

Spurenbestimmung von Insektiziden
in Sedimenten und Böden aus dem Einzugsgebiet des Lake
Abaya/Äthiopien

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

vorgelegt von
Dipl.-Chem. Thorsten Schmeck
aus Siegen

eingereicht beim Fachbereich 8
der Universität Siegen
Siegen 2005

Die vorliegende Arbeit wurde im Fach Analytische Chemie des Fachbereichs Chemie der Universität Siegen in der Zeit von April 2002 bis Januar 2005 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. B. Wenclawiak angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. B. Wenclawiak
2. Gutachter: Prof. Dr. H.-J. Butt
3. Mitglied der Promotionskommision: Prof. Dr. R. H. F. Trettin

Datum der mündlichen Prüfung:

29.07.2005

urn:nbn:de:hbz:467-1106

Zusammenfassung

Zur Spurenanalyse von fünfzehn Insektiziden, im wesentlichen Organochlorpestizide, im $\mu\text{g kg}^{-1}$ -Bereich in Sedimentenbohrkernen und Böden aus dem Einzugsgebiet des Lake Abaya, einem der großen Binnenseen Äthiopiens, wurden Messmethoden, von der Probenvorbereitung bis zur Bestimmung mittels GC-MS, untersucht.

Die Messmethoden wurden mit Hilfe ausführlicher Experimente zu den Wiederfindungen der Analyten validiert. Zur Extraktion wurden Ultraschallextraktion (USE), Soxhletextraktion und Beschleunigte Lösungsmittlextraktion (PSE/ASE) verwendet. Als Lösungsmittel wurden Hexan, Dichlormethan, Hexan/ Aceton (1/1, v/v) und Ethylacetat/ Methyl-*tert*-butylether (1/3, v/v) verglichen. Matrixeffekte bei der Quantifizierung wurden nachgewiesen und ausführlich diskutiert. Zur Analyse der Realproben wurde die Ultraschallextraktion mit Dichlormethan als Lösungsmittel ausgewählt, da sie gute Wiederfindungen und mit Matrixbestandteilen gering belastete Extrakte lieferte. Die Methode konnte mit Hilfe eines zertifizierten Referenzmaterials erfolgreich überprüft werden. Die gemessenen Konzentrationen stimmten sehr gut mit den zertifizierten Konzentrationen überein. Bei der Untersuchung der Proben konnte eine Kontamination des Untersuchungsgebietes mit dem Insektizid DDT und seinen Metaboliten DDD und DDE im Bereich von $1,6 \mu\text{g kg}^{-1}$ bis $3390 \mu\text{g kg}^{-1}$ erfolgreich nachgewiesen werden.

Abstract

Method validation for trace analysis of fifteen insecticides, mainly organochlorine insecticides, in the $\mu\text{g kg}^{-1}$ -range in sediment cores and soils from the Lake Abaya watershed, one of the great lakes in the Ethiopian rift valley, was carried out. Extraction methods studied were ultrasonic extraction (USE), Soxhlet extraction and pressurized solvent extraction (PSE/ASE). Determinations were carried out using GC-MS. Hexane, dichloromethane, hexane/ acetone (1/1, v/v) and ethylacetate/ methyl-*tert*-butylether (1/3, v/v) were used as solvents. Matrix effects were identified in quantification and discussed. Due to good analyte recoveries and a low yield of undesired matrix compounds coextracted from the samples, ultrasonic extraction with dichloromethane as solvent was used for sample analysis. The method was validated using a certified reference material. Values measured were in good agreement with the certified values. A contamination of the Lake Abaya region with the insecticide DDT and its metabolites DDD and DDE was found at concentrations between $1,6 \mu\text{g kg}^{-1}$ and $3390 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	6
2 Aufgabenstellung	7
3 Das Untersuchungsgebiet	8
3.1 Äthiopien	8
3.1.1 Geographie, Wirtschaft und Soziales	8
3.1.2 Malaria in Äthiopien	11
3.2 Der Lake Abaya und seine Umgebung	12
3.3 Umweltbewusstsein im Untersuchungsgebiet	16
4 Analytik mittels Gaschromatographie – Massenspektrometrie	18
4.1 Grundlagen der Chromatographie	18
4.2 Kenngrößen zur Charakterisierung einer chromatographischen Trennung	18
4.3 Kapillargaschromatographie in der Rückstandsanalytik	21
4.4 Massenspektrometrie in der Rückstandsanalytik	24
4.4.1 Elektronenstossionisation	25
4.4.2 Full Scan Modus	26
4.4.3 Selected Ion Monitoring (SIM)	29
5 Das DFG-Projekt	30
6 Probenvorbereitung	32
6.1 Extraktion	33
6.1.1 Ultraschallextraktion	34
6.1.2 Soxhletextraktion	35
6.1.3 Beschleunigte Lösungsmittlextraktion	35
6.2 Clean-Up	36
6.2.1 Festphasenextraktion (SPE)	36
6.2.2 „Chemischer Clean-Up“	37
7 Probennahme	38
7.1 Trocknung, Transport und Konservierung der Proben	40

8 Grundlagen des Messverfahrens	41
8.1 Verwendete gaschromatographische Parameter	42
8.2 Analyten	43
8.3 Chromatographische Trennung der Analyten	44
8.4 Kalibrierung	48
8.5 Optimierung der Inlet Parameter	49
8.5.1 Inlet Liner	50
8.5.2 Inlet Temperatur	51
8.5.3 Druckstossinjektion	52
8.6 Massenspektrometrische Detektion	53
9 Methodenentwicklung	55
9.1 Ultraschall- und Soxhletextraktion	55
9.2 Beschleunigte Lösungsmittlextraktion	67
9.3 Untersuchungen zu Festphasenextraktion (SPE) und Clean-Up	69
10 Untersuchung von Realproben	73
10.1 Identifizierung der Analyten	73
10.2 Messergebnisse von Realproben	75
11 Zusammenfassung	91
11.1 Methodenentwicklung	91
11.2 Untersuchung von Realproben	92
12 Ausblick	93
13 Danksagung	95
14 Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen	96
15 Literaturverzeichnis	98
16 Anhang	107

1 Einleitung

Nach der Entdeckung der insektiziden Eigenschaften des Dichlor-diphenyl-trichlorethan (DDT) durch den Schweizer Paul Müller im Jahr 1939 galten Insektizide als Allheilmittel gegen von Insekten übertragene Krankheiten. So wurde DDT bereits im zweiten Weltkrieg zum Schutz der Soldaten vor Mücken und Läusen eingesetzt, die Typhus und Malaria übertragen.

Für seine Entdeckung erhielt Müller 1948 den Nobelpreis für Medizin [1].

Nach dem Ende des zweiten Weltkriegs wurde DDT dann in sehr großen Mengen produziert und verwendet. In weiten Teilen der Welt wurde mit seiner Hilfe die Malaria beseitigt, so ist sie seit dieser Zeit aus Westeuropa vollständig verschwunden.

Seit den Sechziger Jahren des letzten Jahrhunderts jedoch geraten Insektizide und besonders DDT verstärkt in kritische Diskussionen. Durch die Veröffentlichung des Buches „Silent Spring“ der Ökologin Rachel Carson [2] wurden die Probleme der Anwendung von Insektiziden einer breiten Öffentlichkeit bekannt. Im Falle des DDTs, wie auch vieler anderer „alter“ Insektizide (z. B. Lindan, Aldrin), ist hier vor allem seine erhebliche Persistenz zu nennen. DDT und seine Metaboliten können häufig noch mehrere Jahrzehnte nach Gebrauch in der Umwelt nachgewiesen werden, zumeist adsorbiert an Böden und Sedimente [3].

Im Verlauf des letzten Jahrhunderts wurde daher die Verwendung von DDT und der meisten „alten“ Insektizide in den entwickelten Ländern der Welt verboten. So wurde es in der BRD 1972 verboten [4]. Besonders lange wurde es dagegen in der früheren DDR verwendet, wo es erst im Jahr 1988 verboten wurde [4].

Im Jahre 2004 wurde DDT dann, wie auch elf weitere Insektizide („dirty dozen“), im Rahmen der „Stockholm Convention“ weltweit verboten [5]. Es wurden allerdings Ausnahmen zugelassen, denn wegen seines geringen Preises und seiner Effektivität gilt DDT noch heute als unverzichtbar zur Bekämpfung der die Malaria übertragenden Mücken (z. B. *Anopheles gambiae*) in den ärmsten Ländern der Welt. Auch am Lake Abaya/Äthiopien wird es zu diesem Zweck heute noch verwendet. Der Einsatz von DDT in der Malariabekämpfung ist zwischen Umweltschützern und Befürwortern hoch umstritten. Deshalb gibt es von Zeit zu Zeit auch in der deutschen Presse Artikel zu diesem Thema z. B. 2004 im „Spiegel“ [6].

2 Aufgabenstellung

Diese Arbeit ist Teil eines DFG-Projektes mit dem Titel „Moderne Seespiegelschwankungen des Lake Abaya, Süd-Äthiopien – Die Analyse eines Prozess-Response-Systems im Wirkungsfeld zwischen Human Impact und natürlichen Wasserhaushaltsschwankungen“.

Bestandteil des DFG-Projektes ist der Versuch eine Abschätzung des Alters der Sedimente im Lake Abaya vorzunehmen. Herkömmliche Methoden der Altersbestimmung versagen jedoch bei den Sedimenten des Lake Abaya, oder liefern laut Schütt et al. [7] keine genauen Ergebnisse.

Da sich einige Insektizide, insbesondere die sehr hydrophoben Organochlorpestizide (OCP) sehr stark an Sedimente binden und sie zudem eine sehr hohe Persistenz besitzen, mit Halbwertszeiten in Sedimenten und Böden von bis zu einigen Jahren und Jahrzehnten, sollte mit Hilfe der Analyse der OCPs in Sedimentbohrkernen eine neue und unkonventionelle Art der Altersbestimmung erprobt werden. Die über diese Arbeit hinaus gehenden Ziele des DFG-Projektes werden im Kapitel 5 näher erläutert werden.

Da im Untersuchungsgebiet schon seit langem zur Vernichtung der Malariamücken mit DDT gearbeitet wird und der Gebrauch in größeren Mengen im Untersuchungsgebiet beobachtet worden war (siehe Beschreibung in Kapitel 10.2) und diese Verbindung die oben genannten Bedingungen hoher Persistenz und gleichzeitig starker Affinität zu Sedimenten erfüllt, sollte diese Verbindung in diesem Projekt eine herausragende Rolle spielen. Außerdem sollten zusätzlich einige weitere Insektizide, zusammen mit dem DDT, untersucht werden, bei denen es sich im wesentlichen um weitere „alte“ OCPs wie Lindan, Aldrin oder Chlordan handelt, von denen bereits seit langem bekannt ist, dass sich große Bestände dieser Substanzen in Afrika befinden [8]. Dort lagern sie oft unter völlig indiskutablen Bedingungen oder werden möglicherweise auch noch verwendet, obwohl dies eigentlich längst verboten ist.

Durch die Entnahme von Bodenproben in Kombination mit den Sedimentproben bot sich außerdem die Möglichkeit Information über die Kontamination des Untersuchungsgebiets mit DDT zu bekommen und somit den Einfluss der Malariabekämpfung auf den Eintrag des DDT in die Umwelt im Untersuchungsgebiet zu studieren. Dies ist insofern interessant, da in der aktuellen Debatte um die Bekämpfung der Malaria in der dritten Welt eine weitere Ausweitung der Benutzung von DDT zur Debatte steht.

3 Das Untersuchungsgebiet

3.1 Äthiopien

3.1.1 Geographie, Wirtschaft und Soziales

Äthiopien liegt im Nordosten Afrikas (Abbildung 1) und besitzt Grenzen zu Eritrea, Sudan, Kenia, Somalia und Dschibuti. Mit einer Gesamtfläche von ca. 1,1 Mio. km² besitzt es ca. die dreifache Fläche von Deutschland.



Abbildung 1: Topographische Karte von Äthiopien [9]

In den 70er und 80er Jahren des letzten Jahrhunderts hat sich Äthiopien in der Welt den Ruf eines völlig kargen Wüstenlandes erworben, dass nicht in der Lage ist seine Einwohner zu ernähren. Erheblichen Anteil daran hatten aber nicht nur Dürre und andere natürliche Ursachen, sondern vermutlich auch die Misswirtschaft des Derg Regimes unter Mengistu.

Zwar gibt es sehr warme und karge Landschaften, wie die Danakil Senke im Westen des Landes, die bis zu 125 m unter dem Meeresspiegel liegt (tiefster Punkt der Erde). Besucht man allerdings das Äthiopische Hochland in Westen und Südwesten des Landes so erlebt man die andere Seite des Landes und wird, zumindest wenn man Äthiopien bisher nur aus den Nachrichten kennt, zunächst überrascht sein. Im Gegensatz zu den meisten anderen Regionen Äthiopiens ist das Hochland sehr „grün“ und fruchtbar. Es liegt zum größten Teil zwischen ca. 1200 und 3500 m über dem Meeresspiegel, wobei der höchste Berg Ras Dashen eine Höhe von 4620 m hat.

Tabelle 1 verdeutlicht einige Aspekte der geographischen, wirtschaftlichen und sozialen Lage Äthiopiens im Vergleich zur Bundesrepublik Deutschland.

Tabelle 1: Vergleich ausgewählter geographischer, wirtschaftlicher und sozialer Aspekte der Situation Äthiopiens in Vergleich mit der Bundesrepublik Deutschland [10].

	Äthiopien	Bundesrepublik Deutschland
Fläche (km ²)	1127127	357021
Tiefster Punkt (m)	-125 (<i>Danakil Senke</i>)	-3,54 (<i>Neuendorf bei Wilster</i>)
Höchster Punkt (m)	4620 (<i>Ras Dashen</i>)	2963 (<i>Zugspitze</i>)
Ackerland (%)	10,71	33,85
Bewässertes Land (km ²)	1900	4850
Bevölkerung	68 Mio.	82 Mio.
Altersstruktur (%)		
0 - 14 Jahre	44,7	14,7
15 - 64 Jahre	52,5	67
65 Jahre und älter	2,8	18,3
Durchschnittliches Alter (Jahre)	17,4	41,7
Bevölkerungswachstum (%)	1,89	0,02
Geburtenrate (%)	3,9	0,85
Kindersterblichkeit (%)	10,2	0,42
Lebenserwartung (Jahre)	40,88	78,54
Geburten pro Frau	5,44	1,38
AIDS infizierte Personen	1500000	41000

Tabelle 1 (Fortsetzung): Vergleich ausgewählter geographischer, wirtschaftlicher und sozialer Aspekte der Situation Äthiopiens in Vergleich mit der Bundesrepublik Deutschland [10].

	Äthiopien	Bundesrepublik Deutschland
AIDS - Tote	120000 (2003)	660 (2001)
Infektionskrankheiten	Typhus, Malaria Leishmaniasis, Bilharziose Tollwut	-
Religionen (%)		
<i>Moslems</i>	45 - 50	3,7
<i>Christen</i>	35 - 40	68
<i>andere</i>	18	28,3
Fähigkeit zu Lesen und zu Schreiben (% der Bevölkerung)	42,7	99
Bruttoinlandsprodukt BIP Gesamt (Milliarden Dollar)	46,81	2271
Bruttoinlandsprodukt BIP pro Person (Dollar)	700	27600
Exporte (Millionen Dollar)	537	696900
Importe (Millionen Dollar)	1964	585000
Wachstumsrate (%)	-3,8	-0,1
Anteil Bevölkerung unter der Armutsgrenze (%)	50	-
Inflationsrate (%)	17,8	1,1
Elektrizität/Produktion (kWh)	1,713 Milliarden	544,8 Milliarden
Elektrizität/Verbrauch (kWh)	1,594 Milliarden	506,8 Milliarden
Telefonleitungen	435000	54350000
Fernsehgeräte	682000	51400000
Internet Service Providers	1	ca. 200
Internet Benutzer	75000	39000000
Flughäfen	82	550
Bahnstrecken (km)	681	46039
Strassen (km)	31571	230735

Abhängig von der Höhe in der man sich aufhält sind die Temperaturen im Hochland stark unterschiedlich, und können, z. B. während der langen Regenzeit im Juli und August, zwischen ca. 15 °C und 28 °C liegen.

Äthiopien besitzt, seit der politischen Spaltung von Eritrea in Jahr 1993, keinen eigenen Zugang zur Küste.

Aus Tabelle 1 wird deutlich das Äthiopien zu den am wenigsten entwickelten Ländern der Welt gehört. Im „Human Development Report (HDR)“ des United Nations Development Program (UNDP) von 2004 [11] nimmt Äthiopien Platz 170 von 177 Ländern ein. Deutschland liegt im Übrigen auf Platz 19. Vor allem die geringe Lebenserwartung, die hohe Kindersterblichkeit und die unvorteilhafte Altersstruktur fallen besonders ins Gewicht.

Laut HDR sind zudem der hohe Anteil der Bevölkerung, der unterhalb der Armutsgrenze lebt, sowie die mangelhafte Gleichberechtigung der Frauen starke Indikatoren für die geringe Entwicklung des Landes.

3.1.2 Malaria im Äthiopien

Äthiopien ist, wie große Teile der dritten Welt, von lebensgefährlichen Infektionskrankheiten sehr stark betroffen. Besonders stark ist das Land von der Malaria betroffen. 1995 gab es 556 Malaria-Fälle pro 100000 Menschen [11]. Die Todesrate lag bei 198 Menschen pro 100000 und bei 1006 Toten pro 100000 bei Kleinkindern unter fünf Jahren [11]. Es besteht ein Zusammenhang einerseits zwischen der schlechten wirtschaftlichen Situation des Landes, sowie andererseits der schlechten Bildungssituation und der Notwendigkeit bei der Bekämpfung der Malaria auf Insektizide wie DDT zurückzugreifen, die eigentlich in der ganzen Welt verboten sind [5]. So ist der Preis für DDT zurzeit ca. vier bis fünf Mal geringer als der des kostengünstigsten Alternativprodukts Malathion. Gleichzeitig sind die Preise für Malariamedikamente vergleichsweise hoch. So kostet zum Beispiel das derzeitige Spitzenprodukt Malarone ca. 5 Euro pro Tablette. Das ist für den Grossteil der äthiopischen Bevölkerung, mit einem Einkommen von zumeist deutlich unter einem Euro pro Tag, unerschwinglich.

Außerdem ist laut Yeneneh et al. [12] das Wissen der Bevölkerung über die Krankheit nicht sehr gut. So antworteten im Jahr 1993 nur 4,5 % der in ihrer Studie befragten äthiopischen Frauen auf die Frage wie Malaria übertragen wird, dass dies durch Moskitostiche geschieht. 64,3 % gaben an, dass Malaria durch Körperkontakt mit einer infizierten Person übertragen wird. Ähnliches wurde von Tilahun [13] berichtet, der 1997 die Bewohner der „Kishe Area“ im Südwesten Äthiopiens befragt hat.

In dieser Studie gaben 2 % der Befragten an ein Moskitonetz zu benutzen. 53 % der Befragten gaben an keine Vorsorge gegen Malaria zu treffen. 8 % gaben an das Verbrennen von Kuhmist zur Vorsorge gegen Malaria zu praktizieren, 33 % das Verbrennen von Blättern. Auch meine eigenen (eingeschränkten) Befragungen ergaben, dass im Untersuchungsgebiet auf alternative Vorsorgemethoden, wie z. B. schlafen unter Moskitonetzen oder tragen langärmeliger Kleidung in der Dämmerung, von den meisten Einwohnern verzichtet wird.

3.2 Der Lake Abaya und seine Umgebung

Der Lake Abaya liegt im Süden von Äthiopien und ist einer der großen Seen im äthiopischen Teil des ostafrikanischen Grabenbruchs. Nach dem Tanasee (Nordäthiopien) ist er mit einer Länge von ca. 80 km und einer Breite von 20 – 40 km der zweitgrößte See Äthiopiens. An seiner tiefsten Stelle ist er ca. 26 m tief. Das gesamte Einzugsgebiet des Lake Abaya und seines kleineren Nachbarsees Lake Chamo ist ca. 18100 km² groß. Er ist gelegen auf einer Höhe von ca. 1200 m über dem Meeresspiegel [7]. Westlich und östlich des Sees befinden sich die Flanken des ostafrikanischen Grabenbruchs (bis zu ca. 3500 m über dem Meeresspiegel). Abbildung 2 zeigt eine Karte des Sees und seiner Umgebung. Abbildung 3 und 4 zeigen den Lake Abaya fotografiert aus etwa 2800 m Höhe von der östlichen Flanke des ostafrikanischen Grabenbruchs hinab und aus dem Boot heraus.

Der See wird bevölkert von einer reichen Fauna und Flora, darunter zahlreiche Fischarten, sowie Krokodile und Nilpferde.

Seine Sümpfe bieten gute Bedingungen für die Fortpflanzung der Malariamücken. Daher ist das Untersuchungsgebiet von dieser Krankheit stark betroffen. Abbildung 5 und 6 zeigt ein Überschwemmungsgebiet in der Mündung des Hare Flusses, bei dem es sich um einen Zufluss des Sees handelt.

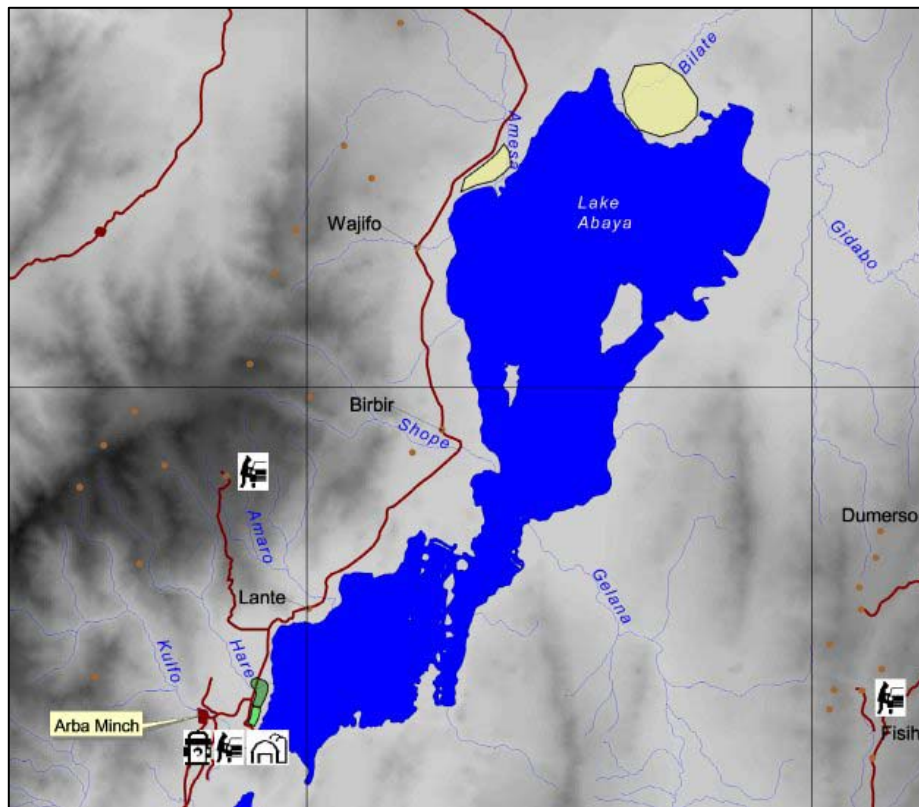


Abbildung 2: Karte des Lake Abaya und seiner Umgebung (Karte: S. Thiemann).



Abbildung 3: Lake Abaya aus einer Höhe von ca. 2800 m von der östlichen Flanke des ostafrikanischen Grabenbruchs hinab.



Abbildung 4: Lake Abaya aus dem Boot fotografiert (Foto: R. Hahl).



Abbildung 5: Überschwemmungsgebiet in der Mündung des Hare Flusses. Vermutlich Brutstätte für Malaria mücken (Foto: R. Hahl).



Abbildung 6: Überschwemmungsgebiet in der Mündung des Hare Flusses. Vermutlich Brutstätte für Malaria mücken.

Am Westufer des Lake Abaya befinden sich zahlreiche kleinere Siedlungen, sowie mehrere größere Farmen auf denen meinen Beobachtungen zufolge hauptsächlich Mais, Bananen, Getreide, Kaffee und Baumwolle angebaut werden.

Im Südwesten des Sees gelegen befindet sich die Stadt Arba Minch, die mit einer Einwohnerzahl von ca. 40000 die größte Siedlung im Untersuchungsgebiet darstellt.

Arba Minch ist das wirtschaftliche Zentrum des äthiopischen Südens. Hier gibt es, neben den Farmen, eine Textilfabrik, Mineralwasserquellen, Geschäfte, Restaurants, Hotels und eine Universität. Die Arba Minch University (Früher: Arba Minch Water Technology Institute/ AWTI) ist seit Jahren eine der Partneruniversitäten der Universität Siegen.

Zudem ist die Gegend um Arba Minch sicherlich das sicherste und zugänglichste Gebiet am Lake Abaya. Abseits von Arba Minch gibt es, Augenzeugenberichten zufolge, eine gewisse Gefahr Raubüberfällen zum Opfer zu fallen.

Das Ostufer des Sees gilt, im Gegensatz zum Westufer, als weitgehend unerschlossen.

3.3 Umweltbewusstsein im Untersuchungsgebiet

Die folgenden Abbildungen 7, 8 und 9 zeigen einige meiner Beobachtungen im Untersuchungsgebiet, die in Deutschland so nicht möglich wären, da sie gegen unsere strenge Umweltgesetzgebung verstoßen würden. Im Untersuchungsgebiet dagegen sind sie nichts Besonderes.



Abbildung 7: Übriggebliebene Teerfässer vom Straßenbau. Auf einer Fläche von ca. zwei Fußballfeldern Größe ist der Boden ca. 15 cm tief mit Teer durchtränkt.

Meinen eigenen Beobachtungen und den Unterhaltungen mit der Bevölkerung zufolge ist ein Umweltbewusstsein in Arba Minch und Umgebung höchstens in dem kleinen Bevölkerungsteil mit einer Ausbildung vorhanden oder bei den Kleinbauern, die mit Entwicklungshelfern direkt zusammenarbeiten. Allerdings richtet sich das Augenmerk dabei vor allem auf den Schutz vor Bodenerosion und das Management von Wasserressourcen. Der Umgang mit „Chemikalien“ spielt nur eine sehr untergeordnete Rolle.



Abbildung 8: Autowaschen im Fluss (Foto: J. Beck)



Abbildung 9: Lagerung von Pestiziden. Fässer sind alt und oft korrodiert. Lagerung erfolgt auf offenem Boden.

4 Analytik mittels Gaschromatographie – Massenspektrometrie

4.1 Grundlagen der Chromatographie

Als Chromatographie bezeichnet man physikalisch-chemische Trennmethode, bei denen die Stofftrennungen auf unterschiedlichen Verteilungen der Substanzen zwischen einer stationären und einer mobilen Phase beruhen, wobei die mobile Phase an der stationären Phase vorbeiströmt. Die Trennung wird dadurch erreicht, dass sich die zu trennenden Substanzen verschieden lang in der stationären Phase aufhalten, und daher nacheinander das Ende der chromatographischen Trennstrecke erreichen. Der eigentliche Stofftransport erfolgt jedoch immer mit der Geschwindigkeit der mobilen Phase. Der Name der Trennmethode wird dabei oft durch den Aggregatzustand der mobilen Phase bestimmt. Bei der Gaschromatographie, die in dieser Arbeit verwendet wird, ist die mobile Phase gasförmig. In der Regel werden Helium, Wasserstoff oder Stickstoff verwendet.

4.2 Kenngrößen zur Charakterisierung einer chromatographischen Trennung:

Die wichtigste Kenngröße zur Kennzeichnung eines chromatographischen Peaks ist die Retentionszeit t_R . Diese setzt sich zusammen aus der Durchflusszeit t_0 und der Nettoretentionszeit t'_R . Die Durchflusszeit ist die Zeit, die eine Substanz zur Durchquerung der Trennstrecke benötigt, die von der stationären Phase nicht zurückgehalten wird. Eine wichtige Größe bei der Charakterisierung einer Trennung ist außerdem die Peakbreite, wobei häufig die Peakbreite in halber Höhe $w_{1/2}$ verwendet wird. Diese Größen werden veranschaulicht in Abbildung 10 (siehe nächste Seite).

Aus der Retentionszeit und der Peakbreite können weitere für die Charakterisierung einer Trennung wichtige Größen berechnet werden. Dazu zählen der Kapazitätsfaktor k , die Trennstufenzahl N , die Trennstufenhöhe H und die Auflösung R . Die Formeln zur Berechnung dieser Größen sind auf der nächsten Seite dargestellt.

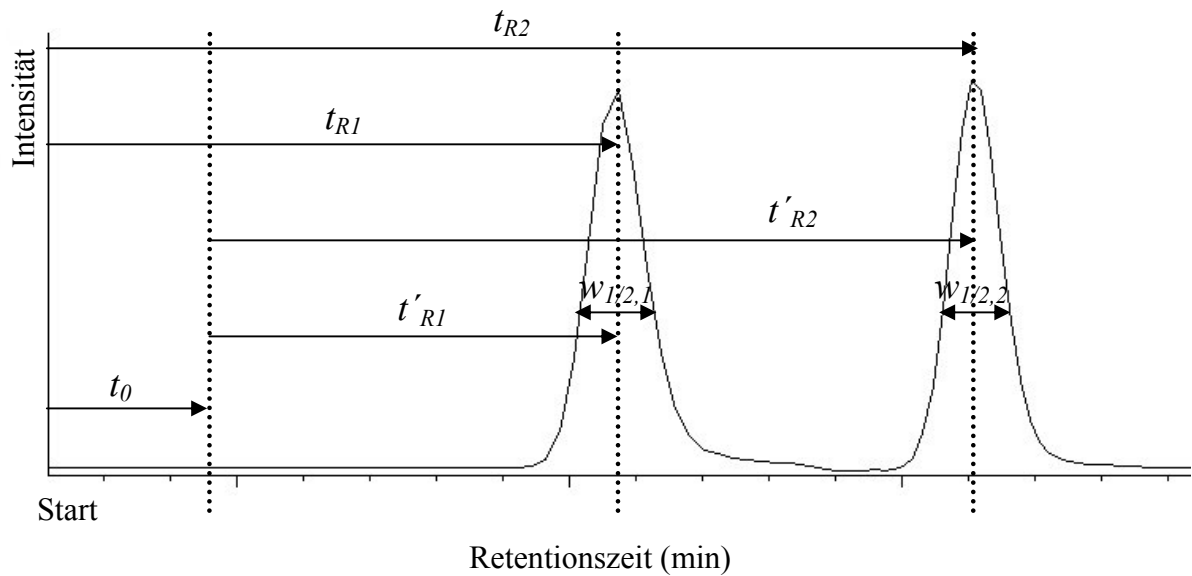


Abbildung 10: Das Chromatogramm und seine Kenngrößen.

Kapazitätsfaktor k :
$$k = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

Der Kapazitätsfaktor beschreibt die Fähigkeit einer Trennsäule eine Substanz zurückzuhalten.

Trennstufenzahl N :
$$N = 5,55 \cdot \left(\frac{t'_R}{w_{1/2}} \right)^2$$

Aus der Trennstufenzahl lässt sich über die Länge der Säule L die Trennstufenhöhe berechnen:

Trennstufenhöhe H :
$$H = \frac{L}{N}$$

Auflösung R :
$$R = 1,198 \cdot \left(\frac{t'_{R2} - t'_{R1}}{w_{1/2,1} + w_{1/2,2}} \right)$$

Bei einer Auflösung von 1,5 sind zwei Substanzen vollständig voneinander getrennt. In der Regel wird eine chromatographische Trennung so optimiert, dass das Peakpaar mit der schlechtesten Trennung ca. eine Auflösung von 1,5 besitzt und auch die anderen Auflösungen möglichst niedrig sind. Aus höheren Auflösungen als 1,5 resultiert lediglich eine Verlängerung der Analysenzeit jedoch kein Informationsgewinn.

Eine weitere sehr wichtige Beziehung zur Beschreibung einer chromatographischen Trennung ist die van Deemter Gleichung. Sie beschreibt den Zusammenhang zwischen der Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase u und der Trennstufenhöhe H .

$$H = A + \frac{B}{u} + C \cdot u$$

Der Zusammenhang ist graphisch dargestellt in Abbildung 11.

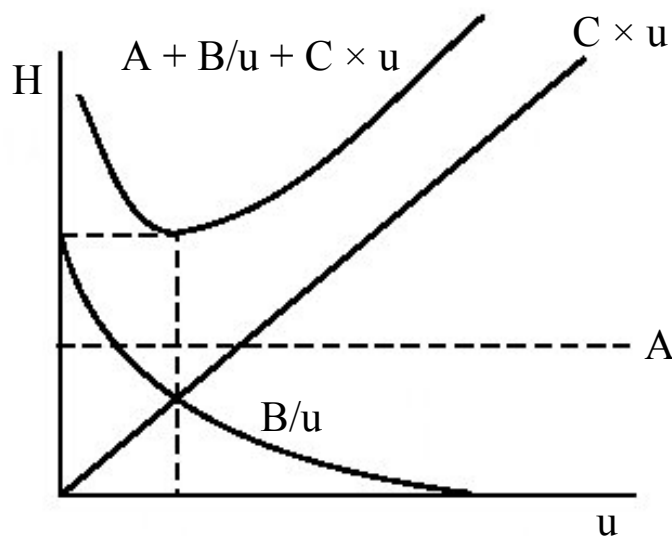


Abbildung 11: van Deemter Plot.

Wie man sieht durchläuft die Bodenhöhe bei einer bestimmten Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase ein Minimum. Bei dieser Fließgeschwindigkeit ist also die Effizienz der Trennung optimal.

Der konstante Term A (Eddy-Diffusion) beschreibt den Einfluss der Säulenpackung auf die Verbreiterung der Probenzone. Er fällt bei Verwendung der Kapillargaschromatographie weg, da die Trennsäulen kein Packungsmaterial enthalten. Der Term B beschreibt den Einfluss der Longitudinaldiffusion auf die Verbreiterung der Probenzone. Bei hohen Fließgeschwindigkeiten wird dieser Term klein, da die Longitudinaldiffusion zeitabhängig ist. Der Term C beschreibt, dass der Stoffaustausch zwischen mobiler und stationärer Phase eine gewisse Zeit benötigt (Massenaustauschterm). Das führt zu steigender Peakverbreiterung mit steigender Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase. Bei kleinen Fließgeschwindigkeiten der mobilen Phase ist dieser Term klein.

4.3 Kapillargaschromatographie in der Rückstandsanalytik

Die Gaschromatographie (GC) ist neben der Hochdruckflüssigchromatographie (HPLC) die am meisten verbreitete Methode in der Rückstandsanalytik von Umweltkontaminanten.

Voraussetzung für die Analyse mittels Gaschromatographie ist, dass sich die Verbindungen unzersetzt oder in definierte Produkte zersetzt bei Temperaturen zwischen ca. 40 und 300 °C verdampfen lassen.

Seit dem Ende der 70er Jahre des letzten Jahrhunderts haben sich die aus Borosilikatglas oder Quarz gefertigten Kapillarsäulen dabei endgültig gegen die zuvor gängigen gepackten Säulen aus Glas oder Metall durchgesetzt [14]. Zwei Faktoren waren dabei von erheblicher Bedeutung, nämlich die Beschichtung der Kapillarsäulen mit Polyamid von außen, wodurch sie biegsam und beinahe unzerbrechlich wurden, und die erheblich höhere chromatographische Auflösung. Gepackte Säulen werden heute nur noch für spezielle Anwendungen verwendet, z. B. für die Analyse von Permanentgasen. Tabelle 2 zeigt die typischen Dimensionen von gepackten und Kapillarsäulen im Vergleich.

Tabelle 2: Typische Dimensionen von Kapillarsäulen und gepackten Säulen im Vergleich.

	Kapillarsäule	gepackte Säule
Länge (m)	10 - 60	1-3
Innendurchmesser (mm)	0,10 – 0,53	0,7 – 4
Flussrate (mL min ⁻¹)	1,0 – 3,0	15 – 75

Ein weiterer wichtiger Aspekt war die Entwicklung neuer Injektionstechniken, denen in der Kapillar – GC eine besondere Bedeutung zukommt. Die korrekte Probenaufgabe ist Voraussetzung für das Gelingen einer chromatographischen Analyse und oft auch deren Achillesferse. Zu nennen sind hier die Split/Splitless – Injektion, die „cold on-column“ – Injektion und die PTV (Programmed Temperature Vaporizer) – Technik.

In der Rückstandsanalytik von Pestiziden und Umweltkontaminaten wird dabei meistens mit Dünnschicht – Kapillarsäulen gearbeitet. Die stationäre Phase ist dabei als Film von ca. 0,10 bis 0,53 µm Dicke auf die Kapillarinnenwand aufgetragen. Kapillarsäulen mit größeren

Filmdicken als 0,53 μm werden zur Analyse besonders leichtflüchtiger Analyten verwendet, z. B. BTX oder LHKW.

Die meisten stationären Phasen, die in der Kapillar – Gaschromatographie verwendet werden, haben ein Polysiloxan – Gerüst, da Polysiloxane eine hohe thermische Stabilität und gute chromatographische Eigenschaften aufweisen.

Die Polarität der Polysiloxane steigt an, je mehr Methylgruppen durch höher polare Phenyl- oder Cyanopropylgruppen ersetzt werden.

Besonders polare stationäre Phasen bestehen dagegen nicht aus Polysiloxan, sondern sind in der Regel aus Polyethylenglykol aufgebaut.

In Tabelle 3 sind einige der wichtigsten in der Rückstandsanalytik verwendeten Trennphasen aufgelistet.

Tabelle 3: Wichtige stationäre Phasen für die Kapillar – GC in der Rückstandsanalytik (Bezeichnungen der Kapillarsäulen sind Handelsnamen der SGE GmbH [15]).

Kapillarsäule	stationäre Phase	Polarität	thermische Stabilität
BPX-1	100 % Polydimethylsiloxan	unpolar	-60 bis 340 °C
BPX-5	Poly(5 % Diphenyl/ 95 % Dimethylsiloxan)	unpolar	-40 bis 360 °C
HT-5	5 % Phenyl Polycarboran- siloxan	unpolar	-20 bis 380 °C
HT-8	8 % Phenyl Polycarboran- siloxan	unpolar	-20 bis 360 °C
BPX-35	Poly(35 % Diphenyl/ 65 % Dimethylsiloxan)	mittelpolar	0 bis 360 °C
BPX-50	Poly(50 % Diphenyl/ 50 % Dimethylsiloxan)	mittelpolar	20 bis 360 °C
BP-10	Poly(14 % Cyanopropylphenyl/ 86 % Dimethylsiloxan)	mittelpolar	-20 bis 280 °C
BPX-70	Poly(70 % Diphenyl/ 30 % Dimethylsiloxan)	polar	50 bis 250 °C
BP-225	Poly(14 % Cyanopropylphenyl/ 86 % Dimethylsiloxan)	polar	40 bis 230 °C
BP-20 (WAX)	Polyethylenglykol	polar	20 bis 260 °C

Die hohe Auflösung moderner Kapillarsäulen in Verbindung mit modernen nachweisstarken und selektiven Detektoren erlauben den Nachweis organischer Kontaminanten im Nano- und Picogrammbereich.

Die gebräuchlichsten Detektoren in der Spurenanalytik von Pestiziden und anderen Umweltkontaminanten sind vor allem der Flammenionisationsdetektor (FID), der Elektroneneinfangdetektor (ECD), der Stickstoff-Phosphor-Detektor (NPD bzw. TID), der Flammenphotometrische Detektor (FPD), der Atomemissionsdetektor (AED) und besonders der massenselektive Detektor (MSD).

Tabelle 4 zeigt typische Anwendungsgebiete der verschiedenen GC – Detektoren.

Tabelle 4: Typische Anwendungsgebiete der für die Rückstandsanalytik wichtigsten GC Detektoren.

Detektor	Selektivität	Empfindlichkeit	Detektiert	Anwendungen
FID	-	-	brennbare Verbindungen	BTX, LHKWs, PAHs...
ECD	+	++	elektrophile Verbindungen	LHKWs, PCBs, OCPs, TNT...
FPD	+	+	Flammenemission	S-, P-Verb., Sn-Organik
TID	+	+	brennbare Verbindungen	N-, P- Verb., Insektizide
AED	+	+	Atomemission (Plasma)	Elementspezies
MSD	++	++	einstellbar	alle GC gängigen Verbindungen

Die Entwicklung der Kapillar – Gaschromatographie ermöglichte eine optimale Kopplung zwischen Gaschromatograph und einem Massenspektrometer, die zuvor mit gepackten Säulen nur mit technischen „Tricks“ realisierbar war, da der hohe Trägergasstrom mit dem Hochvakuum im Massenspektrometer nicht vereinbar war.

Bei den heutigen Gaschromatographie – Massenspektrometrie Geräten wird das Ende der Kapillare bis in die Ionenquelle geführt, somit gelangt das gesamte Säuleneluat in die Ionenquelle des Massenspektrometers. Durch die geringen Flussraten der mobilen Phase in der Kapillar – GC ist es möglich ein ausreichendes Hochvakuum in der Ionenquelle aufrecht zu erhalten.

Da der MSD in dieser Arbeit verwendet wurde, soll auf die Bedeutung, Funktionsweise und die Möglichkeiten des massenselektiven Detektors nachfolgend noch gezielt eingegangen werden.

4.4 Massenspektrometrie in der Rückstandsanalytik

Die Massenspektrometrie ist zurzeit neben der kernmagnetischen Resonanzspektroskopie (NMR), der Infrarotspektroskopie (IR) und der Röntgenstrukturanalyse das wichtigste instrumentelle Verfahren zur chemischen Strukturaufklärung.

Eine noch erheblichere Bedeutung hat sie, gekoppelt mit der Kapillargaschromatographie, im Bereich der organischen Spurenanalytik erlangt.

Im Massenspektrometer werden aus der Probensubstanz gasförmige Ionen erzeugt, die im Anschluss beschleunigt und zu einem Ionenstrahl gebündelt werden. Die Trennung der Ionen erfolgt dann in den meisten Massenspektrometern in einem elektrischen- und/oder magnetischen Feld, in dem sie, abhängig von ihrem Masse/Ladungsverhältnis (m/z), abgelenkt und schließlich mit einem Detektor registriert werden. Als Detektor dient zumeist ein Sekundärelektronenvervielfacher (SEV). Bei dem erhaltenen Massenspektrum wird auf der y-Achse die Häufigkeit der Ionen gegen das Masse/Ladungsverhältnis (m/z) auf der x-Achse aufgetragen. In der Rückstandsanalytik ist das Auftreten mehrfach geladener Ionen eher selten, daher entspricht m/z zumeist der Masse des detektierten Ions [16].

Zur Kopplung der Massenspektrometrie mit der Kapillargaschromatographie werden häufig Quadrupolmassenspektrometer eingesetzt. Diese haben den Vorteil dass sie im Vergleich zu den Sektorfeldgeräten robuster und kostengünstiger sind. Anders als bei den hochauflösenden Sektorfeldgeräten ist bei den Quadrupolgeräten in der Regel aber nur eine Trennung nach nominellen Massen möglich (Einheitsmassenauflösung).

Tabelle 5 zeigt einige wichtige Begriffe und Abkürzungen aus der Massenspektrometrie.

Tabelle 5: Wichtige Begriffe und Abkürzungen aus dem Bereich der Massenspektrometrie [16].

Basispeak	Ion/Ionensignal mit der höchsten Intensität im Massenspektrum
Molekülpeak	Ion/Ionensignal mit der molaren Masse des Moleküls
Isotopencluster	Nebeneinanderliegende Ionenpeaks, die vom gleichen Molekül- oder Fragmention abstammen, aber durch verschiedene Isotopenzusammensetzung verschiedene Massensignale ergeben
Auflösungsvermögen	wird berechnet nach der Formel $m/\Delta m$; ist bei Einheitsmassenauflösung gleich eins
PFTBA	Perfluortributylamin: Kalibriersubstanz für das Massenspektrometer
EI	Elektronenstossionisation (Ionisation durch Beschuss mit e^-)
CI	Chemische Ionisation (Ionisation durch Beschuss mit Ionen)
PCI	Messung positiver Ionen bei der Chemischen Ionisation
NCI	Messung negativer Ionen bei der Chemischen Ionisation
Totalionenstrom/TIC	Die Summe der einzelnen Ionenströme; wird oft im Zusammenhang mit dem Full Scan Modus genannt (TIC – Chromatogramm)
Full Scan Modus	Abtasten eines kompletten Massenbereichs, z. B. bei der Aufnahme von Massenspektren
SIM Modus	Selected Ion Monitoring; Abtastung einiger ausgewählter Ionen

4.4.1 Elektronenstossionisation

Bei der Elektronenstossionisation werden gasförmige Substanzen in einer Ionenquelle mit aus einer Glühkathode emittierten Elektronen beschossen. Die Energie dieser Elektronen beträgt in der Regel 70 eV. Durch die Vereinheitlichung der Elektronenenergie wird die Vergleichbarkeit von EI – Massenspektren aus verschiedenen Laboratorien gewährleistet.

Die Elektronen ionisieren bei ihrem Auftreffen die Moleküle in der Regel nicht nur zu Molekülionen (hierfür sind nur ca 7 – 10 eV nötig), sondern führen auch zu einer ausgiebigen Fragmentierung [16-17].

Die Elektronenenergie von 70 eV ermöglicht zudem eine sehr gute Reproduzierbarkeit der Massenspektren, als auch hohe Ionenausbeuten. Die Ionenausbeute für organische Moleküle durchläuft in der Regel zwischen 50 und 100 eV ein Maximum, wodurch bei 70 eV zudem die Nachweisstärke des Gerätes besonders hoch ist [17].

Die Ionisierung der organischen Moleküle hinterlässt beim Herausschlagen eines Elektrons aus den Orbitalen der Probenmoleküle ein ungepaartes Elektron, woraus ein Radikal-Kation resultiert. Der Elektroneneinfang, der zu einem Radikal-Anion führt, ist unter den in der EI verwendeten Bedingungen (zu hohe Elektronenenergie) sehr viel unwahrscheinlicher und ist praktisch ohne Bedeutung. Daher werden in der EI ausschließlich positive Ionen detektiert.

Die Molekülionen können durch den Verlust eines Radikals oder durch den Verlust eines Moleküls in dem alle Elektronen gepaart sind, weiter zerfallen und führen so zu einem für die jeweilige Substanz charakteristischen Fragmentierungsmuster, das für die Interpretation von EI – Massenspektren von zentraler Bedeutung ist.

Problematisch in der EI – Massenspektrometrie ist häufig, dass die Molekülionen eine relativ geringe Intensität haben können. Dieses Problem kann durch die Verwendung einer alternativen Ionisierungsmethode, der chemischen Ionisation (CI), umgangen werden. Bei dieser werden die Ionen nicht durch „harten“ Beschuss mit Elektronen erzeugt, sondern die Ionenerzeugung erfolgt durch Beschuss der Probenmoleküle mit positiv oder negativ geladenen Molekülionen.

Alternativ können dann die aus den Probenmolekülen erzeugten Ionen im positiven- oder im negativen Modus (PCI/NCI) gemessen werden. Da diese Option bei dem für diese Arbeit verwendeten massenselektiven Detektor (Hewlett-Packard 5972 A MSD) nicht zur Verfügung stand, soll sie an dieser Stelle nicht detailliert beschrieben werden.

4.4.2 Full Scan Modus

Als Full Scan Modus bezeichnet man den Operationsmodus eines GC – MS Gerätes bei dem während des GC – Laufes zyklisch ein vom Anwender festgelegter Massenbereich gescannt wird. In der Regel ist dieser Bereich so groß, dass vom GC – Eluat in ca. jeder Sekunde ein komplettes Massenspektrum aufgenommen wird. Häufig wird z. B. von m/z 50 – 550 gescannt.

Nach jeder Aufnahme eines Massenspektrums werden die Ionenströme der einzelnen Massen mit Hilfe der elektronischen Datenverarbeitung aufsummiert und als TIC – Chromatogramm (siehe Tabelle 5) dargestellt.

Aus dem TIC – Chromatogramm können dann sowohl die jeweiligen Massenspektren (bei einer bestimmten Retentionszeit) extrahiert werden, als auch die Spuren einzelner Ionen als Chromatogramm dargestellt werden („Extracted Ion Chromatograms“). Außerdem ist es möglich hintergrundkorrigierte Massenspektren zu berechnen. So ist es z. B. oft auch möglich Hinweise auf die Identität einer Substanz zu bekommen die chromatographisch nicht vollständig von einer anderen getrennt werden konnte.

Die im Full Scan Modus aufgenommenen EI – Massenspektren können in Massenspektrenbibliotheken abgelegt werden und automatisch mit Referenzspektren verglichen werden. In unserem Labor steht dafür die Spektrenbibliothek Wiley 5 [18] zur Verfügung, die ca. 150000 Massenspektren umfasst, und mit deren Hilfe häufig sehr schnell Hinweise auf die Identität unbekannter Substanzen gefunden werden können. Natürlich muss an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, dass allzu unkritischer Umgang mit den Ergebnissen der automatischen Spektrensuche vermieden werden muss und die Erfahrung des Chemikers in der Interpretation von Massenspektren keinesfalls durch eine Datenbanksuche ersetzt werden kann.

Wichtig für die Vergleichbarkeit der eigenen Massenspektren mit den Bibliotheksspektren ist zudem die regelmäßige Kalibrierung des Massenspektrometers. Beim Hewlett – Packard 5972 A MSD kann die Kalibrierung von der Software automatisch durchgeführt werden. Der Benutzer kann wählen ob das Gerät auf maximale Empfindlichkeit kalibriert werden soll, oder darauf möglichst Standard – Massenspektren zu produzieren. Außerdem kann das Gerät auch manuell kalibriert werden, indem z. B. die an Repeller und Fokusslinsen der Ionenquelle angelegten Potentiale variiert werden. Als Kalibriersubstanz wird dabei in der Regel Perfluortributylamin (PFTBA) verwendet, welches sich in einem kleinen Gefäß im Massenspektrometer befindet und bei Bedarf über ein Ventil in die Ionenquelle gespült wird. Zur Kalibrierung der Massenachse werden die Massen 69, 209 und 502 aus dem Massenspektrum des PFTBA verwendet.

Dadurch dass die Analyten natürlich vor der eigentlichen Messung mittels GC/MS eine komplette Probenvorbereitung durchlaufen inklusive Extraktion, Aufreinigung und Konzentration muss damit gerechnet werden, dass Verunreinigungen nicht immer völlig

vermieden werden können. Zum Beispiel kann man, wenn bei der Soxhletextraktion mit Schliff Fett gearbeitet wird, dieses häufig massenspektrometrisch nachweisen. In dieser Arbeit wurde deshalb mit Dichthülsen aus Teflon gearbeitet. Auch wenn die Probenextrakte mit Kunststoffen in Berührung kommen kann es zu Verunreinigungen z. B. mit Phthalaten (Weichmacher) kommen. Auch diese können häufig in Extrakten nachgewiesen werden und es muss darauf geachtet werden, dass sie die Analyse nicht stören. Tabelle 6 zeigt einige in der GC/MS häufig nachgewiesene Störungen und ihre typischen Massensignale.

Tabelle 6: In der GC-MS häufig nachgewiesene Störungen und ihre typischen Massensignale (Fortsetzung siehe Seite 23) [19]

Ionen (m/z)	Substanz	Mögliche Quelle
18, 28, 32, 44 31, 51, 69, 100 119, 131, 169 181, 214, 219 264, 376, 414 426, 464, 502 576, 614	H ₂ O, N ₂ , O ₂ , CO ₂ PFTBA	Luft, Geräte Tuning
31	Methanol	Geräte Reinigung
43, 58	Aceton	Geräte Reinigung
77	Benzol, Xylol	Geräte Reinigung
91,92	Toluol, Xylol	Geräte Reinigung
105, 106	Xylol	Geräte Reinigung
151,153	Trichlorethane	Geräte Reinigung
69	Drehschieber- pumpen Flüssigkeit	Vakuumsystem
73, 147, 207 221, 281, 295 355, 446	Dimethylpoly- siloxan	Septum, Trennsäule

Tabelle 6 (Fortsetzung): In der GC-MS häufig nachgewiesene Störungen und ihre typischen Massensignale [19]

Ionen (m/z)	Substanz	Mögliche Quelle
149	Weichmacher (Phthalate)	Dichtungen, Probenverunreinigungen
Signale im Abstand von 14	Kohlenwasserstoffe	Fingerabdrücke, Probenverunreinigungen, Lösungsmittel

Um eine optimale Performance des EI-Massenspektrometers zu gewährleisten muss darüber hinaus das Massenspektrometer regelmäßig geöffnet werden, um sich in der Ionenquelle sammelnde braun-schwarze Ablagerungen („Ion-Burn“) von den Metalloberflächen zu entfernen.

4.4.3 Selected Ion Monitoring (SIM)

Beim SIM werden vom Anwender gezielt Ionen aus dem Massenspektrum eines Analyten ausgewählt, die dann vom Massenspektrometer zyklisch abgetastet werden (selten mehr als sechs).

Durch die Detektion nur weniger Massen, im Vergleich zum Full Scan Modus, entfällt wesentlich mehr Messzeit („dwell time“) auf die gewählten Ionen. Dadurch verbessert sich das Signal/Rausch-Verhältnis erheblich und die Nachweisstärke des Gerätes um einen Faktor 100 oder sogar mehr.

Dies hängt natürlich auch von der geschickten Auswahl der Massen ab, die das Gerät messen soll. Diese sollten möglichst eine hohe Intensität haben um eine hohe Empfindlichkeit zu gewährleisten, andererseits aber auch nicht durch Verunreinigungen (wie denen aus Tabelle 6) gestört sein und somit die Hintergrundintensität erhöhen.

Natürlich geht dabei durch die Auswahl weniger Massen, und somit den Verzicht auf die Aufnahme kompletter Massenspektren, ein großer Informationsverlust einher.

Kann eine unbekannte Substanz nur im SIM gemessen werden, so muss in der Regel auf die chromatographische Dimension des GC-MS Gerätes zurückgegriffen werden und die

Identifizierung der Analyten über die Retentionszeit im Vergleich zu Standardsubstanzen durchgeführt werden.

5 Das DFG-Projekt

Diese Arbeit wurde ausgeführt als Bestandteil des DFG – Projektes „Moderne Seespiegelschwankungen des Lake Abaya/Süd-Äthiopien – eine Analyse im Wirkungsfeld zwischen Human Impact und natürlichen Wasserhaushaltsschwankungen“ (DFG WE 1073-17/1).

Das Projekt wird durchgeführt in Kooperation mit Prof. Gerd Förch von der Forschungsstelle Wasserwirtschaft und Umwelt des Fachbereichs Bauingenieurwesen der Universität Siegen und Prof. Brigitta Schütt von der Geowissenschaftlichen Fakultät der Freien Universität Berlin.

Ausgangspunkt war die Beobachtung, dass das Seespiegelniveau des Lake Abaya seit dem Jahr 1987 kontinuierlich ansteigt. Der Seespiegel des Lake Abaya ist seit 1987 um ca. 3-4 m gestiegen [20].

Dies weckte das Interesse der Beteiligten an einem möglichen Zusammenhang zwischen der im Einzugsgebiet herrschenden extrem starken Umweltzerstörung durch Erosion, ausgelöst durch Bevölkerungswachstum und der daraus resultierenden Abholzung von Wäldern und Buschland, und dem Ansteigen des Seespiegels.

Abbildung 12 zeigt eine typische Erosionsform, wie sie in der Gegend oft zu beobachten sind. Um Informationen über die Geschwindigkeit der Erosion in Untersuchungsgebiet zu erhalten und die Frage zu klären, ob die Erosion mit dem Anstieg des Seespiegels zusammenhängt, müssen Informationen über das Alter der Sedimente im Lake Abaya gewonnen werden.

Durch die Vielzahl an Erosionsschäden im Untersuchungsgebiet und die sehr hohe Schwebstoffkonzentration im Lake Abaya, die bereits mit bloßem Auge zu sehen sind (Abbildungen 4), erkennt man, dass die Sedimente im See sehr jung sein müssen.

Durch das geringe Alter der Sedimente ist eine Datierung mit herkömmlichen Datierungsmethoden laut Schütt et al. [7] jedoch nicht sehr zuverlässig.



Abbildung 12: Sehr starke Erosion; Derartige Umweltschäden sind im Einzugsgebiet des Lake Abaya sehr häufig anzutreffen.

Daher wurde der Entschluss gefasst eine Datierung über die an die Sedimente gebundenen Schadstoffe zu versuchen. Zu diesem Zweck sollten von Schütt et al. aus dem Lake Abaya entnommene Sedimentbohrkerne („Short Cores“) untersucht werden (Tiefenprofilierung).

Da die Verwendung von DDT bereits vor Beginn des Projektes im Untersuchungsgebiet beobachtet worden war, fiel die Wahl dabei im wesentlichen auf Organochlorpestizide (OCP). Außerdem sollten die Sedimentproben auf Schwermetalle untersucht werden, was jedoch nicht Bestandteil dieser Arbeit sein soll.

Die Erosion sorgt natürlich nicht nur für einen sehr hohen Sedimenteintrag in den Lake Abaya, sondern birgt auch ein erhebliches Problem für die örtliche Landwirtschaft. An vielen Stellen im Rift Valley ist bereits jetzt nur noch blanker Fels zu sehen.

Schreitet die Erosion mit gleichbleibender Geschwindigkeit fort, so ist zu befürchten, dass vor allem die im wesentlichen von der Landwirtschaft abhängende Bevölkerung in den höher gelegenen Regionen des Rift Valley langfristig ihrer Lebensgrundlage beraubt wird.

Schließlich ist die Voraussetzung für eine erfolgreiche Landwirtschaft das Vorhandensein fruchtbarer Ackerböden.

Letztlich könnte die fortschreitende Erosion die Abhängigkeit der Äthiopier von ausländischer Lebensmittellieferung entweder erhöhen, oder dort wo zur Zeit keine Lebensmittellieferungen notwendig sind, möglicherweise eine Abhängigkeit erzeugen.

Entwicklungshilfeorganisationen, wie die deutsche Gesellschaft für technische Zusammenarbeit (GTZ) [21], sind deshalb vor Ort aktiv um die einheimische Bevölkerung von den Vorteilen einer nachhaltigen Landwirtschaft zu überzeugen.

6 Probenvorbereitung

Die moderne instrumentelle Analytische Chemie ist aus vielen Bereichen der Chemie, Pharmazie, Biologie und Medizin nicht mehr wegzudenken und erfordert immer leistungsfähigere Methoden.

Von besonderer Bedeutung ist im Falle der Umweltanalytik die Probenvorbereitung, die vor der eigentlichen Messung, z. B. mittels Gaschromatographie oder Hochdruck Flüssigchromatographie, durchgeführt werden muss.

Zur Probenvorbereitung können dabei im wesentlichen drei entscheidende Schritte gehören:

- (i) Isolierung der interessanten Komponenten aus der Probenmatrix (Extraktion)
- (ii) Reinigung des Extraktes von Matrixbestandteilen
- (iii) Konzentrieren des Extraktes (abhängig von dem zu untersuchenden Konzentrationsbereich)

Die für eine Analyse notwendige Probenvorbereitung ist zunächst grundsätzlich abhängig von der zu untersuchenden Probenmatrix. Handelt es z. B. um Boden, Wasser oder Luft, so sind in der Regel völlig unterschiedliche Methoden zur Probenvorbereitung notwendig.

Auch im Falle von Proben gleichen Typs, z. B. verschiedenen Bodenproben, kann die Probenvorbereitung weiterhin abhängig sein z. B. vom organischen Kohlenstoffgehalt des Bodens.

Bei der Entwicklung moderner Analysenmethoden ist es wichtig die Anzahl der in der Probenvorbereitung notwendigen Arbeitsschritte möglichst zu begrenzen, da jeder zusätzliche

Arbeitsschritt einen weiteren Beitrag zur Messunsicherheit liefert [22], und außerdem Arbeitsaufwand, sowie Zeit- und Materialaufwand der Analytik erhöht. Deshalb ist die Probenvorbereitung von entscheidender Bedeutung für die Qualität und Wirtschaftlichkeit einer analytischen Bestimmung.

6.1 Extraktion

Extraktion ist die Isolierung der interessanten Komponenten aus der Probenmatrix.

Zur Extraktion können eine ganze Reihe von Prinzipien angewendet werden. Welche hierbei angewendet werden können ist zunächst häufig vom Aggregatzustand der Probe abhängig. Tabelle 7 zeigt eine Auswahl von Extraktionsmethoden und auf welche Art von Proben sie hauptsächlich angewendet werden. Zusätzlich werden einige aktuelle Publikationen zu den Methoden angegeben.

Tabelle 7: Auswahl aktueller Extraktionsmethoden und ihre Anwendungsbeispiele, sowie einige neuere Publikationen zu den Methoden.

Methoden	Matrix	Beispiele	Literatur
Ultraschall-Extraktion (USE)	fest	Sediment, Boden, Abfall, Lebensmittel...	[23-25]
Soxhlet-Extraktion (SOX)	fest	Sediment, Boden, Abfall, Lebensmittel...	[26-28]
Beschleunigte Lösungsmittel-Extraktion (ASE/PSE)	fest	Sediment, Boden, Abfall, Lebensmittel...	[29-31]
Mikrowellen-Extraktion (MWE)	fest	Sediment, Boden, Abfall, Lebensmittel...	[32-34]
Hot Water-Extraktion (HWE)	fest	Sediment, Boden, Abfall, Lebensmittel...	[35-37]
Überkritische-Fluid-Extraktion (SFE)	fest	Entkoffeinierung von Kaffee (technisch)	[38-40]
Flüssig/Flüssig-Extraktion	flüssig	Wasser, Lebensmittel	[41-43]

Tabelle 7 (Fortsetzung): Auswahl aktueller Extraktionsmethoden und ihre Anwendungsbeispiele, sowie einige neuere Publikationen zu den Methoden.

Methode	Matrix	Beispiele	Literatur
Festphasen-Mikro-Extraktion (SPME)	fest, flüssig gasförmig	Wasser, Lebensmittel, Boden, Luft	[44-46]
Stir-Bar-Sorptiv-Extraktion (SBSE)	fest, flüssig, gasförmig	Wasser, Lebensmittel, Boden, Luft	[47-49]
Membran-Extraktion	flüssig	Wasser	[50-52]

Die in dieser Arbeit verwendeten Methoden Ultraschallextraktion, Soxhletextraktion und Beschleunigte Lösungsmittlextraktion sollen nachfolgend erläutert werden.

6.1.1 Ultraschallextraktion (USE)

Bei der Ultraschallextraktion wird der Probe, in einem Ultraschallbad, während der Extraktion, Ultraschallenergie zugeführt. Dies sorgt für eine gute Durchmischung von Lösungsmittel und Probe. Dadurch wird der Extraktionsvorgang beschleunigt und der Zeitaufwand für die Durchführung einer Extraktion ist häufig geringer als z. B. bei der Soxhletextraktion, bei der die Probe völlig in Ruhe bleibt.

Durch die relativ kurze Extraktionszeit ist die Ultraschallextraktion zeitlich flexibler als die Soxhletextraktion.

Nachteil der Ultraschallextraktion ist, im Vergleich zur Soxhletextraktion, dass es sich um ein diskontinuierliches Verfahren handelt, und das Lösungsmittel mehrfach erneuert werden muss. Dadurch erfordert die Ultraschallextraktion ein häufiges Eingreifen durch den Benutzer. Zudem muss das Wasser im Ultraschallbad regelmäßig ausgetauscht werden um eine konstante Extraktionstemperatur zu gewährleisten (Ultraschallenergie heizt das Wasserbad auf).

Die Ultraschallextraktion ist Bestandteil normierter Methoden (z. B. US Environmental Protection Agency EPA Methode 3550 „Ultraschallextraktion von schwer- und halbflüchtigen organischen Substanzen aus Feststoffen“ [53]).

6.1.2 Soxhletextraktion

Die Soxhletextraktion ist eine Extraktionsmethode die in vielen Labors angewendet wird. Sie ist Bestandteil normierter Methoden wie der US EPA (Environmental Protection Agency) Methode 3540 („Soxhletextraktion von schwer- und halbflüchtigen organischen Substanzen aus Feststoffen“) [54]. Die Extraktion wird dabei in der Soxhlet-Apparatur durchgeführt. Das Prinzip ist, dass dem Extraktionsgefäß destillativ immer wieder frisches Lösungsmittel zugeführt wird. Dabei werden Probe und Lösungsmittel während eines Extraktionszyklus nicht bewegt. Die Extraktion wird daher meistens nur durch eine sehr hohe Zahl an Extraktionszyklen erreicht. Etwa 120 Zyklen, die man zumeist für eine vollständige Extraktion benötigt, sind dabei ein guter Richtwert. Durch die hohe Zahl an Zyklen wird natürlich auch die Extraktionszeit immer relativ lang sein. Abhängig von der zu analysierenden Matrix sind bis zu 24 h Extraktionszeit keine Seltenheit.

6.1.3 Beschleunigte Lösungsmittlextraktion

Die Beschleunigte Lösungsmittlextraktion funktioniert nach dem Prinzip des Schnellkochtopfs und der davon bekannten Zeitersparnis. Die Extraktion wird in einer druckfesten Stahlzelle durchgeführt. Dabei gibt es zwei verschiedene Prinzipien den Druck aufzubauen. Einige Geräte verwenden eine HPLC-Pumpe um das Lösungsmittel unter Druck zu setzen (PSE), wohingegen andere einen Stickstoff-Kopfdruck auf die Extraktionszelle aufbauen (ASE). Hohe Drücke verhindern ein Sieden des Lösungsmittels. Normalerweise werden etwa 100 bar und Temperaturen von etwa 100 °C bis 180 °C verwendet. In Gegenwart von geeigneten Lösungsmitteln werden organische Analyten dadurch beschleunigt aus festen Matrices herausgelöst.

Dieses Extraktionsprinzip ist zur Zeit auf dem Weg sich in der gesamten Welt durchzusetzen, da es einige erhebliche Vorteile, sowohl gegenüber seinen klassischen Konkurrenten, als auch gegenüber anderen apparativen Extraktionstechniken besitzt. So ist z. B. die überkritische Fluidextraktion, die mit ganz ähnlichen Geräten durchgeführt wird, technisch sehr viel schwerer zu beherrschen als die ASE/PSE. Auch die Methodenentwicklung ist im Falle der ASE/PSE einfacher, da traditionelle Methoden in der Regel sehr einfach auf die ASE/PSE übertragen werden können. So sind für die Soxhletextraktion einer Probe gut geeignete

Lösungsmittel auch für die ASE/PSE in der Regel gut geeignet. Dies geht natürlich bei der SFE nicht, da als Lösungsmittel ein überkritisches Fluid (meistens CO_2) verwendet wird.

Weitere Vorteile der ASE/PSE sind die kurze Extraktionszeit von ca. 10 bis 20 min, ein relativ geringer Verbrauch an Lösungsmittel, sowie ein hoher Automatisierungsgrad der erhältlichen Geräte.

6.2 Clean Up

6.2.1 Festphasenextraktion (SPE)

Zur Reinigung von Sediment- und Bodenextrakten wird sehr häufig die Festphasenextraktion verwendet. Bei der Festphasenextraktion wird der Extrakt durch Anlegen eines Vakuums durch ein festes Sorbens gesaugt, wobei die im Extrakt befindlichen unerwünschten polaren Matrixbestandteile an dem festen (polaren) Sorbens adsorbiert werden, die Analyten aber mit dem unpolaren Lösungsmittel eluiert werden. So erfolgt eine Trennung zwischen den Matrixbestandteilen und den Analyten. Abbildung 13 veranschaulicht die Reinigung eines Extraktes mit der Festphasenextraktion.

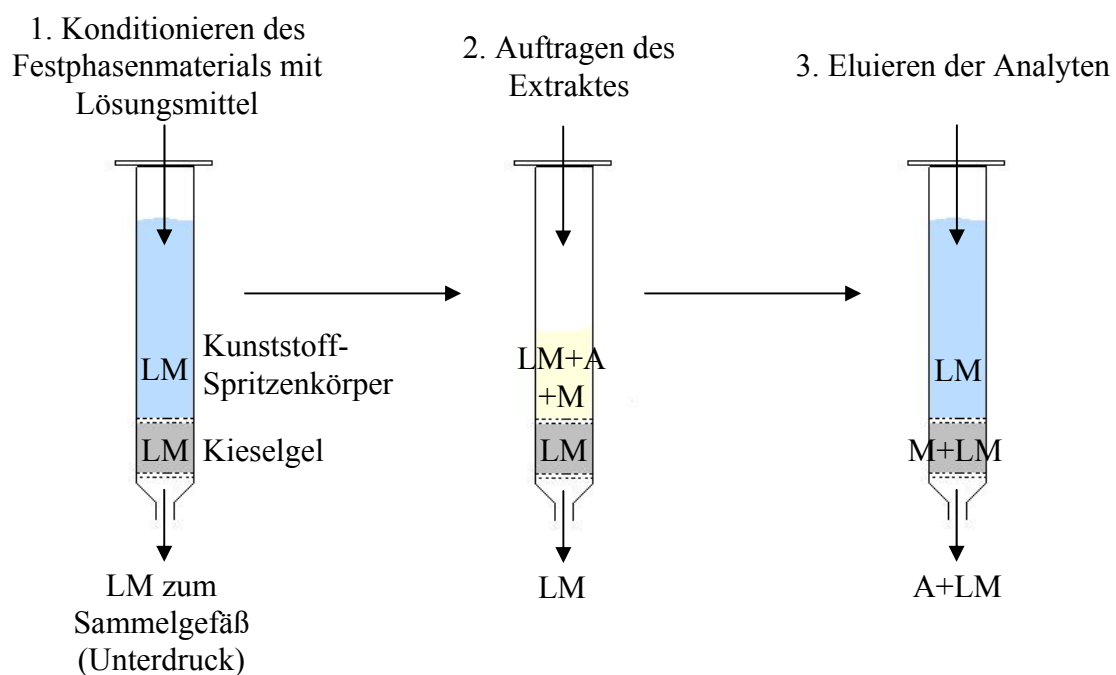


Abbildung 13: Schematische Darstellung der Reinigung eines Extraktes mittels Festphasenextraktion (LM: Lösungsmittel; A: Analyten; M: Matrixbestandteile).

Als Sorbens wird in der Sediment- und Bodenanalytik in den meisten Fällen Kieselgel verwendet. Es wird auch in der DIN ISO 10382 (Analyse von PCBs und OCPs in Boden) [55] und der US EPA Methode 3630 („Silica Gel Cleanup“ für PCBs, OCPs, PAHs, Phenole) [56] zur Verwendung empfohlen. Das verwendete Kieselgel hat dabei in der Regel 40 µm Partikelgröße und eine Porengröße von 60 Å. Oft werden fertig gepackte SPE – Kartuschen gekauft. Normale SPE – Kartuschen enthalten 1 g Kieselgel. Für spezielle Anwendungen sind auch Kartuschen mit kleineren oder größeren Sorbensmengen erhältlich. Zusätzlich gibt es natürlich auch die Möglichkeit Glassäulen selber zu packen. Dies ist aber in der Regel wesentlich schwieriger in der Handhabung und oft auch schlechter reproduzierbar.

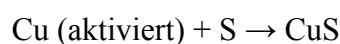
Erwähnen möchte ich an dieser Stelle, dass die Anwendung der Festphasenextraktion natürlich nicht auf die Reinigung von Feststoffextrakten beschränkt ist. Eine mindestens ebensogroße Bedeutung, wenn nicht sogar eine größere, hat sie als Alternative zur Flüssig-/Flüssig-Extraktion mit organischem Lösungsmittel in der Wasseranalytik erlangt.

Im Unterschied zur Reinigung von Feststoffextrakten, die in einem organischen Lösungsmittel vorliegen, wird bei der Extraktion aus Wasser aber zumeist im Reversed-Phase Modus mit unpolaren Packungsmaterialien zur Anreicherung der unpolaren Analyten aus dem polaren Medium Wasser gearbeitet.

6.2.2 „Chemischer Clean Up“

Zusätzlich zur Festphasenextraktion gibt es die Möglichkeit in den Extrakten enthaltene Matrixbestandteile chemisch zu entfernen. Dies wird häufig dann angewendet wenn elementarer Schwefel in den zu untersuchenden Proben vorliegt und die Messung stört.

Die Methoden, die hierzu Anwendung finden, sind hauptsächlich die Reduktion des Schwefels mit elementarem Kupfer (säureaktiviert) zu Kupfersulfid.



Außerdem wird Schwefel in Sediment- oder Bodenextrakten häufig durch Schütteln mit Tetrabutylammonium – sulfid (TBA – Sulfid) reduziert, das aus Tetrabutylammoniumhydrogensulfat und Natriumsulfid immer frisch hergestellt werden muss. Beide Methoden werden z. B. beschrieben in US EPA Methode 3660 („Sulfur Cleanup“) [57].

7 Probennahme

Die Probennahme erfolgte im Fall der Sedimentbohrkerne durch Stefan Thiemann (Universität Siegen, Fachbereich 10, Forschungsstelle Wasserwirtschaft und Umwelt) und Brigitta Schütt (FU-Berlin). Die Proben wurden aus dem Motorboot heraus mit einem Probennehmer (Uwitec Core Sampler, Abbildung 14) genommen.

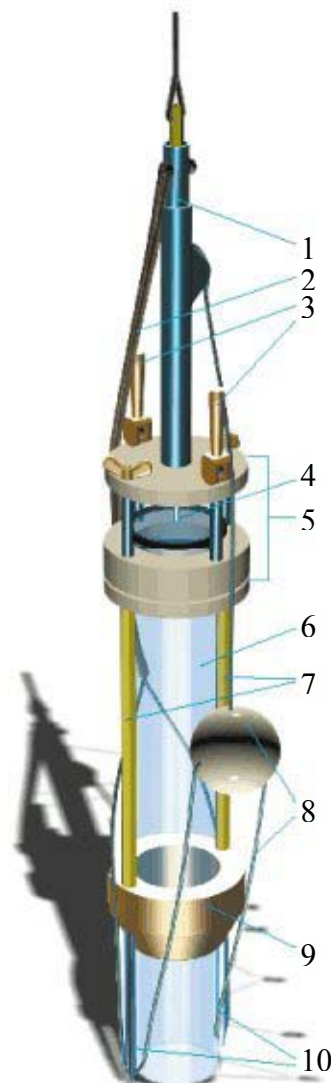


Abbildung 14: Uwitec Core Sampler [58]; Ausrüstung zur Entnahme von Sedimentbohrkernen aus dem Boot heraus (1 Haltegestänge mit Auslöser für den Verschlussmechanismus, 2 Gummiband, 3 Befestigungsgestänge, 4 Plexiglas Absperrklappe, 5 Kopf des Probennehmers, 6 PVC-Rohr, 7 Abstandshalter, 8 Verschlusskugel und Zugseile, 9 Basisgewicht, 10 Führung für Zugseile).

Der Probennehmer wird aus dem Boot heraus frei fallen gelassen und dringt durch die Schwerkraft und die Masse des Basisgewichtes beschleunigt senkrecht in das Sediment ein. Dabei wird das Sediment als Sedimentbohrkern im PVC-Rohr gesammelt.

Wird der Probennehmer am Seil wieder heraufgezogen, so wird das PVC-Rohr durch den Verschlussmechanismus durch die Verschlusskugel von unten verschlossen, damit die Probe nicht wieder herausrutschen kann. Zum Sammeln mehrerer Proben kann das PVC-Rohr ausgetauscht werden, so dass die Proben in den verschiedenen PVC-Rohren zunächst aufbewahrt und dann zur weiteren Bearbeitung ins Labor transportiert werden können.

Bei der Probennahme wurde beobachtet, dass unter den leicht zu durchdringenden Sedimentschichten an der Oberfläche eine sandige, feste Schicht lag. Diese Schicht konnte von dem Probennehmer nicht durchdrungen werden. Daher sind die entnommenen Sedimentbohrkerne unterschiedlich lang. Hier hätte höchstens ein Bohrer helfen können, der vom Boot aus heruntergedrückt werden kann. Ein solches Gerät stand aber nicht zur Verfügung [59].

Die Probennahme der Bodenproben wurde im Juli und August 2003 von dem Autor dieser Arbeit durchgeführt. Dabei wurden die Proben entweder mit einer Spachtel oder mit einem Pürkhauer ca. 10 cm bis 20 cm unter der Oberfläche entnommen. Die Probennahmestellen wurden dabei so ausgewählt, dass sie möglichst gleichmäßig um das beprobte Objekt herum lagen oder möglichst statistisch über das beprobte Gelände verteilt lagen. Dies war jedoch nicht immer exakt möglich, da an einigen Probennahmestellen das Misstrauen der Einheimischen gegenüber dem „Ferengi“ („Weisser“) so groß war, dass mir die Probennahme verboten wurde. Manchmal waren auch sehr lange Diskussionen nötig, oft mit Händen und Füßen mangels einer gemeinsamen Sprache, um die Bewohner zu überreden einige Gramm von Ihrem Boden herzugeben. Das geschah häufig vor einer großen Menge von „Schaulustigen“, die jeden Schritt des merkwürdigen Eindringlings, oft mit lautem Lachen, kommentierten. So geriet die Probennahme manchmal zum „Spießbrutenlauf“.

In den hochgelegenen Regionen stellen zudem geographische Hindernisse, wie Bäche oder sehr dichte Wälder oft ein Hindernis dar, deren Durchquerung sich oft als problematisch erwies. Häufig wurde man zu Umwegen gezwungen. Nach der Probennahme wurden die Proben in Kunststoffbeutel dicht verpackt und im Rucksack zur Weiterbearbeitung zunächst ins Labor der Arba Minch University getragen.

7.1 Trocknung, Transport und Konservierung der Proben

Die Sedimentproben wurden zunächst aus den zum Probennehmer gehörenden PVC-Rohren entfernt und der Länge nach in Abschnitte von jeweils mehreren Zentimetern geteilt.

Anschließend wurden die Teilproben für mehrere Tage luftgetrocknet und danach in Kunststoffbehälter verpackt. Danach wurden sie mit den Geländewagen oder per Flugzeug nach Addis Abeba gebracht und mit dem Flugzeug weiter nach Deutschland transportiert. Hier wurden sie zunächst im Trockenschrank bei 50 °C für einen Tag weiter getrocknet und mit einer Kugelmühle gemahlen. Danach erfolgte die Lagerung im Kühlschrank bei ca. 5 °C.

Die Bodenproben wurden zunächst im Wasserqualitäts-Labor der Arba Minch University im Trockenschrank bei 40 °C getrocknet und anschließend in Kunststoffbeutel gefüllt.

Daraufhin wurden sie mit dem Geländewagen nach Addis Abeba gebracht und per Flugzeug nach Deutschland transportiert. Dort wurden sie zunächst für einen weiteren Tag bei 40 °C im Trockenschrank getrocknet. Anschließend wurden sie in einer Kugelmühle bei mittlerer Drehzahl für 5 min gemahlen.

Die weitere Lagerung erfolgte in einem eigens für diese Proben beschafften Kühlschrank in Institut für Analytische Chemie der Universität Siegen bei ca. 5 °C.

Nur für die Einwaage der Proben vor den Messungen wurden die so präparierten Proben wieder aus dem Kühlschrank entnommen und danach unverzüglich wieder dorthin zurück gebracht.

8 Grundlagen des Messverfahrens

Wie schon in Kapitel 4.1 dargestellt ist die GC-MS aufgrund der hohen chromatographischen Auflösung, die mit der Kapillargaschromatographie erzielt werden kann, verbunden mit der beinahe beliebig einstellbaren Selektivität und der hohen Empfindlichkeit der Massenspektrometrie, die ideale Methode zur Rückstandsanalytik von Insektiziden. In der Regel wird nur dann auf alternative Techniken wie die HPLC zurückgegriffen, wenn die Analyten schwerflüchtig oder sehr polar sind, und somit nicht GC-gängig. Als optimale Methode zur Bestimmung von Insektiziden in Sedimenten und Böden wurden Methoden zur Analyse der ausgewählten Insektizide unter Verwendung von GC-MS in unserem Labor entwickelt und deren Anwendbarkeit überprüft.

Dazu wurden ausführliche Studien zu den Wiederfindungen der Analyten in dotierten Proben durchgeführt.

Außerdem wurde die Anwendbarkeit anhand der Analyse eines zertifizierten Referenzmaterials überprüft, wie es von Eurachem/ CITAC Leitfaden „Zur Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen“ [22] empfohlen wird.

Grundlage des Messverfahrens bildet dabei die Trennung der Analyten auf Kapillartrennsäulen mit Poly(5 % Diphenyl/ 95 % Dimethylsiloxan; BPX-5/SGE (Darmstadt)) und die Quantifizierung mittels der Peakfläche. Dieser Säulentyp wird von der DIN ISO 10382 (Analyse von 17 Organochlorpestiziden und 7 polychlorierten Biphenylen in Boden) [55] und der US EPA Methode 8270 (Analyse von 250 halbflüchtigen Verbindungen mittels GC-MS) [60] zur Verwendung empfohlen.

Die Verbindungen PCNB und PCB 209 (Seite 43) wurden als Surrogatstandards verwendet, also den Realproben vor der Analyse zugesetzt und zusammen mit den Analyten bestimmt.

Die beiden normierten Methoden bildeten die Referenz für neue Methodenentwicklungen dieser Arbeit. Eine Adaption der kompletten Methodik war aber aufgrund der im Vergleich zu beiden normierten Methoden unterschiedlichen Auswahl an Analyten von vorne herein nicht möglich. Auch im Falle der kompletten Übereinstimmung des Analytenrepertoires lassen beide Methoden dem Anwender die Freiheit die Durchführung der Methoden angemessen an seine spezifischen Probenmatrix anzupassen, sofern die Gleichwertigkeit der Methode nachgewiesen wurde.

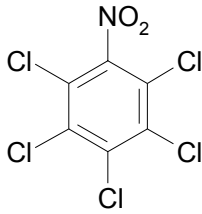
8.1 Verwendete gaschromatographische Parameter

Die verwendeten optimierten gaschromatographischen Parameter sind in Tabelle 8 aufgelistet. Sie beinhalten die verwendeten Geräteeinstellungen genauso wie die verwendete Gerätehardware.

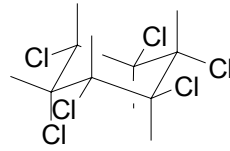
Tabelle 8: In dieser Arbeit verwendete gaschromatographische Parameter und Einstellungen

Gaschromatograph	Hewlett Packard 6890 mit automatischem Probengeber Hewlett Packard 7673
Inletsystem	Split/ Splitless mit automatischer Pneumatikkontrolle (EPC)
Liner	SGE Taper Liner (one sided) ohne Quarzwolle
Inlettemperatur	200 °C
Injektionsmodus	Splitless mit Druckstoss (3 bar)
Vorsäule	Phemomenex Fused-Silica Kapillare, deaktiviert (5 m × 0,25 µm ID, ohne stationäre Phase, Opfersäule)
Trennsäule	SGE BPX-5 (30 m × 250 µm ID × 0,25 µm Filmdicke) SGE BPX-5 (50 m × 220 µm ID × 0,25 µm Filmdicke)
Temperaturprogramm	100 °C; gehalten für 2 min/ 20 °C min ⁻¹ bis 180 °C/ 30 °C min ⁻¹ bis 275 °C/ 275 °C gehalten für 6 min (Gesamtdauer 28,75 min)
Trägergas	Helium 5.0 nachgereinigt mit einem Messer Griesheim Megasorb Gasreinigungssystem auf Helium 7.0 Qualität
Flussrate (Trägergas)	1,5 mL min ⁻¹
Trägergasgeschwindigkeit	36 cm s ⁻¹
Injektionsvolumen	1 µL
Detektor	Hewlett Packard 5972 A MSD (Massenselektiver Detektor)
Interfacetemperatur	280 °C

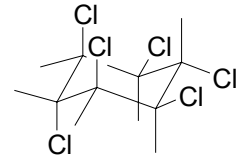
8.2 Analyten



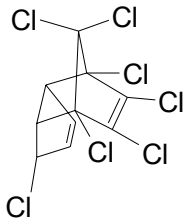
Pentachloronitrobenzol
(PCNB, Surrogatstandard)



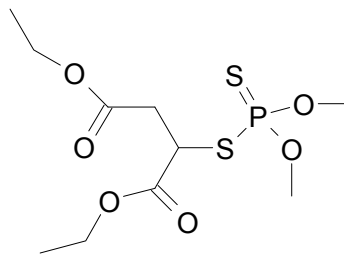
δ -HCH



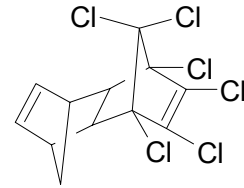
Lindan



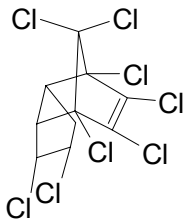
Heptachlor



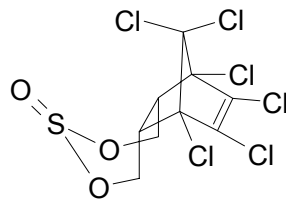
Malathion



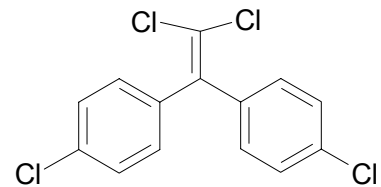
Aldrin



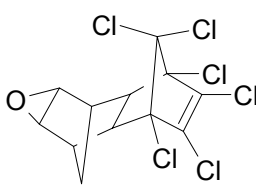
Chlordan
(*cis*- und *trans*-
Isomere)



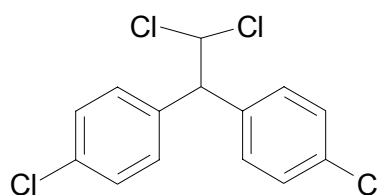
Endosulfan
(α - und β -Isomere)



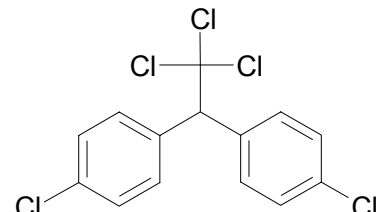
p,p'-DDE



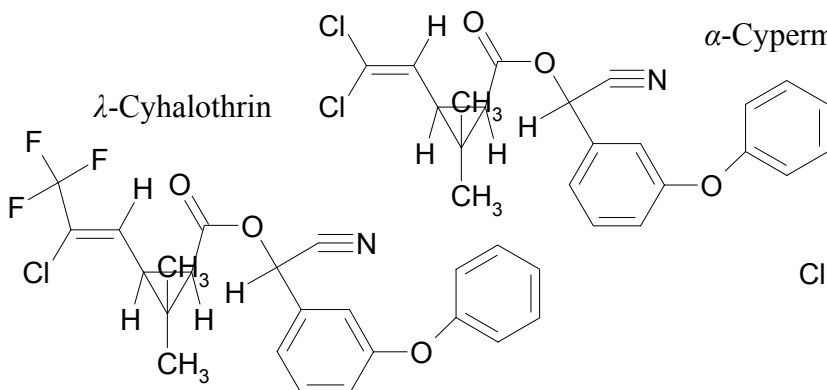
Dieldrin



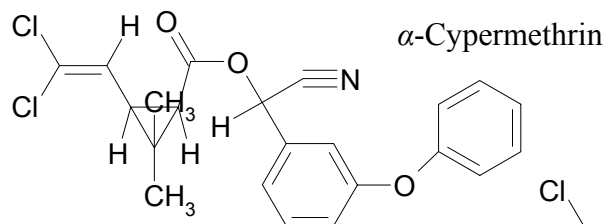
p,p'-DDD



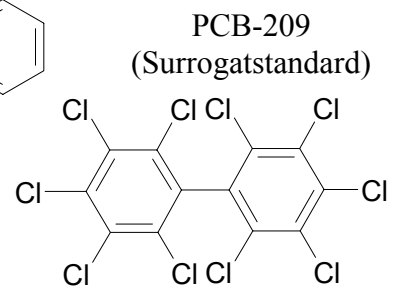
p,p'-DDT



λ -Cyhalothrin



α -Cypermethrin



PCB-209
(Surrogatstandard)

8.3 Chromatographische Trennung der Analyten

Die Abbildungen 15 und 16 zeigen die Trennung der Analyten auf den in dieser Arbeit zur Quantifizierung verwendeten Säulentypen. Abbildung 17 zeigt das Chromatogramm eines Extraktes einer dotierten Realprobe.

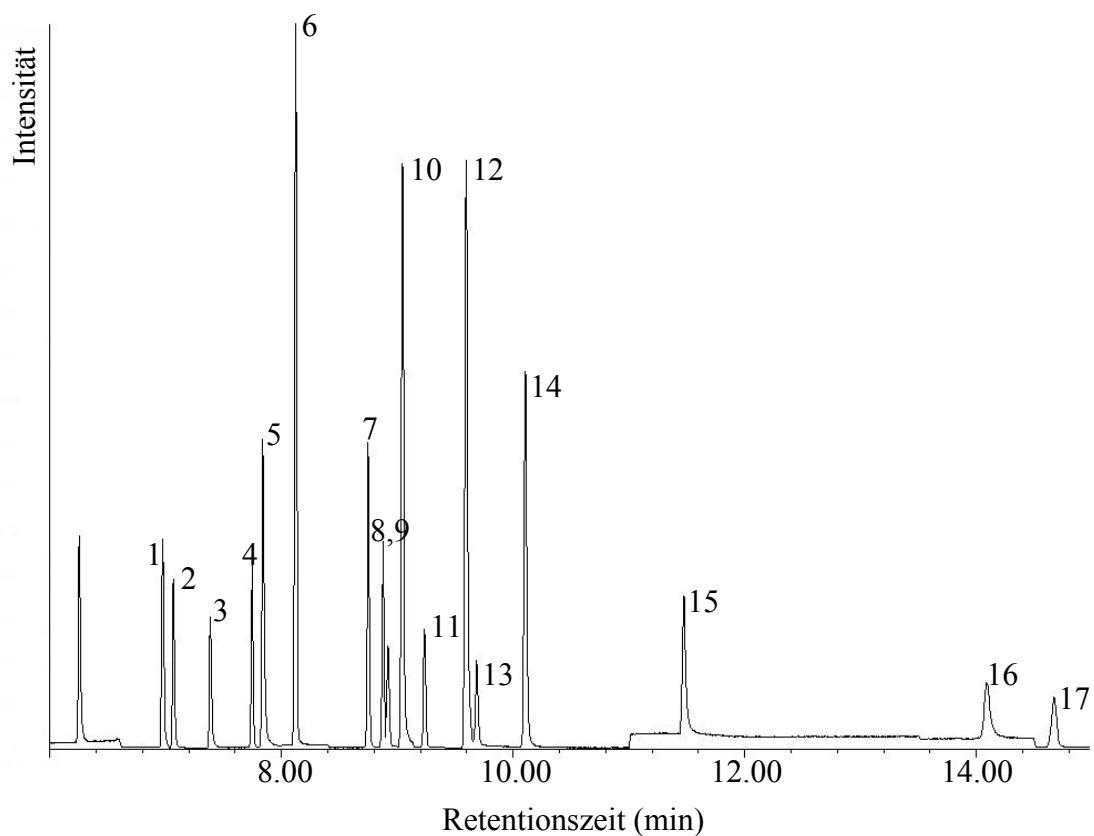


Abbildung 15: SIM-Chromatogramm einer Standardlösung (Injektionsmenge ca. 400 pg, Injektionsvolumen 1 μ L, Injektionsmodus: splitless); Trennsäule: SGE BPX-5 (30 m \times 250 μ m ID \times 0,25 μ m Filmdicke); (Peakidentifikation: 1 PCNB, 2 Lindan, 3 δ -HCH, 4 Heptachlor, 5 Malathion, 6 Aldrin, 7 *cis*-Chlordan, 8 *trans*-Chlordan, 9 α -Endosulfan, 10 *p,p'*-DDE, 11 Dieldrin, 12 *p,p'*-DDD, 13 β -Endosulfan, 14 *p,p'*-DDT, 15 λ -Cyhalothrin, 16 α -Cypermethrin, 17 PCB 209).

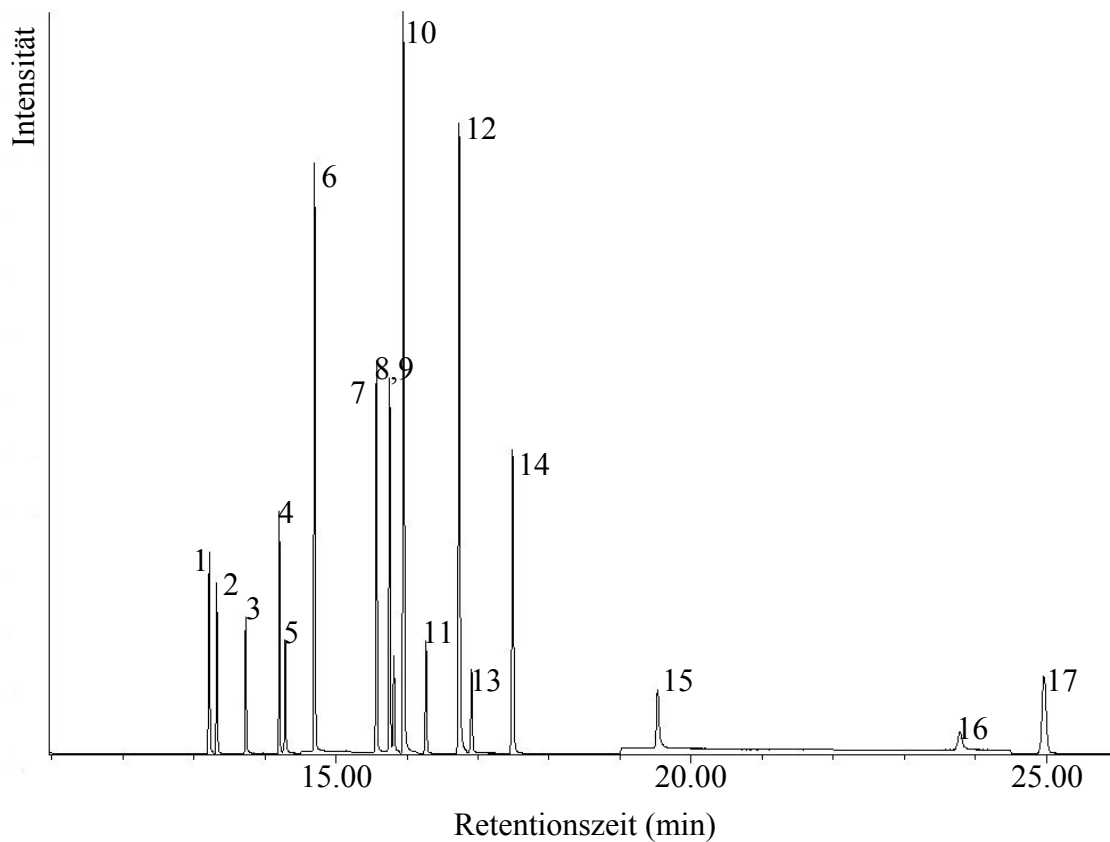


Abbildung 16: SIM-Chromatogramm einer Standardlösung (Injektionsmenge ca. 400 pg, Injektionsvolumen 1 μL , Injektionsmodus: splitless); Trennsäule: SGE BPX-5 (50 m \times 220 μm ID \times 0,25 μm Filmdicke); (Peakidentifikation: 1 PCNB, 2 Lindan, 3 δ -HCH, 4 Heptachlor, 5 Malathion, 6 Aldrin, 7 *cis*-Chlordan, 8 *trans*-Chlordan, 9 α -Endosulfan, 10 *p,p'*-DDE, 11 Dieldrin, 12 *p,p'*-DDD, 13 β -Endosulfan, 14 *p,p'*-DDT, 15 λ -Cyhalothrin, 16 α -Cypermethrin, 17 PCB 209).

Alle siebzehn Analyten werden auf beiden Säulen sehr gut voneinander getrennt. Auch das kritische Peakpaar *trans*-Chlordan und α -Endosulfan (8,9) wird auf beiden Säulen gut getrennt. Auf der 30 m langen Säule liegt annähernd eine Basislinientrennung vor, auf der 50 m langen Säule werden beide Substanzen komplett getrennt.

Die höhere Trennleistung der zweiten Säule beruht dabei auf der größeren Trennstrecke in Kombination mit dem etwas kleineren Säulendurchmesser.

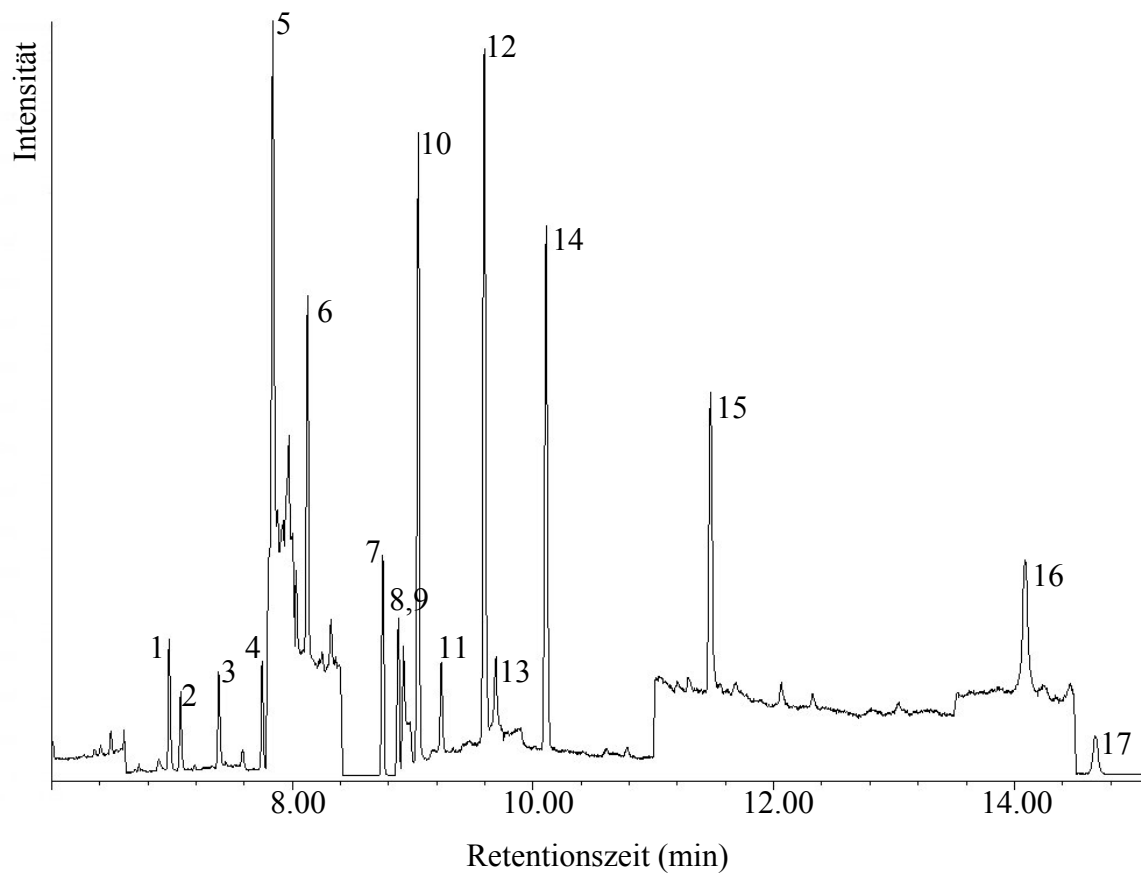


Abbildung 17: SIM-Chromatogramm einer mit ca. 100 ng der Analyten dotierten und mit USE/Dichlormethan extrahierten Realprobe (Injektionsmenge ca. 100 pg, Injektionsvolumen 1 μ L, Injektionsmodus: splitless); Trennsäule: SGE BPX-5 (30 m \times 250 μ m ID \times 0,25 μ m Filmdicke); (Peakidentifikation: 1 PCNB, 2 Lindan, 3 δ -HCH, 4 Heptachlor, 5 Malathion, 6 Aldrin, 7 *cis*-Chlordan, 8 *trans*-Chlordan, 9 α -Endosulfan, 10 *p,p'*-DDE, 11 Dieldrin, 12 *p,p'*-DDD, 13 β -Endosulfan, 14 *p,p'*-DDT, 15 λ -Cyhalothrin, 16 α -Cypermethrin, 17 PCB 209).

Die Tabellen 9 und 10 zeigen einige chromatographische Kenngrößen der Trennung, unter Verwendung der 30 m und der 50 m Säule.

Angegeben sind Retentionszeiten t_R , Kapazitätsfaktor k , Peakbreite in halber Höhe $w_{1/2}$, Trennstufenzahl N , Trennstufenhöhe H und Auflösung R .

Für die meisten Substanzen ist die Trennleistung der 50 m langen Säule sehr viel besser als die der 30 m Säule. Die Auflösung des kritischen Peakpaars beträgt auf der 30 m Säule 1,39 und auf der 50 m Säule 1,71. Das bestätigt die zuvor bereits geschilderte Beobachtung, dass

die Substanzen auf der 30 m Säule annähernd, auf der 50 m Säule vollständig getrennt werden.

Tabelle 9: Chromatographische Kenngrößen der Trennung (30 m Säule).

	t_R (min)	t'_R (min)	k	$w_{1/2}$ (min)	N	H (μm)	R
PCNB	6,974	5,585	4,02	0,022	357679	83,87	2,59
Lindan	7,067	5,678	4,09	0,021	405738	73,94	2,59
δ -HCH	7,385	5,996	4,32	0,023	377190	79,54	8,66
Heptachlor	7,747	6,358	4,58	0,019	621480	48,27	2,50
Malathion	7,839	6,450	4,64	0,025	369430	81,21	2,50
Aldrin	8,122	6,733	4,85	0,020	628999	47,69	7,53
<i>cis</i> -Chlordan	8,749	7,360	5,30	0,021	681726	44,01	3,68
<i>trans</i> -Chlordan	8,878	7,489	5,39	0,021	705833	42,50	1,39
α -Endosulfan	8,922	7,533	5,42	0,017	1089761	27,53	1,39
<i>p,p'</i> -DDE	9,044	7,655	5,51	0,024	564626	53,13	3,56
Dieldrin	9,236	7,847	5,65	0,024	593305	50,56	4,79
<i>p,p'</i> -DDD	9,594	8,205	5,91	0,027	512534	58,53	2,10
β -Endosulfan	9,687	8,298	5,97	0,026	565318	53,07	2,10
<i>p,p'</i> -DDT	10,107	8,718	6,28	0,029	501569	59,81	9,15
λ -Cyhalothrin	11,475	10,086	7,26	0,036	435638	68,86	25,21
α -Cypermethrin	14,089	12,700	9,14	0,065	211872	141,59	5,92
PCB209	14,672	13,283	9,56	0,053	348605	86,06	5,92

Tabelle 10: Chromatographische Kenngrößen der Trennung (50 m Säule).

	t_R (min)	t'_R (min)	k	$w_{1/2}$ (min)	N	H (μm)	R
PCNB	13,214	10,899	4,71	0,021	1494954	33,45	3,23
Lindan	13,322	11,007	4,75	0,019	1862618	26,84	3,23
δ -HCH	13,730	11,415	4,93	0,022	1494168	33,46	11,92
Heptachlor	14,203	11,888	5,14	0,018	2420837	20,65	2,52
Malathion	14,285	11,970	5,17	0,021	1803195	27,73	2,52
Aldrin	14,698	12,383	5,35	0,019	2357423	21,21	12,37
<i>cis</i> -Chlordan	15,569	13,254	5,73	0,022	2014381	24,82	5,21
<i>trans</i> -Chlordan	15,756	13,441	5,81	0,021	2273618	21,99	1,71
α -Endosulfan	15,816	13,501	5,83	0,021	2293962	21,80	1,71
<i>p,p'</i> -DDE	15,952	13,637	5,89	0,025	1651394	30,28	3,54
Dieldrin	16,267	13,952	6,03	0,025	1728566	28,93	7,55
<i>p,p'</i> -DDD	16,734	14,419	6,23	0,028	1471795	33,97	3,77
β -Endosulfan	16,910	14,595	6,30	0,028	1507944	33,16	3,77
<i>p,p'</i> -DDT	17,486	15,171	6,55	0,031	1329224	37,62	11,70
λ -Cyhalothrin	19,526	17,211	7,43	0,049	684720	73,02	30,55
α -Cypermethrin	23,778	21,463	9,27	0,077	431214	115,95	9,97
PCB209	24,976	22,661	9,79	0,067	634894	78,75	9,97

8.4 Kalibrierung

Die Kalibrierung wurde auf mindestens fünf Konzentrationsniveaus zwischen $10 \mu\text{g L}^{-1}$ und 10mg L^{-1} durchgeführt. Der Konzentrationsbereich wurde dabei häufig zwischen $10 \mu\text{g L}^{-1}$ und $400 \mu\text{g L}^{-1}$ gewählt. Dabei sind die Kalibriergeraden der Insektizide zumeist mit Regressionskoeffizienten von 0,99 oder besser linear.

Abbildung 18 zeigt eine Kalibriergerade für p,p'-DDE im oben genannten Kalibrierbereich. Wie man sieht, ist der Response selbst in diesem Kalibrierbereich, also bei einer Injektionsmenge von nur 10 pg bis 400 pg, über fünf Kalibrierpunkte hinweg noch mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,9998 linear.

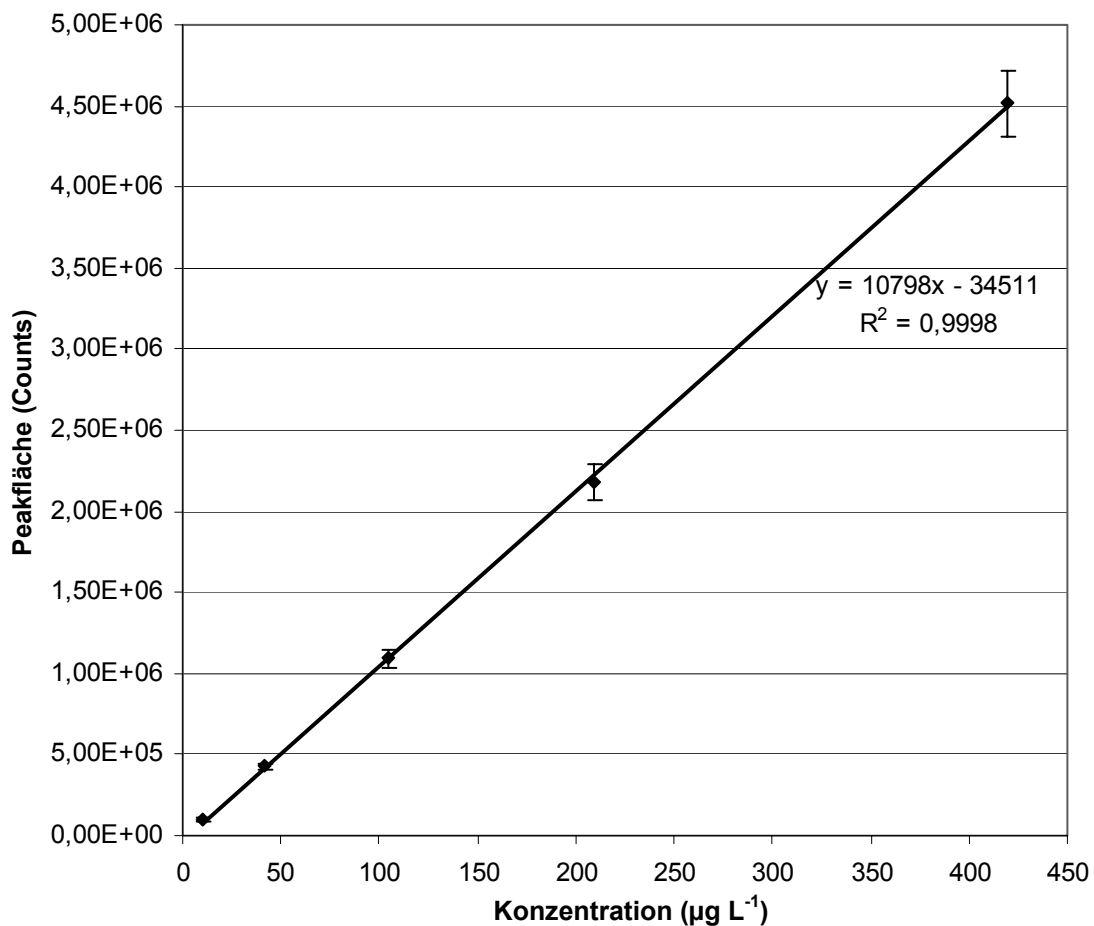


Abbildung 18: Kalibriergerade für p,p'-DDE im unteren Kalibrationsbereich zwischen ca. $10 \mu\text{g L}^{-1}$ und $400 \mu\text{g L}^{-1}$ aufgenommen im SIM-Modus unter Verwendung der Einstellungen aus Tabelle 8.

8.5 Optimierung der Inlet-Parameter

Als Herausforderung bei der Durchführung der Messungen erwies sich, dass das DDT eine der wichtigen Grundvoraussetzungen für die gaschromatographische Analyse nicht erfüllt. Es ist nämlich thermisch labil und somit nicht vollkommen unzersetzt verdampfbar.

Während der Verdampfung im Inletsystem des Gaschromatographen bildet es seine Metaboliten DDD und DDE (siehe Abbildung 19) [61]. Bei der Durchführung dieser Arbeit zersetzte sich das DDT dabei im wesentlichen in DDD und stets nur zu einem sehr geringen Teil in DDE (siehe Chromatogramm Abbildung 19).

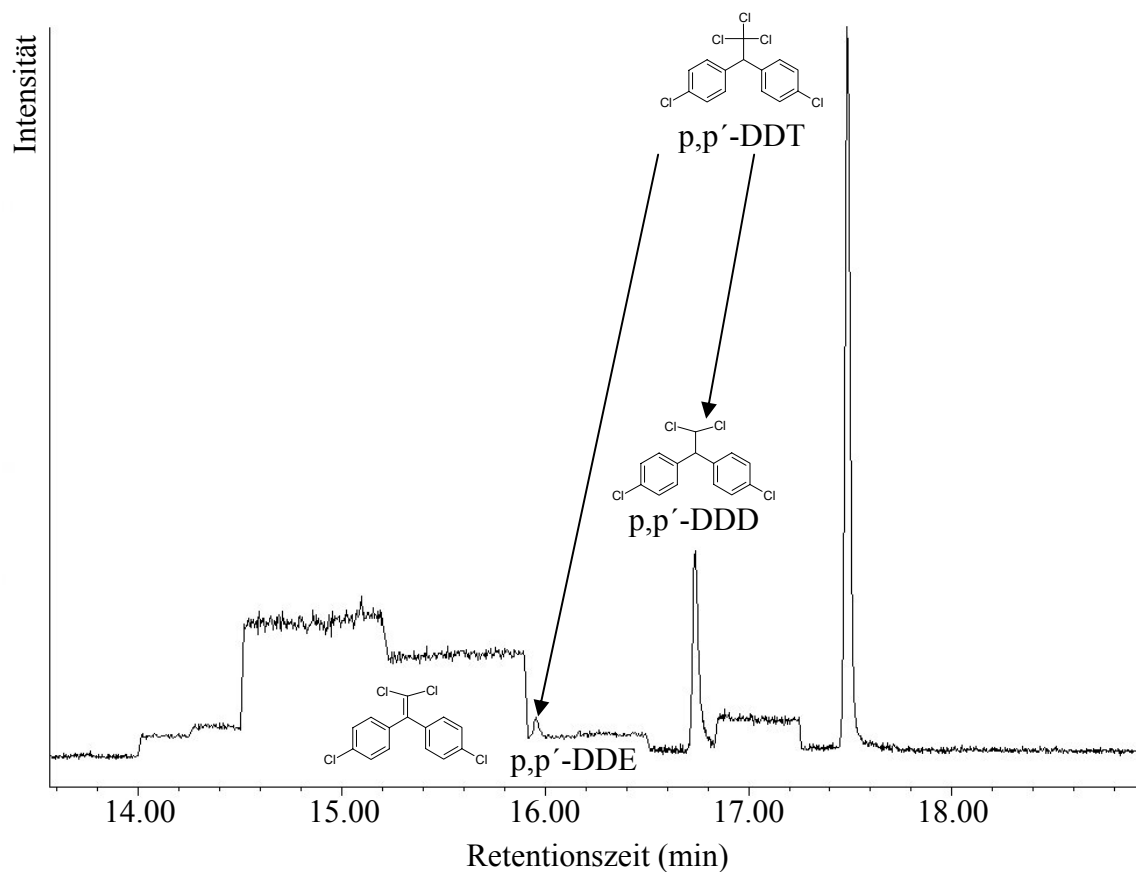


Abbildung 19: SIM-Chromatogramm einer DDT-Lösung (Injektionsmenge ca. 100 pg, Injektionsvolumen 1 μ L, Injektionsmodus: splitless). Durch Zersetzung des DDTs während des Verdampfungsprozesses bilden sich die DDT-Metaboliten DDD und DDE.

Die Zersetzung des DDT konnte jedoch durch Veränderung der Einstellungen des Gaschromatographen für den Verdampfungsprozess, weg von Routineeinstellungen hin zu

speziell für diesen Zweck optimierten Einstellungen, erheblich verringert werden. Dies wird in den folgenden Kapiteln beschrieben.

8.5.1 Inlet Liner

Die Verdampfung der Probenlösung findet im Split/ Splitless-Inletsystem (Abbildung 20) in Glasverdampferrohren (Linern) statt. Dabei handelt es sich um in der Regel ca. 6 cm lange Glasrohre mit einem Außendurchmesser von ca. 0,6 cm und einem Innendurchmesser von ca. 0,4 cm. Die Glasoberflächen der Liner werden dabei silanisiert, um sie möglichst inert zu machen.

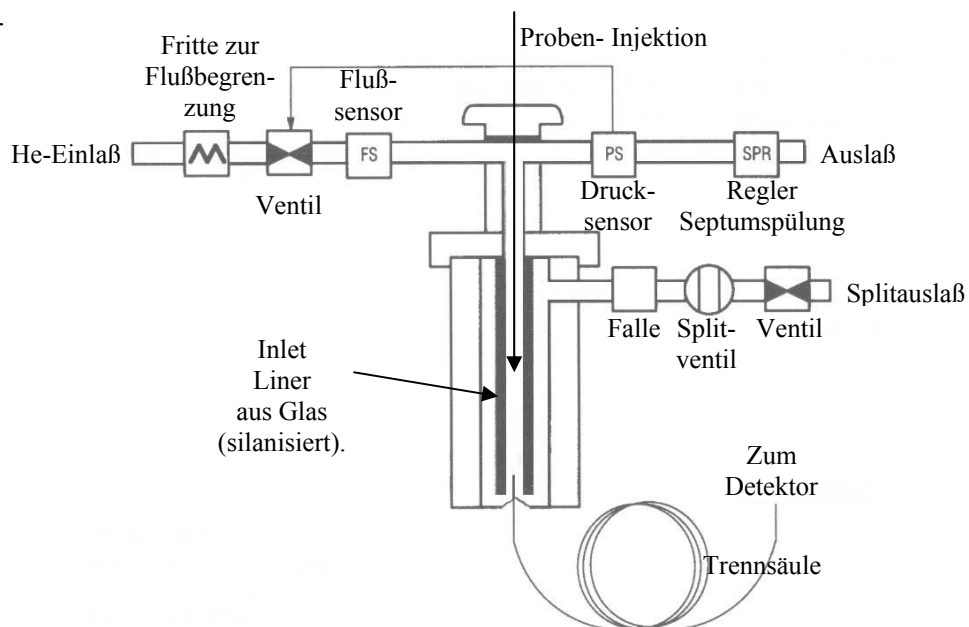


Abbildung 20: Schematische Darstellung eines Split/ Splitless-Inletsystem [19].

Als sehr sinnvoll erwies es sich für die Analyse von DDT keine Standardliner zu verwenden, wie sie für die meisten Anwendungen routinemäßig eingesetzt werden. Diese Liner sind in der Regel im unteren Teil mit Glaswolle gefüllt, um den Transfer von Partikeln, die z. B. aus der Dichtung durch die die Injektionsnadel eingeführt wird (Septum) oder aus der Probenlösung stammen können, in die Säule zu verhindern. Allerdings besitzt die Glaswolle eine große Oberfläche, an der thermisch labile Verbindungen zersetzt werden können. Tatsächlich kann DDT mit diesen Linern nicht analysiert werden, da das DDT häufig aus dem Chromatogramm völlig eliminiert wird. Deshalb wurden in dieser

Arbeit Liner ohne Glaswolle verwendet, die zusätzlich an der Unterseite, bis auf eine kleine Öffnung für die Trennsäule, verschlossen sind (Taper Liner). Das verhindert den Kontakt der Analyten mit Metallteilen des Inletsystems im Bereich des Säuleneingangs.

8.5.2 Inlet Temperatur

Es erwies sich als sehr sinnvoll mit einer relativ niedrigen Inlet Temperatur zu arbeiten. Abbildung 21 zeigt den Zusammenhang zwischen Inlet Temperatur und DDT-Abbau.

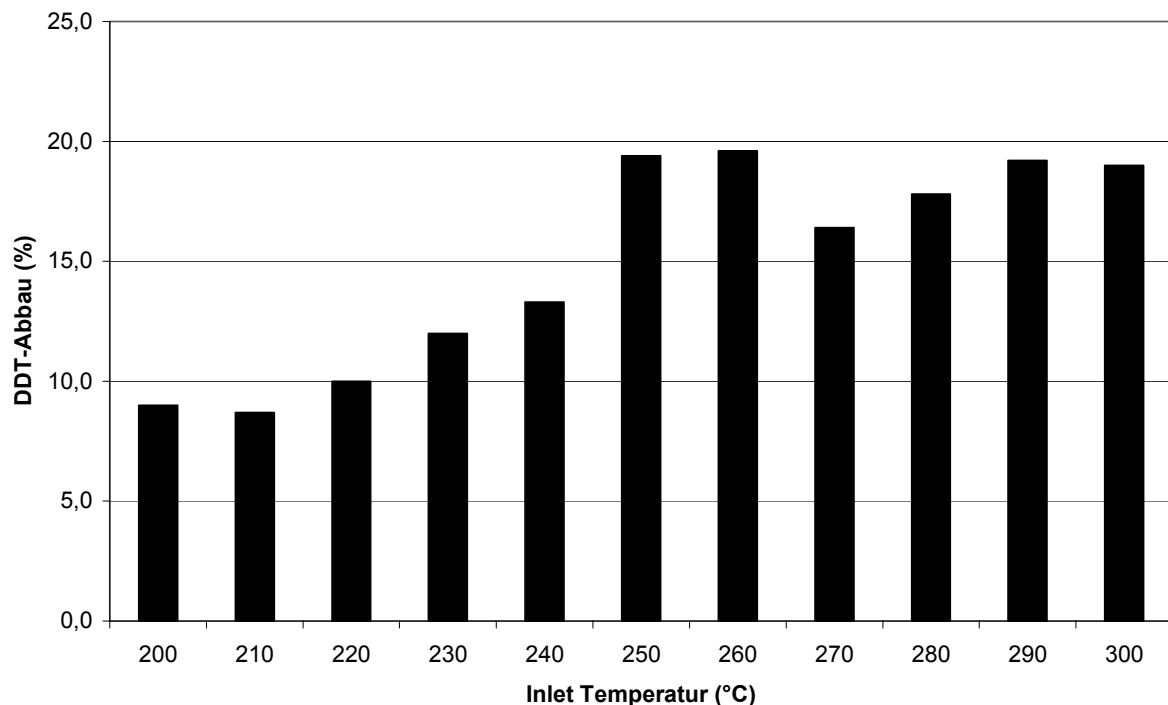


Abbildung 21: Zusammenhang zwischen Inlet Temperatur und DDT-Abbau ($DDT\text{-Abbau} (\%) = \frac{\text{Peakfläche DDT}}{\text{Peakflächen DDT+DDD+DDE}} \times 100$) [61].

Die Inlet Temperatur hat demnach einen erheblichen Einfluss auf die Abbaurrate des DDTs. Als Konsequenz aus diesem Ergebnis wurde in dieser Arbeit eine Inlet Temperatur von 200 °C verwendet. Diese Abhängigkeit ist vermutlich auch die Begründung dafür, dass in DIN ISO 10382 [55] ebenfalls eine relativ niedrige Inlet Temperatur von 210 °C empfohlen wird, obwohl der DDT-Abbau im Inlet dort nicht explizit als Grund genannt wird und auch in der gesamten Norm keine Erwähnung findet.

8.5.3 Druckstossinjektion

Als weiterer zu optimierender Parameter wurde die Verwendung der Druckstossinjektionstechnik untersucht. Bei dieser Injektionstechnik wird vor der Probeninjektion der Druck im Inletsystem des Gaschromatographen erhöht und nach erfolgtem Transfer der Analyten in die Trennsäule wieder auf den normalen Wert abgesenkt. Dadurch wird erreicht, dass die Analyten das Inletsystem schneller verlassen als bei dem normalen Arbeitsdruck. So kommen thermisch labile Analyten, wie das DDT, kürzer mit den aktiven Oberflächen im Inletsystem in Kontakt, an denen sie zersetzt werden. So wird eine Verringerung des DDT-Abbaus während der Injektion erreicht. Abbildung 22 zeigt die Abhängigkeit des DDT-Abbaus von der Stärke des Druckstosses.

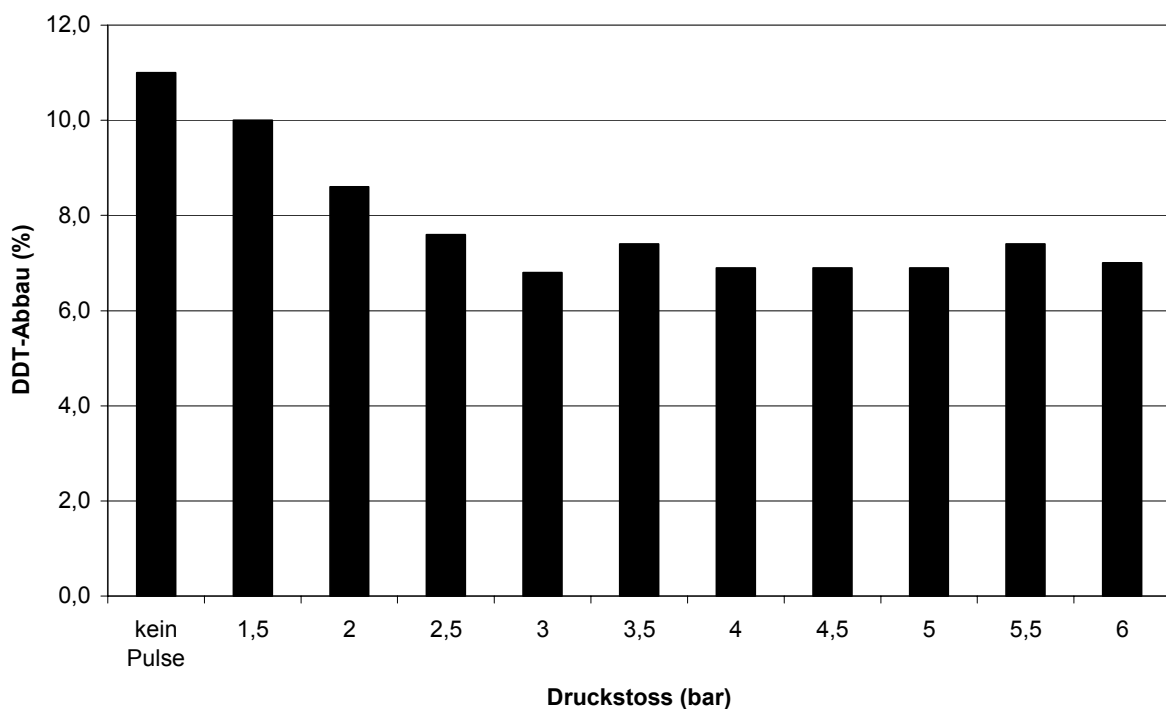


Abbildung 22: Zusammenhang zwischen der Stärke des Druckstosses und dem DDT-Abbau ($DDT\text{-Abbau (\%)} = \frac{\text{Peakfläche DDT}}{(\text{Peakflächen DDT} + \text{DDD} + \text{DDE})} \times 100$) [61].

Als Konsequenz aus diesem Ergebnis wurde in dieser Arbeit mit einem Druckstoss von 3 bar gearbeitet, da höhere Drücke keine weitere Verbesserung versprechen.

8.6 Massenspektrometrische Detektion

Tabelle 11 zeigt die Retentionszeiten der Analyten (30 m Säule), sowie die zur massenspektrometrischen Detektion in SIM-Modus ausgewählten Ionen und die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der Methode.

Tabelle 11: Retentionszeiten, im SIM-Modus detektierte Ionen, Nachweis und Bestimmungsgrenzen ermittelt analog zu [62-63].

	Analyt	Retentionszeit (min)	Ionen zur Detektion (m/z)	LOD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
1	PCNB	6,94	237 249 295	0,03	0,10
2	Lindan	7,03	217 254	0,04	0,12
3	δ -HCH	7,36	217 254	0,02	0,07
4	Heptachlor	7,70	272 274 372	0,03	0,11
5	Malathion	7,81	125 173 285	0,10	0,34
6	Aldrin	8,08	66 263 265	0,03	0,11
7	<i>cis</i> -Chlordan	8,70	373 375 410	0,01	0,03
8	<i>trans</i> -Chlordan	8,83	373 375 410	0,03	0,09
9	α -Endosulfan	8,87	195 237 339	0,07	0,25
10	p,p'-DDE	9,00	246 316 318	0,02	0,07
11	Dieldrin	9,18	263 277 279	0,08	0,26
12	p,p'-DDD	9,55	235 237	0,04	0,13
13	β -Endosulfan	9,63	195 237 339	0,30	1,01
14	p,p'-DDT	10,05	235 237	0,02	0,07
15	λ -Cyhalothrin	11,41	181 197 208	0,19	0,62
16	α -Cypermethrin	13,98	163 181 209	0,25	0,84
17	PCB209	14,53	214 428 498	0,06	0,21

Die Auswahl der Ionen für die GC/MS Bestimmung der Analyten in SIM-Modus wird verdeutlicht in Abbildung 23. Sie zeigt zunächst ein Full Scan Massenspektrum des p,p'-DDE **A** ($M=316$), aufgenommen von m/z 50-550. Darunter sieht man ein aus der Messung einer Realprobe extrahiertes SIM-„Spektrum“ **B**, das nur die zur Bestimmung in SIM-Modus ausgewählten Massen enthält (Tabelle 11). Durch den Verlust an Information beim Betrieb des Gerätes im SIM-Modus, der hier deutlich zu sehen ist, gewinnt man ca. einen Faktor 100 in der Nachweisstärke. Außerdem sieht man die aus dem SIM-Chromatogramm einer Realprobe extrahierten in allen drei Massen ungestörten Ionenspuren **C**.

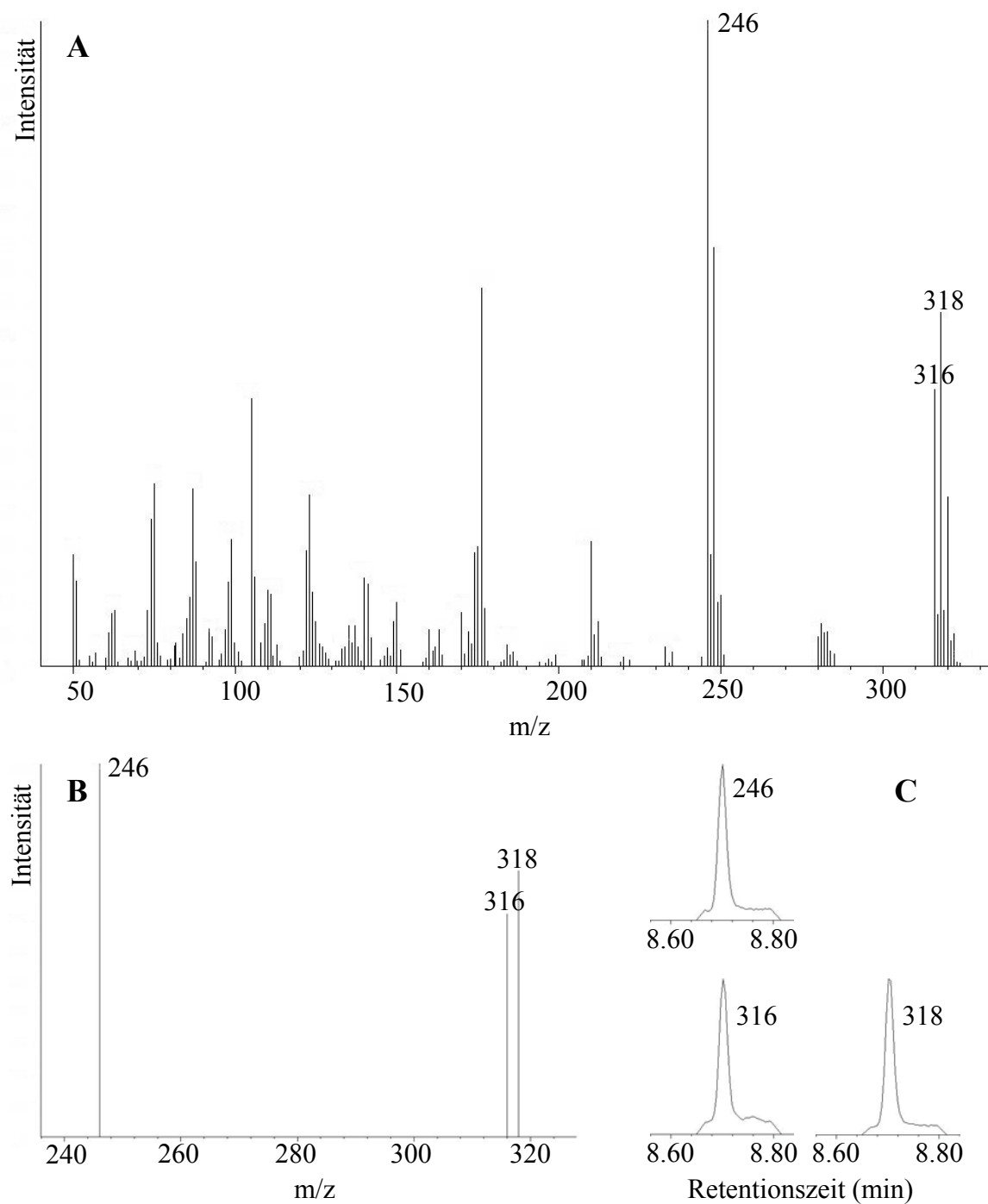


Abbildung 23: Full Scan Massenspektrum von p,p'-DDE (A) (für Messungen im SIM-Modus ausgewählte Ionen 246, 316, 318), SIM-„Spektrum“ von p,p'-DDE einer Realprobe (B), zugehörige Ionenspuren extrahiert aus dem SIM-Chromatogramm einer Realprobe (C)

9 Methodenentwicklung

9.1 Ultraschall- und Soxhletextraktion

Zur Überprüfung des Messverfahrens wurden ausführliche Studien zu den Wiederfindungen der Analyten bei der Messung dotierter Realproben durchgeführt. Diese Untersuchungen wurden im wesentlichen mit der Ultraschall- und der Soxhletextraktion durchgeführt. Einige Vorversuche konnten auch bereits mit der Beschleunigten Lösungsmittlextraktion durchgeführt werden. Sie werden in Kapitel 9.2 beschrieben.

Dabei wurden vier verschiedene Lösungsmittel(gemische) verwendet: Hexan, Dichlormethan, Ethylacetat/ Methyl-*tert*-butylether (1/3, v/v) und Hexan/ Aceton (1/1, v/v). Die Ergebnisse dieser Experimente zeigt Abbildung 25 (Seite 65).

Durchführung der Ultraschallextraktion zur Ermittlung der Wiederfindungen:

5 g Realprobe aus dem Lake Abaya wurden in 100 ml Erlenmeyerkolben gegeben und mit 1 mL Analytlösung dotiert. Die Konzentration dieser Lösung war $100 \mu\text{g L}^{-1}$. Die so dotierten Proben wurden mit einem Spatel homogenisiert. Danach wurde gewartet bis das zum Dotieren verwendete Lösungsmittel verdampft war.

Anschließend wurde die Probe jeweils dreimal für 10 min mit 30 mL eines der vier oben genannten Lösungsmittel extrahiert. Dazu wurden die Erlenmeyerkolben im Ultraschallbad befestigt. Es wurde ein Ultraschallbad Sonorex Super 10 P mit $2 \times 450 \text{ W}$ Leistung von Bandelin (Berlin, Deutschland) verwendet. Die Badtemperatur betrug $35 \text{ }^\circ\text{C}$. Sie wurde kontinuierlich kontrolliert und im Fall einer Erwärmung des Wasserbades durch die Ultraschallenergie wurde etwas Wasser abgelassen und durch kaltes Wasser ersetzt.

Der Extrakt wurde durch 595 $\frac{1}{2}$ Faltenfilter (Schleicher und Schuell, Dassel, Deutschland) filtriert. Dann wurde die Lösung auf 1 mL eingengt. Dazu wurde ein Zymark (Rüsselsheim, Deutschland) Turbovap II Lösungsmittelabdampfgerät verwendet. Dieses wurde mit einer Wasserbadtemperatur von $35 \text{ }^\circ\text{C}$ und einem Stickstoffdruck von 14 psi betrieben.

Durchführung der Soxhletextraktion zur Ermittlung der Wiederfindungen:

5 g Realprobe aus dem Lake Abaya wurden in 100 mL Erlenmeyerkolben gegeben und mit 1 mL Analytlösung dotiert. Die Konzentration dieser Lösung war $100 \mu\text{g L}^{-1}$. Die so dotierten Proben wurden mit einem Spatel homogenisiert. Danach wurde gewartet bis das zum Dotieren verwendete Lösungsmittel verdampft war.

Anschließend wurde die Probe mit 60 mL eines der vier oben genannten Lösungsmittel in einer 30 mL Soxhletapparatur extrahiert. Die Extraktionszeit betrug 10 h, was ca. 120 Extraktionszyklen entspricht. Die Beheizung der Soxhletapparaturen (je sechs parallel) erfolgte mit einer Heizbank der Firma Gerhardt (Königswinter, Deutschland) mit sechs voneinander unabhängig regelbaren Heizpositionen.

Der Extrakt wurde durch 595 $\frac{1}{2}$ Faltenfilter (Schleicher und Schuell, Dassel, Deutschland) filtriert. Dann wurde die Lösung auf 1 mL eingengt. Dazu wurde ein Zymark (Rüsselsheim, Deutschland) Turbovap II Lösungsmittelabdampfgerät verwendet. Dieses wurde mit einer Wasserbadtemperatur von $35 \text{ }^\circ\text{C}$ und einem Stickstoffdruck von 14 psi betrieben.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigten, dass bei der Extraktion mit Hexan und Dichlormethan, sowohl bei der Ultraschall- als auch bei der Soxhletextraktion, die meisten Substanzen sehr gut wiedergefunden wurden (siehe Abbildung 25, Seite 65). So wurden mit Dichlormethan für Ultraschallextraktion fünfzehn und mit der Soxhletextraktion vierzehn von siebzehn Substanzen im optimalen Bereich zwischen 70 und 110 % Wiederfindung gemessen. Auch für die Extraktionen mit Hexan werden die meisten Substanzen sehr gut wiedergefunden. Allerdings mit der Einschränkung, dass mit Hexan als Lösungsmittel, sowohl mit Ultraschall- als auch mit Soxhletextraktion, die Analyten Malathion, β -Endosulfan, λ -Cyhalothrin und α -Cypermethrin gar nicht oder nur schlecht extrahiert werden können. Das liegt vermutlich daran, dass die Lösungskraft des unpolaren Lösungsmittels Hexan für diese vergleichsweise polaren Substanzen zu gering ist. Herauszuheben ist, dass die Wiederfindungen des Analyten, dessen Verwendung in der Malariabekämpfung vor Ort beobachtet wurde, und seiner Metaboliten, nämlich p,p'-DDT, p,p'-DDD und p,p'-DDE, mit Ultraschallextraktion/ Dichlormethan besonders gut sind. Sie betragen 106, 104 bzw. 90 %. Für die Soxhletextraktion betragen sie dagegen nur 83, 83 und 74 %.

Die Differenz ist vermutlich auf die fehlende Bewegung der Probe im Lösungsmittel bei der Soxhletextraktion zurückzuführen.

Im Falle der beiden oxygenierten Lösungsmittel(gemische) Ethylacetat/ Methyl-*tert*-butylether (1/3, v/v) und Hexan/ Aceton (1/1, v/v) dagegen stellte sich heraus, dass die Wiederfindungen oft nicht nur höher waren als mit den beiden anderen Lösungsmitteln, sondern oft auch viel zu hoch und weit über 100 %.

Wie man in Abbildung 25 (Seite 65) sofort erkennen kann tritt dieses Problem besonders stark beim p,p'-DDT auf. So beträgt die Wiederfindung von p,p'-DDT für Ultraschallextraktion mit Hexan/ Aceton (1/1, v/v) 534 % und mit Ethylacetat/ Methyl-*tert*-butylether (1/3, v/v) 408 %.

Auch für andere Substanzen wurden in vielen Fällen Wiederfindungen von über 110 % gemessen.

Gleichzeitig fiel auf, dass die Extrakte der oxygenierten Lösungsmittel dunkel gelb bis grün gefärbt waren, während die Hexan-Extrakte völlig farblos und die Dichlormethan-Extrakte nur leicht gelblich waren. Dies ist auch zu erkennen in den UV-VIS Spektren der Extrakte. Diese sind dargestellt in Abbildung 24.

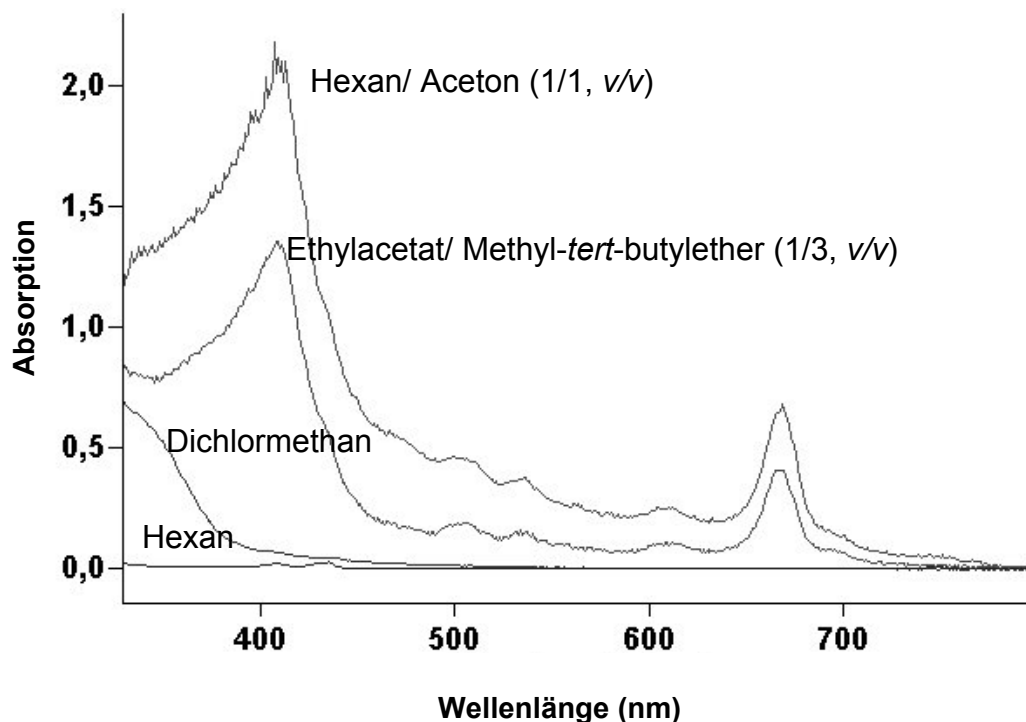


Abbildung 24: UV-VIS Spektren der Lösungsmittel-Extrakte hergestellt mit Hexan, Dichlormethan, Ethylacetat/ Methyl-*tert*-butylether (1/3, v/v) und Hexan/ Aceton (1/1, v/v)

Auch wenn man mittels des Lösungsmittelabdampfgerätes das Lösungsmittel komplett entfernte fiel auf, dass bei den oxygenierten Lösungsmitteln sehr viel schwer verdampfbarer Rückstand im Abdampfgefäß zurückblieb, der oft bereits ausfiel bevor die Probe zur Trockene eingedampft war. Das wurde bei den Hexan- und Dichlormethanextrakten nicht beobachtet, hier war viel weniger Rückstand zu sehen.

Dies legte den Verdacht nahe, dass bei der Messung der Proben Matrixeffekte auftreten können. Zu hohe Wiederfindungen werden in der Regel erzeugt durch den so genannten „*Matrix Induced Response Enhancement Effect*“. Dieser Effekt wurde nach meiner Kenntnis von Erney et al. 1993 erstmals beschrieben [64]. Er entsteht dadurch, dass bei der Verdampfung der Analyten im Inletsystem immer ein Teil der Analyten nicht in die Gasphase übergeht, z. B. durch Adsorption oder Zersetzung an aktiven Oberflächen im Inletsystem (Inlet-Diskriminierung). Enthält die zu verdampfende Lösung nun eine größere Menge von Matrixkomponenten, so legen sich diese auf die Oberflächen im Inletsystem und treten in Konkurrenz zu den Analyten. Dadurch wird eine geringere Analytmenge adsorbiert bzw. zersetzt. Daraus resultiert ein vollständigerer Transport der Analyten in die Trennsäule und der Detektorresponse wird höher sein im Vergleich zu einer reinen Standardlösung, die die Matrixkomponenten nicht enthält. Um die Auswirkungen des Matrixeffektes auf dem gaschromatographischen Response genauer zu studieren, wurden also weitere Versuche durchgeführt. Mit den vier verschiedenen Lösungsmitteln hergestellte Extrakte wurden nach der Extraktion mit den Analyten dotiert und der Response mit dem einer in der gleichen Weise dotierten Standardlösung verglichen.

Durchführung der Ultraschallextraktion zur Responseuntersuchung:

5 g Realprobe aus dem Lake Abaya wurden in 100 mL Erlenmeyerkolben gegeben. Anschließend wurde die Probe jeweils dreimal für 10 min mit 30 ml eines der vier oben genannten Lösungsmittel extrahiert. Dazu wurden die Erlenmeyerkolben im Ultraschallbad befestigt. Es wurde ein Ultraschallbad Sonorex Super 10 P mit 2×450 W Leistung von Bandelin (Berlin, Deutschland) verwendet. Die Badtemperatur betrug 35 °C. Sie wurde kontinuierlich kontrolliert und im Fall einer Erwärmung des Wasserbades durch die Ultraschallenergie wurde etwas Wasser abgelassen und durch kaltes Wasser ersetzt.

Der Extrakt wurde durch 595 ½ Faltenfilter (Schleicher und Schuell, Dassel, Deutschland) filtriert. Dann wurde die Lösung auf 1 mL eingengt. Dazu wurde ein Zymark (Rüsselsheim, Deutschland) Turbovap II Lösungsmittelabdampfgerät verwendet. Dieses wurde mit einer Wasserbadtemperatur von 35 °C und einem Stickstoffdruck von 14 psi betrieben.

Danach wurde der Extrakt in einem 1 mL Messkolben mit 100 µL einer 1 mg L⁻¹ Analytlösung dotiert. Dazu wurde eine Mikroliterspritze verwendet. Der Extrakt wurde anschließend auf 1 mL aufgefüllt. Die Konzentration der Lösung betrug somit 100 µg L⁻¹. Zum Vergleich des gaschromatographischen Responses mit einer Standardlösung wurde das Lösungsmittel in der gleichen Weise dotiert wie der Extrakt.

Durchführung der Soxhletextraktion zur Responseuntersuchung:

5 g Realprobe aus dem Lake Abaya wurden in 100 mL Erlenmeyerkolben gegeben. Anschließend wurde die Probe mit 60 mL eines der vier oben genannten Lösungsmittel in einer 30 mL Soxhletapparatur extrahiert. Die Extraktionszeit betrug 10 h, was ca. 120 Extraktionszyklen entspricht. Die Beheizung der Soxhletapparaturen (je sechs parallel) erfolgte mit einer Heizbank der Firma Gerhardt (Königswinter, Deutschland) mit sechs voneinander unabhängig regelbaren Heizpositionen.

Der Extrakt wurde durch 595 ½ Faltenfilter (Schleicher und Schuell, Dassel, Deutschland) filtriert. Dann wurde die Lösung auf 1 mL eingengt. Dazu wurde ein Zymark (Rüsselsheim, Deutschland) Turbovap II Lösungsmittelabdampfgerät verwendet. Dieses wurde mit einer Wasserbadtemperatur von 35 °C und einem Stickstoffdruck von 14 psi betrieben.

Danach wurde der Extrakt in einem 1 mL Messkolben mit 100 µL einer 1 mg L⁻¹ Analytlösung dotiert. Dazu wurde eine Mikroliterspritze verwendet. Der Extrakt wurde anschließend auf 1 mL aufgefüllt. Die Konzentration der Lösung betrug somit 100 µg L⁻¹. Zum Vergleich des gaschromatographischen Responses mit einer Standardlösung wurde das Lösungsmittel in der gleichen Weise dotiert wie der Extrakt.

Abbildung 26 (Seite 66) zeigt die Ergebnisse der Responseuntersuchung. Dargestellt sind nur die Ergebnisse, bei denen sich der Response der matrixangepassten Lösungen signifikant von dem der Lösungsmittelstandards unterschied. Dies wurde mit Hilfe des t-Tests überprüft [65]. Wichtig ist dabei natürlich, dass beide Typen von Lösungen auf die gleiche Art und Weise dotiert wurden, wie in den Arbeitsbeschreibungen dargestellt, damit die Messunsicherheit, die durch den Dotiervorgang entsteht, bei beiden Lösungen vergleichbar ist.

Aus Abbildung 26 können zwei grundsätzliche Schlüsse gezogen werden. Mit der Soxhletextraktion wurden mehr signifikante Matrixeffekte gefunden (48 von insgesamt 68 Experimenten; 4 Lösungsmittel \times 17 Analyten), als mit der Ultraschallextraktion (27).

Der Einfluss der Lösungsmittel kann wie folgt beziffert werden: Hexan/ Aceton (1/1, v/v) (25 signifikante Matrixeffekte) \approx Ethylacetat/ Methyl-*tert*-butylether (1/3, v/v) (27) $>$ Dichlormethan (14) $>$ Hexan (8).

Die besten Ergebnisse wurden mit den Extraktionsmethoden/ Lösungsmittel-Kombinationen Ultraschallextraktion/ Hexan (1) und Ultraschallextraktion/ Dichlormethan (3) erzielt.

Mit Ultraschallextraktion/ Hexan wurde lediglich für Pentachlornitrobenzol ein signifikanter Matrixeffekt gefunden.

Mit Ultraschallextraktion/ Dichlormethan wurde nur für Pentachlornitrobenzol, β -Endosulfan und p,p'-DDT ein signifikanter Matrixeffekt gefunden.

p,p'-DDT wurde als der bei weitem empfindlichste Analyt in Hinblick auf Matrixeffekte in dieser Studie identifiziert. Besonders bei den Extraktionen mit Hexan/ Aceton (1/1, v/v) waren die Matrixeffekte für p,p'-DDT sehr hoch. So wurde mit der Ultraschallextraktion ein Wert von über 1200 % gemessen. Bei der Soxhletextraktion wurde im Chromatogramm des Lösungsmittelstandards nicht einmal ein Peak für p,p'-DDT gefunden (Inlet-Diskriminierung).

Aldrin, *cis*-Chlordan, *trans*-Chlordan und Dieldrin zeigten dagegen mit der Ultraschallextraktion keinen signifikanten Matrixeffekt und mit der Soxhletextraktion Matrixeffekte von 105-146 %.

PCB 209 war die für Matrixeffekte am wenigsten empfindliche Substanz in dieser Studie. Sie zeigte ausschließlich bei der Ultraschallextraktion mit Hexan/ Aceton (1/1, v/v) einen signifikanten Matrixeffekt von 117 %.

Vergleicht man die für unsere Proben und Analyten gefundenen Ergebnisse für den „*Matrix Induced Response Enhancement Effect*“, so stellt man fest, dass sich die Größenordnung des gefundenen Response Enhancements mit den anderen Studien vergleichen lassen. Die Mehrzahl dieser Studien wurde im Bereich der Lebensmittelanalytik durchgeführt. Jiminez et al. [66] berichten über sehr hohe Wiederfindungen bei der Analyse von Pestiziden in Honigextrakten mit Methanol als Extraktionsmittel (bis zu 7397 % für Parathion, 913 % für p,p'-DDT und 391 % für Lindan). Erney et al. demonstrierten dies anhand der Analyse von Organophosphorpestiziden in Milch- und Butterextrakten [67]. Ihre Extraktionsmethode war Flüssig/Flüssig-Extraktion mit Dichlormethan als Lösungsmittel. Die Extrakte wurden mit SPE an C18-Material gereinigt. Sie fanden in einigen Fällen Wiederfindungen von bis zu 200 %.

Menkissoglu-Spiroudi und Fotopoulou [68] untersuchten Matrixeffekte bei der Bestimmung von Insektiziden und Herbiziden in Tomaten-, Pfeffer- und Gurkenextrakten. Sie verwendeten Ethylacetat als Lösungsmittel und fanden Wiederfindungen über 200 %.

Hajslova et al. [69] beschäftigten sich mit Matrixeffekten bei der Analyse von Pestiziden in Orangen, Weizen und Kohl. Ihre Extraktionen wurden durchgeführt mit Ethylacetat als Lösungsmittel und Gel-Permeations Chromatography.

Johnson et al. beschäftigten sich mit der Analyse von Insektiziden in Grassproben [70]. Sie verwendeten Dichlormethan als Lösungsmittel und fanden Wiederfindungen von bis zu 192 % für Methylparathion, 187 % für Ethylparathion und 149 % für Metazachlor.

Bernal et al. untersuchten Pestizide in Mostextrakten [71] und fanden Wiederfindungen von bis zu 1011 % für Captan und 931 % für Folpet. Die Extraktion wurde durchgeführt mit SPE an Octadecylsilan (ODS), das Elutionsmittel war Methanol. Ein Aufreinigungsschritt mit Florisil brachte eine Verbesserung, konnte den Matrixeffekt aber nicht eliminieren.

Lehotay und Eller berichten von Matrixeffekten bei der Analyse von Pestiziden in Obst und Gemüse [72]. Sie verwendeten SFE bei 32 Mpa und 60 °C.

Cabras et al. beschäftigten sich mit der Analyse von Pestiziden in Olivenöl [73]. Sie fanden Matrixeffekte von 570 % für Omethoate und 466 % für Acephate. Zur Extraktion wurde das Olivenöl mit Acetonitril geschüttelt.

Sanchez-Brunete berichten von Wiederfindungen über 115 % bei der Analyse von Pestiziden in Boden (Spanien) [63] und führen dies auf Matrixeffekte zurück. Sie benutzten Ultraschallextraktion mit Ethylacetat als Extraktionsmittel.

Rantakokko et al. [74] fanden Wiederfindungen von bis zu 800 % bei der Analyse von 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanon (Trinkwasser-Mutagen) und einigen bromierten Derivaten dieser Verbindung in Trinkwasser. Die Proben wurden extrahiert und gereinigt mit einer komplizierten SPE Prozedur. Wichtigstes Lösungsmittel zur Elution der Proben war Aceton.

Jiminez et al. [75] berichten von der Untersuchung von Matrixeffekten bei der Analyse von Pestiziden in Wein mit SPE. Sie fanden Wiederfindungen von bis zu 786 % Triadimefon und 530 % für Penconazole. Mehrere SPE Materialien (LiChrolut EN, Oasis und ODS) und Lösungsmittel (Aceton, Ethylacetat) wurden verglichen. Den Extrakt mit Hilfe von SPE mit Florisil zu reinigen wird empfohlen.

Schenck und Lehotay [76] untersuchten den Einfluss verschiedener SPE Prozeduren und Materialien auf die Wiederfindungen bei Analyse von Pestiziden in Früchten und Gemüse.

Mourabit et al. [77] beschäftigten sich mit der Analyse von Pestiziden in Wasser und erhielten Wiederfindungen über 100 % und führen dies auf Matrixeffekte zurück. Sie empfehlen einen weiteren Cleanup mit 3 g Florisil.

Dabrowski et al. [78] berichten von Matrixeffekten bei der Analyse einiger Insektizide, Polycyclischer Kohlenwasserstoffe (PAHs) und Polychlorierter Biphenyle (PCBs) in Boden und Sediment. Dieser Artikel ist meines Wissens der Einzige der über Matrixeffekte bei der Analyse von Sedimenten berichtet. Sie benutzten Ultraschallextraktion mit Dichlormethan als Lösungsmittel. Ihre Ergebnisse zeigen außerdem, dass ein SPE-Cleanup mit 500 mg Alumina und Acetonitril als Elutionsmittel das Problem nicht eliminieren konnte.

Mit dem Einfluss der GC-Injektionstechniken, wie der „pulsed splitless injection“ und der PTV-Injektion (temperaturprogrammierbares Inletsystem), auf Matrixeffekte beschäftigten sich Wylie und Uchiyama [79], Godula et al. [80] und Mol et al. [81].

Allerdings ist sehr wichtig anzumerken, dass die Höhe des Matrixeffekts von einer ganzen Reihe von Faktoren abhängt. In allen Untersuchungen zu diesem Thema werden jedoch nur einige wenige näher betrachtet, so auch in dieser. Einen erheblichen Einfluss auf die Größe des Matrixeffekts haben folgende Parameter (teilweise entnommen aus [82]):

- (i) Die Zahl der aktiven Stellen in Inletliner und Trennsäule
- (ii) Chemische Struktur und Eigenschaften der Analyten (z. B. thermische Labilität oder die Fähigkeit Wasserstoffbrücken zu bilden)
- (iii) Konzentration der Analyten
- (iv) Chemische Struktur und Eigenschaften der Matrixkomponenten (funktionelle Gruppen, Metallgehalte, Flüchtigkeit)
- (v) Konzentration der Matrixkomponenten
- (vi) Verwendete Gerätehardware (Typ des Inletsystems und Liners, stationäre Phase der Trennsäule)

Als Lösung für das Problem wird in vielen Veröffentlichungen die Verwendung matrixangepasster Standards empfohlen. Dabei werden die Kalibrierlösungen so hergestellt, dass sich die entsprechende Probenmatrix ebenfalls in ihnen befindet, also z. B. Extrakte einer Karottenprobe mit den Analyten dotiert, um anschließend damit die Kalibrierung zur Messung von Karottenproben vorzunehmen. Dieses Konzept hat allerdings mehrere Nachteile. Zunächst ist dabei zu nennen, dass das Gaschromatographiesystem oft mit einer erheblich größeren Menge an schwer verdampfenden Bestandteilen der Probenmatrix verunreinigt wird, da nicht nur mit den Proben selber, sondern auch mit den Kalibrierlösungen Matrixbestandteile in das Gerät gelangen. Dieses wird die Kosten der Messung erheblich erhöhen, da eine wesentlich häufigere Wartung oder häufigerer Austausch von Inlet-Liner oder Vorsäule die zu vermutenden Folgen sind.

Der zweite Nachteil ist, dass zur Herstellung der matrixangepassten Standards Probenmaterial zur Verfügung stehen muss, dessen Zusammensetzung möglichst dem der Probe entspricht, die Zielanalyten aber nicht enthalten darf. Erfahrungsgemäß ist dies im Fall von Boden und Sedimentproben schwierig, da sie sich je nach Herkunft sehr stark unterscheiden können. Ein abweichender Gehalt an Huminstoffen oder Metallverbindungen im Extrakt kann das Verhalten der Analyten bei der Verdampfung im Inletsystem sehr stark beeinflussen.

Des Weiteren muss von diesem Material eine ausreichende Menge zur Verfügung stehen, um die matrixangepassten Standards immer wieder frisch herzustellen.

Von Nachteil ist natürlich auch der größere Arbeitsaufwand, den die Verwendung matrixangepasster Standards erfordert.

Ein weiterer Ansatz zur Lösung des Problems stammt ursprünglich von Erney und Poole [67] aus dem Jahr 1993.

Er beruht auf der Zugabe schwerflüchtiger Additive zu den Kalibrierlösungen, die die Analyten, genau wie die Matrixkomponenten in den Realproben, vor Inletereffekten schützen sollen. Sie testeten den Zusatz von sechs dieser Additive und deren Auswirkungen auf den gaschromatographischen Response. Jedoch mussten sie einräumen, dass die von ihnen verwendeten Additive zwar eine Wirkung auf den Response zeigten, aber den Matrixeffekt nicht eliminieren konnten.

Aufgegriffen wurde diese Idee 2003 von Anatassiades et al. [82]. Sie untersuchten den Einfluss von 93 Additiven auf den gaschromatographischen Response. Im Gegensatz zu Erney et al. fanden sie einen bemerkenswert höheren gaschromatographischen Response für viele Verbindungen nach der Zugabe der Additive. Das gilt vor allem dann, wenn Verbindungen mit zahlreichen Hydroxygruppen, zum Beispiel Zucker oder Zuckerderivate, verwendet werden.

Diese Idee vermeidet in Vergleich zu den matrixangepassten Standards zwar den erhöhten Arbeitsaufwand für die Herstellung der Standards, auch wird nicht mehr Probenmaterial verbraucht als bei einer Kalibrierung mit reinen Lösungsmittelstandards. Die möglichen Probleme wegen der Belastung des Gaschromatographen mit großen Mengen schwerflüchtigem Material bleiben jedoch bestehen. So schreiben Anatassiades et al. in Ihrem Artikel auch, dass Einflüsse der Additive auf die Langzeitstabilität des GC-MS-Systems noch geklärt werden müssen.

Ein weiterer Ansatz zur Überwindung der Matrixeffekte wird verfolgt von Cuadros-Rodriguez et al. [83-84]. Sie berichten über die Anwendung mathematischer Funktionen um zwischen Lösungsmittel- und matrixangepasster Kalibrierung zu korrelieren.

Dies ist ein viel versprechender Ansatz, denn er ermöglicht den Einsatz matrixfreier Standards zur Kalibrierung. Allerdings erklären Cuadros-Rodriguez et al. in Ihren Veröffentlichungen zugleich, dass der Gebrauch dieser Methode zwar die genannten Vorteile hat, aber auch die Messunsicherheit des Verfahrens erhöht.

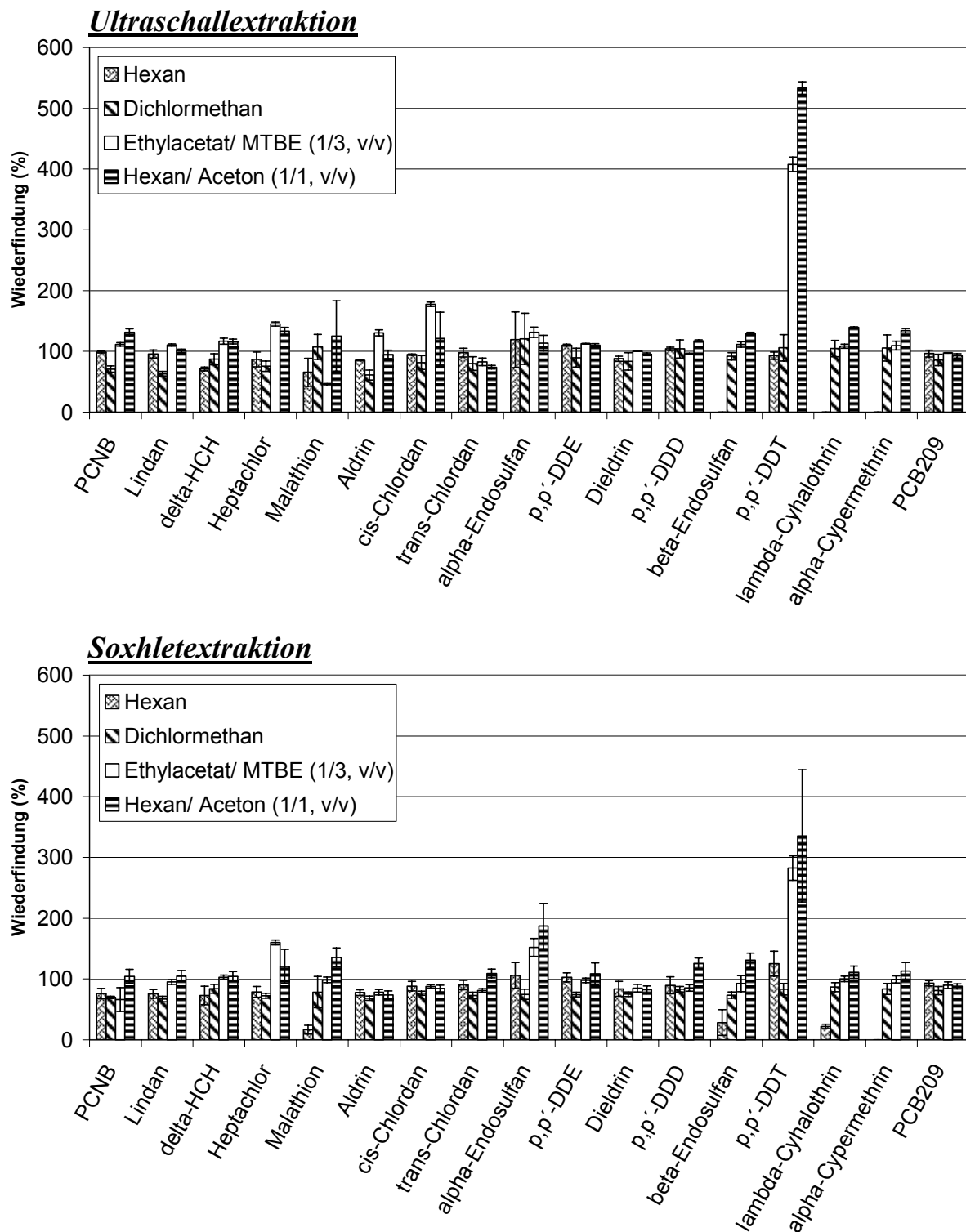


Abbildung 25: Wiederfindungen der Analyten bestimmt mittels Ultraschallextraktion (n=3) und Soxhletextraktion (n=6); (Konzentration der Analyten ca. $20 \mu\text{g kg}^{-1}$).

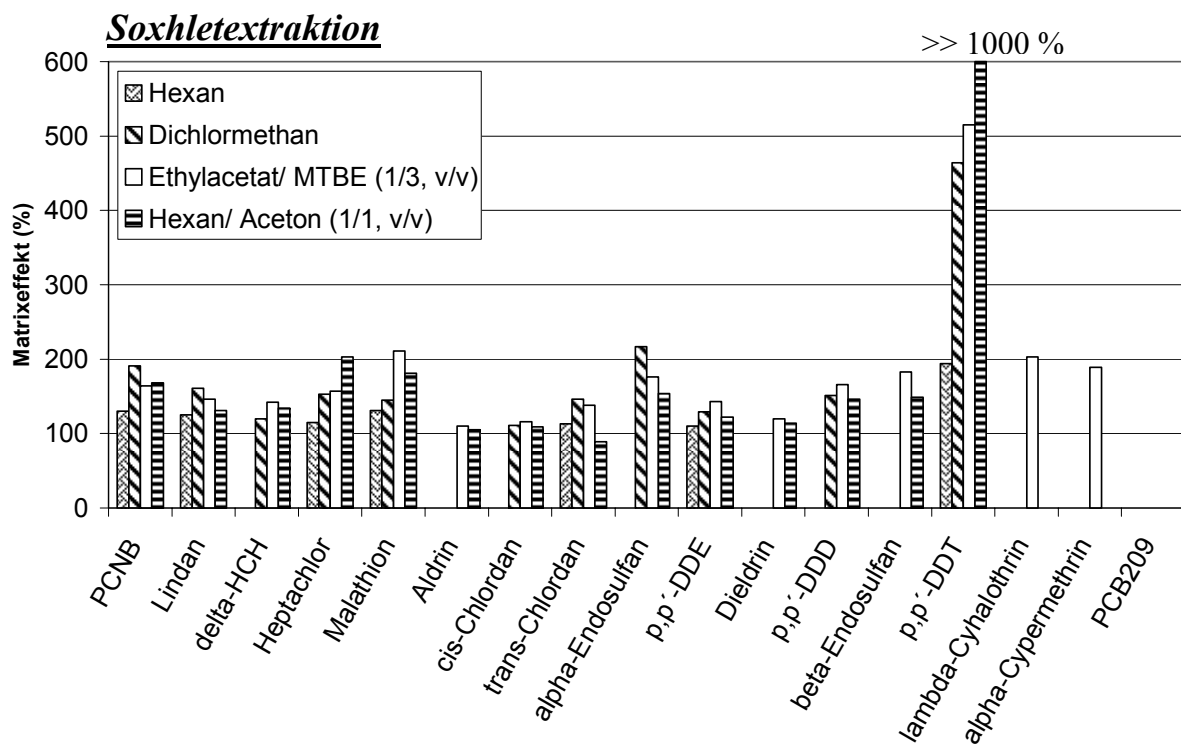
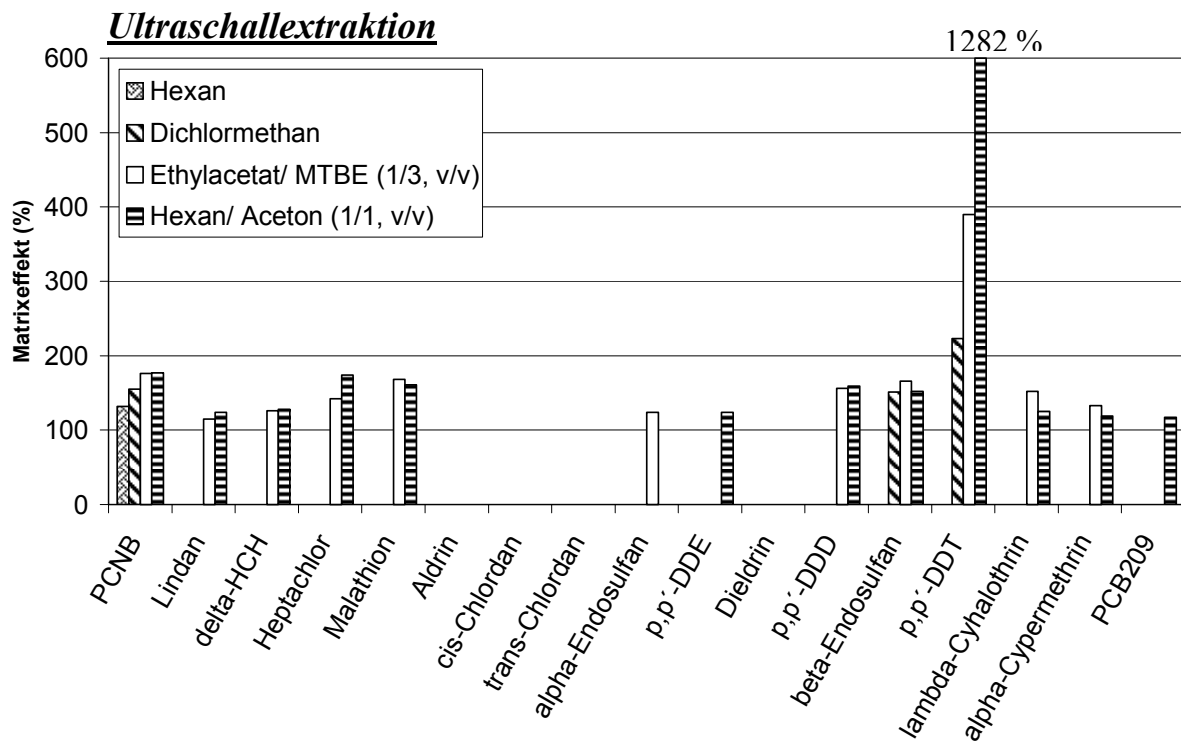


Abbildung 26: Matrixeffekte bei Ultraschall- und Soxhletextraktion; Die Ergebnisse sind nur dargestellt wenn der t-test ($\alpha=0,05$; $n=3$) einen signifikanten Responseunterschied zeigt.

9.2 Beschleunigte Lösungsmittlextraktion (PSE/ASE)

Wie bereits in Kapitel 6.1.3 beschrieben ist die PSE im Unterschied zur Ultraschall- und Soxhletextraktion eine apparative Extraktionstechnik. Diese steht bisher in unserem Labor leider nicht zur Verfügung. Allerdings hat sie, wie bereits in Kapitel 6.1.3 erwähnt, einige Vorteile. Zum Beispiel eine hohe Extraktionsgeschwindigkeit, geringen Lösungsmittelverbrauch und eine gute Automatisierbarkeit. Einige Vorversuche zur PSE-Extraktion unserer Proben konnten mit einem PSE-Gerät der Firma Applied Separations („One PSE“) durchgeführt werden, das uns für einige Tage zu Testzwecken zur Verfügung gestellt wurde. Für meine Versuche stand das Gerät ca. 1 Woche zur Verfügung.

Da die Extraktion unter erhöhtem Druck und bei erhöhter Temperatur stattfindet, werden die Extraktionen in Stahlzellen durchgeführt, die Routine-Arbeitsdrücken von bis zu 18 MPa problemlos und dauerhaft standhalten müssen. Bei den Experimenten wurden Extraktionszellen mit einem Volumen von 11 mL verwendet. Als Extraktionsdruck wurden 10 MPa und als Extraktionstemperatur 100 °C verwendet. Bei dem „One PSE“-Gerät wird der Druck durch eine in das Gerät integrierte HPLC-Pumpe aufgebaut. Als Lösungsmittel wurde Dichlormethan verwendet. Jede Probe wurde zweimal für 10 min extrahiert. Wichtig für die praktische Durchführung der Experimente war, dass das Probenmaterial zur Extraktion mit Seesand vermischt wurde, da das fein gemahlene Probenmaterial sonst nicht vom Lösungsmittel durchdrungen werden konnte. Schließlich wurde das Probenmaterial durch den Druck von 10 MPa in der Extraktionszelle zusätzlich verdichtet.

Anschließend wurde die Extraktionszelle dreimal mit Dichlormethan gespült und für 1 min mit Stickstoff ausgeblasen um einen kompletten Transfer der Extraktes in das Sammelgefäß sicherzustellen. Abbildung 27 (nächste Seite) zeigt die mit der PSE ermittelten Wiederfindungen.

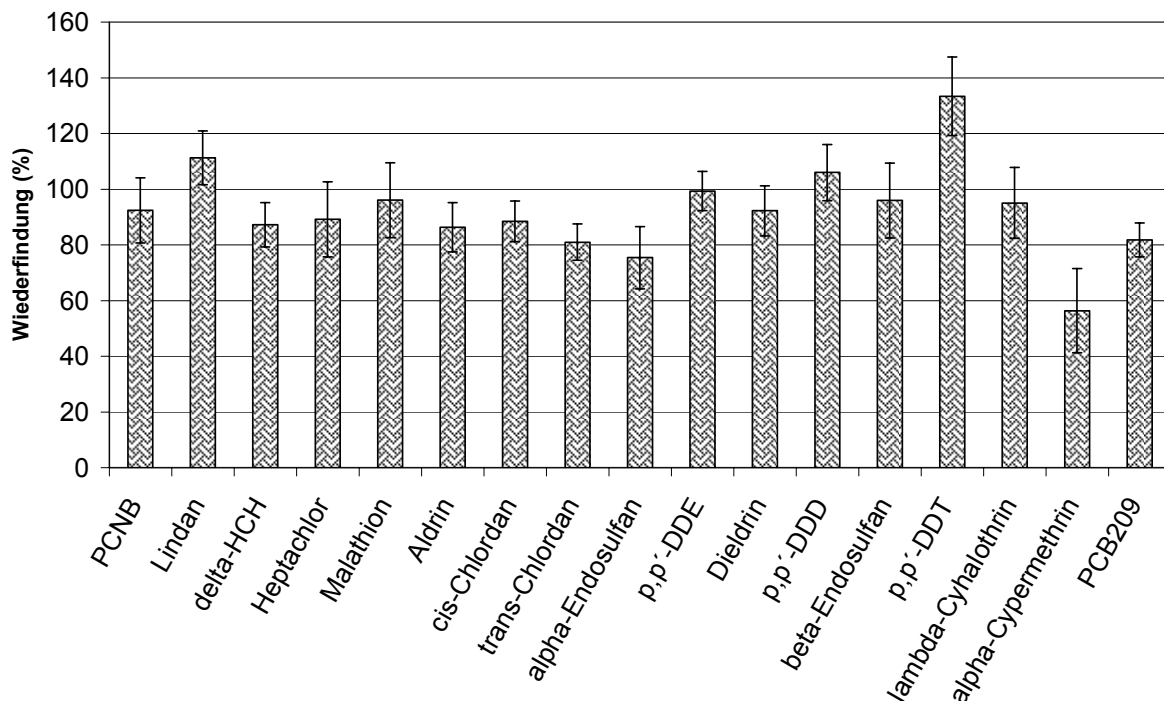


Abbildung 27: Wiederfindungen der Analyten ermittelt mittels PSE (n=3); (Konzentration der Analyten ca. $20 \mu\text{g kg}^{-1}$).

Wie man erkennt waren die Wiederfindungen für die meisten Analyten sehr gut. Auch die Reproduzierbarkeit der Daten war mit durchschnittlich 11,7 % sehr gut. Lediglich die Wiederfindung von p,p'-DDT ist mit 133 % etwas zu hoch. Das liegt daran, dass die Wiederfindung hier nicht um den Messwert korrigiert wurde. Warum die Wiederfindung für α -Cypermethrin nur 56 % betrug konnte aus Zeitmangel nicht geklärt werden.

Abschließend ist zu sagen, dass die PSE eine sehr gute Extraktionstechnik ist, die mit den anderen Extraktionstechniken sehr gut vergleichbare Ergebnisse liefert und zudem einige Vorteile besitzt. Dies ist vor allem dann der Fall, wenn ein Gerät verwendet wird, das eine hohe Anzahl von Proben nacheinander automatisch extrahieren kann. Dies sorgt für eine erhebliche Zeitersparnis im Vergleich zur Soxhletextraktion. Die Extraktion einer Probe mit n=3 dauert bei der PSE nur ca. 40 min. Bei der Soxhletextraktion dagegen 10 h. Im Vergleich zur Ultraschallextraktion ist bei der Verwendung der PSE vor allem der Arbeitsaufwand geringer, da das Nachfüllen des Lösungsmittels und das Filtrieren der Proben entfallen.

9.3 Untersuchungen zu Festphasenextraktion (SPE) und Clean-Up

Zur Reinigung der Extrakte wurde die Elution der Analyten mit drei Lösungsmitteln bzw. Lösungsmittelgemischen überprüft. Diese waren Hexan, Hexan/ Dichlormethan (7/3, v/v) und Dichlormethan. Verwendet wurden 1 g Kieselgelkartuschen mit einem Volumen von 6 mL (Varian Bond Elut Si, Varian, Darmstadt, Deutschland).

Die Abbildungen 28 bis 30 (Seiten 71 und 72) zeigen das Elutionsverhalten der Analyten bei der SPE mit den drei Lösungsmitteln.

Man erkennt zunächst in Abbildung 28, dass mit Hexan als Elutionsmittel nicht alle Analyten gut eluiert werden können. Dieldrin und δ -HCH wurden auch nach 40 mL Elutionsvolumen noch nicht vollständig eluiert. Malathion, β -Endosulfan, λ -Cyhalothrin und α -Cypermethrin wurden mit 40 mL Lösungsmittel noch gar nicht eluiert und werden vermutlich vollständig vom Kieselgel zurückgehalten. Hier besteht eine Parallele zu den Ergebnissen der Extraktionsversuche (Kapitel 9, Seite 61), denn mit Hexan konnten diese vier Verbindung auch nicht oder nur schlecht aus den Realproben extrahiert werden.

Mit Hexan/ Dichlormethan (7/3, v/v) (Abbildung 29) dagegen können mit einem Elutionsvolumen von ca. 35 mL alle Analyten gut eluiert werden. Malathion wird mit Abstand als letztes eluiert, zwischen ca. 10 und 35 mL. Alle anderen Analyten werden zwischen 1 und 10 mL eluiert.

Auch mit Dichlormethan (Abbildung 30) können alle Analyten gut eluiert werden. Die Elutionsvolumina sind nochmals geringer als mit Hexan/ Dichlormethan (7/3, v/v). Mit Dichlormethan kann sogar das Malathion schon mit ca. 15 mL Lösungsmittel eluiert werden. Allerdings darf bei der Bewertung der Elutionsmittel nicht nur die gelungene Elution der Analyten berücksichtigt werden, auch der erzielte Reinigungseffekt muss betrachtet werden. Dabei stellte sich heraus, dass das besonders unpolare Lösungsmittel Hexan die beste Selektivität besitzt, was die Trennung der Analyten von den Matrixbestandteilen betrifft. Es kann aber nicht eingesetzt werden, da, wie oben beschrieben, seine Elutionskraft nicht ausreicht, um alle Analyten zu eluieren. Die Reinigungswirkung der beiden anderen Elutionsmittel Dichlormethan und Hexan/ Dichlormethan (7/3, v/v) war etwas schlechter als mit Hexan und im wesentlichen identisch. Bei gering mit Matrixbestandteilen belasteten Extrakten bewirkte die SPE-Elution nur einen eher kleinen Reinigungseffekt. Effektiver ist diese Prozedur dagegen vermutlich bei der Reinigung sehr schmutziger Extrakte, wie sie zum

Beispiel bei der Extraktion mit Hexan/ Aceton (1/1, v/v) erhalten wurden, oder bei Extrakten wie Hawthorne et al. sie bei der Soxhletextraktion von Boden mit Dichlormethan/ Aceton (1/1, v/v) erhielten. Sie beschreiben ihre Bodenextrakte als „dark and highly turbid (the color of black coffee)“ [85]. Eine solche Färbung bzw. Trübung der Extrakte wurde während dieser Arbeit nie beobachtet, auch bei der Verwendung oxygenierter Lösungsmittel(gemische). Die von unseren Proben erhaltenen Extrakte waren stets klar und auch frei von Partikeln. Um die Methode in der Praxis anwenden zu können musste nun nur noch überprüft werden, ob die Analyten vollständig aus dem Festphasenmaterial eluiert werden. In Abbildung 31 sind die Peakflächen einer Insektizidlösung vor und nach der Elution mit Dichlormethan dargestellt. Man erkennt, dass die Elution für alle Analyten nahezu vollständig ist, somit sind Verluste bei den Wiederfindungen nicht zu erwarten.

Um Kosten zu sparen wurde außerdem erprobt, die SPE-Kartuschen nach ihrer erstmaligen Verwendung mit Lösungsmittel zu reinigen, um sie erneut verwendet zu können. Dies bewährte sich jedoch nicht, da Blindwerte durch Verschleppungseffekte nicht vollständig ausgeschlossen werden konnten. Außer der SPE mit kommerziell erwerbbaaren Kartuschen wurde auch versucht, die Reinigung mit Hilfe selbst gepackter Glassäulen (ca. 12 mm Innendurchmesser) durchzuführen. Dies ist erheblich kostengünstiger, erwies sich aber als schlechter reproduzierbar als die Verwendung von SPE-Kartuschen. Eine völlig blasenfreie und perfekte Packung des Kieselgels war nicht immer zu erreichen. Noch dazu waren die Wiederfindungen nicht immer überzeugend. Versucht wurde auch die Glassäulen mit der doppelten Menge an Kieselgel (2 g) zu packen. Dies bewirkte aber keinen besseren Reinigungseffekt als mit 1 g Kieselgel.

Außerdem wurden mehrere Varianten der in Kapitel 6.2.2 beschriebenen Reinigung der Extrakte mit aktiviertem Kupfer erprobt. Diese zeigten bei den Proben aus dem Lake Abaya aber keinen Reinigungseffekt.

Eine weitere Verbesserung bei der Reinigung der Extrakte hätte vermutlich mit Hilfe der Gelpermeationschromatographie (GPC) erzielt werden können, mit der Moleküle nach ihrer Größe getrennt werden können. Dadurch können z. B. Huminstoffe (hochmolekular) aus Bodenextrakten sicher entfernt werden. Eine GPC-Anlage ist in unserer Arbeitsgruppe aber leider nicht vorhanden, da die Kosten alleine für eine GPC-Säule 1000 bis 1500 Euro betragen. Damit sind sie vermutlich die teuersten HPLC-Säulen überhaupt. Eine komplette GPC-Anlage ist natürlich noch wesentlich teurer.

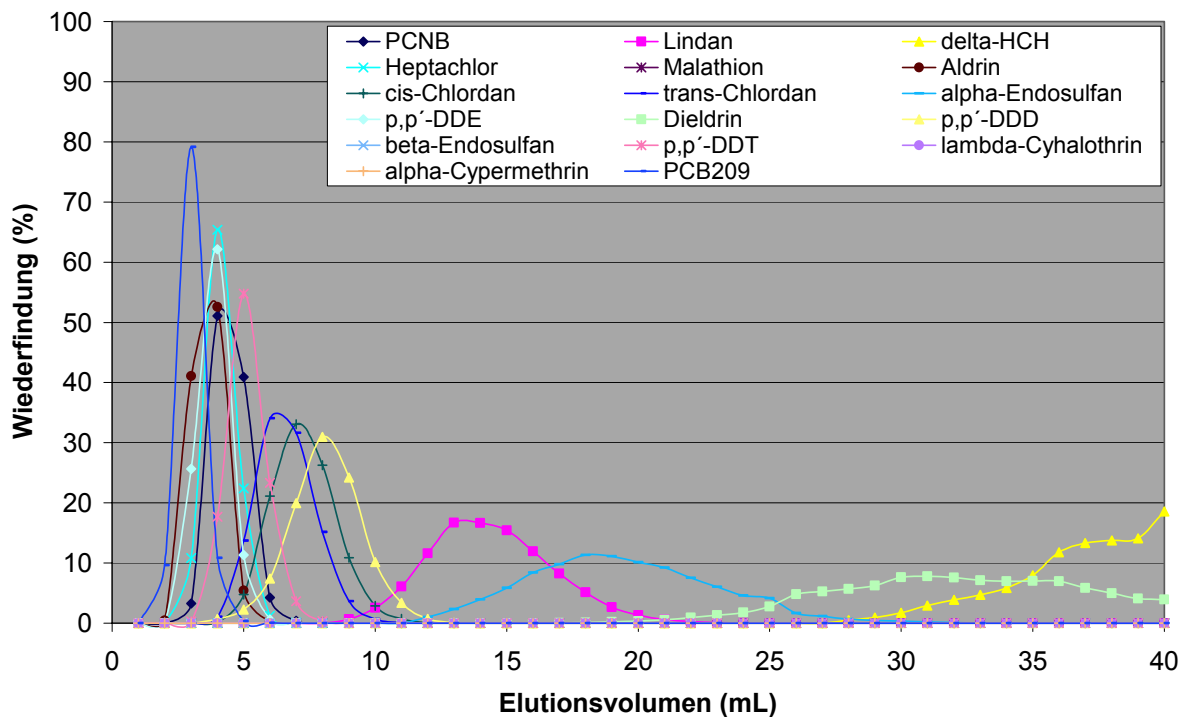


Abbildung 28: Elutionsverhalten der Analyten auf Kieselgel mit Hexan als Elutionsmittel.

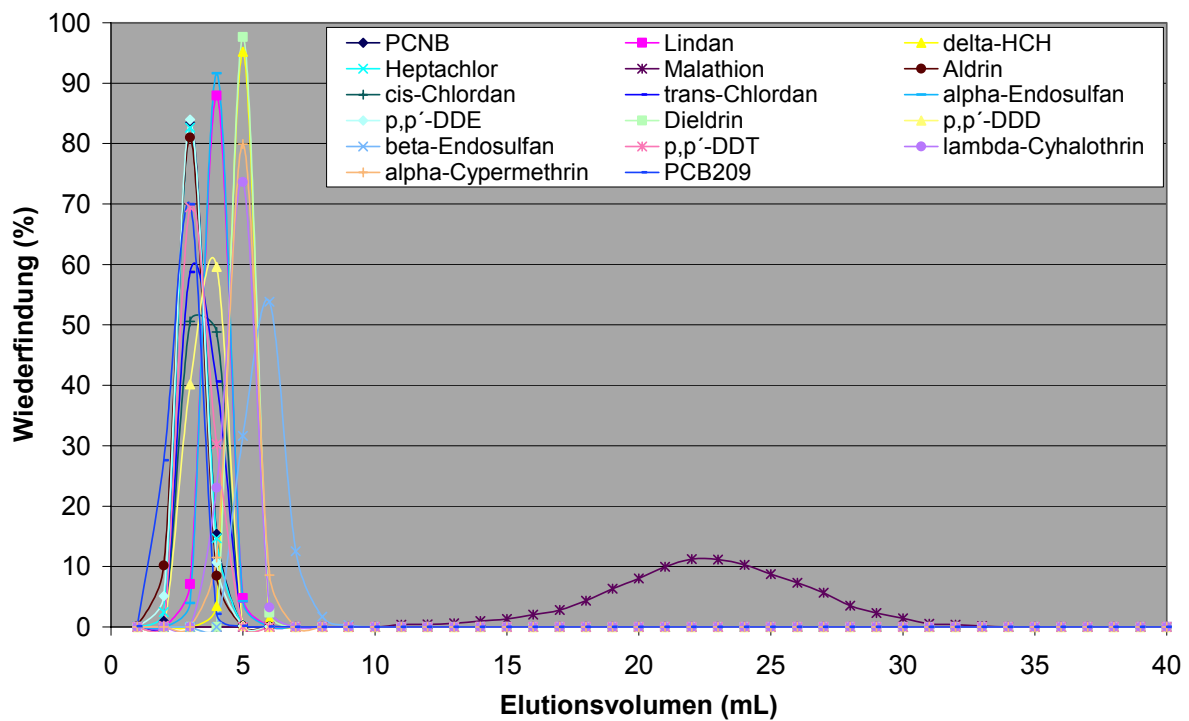


Abbildung 29: Elutionsverhalten der Analyten auf Kieselgel mit Hexan/ Dichlormethan (7/3, v/v) als Elutionsmittel.

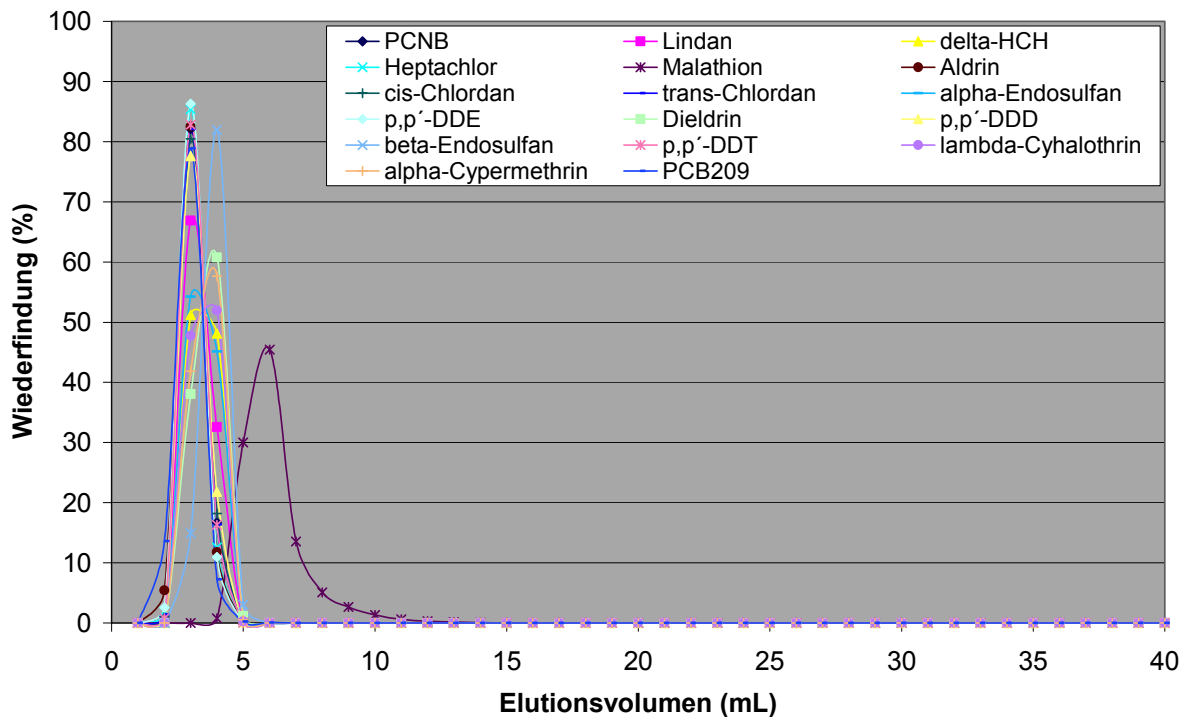


Abbildung 30: Elutionsverhalten der Analyten auf Kieselgel mit Dichlormethan als Elutionsmittel.

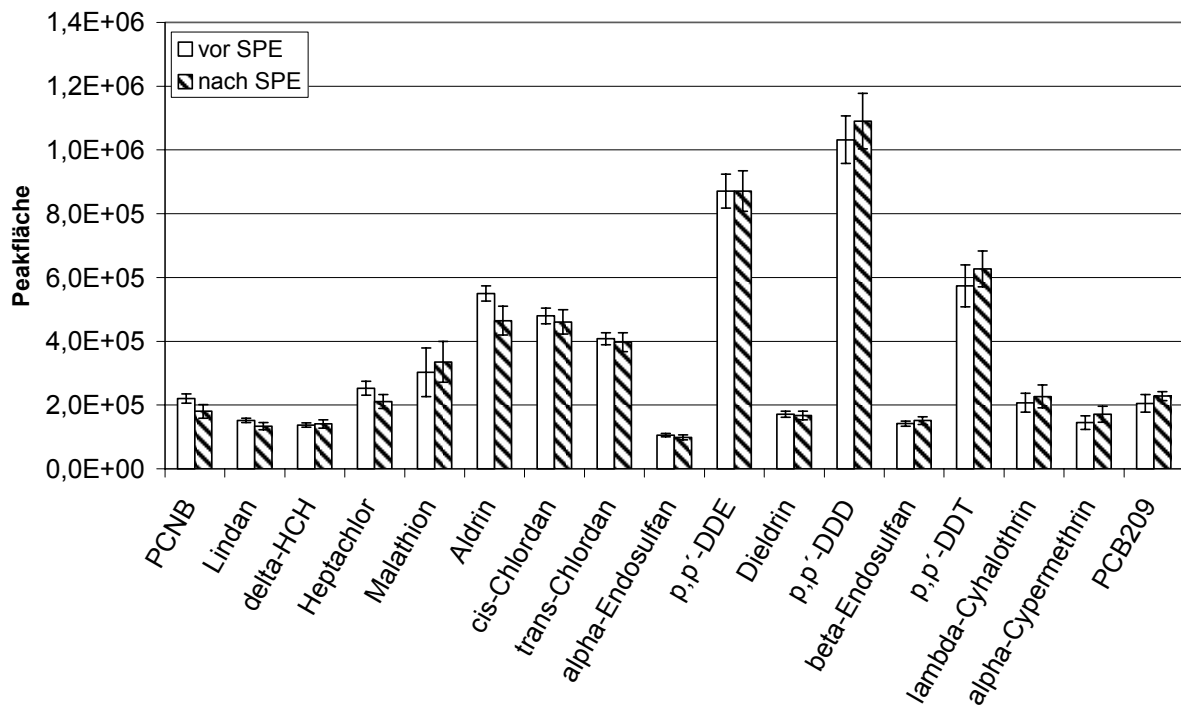


Abbildung 31: Peakflächen der Analyten vor und nach der Elution durch 1 g Kieselgel Kartuschen.

10 Untersuchung von Realproben

10.1 Identifizierung der Analyten

Abbildung 32 zeigt das Chromatogramm einer Sedimentprobe. Abbildung 33 das Chromatogramm einer Bodenprobe.

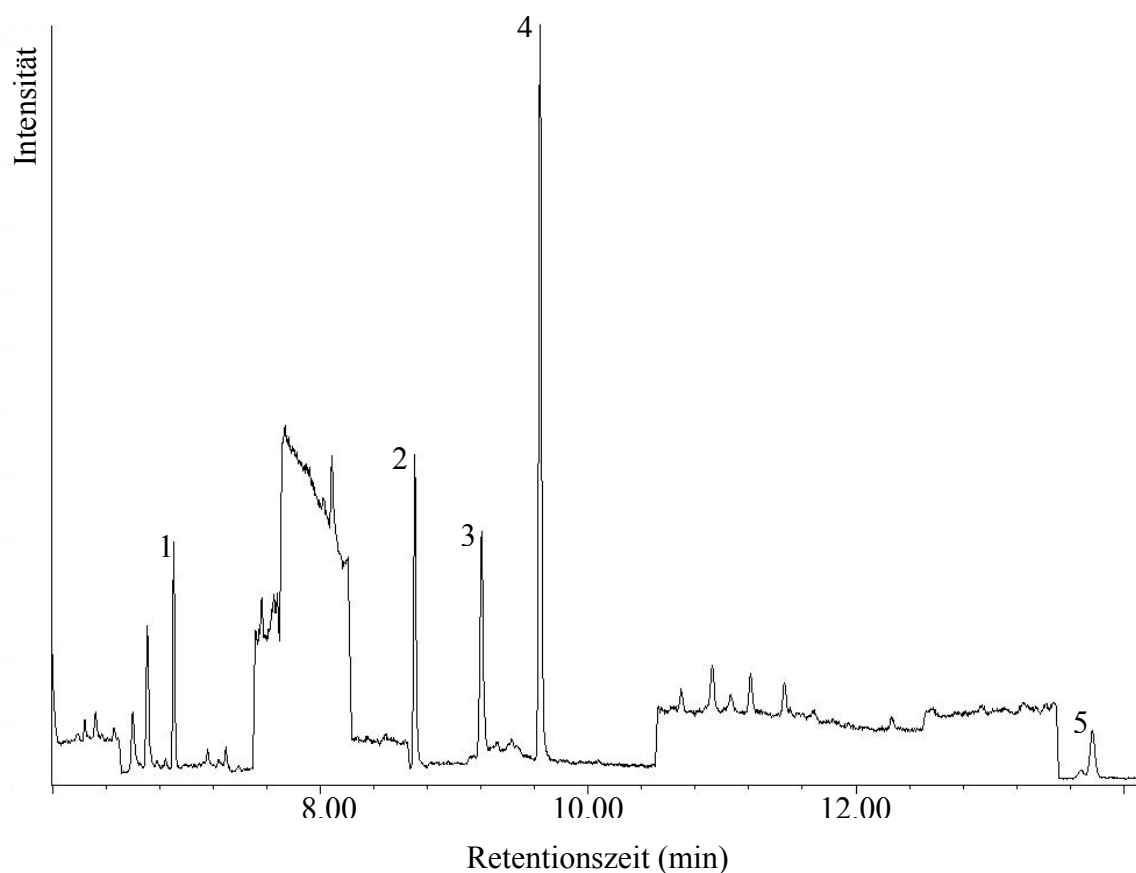


Abbildung 32: Chromatogramm einer mit ca. 100 ng der Surrogatstandards (PCNB, PCB209) dotierten und mit USE/Dichlormethan extrahierten Sedimentprobe (Injektionsmenge der Surrogatstandards ca. 100 pg, Injektionsvolumen 1 μL , Injektionsmodus: splitless); Trennsäule: SGE BPX-5 (30 m \times 250 μm ID \times 0,25 μm Filmdicke); (Peakidentifikation: 1 PCNB, 2 p,p'-DDE, 3 p,p'-DDD und o,p'-DDT, 4 p,p'-DDT, 5 PCB 209).

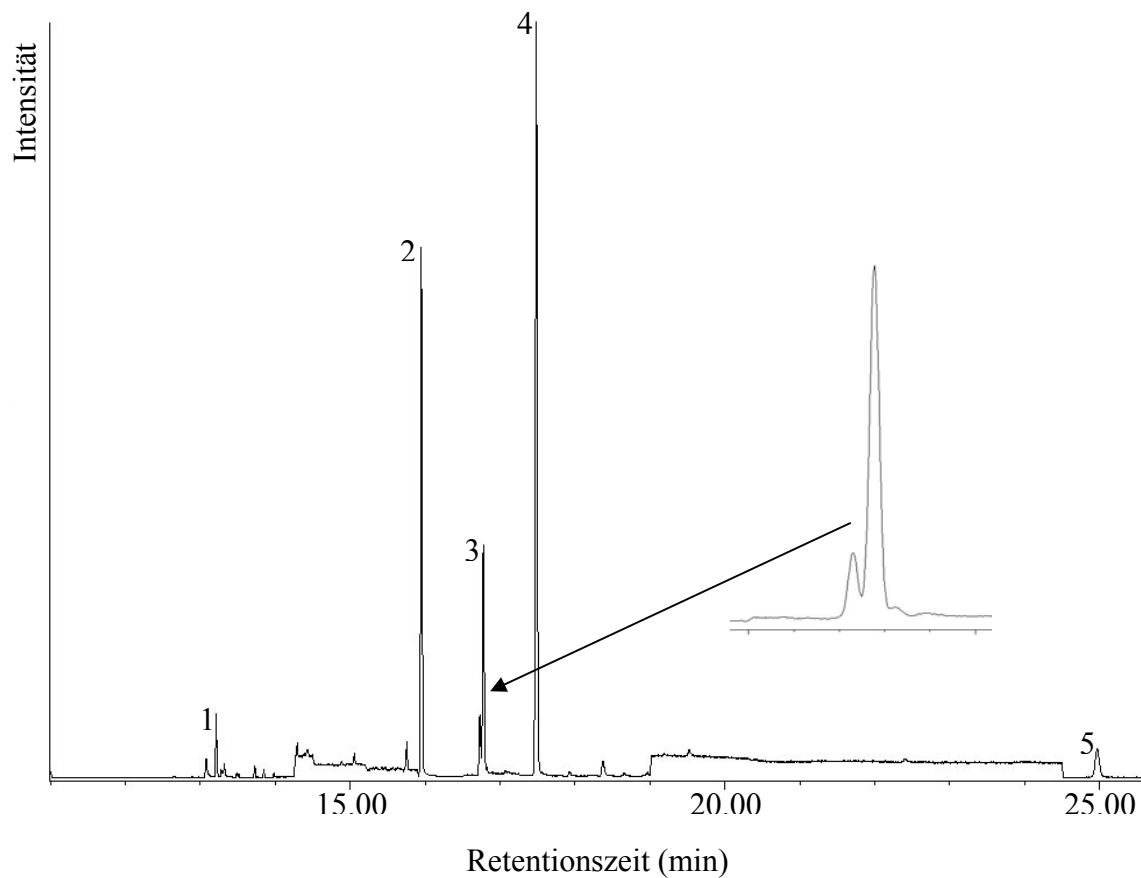


Abbildung 33: Chromatogramm einer mit ca. 100 ng der Surrogatstandards (PCNB, PCB209) dotierten und mit USE/Dichlormethan extrahierten Bodenprobe (Injektionsmenge der Surrogatstandards ca. 100 pg, Injektionsvolumen 1 μL , Injektionsmodus: splitless); Trennsäule: SGE BPX-5 (50 m \times 220 μm ID \times 0,25 μm Filmdicke); (Peakidentifikation: 1 PCNB, 2 p,p'-DDE, 3 p,p'-DDD und o,p'-DDT, 4 p,p'-DDT, 5 PCB 209).

Man erkennt zunächst, dass p,p'-DDT und seine Metaboliten p,p'-DDD und p,p'-DDE in den Sediment- und Bodenproben identifiziert werden können.

Außerdem erkennt man, dass mit der SGE BPX-5 (30 m \times 250 μm ID \times 0,25 μm Filmdicke) Trennsäule das p,p'-DDD nicht vollständig vom o,p'-Isomer des DDT getrennt werden konnte (Abbildung 30), diese Trennung mit der SGE BPX-5 (50 m \times 220 μm ID \times 0,25 μm Filmdicke) Trennsäule aber erreicht werden konnte (siehe vergrößerten Ausschnitt in Abbildung 33). Dieses Problem wird auch geschildert von Dabrowski et al. [86]. Ihnen gelang die Trennung der beiden Analyten bei Verwendung einer neuen Trennsäule vom

Typ RTX-5MS. Nach der Analyse einiger Realproben, so schreiben sie, war jedoch nur noch ein Peak zu erkennen.

Die SGE BPX-5 (30 m × 250 µm ID × 0,25 µm Filmdicke) Trennsäule wird in der Regel für allgemeine Anwendungen verwendet, während die SGE BPX-5 (50 m × 220 µm ID × 0,25 µm Filmdicke) Trennsäule eine Spezialsäule ist, die in der DIN ISO 10382 [55] zur Analyse von Organochlorpestiziden und PCBs empfohlen wird. Trennsäulen mit diesem ungewöhnlichen Innendurchmesser kombiniert mit dieser Länge werden nur von wenigen Herstellern produziert. o,p'-DDT ist in der Regel mit einem Massenanteil von 15 % in technischem DDT enthalten. Weil die SGE BPX-5 (50 m × 220 µm ID × 0,25 µm Filmdicke) Trennsäule aber erst für die Untersuchung der Bodenproben zur Verfügung stand, musste bei der Messung der Sedimentproben auf die Quantifizierung des p,p'-DDD verzichtet werden. Da das p,p'-DDD oft als schmale Schulter im gemeinsamem Peak für p,p'-DDD und o,p'-DDT zu erkennen ist, kann aber zumindest die Aussage getroffen werden, dass das p,p'-DDD in den Sedimentproben sehr wahrscheinlich in viel geringeren Konzentrationen vorliegt als das p,p'-DDT und das p,p'-DDE. Dies wird zusätzlich untermauert durch die Ergebnisse der quantitativen Bestimmungen der drei Verbindungen in den Bodenproben, wo dies ebenfalls stets der Fall ist (siehe Abschnitt 10.2). Der Informationsverlust, der aus diesem Problem resultiert, steht hohen Kosten für die GC-MS-Analysen (Lösungsmittel, Inlet Liner...) gegenüber. Auf eine erneute Vermessung von Sedimentproben mit Hilfe der längeren Säule wurde daher verzichtet.

10.2 Messergebnisse von Realproben

Die Ergebnisse der quantitativen Bestimmungen an den Sedimentbohrkernen sind dargestellt in den Abbildungen 36-39 (Seiten 82 bis 85). Dargestellt sind die Ergebnisse der Bestimmungen an Sedimentbohrungen aus den Mündungen der Flüsse Amesa River, Gidabo River, Gelana River und Uraye River. Außerdem wurden im Verlauf der Arbeit noch jeweils ein Bohrkern aus der Mündung des Bilate River und einer aus dem Zentrum des Lake Abaya gemessen. Diese wurden jedoch gemessen bevor die Methodenentwicklung abgeschlossen war.

Diese Proben sind daher nicht mit der optimierten Messmethode gemessen worden, wie die hier präsentierten Ergebnisse, deshalb sind sie weniger zuverlässig. Sie widersprechen den hier dargestellten Ergebnissen aber nicht, sondern stützen diese.

Eine sehr anspruchsvolle spurenanalytische Messmethode, mit deren Benutzung man noch keinerlei Erfahrung besitzt, muss zunächst erlernt und validiert werden. Erst dann kann man sie anwenden und ihre Ergebnisse sicher bewerten („fit for purpose“ [87]).

So fordert zum Beispiel die US EPA Methode 3540: „*This method is restricted to use by or under the supervision of trained analysts. Each analyst must demonstrate the ability to generate acceptable results with this method*“. Die letztendlich zur Messung der Proben verwendete Methode ist zusammenfassend dargestellt in Abbildung 34 (nächste Seite).

Die Messmethode konnte mit Hilfe eines zertifizierten Referenzmaterials überprüft werden. Es handelt sich um einen Boden, der mit DDT-Verbindungen real kontaminiert ist. Die Konzentrationen von p,p'-DDE und p,p'-DDT sind von der Bundesanstalt für Materialforschung (Berlin) zertifiziert. Tabelle 12 zeigt die Ergebnisse.

Tabelle 12: Konzentrationen und Standardabweichungen (in Klammern) gemessen im zertifizierten Referenzmaterial (Bundesanstalt für Materialforschung/ Berlin)

Substanz	gemessene Konzentration ^a ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	gemessene Konzentration ^b ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	zertifizierte Konzentration ^c ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	zertifizierte Konzentration ^d ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
p,p'-DDE	50,2 (6,6)	57,5 (11,6)	51,5 (3,2)	56,3 (5,8*)
p,p'-DDT	157,3 (7,7)	150,1 (18,4)	164,8 (8,4)	153,5 (14,8*)

(a: Ergebnisse der eigenen Messung vom 2.2.2004; b: Ergebnisse der eigenen Messung vom 3.1.2005; c: zertifizierte Werte gemessen mittels Ultraschallextraktion nach DIN ISO 10382; d: zertifizierter Mittelwert aus vier verschiedenen Bestimmungsmethoden; *Halbwertsbreite des Vertrauensintervalls, Signifikanzniveau 0,05)

Außerdem wurden die in der Methodenentwicklung mit validierten Substanzen PCNB und PCB209 als Surrogatstandards verwendet. Wie bereits in Kapitel 8 erörtert, wurden sie den Proben vor der Analyse zugesetzt und anschließend, zusammen mit den Analyten, bestimmt. Die Wiederfindungen der Surrogatstandards betragen für PCNB $99,1 \pm 16,6 \%$, für PCB 209 $83,9 \pm 22,7 \%$ (n=91).

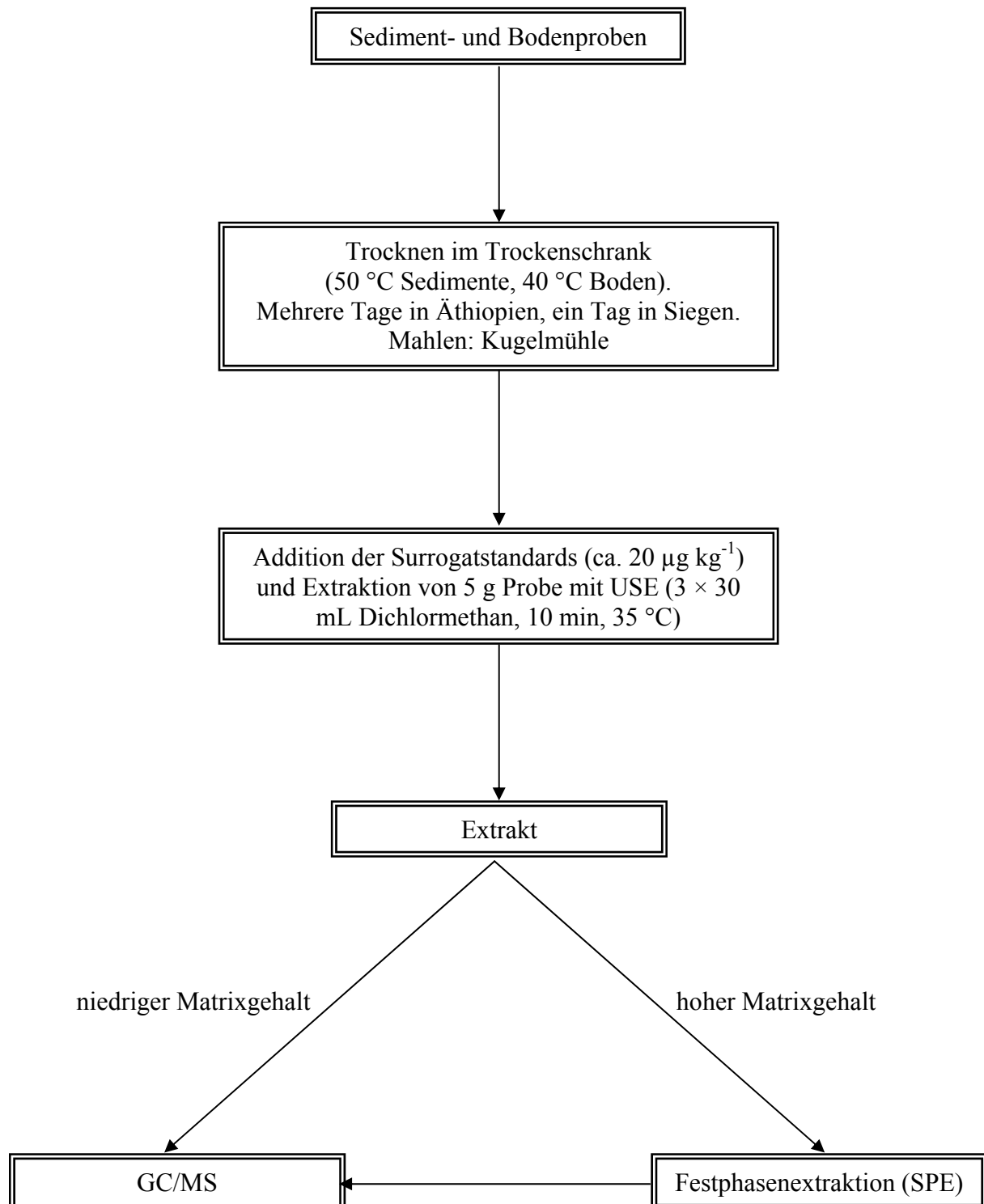


Abbildung 34: Schematische Darstellung des gesamten Messverfahrens.

Eine Schwierigkeit bei der Untersuchung der Sedimentproben war, dass jeweils nur einige Gramm der einzelnen Proben zur Verfügung standen. Schließlich sollten auch die Bestimmungen von Elementen mittels ICP-OES an diesen Proben vorgenommen werden und Rückstellproben für die GC/MS und die ICP-OES zur Verfügung stehen. Dies war aber nicht in allen Fällen möglich, da zu wenig Sediment zur Verfügung stand.

Die Verwendung von 5 g Probenmaterial zur Messung der Sedimentproben war bereits so gewählt, dass möglichst wenig des Probenmaterials verbraucht werden sollte. Eine weitere Reduzierung war aber aufgrund der kleinen Konzentrationen der Analyten in den Sedimentproben nicht möglich.

Eine Alternative wäre gewesen benachbarte Proben zu mischen und somit mehr Material der einzelnen Proben zur Verfügung zu haben. Dies wäre jedoch sehr zu Lasten der Tiefenauflösung gegangen. Die Untersuchung von nur neun Proben anstatt der untersuchten achtzehn, z. B. im Falle des Bohrkernes aus der Mündung des Amesa River, erschien zu wenig. So wurde der Entschluss gefasst die Bohrkernkerne so zu untersuchen, dass an der Mehrzahl der Proben Einfachbestimmungen durchgeführt wurden und die Messunsicherheit des gesamten Verfahrens anhand ausgewählter Proben entlang des Bohrkerns durch Doppelbestimmungen untersucht wurde. In den Abbildungen 36-39 sind die Einfachbestimmungen als schwarze Punkte dargestellt, die Doppelbestimmungen als graue Punkte. Jeder Extrakt wurde dreimal mit der GC/MS gemessen.

Die Fehlerbalken zeigen somit im Fall der Einfachbestimmungen die Messunsicherheit der GC-MS Bestimmung. Diese Werte waren stets sehr gut. Die höchste gefundene Standardabweichung war 15,2 %. In den meisten Fällen war sie allerdings sehr viel besser (siehe Abbildungen 36-39). Im Fall der Doppelbestimmungen zeigen sie die Messunsicherheit des Gesamtverfahrens inklusive Extraktion, Filtration u.s.w.. Auch diese waren in den meisten Fällen sehr gut. Im Falle des p,p'-DDE waren sie stets in dem nach Horwitz [88] für diese kleinen Konzentrationen zu erwartenden Bereich von bis zu 35 %, aber oft viel besser. Im Falle des p,p'-DDT waren sie ebenfalls in den meisten Fällen in diesem Bereich. Die wenigen Ausnahmen sind möglicherweise zurückzuführen auf die besonderen Schwierigkeiten bei der Analyse von DDT, die in den vorherigen Kapiteln ausführlich dargelegt wurden.

In der Literatur findet man für Messungen in diesem Konzentrationsbereich relativ häufig Angaben von Mittelwerten ganz ohne die zugehörigen Standardabweichungen. Dies hat den Nachteil, dass es, ohne Kenntnis der Standardabweichung, nicht möglich ist zu beurteilen, ob sich zwei Messwerte überhaupt signifikant voneinander unterscheiden.

Die Konzentrationen der Analyten in den Sedimentproben lagen zwischen ca. $2 \mu\text{g kg}^{-1}$ und $55 \mu\text{g kg}^{-1}$ für p,p'-DDT und zwischen ca. $1,6 \mu\text{g kg}^{-1}$ und $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ für p,p'-DDE.

Das Verhältnis p,p'-DDE/ p,p'-DDT lag dabei zwischen 0,33 bei den Proben aus dem Amesa Delta und 1,23 für die Proben aus dem Uraye Delta. Im Durchschnitt lag der Wert bei 0,63.

Diese relativ kleinen Werte für p,p'-DDE/ p,p'-DDT weisen darauf hin, dass Anteile des im See gefundenen DDTs frisch in den See gelangt sind, aber auch Anteile aus einer früheren Benutzung des DDTs im Untersuchungsgebiet stammen. Die Halbwertszeit des DDT beträgt nämlich, stark abhängig von den klimatischen Bedingungen u.s.w., Jahre bis Jahrzehnte.

Geht man davon aus, dass die Halbwertszeit des DDTs ca. 30 Jahre beträgt, so müsste vor eben ca. 30 Jahren mit der Benutzung von DDT im Untersuchungsgebiet begonnen worden sein. Bei der Betrachtung der Abbildungen 36-39 erkennt man, dass sich keine gemeinsamen Trends im Tiefenverlauf der Konzentrationen der Analyten in den Sedimentbohrkernen erkennen lassen. Wünschenswert wäre gewesen in den Bohrkernen gemeinsame charakteristische Merkmale zu erkennen, die auf das Alter der Sedimentschichten hinweisen. Das hätte der Beginn der Kontamination in einer bestimmten Tiefe oder besonders hohe Werte in einer bestimmten Tiefe sein können. Diese charakteristischen Merkmale hätten dann möglicherweise bestimmten Ereignissen in den letzten fünfzig Jahren zugeordnet werden können. So zum Beispiel dem Beginn der Benutzung von DDT in Äthiopien oder den Malariaepidemien in Äthiopien 1958 [89] und in Arba Minch 1991-92 [89-90].

Das dies nicht gefunden wurde kann drei Gründe haben:

- (i) Die Analyten sind, über die Wasserphase, im Sediment mobil und eine Schichtung dem Zeitpunkt der Ablagerung entsprechend erfolgt nicht.
- (ii) Durch die extremen Regenfälle im Untersuchungsgebiet und die Strömungen im See wird das Sediment immer wieder durchmischt.
- (iii) Die Bohrungen waren nicht tief genug.

Punkt (i) erscheint unwahrscheinlich, da DDT und auch DDE einen sehr großen K_{oc} -Wert für Boden und Sediment besitzen (ca. 26300-350000) [3]. Das bedeutet, dass sich diese Substanzen sehr stark an diese Umweltmatrices binden. Punkt (ii) erscheint schon eher wahrscheinlich, da während der Regenzeiten enorme Wassermengen aus den höheren Regionen des Rift Valley in den Lake Abaya stürzen. Diese führen sehr große Mengen Sedimente (Boden) und Steine mit sich. Es könnte sein, dass dies zu einer Durchmischung der Sedimente führt und somit eine Schichtung ihrem Alter entsprechend verhindert wird. Dies ist umso wahrscheinlicher, da der Lake Abaya ein sehr flacher See mit maximal 26 m Tiefe ist. Abbildung 35 zeigt eine Aufnahme eines Flusses im Untersuchungsgebiet während der Regenzeit. Wird das Sediment im Lake Abaya aufgewirbelt, besteht zudem die Möglichkeit einer Remobilisierung der Analyten aus dem Sediment in die Wasserphase, da durch die Durchmischung die Gleichgewichtsverteilung der Analyten zwischen Sediment und Wasserphase gestört wird. Das könnte zudem die Bioverfügbarkeit der Pollutants für Fische und andere Seebewohner erhöhen und möglicherweise zu einer Anreicherung in der Nahrungskette führen bzw. diese verstärken. Punkt (iii) kommt ebenso in Frage, da wie bereits in Abschnitt 7 dargestellt, mit dem Probennehmer zur Entnahme der Sedimentbohrkerne nicht wirklich „gebohrt“ wurde, sondern das Gerät lediglich durch die Gravitation in das Sediment hineingetrieben wurde.



Abbildung 35: Aufnahme eines Flusses im Untersuchungsgebiet während eines starken Regenereignisses (Foto: J. Krause).

Dies funktioniert wahrscheinlich nur bei den eher lockeren Sedimentschichten an der Oberfläche des Seebodens. Ein Eindringen in die darunter liegenden kompakteren, sandigen Sedimentschichten war so nicht möglich. Möglicherweise wurde nicht bis in die Sedimenttiefe „gebohrt“ bei der die Kontamination endet. Diese Möglichkeit wird gestützt durch die Beobachtung, dass die Menge an Boden, die pro Jahr in den Lake Abaya gelangt, sehr hoch sein muss. Dies erkennt man an dem starken Auftreten von Erosion im Untersuchungsgebiet (z. B. Abbildung 10), sowie auch in Abbildung 35.

Eine genaue Klärung des Sachverhalts ist allerdings, mit den zur Zeit vorhandenen Mitteln, nicht möglich.

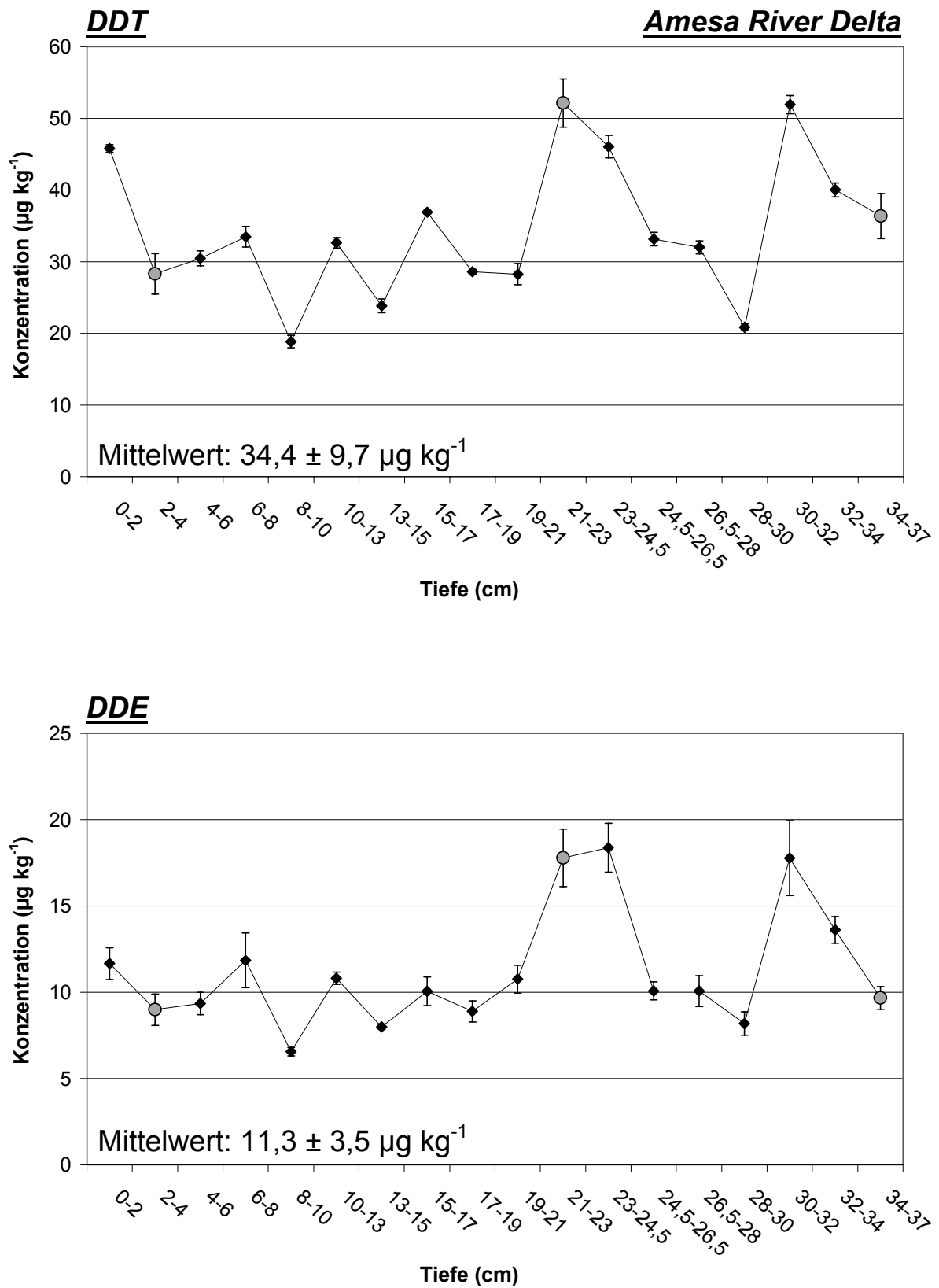


Abbildung 36: Tiefenverlauf für DDE und DDT im Sedimentbohrkern AD01 (Delta des Amesa River im Nordwesten des Sees)

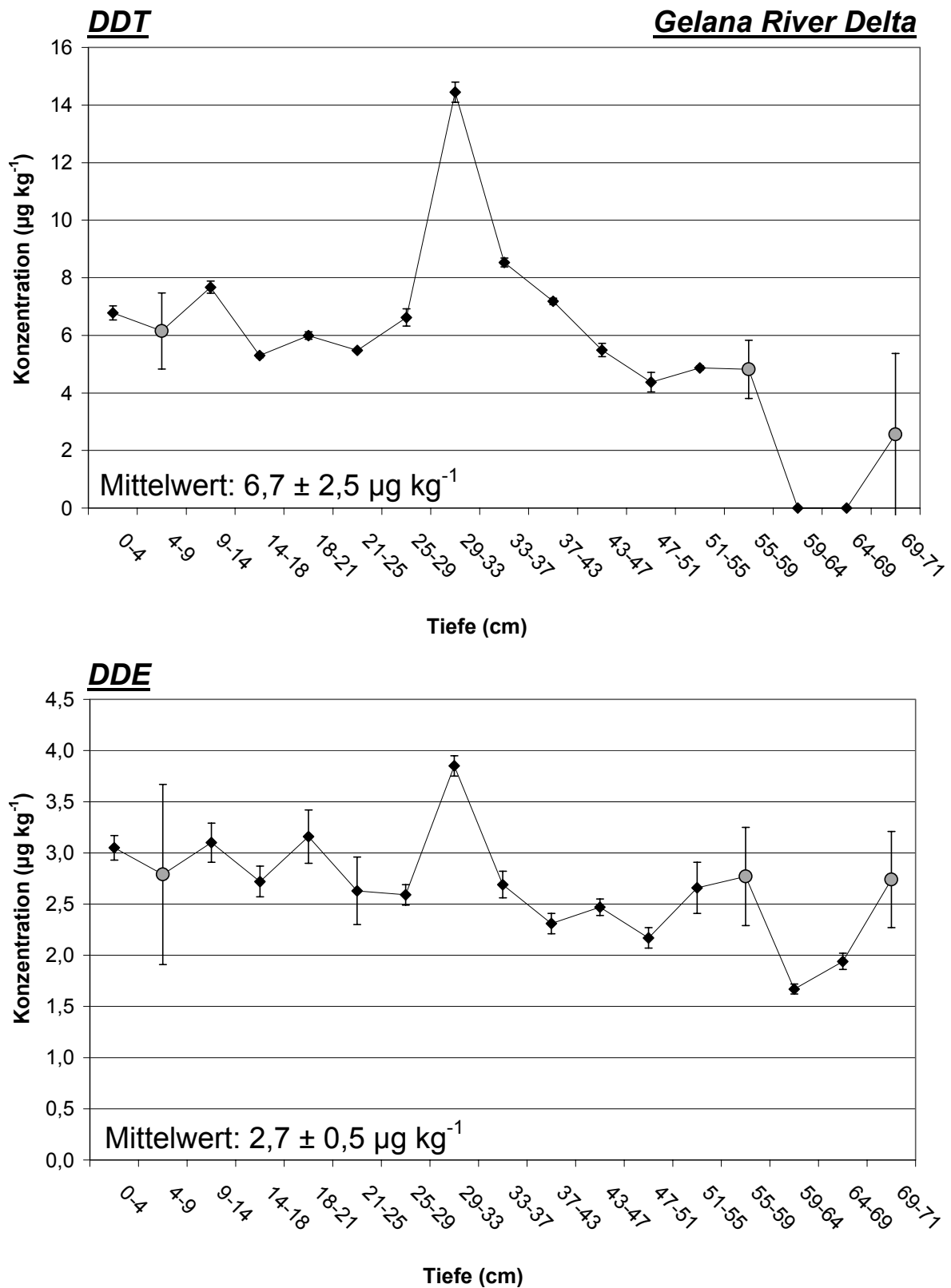


Abbildung 37: Tiefenverlauf für DDE und DDT im Sedimentbohrkern GeD03 (Delta des Gelana River am Ostufer des Sees ca. 40 km südlich des Gidabo Deltas)

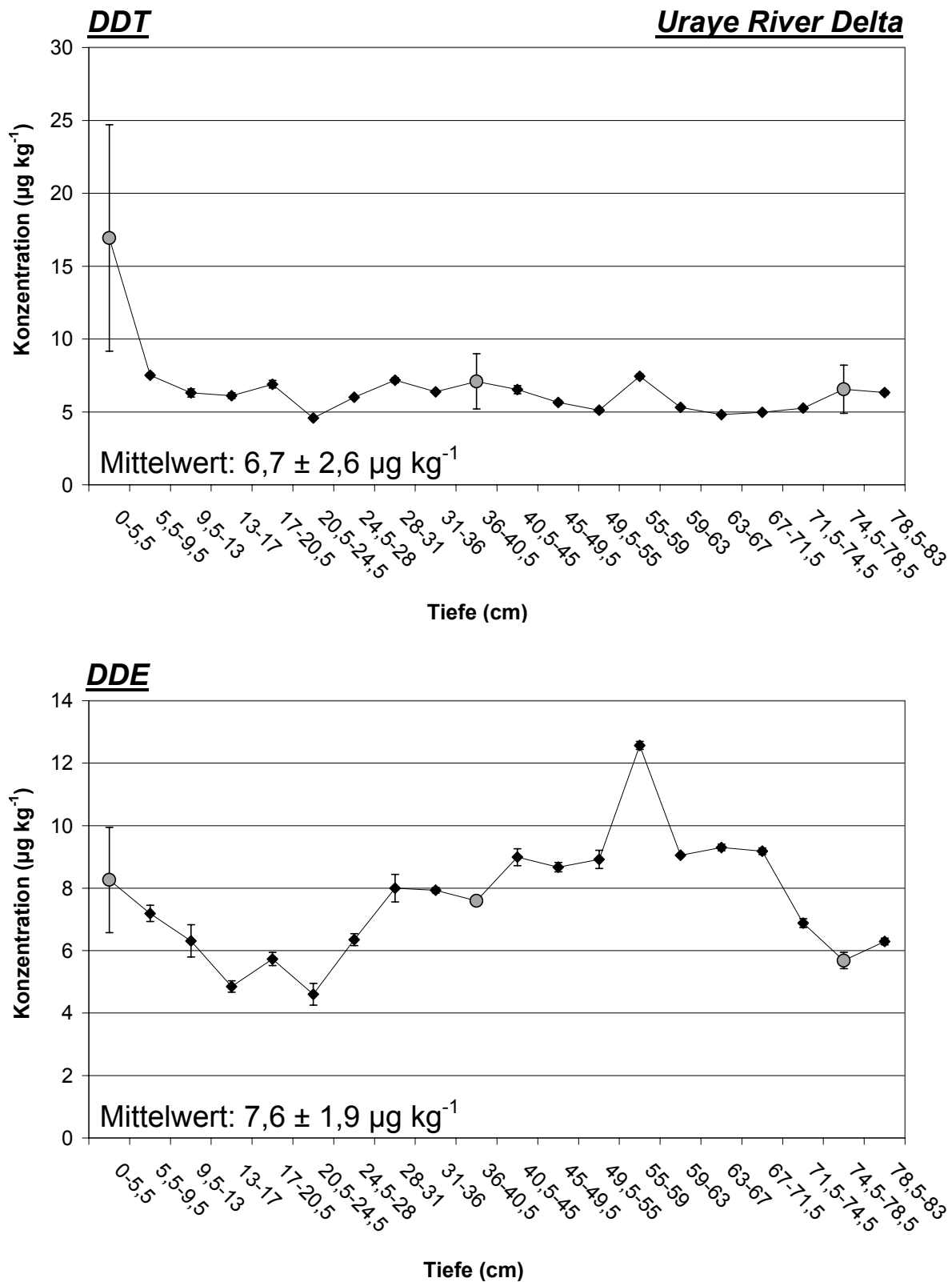


Abbildung 38: Tiefenverlauf für DDE und DDT im Sedimentbohrkern UD01 (Delta des Uraye River ca. 15 km südlich Amesa Delta)

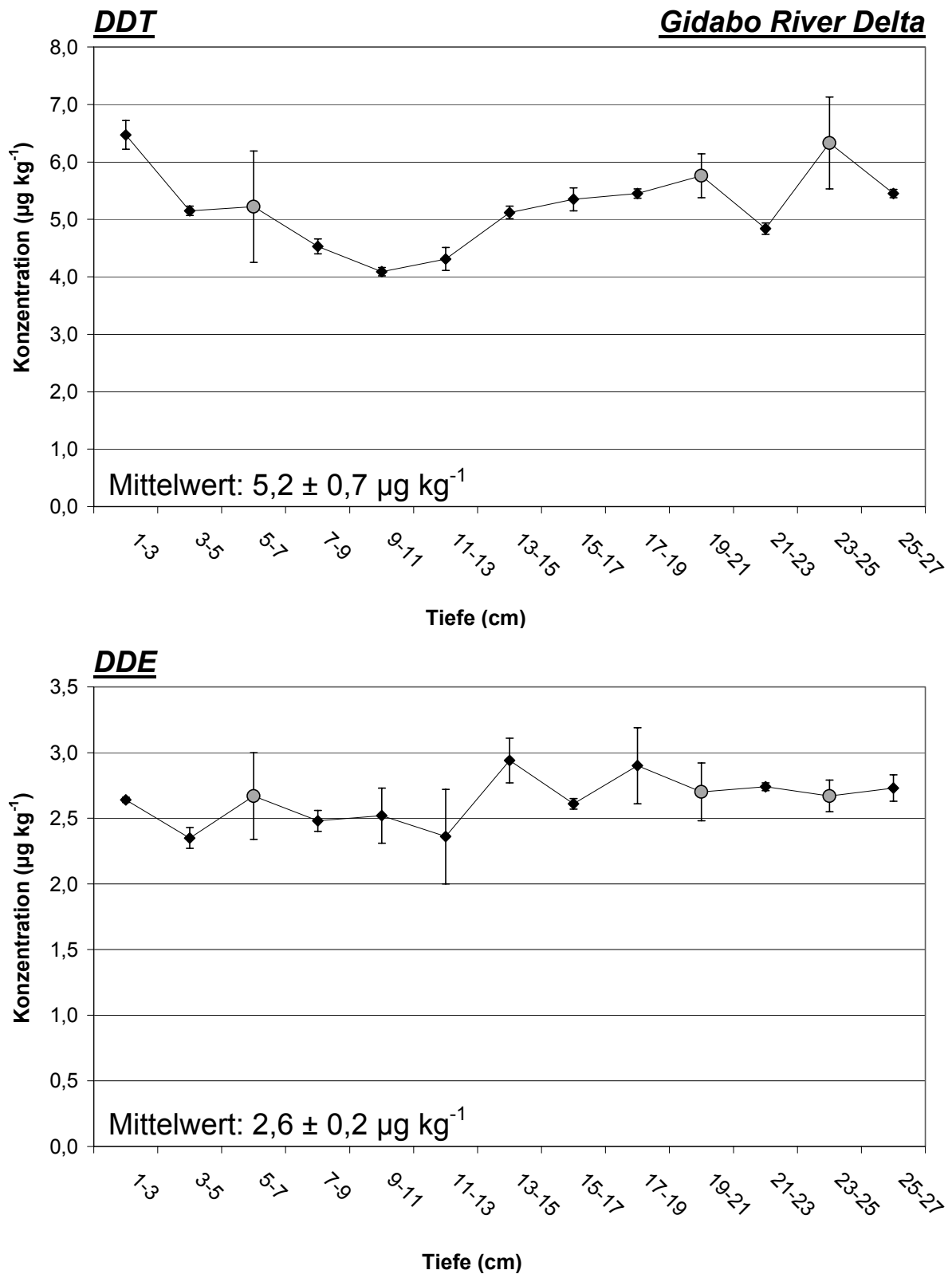


Abbildung 39: Tiefenverlauf für DDE und DDT im Sedimentbohrkern GD08 (Delta des Gidabo River im Nordosten des Sees)

Die Abbildungen 40 bis 43 zeigen die Ergebnisse der Messungen der Bodenproben. Gezeigt wird jeweils das beprobte Gebiet mit den dazugehörigen Messwerten. Im Unterschied zu den Sedimentproben konnten bei der Untersuchung der Bodenproben jeweils drei Bestimmungen an jeder Probe parallel durchgeführt werden, da genug Probenmaterial vorhanden war. Die dabei erzielten Standardabweichungen waren sehr gut (0,7 bis 11,7 %).

Zu den Messwerten sind zwei grundsätzliche Feststellungen zu treffen. Zum einen erkennt man, dass die Bodenproben ($3 - 3390 \mu\text{g kg}^{-1}$) tendenziell höher kontaminiert sind als die Sedimentproben ($1,6 - 55 \mu\text{g kg}^{-1}$). Das ist ein Hinweis darauf, dass nur ein kleiner Teil des in der Malariabekämpfung verwendeten DDTs und seiner Metaboliten in den Lake Abaya gelangt. Der größte Teil des DDTs bleibt vermutlich zunächst an die Böden am Ort seiner Verwendung gebunden und bildet dort hochkontaminierte „Hot Spots“ (Wie an den Probennahmestellen in den Abbildung 38 und 41). Dies wird gestützt durch die hohen K_{oc} -Werte der drei Verbindungen (26300 bis 350000) [3]. Der K_{oc} -Wert ist die Gleichgewichtskonstante für die Verteilung einer Verbindung zwischen Umweltmatrix und Wasserphase, normalisiert bezüglich des organischen Kohlenstoffgehalts des Materials. Ein hoher K_{oc} -Wert bedeutet, dass sich eine Verbindung stark an Umweltmatrices bindet.

Zum anderen wurden besonders hohe Messwerte für die Bodenproben aus den Siedlungen gefunden (Abbildungen 40 und 43, $71 - 3390 \mu\text{g kg}^{-1}$) und kleinere Messwerte landwirtschaftlichen Bereich (Abbildungen 41 und 42, $3 - 66 \mu\text{g kg}^{-1}$). Da die Erosion, und somit der Transport der Böden in den See, aber hauptsächlich im landwirtschaftlichen Bereich auftritt, werden auch hauptsächlich Böden aus landwirtschaftlich genutzten Flächen in den See gelangen. Somit stehen die relativ kleinen Konzentrationen, die auf den landwirtschaftlichen Nutzflächen gemessen wurden, im Einklang mit den im Lake Abaya gefundenen Konzentrationen. Woher stammt nun aber das DDT auf den landwirtschaftlichen Nutzflächen? Zunächst könnte es sich um Überreste aus der Benutzung in der Landwirtschaft handeln. Heute wird es für diesen Zweck, nach offiziellen Angaben, nicht mehr verwendet, jedoch ist DDT eine sehr langlebige (persistente) Verbindung. Auch wird darüber berichtet, dass DDT in Äthiopien auf Märkten und in Geschäften illegalerweise noch immer käuflich zu erwerben ist. Auch könnte das in der Malariabekämpfung verwendete DDT langsam aus dem Häusern und Gärten in die Umgebung abgegeben werden. Es könnte zum Beispiel in geringen Mengen mit dem Regen ausgewaschen oder, an Staubpartikel oder feine Bodenpartikel gebunden, mit dem Wind fort getragen werden.



Abbildung 40: Beprobte Siedlung in Arba Minch und Analysenergebnisse (Foto: J. Krause).



Abbildung 41: Beprobtes ländliches Gebiet („Dorze“, westliche Flanke des Grabenbruchs, ca. 2800 m hoch gelegen), Ackerland, Wohnbehauungen („Tukuls“), Analysenergebnisse.



Abbildung 42: Arba Minch State Farm, Sicht aus ca. 2500 m Höhe auf die Farm (links oben), Feldarbeiter beim Anlegen eines Bewässerungskanals (rechts oben), Bananenfeld (links unten), Maisfeld (rechts unten), Analysenergebnisse.



“House Spraying” (Malaria Vorbeugung)
 DDT-Pulver wird über dem offenen Feuer in Kerosin aufgelöst ($0,5 \text{ kg L}^{-1}$).
 Die Prozedur wird alle 6 Monate durchgeführt.
 2 g m^{-2} werden verwendet.



Abbildung 43: House Spraying Aktion in der Arba Minch University und Analysenergebnisse; oben rechts: „House Spraying“-Prozedur.

Vergleicht man die gefundenen Werte für die Kontamination des Untersuchungsgebietes mit DDT mit Veröffentlichungen, die über vergleichbare Untersuchungen auf dem afrikanischen Kontinent berichten, so findet man zunächst heraus, dass es relativ wenig Veröffentlichungen zu diesem Thema gibt. Erkenntnisse über die Kontamination äthiopischer Sedimente und Böden mit DDT-Verbindungen gibt es meines Wissens nicht. Megersa et al. [91] untersuchten einige Wasserproben aus drei äthiopischen Seen auf die basischen Triazin-Herbizide. Sie verwendeten Membranextraktion („Supported Liquid Membran (SLM) Extraction“) und HPLC-UV für ihre Messungen. Im Lake Abaya konnten sie diese Verbindungen nicht nachweisen. Im Lake Chamo fanden sie sehr kleine Spuren des Herbizids Atrazin (ca. $0,04 \mu\text{g L}^{-1}$), im Lake Awassa fanden sie Spuren von Atrazin und Terbutryn im Bereich von ebenfalls ca. $0,04 \mu\text{g/L}$.

Abbassy et al. [92] untersuchten Sedimentproben aus dem Lake Manzala in Ägypten auf DDT-Verbindungen und fanden durchschnittlich $21,89 \mu\text{g kg}^{-1}$ für p,p'-DDE, $2,19 \mu\text{g kg}^{-1}$ für p,p'-DDD und $6,85 \mu\text{g kg}^{-1}$ für p,p'-DDT. Sie verwendeten Soxhletextraktion mit 15 % Dichlormethan in Hexan und GC-ECD zur Detektion.

Yamashita et. al [93] berichten ebenfalls über eine Untersuchung von Sedimentproben aus dem Lake Manzala. Zusätzlich haben sie Proben aus dem Nil untersucht. Sie ermittelten Konzentrationen von 3,2 bis $432 \mu\text{g kg}^{-1}$ für p,p'-DDE, 2,1 bis $129 \mu\text{g kg}^{-1}$ für p,p'-DDD und 2,2 bis $79 \mu\text{g kg}^{-1}$ in Sedimenten aus dem Manzala Lake und Konzentrationen von 43 bis $48 \mu\text{g kg}^{-1}$ für p,p'-DDE, 32 bis $40 \mu\text{g kg}^{-1}$ für p,p'-DDD und 5,6 bis $8,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ für Sedimente aus dem Nil. Sie verwendeten Soxhletextraktion mit Dichlormethan/ Hexan (3/1, v/v) als Lösungsmittel und GC-ECD zur Detektion.

El-Gendy et al. [94] berichten von Konzentrationen von bis zu $205,8 \mu\text{g kg}^{-1}$ für die Summe der DDT-Verbindungen (DDE, DDD, DDT) ebenfalls für Proben aus dem Nil. Für p,p'-DDT wurden dabei die höchsten Konzentrationen ermittelt (bis zu $92,3 \mu\text{g kg}^{-1}$). Sie verwendeten Soxhletextraktion mit Hexan als Lösungsmittel. Zur Detektion wurde GC-ECD verwendet.

Mansour und Sidky [95] untersuchten Sedimentproben aus weiteren Seen in Ägypten, dem Quarun Lake und den Wadi El-Rayan Lakes (offensichtlich zwei benachbarte Seen). Im Quarun Lake fanden sie Konzentrationen von 118 und $646 \mu\text{g kg}^{-1}$ für p,p'-DDE und

p,p'-DDD. In den Wadi El-Rayan Lakes konnten sie keine Kontamination der Sedimentproben mit DDT-Verbindungen nachweisen.

Kishimba et al. [96] berichten von Untersuchungen zu DDT-Verbindungen in Sedimenten und Böden aus Tanzania. Sie ermittelten Konzentrationen von durchschnittlich $204,67 \mu\text{g kg}^{-1}$ für die Summe der DDT-Verbindungen (DDE, DDD, DDT) in Sedimenten aus verschiedenen Flüssen und Seen in Tansania, sowie in Proben von der Küste des Indischen Ozeans. In Böden, die hauptsächlich von landwirtschaftlichen Nutzflächen stammten, fanden Sie Konzentrationen von durchschnittlich $184,92 \mu\text{g kg}^{-1}$. Sie verwendeten eine Kombination aus Schütteln und Ultraschallextraktion mit Cyclohexan/ Aceton (1/1, v/v) als Lösungsmittel.

Elfvendahl et al. [97] berichten von extrem hohen Konzentrationen der DDT-Verbindungen am Standort eines ehemaligen Pestizidlagers in Tanzania. Sie fanden dort Konzentrationen zwischen 12000 und $282000 \text{ mg kg}^{-1}$ (1,2 – 28,2 %). Sie verwendeten eine Kombination aus Schütteln und Ultraschallextraktion mit Cyclohexan/ Aceton (1/1, v/v) als Lösungsmittel.

Everaarts et al. [98] berichten von Konzentrationen von $0,46 \mu\text{g kg}^{-1}$ für p,p'-DDD und $2,60 \mu\text{g kg}^{-1}$ für p,p'-DDE in Sedimenten aus Kenia (Küstenzone am Indischen Ozean). p,p'-DDT selber konnten sie nicht detektieren.

Zaranyika et al. [99] berichten von Konzentrationen zwischen $17 \mu\text{g kg}^{-1}$ und $117,7 \text{ mg kg}^{-1}$ in Sedimenten aus dem Lake Kariba (Simbabwe). Sie verwendeten Soxhletextraktion mit Benzol/ Hexan (1/2, v/v) als Lösungsmittel und GC-ECD zur Detektion.

Fatoki und Awofulo [100] untersuchten die Kontamination von Sedimenten aus dem Hafen von East London und dem Buffalo River (Südafrika). Sie ermittelten Konzentrationen von $0,6$ bis $110,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ für die DDT-Verbindungen. Soxhletextraktion mit Dichlormethan als Lösungsmittel wurde verwendet.

Wie man erkennt, liegen die in dieser Arbeit ermittelten Konzentrationen für das Einzugsgebiet des Lake Abaya in mit den Literaturwerten vergleichbaren Größenordnungen. Die Sedimentproben und die Bodenproben aus den landwirtschaftlichen Nutzflächen liegen im Vergleich mit den Literaturwerten eher im unteren bis mittleren Bereich. Die Bodenproben aus den Siedlungen (Abbildungen 40 und 43), vor allem die Proben aus der Arba Minch University (Abbildung 43), liegen dagegen im oberen Bereich der Literaturwerte. Sie werden daher als hoch kontaminiert gewertet.

11 Zusammenfassung:

11.1 Methodenentwicklung:

Zur Spurenanalyse von Insektiziden im $\mu\text{g kg}^{-1}$ -Bereich in Sedimentbohrkernen und Böden aus dem Einzugsgebiet des Lake Abaya, einem der großen Binnenseen Äthiopiens, wurden Messmethoden, von der Probenvorbereitung bis zur Bestimmung mittels GC-MS, untersucht. Die Messmethoden wurden mit Hilfe ausführlicher Experimente zu den Wiederfindungen der Analyten validiert. Zur Extraktion wurden Ultraschallextraktion (USE), Soxhletextraktion und Beschleunigte Lösungsmittlextraktion (PSE/ASE) verwendet.

Als Lösungsmittel wurden Hexan, Dichlormethan, Hexan/ Aceton (1/1, v/v) und Ethylacetat/ Methyl-*tert*-butylether (1/3, v/v) verglichen. Dabei stellte sich heraus, dass mit Hexan als Lösungsmittel nicht alle Analyten aus der Probenmatrix extrahiert werden konnten, während dies mit den anderen Lösungsmitteln möglich war. Außerdem stellte sich heraus, dass bei Verwendung oxygenierter Lösungsmittel (hier: Hexan/ Aceton (1/1, v/v) und Ethylacetat/ Methyl-*tert*-butylether (1/3, v/v)) sehr viel mehr schwerflüchtige Probenbestandteile (Matrixbestandteile), zusammen mit den Analyten extrahiert wurden, als bei der Verwendung von Hexan und Dichlormethan. Zugleich wurden für viele Analyten, unter Verwendung der oxygenierten Lösungsmittel, häufig Wiederfindungen über 100 % beobachtet. Als Konsequenz aus dieser Beobachtung wurde der Einfluss der Matrixbestandteile im Extrakt auf den gaschromatographischen Response untersucht und ein Matrixeffekt, bekannt als „*Matrix Induced Response Enhancement Effect*“, nachgewiesen. Dieser wurde bisher vor allem bei der gaschromatographischen Quantifizierung von Insektiziden in Lebensmittelextrakten beobachtet. Besonders hoch war der Matrixeffekt für den Analyten p,p'-DDT, wenn er aus stark mit Matrixbestandteilen belasteten Extrakten bestimmt wurde.

Deshalb wurde zur Analyse der Realproben die Ultraschallextraktion mit Dichlormethan als Lösungsmittel ausgewählt, da sie gute Wiederfindungen und mit Matrixbestandteilen gering belastete Extrakte lieferte.

Diese Methode konnte mit Hilfe eines zertifizierten Referenzmaterials erfolgreich überprüft werden. Die gemessenen Konzentrationen stimmen sehr gut mit den zertifizierten Konzentrationen überein.

11.2 Untersuchung von Realproben:

Es wurden Sedimentbohrkerne aus dem Lake Abaya und Bodenproben aus dem Einzugsgebiet des Sees untersucht.

Die Probennahme der Bodenproben wurde vor Ort selber durchgeführt. Bei der Untersuchung der Proben konnte eine großflächige Kontamination des Untersuchungsgebietes mit dem Insektizid DDT und seinen Metaboliten DDD und DDE im Bereich von $1,6 \mu\text{g kg}^{-1}$ bis $3390 \mu\text{g kg}^{-1}$ erfolgreich nachgewiesen werden.

DDT wird im Untersuchungsgebiet zur Vernichtung der Malaria-Mücken verwendet. Für alle anderen Anwendungen ist es weltweit verboten, vor allem wegen seiner hohen Persistenz mit Halbwertszeiten von Jahren bis Jahrzehnten.

Das Ziel gemeinsame Trends der Konzentrationen der Analyten, in Abhängigkeit von der Sedimenttiefe, in den Sedimentbohrkernen zu finden, konnte nicht erreicht werden. Aus diesen Trends sollte ursprünglich Hinweise auf das Alter der Sedimentschichten ermittelt werden. Da die Trends nicht gefunden wurden, kann eine Abschätzung des Alters der Sedimente im Lake Abaya so nicht erfolgen. Die möglichen Gründe für das Fehlen dieser Trends wurden ausführlich diskutiert.

In den Sedimentbohrkernen ($1,6 - 55 \mu\text{g kg}^{-1}$) wurden tendenziell niedrigere Konzentrationen gefunden als in den Bodenproben ($3 - 3390 \mu\text{g kg}^{-1}$). Besonders hoch waren die gefundenen Konzentrationen im Boden der Siedlungen. So wurde der höchste Messwert in Boden der Arba Minch University gefunden ($3390 \mu\text{g kg}^{-1}$). Daraus wurde gefolgert, dass das DDT am Ort seiner Verwendung zunächst hoch kontaminierte „Hot Spots“ bildet, und von dort langsam an die Umgebung abgegeben wird.

12 Ausblick:

Nachdem in dieser Arbeit nachgewiesen wurde, dass im Einzugsgebiet des Lake Abaya eine Kontamination der Sedimente und Böden mit DDT-Verbindungen vorliegt, wäre es sicher möglich diese Untersuchung in der Zukunft um einige Aspekte auszuweiten bzw. weiterzuführen. Interessant wäre die Untersuchung um weitere „DDT-Verbindungen“ zu erweitern. Damit meine ich nicht zuallererst das o,p'-DDT und seine Metabolite o,p'-DDE und o,p'-DDD, da es zumeist in einem festen Verhältnis von ca. 15 % im technischen DDT vorliegt, sondern vielmehr einige weitere Metaboliten des DDT wie Schwarzbauer et al. dies an hoch kontaminierten Sedimenten aus dem Teltowkanal bei Berlin demonstriert haben [101-102]. In den höher kontaminierten Proben aus unserem Untersuchungsgebiet könnten diese Metaboliten ebenfalls nachzuweisen sein. Interessant wäre auch Wasserproben aus den Seen des äthiopischen Rift Valley in das Untersuchungsprogramm mit aufzunehmen und auch die Analysen von Sediment- und Bodenproben auf weitere Seen und ihre Einzugsgebiete auszuweiten. Auch die Untersuchung von Grundwasserproben erscheint mir interessant. Diese Untersuchung könnte so angelegt sein, dass sie eine Auswertung der Ergebnisse mittels Geographischer Informations Systeme (GIS) gestattet. Diese Technik würde es zum Beispiel erlauben den Verbleib von DDT in der Umwelt (z. B. adsorbiert an Sedimente und Boden, gelöst im Seewasser...) ortsaufgelöst darzustellen, mit den Orten seiner Benutzung, der Population der Malariamücken oder dem Auftreten von Malariafällen zu vergleichen. Dadurch könnte die Effizienz des Einsatzes von DDT ortsabhängig überprüft und die Umweltfolgen ebenso ortsabhängig eingeschätzt werden und möglicherweise die benötigte Menge an Insektiziden minimiert werden. Problematisch ist dabei allerdings, dass zur Durchführung dieses Projektes eine sehr hohe Zahl an Probennahmen und Messungen durchgeführt werden müsste. Dafür müssten Boot und Geländewagen regelmäßig und zuverlässig zur Verfügung stehen. Dies würde natürlich zu sehr hohen Kosten führen. Am besten müssten auch die Möglichkeiten des Labors vor Ort erweitert werden, um die Experimente möglichst dort durchzuführen. Dies geschieht zurzeit im Rahmen des Ausbaus des Arba Minch Water Technology Institutes (AWTI) zu einer Universität inklusive eines Chemie-Fachbereichs. Problem könnte sein, dass man für den zuverlässigen Betrieb analytischer Messgeräte auf jedem Fall eine konstante

Stromversorgung benötigt, die es dort, zumindest zum Zeitpunkt meines Aufenthalts, noch nicht gab. Auch müssten natürlich die Informationen über die anderen Parameter, wie die Population der Malariamücken, ermittelt werden.

Auf der Seite der Methodenentwicklung könnte das in unserer Arbeitsgruppe neu zur Verfügung stehende hochmoderne ASE-Gerät, zusätzlich zu den in dieser Arbeit beschriebenen Extraktionsmethoden, ausführlich erprobt werden.

13 Danksagung

Bei Herrn Prof. Dr. Bernd W. Wenclawiak bedanke ich mich für die Bereitstellung des sehr interessanten und bildenden Themas, seine stete Diskussionsbereitschaft und die ausgezeichnete Betreuung, besonders auch für den sehr freundlichen und persönlichen Umgang.

Allen Mitarbeitern des Arbeitskreises danke ich für die Hilfsbereitschaft und das angenehme Arbeitsklima. Mein besonderer Dank gilt dabei Dr. Henning Beer, Sandra Bohn, Dr. Dirk C. Hinz, Ulrike Koch, Gisela Steger und Sylvia Wilnewski.

Herrn Dr. Dirk C. Hinz danke ich für die Einführung in die GC-MS Technik.

Ulrike Koch und Gisela Steger danke ich für die sorgfältige Durchsicht der Arbeit.

Dipl. Geogr. Stephan Thiemann und Dr. Ababu Teklemariam Tiruneh danke ich für die Unterstützung während der Reise nach Äthiopien und darüber hinaus.

Prof. Dr. Brigitta Schütt danke ich für die Überlassung der Sedimentproben. Prof. Dr.-Ing. Gerd Förch danke ich für die Einladung zur Tagung nach Addis Abeba im November 2004 und die Möglichkeit meine Ergebnisse dort zu präsentieren.

Jens Beck, Rüdiger Hahl und Jan Krause danke ich für die Überlassung einiger Fotos.

Bei meinen Eltern bedanke ich mich für die langjährige Unterstützung, ohne die mir das Chemiestudium nicht möglich gewesen wäre.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) danke ich für die Finanzierung des Projektes.

14 Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen:

AED Atomemissionsdetektor

APCI Atmospheric Pressure Chemical Ionisation

ASE Beschleunigte Lösungsmittlextraktion (Accelerated Solvent Extraction)

AWTI Arba Minch Water Technology Institute

BTX Gruppe der Aromaten Benzol, Toluol und Xylol

CI Chemische Ionisation

DDD p,p'-Dichlor-1,1-diphenyl-2,2-dichlorethan

DDE 2,2-Bis(4-chlorphenyl)-1,1-dichlorethen

DDT p,p'-Dichlor-2,2-diphenyl-1,1,1-trichlorethan

DFG Deutsche Forschungsgemeinschaft

ECD Elektroneneinfangdetektor

EI Elektronenstossionisation

EPA Environmental Protection Agency

ESI Elektrospray Ionisation

FPD Flammenphotometrischer Detektor

GC Gaschromatographie

GCD Graphitized Carbon Black

GC-MS Gaschromatographie-Massenspektrometrie

GIS geographische Informations Systeme

GPC Gelpermeationschromatographie

GTZ Gesellschaft für technische Zusammenarbeit

HCH Hexachlorcyclohexan

HDR Human Development Report

HPLC Hochdruck-Flüssigchromatographie

HWE Hot Water Extraction

ICP-OES Induktiv gekoppeltes Plasma – Optische Emissions Spektroskopie

IR Infrarotspektroskopie

LHKW leichtflüchtige halogenhaltige Kohlenwasserstoffe

LOD Nachweisgrenze (Limit of Detection)

LOQ Bestimmungsgrenze (Limit of Quantification)

MSD Massenselektiver Detektor
MTBE Methyl-*tert*-butylether
MWE Mikrowellenextraktion
m/z Masse-Ladungs Verhältnis
NCI Negative Chemische Ionisation
NMR Nuclear Magnetic Resonance
N.N. nomen nescio (lat.: Name unbekannt)
NPD Stickstoff-Phosphor-Detektor
OCP Organochlorpestizide
ODS Octadecylsilan
PAHs Polycyclische Aromatische Kohlenwasserstoffe
PCBs Polychlorierte Biphenyle
PCB 209 Decachlorobiphenyl
PCI Positive Chemische Ionisation
PCNB Pentachloronitrobenzol
PFTBA Perfluortributylamin
PSE Pressurized Solvent Extraction
PTV-Injektion temperaturprogrammiertes Inletsystem
SAX Strong Anion Exchanger
SBSE Stirbar Sorptiv Extraction
SEV Sekundärelektronenvervielfacher
SFE Überkritische Fluid Extraktion
SIM Selected Ion Monitoring
SOX Soxhletextraktion
SPE Festphasenextraktion (Solid Phase Extraction)
SPME Festphasen Mikroextraktion
TBA-Sulfit Tetrabutylammonium – sulfit
TIC Totalionenstrom
TID Thermionischer Detektor
UNDP United Nations Development Program
USE Ultraschallextraktion

15 Literaturverzeichnis:

- [1] <http://nobelprize.org/medizine/laureates/1948/muller-bio.html>
- [2] Carson R.: *Silent Spring*, Houghton Mifflin Company, Boston **2002**
- [3] <http://toxnet.nlm.nih.gov>
- [4] Calmano W. (Herausgeb.): *Untersuchung und Bewertung von Sedimenten, Ökotoxikologische und chemische Testmethoden*, Springer Verlag, Berlin **2001**
- [5] PAN Germany: *Die Stockholm Convention*, Pesticide Action Network Germany, Hamburg **2001**
- [6] Thielke T.: Chemokeule aus der Drogerie, *Der Spiegel* 30. Oktober **2004**, 45, 176
- [7] Krause J., Schütt B., Thiemann S.: Hare River Catchment Landscape Character of a Drainage Basin in the Southern Ethiopian Rift Valley, in: *Sedimentary Studies in Tropics and Subtropics, Book of Abstracts* **2002/03**, 16 – 40
- [8] N. N.: Gift für die Armen, *Die Zeit* 21. August **2003**, 35
- [9] <http://www.lib.utexas.edu/maps/africa>
- [10] www.cia.gov/cia/publications/factbook
- [11] United Nations Development Program (UNDP): *Human Development Report* **2004**, New York
- [12] Yeneneh H., Gyorkos T. W., Joseph L., Pickering J., Tedia S.: Antimalarial drug utilization by woman in Ethiopia: a knowledge-attitudes-practice study, *Bulletin of the World Health Organization* **1993**, 71 (6), 763 – 772
- [13] Tilahun D. A.: Beliefs and traditional treatment of malaria in kische settlement area, southwest Ethiopia, *Ethiop. Med. J.* **2003**, 41, 25 – 43
- [14] Hübschmann H.-J.: *Handbuch der GC-MS*, VCH-Verlag, Weinheim **1996**
- [15] www.sge.com
- [16] Heberer T.: Dissertation, Technische Universität Berlin, 1995
- [17] Budzikiewicz H.: *Massenspektrometrie, Eine Einführung*, VCH-Verlag, Weinheim **1992**
- [18] Spektrenbibliothek Wiley 5 – Wiley Registry of Mass Spectral Data
- [19] *Bedienhandbuch Gaschromatograph HP 6890*, Hewlett – Packard **1995**
- [20] Bekele S.: Dissertation, Technische Universität Dresden, **2001**

- [21] www.gtz.de
- [22] Ellison S. L. R., Rösslein M., Williams A. (Herausgeb.): *Eurachem/CITAC Guide Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen*, zweite Auflage (Internetversion), Februar **2004**
- [23] Blackwell P. A., Lutzhoft H. C. H., Ma H. P., Halling-Sorensen B., Boxall A. B. A., Kay P.: Ultrasonic extraction of veterinary antibiotics from soils and pig slurry with SPE clean-up and LC-UV and fluorescence detection, *Talanta* **2004**, *64* (4), 1058 – 1064
- [24] Zhao R. S., Chu S. G., Zhao R. B., Xu X. B., Liu X. F.: Ultrasonic extraction followed by sulfuric acid silica gel cleanup for the determination of alpha-hexachlorocyclohexane enantiomers in biota samples, *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, *381* (6), 1248 – 1252
- [25] Banjoo D. R., Nelson P. K.: Improved ultrasonic extraction procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments, *J. Chromatogr. A* **2005**, *1066* (1-2), 9 – 18
- [26] Quan L., Li S. F., Tian S. J., Xu H., Lin A. Q., Gu L.: Determination of organochlorine pesticide residues in ginseng root by orthogonal array design soxhlet extraction and gas chromatography, *Chromatographia* **2004**, *59* (1-2), 89 – 93
- [27] Delauney-Bertoncini N., van der Wielen F. W. M., de Voogt P., Erlandsson B., Schoemakers P. J.: Analysis of low-molar-mass materials in commercial rubber samples by Soxhlet and headspace extractions followed by GC-MS analysis, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2004**, *35* (5), 1059 – 1073
- [28] Ahmed U. K., Ujang Z., Woon C. H., Indran S., Mian M. N.: Development of extraction procedures for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in municipal sewage sludge, *Water Science and Technology* **2004**, *50* (9), 137 – 144
- [29] Cheng Y., Li S. M.: Analytical method development of long-chain ketones in PM 2,5 aerosols using accelerated solvent extraction and GC/FID/MSD, *Int. J. Env. Anal. Chem.* **2004**, *84* (5), 367 – 378
- [30] Breithaupt D. E.: Simultaneous determination of carotenoids used as food coloring additives: applicability of accelerated solvent extraction, *Food Chemistry* **2004**, *86* (3), 449 – 456

- [31] Preud'homme H., Potin-Gautier M.: Optimization of accelerated solvent extraction for polyhalogenated dibenzo-p-dioxins and benzo-p-furans in mineral and environmental matrixes using experimental designs, *Anal. Chem.* **2003**, 75 (22), 6109 – 6118
- [32] Pino V., Ayala J. H., Afonso A. M., Gonzales V.: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments by high-performance liquid chromatography after microwave-assisted extraction with micellar media, *J. Chromatogr. A* **2000**, 869 (1-2), 515 – 522
- [33] Ganeshjeevan R., Chandrasekar R., Sugumar P., Kadigachalam P., Radhakrishnan G.: Focused microwave aqueous extraction of chlorophenols from solid matrices and their analysis by chromatographic techniques, *J. Chromatogr. A* **2005**, 1069 (2), 275 – 280
- [34] Simoneau C., Naudin C., Hannaert P., Anklam E.: Comparison of classical and alternative extraction methods for the quantitative extraction of fat from plain chocolate and the subsequent application to the detection of added foreign fats to plain chocolate formulations, *Food Research International* **2000**, 33 (9), 733 – 741
- [35] Deng C. H., Yao N., Wang A. Q., Zhang X. M.: Determination of essential oil in a traditional Chinese medicine, Fructus amomi, by pressurized hot water extraction followed by liquid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta* **2005**, 536 (1-2), 237 – 244
- [36] Kronholm J., Revilla-Ruiz P., Porras S. P., Hartonen K., Carabias-Martinez R., Riekkola M. L.: Comparison of gas chromatography-mass spectrometry and capillary electrophoresis in analysis of phenolic compounds extracted from solid matrices with pressurized hot water, *J. Chromatogr. A* **2004**, 1022 (1-2), 9 – 16
- [37] Bogialli S., Curini R., Di Corcia A., Nazzari M., Tamburro D.: A simple and rapid assay for analyzing residues of carbamate insecticides in vegetables and fruits: Hot water extraction followed by liquid chromatography-mass spectrometry, *J. Agric. Food. Chem.* **2004**, 52 (4), 665 – 671
- [38] Vedaraman N., Srinivasakannan C., Brunner G., Ramabrahmam B. V., Rao P. G.: Experimental and modelling studies on extraction of cholesterol from cow brain using supercritical carbon dioxide, *J. Supercrit. Fluids* **2005**, 34 (1), 27 – 34
- [39] Seo J. S., Burri B. J., Quan Z. J., Neidlinger T. R.: Extraction and chromatography of carotenoids from pumpkin, *J. Chromatogr. A* **2005**, 1073 (1-2), 371 – 375

- [40] Ammann A., Hinz D. C., Addleman R. S., Wai C. M., Wenclawiak B. W.: Superheated water extraction, steam distillation and SFE of peppermint oil, *Fresenius J. Anal. Chem.* **1999**, *364* (7), 650 – 653
- [41] Riffel K. A., Groff M. A., Wenning L., Song H. C., Lo M. W.: Fully automated liquid-liquid extraction for the determination of a novel insulin sensitizer in human plasma by heated nebulizer and turbo ionspray liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. B* **2005**, *819* (2), 293 – 300
- [42] Tienpont B., David F., Dewulf E., Sandra P.: Pitfalls and solutions for the trace determination of phthalates in water samples, *Chromatographia* **2005**, *61* (7-8), 365 – 370
- [43] Yasui-Furukori N., Inoue Y., Kaneko S., Otani K.: Determination of fluvoxamine and its metabolite fluvoxamino acid by liquid-liquid extraction and column-switching high-performance liquid chromatography, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2005**, *37* (1), 121 – 125
- [44] Zambonin C. G., Balest L., De Benedetto G. E., Palmisano F.: Solid-phase microextraction-gas chromatography mass spectrometry and multivariate analysis for the characterization of roasted coffees, *Talanta* **2005**, *66* (1), 261 – 265
- [45] Beltran G., Aguilera M. P., Gordon M. H.: Solid phase microextraction of volatile oxidation compounds in oil-in-water emulsions, *Food Chemistry* **2005**, *92* (3), 401 – 406
- [46] Engelmann M. D., Hinz D. C., Wenclawiak B. W.: Solid-phase micro extraction (SPME) and headspace derivatization of clenbuterol followed by GC-FID and GC-SIMMS quantification, *Anal. Bioanal. Chem.* **2003**, *375* (5), 460 – 464
- [47] Juan-Garcia A., Pico Y., Font G.: Capillary electrophoresis for analyzing pesticides in fruits and vegetables using solid-phase extraction and stir-bar sorptive extraction, *J. Chromatogr. A* **2005**, *1073* (1-2), 229 – 236
- [48] Stopforth A., Tredoux A., Crouch A., van Helden P., Sandra P.: A rapid method of diagnosing pulmonary tuberculosis using stir bar sorptiv extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* **2005**, *1071* (1-2), 135 – 139
- [49] Standler A., Schatzl A., Klampfl C. W., Buchberger W.: Determination of the insect repellent Bayrepel® in pool and lake water by gas chromatography after preconcentration with solid-phase extraction and stir-bar-sorptive extraction, *Microchimica Acta* **2004**, *148* (3-4), 151 – 156

- [50] Schellin M., Hauser B., Popp P.: Determination of organophosphorus pesticides using membrane-assisted solvent extraction combined with large volume injection-gas chromatography-mass spectrometric detection, *J. Chromatogr. A* **2004**, *1040* (2), 251 – 258
- [51] Schellin M., Popp P.: Membrane-assisted extraction of seven phenols combined with large volume injection-gas chromatography-mass spectrometric detection, *J. Chromatogr. A* **2005**, *1072* (1), 37 – 43
- [52] Cukrowska E., Chimuka L., Nsengimana H., Kwaramba V.: Application of supported liquid membrane extraction and preconcentration of organotin compounds from environmental water samples, *Anal. Chim. Acta* **2004**, *523* (1), 141 – 147
- [53] *US EPA Method 3550, Ultrasonic Extraction*, Revision 2, December **1996**
- [54] *US EPA Method 3540, Soxhlet Extraction*, Revision 3, December **1996**
- [55] DIN Deutsches Institut für Normung e.V.: *DIN ISO 10382, Gaschromatographische Bestimmung des Gehaltes an polychlorierten Biphenylen (PCB) und Organochlorpestiziden (OCP)*, Beuth-Verlag, Berlin **1998**
- [56] *US EPA Method 3630, Silica Gel Cleanup*, Revision 3, December **1996**
- [57] *US EPA Method 3660, Sulfur Cleanup*, Revision 2, December **1996**
- [58] www.uwitec.com
- [59] Persönliche Mitteilung S. Thiemann, Universität Siegen
- [60] *US EPA Method 8270, Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS)*, Revision 4, January **1998**
- [61] Foreman W. T., Gates P. M.: Matrix-Enhanced Degradation of p,p'-DDT during Gas Chromatographic Analysis: A Consideration, *Environ. Sci. Technol.* **1997**, *31*, 905 – 910
- [62] Vinas P., Campillo N., Lopez-Garcia I., Aguinaga N., Hernandez-Cordoba M.: Capillary Gas Chromatography with Atomic Emission Detection for Pesticide Analysis in Soil Samples, *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 3704 – 3708
- [63] Sanchez-Brunete C., Albero B., Tadeo J. L.: Multiresidue Determination of Pesticides in Soil by Gas Chromatography-Mass Spectrometry Detection, *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 1445 – 1451

- [64] Erney D. R., Gillespie A. M., Gilvydis D. M., Poole C. F.: Explanation of the matrix-induced chromatographic response enhancement of organophosphorus pesticides during open tubular column gas chromatography with splitless or hot on-column injection and flame photometric detection, *J. Chromatogr.* **1993**, 638, 57 – 63
- [65] Otto M.: *Chemometrie*, VCH-Verlag, Weinheim **1997**
- [66] Jiminez J. J., Bernal J. L., del Nozal M.-J., Toribio L., Martin M. T.: Gas Chromatography with electron-capture and nitrogen-phosphorus detection in the analysis of pesticides in honey after elution from a Florisil column. Influence of the honey matrix on the quantitative results, *J. Chromatogr. A* **1998**, 823, 381 – 387
- [67] Erney D. R., Poole C. F.: A Study of Single Compound Additives to Minimize the Matrix Induced Chromatographic Response Enhancement in the Gas Chromatography of Pesticide Residues, *J. High Resol. Chromatogr.* **1993**, 16, 501 – 503
- [68] Menkissoglu-Spirodi U., Fotopoulou A.: Matrix Effects in gas chromatographic determination of insecticides and fungicides in vegetables, *Int. J. Env. Anal. Chem.* **2004**, 84 (1-3), 15 – 27
- [69] Kocourek V., Hajslova J., Holadova K., Poustka J.: Stability of pesticides in plant extracts used as calibrants in the gas chromatographic analysis of residues, *J. Chromatogr. A* **1998**, 800, 297 – 304
- [70] Johnson P. D., Rimmer D. A., Brown R. H.: Adaption and application of a multi-residue method for the determination of a range of pesticides, including phenoxy acid herbicides in vegetation, based on high-resolution gel permeation chromatographic clean-up and gas chromatographic analysis with mass-selective detection, *J. Chromatogr. A* **1997**, 765, 3 – 11
- [71] Bernal J. L., del Nozal M. J., Jiminez J. J., Rivera J. M.: Matrix effects in the determination of acaricides and fungicides in must by gas chromatography with electron-capture and nitrogen-phosphorus detection, *J. Chromatogr. A* **1997**, 778, 111 – 117
- [72] Lehotay S. J., Eller K. I.: Development of a method of analysis for 46 pesticides in fruits and vegetables by supercritical-fluid extraction and gas-chromatography ion-trap mass-spectrometry, *J. AOAC Int.* **1995**, 78 (3), 821 – 830
- [73] Cabras P., Angioni A., Melis M., Minelli E. V., Pirisi F. M.: Simplified multiresidue method for the determination of organophosphorus insecticides in olive oil, *J. Chromatogr. A* **1997**, 761, 327 - 331

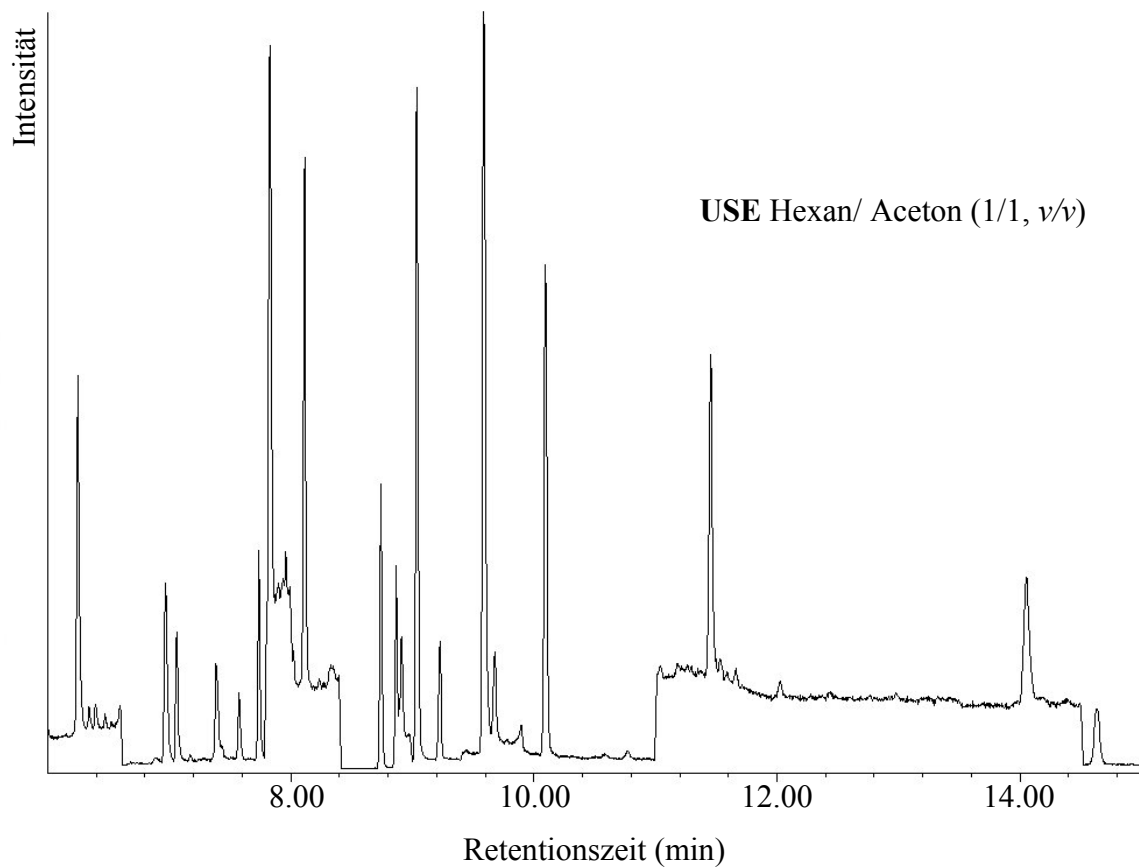
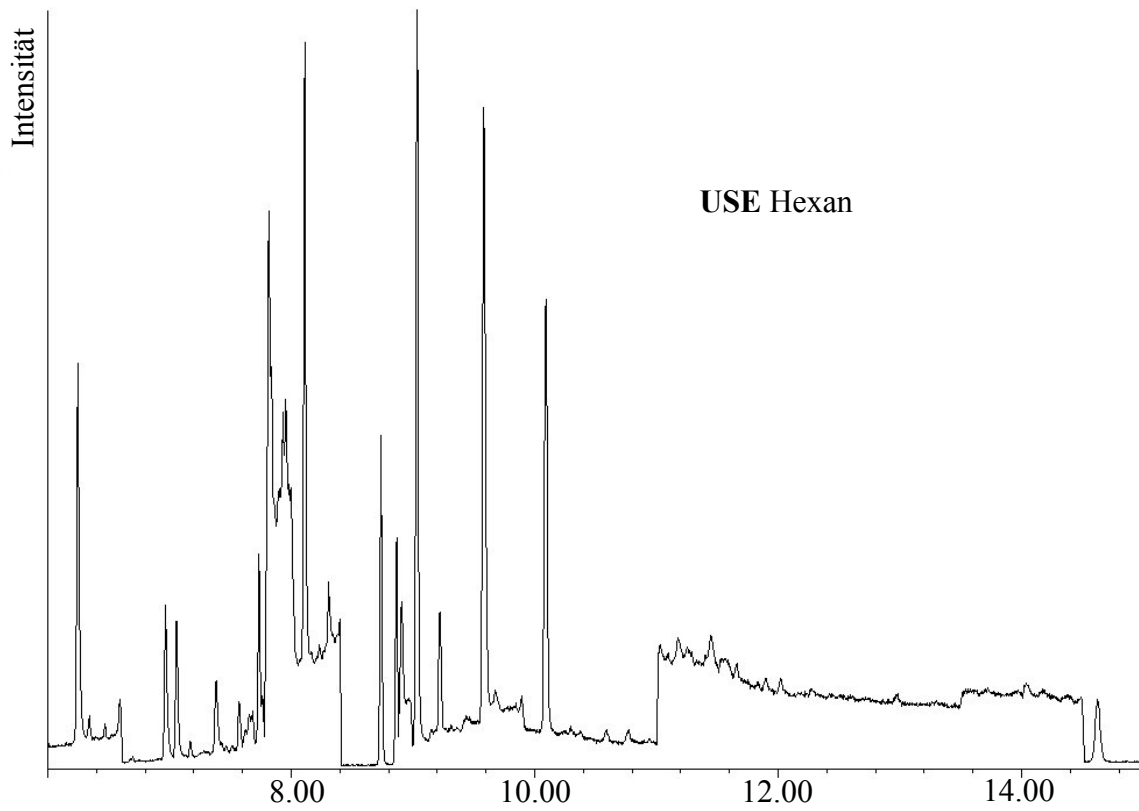
- [74] Rantakokko P., Yrityns M., Vartiainen T.: Matrix effects in the gas chromatographic-mass spectrometric determination of brominated analogues of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone, *J. Chromatogr. A* **2004**, 1028, 179 – 188
- [75] Jimenez J. J., Bernal J. L., del Nozal M.-J., Toribio L., Arias E.: Analysis of pesticide residues in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with electron capture and nitrogen-phosphorus detection, *J. Chromatogr. A* **2001**, 919, 147 – 156
- [76] Schenck F. J., Lehotay S. J.: Does further clean-up reduce the matrix enhancement effect in gas chromatographic analysis of pesticide residues in food, *J. Chromatogr. A* **2000**, 868, 51 – 61
- [77] Mourabit F., Deger A. B., Gremm T. J., Ouassini A., Frimmel F. H.: Reduction of Matrix-effects in Pesticide Analysis with Gas Chromatography-Ion Trap Mass Spectrometry (GC/ITD-MS) by Clean-up Processes, *J. Sep. Sci.* **2002**, 30 (2-3), 108 – 116
- [78] Dabrowski L., Giergielewicz-Mozajska H., Gorski L., Biziuk M., Namiesnik J., Janicki B.: Determination of environmental pollutants in soil and sediments – Some aspects of sample clean-up and GC analysis, *J. Sep. Sci.* **2002**, 25, 290 – 296
- [79] Wylie P. L., Uchiyama K.: Improved Gas Chromatographic Analysis of Organophosphorus Pesticides with Pulsed Splitless Injection, *J. AOAC Int.* **1996**, 79 (2), 571 – 577
- [80] Godula M., Hajslova J., Alterova K.: Pulsed Splitless Injection and the Extent of Matrix Effects in the Analysis of Pesticides, *J. High Resol. Chromatogr.* **1999**, 22, 395 – 402
- [81] Mol H. G. J., Althuizen M., Janssen H.-G., Cramers C. A., Brinkmann U. A. T.: Environmental Applications of Large Volume Injection in Capillary GC Using PTV Injectors, *J. High Resol. Chromatogr.* **1996**, 19, 69 – 79
- [82] Anatassiades M., Mastovska K., Lehotay S. J.: Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides, *J. Chromatogr. A* **2003**, 1015, 163 – 184
- [83] Martinez-Galera M. Lopez-Lopez T., Gil-Garcia M. D., Martinez-Vidal J. L., Picon-Zamora D., Cuadros-Rodriguez L.: A comparative study of the correction of systematic errors in the quantification of pyrethroids in vegetables using calibration curves prepared using standards in pure solvent, *Anal. Bioanal. Chem.* **2003**, 375, 653 – 660

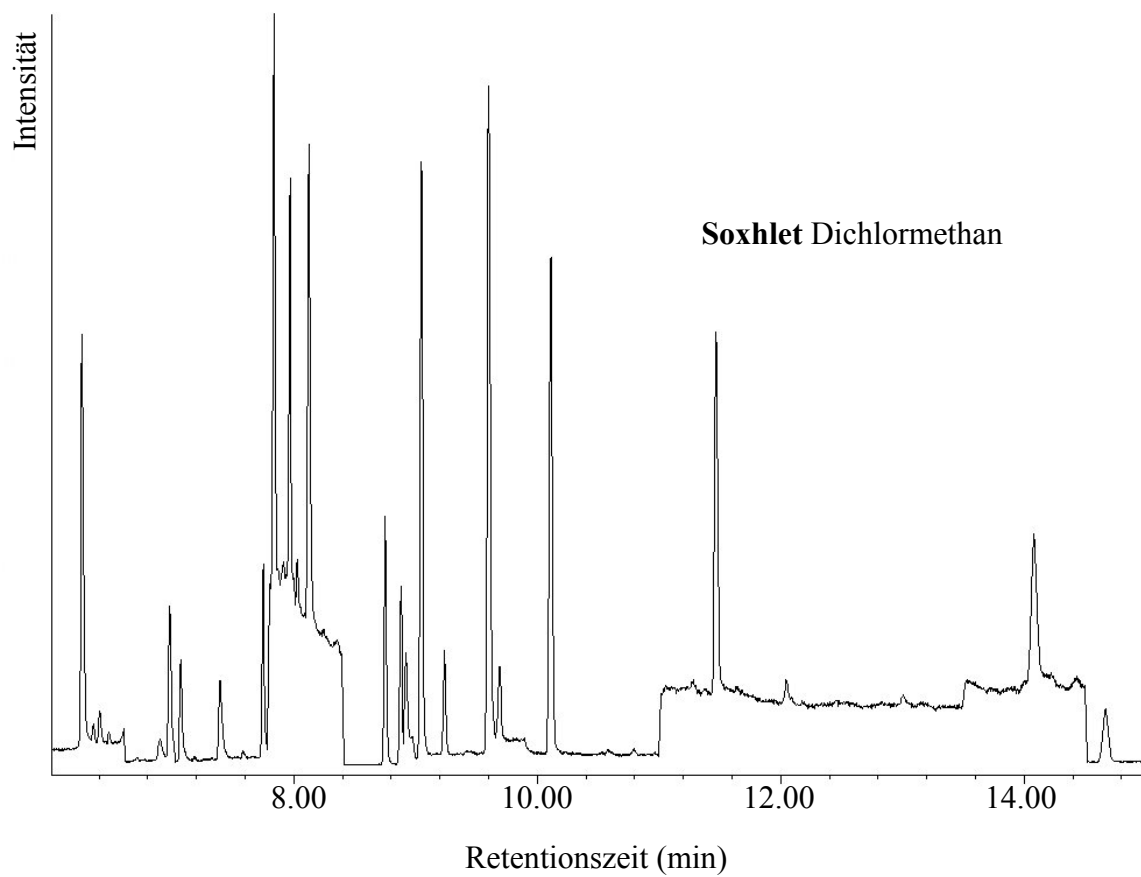
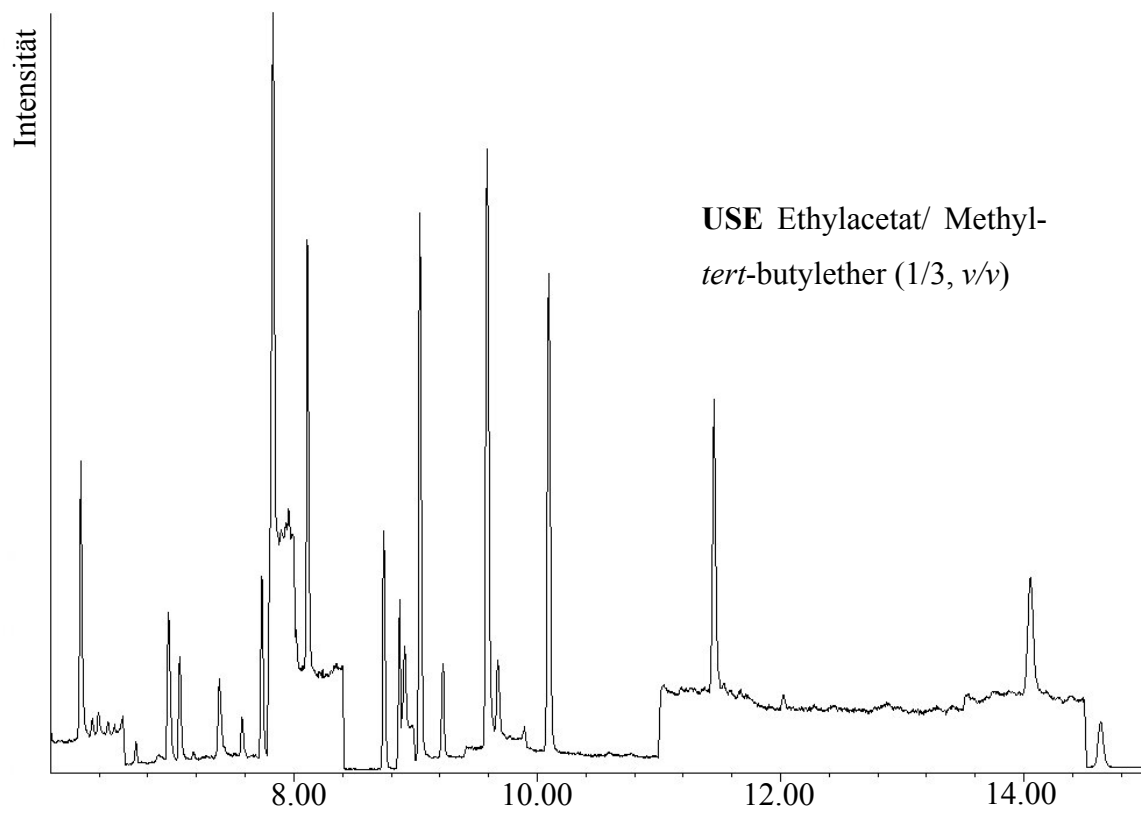
- [84] Cuadros-Rodriguez L., Garcia-Campana A. M., Almansa-Lopez E., Egea-Gonzales F. J., Lourdes Castro Cano M., Franich A. G., Martinez-Vidal J. L.: Correction function on biased results due to matrix effects Application to the routine analysis of pesticide residues, *Anal. Chim. Acta* **2003**, 478, 281 – 301
- [85] Hawthorne S. B., Grabanski C. B., Martin E., Miller D. J.: Comparisons of soxhlet extraction, pressurized liquid extraction, supercritical fluid extraction and subcritical water extraction for environmental solids: recovery, selectivity and effects on sample matrix, *J. Chromatogr. A* **2000**, 892, 421 – 433
- [86] Dabrowski L., Gierlielewicz-Mozajska H., Biziuk M., Gaca J., Namiesnik J.: Some aspects of the analysis of environmental pollutants in sediments using pressurized liquid extraction and gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* **2002**, 957, 59 – 67
- [87] Wenclawiak B. (Herausgeb.): *Quality Assurance in Analytical Chemistry*, Springer Verlag, Berlin **2004**
- [88] Meyer V. E., Majors R. E.: Minimizing the effect of sample preparation on measurement uncertainty, *LCGC Europe* **July 2002**, 2 – 5
- [89] Fontaine R. E., Najjar A. E., Prince J. S.: The 1958 malaria epidemic in Ethiopia, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1961**, 10, 795 – 803
- [90] Abeku T. A., van Oortmarsen G. J., Borsboom G., de Vlas S. J., Habbema J. D. F.: Spatial and temporal variations of malaria epidemic risk in Ethiopia: factors involved and implications, *Acta Tropica* **2003**, 87, 331 – 340
- [91] Megersa N., Solomon T., Chandravanshi B. S., Jönsson J. A.: sample clean-up, enrichment and determination of S-Triazine herbicides from southern Ethiopian lakes using supported liquid membrane extraction, *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* **2000**, 14(1), 9 – 24
- [92] Abbassy M. S., Ibrahim A. Z., Abdel-Kader H. M.: Persistent Organochlorine Pollutants in the Aquatic Ecosystem of Lake Manzala, Egypt, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **2003**, 70, 1158 – 1164
- [93] Yamashita N., Urushigawa J., Masunaga S., Walash M. I., Miyazaki A.: Organochlorine pesticides in water, sediment and fish from the Nile river and Manzala lake, Egypt, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **2000**, 77(4), 289 – 303
- [94] El-Gendy K. S., Abdalla A. A., Aly H. A., Tantawy G., El-Sebae A. H.: Residue levels of chlorinated hydrocarbon compounds in water and sediment samples from Nile branches in the delta, Egypt, *J. Environ. Sci. Health* **1991**, 26 (1), 15 – 36

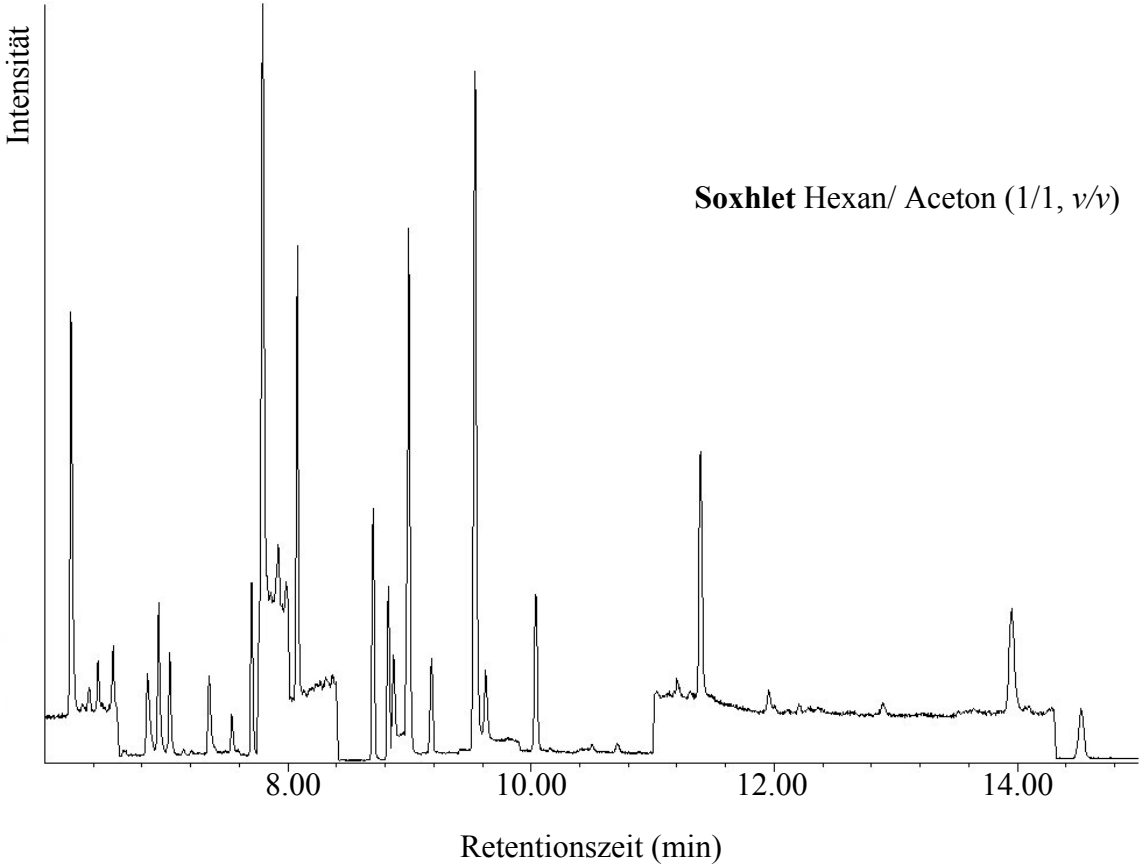
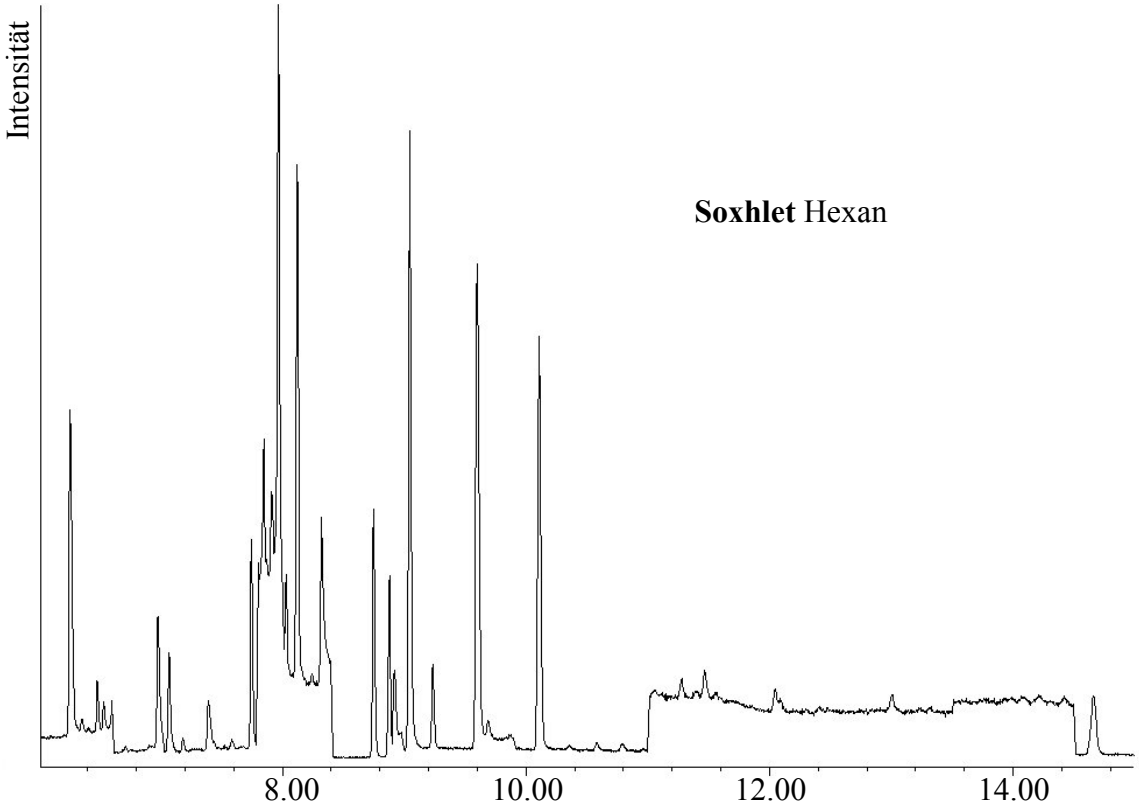
- [95] Mansour S. A., Sidky M. M.: Ecotoxicological Studies 6. The first comparative study between Lake Qarun and Wadi al-Rayan wetland (Egypt), with respect to contamination of their major components, *Food Chemistry* **2003**, 82, 181 – 189
- [96] Kishimba M. A., Henry L., Mwevura H., Mmochi A. J.: The status of pesticide pollution in Tanzania, *Talanta* **2004**, 64 (1), 48 – 53
- [97] Elfvendahl S., Mihale M., Kishimba M. A., Kylin H.: Pesticide pollution remains severe after cleanup of a stockpile of obsolete pesticides at Vikuge, Tanzania, *Ambio* **2004**, 33 (8), 503 – 508
- [98] Everaarts J. M., van Weerlee E. M., Fischerm C. V., Hillebrand Th. J.: Polychlorinated biphenyls and cyclic pesticides in sediments and macro-invertebrates from the coastal zone and continental slope of Kenya, *Marine Pollution Bulletin* **1998**, 36 (6), 492 – 500
- [99] Zaranyika M. F., Mambo E., Makhubalo J. M.: Organochlorine pesticide residues in the sediments of selected river bays in Lake Kariba, Zimbabwe, *Sci. Total Environ.* **1994**, 142, 221 – 226
- [100] Fatoki O. S., Awofulo R. O.: Methods for selective determination of persistent organochlorine pesticide residues in water and sediments by capillary gas chromatography and electron capture detection, *J. Chromatogr. A* **2003**, 983, 225 – 236
- [101] Kromius A., Schwarzbauer J.: Gebundene Pestizidrückstände in Flusssedimenten erfassen, *Nachrichten aus der Chemie* **2005**, 53, 198 – 200
- [102] Schwarzbauer J., Ricking M., Littke R.: DOT-related compounds bound to the nonextractable particulate matter in sediments of the Teltow Canal, Germany, *Env. Sci. Technol.* **2003**, 37 (3), 488 – 495

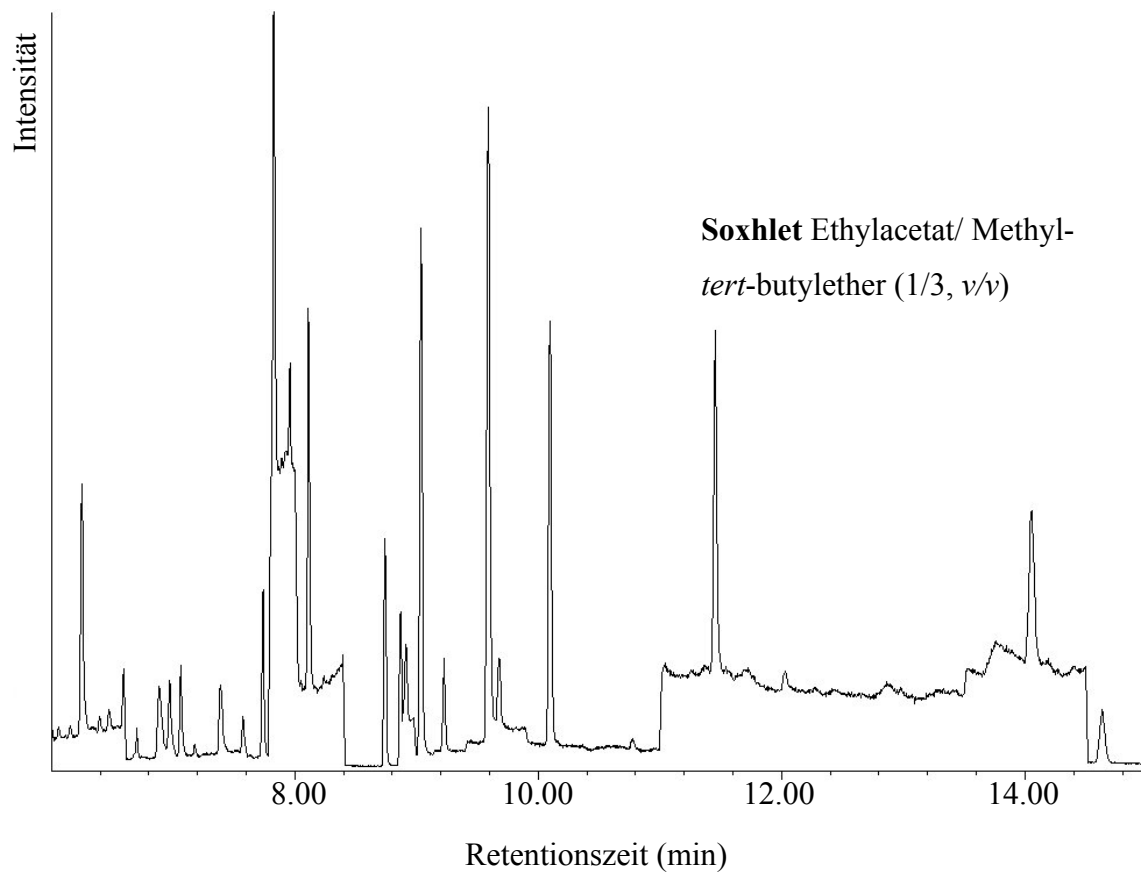
16 Anhang:

Chromatogramme dotierter Proben: Vergleich von USE und Soxhlet sowie der Lösungsmittel









Massenspektren der Analyten:

