide concentrations > 1/100 to 1/1000 the LC50 for *Daphnia magna* may have effects on the benthic community (Liess and von der Ohe, 2005; Schäfer et al., 2007). Consequently, the observed

concentrations of chlorfenvinphos and pirimicarb would have a high potential to have detrimental effects on benthic organisms (Table 4). However, this is a preliminary evaluation since no reliable sediment toxicity data are available, and the current assessment is based on several simplifications. Clearly, there is a paucity of studies on the effects of particle-associated pesticides.

Conclusions

The method of accelerated solvent extraction and size exclusion chromatography developed here is highly automated and is applicable in routine analysis of suspended particles. However, new methods are needed for the cleanup of polar compounds to improve sensitivity.

As internal standard, deuterated analogues with more than 10 deuterium atoms are recommended. Further investigations should address the moderate match of lower deuterated analogues with the target analytes.

Overall, particle-associated contaminants deserve much more attention in the exposure and toxicity assessment of aquatic ecosystems, as observed concentrations may represent an important stressor for aquatic ecosystems.

Acknowledgements

The authors would like to thank Laurent Lagadic, Klaus Seyfarth and all the other people who contributed facilities to the field study. We are grateful to Ines Rein and Angela Sperreuter for their support with ASE, freeze-drying and SEC. Special thanks to Ralf-Uwe Ebert for the compilation of physicochemical values. Finally, we would like to thank Bettina Egert and Henning Freitag for the chemical analyses. Peter von der Ohe and Carola Schriever provided valuable suggestions that improved the manuscript. The first author received funding through a scholarship of the “Studienstiftung des deutschen Volkes e.V.” (Bonn, Germany).

References

Bergamaschi, B.A., Baston, D.S., Crepeau, K.L., Kuivila, K.M., 1999. Determination of pesticides associated with suspended sediments in the San Joaquin river, California, USA, using gas chromatography-ion trap mass spectrometry. *Toxicol. Environ. Chem.* 69, 305-319.

Boti, V.I., Sakkas, V.A., Albanis, T.A., 2007. Measurement uncertainty arising from trueness of the analysis of two endocrine disruptors and their metabolites in environmental samples - Part II. Solid-phase extraction from environmental natural waters. *J. Chromatogr. A* 1146, 148-156.

Carabias-Martinez, R., Rodriguez-Gonzalo, E., Sanchez San Roman, F.J., Fernandez-Laespada, M.E., 2000. Evaluation of surface- and ground-water pollution due to herbicides in agricultural areas of Zamora and Salamanca (Spain). *J. Chromatogr. A* 869, 471-480.

Chandler, G.T., Scott, G.I., 1991. Effects of sediment-bound endosulfan on survival, reproduction and larval settlement of meiobenthic polychaetes and copepods. *Environ. Toxicol. Chem.* 10, 375-382.

Crescenzi, C., Di Corcia, A., Nazzari, M., Samperi, R., 2000. Hot phosphate-buffered water extraction coupled on-line with liquid chromatography/mass spectrometry for analyzing contaminants in soil. *Anal. Chem.* 72, 3050-3055.

Dabrowska, H., Dabrowski, L., Biziuk, M., Gaca, J., Namiesnik, J., 2003. Solid-phase extraction clean-up of soil and sediment extracts for the determination of various types of pollutants in a single run. *J. Chromatogr. A* 1003, 29-42.

DiToro, D.M., Zarba, C.S., Hansen, D.J., Berry, W.J., Swartz, R.C., Cowan, C.E., Pavlou, S.P., Allen, H.E., Thomas, N.E., Paquin, P.R., 1991. Technical basis for establishing sediment quality criteria for nonionic organic chemicals using equilibrium partitioning. *Environ. Toxicol. Chem.* 10, 1541-1583.

Frenich, A.G., Vidal, J.L.M., Salvador, I.M., Lopez-Lopez, T., 2005. Determination of multiclass pesticides in food commodities by pressurized liquid extraction using GC-MS/MS and LC-MS/MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 383, 1106-1118.

- Frost, S.P., Dean, J.R., Evans, K.P., Harradine, K., Cary, C., Comber, M.H.I., 1997. Extraction of hexaconazole from weathered soils: A comparison between Soxhlet extraction, microwave-assisted extraction, supercritical fluid extraction and accelerated solvent extraction. *Analyst* 122, 895-898.
- Grasso, P., Benfenati, E., Terreni, M., Pregnolato, M., Natangelo, M., Pagani, G., 1998. Deuterated internal standards for gas chromatographic mass spectrometric analysis of polar organophosphorus pesticides in water samples. *J. Chromatogr. A* 822, 91-99.
- Hempenius, J., Steenvoorden, R.J.J.M., Lagerwerf, F.M., Wieling, J., Jonkman, J.H.G., 1999. 'High throughput' solid-phase extraction technology and turbo ionspray LC-MS-MS applied to the determination of haloperidol in human plasma. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 20, 889-898.
- Hrdlicka, A., Dolinova, J., 2001. Automated hot solvent extraction and HPLC determination of atrazine and its degradation products in soil. *J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol.* 24, 721-734.
- Hubert, A., Wenzel, K.-D., Engelwald, W., Schüürmann, G., 2001. Accelerated solvent extraction - More efficient extraction of POPs and PAHs from real contaminated plant and soil samples. *Rev. Anal. Chem* 20, 101-144.
- Hubert, A., Wenzel, K.D., Manz, M., Weissflog, L., Schüürmann, G., Engewald, W., 2000. High extraction efficiency for POPs in real contaminated soil samples using accelerated solvent extraction. *Anal. Chem.* 72, 1294-1300.
- Inoue, T., Ebise, S., Numabe, A., Nagafuchi, O., Matsui, Y., 2002. Runoff characteristics of particulate pesticides in a river from paddy fields. *Water Sci. Technol.* 45, 121-126.
- Jergentz, S., Mugni, H., Bonetto, C., Schulz, R., 2004. Runoff-related endosulfan contamination and aquatic macroinvertebrate response in rural basins near Buenos Aires, Argentina. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 46, 345-352.
- Johnson, R.A., Wichern, D.W., 2003. *Applied Multivariate Statistical Analysis*. Prentice Hall.
- Kremer, E., Rompa, M., Zygmunt, B., 2004. Extraction of acidic herbicides from soil by means of accelerated solvent extraction. *Chromatographia* 60, S169-S174.

- Legendre, P., Legendre, L., 1998. Numerical Ecology. Elsevier, Amsterdam.
- Liess, M., Schulz, R., Liess, M.H.-D., Rother, B., Kreuzig, R., 1999. Determination of insecticide contamination in agricultural headwater streams. *Water Res.* 33, 239-247.
- Liess, M., Schulz, R., Neumann, M., 1996. A method for monitoring pesticides bound to suspended particles in small streams. *Chemosphere* 32, 1963-1969.
- Liess, M., von der Ohe, P.C., 2005. Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams. *Environ. Toxicol. Chem.* 24, 954-965.
- Liu, W., Gan, J.J., Lee, S., Kabashima, J.N., 2004. Phase distribution of synthetic pyrethroids in runoff and stream water. *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 7-11.
- Long, J.L.A., House, W.A., Parker, A., Rae, J.E., 1998. Micro-organic compounds associated with sediments in the Humber rivers. *Sci. Total Environ.* 210, 229-253.
- Lopes, I., Moreira-Santos, M., da Silva, E.M., Sousa, J.P., Guilhermino, L., Soares, A., Ribeiro, R., 2007. In situ assays with tropical cladocerans to evaluate edge-of-field pesticide runoff toxicity. *Chemosphere* 67, 2250-2256.
- Pang, G.F., Liu, Y.M., Fan, C.L., Zhang, J.J., Cao, Y.Z., Li, X.M., Li, Z.Y., Wu, Y.P., Guo, T.T., 2006. Simultaneous determination of 405 pesticide residues in grain by accelerated solvent extraction then gas chromatography-mass spectrometry or liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 384, 1366-1408.
- Ridal, J.J., Fox, M.E., Sullivan, C.A., Maguire, R.J., Mazumder, A., Lean, D.R.S., 1997. Evaluation of automated extraction of organochlorine contaminants from freshwater. *Anal. Chem.* 69, 711-717.
- Sabljić, A., Gusten, H., Verhaar, H., Hermens, J., 1995. Qsar Modeling of Soil Sorption - Improvements and Systematics of Log K_{oc} Vs Log K_{ow} Correlations. *Chemosphere* 31, 4489-4514.
- Schäfer, R.B., Caquet, T., Siimes, K., Mueller, R., Lagadic, L., Liess, M., 2007. Effects of pesticides on community structure and ecosystem functions in agricultural streams of three biogeographical regions in Europe. *Sci. Total Environ.* 382, 272-285.
- Schriever, C.A., von der Ohe, P.C., Liess, M., 2007. Estimating pesticide runoff in small streams. *Chemosphere* 68, 2161-2171.

- Schulz, R., 2001. Comparison of spraydrift- and runoff-related input of azinphos-methyl and endosulfan from fruit orchards into the Lourens River, South Africa. *Chemosphere* 45, 543-551.
- Schulz, R., Liess, M., 2001. Acute and chronic effects of particle-associated fenvalerate on stream macroinvertebrates: a runoff simulation study using outdoor microcosms. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 40, 481-488.
- Stokvis, E., Rosing, H., Beijnen, J.H., 2005. Stable isotopically labeled internal standards in quantitative bioanalysis using liquid chromatography/mass spectrometry: necessity or not? *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 19, 401-407.
- Sturm, A., Radau, T.S., Hahn, T., Schulz, R., 2007. Inhibition of rainbow trout acetylcholinesterase by aqueous and suspended particle-associated organophosphorous insecticides. *Chemosphere* 68, 605-612.
- Tomlin, C.D.S., 2003. *The pesticide manual, a world compendium* BCPC Publications, Hampshire, UK.
- Zhou, J.L., Rowland, S., Mantoura, R.F.C., 1995. Partition of synthetic pyrethroid insecticides between dissolved and particulate phases. *Water Res.* 29, 1023-1031.

Supplementary material

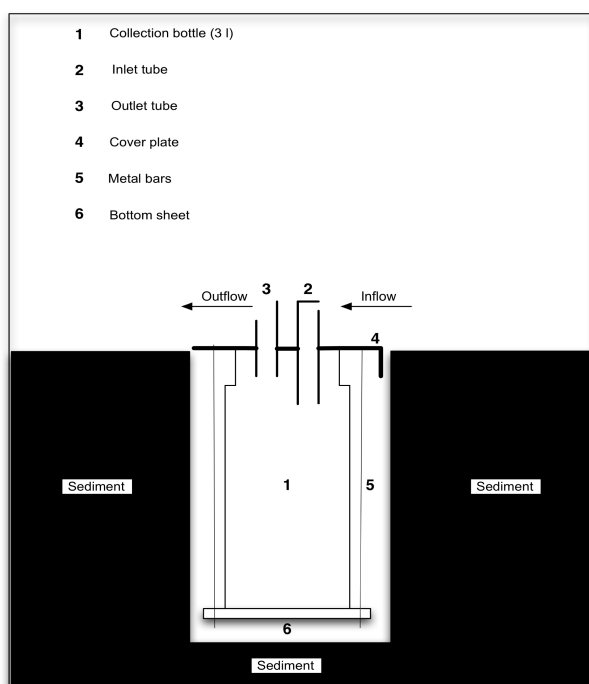


Figure S1: Suspended particles sampler

Table S1: Analytical recovery of compounds in SPE of 300 mL spiked ($1 \mu\text{g L}^{-1}$) tap water with two different SPE-columns.

	Chromabond Easy (n= 3)		Chromabond HR-P (n=4)	
	Recovery (%)	R.S.D. (%)	Recovery	R.S.D. (%)
Acetochlor	79.9	7.8	92.0	4.2
Acetochlor D11	94.8	4.8	nm	nm
Alachlor	93.9	3.1	92.3	3.9
Alachlor D13	93.7	3.6	90.0	3.8
α -Endosulfan	77.5	6.1	81.5	2.1
α -Endosulfan D4	77.9	3.1	80.5	3.4
Carbofuran	99.1	11.4	47.1	8.2
Chlorfenvinphos	96.0	7.9	93.3	10.5
Chlorfenvinphos D10	96.9	13.3	91.1	9.0
Fenpropidin	bd	bd	108.3	5.1
Linuron ^a	125.5	9.4	125.3	31.9
Oxadiazon	86.1	2.2	85.4	2.2
Pirimicarb	96.8	5.1	90.8	2.0
Pirimicarb D6	99.0	9.8	88.8	3.8
Tebuconazole	37.7	30.0	61.5	4.9
Tebuconazole D6	24.7	27.7	62.9	5.2

nm = not measured; bd = below limit of quantification, ^aas 3,4-dichloroaniline.

Kapitel 3: Calibration of the Chemcatcher[®] passive sampler for monitoring selected polar and semi-polar pesticides in surface water

Roman Gunold^{1,2}, Ralf Bernhard Schäfer^{1,4*}, Albrecht Paschke³, Gerrit Schüürmann^{3,5}, Matthias Liess¹. 2007. *Environmental Pollution*, in press.

¹ Department of System Ecotoxicology, UFZ - Helmholtz Centre for Environmental Research, Permoserstrasse 15, 04318 Leipzig, Germany

² Institute of Biochemistry, Research Lab Analytical & Environmental Chemistry, University of Greifswald, Felix-Hausdorff-Strasse 4, 17487 Greifswald, Germany

³ Department of Ecological Chemistry, UFZ - Helmholtz Centre for Environmental Research, Permoserstrasse 15, 04318 Leipzig, Germany

⁴ Institute for Ecology and Environmental Chemistry, University of Lüneburg, Scharnhorststraße 1, 21335 Lüneburg, Germany

⁵ Institute for Organic Chemistry, Technical University Bergakademie Freiberg, Leipziger Strasse 29, 09596 Freiberg, Germany

* Correspondence author: Ralf.Schaefer@ufz.de

Abstract

Passive sampling is a powerful method for continuous pollution monitoring, but calibration experiments are still needed to generate sampling rates in order to estimate water concentrations for polar compounds. We calibrated the Chemcatcher[®] device with an uncovered SDB-XC Empore disk as receiving phase for 12 polar and semi-polar pesticides in aquatic environments in flow-through tank experiments at two water flow velocities (0.135 m/s and 0.4 m/s). In the 14-day period of exposure the uptake of test substances in the sampler remained linear, and all derived sampling rates R_s were in the range of 0.1 to 0.5 L/day. By additionally monitoring the release of two preloaded polar pesticides from the SDB-XC disks over time, very high variation in release kinetics was found, which calls into question the applicability of performance reference compounds. Our study expands the applicability of the Chemcatcher[®] for monitoring trace concentrations of pesticides with frequent occurrence in water.

Introduction

The widespread use of agrochemicals is connected with a frequent input of these substances into surface waters. Continuous monitoring of the water quality is therefore necessary. Conventional methods for the monitoring of surface waters rely on discontinuous grab sampling at fixed time intervals and on expensive analytical efforts. However, these methods may miss spontaneous and periodic fluctuations in the concentration of a pollutant (Guo et al., 2004, Kreuger, 1998, Liess et al., 1999). Furthermore, the concentration of trace contaminants may lie below the detection limit if only small sample volumes are available.

Passive samplers represent a promising alternative as they continuously accumulate pollutants, allowing the assessment of time-weighted-average (TWA) concentrations. The widespread facilities for the application of passive samplers to monitor different pollutants was reviewed previously (Gorecki and Namiesnik, 2002, Leon-Gonzalez and Perez-Arribas, 2000, Vrana et al., 2005). However, most passive sampling devices for organic compounds in water focus on hydrophobic substances (Vrana et al., 2006a). By contrast, the Chemcatcher® passive sampler allows both hydrophobic and hydrophilic compounds to be sampled when taking into account the appropriate receiving phases, in terms of Empore disks for solid phase extraction (SPE) (Kingston et al., 2000). Furthermore, a diffusion-limiting membrane can be used optionally to extend the time until the receiving phase reaches equilibrium with the surrounding medium. To derive time-weighted average (TWA) concentrations from the accumulated contaminant mass during field exposure, compound-specific sampling rates are required (Kingston et al., 2000). For selected polar compounds, calibration experiments have to be conducted to determine sampling rates. Tran et al. (2007) calibrated the Chemcatcher® with Empore SDB-XC and SDB-RPS disks as receiving phases and polyethersulfone membranes for 8 polar herbicides. Stephens et al. (2005) calibrated the C₁₈ Empore disk and the SDB-RPS Empore disk without membrane for 4 polar herbicides. Nevertheless, calibration data are scarce for different classes of herbicides and absent for polar insecticides and fungicides.

In the present study, we calibrated the Chemcatcher® with the SDB-XC Empore disk as receiving phase for 10 selected polar and semi-polar pesticides, using a laboratory flow-through system. In addition, atrazine and hexazinone were included in the experiment for the purpose of comparison with previous calibration studies (Stephens et al., 2005, Tran et al., 2007). Furthermore, we evaluated the applicability of polar performance reference

compounds (PRC), usually employed to account for between-site variation of environmental variables (Booij et al., 2002, Vrana et al., 2006a). The samplers were exposed over a period of 14 days to two different current velocities, both typical of small lowland agricultural streams (Schäfer et al., 2007).

Theory

The only driving force for the accumulation of compounds in the receiving phase of passive samplers in aquatic environments is the difference in chemical potential (Vrana et al., 2006a). Various transport steps govern the uptake of an organic compound from water to the receiving phase of a passive sampler. The first step is the diffusion of the analyte from the water phase surrounding the sampler to a stagnant aqueous boundary layer located above the receiving phase (Vrana et al., 2007). Subsequently, there are several transport steps between the different compartments of the sampling system, from the boundary layer through a possible biofilm layer via a diffusion-limiting membrane to the receiving phase. For a given compound, the uptake rate (the increase of accumulated analyte mass per time period) depends on the material of the receiving phase, the material of a possible membrane and the volume of the receiving phase. Furthermore, the uptake rate varies with the physicochemical properties of the target analytes (Stephens et al., 2005), water temperature (Vrana et al., 2006a) and the current velocity of the aquatic environment (Vrana and Schüürmann, 2002), as these factors influence the transport of chemicals to the stagnant aqueous boundary layer. Moreover, biofouling may affect the uptake rate (Booij et al., 2006). PRCs can be used to account for variability in uptake kinetics due to physicochemical parameters and biofouling, if uptake and release kinetics are isotropic (Huckins et al., 2002).

After deployment of the sampling device, a linear uptake of chemicals over time continues approximately until half-saturation of the receiving phase is reached (Vrana et al., 2005). As exposure time increases further, the uptake decreases and approaches equilibrium partitioning with the medium, i.e. the state in which uptake and offload rates are equal. In this situation the sampler only responds to changes of the surrounding analyte concentration with a delay determined by the transfer kinetics between sampler and medium.

Under linear uptake conditions the relationship between the accumulated mass of an analyte on the sampler and its concentration in the surrounding water is given by the following equation (Kingston et al., 2000):

$$m_s = C_w * R_s * t \quad (1)$$

where m_s is the accumulated mass after exposure time t , C_w the time-weighted average (TWA) concentration of the analyte in the water phase in the dimension mass/volume, and R_s the sampling rate. If fabrication blank (and trip blank) investigations yield initial non-zero background concentration of target substance in the sampler, this has to be considered in Eq. (1) and the equations following below. The sampling rate R_s is the product of overall mass transfer coefficient towards the sampler and its surface area and represents the substance-specific volume of water extracted per unit of time by the sampling device.

During calibration experiments the samplers are exposed for a defined time to a constant analyte concentration in the water. Hence, the sampling rate can be derived by re-arranging Equation (1) to:

$$R_s = \frac{m_s}{C_w * t} \quad (2)$$

With the known sampling rate R_s for an analyte, its time-weighted average (TWA) concentration in the water phase during exposure time can be calculated by:

$$C_w = \frac{m_s}{R_s * t} \quad (3)$$

The release of accumulated substances from the receiving phase can be described with the following equation:

$$m_s(t) = m_s(0) * e^{(-k_e * t)} \quad (4)$$

where $m_s(t)$ is the mass of accumulated compounds in the receiving phase after the exposure time t , $m_s(0)$ is the amount of analytes added to the receiving phase before exposure, and k_e is the overall exchange rate constant.

Experimental

Materials and chemicals

Empore SDB-XC disks were purchased from 3M (St. Paul, USA). Chromabond HR-P cartridges were obtained from Macherey-Nagel (Düren, Germany). All pesticide standards were obtained from Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany) and had a purity of at least 97 %, except chlorfenvinphos (95 % purity) and acetochlor (92 % purity). Solvents (HPLC-grade – acetone, methanol, ethyl acetate, acetonitrile / analytical grade – ethanol, 2-propanol) and sodium sulfate, sodium chloride (both for analysis) were obtained from Merck (Darmstadt, Germany). Water was pumped with a Sigma/1 diaphragm-metering pump obtained from ProMinent (Heidelberg, Germany). The carousel device was driven by an adjustable electric stirring machine, type RZR 2051 (Heidolph, Kelheim, Germany). Reagents were added using a Wellchrom K-120 HPLC-pump obtained from Knauer (Berlin, Germany). Solvent evaporation was done with a TurboVap 2 (Zymark, Hopkington, USA).

Selection of compounds and physicochemical properties

Compounds selected for the study represented those identified as ecotoxicologically relevant in a previous field study (Schäfer et al., 2007). These comprised 10 polar and semi-polar insecticides, fungicides and herbicides from different chemical groups such as carbamates, organic phosphorous acids, chloroacetamides, ureas, piperidines, triazoles, oxadiazoles and organochlorines. Hexazinone and atrazine were included in the study for the purpose of comparison with previous calibration studies. Pirimicarb-D6 and chlorfenvinphos-D10 were selected as PRCs for investigation of the offload behaviour. Water solubilities (Tomlin, 2003) of the compounds exhibited high variability (Table 1) referring to the different areas of application.

Sampler design and treatment of the receiving phase

The Chemcatcher passive sampler was used as described by Kingston et al. (2000). We employed an SDB-XC Empore disk as receiving phase (47 mm diameter; 15.9 cm² surface area). To allow for the detection of short-term fluctuations in the analyte concentration during potential field deployment, no diffusion-limiting membrane was used. The open side of the Chemcatcher was sealed with a copper mesh (mesh size 5 mm), to prevent mechanical damage and suppress biofouling (Vrana et al., 2005).

Before use the SDB-XC Empore disk was conditioned with 10 mL acetone, 10 mL 2-propanol and 10 mL methanol. After rinsing with 20 mL water (HPLC-grade), 100 mL tap water with a spiking solution (pirimicarb-D6 and chlorfenvinphos-D10 – 1 µg/L) was taken through the disk. Finally, the conditioned and spiked disks were placed in the Chemcatcher body, which was subsequently filled with tap water, closed and stored at 4°C until exposure (< 72 hours).

After exposure the SDB-XC Empore disks were taken off the PTFE-body, dried under vacuum for about 15 minutes and subsequently eluted twice with 10 mL acetonitrile/methanol (1:1). The eluate was gently evaporated to dryness under nitrogen in a 200 mL evaporation vial and resolved with 300 µL acetonitrile. Prior to analysis 5 µL triphenyl phosphate were added as internal standard.

Table 1: Physicochemical properties of the selected pesticides

Pesticide	log K_{ow} ^a	Type	Mw ^{b,c} (g/mol)	Water solubility ^b (mg/L)
hexazinone	1.20 ^b	herbicide	252.3	33000
pirimicarb	1.70	insecticide	238.3	3000
carbofuran	2.32	insecticide	221.3	320
acetochlor	2.39	herbicide	269.8	223
atrazine	2.61	herbicide	215.7	33
fenpropidin	2.90 ^b	fungicide	273.5	530
chlorfenvinphos	3.10	insecticide	359.6	121
linuron	3.20	herbicide	249.1	63.8
alachlor	3.52	herbicide	269.8	170
tebuconazole	3.70 ^b	fungicide	307.8	36
α-endosulfan	3.83 ^b	insecticide	406.9	0.32
oxadiazon	4.80	herbicide	345.2	1

^a data from Sabljic et al. (1995) ^b data from Tomlin (2003) ^c molecular weight

Experimental setup

The experiment was conducted in a flow-through system consisting of a 20-L vessel with a carousel where 14 passive samplers were placed on two levels (see Figure 1), as described previously by (Vrana et al., 2006a). Both the samplers and the carousel were made of polytetrafluoroethylene (PTFE). The carousel was driven by an electric stirring motor with adjustable rotation speed and simulated water flow velocity by moving the installed passive samplers through the water. Additionally, the rotation of the carousel facilitated the dispersion of the stock solution in the water. Tap water was used due to a conductivity (515 µS/cm) similar to streams (100 – 500 µS/cm) and kept at 14.25°C by

air conditioning (the whole equipment was placed inside a climatic test cabinet). The rotation speed of the system was set to 0.135 m/s and 0.4 m/s; both temperature and flow velocities corresponded to average conditions of streams in a field study (Schäfer et al., 2007). The pesticide concentration in the vessel was kept constant with a continuous in- and outflow of water (5 L/h) and stock solution of methanol-dissolved pesticides (100 µg/L each pesticide) using an HPLC-pump (5 mL/h). The pesticide water concentration was monitored with 500-mL water samples taken every 72 h.

During the calibration experiment, two samplers were removed every two days (one of each storey of the carousel device) and replaced by empty Chemcatcher bodies to keep the hydrodynamic conditions constant. Prior to the initiation of a new experiment, the vessel, the carousel and the samplers were washed with ethanol to remove biofilms.

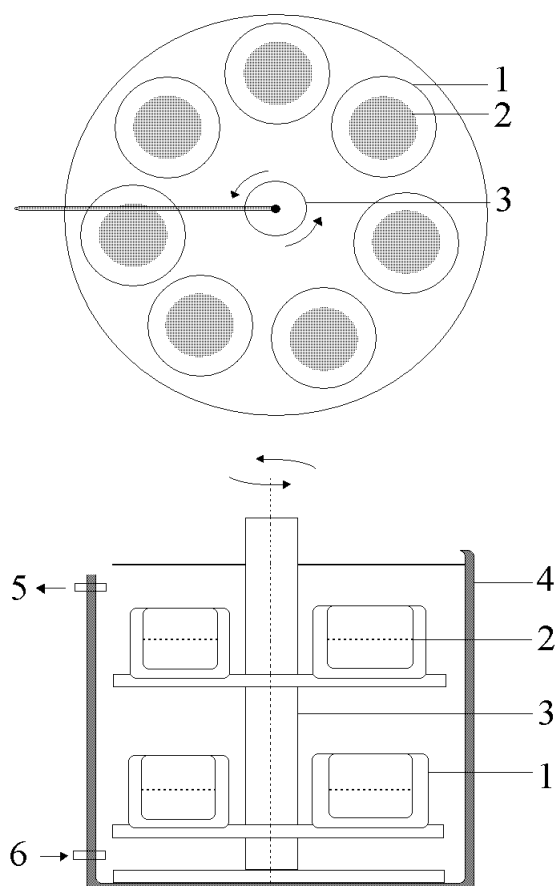


Figure 1: Exposure tank and carousel device of the flow-through system for the calibration of the Chemcatcher. 1 = sampler; 2 = receiving phase; 3 = carousel device; 4 = glass vessel; 5 = out-flow; 6 = in-flow

Treatment of water samples

The conductivity of water samples was increased up to 50 mS/cm with sodium chloride to

prevent dissociation of the compounds. Subsequently, the sample was taken through a preconditioned (10 mL methanol/ethyl acetate 1:1) Chromabond HR-P cartridge (5 mL/min) and dried under vacuum for 30 minutes. The column was eluted with 12 mL acetonitrile/ethyl acetate (1:1) under gravity flow and traces of water were removed with sodium sulfate. The eluate was handled as described above.

Evaluation of analyte recovery and degradation

Analytical recovery of the compounds (Table 1) in solid-phase extraction was investigated using 500 mL HPLC-grade water spiked with 100 ng of each pesticide, which was handled like water samples as described above.

For evaluation of potential degradation of the substances on the receiving phase SDB-XC disks were spiked with a stock solution of 1 µg of all pesticides except hexazinone and atrazine as described above and stored at 4°C for 21 days. Analyte degradation was checked after 14 and 21 days and derived from comparison of the respective recoveries with recoveries in direct extraction.

Instrumental analysis

All samples were measured on an Agilent 6890N (Agilent Technologies Germany, Boeblingen, Germany) gas chromatograph with an HP-5MS column (30 m x 0.25 mm x 0.25 mm) linked to a Pegasus III time-of-flight (TOF) mass spectrometer (Leco, Mönchengladbach, Germany). The samples were transferred with an MPS2-ALEX-autosampler obtained from Gerstel (Mühlheim, Germany) and injected with a CIS-4-injection system (Gerstel) at a temperature of 280°C in splitless mode. The column was kept at a temperature of 95°C for 1.5 minutes, heated by 20°C per minute up to 190°C, then 5°C per minute up to 230°C. The end value of 300°C was achieved by increasing the temperature 25°C per minute and was held constant for 20 minutes.

Statistical data evaluation

Linear regression models with zero intercept were employed for all pesticides, with the accumulated mass of the respective analyte as response variable and exposure time as explanatory variable. R_s values were derived from the slope of the regression lines (see Equation 2), where C_w was corrected for the respective analyte recovery (Vrana et al., 2006a). The uncertainties in the sampling rates R_s were expressed in terms of coefficient

of variation (CV) and computed according to the law of error propagation using the CVs of the uptake slope parameters and the analyte concentrations C_w . The slope of deuterated PRCs was evaluated with nonlinear regression analysis using Equation 4. The exchange rate constant k_e of the uptake curves was estimated using nonlinear regression fit with:

$$m_s = a(1 - e^{(-k_e * t)}) \quad (5)$$

where a is a constant, and all other variables are defined as described above. A paired sample t-test was performed to check for differences between the complete sets of R_s -values for the two current velocities. All statistical analyses and graphs were created with Origin for Windows (version 7.5, Microcal Software).

Results

Degradation of pesticides on the receiving phase

All pesticides except carbofuran and linuron showed no degradation on the receiving phase during storage. Carbofuran recoveries decreased from 78% (CV = 3.3%, n = 4) to 64% (CV = 9.4%, n = 4) after 14 days and to 47% (CV = 11.6%, n = 4) after 21 days. Recovery of linuron was 81% (CV = 12.4%, n = 4) when eluted directly, decreasing to 49% (CV = 15.7%, n = 4) after 14 days and to 27% (CV = 9.1%, n = 4) after 21 days.

Table 2: Recovery in solid phase extraction (SPE) and mean concentration in water

Pesticide	SPE		$v = 0.135 \text{ m/s}^b$		$v = 0.4 \text{ m/s}^b$	
	Recovery (n = 3) %	CV ^a	C_w^c (n = 9) ng/L	CV ^a	C_w^c (n = 8) ng/L	CV ^a
acetochlor	84	15.4	84.6	7.6	91.2	18.7
alachlor	81.2	14.2	55.4	15.8	63.9	17.8
atrazine	84.9	14.6	108.3	8.2	127.6	24
carbofuran	83.8	25.4	147.7	7.1	167.8	22
chlorfenvinphos	116.2	9.5	91.6	12.4	121.2	18.5
α -endosulfan	76.4	8.7	80.9	14.2	101.6	11.6
fenpropidin	79.2	14.3	80.3	16.5	93.5	19.3
hexazinone	120.9	7.6	73.3	20.3	114	24.5
linuron	80.6	10.3	79.3	18.8	135.9	19.3
oxadiazon	93.9	9.1	75.7	20.6	100.4	18.6
pirimicarb	88.7	12.7	88.6	18.7	101.8	21.9
tebuconazole	70	4.2	115.4	23.6	138.6	18.9

^a coefficient of variation ^b flow velocity ^c mean analyte concentration in water

Recoveries and analyte concentrations

Analyte recoveries from spiked water samples ranged for all compounds from 68 to 121% with CVs between 4 and 15% except carbofuran (CV = 25%) (Table 2).

The aqueous analyte concentrations ranged from 55 to 148 ng/L during the calibration with 0.135 m/s and from 64 to 168 ng/L at 0.4 m/s current velocity. CVs ranged from 7 to 24% and from 12 to 25%, respectively (Table 2). At 0.135 m/s hexazinone, oxadiazon and tebuconazole varied most in analyte concentration with CVs above 20%. At the faster current velocity hexazinone, pirimicarb, carbofuran and atrazine exhibited higher variation than the other compounds (CV > 20%).

Uptake kinetics

The linear regression models were significant ($p < 0.05$) for all pesticides in each experiment. Typical results are shown in Figure 2.

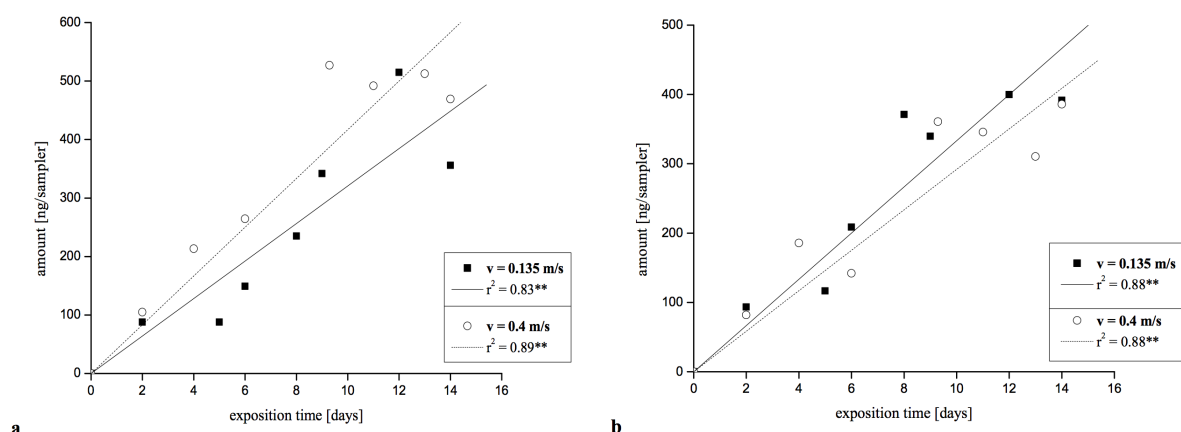


Figure 2: Linear regression lines for the uptake of chlorfenvinphos (2a) and pirimicarb (2b) on the SDB-XC receiving phase. v = flow velocity; ** = $p < 0.01$.

The uptake kinetics of all investigated pesticides remained approximately linear during the exposure time. The sampling rates ranged from 0.1 to 0.5 L/day with slightly higher values under lower flow conditions (Table 3). A paired-sample t-test showed a significant difference between the sampling rates of the two current velocities ($t = -2.2152$, $p = 0.049$; $n = 12$). The CVs at 0.135 m/s were between 10 and 30 % and ranged from 10 to 23% at 0.4 m/s. There was a 3.5-fold increase from the lowest (linuron) to the highest (oxadiazon) sampling rate under slow flow conditions and a 2.5-fold increase at 0.4 m/s for the same compounds. The sampling rate of pirimicarb increased most from fast to slow current velocity, with a factor of 1.3, while chlorfenvinphos changed least with the