

SOLUTIONS BY



# Vollautomatisierte Probenvorbereitung zur Bestimmung von aciden Pflanzenschutz- sowie Arzneimitteln in Trink- und Oberflächenwasser

*Sonja Krannitz und Diane Fügel  
(Landesanstalt für Umwelt, Messungen und Naturschutz Baden-Württemberg, Karlsruhe)*

## Inhalt

1	Einleitung .....	3
2	Hintergrund und Regularien.....	6
3	Methode .....	8
3.1	Probenmaterial und -vorbereitung.....	8
3.2	Chemikalien, Standardsubstanzen und Verbrauchsmaterialien .....	8
3.3	Geräte.....	8
3.4	Festphasenextraktion und Evaporation mit Stickstoff – vollautomatisiert versus manuell.....	9
3.5	Messung mittels HPLC-QTOF-MS .....	12
3.6	Konfiguration FREESTYLE XANA .....	13
4	Ergebnisse.....	13
4.1	Reproduzierbarkeit .....	13
4.2	Richtigkeit.....	15
4.3	Keine Kreuzkontaminationen in der Evaporationskammer .....	17
4.4	Vollautomatisierte versus manuelle Probenvorbereitung.....	17
5	Zusammenfassung .....	18

**Keywords:** Mikroverunreinigungen, Pflanzenschutzmittel (PSM), Arzneimittel, Arzneimittelrückstände, hormonwirksame Substanzen, Antibiotika, US EPA, Europäische Wasserrahmenrichtlinie EU-WRRL, prioritäre Stoffe, prioritär gefährliche Stoffe, Oberflächengewässerverordnung (OGewV), Umweltqualitätsnormen (UQN), Trinkwasserverordnung (TrinkwV), DIN 38407-35:2010-10, Deutschen Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung (DEV) F35

## 1 Einleitung

Standen seit Jahrzehnten anorganische Belastungen des Wassers wie z. B. durch Nitrat im Fokus der Öffentlichkeit, so treten seit geraumer Zeit organische **Mikroverunreinigungen** in den Vordergrund. Ein Großteil der unter diesem Sammelnamen vereinigten Stoffe kommt zwar in verhältnismäßig kleinen Konzentrationen im Wasser vor, birgt jedoch weitreichende Gefahren für Mensch und Umwelt. Die meisten dieser Substanzen sind künstlich synthetisierte Verbindungen oder daraus resultierende Stoffwechselprodukte, die – anders als das o. g. Nitrat – nicht natürlich in der Umwelt vorkommen.

Die instrumentelle Analytik bietet heute schier ungeahnte Möglichkeiten, um eine Vielzahl von Analyten unter Einhaltung niedrigster Nachweis- und Bestimmungsgrenzen gleichzeitig in einer Probe zu quantifizieren. Standardisierte und durch Akkreditierung abgesicherte Verfahrensweisen garantieren ein Höchstmaß an Präzision und Richtigkeit der zu erwartenden Messwerte. Die Probenvorbereitung jedoch ist nach wie vor ein arbeitsintensiver, langwieriger Prozess, der viel Fingerspitzengefühl erfordert, dem jedoch im Allgemeinen wenig Beachtung geschenkt wird. Dieser kann durch eine Automatisierung erheblich erleichtert werden. Gleichzeitig ist eine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse gegeben und durch eine Bearbeitung rund um die Uhr können Proben ebenso am Wochenende bearbeitet werden.

Im Versuch zur Applikationsnote wurde ein Wirkstoffcocktail aus den Bereichen der Arzneimittelrückstände und Bakterienhemmer (Tabelle 1) sowie Pflanzenschutzmittel (Tabelle 2) eingesetzt, wie er in seiner Gesamtheit oder in Bestandteilen in natürlichen Wasserproben aufgefunden werden könnte.

Tabelle 1: Arzneimittelrückstände und Bakterienhemmer aus dem Versuch

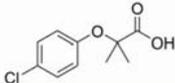
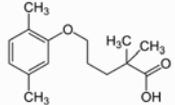
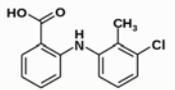
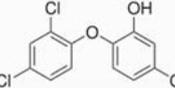
Analyt	Summenformel	Molare Masse [g/mol]	Strukturformel	CAS-Nr.
Clofibrinsäure	$C_{10}H_{11}ClO_3$	214,7		882-09-7
Gemfibrozil	$C_{15}H_{22}O_3$	250,3		25812-30-0
Tolfenaminsäure	$C_{14}H_{12}ClNO_2$	261,7		13710-19-5
Triclosan	$C_{12}H_7Cl_3O_2$	289,5		3380-34-5

Tabelle 2: Pflanzenschutzmittel aus dem Versuch

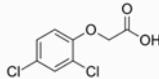
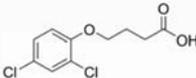
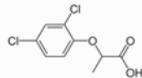
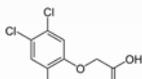
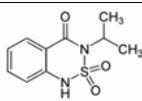
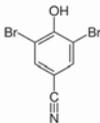
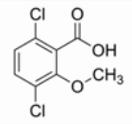
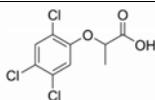
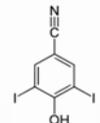
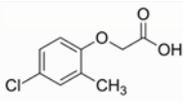
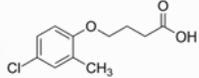
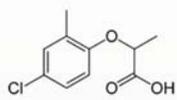
Analyt	Summenformel	Molare Masse [g/mol]	Strukturformel	CAS-Nr.
2,4-D	$C_8H_6Cl_2O_3$	221,0		94-75-7
2,4-DB	$C_{10}H_{10}Cl_2O_3$	249,1		94-82-6
2,4-DP (Dichlorprop)	$C_9H_8Cl_2O_3$	235,1		120-36-5
2,4,5-T	$C_8H_5Cl_3O_3$	255,5		93-76-5
Bentazon	$C_{10}H_{12}N_2O_3S$	240,8		25057-89-0
Bromoxynil	$C_7H_3Br_2NO$	276,9		1689-84-5
Dicamba	$C_8H_6Cl_2O_3$	221,0		1918-00-9
Fenoprop	$C_9H_7Cl_3O_3$	269,5		93-72-1
loxynil	$C_7H_3I_2NO$	370,9		1689-83-4
MCPA	$C_9H_9ClO_3$	200,6		94-74-6
MCPB	$C_{11}H_{13}ClO_3$	228,7		94-81-5
MCP (Mecoprop)	$C_{10}H_{11}ClO_3$	214,6		93-65-2



Abbildung 1: Starnberger See

Nachfolgend wird aufgezeigt, wie Oberflächenwasserproben mittels Festphasenextraktion (SPE) und Evaporation mit Stickstoff vollautomatisiert mit dem Robotiksystem FREESTYLE XANA für die Messung der o. g. aufgeführten Analyten mittels LC-QTOF-MS vorbereitet werden können. Die Ergebnisse werden mit der bisher im Labor durchgeführten, überwiegend manuellen Aufarbeitung verglichen. Durch die vollautomatisierte, sequenzielle und parallele Probenvorbereitung können mehrere Proben gleichzeitig bearbeitet, ein sehr hoher Probendurchsatz realisiert und Personalressourcen eingespart werden.

## 2 Hintergrund und Regularien

**Pflanzenschutzmittel (PSM)** geraten über diffuse Quellen, jedoch hauptsächlich aus der Landwirtschaft, in Oberflächengewässer, Grundwasser und Trinkwasser. Anders ist es bei den **Arzneimitteln**, die fast ausschließlich über kommunales Abwasser und Industrieanlagen in die Umwelt gelangen. **Arzneimittelrückstände** in der Umwelt können beträchtliche Auswirkungen auf Flora und Fauna, aber auch für die menschliche Gesundheit bedeuten. Von Verweiblichung von Fischen durch **hormonwirksame Substanzen** bis hin zur Bildung resistenter Keime durch kontinuierliche Eintragung scheinbar geringer Mengen von **Antibiotika** sind die Szenarien vielfältig.

Aufgrund der großen Zahl der Präparate, Wirkstoffe, Handelsnamen und Einsatzgebiete sowie ständiger Weiterentwicklung der Produkte einerseits und dem globalen Wasserkreislauf andererseits, ist eine flächendeckend detaillierte gesetzliche Regelung zur Untersuchung nicht möglich. Nichtsdestotrotz versuchen übergeordnete parlamentarische Organisationen wie z. B. die amerikanische Umweltschutzbehörde (US **EPA**) oder die Europäische Kommission (EC) zumindest in ihren Grenzen überregional Mindeststandards zu etablieren.

Die **Europäische Wasserrahmenrichtlinie** (2000/60/EG) listet einige Stoffe aus dieser Klasse auf, die als **prioritäre Stoffe** oder gar als **prioritär gefährliche Stoffe** eingestuft werden, und daher besonderer Überwachung und Analytik bedürfen. Rechtlich daraus abgeleitet legt die deutsche **Oberflächengewässerverordnung (OGewV)** für bestimmte Stoffe wie z. B. Bentazon, Mecoprop und Triclosan sogenannte **Umweltqualitätsnormen (UQN)** fest.

Im Vergleich dazu arbeitet die deutsche **Trinkwasserverordnung (TrinkwV)** mit einem Summenparameter für organische Insektizide, Herbizide, Fungizide, Nematizide, Akarizide, Algizide, Rodentizide, etc. Hier wird jedoch explizit darauf verwiesen, dass nur Wirkstoffe überwacht werden müssen, deren Vorhandensein im betreffenden Wassereinzugsgebiet wahrscheinlich ist.

Ein Beispiel hierfür ist das PSM Konzept in Bayern, das eine gemeinsame Strategie des Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) mit dem Landesamt für Umwelt (LfU) zur Ermittlung und Bestimmung von PSM und deren Metaboliten im Grund- und Trinkwasser darstellt. Hier werden in Abhängigkeit der angebauten Feldfrüchte zu analysierende Wirkstoffe zusammengefasst, deren Überwachung sinnvoll ist. Dies erleichtert sowohl Wasserversorgern, Gesundheitsämtern als auch Wasserwirtschaftsämtern die Arbeit enorm und sorgt für mehr Transparenz beim Verbraucher. Vergleichbare Ansätze werden in anderen Bundesländern ebenfalls bereits erprobt, sind jedoch aufgrund der teils sehr starken regionalen Unterschiede noch nicht offiziell im Umlauf.

Im Gegensatz zum Umfang der zu untersuchenden Wirkstoffe ist die analytische Methodik durch die **Deutschen Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung (DEV)** einheitlich geregelt. So beschreibt Kapitel F35 das Vorgehen der in der vorliegenden Applikationsnote untersuchten Stoffgruppe im Detail, während in weiteren Kapiteln wie z. B. der DIN EN ISO 11369:1997-11 (F12) allgemeiner PSM-Untersuchungen nach der Fest-Flüssig-Extraktion beschrieben werden.

## 3 Methode

### 3.1 Probenmaterial und -vorbereitung

Die filtrierte Wasserprobe (Oberflächen- und Trinkwasser) wird mit konzentrierter Ameisensäure auf pH = 2,5 eingestellt, mit verschiedenen internen Standards (c = 1, 2 bzw. 5 µg/mL) versetzt und mit einem Magnetrührer gut durchmischt. Für den Methodenvergleich (vollautomatisiert vs. manuell) wurden die Proben jeweils aufgeteilt.

### 3.2 Chemikalien, Standardsubstanzen und Verbrauchsmaterialien

- Reinstwasser, mit Reinstwasseranlage von Fa. Millipore
- Aceton, Fa. Promochem
- Methanol, Fa. Biosolve
- Acetonitril, Fa. Biosolve
- Konz. Ameisensäure (Reinheit  $\geq 98\%$ ), Fa. Biosolve
- Standardsubstanzen und isotoopenmarkierte Standards (Reinheit mind. 95 %):  
2,4-D, 2,4-D-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>, 2,4-DB, 2,4-DB-D<sub>3</sub>, 2,4-DP (Dichlorprop), 2,4-DP(Dichlorprop)-D<sub>6</sub>, 2,4,5-T, Bentazon, Bentazon-D<sub>6</sub>, Bromoxynil, Bromoxynil-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>, Clofibrinsäure, Clofibrinsäure-D<sub>4</sub>, Dicamba, Dicamba-D<sub>3</sub>, Fenoprop, Gemfibrozil, Gemfibrozil-D<sub>6</sub>, Ioxynil, MCPA, MCPA-D<sub>6</sub>, MCPB, MCPB-D<sub>6</sub>, MCPP (Mecoprop), Mecoprop-D<sub>6</sub>, Tolfenaminsäure, Tolfenaminsäure-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>, Triclosan und Triclosan-D<sub>3</sub>; z. B. Fa. LGC Standards, Sigma-Aldrich, EQ Laboratories GmbH oder HPC Standard GmbH
- SPE-Kartuschen OASIS<sup>®</sup> HLB, 200 mg, 6 mL, Fa. Waters
- HPLC-Trennsäule Atlantis T3, 3 µm, 150 x 2,1 mm, Fa. Waters mit Vorsäule C18, 3 µm, 2,1 mm, Fa. di2chrom

### 3.3 Geräte

- 1290 Infinity UHPLC und 6450 Q-TOF-MS, Fa. Agilent Technologies mit Genius 3010 Stickstoffgenerator, Fa. Peak Scientific
- FREESTYLE XANA zur Wasserextraktion mit den Modulen SPE & EVAporation, Fa. LCTech GmbH (Konfiguration s. 3.6)
- AutoTrace SPE Workstation, Fa. Caliper Life Science o. Fa. Dionex
- Einengvorrichtung mit Stickstoff, Fa. Barkey
- Magnetrührer, Fa. IKA<sup>®</sup>
- pH-Meter, Fa. inoLab

## 3.4 Festphasenextraktion und Evaporation mit Stickstoff – vollautomatisiert versus manuell

Die im Labor bisher überwiegend manuell durchgeführten Probenvorbereitungsschritte wurden auf das Robotersystem zur automatisierten Probenvorbereitung FREESTYLE XANA übertragen. Einzelne SPE-Schritte, wie z. B. die Trocknungszeit der SPE-Kartuschen und die 2. Elution, mussten aufgrund gerätespezifischer, technischer Unterschiede angepasst werden (in den nachfolgenden Tabellen grün hervorgehoben).

Im Labor bisher automatisiert war das Konditionieren und Beladen der Kartuschen mittels AutoTrace SPE Workstation sowie das Eindampfen der Eluate mit vorgewärmtem Stickstoff mittels einer Einengvorrichtung.

Tabelle 3: Vergleich der SPE-Schritte bei der vollautomatisierten und manuellen Probenvorbereitung

SPE-Schritte	vollautomatisiert	manuell
<b>Konditionieren</b>	6 mL Methanol 6 mL Reinstwasser, pH = 2,5	6 mL Methanol 6 mL Reinstwasser, pH = 2,5
<b>Laden</b>	500 mL Probe, 10 mL/min	500 mL Probe, 10 mL/min
<b>Waschen</b>	6 mL Reinstwasser, pH = 2,5	6 mL Reinstwasser, pH = 2,5
<b>Trocknen</b>	45 min, Stickstoff	20 min, vorgewärmter Stickstoff
<b>1. Elution</b>	4 mL MeOH/Aceton 3:2, 2 mL/min	7 mL MeOH/Aceton 3:2
<b>Einwirkzeit</b>	5 min	5 min
<b>2. Elution</b>	4 mL MeOH/Aceton 3:2, 1 mL/min	keine
<b>Trocknen (vollständige Entfernung des Elutionsmittels)</b>	10 mL Stickstoff	einige mL Stickstoff

Tabelle 4: Vergleich der Evaporationsparameter bei der vollautomatisierten und manuellen Probenvorbereitung

Evaporationsparameter	vollautomatisiert	manuell
<b>Temperatur</b>	Wasserheizung 40 °C	Blocktemperatur 100-110 °C
<b>Abblasen mit Stickstoff</b>	volumendefiniert bis 0,2 mL	volumendefiniert bis 0,1 mL
<b>Spülvolumen</b>	0,2 mL (am Ende des Eindampfprozesses)	1-2 mL (manuell während Eindampfprozess)
<b>Auffüllen bis Volumen</b>	0,5 mL	0,5 mL

Nach der Säulenkonditionierung mit jeweils 6 mL Methanol und Wasser wurde die Probe geladen und das Probenglas mit 10 mL Wasser nachgespült. Anschließend wurde die Säule mit weiteren 6 mL Wasser gewaschen und 45 Minuten getrocknet. Nach Ende der Trocknungszeit wurde die Probe zweimal mit 4 mL Methanol/Aceton-Gemisch direkt in das EVAporationsmodul eluiert und die Säule mit weiteren 10 mL Stickstoff getrocknet. Im EVAporationsmodul wurde die Probe bei einer Temperatur von 40 °C schonend mit Stickstoff auf ein Endvolumen von ca. 0,2 mL eingengt. Anschließend wurde die Probe mit einem Methanol/Wasser-Gemisch auf 0,5 mL aufgefüllt und in ein GC-Vial überführt.

Um Kreuzkontamination zu vermeiden, wurde die EVAporationskammer zweimal mit jeweils 5 mL Methanol/Aceton-Gemisch (3:2) sowie einmal mit 5 mL reinem Aceton gespült.

Die genauen Parametereinstellungen der SPE- und Evaporationsmethode am FREESTYLE XANA sind in den Abbildungen 2 und 3 dargestellt.

Säule:	LCTech_6ml.col		Verlängerungs- spitze:	ja
Konditionieren 1:	EIN			
Volumen:	6 ml	Abgabe Geschwindigkeit:	10 ml / min	
Ansaug Geschwindigkeit:	30 ml / min	Wartezeit:	0 min	Port : W4 MeOH
Konditionieren 2:	EIN			
Volumen:	6 ml	Abgabe Geschwindigkeit:	10 ml / min	
Ansaug Geschwindigkeit:	30 ml / min	Wartezeit:	0.5 min	Port : W8 H2o 2.5
Konditionieren 3:	AUS			
Laden 1:	EIN			
Volumen:	Anzahl Flaschen: 1 Transfer		Geschwindigkeit	10 ml / min
mit Nachspülen				
Nachspülvolumen:	10 ml	Ansaug Geschwindigkeit:	30 ml / min	
Nachspülvolumen:	50 ml / min	Port : W8 H2o 2.5		
Waschen 1:	EIN			
Volumen:	6 ml	verbleibe an Ort und Stelle		
Ansaug Geschwindigkeit:	10 ml / min	Abgabe Geschwindigkeit:	10 ml / min	
		Wartezeit:	0.5 min	Port : W8 H2o 2.5
Waschen 2:	AUS			
Trocknen 1:	EIN			
Zeit:	45 min			
Waschen 3:	AUS			
Elution 1:	EIN			
Volumen:	4 ml	Abgabe Geschwindigkeit:	2 ml / min	
Ansaug Geschwindigkeit:	10 ml / min	Wartezeit:	5 min	Port : 11 Methanol/Aceton 3:2
Elution in EVA				
Trocknen 2:	AUS			
Waschen 4:	AUS			
Trocknen 3:	AUS			
Elution 2:	EIN			
Volumen:	4 ml	Abgabe Geschwindigkeit:	1 ml / min	
Ansaug Geschwindigkeit:	10 ml / min	Wartezeit:	0 min	Port : 11 Methanol/Aceton 3:2
Elution in EVA				
Trocknen 4:	EIN			
definiert über Volumen	Trocknungsvolumen 10 ml		Geschwindigkeit: 10 ml / min	
EVA :	EIN			
Methode:	PALCARZ_6ml_2.evp			
Schlauchfüllvolumen vor Elution	1 ml			

Abbildung 2: Parametereinstellungen der SPE-Methode am FREESTYLE XANA

# APPLIKATIONSNOTE | AN0025

Temperatur Wasserheizung 40 °C		Temperatur Zapfenheizung 40 °C	
Probenaufgabe: Online von GPC oder SPE Prozess			
Batchvolumen = Grenze, ab der der Konzentrationsprozess beginnt: 5 ml (fix) + Wartezeit: 0 min.			
Vakuum während der GPC Online - Probenaufgabe: 180 mbar			
Kein Vakuumprozess			
Abblasen Stickstoff: ja	volumendefiniert bis Schwelle: 0.2 ml	+ Setup Offset 0 ml	Sicherheitsstop nach: 90 min.
Entnahme Aliquot: nein			
Lösemitteltausch: nein			
Spülen, Auffüllen und Transfer in Gläser:			
Spülvolumen Ende: 0.2 ml	Spülschritte: 1 x	Lösemittel aus Port: 10 MeOH/H <sub>2</sub> O 1:4	
Auffüllen bis Volumen: von Port: 10 MeOH/H <sub>2</sub> O 1:4	0.5 ml	Art des Mischvorgangs: Mit Gas/Luft, Volumen = 1 ml	
Konzentrat: in Gläser			
Nr.: 1	1 St.	Typ: Type1@1 ml	Volumen pro Glas: 0.5 ml
Abfüllen Quantitativ: nein			
1. Reinigung			
Spülvolumen: 5 ml	Spülschritte: 2 x	Lösemittel aus Port: 11 Methanol/Aceton 3:2	
2. Reinigung			
Spülvolumen: 5 ml	Spülschritte: 1 x	Lösemittel aus Port: 1 Aceton	

Abbildung 3: Parametereinstellungen der Evaporationsmethode am FREESTYLE XANA

## 3.5 Messung mittels HPLC-QTOF-MS

Die Pflanzenschutzmittel und Arzneimittel werden mittels HPLC mit einer Umkehrphase getrennt. Die Identifizierung und Quantifizierung erfolgt durch Messung an einem Time-of-flight-Massenspektrometer (Methodenparameter s. Tabelle 5). Ein Beispielchromatogramm ist in der Abbildung 8 dargestellt.

Tabelle 5: Chromatographische und massenspektrometrische Bedingungen/Einstellungen

HPLC	
Parameter	Bedingung/Einstellung
Gerät	1290 Infinity UHPLC von Agilent Technologies
Trennsäule	Atlantis T3, 3 µm, 150 x 2,1 mm von Waters
Vorsäule	C18, 3 µm, 2,1 mm von di2chrom
Injektionsvolumen	10 µL (Injektion und Waschen der Nadel)
Säulenofentemperatur	40 °C
Fluss	0,3 mL/min
Eluenten	A2 0,1%ige Ameisensäure in Wasser, B2 0,1%ige Ameisensäure in Methanol
Gradient	0 min: 10 % B2, 0-14 min: 10 % → 100 % B2, 14-18 min 100 % B2
QTOF-MS	
Parameter	Bedingung/Einstellung
Gerät	6550 iFunnel QTOF-LC/MS v. Agilent Technologies
Ionisierung	ESI negativ
Aufnahmemodus	MS
Messbereich	m/z 50-1200
Gastemperatur	175 °C
Gasfluss	15 L/min
Zerstäuber	45 psig
Mantelgastemperatur	350 °C
Mantelgasflussrate	12 L/min
Kapillarenspannung	3000 V
Zerstäuberspannung	500 V
Fragmentorspannung	360 V
Scanrate	5 spectra/sec
Referenzmassen	m/z 112.9856, 966.0007
Kollisionsenergie	0 V (Segment 1), 20 V (Segment 2), 40 V (Segment 3)

## 3.6 Konfiguration FREESTYLE XANA

1.	FREESTYLE BASIC	Produktnr. 12663-12
2.	FREESTYLE XANA	Produktnr. 14692
3.	FREESTYLE SPE	Produktnr. 12668
4.	FREESTYLE EVA	Produktnr. 13841
5.	Umlaufkühler	Produktnr. 12060
6.	Greifring für 6 mL SPE-Kartuschen	Produktnr. 14893
7.	Kappen für 6 mL SPE-Kartuschen	Produktnr. 14923
8.	Dosiernadel für SPE-Kartusche	Produktnr. 13382
9.	Träger für 2 mL-Vials	Produktnr. 11915
10.	Probenrack für SPE-Kartuschen	Produktnr. 14047
11.	Probenrack für 2 mL-Vials	Produktnr. 11920

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Reproduzierbarkeit

Zur Ermittlung der Reproduzierbarkeit des FREESTYLE XANA wurden die Wiederfindungsraten bei Leitungswasser an verschiedenen Tagen (verschiedene Probensequenzen) bestimmt. Die Wiederfindungen wurden durch externe Kalibration mit jeweils internen, isotonenmarkierten Standards ermittelt. Für Ioxynil, 2,4,5-T und Fenoprop stand kein eigener isotonenmarkierter Standard zur Verfügung. Die Standardabweichungen (s) und Variationskoeffizienten (VK) lagen i. d. R. bei  $\leq 5\%$  (s. Tabelle 6) und waren mit denen der manuellen Probenaufarbeitung vergleichbar und z. T. sogar signifikant besser (s. Tabelle 7).



Abbildung 4: Bearbeitungsstation auf der FREESTYLE Plattform

Tabelle 6: Wiederfindungen der Analyten auf Trinkwasser mit vollautomatisierter Probenaufarbeitung

Analyt	Level [µg/l]	Wiederfindung auf Trinkwasser [%]						s	VK [%]
		1	2	3	4	5	MW		
Bentazon	0,01	79	77	79	81	84	80	2,7	3,3
Bromoxynil	0,1	102	99	97	98	104	100	2,9	2,9
loxynil*	0,01	105	105	93	92	95	98	6,5	6,6
2,4-D	0,1	112	104	106	106	110	108	3,3	3,1
MCPA	0,1	114	105	103	104	115	108	5,8	5,4
Clofibrinsäure	0,1	119	108	114	114	121	115	5,1	4,4
MCPP	0,05	117	111	115	110	117	114	3,3	2,9
2,4-DP	0,1	114	101	105	106	111	107	5,1	4,8
2,4-DB	0,1	109	102	101	110	117	108	6,5	6,1
MCPB	0,1	95	85	86	83	85	87	4,7	5,4
2,4,5-T*	0,1	196	173	167	163	178	175	12,9	7,3
Fenoprop*	0,1	199	173	172	165	183	178	13,2	7,3
Gemfibrozil	0,1	134	126	127	132	122	128	4,8	3,8
Triclosan	0,1	112	107	113	103	107	108	4,1	3,8
Tolfenaminsäure	0,1	107	100	101	98	107	103	4,2	4,1

VK = Variationskoeffizient, s = Standardabweichung, \* Auswertung nicht über eigenen, isotopen-markierten Standard möglich

Tabelle 7: Wiederfindungen der Analyten auf Trinkwasser mit manueller Probenaufarbeitung

Analyt	Level [µg/l]	Wiederfindung auf Trinkwasser [%]						s	VK [%]
		1	2	3	4	5	MW		
Bentazon	0,01	104	104	87	92	79	93	10,9	11,7
Bromoxynil	0,1	100	110	100	108	96	103	5,9	5,8
loxynil*	0,01	129	112	129	113	91	115	15,7	13,6
2,4-D	0,1	102	106	99	108	94	102	5,6	5,5
MCPA	0,1	95	100	100	112	94	100	7,2	7,1
Clofibrinsäure	0,1	101	100	100	109	92	100	6,0	6,0
MCPP	0,05	106	92	109	115	99	104	8,9	8,6
2,4-DP	0,1	107	117	98	110	103	107	7,2	6,7
2,4-DB	0,1	113	106	100	111	101	106	5,8	5,5
MCPB	0,1	95	105	91	101	96	98	5,5	5,6
2,4,5-T*	0,1	137	224	172	187	142	172	35,5	20,6
Fenoprop*	0,1	172	171	158	172	137	162	15,2	9,4
Gemfibrozil	0,1	120	130	127	126	118	124	5,0	4,0
Triclosan	0,1	110	123	106	95	100	107	10,7	10,0
Tolfenaminsäure	0,1	118	118	105	111	100	110	8,0	7,2

VK = Variationskoeffizient, s = Standardabweichung, \* Auswertung nicht über eigenen, isotopen-markierten Standard möglich

## 4.2 Richtigkeit

In Abbildung 5 sind die mittleren, absoluten Peakflächen (n = 3) der internen Standards von dotierten Oberflächenwasserproben, die manuell und vollautomatisiert aufgearbeitet wurden, dargestellt. Die absoluten Peakflächen der verschiedenen Methoden sind vergleichbar.

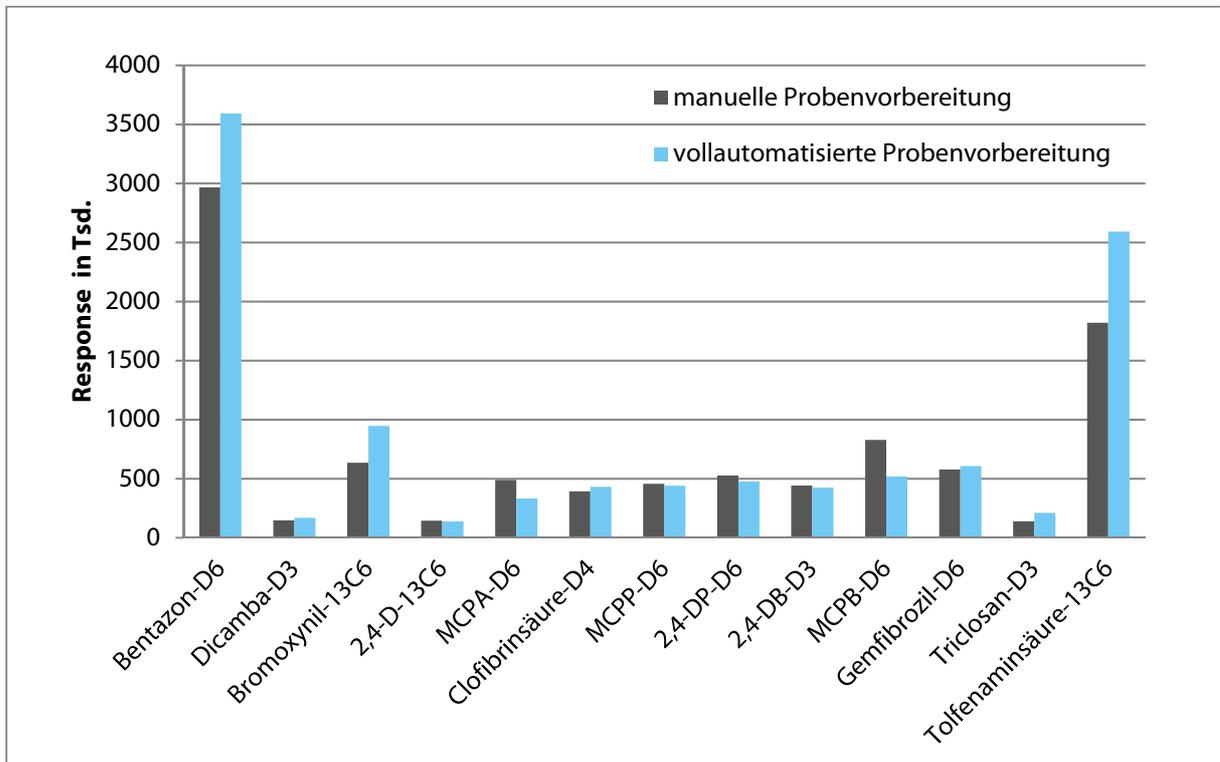


Abbildung 5: Absolute Peakflächen der internen Standards von dotierten Oberflächenwasserproben im Vergleich, ■ manuelle Probenvorbereitung und ■ vollautomatisierte Probenvorbereitung

Abbildung 6 zeigt jeweils zwei EI-Chromatogramme der 16 Analyten einer dotierten Leitungswasserprobe, die sowohl manuell als auch vollautomatisiert aufgearbeitet wurde, im Overlay-Modus. Auch hier sind keine signifikanten Unterschiede bezüglich der absoluten Peakflächen festzustellen bzw. ist die Ausbeute mit der vollautomatisierten Probenvorbereitung z. T. deutlich besser.

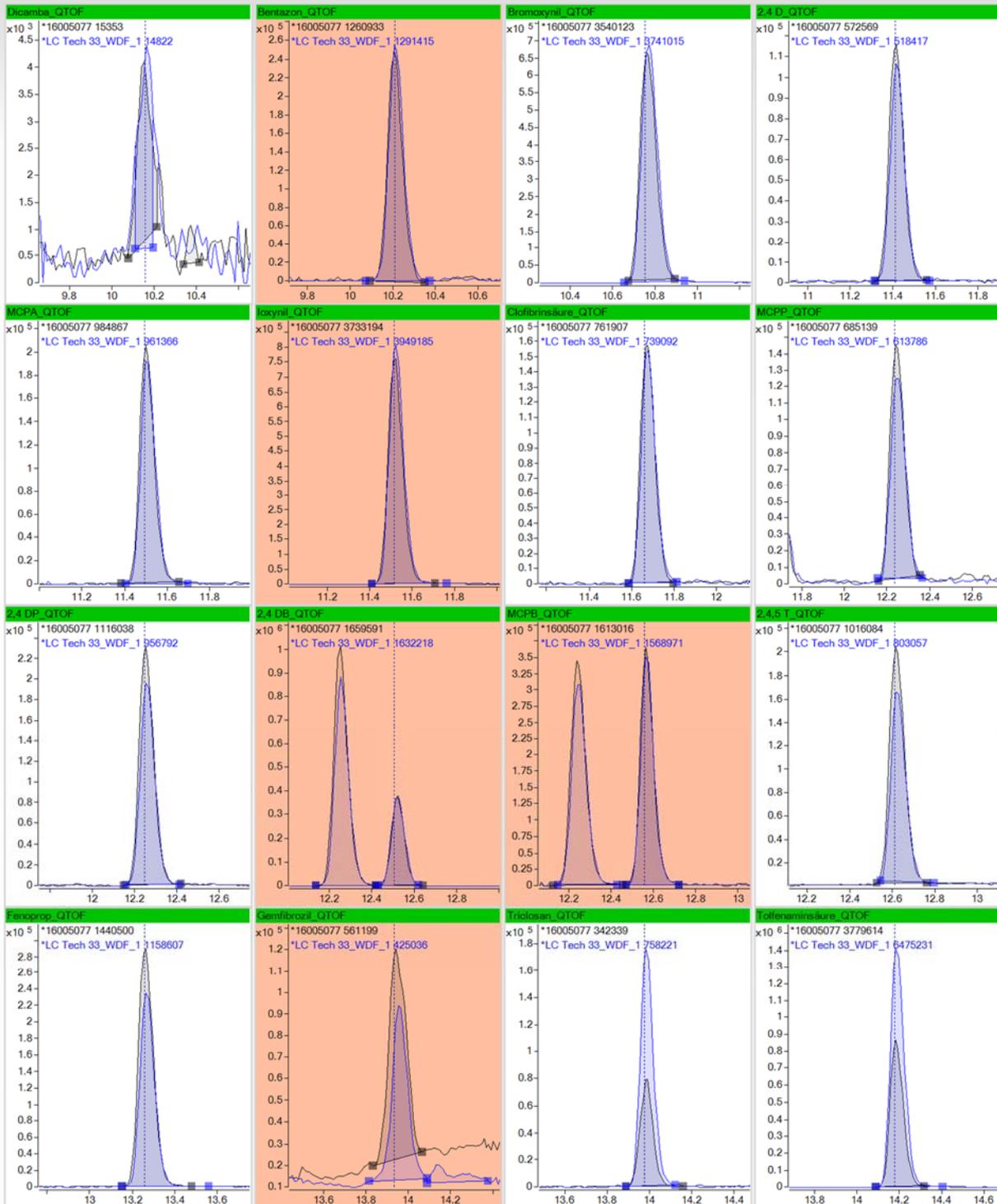


Abbildung 6: Absolute Peakflächen der Analyten einer dotierten Leitungswasserprobe, die manuell (grau) und mit FREESTYLE XANA (blau) aufgearbeitet wurde.

## 4.3 Keine Kreuzkontaminationen in der Evaporationskammer

Bei der vollautomatisierten Probenvorbereitung mit dem FREESTYLE XANA werden die Eluate der SPE in einer Evaporationskammer mit Stickstoff auf ein definiertes Volumen eingengt und die Extrakte direkt in ein LC-Vial abgefüllt. Die Proben innerhalb einer Probensequenz werden nacheinander abgearbeitet. Nach jeder Probe wird die Evaporationskammer gespült. Um eine Verschleppung von Analyten auszuschließen und den Reinigungsprozess der Kammer zu überprüfen, wurde mehrmals direkt nach einer hoch dotierten Wasserprobe ( $c = 2/1/0,5/0,1 \mu\text{g/L}$ , je nach Empfindlichkeit des Analyten) eine Blindwertprobe (Reinstwasser ohne Analyten und interne Standards) abgearbeitet. Verschleppungen von Analyten und internen Standards konnten nicht in nennenswertem Umfang ( $< 1 \%$ ) beobachtet werden.

## 4.4 Vollautomatisierte versus manuelle Probenvorbereitung

- Mit dem FREESTYLE XANA lassen sich bis zu 24 Proben am Stück und über Nacht aufarbeiten. Manuell konnten mittels AutoTrace SPE Workstation bzw. Einengvorrichtung bisher nur max. 6 Proben gleichzeitig bearbeitet werden.
- Mit dem FREESTYLE XANA konnten alle Aufarbeitungsschritte vom Konditionieren und Beladen der SPE-Kartusche bis zum Abfüllen der Extrakte in die LC-Vials automatisiert werden. Im Vergleich zum bisherigen Verfahren sind somit keine manuellen Zwischenschritte mehr notwendig.
- Beim FREESTYLE XANA werden die Probenflaschen nach dem Beladen der SPE-Kartuschen nachgespült, so dass Verluste durch adsorbierte Stoffe an der Glaswandung der Probenahmegefäße minimiert werden.
- Bei dem FREESTYLE XANA ist das Eindampfvolumen auf 0,2 mL begrenzt (im Vergleich zu der manuellen Aufarbeitung 0,1 mL).
- Die Software des FREESTYLE XANA zeichnet sich durch einfache und intuitive Bedienbarkeit aus.

## 5 Zusammenfassung

Mit dem FREESTYLE XANA können bis zu 24 Proben am Stück vollautomatisiert und über Nacht mit hoher Reproduzierbarkeit aufgearbeitet werden. Durch die vollständige Automatisierung lassen sich Personalressourcen einsparen, die für andere Aufgaben zur Verfügung stehen.

Die Wiederfindungen und Ausbeute der Analyten bzw. internen Standards (gemessen an den absoluten Peakflächen) sind mit denen der manuellen Probenvorbereitung vergleichbar.

Kreuzkontamination in der Evaporationskammer konnten nicht beobachtet werden.



Abbildung 7: FREESTYLE XANA Robotiksystem

# APPLIKATIONSNOTE

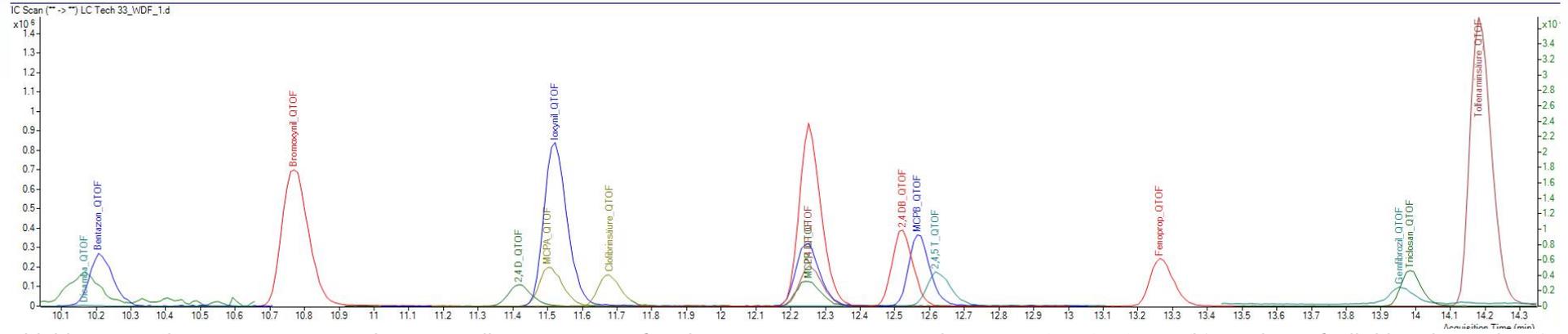


Abbildung 8: EI-Chromatogramm einer dotierten, vollautomatisiert aufgearbeiteten Leitungswasserprobe, c = 0,01/0,05/0,1/0,2 µg/l (je nach Empfindlichkeit des Analyten)

## Kontakt

LCTech GmbH  
Daimlerstraße 4  
84419 Obertaufkirchen  
Deutschland

Tel.: +49 8082 2717-0  
Fax: +49 8082 2717-100  
E-Mail: [info@LCTech.de](mailto:info@LCTech.de)

[www.LCTech.de](http://www.LCTech.de)  
[www.LCTech-online.com](http://www.LCTech-online.com)

SOLUTIONS BY

