

**Entwicklung eines Verfahrens zur schnellen Detektion  
aromatischer Spurenstoffe in Wasserproben basierend auf der  
Kopplung von Laserionisation, Ionenfallen - Massenspektrometrie  
und automatisierter Festphasenanreicherung**

Von der Fakultät für Mathematik, Naturwissenschaften und Informatik  
der Brandenburgischen Technischen Universität Cottbus

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Naturwissenschaften  
(Dr. rer. nat.)

genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Dipl.-Ing. (FH)

**Daniel Globig**

geboren am 10.07.1975 in Cottbus

Gutachter: Prof. Dr. Christian Weickhardt

Gutachter: Prof. Dr. Jürgen Reif

Gutachter: Prof. Dr. Thorsten Benter

Tag der mündlichen Prüfung: 14.12.2005



## **Danksagung**

Diese Arbeit wurde im Rahmen eines Forschungsprojekts der Deutschen Bundesstiftung Umwelt (DBU), am Lehrstuhl Physikalische Chemie und Analytik an der Brandenburgischen Technischen Universität angefertigt.

Meinem Doktorvater Prof. Dr. Christian Weickhardt danke ich herzlich für die Betreuung, Unterstützung und Bereitschaft zur Diskussion in allen Phasen der Arbeit.

Mein Dank gilt weiterhin all denen, die zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben, insbesondere:

J. Bertram und Dr. R. P. Schmid für die stete Hilfsbereitschaft und die gute Zusammenarbeit. Allen anderen Mitarbeitern des Lehrstuhls Experimentalphysik II (Materialwissenschaften) sei an dieser Stelle für die angenehme Arbeitsatmosphäre gedankt. Herrn Prof. Dr. J. Reif danke ich für die Überlassung des Lasers einschließlich der Labore.

Mein aufrichtiger Dank gilt auch den Mitarbeitern der Feinmechanischen Werkstatt, denen ich das Leben nicht immer leicht machte. Besonders möchte ich mich bei den Herren U. Heidrich und B. Zernick für die schnelle Umsetzung der zum Teil komplizierten Konstruktionen bedanken. Ohne die von Ihnen gefertigten Bauteile und ihre Ratschläge wäre diese Arbeit sicher nicht zustande gekommen. Herrn U. Berger, danke ich für seinen unschätzbaren Einsatz, der zur erfolgreichen Automatisierung des Verfahrens geführt hat.

Großen Dank schulde ich Herrn A. Sieveritz von der Firma Varian für das Interesse, die Unterstützung und seine praktischen Hinweise die maßgeblich zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen haben.

Den Mitarbeitern der UP Umweltanalytische Produkte GmbH möchte ich für die Konstruktion und den Bau des fahrbaren Geräteschranks danken, der für die Felduntersuchung verwendet wurde.

Nicht zuletzt gilt mein Dank der Deutschen Bundesstiftung Umwelt für die finanzielle Unterstützung, die diese Arbeit erst ermöglicht hat.

Abschließend möchte ich mich bei meinen Eltern, Brüdern und Freunden bedanken, die in dieser Zeit Erfolg und Misserfolg, Freude und Ärger mit mir geteilt haben.



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>7</b>
1.1	Motivation .....	7
1.2	Stand der Technik.....	10
1.2.1	Bestimmung von Polyzyklischen Aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) ... in Wasser nach DIN 38407-8.....	11
1.2.2	Bestimmung von Nitrophenolen in Wasser nach DIN EN ISO 17495 .....	12
1.3	Zielsetzung dieser Arbeit.....	18
1.4	Resonanzverstärkte Multiphotonen-Ionisation (REMPI) mit Lasern.....	20
<b>2</b>	<b>Experimentelle Aufbauten und Techniken .....</b>	<b>25</b>
2.1	Das GC/MS-System .....	25
2.2	Modifikationen am Massenspektrometer .....	31
2.3	Modifikation Transferline .....	33
2.4	Das Lasersystem.....	34
2.4.1	Synchronisation des Ionisationslasers mit dem Messablauf der Ionenfalle .....	35
2.5	Das Schadstoffanreicherungssystem .....	38
2.6	Automatisierung .....	41
2.7	Mobilisierung .....	43
2.8	Probenvorbereitung SPME und In-Tube SPME Untersuchung .....	44
2.9	Probenvorbereitung für die Untersuchung endokrin wirksamer Substanzen .....	44
2.10	Probenahme Felduntersuchung .....	45
<b>3</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>47</b>
3.1	Erprobung des Lasermassenspektrometers und Bestimmung der Empfindlichkeit .....	47
3.2	Kopplung von konventioneller SPME mit der GC-LAMS zur Untersuchung von PAK-Standards in Wasser .....	51

3.3	Vergleich von konventioneller Festphasenmikroextraktion mit dem In-Tube SPME Verfahren .....	54
3.4	Labormessungen an realen Proben.....	59
3.5	Feldmessungen: Abwasseruntersuchung am Klärwerk in Cottbus .....	61
3.6	Untersuchung der Laserionisation von endokrin wirksamen Substanzen.....	65
<b>4</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick .....</b>	<b>69</b>
4.1	Zusammenfassung .....	69
4.2	Ausblick.....	71
<b>5</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>73</b>
	<b>Anhang .....</b>	<b>81</b>
	Anhang A: Verzeichnis der Abkürzungen .....	81
	Anhang B: Technische Zeichnungen - Umbau MS-Saturn 2100 T .....	83
	Anhang B1: Bearbeitung Vakuumkammer (Manifold).....	84
	Anhang B2: Konstruktion - Flansche Vakuumkammer .....	86
	Anhang B3: Bearbeitung End-Elektroden (Endcaps).....	90
	Anhang C: Technische Zeichnungen - Gestell Schadstoffanreicherung .....	92
	Anhang D: Verzeichnis der Veröffentlichungen.....	97
	Anhang E: Lebenslauf .....	99

# 1 Einleitung

## 1.1 Motivation

Die Anwesenheit organischer Verbindungen im Wasser beschäftigt zunehmend nicht nur die Wasserwirtschaft und die Umweltwissenschaften, sondern wurde in den vergangenen Jahren auch von der breiten Bevölkerung im Zusammenhang mit einer möglichen Gefährdung für die Gesundheit zur Kenntnis genommen. Diese Aktualität beruht neben einem generellen Interesse in ökologische Vorgänge und Zusammenhänge auf der Tatsache, dass organische Substanzen heutzutage in einer noch nie da gewesenen Vielzahl und Menge Verwendung finden, deren Verbreitungswege und Auswirkungen auf die menschliche und tierische Gesundheit aber oftmals ungenügend oder gar nicht bekannt sind. Erst in den letzten Jahren wurden in diesem Zusammenhang auch human- und tiermedizinische Arzneimittel in die Diskussion eingebracht [Sta1994, UBA1996, Gla1998, Gär1998, Stu1998]. Obwohl Arzneimittel zu den toxikologisch am besten untersuchten und charakterisierten Stoffen zählen, ist ihr ökotoxisches Potential, insbesondere die durch den kontinuierlichen Eintrag in geringen Mengen hervorgerufenen Folgen, weitgehend unerforscht. Für den Menschen besteht beispielsweise die Gefahr, dass es u.a. durch die ungewollte Aufnahme von Tierarzneimittelrückständen mit der Nahrung oder durch belastetes Trinkwasser zur Ausbildung gefährlicher Antibiotikaresistenzen kommen kann [Rob2000]. Erste Studien zur ökotoxikologischen Bewertung von Arzneimitteln ergaben bei gängigen Wirkstoffen in unterschiedlichem Grade akute und chronische Wirkungen gegenüber Fischen und Algen, sowie persistente, kanzerogene oder mutagene Eigenschaften. Darüber hinaus sind für einzelne Pharmaka aufgrund ihrer hormonaktiven Eigenschaften schädliche Auswirkungen auf aquatische Organismen experimentell bestätigt worden. So führt z.B. das in der Anti-Baby-Pille enthaltene synthetische Hormon  $17\alpha$ -Ethinylestradiol zur Verweiblichung (Vitellogeninsynthese<sup>1</sup>) bei männlichen Fischen und Fortpflanzungsstörungen [Pur1994, Gül1997, Kalb1998]. Aufgrund der möglichen arzneimittelbedingten Umweltrisiken kommt das Umweltbundesamt nach einer durchgeführten Studie über „Umweltprobleme durch Arzneimittel“ zu dem Schluss, dass die Datenlage zur Exposition und Wirkung von Arzneimitteln unbefriedigend ist und empfiehlt ihre umgehende Verbesserung [UBA1996]. Schätzungen [Nol2000] gehen für Oberflächengewässer von bis zu 2000 verschiedenen organischen Verbindungen in einem weiten Konzentrationsbereich aus, von denen viele durch

---

<sup>1</sup> Vitellogenin: Eidotter-Vorläuferprotein

## *1 Einleitung*

die Prozeduren in Kläranlagen nicht abgebaut werden. Wurden in Deutschland auch noch keine besorgniserregenden Konzentrationen organischer Schadstoffe im Trinkwasser ermittelt, so sind doch zahlreiche Gemeinden inzwischen gezwungen, aufgrund der zunehmenden Verknappung sauberen Wassers und der regional bzw. lokal unterschiedlich verteilten Wasserressourcen, Uferfiltrate oder Oberflächenwasser zur Trinkwassergewinnung heranzuziehen. In dieser Situation ergibt sich sowohl im Hinblick auf die Notwendigkeit hohe Reinheit des Trinkwassers und seinen Schutz vor Verunreinigung zu gewährleisten, als auch Bemühungen um tieferes Verständnis der Verbreitungswege von Wasserschadstoffen, ein akuter Bedarf an leistungsfähigen analytischen Techniken zu deren Nachweis. Seit einigen Jahren liegt die verstärkte Nachfrage nach derartigen Verfahren vor allem in der Diskussion um endokrin (hormonartig) wirksame Substanzen begründet [Carl1992, Col1993, Col1996]. Als endokrin oder hormonell wirksame Substanzen werden nach der im Jahre 1997 formulierten Definition der amerikanischen Umweltschutzbehörde (US-EPA) von außen zugeführte (exogene) Stoffe verstanden, die in Synthese, Ausscheidung, Transport, Bindung, Wirkung oder Eliminierung von natürlichen Hormonen im Körper eingreifen, die für die Aufrechterhaltung des hormonellen Gleichgewichts, die Fortpflanzung, die Entwicklung und / oder das Verhalten verantwortlich sind.

Die Bandbreite der als hormonell aktiv identifizierten Verbindungen erstreckt sich über eine Vielzahl von Verbindungsklassen [Kuc1999]. Auf der Basis zahlreicher Datenquellen aus Forschung, Behörden und Umweltschutzorganisationen hat die Europäische Kommission eine Liste mit 564 chemischen Stoffen erstellt, die aufgrund der wissenschaftlichen Untersuchungen in den letzten Jahren im Verdacht stehen, störend auf das Hormonsystem von Mensch und Tier einzuwirken [Eur2000, Com2001]. Eine Korrelation von chemischer Struktur und Wirkungsweise ist bislang nicht eindeutig möglich. Daher muss damit gerechnet werden, dass die Liste der bisher identifizierten hormonähnlichen Chemikalien nur einen Bruchteil der tatsächlichen Verbindungen umfasst. Zu den identifizierten Stoffen gehören neben den natürlichen und synthetischen Steroidhormonen eine Reihe von Industriechemikalien wie Alkylphenole, Phtalate, Bisphenole, die in großen Mengen produziert werden. Aber auch Phyto- und Mykohormone, Pestizide und Biozide sowie Nebenprodukte die bei der industriellen Produktion oder in Verbrennungsprozessen entstehen (z.B. PAK, Dioxine) stehen in Verdacht, eine endokrine Wirkung zu besitzen und damit die Gesundheit des Menschen und unserer Umwelt zu gefährden.

Wie sich zweifelsfrei herausgestellt hat, ist einer der Haupteintragspfade sowohl das kommunale als auch das industrielle Abwasser. In der Regel liegen nur für jene Verbindungen

(z.B. DDT und Derivate, PCB, PCDD) ausreichende und auch aktuelle Messdaten aus Oberflächengewässern und anderen Matrices vor, die aufgrund ihrer bekannten Schädigung schon seit Jahrzehnten routinemäßig analysiert werden. Für den überwiegenden Teil der identifizierten, hormonaktiven Substanzen gilt, dass er weder in Routine-Messprogrammen berücksichtigt wird, noch dass die Analytik zur Bestimmung kleinster Spuren entwickelt ist. Hier besteht also noch akuter Forschungsbedarf was die Entwicklung leistungsfähiger Analyseverfahren betrifft.

In praktisch allen Fällen liegen den in der Routine-Analytik verwendeten Standardmethoden chromatographische Trennverfahren zu Grunde, welche wiederum mit der gesamten Bandbreite der für die Chromatographie gebräuchlichen Detektoren gekoppelt werden. Obwohl bei manchen Geräten inzwischen ein hoher Automatisierungsgrad erreicht wurde, sind für die Analyse verhältnismäßig lange Messzeiten von bis zu 30 min die Regel. Außerdem setzen viele Verfahren zeitaufwendige, naßchemische Probenvorbereitungs- und/oder Extraktionsschritte voraus, um die geforderten Nachweis- und Bestimmungsgrenzen im spurenanalytischen Bereich zu erzielen. Im Hinblick auf die zukünftig gestellten Anforderungen an wasseranalytische Methoden können diese jedoch mit den Standardverfahren nicht vollständig erfüllt werden. Um beispielsweise eine flächendeckende Überwachung von Gewässern zum Schutz vor Schadstoffen im Spurenbereich zu ermöglichen, ist ein hoher Probendurchsatz nötig, der ein leistungsfähiges analytisches Verfahren mit hoher Empfindlichkeit, geringem Probenvorbereitungsaufwand und minimaler Messzeit voraussetzt.

Darüber hinaus muss dem Vorkommen von synthetischen Chemikalien in unserer Umwelt, besonders in aquatischen Umweltkompartimenten, auch noch unter einem anderen Blickwinkel Beachtung geschenkt werden. Anthropogene Stoffe, die bisher aufgrund ihres geringen toxikologischen Potentials als harmlos eingestuft wurden, können über einen längeren Zeitraum gesehen, selbst in kleinsten Konzentrationen einen negativen Einfluss auf die Gesundheit haben. Unter diesem Aspekt kann eine Überarbeitung der derzeit gültigen Grenzwerte für eine Vielzahl derartiger Substanzen notwendig werden. Allerdings fehlen für viele die dafür erforderlichen Kenntnisse der Dosis-Wirkungs-Beziehung und Daten zur Exposition. Speziell in der Wasseranalytik muss deshalb, aufgrund der zu erwartenden stark steigenden Anzahl an Wasserproben und der offenbar werdenden Leistungsgrenzen der Standardverfahren, nach neuen Lösungsansätzen gesucht werden, die insbesondere schnellere und weniger personalintensive Analysen ermöglichen. Das im Rahmen dieser Doktorarbeit entwickelte Verfahren soll hierzu einen Beitrag leisten.

## 1.2 Stand der Technik

Zur Spurenanalytik organischer Wasserinhaltsstoffe existieren zahlreiche Methoden, denen in fast allen Fällen chromatographische Trennverfahren (GC, HPLC) zugrunde liegen, welche wiederum mit der gesamten Bandbreite der in der Chromatographie gebräuchlichen Detektoren (FID, ECD, DAD, MS) gekoppelt werden [Gro1993, Bru1993, Hüb1996, Kol2002]. Mit diesen Kopplungstechniken können dynamische Bereiche von sechs oder mehr Größenordnungen bis zu einer Nachweisgrenze von parts per million (mg/l) bzw. parts per billion ( $\mu\text{g/l}$ ) abgedeckt werden. Oft ist die Nachweisstärke, die bei der direkten Bestimmung der Umweltprobe erzielt wird, nicht ausreichend, da die in der Trinkwasserverordnung festgelegten Grenzwerte für viele Verbindungen im unteren ppt-Bereich liegen. Ein weiteres Problem ist, dass in vielen Fällen der Gehalt an Matrixkomponenten den der Analyten um mehrere Größenordnungen übersteigt, was die Bestimmung zusätzlich erschwert oder sogar unmöglich macht. Um dennoch die erforderliche Empfindlichkeit zur spurenanalytischen Untersuchung von Wasserschadstoffen zu erzielen, sind naßchemische Probenvorbereitungs- und/oder Extraktionsschritte notwendig. Selbst bei selektiven und hochempfindlichen Kombinationen wie die GC/ECD oder die GC-MS/MS hat die Probenvorbereitung eine wichtige Bedeutung, da die begrenzte Probenkapazität der für die chromatographische Trennung verwendeten Kapillarsäulen berücksichtigt werden muss, um eine Überladung des Trennfilms durch Matrixkomponenten zu vermeiden. Die Probenvorbereitung ist deshalb ein fester Bestandteil in umweltanalytischen Routineverfahren. Ziel der Probenvorbereitung ist es, die Analyten von der Umweltmatrix abzutrennen und anzureichern, um sie in aufkonzentrierter Form nachzuweisen. Anreicherungsfaktoren von 1000 – 10000 werden in der Regel durch Extraktion der Wasserprobe mit einem organischen Lösungsmittel (flüssig-flüssig Extraktion) oder aber mit der Festphasenextraktion (SPE) erreicht [Thu1998, Fri1999]. Der Zeitaufwand in den derzeit verwendeten Einheitsverfahren zur Routineanalytik von Umweltschadstoffen wird vor allem durch die Probenvorbereitung und die chromatographische Trennung bestimmt. Zu den etablierten Analysemethoden, die vor allem in Umwelt- und Industrielaboren zur spurenanalytischen Untersuchung von Wasserproben eingesetzt werden, zählen DIN- und EPA-Verfahren. Anhand von zwei Beispielen soll im Folgenden gezeigt werden, dass für die konventionell eingesetzten DIN-Verfahren zur spurenanalytischen Untersuchung von Wasserproben, oft ein erheblicher Zeitbedarf von bis zu mehreren Stunden notwendig ist.

### 1.2.1 Bestimmung von Polyzyklischen Aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) in Wasser nach DIN 38407-8

Das Verfahren wird für die Bestimmung von ausgewählten PAK in Massenkonzentrationen oberhalb von 0,005 µg/l in Trink-, Mineral- und Tafelwasser eingesetzt. Es kann darüber hinaus zur Untersuchung von Grund- und Oberflächenwasser angewandt werden. Folgende Arbeitsschritte (s. Abb. 1) sind für die Bestimmung notwendig:

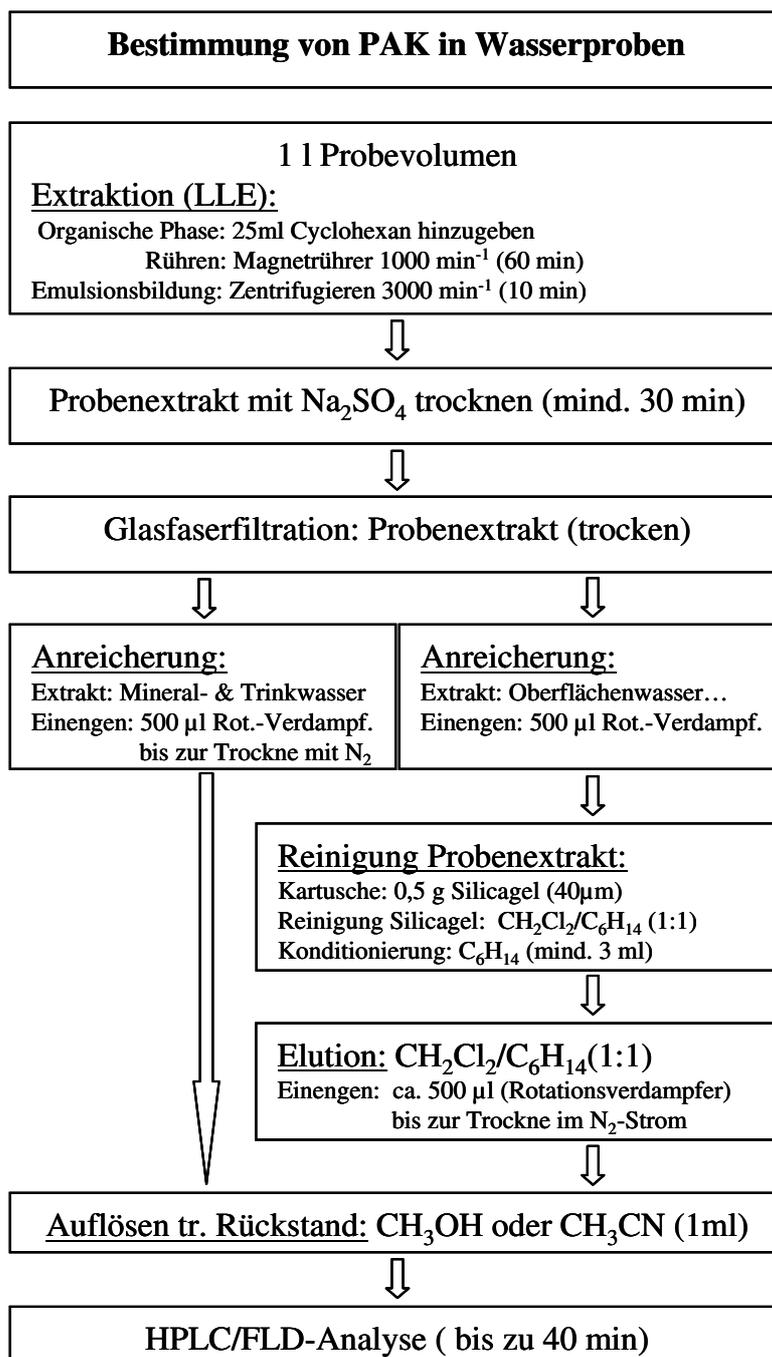


Abb. 1: Analysengang zur Bestimmung von PAK nach DIN 38407-8

## *1 Einleitung*

Zunächst muss 1000 ml der Wasserprobe mit 25 ml Cyclohexan über einen Zeitraum von 60 Minuten extrahiert werden. Sollte die nachfolgende Phasentrennung durch Emulsionsbildung behindert werden, muss die Emulsion 10 min bei einer Frequenz von  $3000 \text{ min}^{-1}$  zentrifugiert werden. Der gesamte Cyclohexanextrakt muss im Anschluss daran mindestens 30 min lang mit Natriumsulfat getrocknet werden. Die getrocknete (wasserfreie) organische Phase wird über einen Glasfaserfilter in den Reduzierkolben überführt und anschließend mit einem Rotationsverdampfer auf etwa 500 µl eingeeengt. Bei Extrakten aus Mineral- und Trinkwasser kann das restliche Cyclohexan vorsichtig im Stickstoffstrom abgeblasen werden, und der trockne Rückstand in einem definierten Volumen (z.B. 1ml) Methanol oder Acetonitril, gelöst werden. Die angereicherte Probe wird gegebenenfalls nach der Filtration durch einen Mikrofilter in ein Probenfläschchen überführt. Bei der Extraktion von Oberflächenwasser oder anderen belasteten Proben, ist vor der Aufkonzentrierung (Einengung) eine zusätzliche Reinigung des Extrakts notwendig. Zur Reinigung werden Säulen oder Kartuschen mit 0,5 g Silicagel verwendet. Die Bestimmung der PAK erfolgt nach der Injektion von 10-20 µl des Probenextrakts und chromatographischer Auftrennung mittels HPLC durch Fluoreszenzdetektion. Die chromatographische Trennung kann in Abhängigkeit von der verwendeten HPLC-Methode bis zu 40 min dauern.

### **1.2.2 Bestimmung von Nitrophenolen in Wasser nach DIN EN ISO 17495**

Dieses Verfahren wird zur Bestimmung ausgewählter Nitrophenole in Trink-, Grund- und Oberflächenwasser eingesetzt, die in Massenkonzentrationen oberhalb von  $0,5 \mu\text{g/l}$  vorliegen. Nach der Festphasenanreicherung und der Derivatisierung (Methylierung) mit Diazomethan erfolgt die Bestimmung der Nitrophenole durch gaschromatographische Auftrennung mit massenspektrometrischer Detektion. Die Analyse erfordert mehrere Arbeitsschritte, die in der Abbildung 2 schematisch dargestellt sind und im Folgenden kurz beschrieben werden.

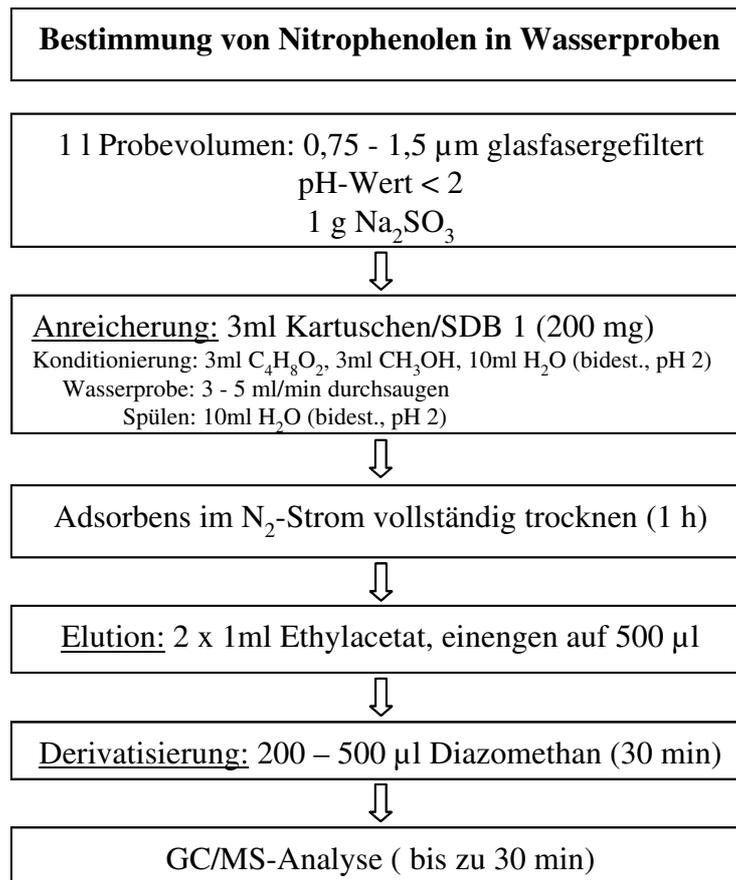


Abb. 2: Analysengang zur Bestimmung von Nitrophenolen nach DIN EN ISO 17495

Im ersten Schritt wird die Wasserprobe (1000 ml) auf einen pH-Wert < 2 eingestellt. Sollte die Wasserprobe Schwebstoffe enthalten muss sie zuvor filtriert werden, da sonst die Festphase während der Anreicherung verstopfen kann. Bei Verdacht auf Anwesenheit von Oxidationsmitteln, insbesondere in Gegenwart von Chlor, muss auf 1000 ml Wasserprobe etwa 1 g Natriumsulfit hinzugegeben werden. Für die Festphasenextraktion werden vorzugsweise Kartuschen aus Glas oder Polypropen verwendet die mit 0,2 Gramm eines Polystyrol-Divinylbenzol-Polymers (z.B. SDB1, Lichrolut EN, Chromabond HP-P usw.) gefüllt sind. Die Festphase wird vor der Anreicherung der Wasserprobe wie folgt konditioniert:

- a) Festphase mit 3ml Ethylacetat vollständig benetzen, etwa 5 min einwirken lassen, anschließend trocken saugen.
- b) 3 ml Methanol einwirken lassen, nicht trocken saugen.
- c) Methanol mit 10 ml angesäuertes Wasser (pH=2 ) verdrängen; die Säule nicht trocken laufen lassen.

Nach der Konditionierung der Festphase erfolgt die Anreicherung der Wasserprobe bei einer konstanten Fließgeschwindigkeit von 3 ml/min bis 5 ml/min. Nach dem Anreicherungsschritt

## *1 Einleitung*

wird das Sorbens mit 10 ml pH=2 angesäuertem Wasser gespült und im Stickstoffstrom (7 ml/s) möglichst vollständig getrocknet. Der Trocknungsvorgang kann bis zu einer Stunde dauern. Die Elution erfolgt mit 2 ml Ethylacetat. Das Lösungsmittel sollte portionsweise und im Abstand von jeweils einer Minute aufgegeben werden. Anschließend wird das Eluat unter Verwendung von Stickstoff bei Raumtemperatur auf etwa 0,5 ml eingengt und mit 200 µl - 500 µl Diazomethan-Lösung versetzt. Die Derivatisierung ist nach einer Reaktionszeit von etwa 30 min abgeschlossen. Überschüssiges Diazomethan führt aufgrund seiner hohen Reaktivität zur Störung oder Beschädigung des gaschromatographischen Systems und sollte deshalb so weit wie möglich beseitigt werden. Der methylierte Extrakt darf aber maximal auf ein Volumen von 200 µl eingengt werden. Im Fall einer Kalibrierung mit externem Standard wird die eingengte Lösung mit Ethylacetat auf ein definiertes Volumen aufgefüllt und in ein Probenvial überführt. Zur Bestimmung der methylierten Nitrophenole werden 0,5 – 2 µl der Probe in den Injektor des Gaschromatographen eingespritzt. Für die Trennung werden je nach Anzahl der Analyten und verwendeter GC-Methode bis zu 30 Minuten benötigt.

Anhand dieser beiden Beispiele wird neben dem hohen Zeitaufwand ein weiterer Nachteil der für die Routineanalytik eingesetzten Normverfahren deutlich, der im Zusammenhang mit den verwendeten Probenanreicherungstechniken steht. Bei herkömmlichen Extraktionsverfahren, wie der Flüssig-Flüssig Extraktion (LLE) oder der Festphasenextraktion werden oft beträchtliche Mengen hochreiner und teilweise auch toxischer organischer Lösungsmittel verbraucht, deren Erwerb und Entsorgung einen hohen finanziellen Aufwand erfordern. Infolge dieser Nachteile und der ständig steigenden Anforderungen, die an heutige und zukünftige Verfahren in der Umweltanalytik gestellt werden, konnten in den letzten Jahren unterschiedliche Entwicklungen beobachtet werden, die letztendlich dazu dienen, die Nachweisempfindlichkeit zu steigern, den Zeit- bzw. Arbeitsaufwand zu minimieren und die Analysenkosten zu senken. Prinzipiell gibt es mehrere Möglichkeiten, die zur Entstehung schnellanalytischer Methoden mit hoher Nachweisstärke führen und die sich aus dem systematischen Arbeitsablauf standardisierter Verfahren ergeben.

So haben die Nachteile klassischer Extraktionstechniken unter anderem zur Entwicklung der Festphasenmikroextraktion (SPME) geführt. Diese Anreicherungstechnik, die erstmals 1989 von Belardi und Pawliszyn beschrieben [Bel1989] und seit 1993 kommerziell erhältlich ist, wurde entwickelt, um der Nachfrage nach einer unkomplizierten und lösungsmittelfreien Probenvorbereitung für die Gaschromatographie zu begegnen. Mehrere Übersichtsarbeiten [Art1990, Boy1994, Zha1994, Pop1995, Eis1996, Eis1997] und ein Buch von Pawliszyn [Paw1997] fassen den bisherigen Wissensstand zusammen. Obwohl die SPME primär in

Verbindung mit der Gaschromatographie verwendet wird, ist ihr Einsatz in Verbindung mit der HPLC ebenso möglich. Eine Weiterentwicklung der Festphasenmikroextraktion ist die SBSE (Stir Bar Sorptive Extraction) [Bal1999]. Sie kommt der Forderung nach einer höheren Empfindlichkeit nach. Im Gegensatz zur konventionellen SPME findet die Anreicherung jedoch nicht an einer polymerbeschichteten fused silica Faser sondern an einem Rührstäbchen (Gerstel-Twister) statt, das mit Polydimethylsiloxan (PDMS) beschichtet ist. Aufgrund des größeren Extraktionsvolumens (50-300  $\mu$ l) des Twisters, verringert sich das Phasenverhältnis zwischen der wässrigen und der PDMS-Phase von etwa 20000 (SPME-Faser) auf 33-200 bezogen auf eine Wasserprobe von 10 Milliliter. Im Vergleich zur konventionellen SPME verbessert sich dadurch die Empfindlichkeit um den Faktor 100 bis 1000 [Dug1998, Bru1998, Bell1998].

Die Tendenz zur Miniaturisierung kann auch bei den herkömmlichen Verfahren zur Probenanreicherung beobachtet werden. Beispiele sind die Micro-Flüssig-Flüssig-Extraktion (In-Vial-Extraction) [Ven1996, Bel1997, Tes1998] und die Disk-Catridge-SPE. In Verbindung mit modernen Analysengeräten führen diese Techniken zu schnelleren Analysen, höherem Probendurchsatz, geringerem Lösungsmittelsverbrauch und weniger Arbeitsaufwand für die Vorbereitung der Proben, wobei die Empfindlichkeit hingegen erhalten bleibt oder sogar gesteigert wird. Ein weiterer Vorteil dieser Neuentwicklungen ist die leichtere Automatisierbarkeit, die manuelles Arbeiten auf das Wesentliche einschränkt.

Eine anderer Trend zur Optimierung spurenanalytischer Verfahren ist die Beschleunigung der chromatographischen Trennung, denn die Rentabilität von Industrie- und Auftragslaboratorien wird in der heutigen Zeit aufgrund des hohen Probenaufkommens immer mehr durch den Probendurchsatz bestimmt. Unter dem Namen High Speed GC, Fast-GC, Ultra-Fast-GC usw. werden verschiedene Konzepte und Techniken bezeichnet, die in den letzten Jahren zur schnellen GC-Trennung entwickelt worden sind [Cra1999a, Cra1999b, Fri2000, Hin2001a, Hin2001b, Hin2001c]. Trotz schnellerer Trennung wird die notwendige chromatographische Auflösung aber nur unwesentlich vermindert. Durch den Einsatz von Trennsäulen mit verringertem Säuleninnendurchmesser (ID: 0,1 mm; 0,15 mm) und reduzierter Säulenlänge in Kombination mit der Anwendung sehr schneller Temperaturprogramme kann mit dieser Trennmethode bis zu 80 % der Analysenzeit eingespart werden. Einen Vergleich zwischen einer schnellen und einer konventionellen GC/MS Analyse ist in Abbildung 3 am Beispiel einer PAK-Messung zu sehen. Durch die Verwendung einer 20m x 0,15 mm ID Trennsäule gegenüber einer Standardsäule (30 m x

## 1 Einleitung

0,25 mm ID) verbunden mit einem schnellen Temperaturprogramm (50°C/min), konnte der Zeitbedarf um ca. 50 % reduziert werden.

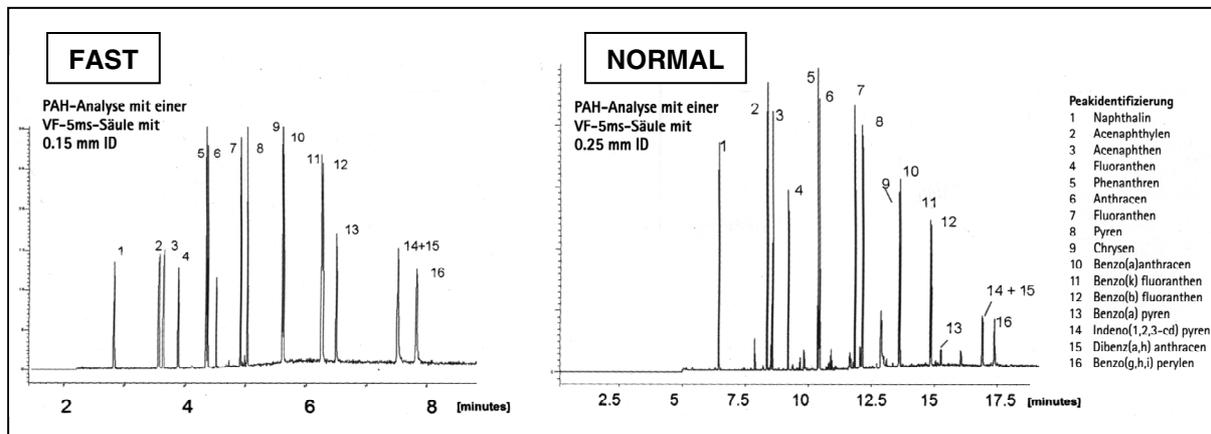


Abb. 3: Vergleich von FAST-GC/MS und NORMAL-GC/MS am Beispiel eines PAK-Standards

Eine wichtige Voraussetzung für die schnelle GC-Trennung ist jedoch, dass die Injektionstechnik, die Detektions- und Datenaufnahmegeschwindigkeit für eine solche Vorgehensweise konzipiert sind. So ist die Verringerung des Innendurchmessers der Kapillarsäule mit einem höheren Säuleneingangsdruck, und einer geringeren Probenkapazität verbunden und benötigt deshalb ein Injektionssystem zur sehr schnellen Dosierung geringster Probenmengen. Zudem sind hochempfindliche Detektoren mit kleinem Volumen und einer extrem kurzen Ansprechzeit sowie eine schnelle Datenerfassung und -verarbeitung erforderlich. Bei der Kopplung der Fast-GC mit einem Massenspektrometer sind z.B. Scanraten von bis zu 6750 Dalton pro Sekunde notwendig, um genügend Datenpunkte für die Integration zu erhalten. An die stationäre Phase der Trennsäule werden ebenfalls hohe Ansprüche gestellt, da oft mit hohen Aufheizraten gearbeitet wird. Seit kurzer Zeit sind deshalb Trennsäulen mit speziell gebundenen, stabilisierten Phasen erhältlich, die ein extrem geringes Säulenbluten und lange Standzeiten selbst bei hohen Aufheizraten im Dauerbetrieb aufweisen. Außerdem verbessert sich durch das geringere Säulenbluten und dem damit verminderten Untergrundrauschen das Signal/Rauschverhältnis, was zu einer Steigerung der Empfindlichkeit führt.

Der Bedarf an schnellanalytischen Methoden mit hoher Selektivität und Nachweisempfindlichkeit hat aber auch zur Entwicklung von spektroskopischen Verfahren, wie der Lasermassenspektrometrie (LAMS) geführt [Lub1985, Let1987] welche gänzlich auf die chromatographische Trenntechnik verzichten und die den Aufwand für die Probenpräparation auf ein Minimum reduzieren.

Bei der LAMS wird die Massenspektrometrie mit einem selektiven Ionisationsverfahren, der resonanten Multiphotonen-Ionisation kombiniert. Diese bindet die UV-Spektroskopie des Analyten in den Ionisationsprozess ein. Man erhält so ein zweidimensionales Verfahren, mit den Parametern Anregungswellenlänge und Molekülmasse. Die für den Ionisationsprozess benötigten Lichtintensitäten werden bei diesem Verfahren durch gepulste Lasersysteme bereitgestellt. Da die Ionisation mit gepulsten Lasern durchgeführt wird, kann sie ideal mit diskontinuierlich arbeitenden Massenspektrometern wie z.B. Flugzeitmassenspektrometern [Cot1994, Wei1996] oder Ionenfallen [Gho1995] kombiniert werden. Die hohe optische Selektivität und Nachweisstärke des Verfahrens ermöglichen einen vielfältigen Einsatz in der Spurenanalytik [Hur1980, Tem1985, Hay1987, Lub1990, Klu1990, Bec1992, Boe1998a, Boe2000]. Da die Schritte der Probenvorbereitung weitgehend vermindert werden oder ganz entfallen, zeichnet sich diese Methode besonders durch sehr kurze Messzeiten aus. Hohe Zeitaufösungen durch Laser-Repetitionsraten bis in den kHz-Bereich ermöglichen die Untersuchung selbst hochdynamischer technischer Prozesse, wie dies bereits bei der Überwachung des Schadstoffausstoßes von Kolbenmotoren [Wei1994a, Boe1998b] und Müllverbrennungsanlagen [Tha1998, Zim2001] erfolgreich demonstriert wurde.

Darüber hinaus wurde die Lasermassenspektrometrie zur isomeren Detektion von polychlorierten Aromaten, Dibenzodioxinen und – furanen [Wei1993, Wei1994b, Zim1994], und zum isotypen-selektiven Nachweis von Radionukliden [Klu1990] eingesetzt. Neben der hohen Trennschärfe der LAMS, die den Aufwand für die Probenpräparation erheblich reduziert bzw. ganz beseitigt, konnte bei diesen Anwendungen die hohe Nachweisempfindlichkeit der Methode gezeigt werden [Roh1988]. Im Zusammenhang mit der Analyse von Wasserproben wurde die LAMS bereits in Kombination mit der Laserdesorption (LD) gefrorener oder an Adsorbentmaterial fixierter Proben [Wei2002a, Glo2003] sowie mit Membraneinlasssystemen eingesetzt. Beide Ansätze waren durchaus erfolgreich, wiesen jedoch auch charakteristische Nachteile auf. So können mit der LD-LAMS Kopplung zwar kurze Messzeiten und ein hoher Probendurchsatz erzielt werden, doch liegen die erreichbaren Nachweisgrenzen außerhalb des in der Ultraspurenanalytik relevanten Bereichs, so dass dieses Verfahren lediglich für ein schnelles Screening von z.B. belasteten Gewässern an Verdachtsstandorten eingesetzt werden kann. Mit Membraneinlasssystemen werden für polyzyklische Aromaten Empfindlichkeiten bis in den mittleren ppt-Bereich [Son1998] erzielt, doch liegt zum einen die benötigte Messdauer in der Größenordnung, die auch für chromatographische Messungen typisch ist, wodurch ein wesentlicher Vorteil der Lasermassenspektrometrie aufgegeben wird. Zum anderen sind beispielsweise endokrin

wirksame Wasserinhaltsstoffe bereits bei einer Konzentration von ca. 1 ng/l biologisch wirksam. Um eine derartig geringe Konzentration noch nachweisen zu können, ist eine Vorkonzentrierung unumgänglich. Um die Lücke lasermassenspektrometrischer Verfahren für die Untersuchung von Wasserproben zu schließen, wird in dieser Arbeit eine schnellanalytische Methode vorgestellt, bei dem der Lasermassenspektrometrie in einer Quadrupol-Ionenfalle eine automatisierte Schadstoffanreicherung vorgeschaltet ist, um die in der Ultraspurenanalytik geforderten Nachweisgrenzen zu erzielen.

### **1.3 Zielsetzung dieser Arbeit**

Das Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung eines schnellanalytischen Verfahrens zum Nachweis aromatischer Spurenstoffe in Wasserproben. Das Verfahren soll, um den Anforderungen einer leistungsfähigen Methode zur organischen Spurenanalyse gerecht zu werden, eine Reihe von Randbedingungen erfüllen, zu denen neben ausreichender Empfindlichkeit, ein hohes Maß an Trennschärfe und Multikomponentenfähigkeit gehören. Um gegenüber den chromatographischen Standardmethoden, insbesondere der GC/MS-Kopplung, die diese Bedingungen erfüllen, aber oft zeit- und kostenintensiv sind, ein weitgehend automatisiertes Schnellanalyseverfahren bereit zu stellen, wurde eine Methode entwickelt, die auf der Kopplung von Massenspektrometrie, resonanter Multiphotonen-Ionisation und automatisierter Festphasenanreicherung basiert. Während der Einsatz der Massenspektrometrie in Form einer Quadrupol-Ionenfalle und die hohe Effizienz der resonanten Multiphotonen-Ionisation gerade für Aromaten eine hohe Nachweisstärke der Methode gewährleisten, ermöglicht die Selektivität des Ionisationsverfahrens, dass ausschließlich aromatische Verbindungen ohne störende Matrixeinflüsse nachgewiesen werden können. Die Kombination von resonanter Multiphotonen-Ionisation mit der Massenspektrometrie konnte ihr Potential bereits in einigen umweltanalytischen Fragestellungen unter Beweis stellen, wobei bisher fast ausschließlich Flugzeitmassenspektrometer eingesetzt wurden. So wurde die resonante Multiphotonen-Ionisation auf analytischem Gebiet bereits erfolgreich für die Elementanalyse [Hur1980, Klu1990, Bec1992] zum Nachweis von aromatischen Kohlenwasserstoffen [Tem1985, Hay1987, Lub1990] und zur Isomerentrennung bei substituierten aromatischen Kohlenwasserstoffen [Tem1985, Lub1987, Let1987, Wei1993, Wei1994b] eingesetzt. Eine preiswerte Alternative stellen Quadrupol-Ionenfallen dar, die zwar im Hinblick auf die

erzielbare Massenauflösung und den detektierbaren Massenbereich hinter den Flugzeitgeräten zurück bleiben, jedoch wesentlich kompakter sind und geringere Anforderungen an die Vakuumtechnik stellen. Da die analytische Aufgabenstellung in dieser Arbeit keine extrem hohe Zeitauflösung bzw. den Nachweis sehr großer Massen erfordert und dass entwickelte Verfahren unter anderem für die Online-Untersuchung von Fließgewässern eingesetzt werden soll, bietet sich aufgrund der kompakten Bauweise die Verwendung einer Quadrupol-Ionenfalle an. Folglich bestand die erste Teilaufgabe des vorliegenden Projekts in der Modifikation eines kommerziellen Quadrupol-Ionenfallen-Massenspektrometers zur Kopplung mit der Laserionisation und in der anschließenden Charakterisierung und Optimierung des so entstandenen Gerätes.

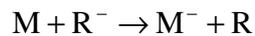
Um die in der Wasseranalytik geforderten Nachweisgrenzen im Ultraspurenbereich zu erzielen, sollte das Lasermassenspektrometrische Verfahren durch eine automatisierte Voranreicherung auf der Grundlage der Festphasenmikroextraktion ergänzt werden. Die Festphasenmikroextraktion bildet aufgrund ihrer vorteilhaften Eigenschaften die Basis für eine schnelle, unkomplizierte, leicht zu automatisierende, lösungsmittelfreie und damit kostengünstige Probenvorbereitung, die der zusätzlichen Steigerung der Empfindlichkeit dient, wobei die Zeitdauer für eine Messung nur unwesentlich verlängert werden soll.

Nach der Erprobung und Optimierung des gesamten analytischen Systems unter Laborbedingungen sollten das Gerät mobil gemacht und im Feldversuch für die Überwachung von Fließgewässern (z.B. Zu- und Ablauf von Kläranlagen usw.) unter realistischen Bedingungen eingesetzt werden.

Im Hinblick auf zukünftige Anwendungen der entwickelten Technik sind, wie bereits erläutert, pharmazeutisch wirksame Verbindungen im Wasser von besonderer Bedeutung. Daher sollten, über die ursprünglichen Ziele des Projekts hinausgehend, im Rahmen dieser Arbeit bereits ausgewählte Substanzen dieser Schadstoffgruppe auf ihre Nachweisbarkeit mittels Lasermassenspektrometrie untersucht werden.

## 1.4 Resonanzverstärkte Multiphotonen-Ionisation (REMPI) mit Lasern

In der analytischen Massenspektrometrie sind Ionisationsverfahren von großem Vorteil, die eine selektive Ionisation der nachzuweisenden Substanzen erlauben. Die Suche nach substanzselektiven Ionisationsmethoden führte im Wesentlichen zur Chemischen Ionisation (CI) und zur Ionisation mittels Photonen. Bei der negativen CI erfolgt die Ionisation durch Ladungsübertragung (charge transfer) zwischen Reaktand-Ion ( $R^-$ ) und Probenmolekül (M). Dieser Prozess kann durch folgende Reaktionsgleichung vereinfacht beschrieben werden.



Da die Reaktion nur dann möglich ist, wenn die Elektronenaffinität der Analytmoleküle größer ist als die des Elektronendonators ( $R^-$ ), kann durch die geeignete Wahl des Reaktandgases ein gewisser Grad an Selektivität der Ionisation erreicht werden. Entsprechendes gilt für die Protonenaffinitäten bei der positiven CI [Har1983].

Ein wesentlicher höherer Grad an Selektivität wird durch die so genannte Resonanzverstärkte Multiphotonen-Ionisation (engl. Resonance Enhanced Multiphoton Ionization, REMPI) erreicht [Let1987, Gro1988, Lub1990]. Bei dieser Technik wird das Molekül durch die Absorption eines Photons in einen bestimmten Zwischenzustand angeregt, wenn die Lichtwellenlänge des Lasers auf einen Übergang zwischen zwei elektronischen und vibratorischen Zuständen der zu ionisierenden Substanz abgestimmt ist. Dieser Vorgang wird als resonante Anregung bezeichnet. Ist der erreichte Zustand langlebig genug, kann ein weiteres Photon absorbiert und das Ionisationspotential des Moleküls überschritten werden. Man spricht in diesem Fall von einer (1+1)-Ionisation [Boe1987], siehe Abbildung 4a. Allgemein liegt eine (x+y)-Ionisation vor, wenn nach der Absorption von x Photonen ein resonanter Zwischenzustand erreicht wird und die Ionisationsschwelle nach der Aufnahme von weiteren y Photonen überschritten wird. Einige mögliche Prozesse der resonanten Multiphotonionisation sind in Abbildung 4 schematisch dargestellt.

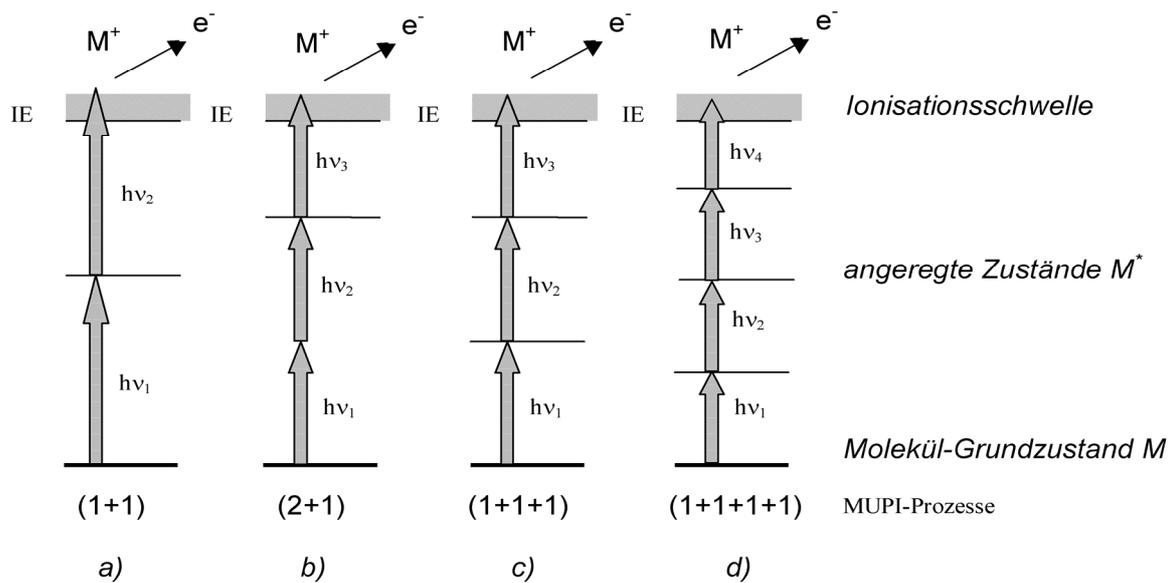


Abb. 4: Prinzipien der Resonanzverstärkten Multiphotonen-Ionisation a) Zwei-Photonen-; b),c) Drei-Photonen und d) Vier-Photonen-Absorption

Der Vorteil der resonanten Multiphoton-Ionisation für analytische Anwendungen liegt in der Möglichkeit, substanzspezifisch zu ionisieren, da Moleküle die bei der eingestellten Lichtwellenlänge keine Resonanz aufweisen, nicht bzw. nur mit sehr geringer Wahrscheinlichkeit ionisiert werden. Durch diese Ionisationsmethode wird eine hohe Selektivität bezüglich der zu untersuchenden Substanzen erreicht, da die für den Analyten charakteristische UV-Spektroskopie in den Ionisationsschritt eingebunden wird. So besteht die Möglichkeit, durch die Wahl der Ionisationswellenlänge aus einer komplexen Mischung lediglich eine Substanz oder eine Gruppe von Substanzen gezielt zu ionisieren und die anderen Komponenten effektiv zu unterdrücken. Die Selektivität des resonanten Multiphoton-Ionisations-Prozesses ist schematisch in Abbildung 5 dargestellt.

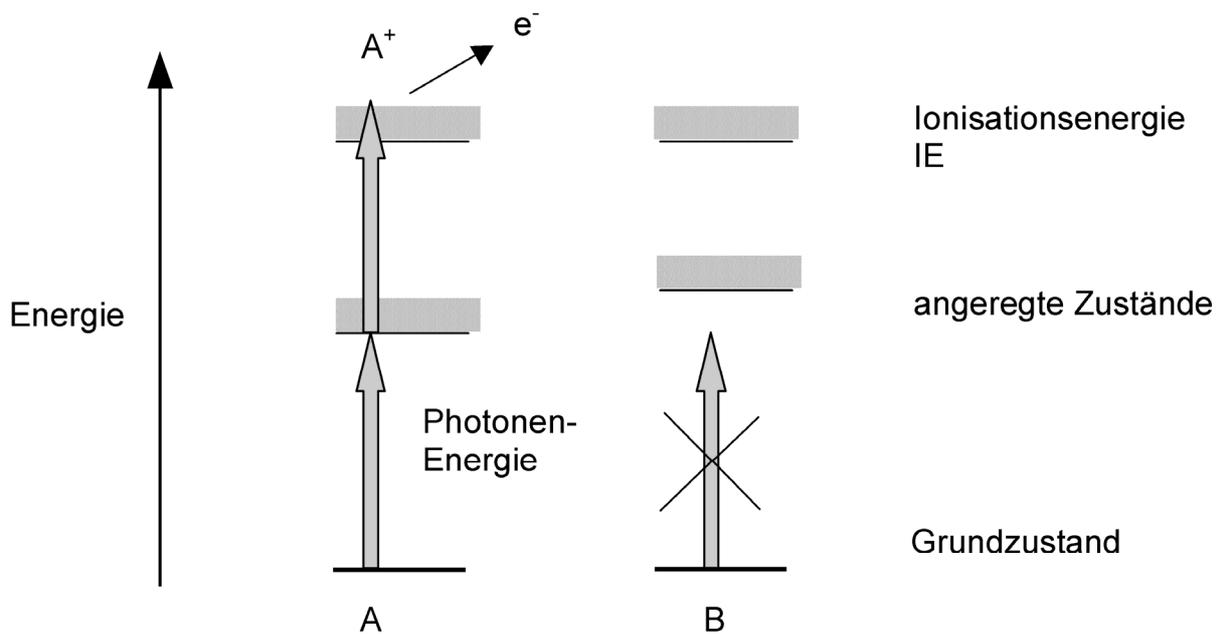


Abb. 5: Selektivität der resonanten Multiphoton-Ionisation: Molekülspezies A erreicht bei der eingestrahlten Lichtwellenlänge (Photonenenergie) einen angeregten Zustand und kann durch Weiterabsorption ionisiert werden, während Spezies B nicht angeregt und daher auch nicht ionisiert wird.

Um höchste Selektivität des Ionisationsprozesses zu erzielen, müssen die internen Freiheitsgrade der zu untersuchenden Moleküle stark abgekühlt werden, was in einer Vakuum-Überschallexpansion der Moleküle zusammen mit einem Trägergas erfolgt. Durch die Kühlung der Probenmoleküle werden die Linienbreiten der optischen Übergänge stark verringert. Die Selektivität der Ionisation kann dadurch soweit gesteigert werden, dass auch isomere Substanzen getrennt werden können [Sma77, Lev81, Tem1986, Wey1985, Mei90a, Mei90b]. Abbildung 6 zeigt das Ergebnis einer solchen Untersuchung am Beispiel der Isomere des Trichlorbenzens [Wei1994b]. Dargestellt sind die 2-Photonen /2-Farben-REMPI-Spektren von 1,2,3 TCB, 1,2,4-TCB und 1,3,5-TCB. Aufgrund der geringen Linienbreiten der optischen Übergänge erhält man gut strukturierte REMPI-Spektren, die sich deutlich voneinander unterscheiden. Ein spezifischer Nachweis der Trichlorbenzen-Isomere ist dadurch möglich. Für den simultanen Nachweis ganzer Substanzgruppen ist eine höhere Molekültemperatur erforderlich, so dass der Probeneinlass bei Raumtemperatur oder sogar darüber erfolgen kann.

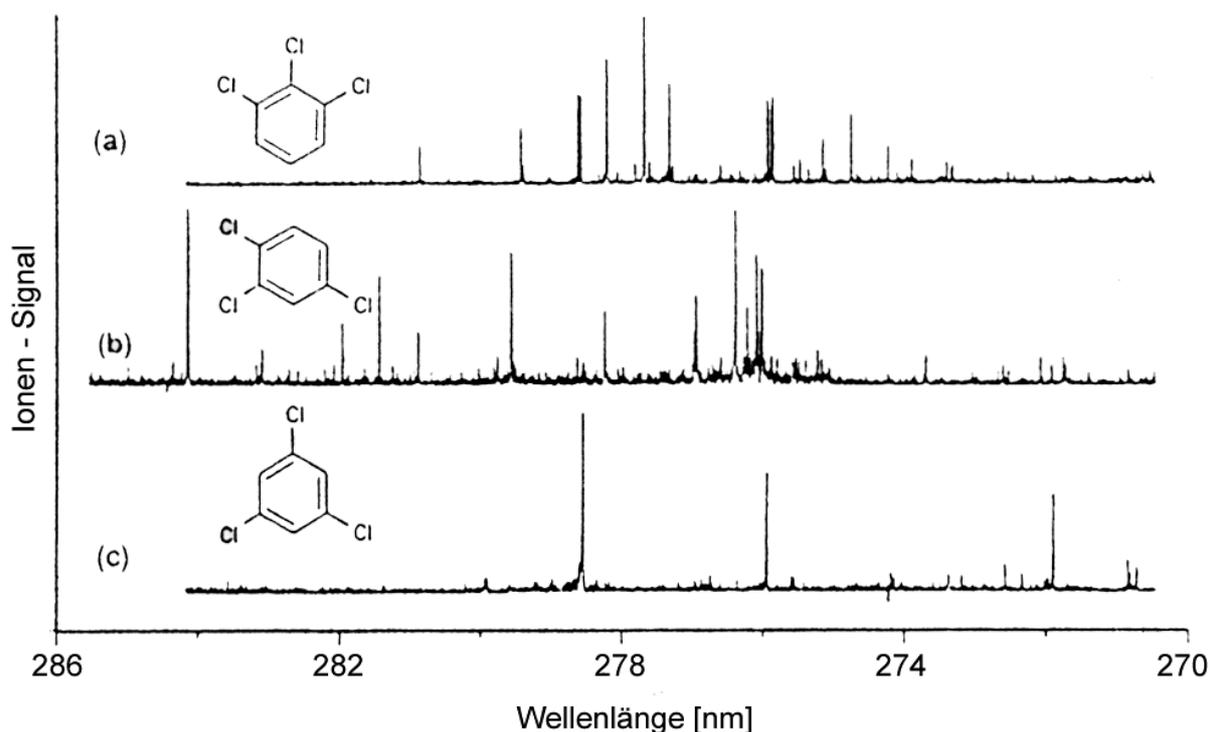


Abb. 6: 2-Photonen/2-Farben REMPI-Spektren von Trichlorbenzen: (a) 1,2,3-TCB; (b) 1,2,4-TCB; (c) 1,3,5-TCB

Neben der hohen Selektivität besitzt die REMPI noch eine weitere, für den Einsatz in der Analytik wichtige Eigenschaft, die besonders bei der Untersuchung komplexer Stoffgemische von Vorteil ist. Durch Variation der Laserintensität kann der Grad der Fragmentierung bei der Ionisation gesteuert werden [Zan1979, Roc1979, Boe1981a, Boe1981b]. Einerseits lässt sich in vielen Fällen das Molekülion fragmentfrei darstellen, was die Interpretation der Massenspektren in komplexen Gemischen erheblich erleichtert oder erst ermöglicht [Hay1987, Lub1990, Wei1993]. Andererseits können durch hohe Laserintensitäten molekulspezifische Fragmentspektren erzeugt werden, um zusätzliche Strukturinformationen bei der Identifikation unbekannter oder isomerer Substanzen zu erhalten. Ein Beispiel für den steuerbaren Fragmentierungsgrad ist in der Abbildung 7 zu sehen. Dargestellt sind die Laserflugzeitmassenspektren von Xylol (Dimethylbenzen) bei unterschiedlichen Laserintensitäten. Bei einer Laserintensität von  $10^6 \text{ W/cm}^2$  wird ein fragmentarmes und sehr übersichtliches Massenspektrum erhalten bei dem lediglich das Molekülion als Basispeak und das durch Methylabspaltung entstandene  $\text{C}_7\text{H}_7^+$ -Fragment zu sehen ist. Eine Verzehnfachung der Laserintensität führt in diesem Beispiel zu einem starken Anstieg des Fragmentierungsgrades. Durch den hohen Energieüberschuss besitzen die Fragmentionen

## 1 Einleitung

genügend Energie, um weiter bis zum  $C^+$ -Fragment zu zerfallen. Aufgrund der starken Fragmentierung der Molekülonen sinkt deren Signalintensität teilweise unter die der gebildeten Fragmentionen.

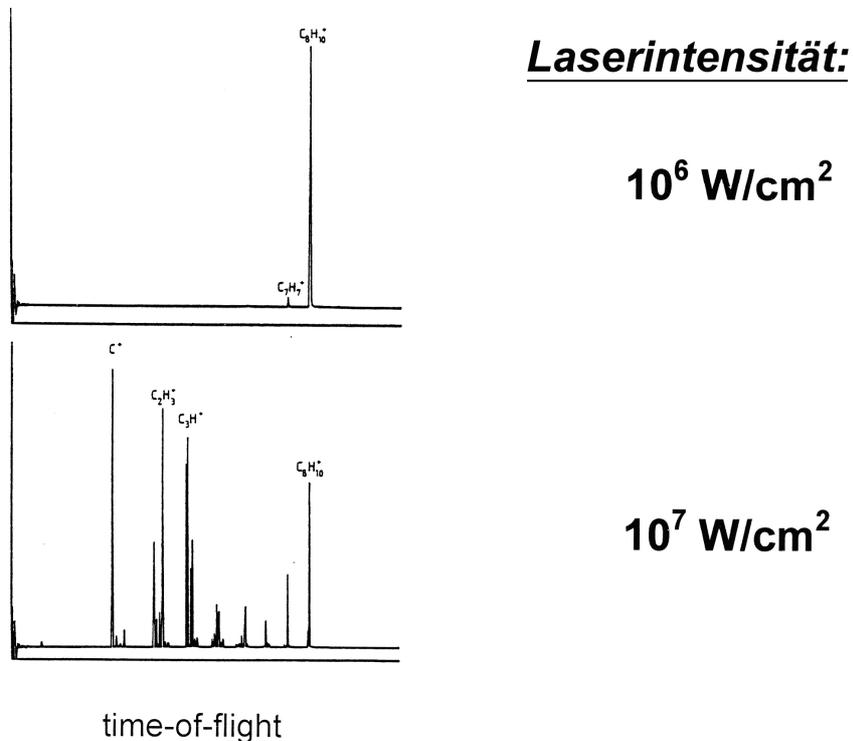


Abb. 7: Laser-Flugzeitmassenspektren von Xylol bei unterschiedlicher Laserintensität zur Demonstration des steuerbaren Fragmentierungsgrades

Um die Wahrscheinlichkeit für einen Multiphoton-Prozess und damit die Empfindlichkeit der Methode zu erhöhen, muss mit hohen Lichtintensitäten gearbeitet werden, die in der Regel nur mit gepulsten Lasersystemen erreicht werden. Wegen der gepulsten Weise der Ionenbildung ist diese Ionisationsmethode ideal kombinierbar mit diskontinuierlich arbeitenden Massenspektrometern wie z.B. Flugzeitmassenspektrometern und Ionenfallen. Die Kombination von Resonanzverstärkter Multiphotonen-Ionisation mit Lasern und Massenspektrometrie wird deshalb oft auch als Lasermassenspektrometrie (LAMS) bezeichnet.

## 2 Experimentelle Aufbauten und Techniken

### 2.1 Das GC/MS-System

Für den spurenanalytischen Nachweis von Schadstoffen wurde das kommerzielle GC/MS-System der Firma Varian mit der Bezeichnung „Saturn 2100 GC/MS“ gekauft und für die Laserionisation modifiziert. Bei dem verwendeten Massenspektrometer handelt es sich um eine Quadrupol-Ionenfalle (engl. Quadrupol-Ion Trap, QIT) mit der Modellbezeichnung Saturn 2100 T. Entscheidend für die Auswahl des Massenspektrometers war neben den Standardparametern Massenbereich, Scangeschwindigkeit und dem finanziellen Aspekt vor allem die optische Zugänglichkeit und die Synchronisierbarkeit der Abläufe mit externen Geräten (Laser). Diese Ionenfalle arbeitet mit einer internen Ionenquelle, was von Vorteil ist, da der Transmissionsgrad und die damit verbundene Nachweisempfindlichkeit oft höher sind, als bei Geräten mit externer Ionenquelle. Darüber hinaus ist das Modell Saturn 2100 T durch einen vergleichsweise offenen und einfachen Aufbau gekennzeichnet. Damit sind ideale Voraussetzungen zur Einkopplung des Laserstrahls für die Multiphotonionisation und die Entwicklung eines spurenanalytischen Verfahrens gegeben.

Für die Probenverdampfung, Probentrennung und den Probentransport wurde ein Gaschromatograph (Modell 3900) eingesetzt. Das Gerät wird in Verbindung mit dem Massenspektrometer als Hardwarepaket „Saturn 2100 GC/MS“ zu einem Preis verkauft, der nur geringfügig über dem des Massenspektrometers liegt. Somit stand also bereits zum Beginn des Forschungsprojekts ein ausgereiftes Injektionssystem zur Verfügung und das Massenspektrometer konnte unter Standardbedingungen getestet werden. Durch den Vergleich der Geräteparameter und Messdaten vor und nach der Modifikation des Massenspektrometers, konnte außerdem die Funktionstüchtigkeit des Gerätes überprüft und bestätigt werden.

Der GC 3900 ist mit einem isothermen Split / Splitlos Injektor (CP-1177) ausgestattet. Der Injektor arbeitet in einem Temperaturbereich von 30 °C – 450 °C (isothermal). Die Regelung des Säulen- und Splitflusses erfolgt durch eine elektronische Flusskontrolle (EFC). Die chromatographische Trennung der Probe erfolgt über eine 30 m lange Kapillarsäule (CP-Sil 8 Low Bleed) mit einem Innendurchmesser von 0,25 mm und eine Filmstärke von 0,25 µm. Dabei handelt es sich um eine unpolare Standardsäule deren stationäre Phase aus 5 % Phenyl- und 95 % Dimethylpolysiloxan besteht. Die Säule kann bis zu einer Maximaltemperatur von 325 °C isotherm / 350 °C programmiert beheizt werden.

## 2 Experimentelle Aufbauten und Techniken

Der Säulenofen kann in einem Temperaturbereich von 10 °C (Umgebungstemperatur) bis maximal 450 °C betrieben werden. Die Heizrate für den temperaturprogrammierten Betrieb kann von 0,1 °C/min - 100 °C/min eingestellt werden. Bis zu 6 verschiedene Heizrampen sind in einem chromatographischen Lauf programmierbar. Über eine beheizte Transferline ist das Ende der Kapillarsäule direkt mit der Ionenfalle verbunden. Die zu untersuchende Probe wird sehr schnell im Injektor des Gaschromatographen verdampft und mit Hilfe der mobilen Phase bzw. des Trägergases (He 5.0) durch die Kapillarsäule in das Massenspektrometer befördert.

Um eine Kondensation der Neutralteilchen an den Elektroden der Ionenfalle zu verhindern, wird diese im Standardbetrieb auf eine Temperatur von 150 -175 °C beheizt. Für die Analyse von hoch siedenden Substanzen kann die Temperatur auf maximal 250 °C erhöht werden. Der notwendige Arbeitsdruck von  $10^{-5}$  mbar wird durch einen Pumpenstand, bestehend aus einer Turbomolekularpumpe mit einer Saugleistung von 60 l/sec und einer Drehschieberpumpe erzeugt.

Das Massenspektrometer Saturn 2100 T arbeitet in einem Massenbereich von 10 – 650 amu mit einer maximalen Scanrate von bis zu 10 Hz (volles Spektrum). Die Ionisation der Neutralteilchen erfolgt standardmäßig durch energiereiche Elektronen wodurch positive Ionen gebildet werden. Zur Speicherung der gebildeten Ionen wird eine Wechselspannung im Radiofrequenzbereich (1,1 MHz) an die Ringelektrode der Ionenfalle angelegt. Als Kühlgas bzw. zur Stabilisierung der Ionenflugbahnen wird Helium verwendet. Durch Stöße zwischen den gespeicherten Ionen und den niederenergetischen Puffergasmolekülen verlieren die Ionen einen Teil der kinetischen Energie und werden besser im Zentrum der Quadrupol-Ionenfalle konzentriert. Durch diese räumliche Konzentration wird das Massenaufklärungsvermögen des Massenspektrometers erhöht. Der Helium-Gasdruck wird zum einen durch den Gasfluss der GC-Kapillarsäule und zum anderen durch die Pumpleistung der Vakuumpumpe (s.o.) reguliert. Der Druck in der Vakuumkammer sollte einen Wert von  $10^{-3}$  mbar nicht überschreiten, da sonst die Extraktion und der Nachweis der Ionen stark behindert werden. Als Ergebnis bewegen sich die Ionen wieder zur Mitte der Ionenfalle anstatt sie zu verlassen. Zum Beginn der Massenanalyse werden Frequenz und Amplitude der an der Ringelektrode angelegten Wechselspannung so eingestellt, dass alle Ionenmassen stabile Trajektorien in der Falle beschreiben. Durch die anschließende Veränderung der Größen werden die Flugbahnen der einzelnen Ionenmassen instabil. Bei der Varian Ionenfalle Saturn 2100 werden die Ionen während des Massenscans durch eine konstante Erhöhung der Wechselspannungsamplitude bei einer festen Frequenz von 1,1 MHz destabilisiert. Aufgrund der Geometrie der Quadrupol-Ionenfalle tritt diese Bahninstabilität zu erst in Richtung der Symmetrieachse auf. Die

Spannung bei der ein Ion aus der Falle austritt wird als Resonanzspannung bezeichnet. Ist die Spannung niedriger als die Resonanzspannung, kreist das Ion auf einer stabilen Bahn und schwingt in alle 3 Raumrichtungen. Wird die Spannung erhöht, wächst die Schwingungsamplitude in Richtung der Symmetrieachse schnell an. Ein Teil der Ionen erreicht aufgrund dieser Bewegung die obere Endelektrode (Filament Endcap) und wird neutralisiert, der andere Teil verlässt durch die Öffnungen der unteren Endelektrode (Exit Endcap) die Ionenfalle und trifft auf einen Detektor. Diese Vorgänge werden mathematisch exakt durch die Lösungen der Differentialgleichung der Ionen im Quadrupolfeld beschrieben, die auf Matthieu zurückgehen.

Zur Detektion der positiv geladenen Ionen wird in dem Saturn-Gerät ein Channel Electron Multiplier (CEM) mit der Modellbezeichnung 4755GM verwendet. Das Channeltron 4755 GM gehört zu den Sekundärelektronenvervielfachern. Es besteht aus einem gebogenen Glastrichter (Kathode), der mit einer Bleioxidschicht überzogen ist sowie einer Metallkappe (Anode), die sich am Ausgang des Trichters befindet. Am oberen Ende des Glastrichters, der Kathode wird eine negative Spannung von -800 bis -3000 Volt angelegt. Das untere Ende des Glastrichters liegt auf Erdpotential. Positive Ionen die aus der Ionenfalle heraustreten, werden durch die negative Spannung angezogen und treffen mit einer hohen Geschwindigkeit auf die innere Oberfläche der Kathode. Ist die kinetische Energie der positiven Ionen groß genug, dann schlagen sie Elektronen aus der Kathodenoberfläche. Die herausgeschlagenen Elektronen werden durch das Potentialgefälle beschleunigt und treffen erneut, als Ergebnis der gekrümmten Oberfläche, auf diese auf. Hieraus resultiert ein ständig anwachsender Elektronenstrom, eine so genannte Elektronenkaskade. Die Elektronenlawine erzeugt an der Anode ein Signal das proportional zum Ionenstrom ist. Die Multiplierspannung wird bei der Autokalibrierung des Massenspektrometers so eingestellt, dass eine Signalverstärkung von etwa  $10^5$  auftritt. Ein Ion erzeugt also ca.  $10^5$  Elektronen.

Die Anzahl der gebildeten und in der Falle gespeicherten Ionen ist proportional zur Ionisationsdauer. Je größer die Ionisationszeit ist, desto mehr Ionen werden gebildet. Obwohl bei einer Anzahl von  $10^4$  bis  $10^5$  Ionen die maximale Speicherkapazität der Ionenfalle noch nicht erreicht ist, kommt es aufgrund des begrenzten Raumes zur Abstoßung zwischen den gleich geladenen Ionen, was zu einer Verringerung des Auflösungsvermögens durch Raumladungseffekte führt. Durch das Anlegen einer schwachen Wechsellspannung, der axialen Modulationsspannung, an den Polkappen (End-Elektroden) der Ionenfalle werden diese Raumladungseffekte jedoch vermindert. Die axiale Modulationsspannung hat eine feste Frequenz von 485 kHz. Ist ein Ion in Resonanz mit dieser Spannung, dann bewegt es sich aus

## 2 Experimentelle Aufbauten und Techniken

dem Zentrum der Falle in einen Bereich, wo das von der RF-Spannung aufgebaute Feld stärker ist. Durch die kleinere Anzahl an Ionen in diesem Bereich treten nur geringe Raumladungseffekte auf, was zu einem verbesserten Auflösungsvermögen führt. Die maximale Speicherkapazität der verwendeten Ionenfalle liegt bei  $10^6$  bis  $10^7$  Ionen. Wird diese Kapazitätsgrenze überschritten, verschlechtert sich die Auflösung und Qualität des Massenspektrums zunehmend. In der Abbildung 8 sind die Auswirkungen einer massiven Kapazitätsüberschreitung der Ionenfalle am Beispiel eines Phenanthrenstandards abgebildet. Bild 8A zeigt das Lasermassenspektrum wie es unter normalen Bedingungen ohne Überladung erhalten wird. Man sieht ein fragmentfreies Spektrum mit dem Molekülionensignal als Basispeak. Die Veränderungen des Massenspektrums bei einer Überladung der Ionenfalle werden in der Abbildung 8B deutlich sichtbar. Durch Raumladungseffekte und den damit eng verbundenen Ionen-Molekülreaktionen (Auto-CI) treten starke Fragmentierungen auf. Außerdem kann eine zu hohe Ionenkonzentration im begrenzten Raum der Ion Trap dazu führen, dass die Auswurfzeit für die häufigsten Ionen nicht ausreicht, was zu einem falschen Extraktionszeitpunkt und somit zu falschen  $m/z$ -Berechnungen und verzerrten Massenspektren führt [Hol2001]. Eine Überladung der Ionenfalle kann also letztendlich dazu führen, dass die Qualität des Massenspektrums so stark vermindert wird, dass eine Stoffidentifikation unmöglich ist.

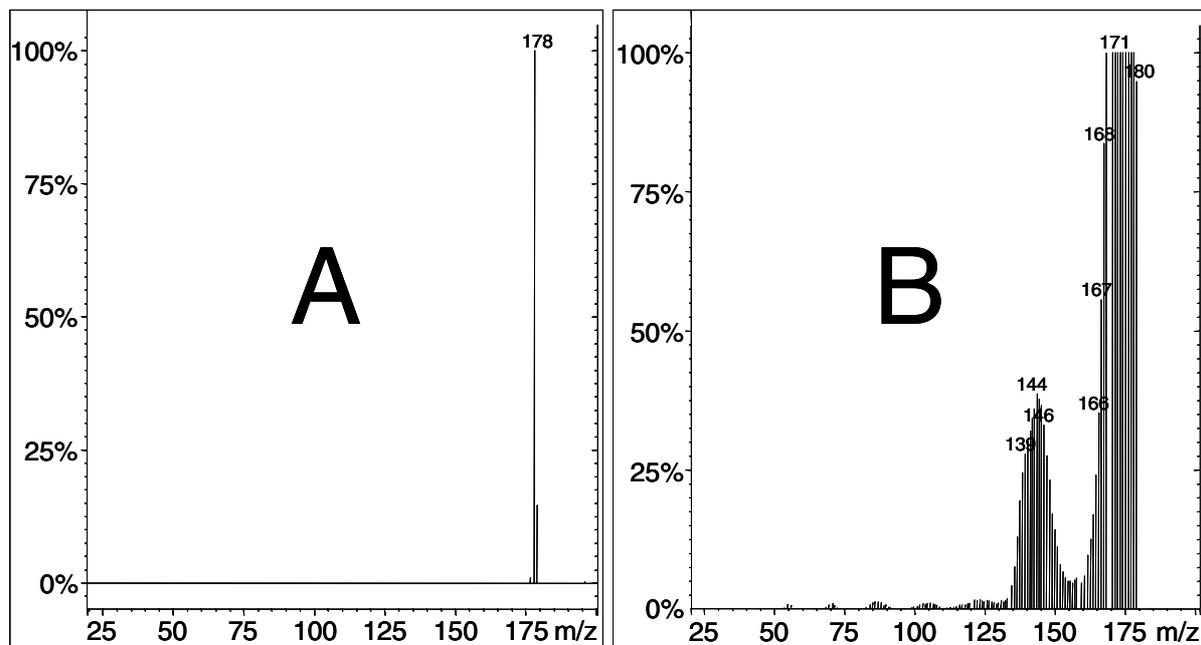


Abb. 8: Lasermassenspektren eines Phenanthrenstandards: A keine Überladung der Ionenfalle  
B massive Überladung der Ionenfalle

Um eine Überladung der Ionenfalle zu vermeiden, wird die Ionisationszeit durch die „Automatic Gain Control“ (AGC) Scanfunktion gesteuert. Die AGC ist eingeschaltet, wenn der EI-Auto Modus im Methodeneditor der Steuerungssoftware aktiviert wird. In Abbildung 9 ist die AGC Scanfunktion schematisch in einem Diagramm dargestellt, das die RF-Spannung in Abhängigkeit von der Zeit zeigt.

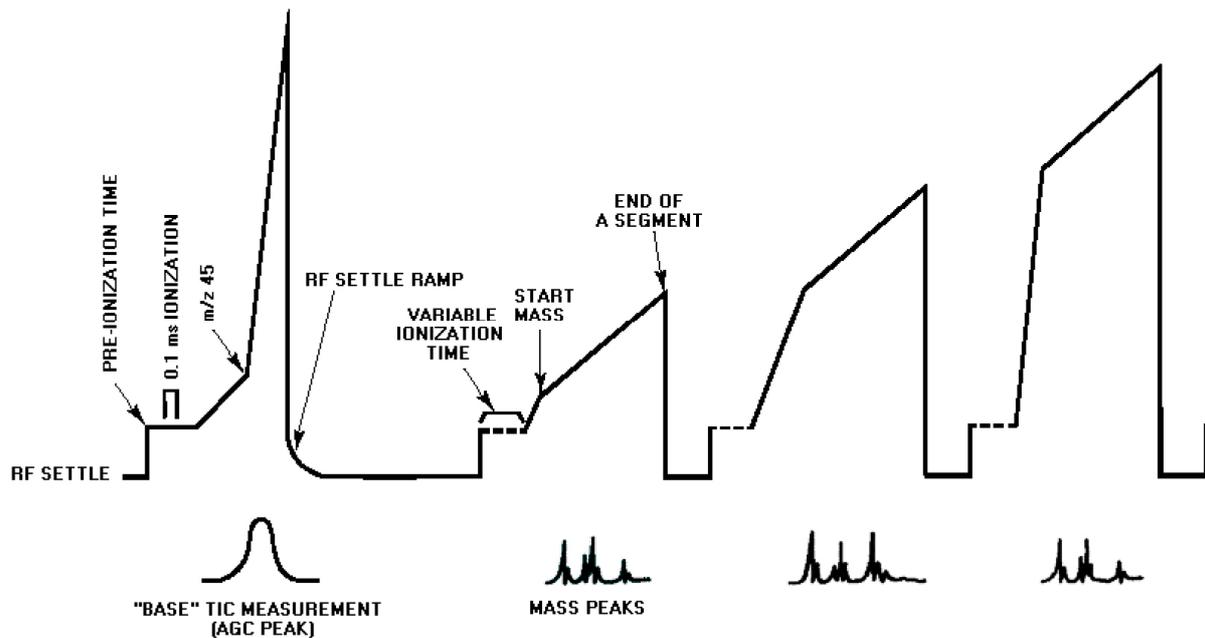


Abb. 9: Automatic Gain Control Scanfunktion

Die AGC Scanfunktion besteht aus einem Vor-Scan (Prescan) und bis zu 6 Massensegmenten. In der Standardeinstellung unterteilen 4 Scanssegmente den gesamten Massenbereich der Ionenfalle von 10 bis 99 amu, 100 bis 249 amu, 250 bis 399 amu und 400 bis 650 amu. Um die optimale Ionisationszeit für alle Scanssegmente zu bestimmen, wird ein Prescan mit einer typischen Ionisationsdauer von 100 µs durchgeführt. Aus dem gemessenen Totalionenstrom des Prescans berechnet die AGC-Software die Ionisationszeit die notwendig ist, um den vom Benutzer eingestellten Zielwert des Totalionenstroms (max. 65000 counts) für den gewählten Massenbereich zu erhalten. Die Ionisationszeit berechnet sich nach folgender Gleichung:

$$IT_a = \frac{IT_p * TIC_t * SF_a}{TIC_m}$$

$IT_a$  : aktuelle Ionisationszeit die für alle Segmente des Microscans benutzt wird.

$IT_p$  : die Ionisationszeit des Prescans.

## 2 Experimentelle Aufbauten und Techniken

$TIC_m$  : Totalionenstrom der Prescan-Messung.

$TIC_i$  : Ist der einstellbare Zielwert des Totalionenstroms der als Referenz zur Kalkulation der Prescan-Messung benötigt wird.

$SF_a$  : Skalierungsfaktor; ein prozentualer Anteil der aktuellen Ionisationszeit  $IT_a$ , der eine individuelle Einstellung des Response und der Auflösung für jedes Scansegment erlaubt.

In Abhängigkeit von der Probenkonzentration wird also durch die AGC-Steuerung automatisch die Ionisationszeit für die optimale Beladung der Ionenfalle bestimmt, denn zu wenig gespeicherte Ionen bedeuten geringe Empfindlichkeit und zu viele Ionen verursachen, wie bereits beschrieben, unerwünschte Überladungseffekte. Bei der Untersuchung von hohen Stoffkonzentrationen sinkt die Ionisationszeit auf ein Minimum von 10  $\mu$ s, so dass nur ein Bruchteil der Neutralteilchen ionisiert wird und dadurch eine Überladung vermieden wird. Bei extrem geringen Substanzmengen kann die Ionisationszeit auf maximal 65000  $\mu$ s ansteigen, um einen möglichst hohen Anteil der gasförmigen Materie als Ionen in der Ionenfalle zu speichern.

Die AGC-Scanfunktion kann jedoch auch abgeschaltet und stattdessen im „EI-Fixed Modus“ bzw. mit einer festen Ionisationszeit gearbeitet werden. Die feste Ionisationszeit kann in einem Bereich von 10  $\mu$ s bis maximal 65 ms voreingestellt werden. Der gesamte Massenbereich kann ebenfalls wie bei der AGC-Scanfunktion in bis zu 6 Scansegmente unterteilt werden. Die Scanfunktion mit fester Ionisationszeit enthält jedoch keinen Prescan. Die Ionisationszeit variiert demzufolge nicht in Abhängigkeit von der Probenkonzentration, sondern bleibt konstant. Ein manuelles Tuning kann aber einzeln durch die Optimierung der Ionisationszeit für jedes Scansegment erfolgen.

Die Ionensignale aller Scansegmente des voreingestellten Massenbereichs, die mit einer konstanten Scanrate von 5600 Massen pro Sekunde erhalten werden, bezeichnet man als Microscan. Die Anzahl der Microscans kann indirekt über die Scanzeit im Methodeneditor festgelegt werden. Als Scanzeit bezeichnet man die Zeit, die für einen analytischen Scan im eingestellten Massenbereich zur Verfügung stehen soll. Anhand dieser Zeit berechnet die MS-Software automatisch die Anzahl der Microscans. Bei einem Massenbereich von 50 – 650 m/z und einer Scanzeit von 1 sec/Scan erhält man z.B. 3 Microscans. Das bedeutet, dass der Massenbereich von 50-650 m/z innerhalb von einer Sekunde 3-mal abgescannt wird. Die erhaltenen Ionensignale aus allen 3 Microscans werden automatisch in Abhängigkeit von der unterschiedlichen Ionisationszeit skaliert und zu einem Mittelwert zusammengefasst. Das im Chromatogramm erhaltene Signal mit dem dazugehörigen Massenspektrum würde man also in diesem Fall aus dem Mittelwert von 3 aufeinander folgenden Microscans erhalten. Gerade

bei der Aufnahme von Lasermassenspektren spielt die Anzahl der Microscan eine große Rolle, weil damit Puls zu Puls Fluktuationen kompensiert werden können. Durch eine Erhöhung der Scanzeit und der damit verbundenen Anzahl der Microscans konnte eine enorme Verbesserung der Basislinie und der Form der erhaltenen chromatographischen Peaks beobachtet werden. Bei der Messung mit nur einem Microscan ist die Basislinie aufgrund der starken Signalschwankungen sehr breit. Eine Quantifizierung von Substanzen im spurenanalytischen Bereich ist dann, aufgrund des hohen systembedingten Rauschens der Basislinie nicht mehr im Totalionen- sondern nur im Einzelionenchromatogramm möglich. Die Integration der Signalfächen wurde außerdem häufig durch Spitzen an den Signalfanken und zum Teil gespaltene Peaks erschwert, wie man in Abbildung 10 sehen kann.

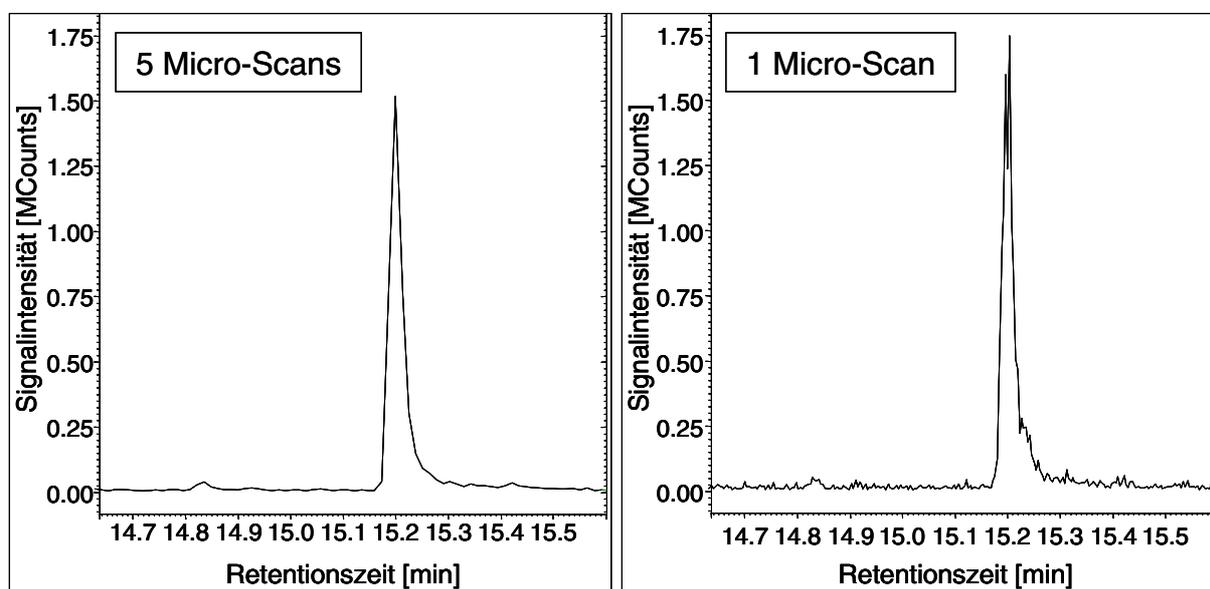


Abb. 10: Einfluss der Scanzeit bzw. der Microscan-Anzahl auf das chromatographische Messergebnis

## 2.2 Modifikationen am Massenspektrometer

Das Ziel der Umbauarbeiten war die Kopplung der Photoionisation mit der Massenspektrometrie in einer Ionenfalle zu einem selektiven und empfindlichen Verfahren, das die spurenanalytische Untersuchung von aromatischen Kohlenwasserstoffen gestattet. Die Ionisation mittels Photonen sollte ebenso wie die Elektronen-Ionisation im Inneren der Ionenfalle stattfinden. Um die massenspektrometrischen Eigenschaften der Ionenfalle durch den Eingriff möglichst wenig zu beeinträchtigen war es notwendig, die hyperbolischen Flächen der Elektroden so gering wie möglich zu verändern. Folglich musste zunächst der optimale Lichtweg für den Laserstrahl durch die Ionenfalle ermittelt werden. Dazu wurde der

## 2 Experimentelle Aufbauten und Techniken

gesamte Hochvakuumbereich des Massenspektrometers vermessen und eine 3D Konstruktion am Computer erstellt. In Abbildung 11 ist eine Schnittdarstellung durch das Vakuumgehäuse mit der darin befindlichen Ionenfalle des kommerziellen Massenspektrometers zu sehen. Anhand der Abbildung ist deutlich zu erkennen, dass durch den relativ großen Abstand zwischen der Ring- und den Endelektroden die Möglichkeit besteht, den Laserstrahl zwischen den Elektroden durchzuführen. Die Einkopplung findet dann fern von der Symmetrieachse in einem Bereich statt, der nicht mehr hyperbolisch geformt ist und nicht zur Ionenspeicherung beiträgt.

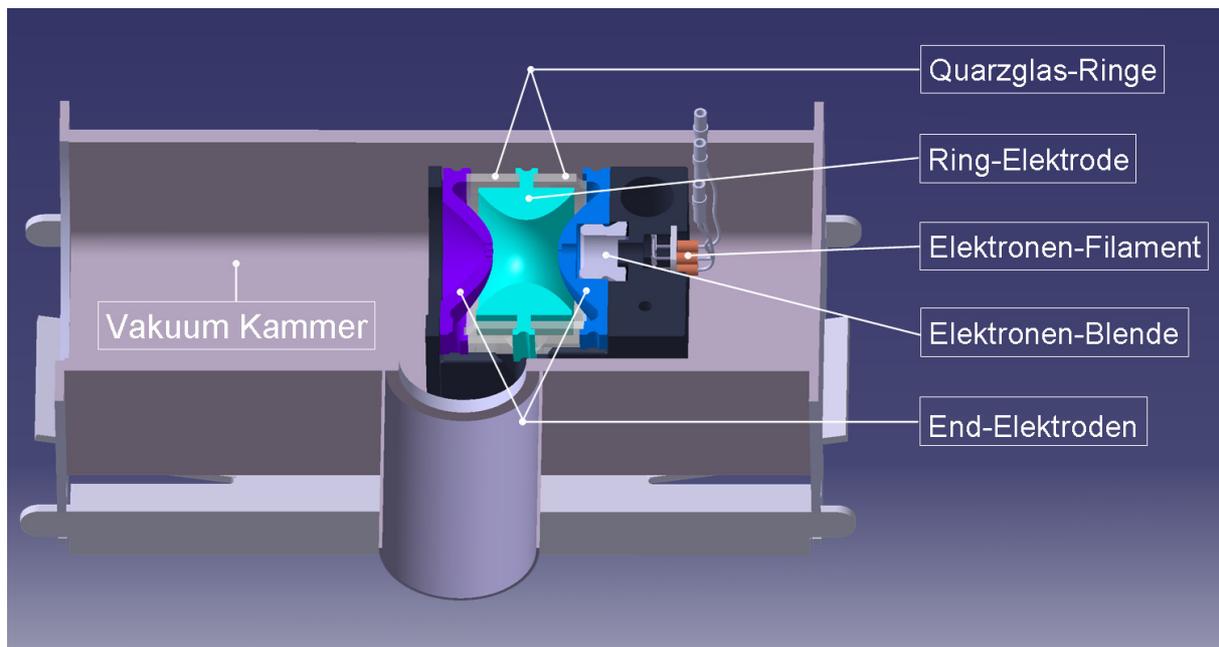


Abb. 11: Schnittdarstellung des Hochvakuumbereichs der kommerziellen Ionenfalle

Um zu gewährleisten, dass die hyperbolischen Flächen der Endelektroden durch den Umbau nicht beschädigt werden, wurde mit Hilfe der 3D Konstruktion und der daraus abgeleiteten technischen Zeichnungen (siehe Anhang B) alle notwendigen Daten für die Modifikation bestimmt. Bei einem Winkel von  $53^\circ$  gegenüber der Symmetrieachse durchquert der Laserstrahl die Ionenfalle derart, dass für dessen Ein- und Auskopplung nur nicht-hyperbolische Flächen der beiden Endelektroden durchbohrt werden mussten.

Abbildung 12 zeigt eine Schnittdarstellung der modifizierten Ionenfalle, sowie den Lichtweg des Laserstrahls. Man beachte, dass durch den asymptotischen Verlauf des Laserstrahls, die Elektronen-Ionisation weiterhin zur Verfügung steht. Zu Vergleichszwecken kann somit wahlweise anstelle der Laserionisation die Elektronen-Ionisation eingesetzt werden. Zur Aufnahme der Fenster wurden modifizierte CF-40 Flansche verwendet, die das Vakuumgehäuse mit Hilfe einer Viton-O-Ring-Dichtung vakuumdicht verschließen.

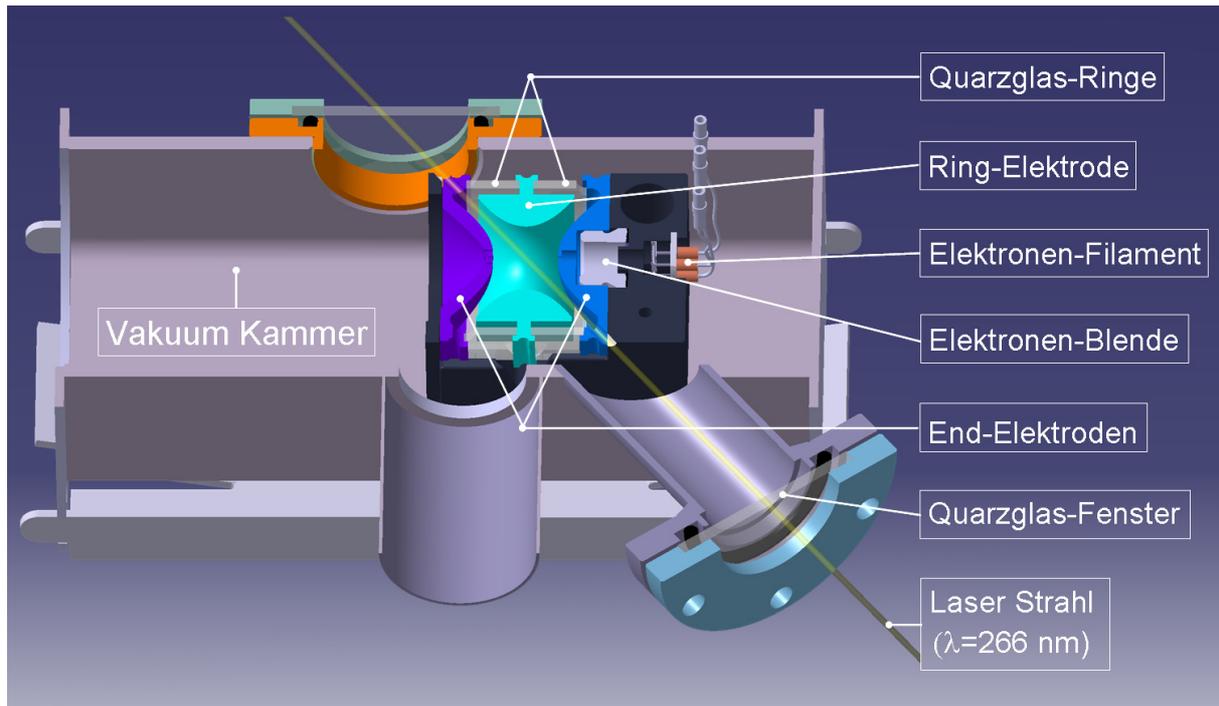
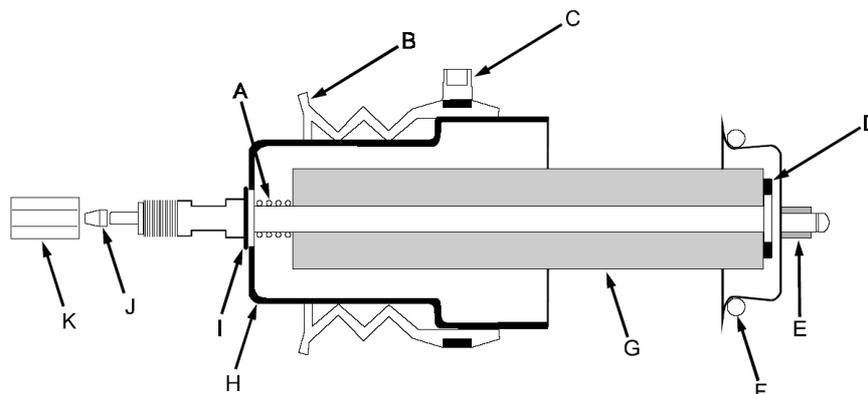


Abb. 12: Schnittdarstellung der modifizierten Ionenfalle

### 2.3 Modifikation Transferline

Die Kopplung des Gaschromatographen mit der Ionenfalle erfolgt bei dem verwendeten GC/MS-System auf direktem Weg über eine beheizbare Transferleitung (engl. Transferline). Diese besteht aus einem 12 cm langen Edelstahlrohr, das auf eine Temperatur von bis zu 350 °C erwärmt werden kann. Die Heizung besteht aus einem Aluminium-Zylinder, der die Heizpatrone und den Temperatursensor enthält. Der Aufbau ist in der Abbildung 13 dargestellt.



A Spring B Boot C Tie Wrap D Washer E Transfer Line Tip  
F O-Ring G Heat Exchanger H Nose I E-Ring J Ferrule K Nut

Abb. 13: Schematischer Aufbau der Transferline

Da der Abstand zwischen dem GC und dem MS zu gering war um die Optik zur Einkopplung des Laserstrahls zu platzieren, musste die bestehende Transferline verlängert werden. Die Firma Varian stellte eine zweite Transferline zur Verfügung, die mit der Ersten vakuumdicht verschweißt wurde. Das Heizelement der zweiten Transferleitung konnte parallel geschaltet werden, da die Leistung des elektronischen Bauteils zur Temperaturreglung (TRIAC) groß genug ist, um die Temperatur von zwei Heizungen zu steuern.

### 2.4 Das Lasersystem

Für die Laserionisation der in der Gasphase des MS befindlichen Neutralteilchen wurde ein gepulster Nd:YAG-Laser (Minilite II, Continuum) verwendet. Der Ionisationsschritt erfolgte mit der frequenzvervierfachen Strahlung des Lasers bei einer Wellenlänge von 266 nm mit einer typischen Pulsdauer von 3-5 ns. Die Pulsenergie des polarisierten Laserlichtes kann stufenlos mittels einer  $\lambda/2$ -Wellenplatte verändert werden. Bei einer Wellenlänge von  $\lambda = 266$  nm stellt dieses Festkörperlaser-System eine maximale Pulsenergie von 4 mJ zur Verfügung. Die Repetitionsrate des Lasers ist variabel und beträgt maximal 15 Hz. Zur Einkopplung des Laserstrahls in das Massenspektrometer wurden dielektrische Spiegel verwendet die über einen hohen Reflexionsgrad für die Wellenlänge von 266 nm verfügen und nahezu absorptionsfrei sind. Der Strahl wird über 2 Spiegel durch ein Quarzglasfenster (Suprasil 1,  $\varnothing$  50 mm, Dicke 3mm) in die Ionenfalle eingekoppelt. Das Strahleneintrittsfenster ist senkrecht zum Strahlengang angebracht, um Reflexionsverluste zu minimieren. Zur Erleichterung der Laserjustage wird der Strahl nach dem durchqueren der Ionenfalle wieder aus der Vakuumkammer herausgeführt und seine Position auf einem Schirm sichtbar gemacht. Als weiteres Hilfsmittel zur Laserstrahleinkopplung wird eine Blende verwendet, die vor dem Strahleneintrittsfenster steht und genau axial zu den Bohrungen ( $\varnothing$  3mm) der Endelektroden ausgerichtet ist. Mit dem ersten Spiegel wird der Strahl genau auf das Zentrum der Blende fokussiert. Mit dem zweiten Spiegel wird der Laserstrahl so ausgerichtet, dass er die Ionenfalle entlang einer Asymptote durchquert. Zur Kontrolle dient die Abbildung des Laserspots auf einem Schirm der hinter dem Vakuumgehäuse angebracht ist.

### 2.4.1 Synchronisation des Ionisationslasers mit dem Messablauf der Ionenfalle

Da der Quellcode des Steuerprogramms des Massenspektrometers nicht zur Verfügung stand und somit nicht direkt auf die Steuerung des Messablaufs zugegriffen werden konnte, musste eine Behelfslösung entwickelt werden, um Laser und Ionenfalle zu synchronisieren.

Das Standardgerät verwendet zur Ionenerzeugung einen Elektronenstrahl der durch das Umschalten der Spannung an der Elektronenblende (siehe Abb. 11 oder 12) von -150 Vdc auf +150 Vdc gepulst wird. Das Schalten dieser Spannung und damit der Beginn des Ionisationszeitraums kann von 10  $\mu$ s bis 65 ms vor den Start der Massenanalyse gelegt werden. Das Logik-Signal (TTL) für diesen Zeitpunkt konnte von der Steuerplatine des MS abgegriffen und zur Ansteuerung der Blitzlampe des Ionisationslasers verwendet werden. Da zwischen dem Triggersignal der Blitzlampe des Nd:YAG-Lasers und dem internen Schalten des Q-Switch ein Delay von 150  $\mu$ s liegt erreicht der Laserpuls bei einer Ionisationszeit von 151  $\mu$ s die Ionenfalle zum idealen Zeitpunkt.

Diese Vorgehensweise hat den Vorteil, dass die Mess- und Auswertesoftware des Massenspektrometers fast uneingeschränkt und ohne Modifikationen auch für lasermassenspektrometrische Messungen eingesetzt werden kann. Lediglich auf eine Einschränkung, die mit der Betriebsweise des gepulsten Lasersystems in Zusammenhang steht, muss hingewiesen werden. Um den Laser nicht zu beschädigen wird für dessen Ansteuerung ein konstantes Triggersignal mit einer Frequenz von maximal 15 Hz benötigt. Um diese Bedingungen zu erfüllen, muss die AGC-Scanfunktion (siehe Kapitel 2.1) ausgeschaltet sein, da diese zu einer variablen Ionisationszeit und somit zu einem unkonstanten Triggersignal führt. Bei eingeschalteter Automatic Gain Control wird außerdem zur Bestimmung der optimalen Ionisationsdauer vor jedem Massenscan ein Prescan bei fester Ionisationszeit durchgeführt, der ebenfalls dazu beiträgt, dass kein konstantes Triggersignal erhalten werden kann. Würde der Prescan wie in Abbildung 14 mit einer typischen Ionisationszeit von 0,1 ms durchgeführt werden, dann käme außerdem hinzu, dass der zeitliche Abstand zwischen dem ersten und dem zweiten Triggersignal so gering ist, dass die maximale Repetitionsrate des verwendeten Nd:YAG-Lasers überschritten wird, wie bei der Untersuchung des Logik-Signals der Elektronen-Blende (engl. Electron Gate) mit einem Digital-Oszilloskop während einer Blindwertmessung festgestellt werden konnte. Das Ergebnis dieser Messung ist in Abbildung 14 schematisch dargestellt. Der gemessene Massenbereich von 50-650 m/z wurde bei dieser Untersuchung in einem Scansegment untergebracht und nicht wie unter Standardbedingungen in 4 Massenscansegmente unterteilt.

## 2 Experimentelle Aufbauten und Techniken

Die maximale Ionisierungszeit für den Hauptscan wurde standardmäßig auf 25 ms eingestellt. Zusätzlich ist der zeitliche Verlauf der RF-Spannung dargestellt, um einen Zusammenhang zwischen dem gemessenen Logik-Signal zur Steuerung des gepulsten Electron Gates und der AGC-Scanfunktion herzustellen.

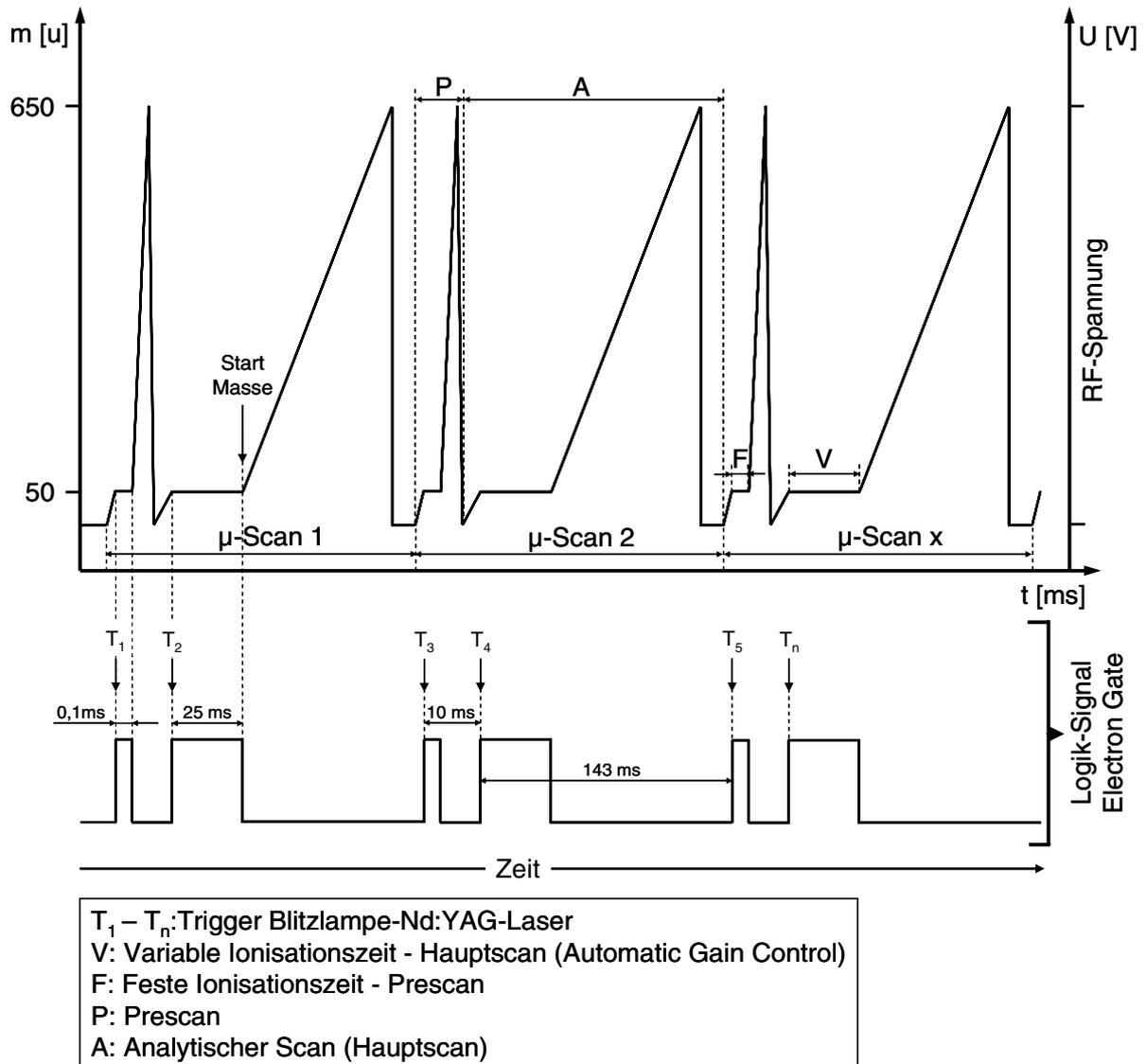


Abb. 14: Zeitlicher Verlauf der RF-Spannung (oben) und des Logik-Signals (unten) zur Steuerung der Elektronen-Blende mit eingeschalteter Automatic Gain Control (EI-Auto Modus). Aufgrund des unkonstanten zeitlichen Verlaufs des TTL-Signals ist dessen Verwendung zur Triggerung des Lasers nicht möglich.

Anhand des Sachverhalts, der in Abbildung 14 dargestellt ist, wird deutlich, dass ein konstantes Triggersignal nur erhalten werden kann, wenn mit einer festen Ionisierungszeit gearbeitet wird, was eine Abschaltung der AGC-Steuerung voraussetzt. Das MS muss also bei der Laserionisation im so genannten EI-Fixed Modus betrieben werden. Auch bei dieser

Betriebsweise müssen einige Parameter berücksichtigt werden um ein optimales Triggersignal für den Ionisationslaser zu erhalten.

Der untersuchte Massenbereich darf beispielsweise nicht zu klein sein, da sonst der zeitliche Abstand zwischen den einzelnen Triggersignalen so gering wird, dass die maximale Repetitionsrate (15 Hz) des Lasers überschritten wird. Weiterhin sollte die Aufnahme des Massenspektrums in einem Scansegment erfolgen bzw. die Einteilung der Massenscanssegmente so erfolgen, dass gleich große Bereiche gescannt werden, da sonst ein unkonstantes Triggersignal erhalten wird. Ein konstantes Signal mit einer Frequenz von ca. 8 Hz wird beispielsweise erhalten, wenn der Massenbereich von 50 – 650 m/z in einem Scansegment bei einer festen Ionisationszeit von 151  $\mu$ s untersucht wird. Der zeitliche Verlauf von RF-Spannung und Logik-Signal, der bei diesen MS-Parametern erhalten wird, ist in Abbildung 15 schematisch dargestellt.

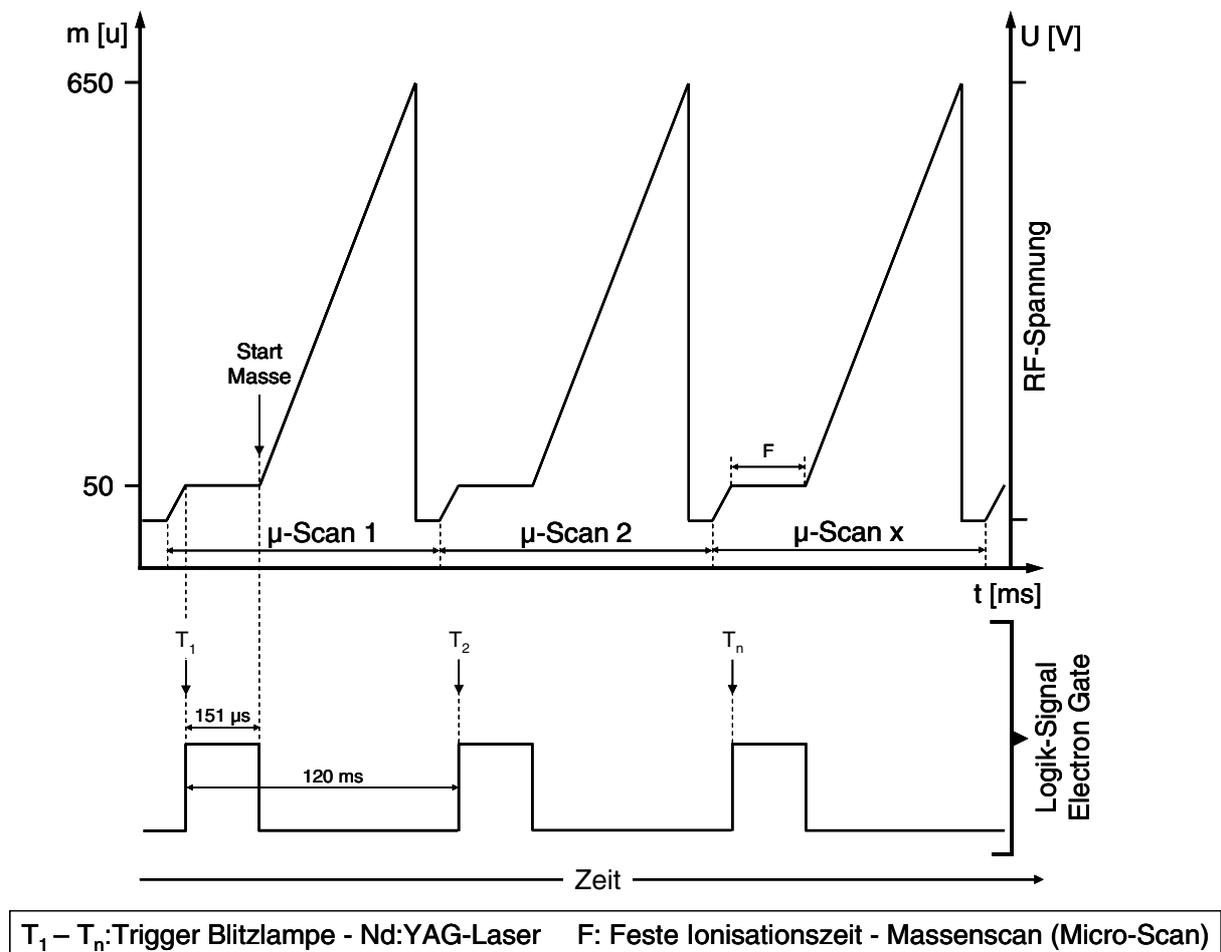


Abb. 15: Zeitlicher Verlauf der RF-Spannung (oben) und des Trigger-Signals (unten) zur Steuerung des Lasers bei fester Ionisationszeit bzw. ausgeschalteter Automatic Gain Control.

## 2.5 Das Schadstoffanreicherungssystem

Zur Probenahme und Probenanreicherung von Wasserschadstoffen wurde ein vollautomatisiertes Verfahren auf der Grundlage der Festphasenmikroextraktion (SPME) entwickelt. Im Gegensatz zur konventionellen Methode, die 1989 von Pawliszyn und seinen Mitarbeitern entwickelt wurde, findet die Anreicherung der Probe nicht an einer mit einem Polymer beschichteten Fused Silica Faser statt, sondern an der Innenwand einer GC-Kapillarsäule. Aus diesem Grund wird dieses Anreicherungsverfahren auch als In-Tube SPME [Kat2002, Nar2003a, Nar2003b] bezeichnet. Die Kapillarsäule (Macherey-Nagel, Optima 1) ist etwa 20 cm lang und hat einen Innendurchmesser von 0,53 mm. An der Innenwand der Säule befindet sich ein Polymerfilm mit einer Filmstärke von 5 µm bestehend aus 100 % Polydimethylsiloxan (PDMS). Dabei handelt es sich um eine unpolare Polymerphase an der vor allem unpolare bis mittelpolare Schadstoffe effektiv absorbiert werden. Die GC-Kapillare befindet sich in einem 1/16“ Edelstahlrohr um das spiralförmig ein einadrig konfektionierter Heizleiter der Thermocoax GmbH gewickelt ist. Um einen optimalen Wärmeübergang zu gewährleisten wurde der Heizleiter auf dem Edelstahlrohr verlötet. Das Edelstahlrohr mit der darin befindlichen GC-Kapillare kann so sehr schnell innerhalb von 30 Sekunden auf eine Temperatur von über 300 °C beheizt werden. Zur Automatisierung der einzelnen Phasen der Schadstoffanreicherung sind die Enden der Kapillarsäule mit jeweils einem elektrisch geschalteten 3-Wege Ventil der Firma VICI (Valco Instruments Co Incorporation) verbunden. Für den gasdichten Anschluss der GC-Kapillare an das Ventil wurden Fused Silica Adapter verwendet die aus temperaturbeständigem Polyimid bestehen. Der Ventilrotor besteht ebenfalls aus einem temperaturbeständigen Material mit der Bezeichnung Valcon T. Um eine Rekondensation der Schadstoffe zu vermeiden, können die Ventile bis maximal 350 °C beheizt werden. Eine Schematische Darstellung der Schadstoffanreicherung ist in der Abbildung 16 zu sehen.

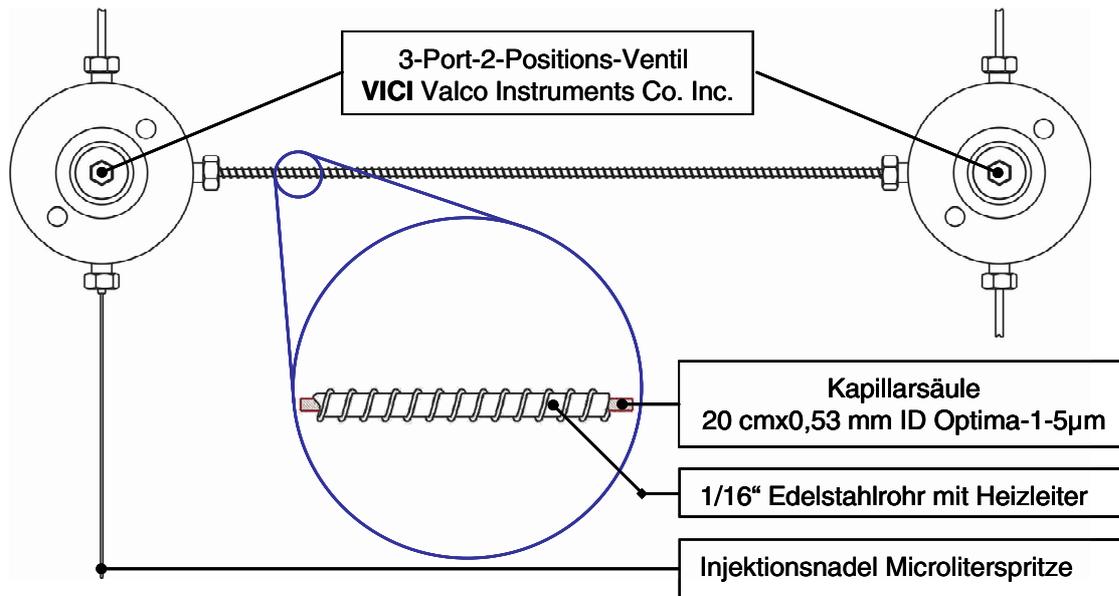


Abb. 16: Schematischer Aufbau der In-Tube SPME Schadstoffanreicherung

Das In-Tube SPME Verfahren gliedert sich in 3 Phasen die im Folgenden kurz beschrieben werden sollen. Einen schematischen Überblick zur Funktionsweise zeigt Abbildung 17. Im ersten Arbeitsschritt wird die Wasserprobe mit Hilfe einer Peristaltikpumpe (Modell S25, Rietschle Thomas) durch die GC-Kapillare gesaugt. Die Anreicherung der Schadstoffe erfolgt mit einer Flußrate von 10 ml/min bei Raumtemperatur. Nach 20-30 min ist die Schadstoffanreicherung beendet und das verbliebene Wasser muss aus der In-Tube SPME Apparatur entfernt werden, um die Kapillarsäule und die Ventildichtung während der Desorptionsphase nicht zu beschädigen. Zur Trocknung wird das „Ventil 1“ umgeschaltet und die Apparatur im Gegenstrom mit Helium 5.0 gespült. Die Apparatur wird 4 Minuten lang mit einem Heliumstrom von 10 ml/min getrocknet. Nach der Trocknungsphase wird jedes Ventil durch einen Heizblock auf eine Temperatur von 250-300 °C beheizt, um eine Rekondensation der Analyten während der Desorptionsphase zu verhindern. Zur Überwachung der Ventiltemperatur befindet sich ein Thermoelement (Typ-J) an jeder Ventilheizung. Jedes Thermoelement ist an einen Temperaturcontroller (Honeywell UDC 100) angeschlossen, der den Heizstrom schaltet um die Solltemperatur zu halten. Nachdem die erforderliche Ventiltemperatur erreicht ist, wird das „Ventil 2“ geschaltet und die GC-Kapillare mit Hilfe des beheizbaren Edelstahlrohrs innerhalb von 20-30 sec auf eine Temperatur von 230-250 °C erwärmt. Die Kapillare wird über einen Zeitraum von 3 min beheizt und die thermisch desorbierten Analytmoleküle durch den Heliumstrom (10 ml/min) über die Injektionsnadel direkt in den heißen Split/Splitlos-Injektor (T=280-300 °C) gespült. Die Temperatur der

## 2 Experimentelle Aufbauten und Techniken

Kapillarsäule wird mit einem Thermoelement (NiCr-Ni Typ K), das an den Heizleiter angelötet ist gemessen und ebenfalls mit einem Temperaturcontroller geregelt.

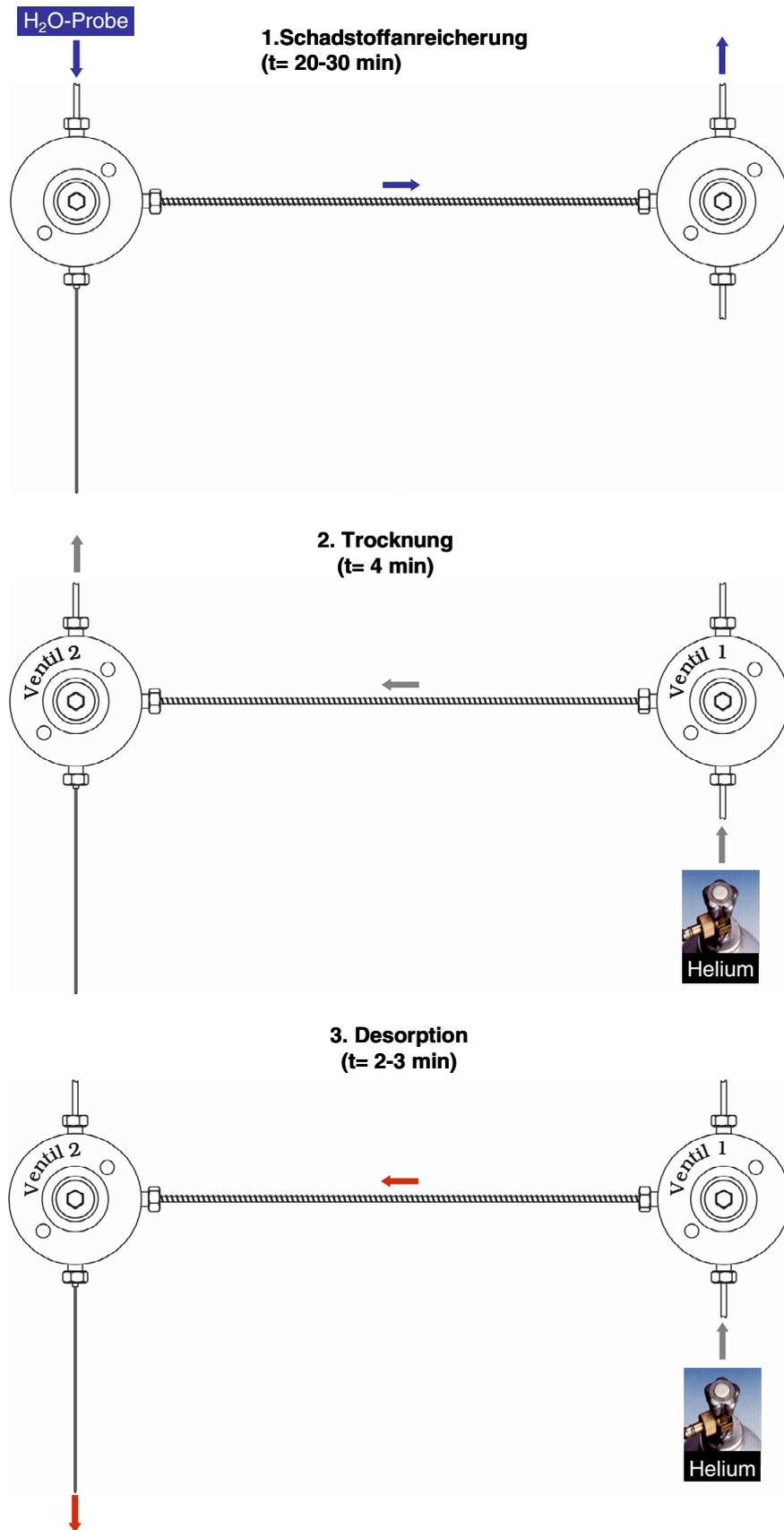


Abb. 17: Funktionsweise In-Tube SPME

Nach der Desorptionsphase werden beide Ventile geschaltet, um die Ausgangskonfiguration für die erneute Schadstoffanreicherung wieder herzustellen. Zuvor müssen jedoch sowohl die Ventile als auch die GC-Kapillarsäule auf Raumtemperatur abgekühlt sein. Das 1/16“ Edelstahlrohr mit dem spiralförmig umwickelten Heizleiter kühlt sich aufgrund der geringen Wärmekapazität sehr schnell ab. Um den Kühlprozess der Ventile zu beschleunigen, wurde eine Luftkühlung gebaut, die im Wesentlichen aus dem Gebläse eines herkömmlichen Haartrockners und einem Edelstahlrohr, das als verlängerte Düse dient, besteht (s. Abb.18). Mit diesem Kühlsystem können die Ventile innerhalb von 10 Minuten von 300 °C auf Raumtemperatur abgekühlt werden.

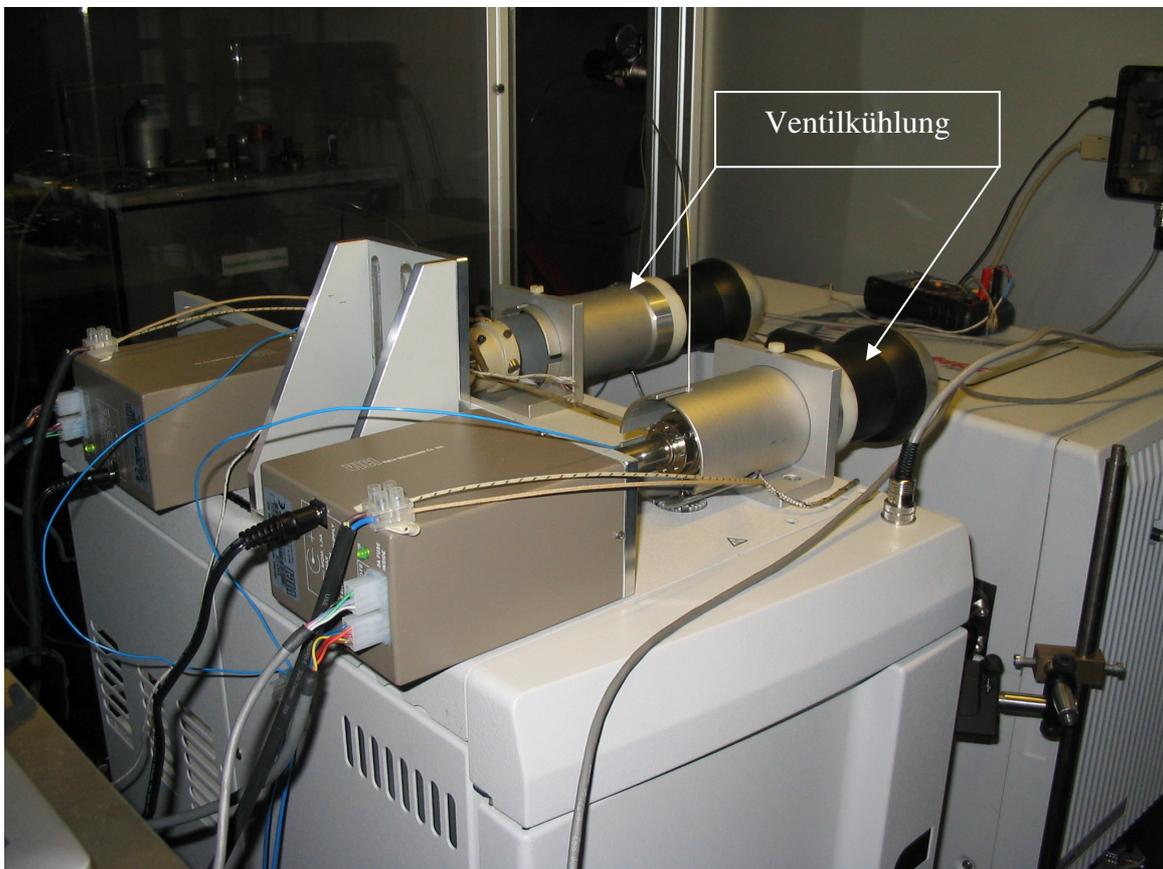


Abb. 18: Luftgebläse zur schnellen Abkühlung der 3-Wege Ventile

## 2.6 Automatisierung

Alle Prozesse die zur Schadstoffanreicherung und der anschließenden Messung notwendig sind wurden mit Hilfe des „Ecotimers“ automatisiert. Dabei handelt es sich um eine Steuerplatine (s. Abb. 19a) die aus 8 zeitprogrammierbaren Schaltrelais besteht. Mit Hilfe der Ecotimer Software (s. Abb. 19b) können bis zu 24 Zeiten für jedes Relais programmiert und

## 2 Experimentelle Aufbauten und Techniken

über die serielle Schnittstelle des Computers übertragen werden. Die programmierten Zeiten können jedoch mit dieser Software nicht in einer Datei gespeichert werden. Das ist ein großer Nachteil, denn bei der Programmierung neuer Zeiten gehen die alten Daten verloren und müssen bei Bedarf erneut eingegeben werden. Um den Zeitaufwand für die Programmierung des Ecotimers zu reduzieren, wurde ein Excel-Makro (s. Abb. 19c) geschrieben, das neben der Steuerung und Programmierung des Ecotimers die Speicherung der Zeiten in einer Datei gestattet. Wird für eine Analyse ein bestimmtes Zeitprogramm benötigt, muss die Excel-Datei nur noch geladen und die Daten an die Steuerplatine übertragen werden. Das spart Zeit, da eine erneute manuelle Eingabe der einzelnen Schaltzeiten entfällt.

**(a)** Ecotimer – Steuerplatine

**(b)** Standardsoftware-Zeitprogrammierung & Steuerung Ecotimer

**(c)** Excel-Makro-Zeitprogrammierung & Speicherung Ecotimer

Relais 1 setzen	Relais 2 setzen	Relais 3 setzen	Relais 4 setzen	Relais 5 setzen	Relais 6 setzen	Relais 7 setzen	Relais 8 setzen
Relais 1	Relais 2	Relais 3	Relais 4	Relais 5	Relais 6	Relais 7	Relais 8
Pumpe	V-Heiz.1	V-Heiz.2	Kühlung	Heizdraht	?	Laser ein	Laser aus
Zustand	n.a.	Zustand	n.a.	Zustand	n.a.	Zustand	n.a.
Start	Dauer	Start	Dauer	Start	Dauer	Start	Dauer
13 00:00	1860 00:30	420 00:30	420 00:30	600 00:37	180 00:34	00:00 0	00:37 1
14 00:47	1860 01:17	420 01:17	420 01:17	600 01:24	180 01:21	00:00 0	01:24 1
15 01:34	1860 02:04	420 02:04	420 02:04	600 02:11	180 02:08	00:00 0	02:11 1
16 02:21	1860 02:51	420 02:51	420 02:51	600 02:58	180 02:55	00:00 0	02:58 1
17 03:08	1860 03:38	420 03:38	420 03:38	600 03:45	180 03:42	00:00 0	03:45 1
18 03:55	1860 04:25	420 04:25	420 04:25	600 04:32	180 04:29	00:00 0	04:32 1
19 04:42	1860 05:12	420 05:12	420 05:12	600 05:19	180 05:16	00:00 0	05:19 1
20 05:29	1860 05:59	420 05:59	420 05:59	600 06:06	180 06:03	00:00 0	06:06 1
21 06:16	1860 06:46	420 06:46	420 06:46	600 06:53	180 06:50	00:00 0	06:53 1
22 07:03	1860 07:33	420 07:33	420 07:33	600 07:40	180 07:37	00:00 0	07:40 1
23 07:50	1860 08:20	420 08:20	420 08:20	600 08:27	180 08:24	00:00 0	08:27 1
24 08:37	1860 09:07	420 09:07	420 09:07	600 09:14	180 09:11	00:00 0	09:14 1
25 09:24	1860 09:54	420 09:54	420 09:54	600 10:01	180 09:58	00:00 0	10:01 1
26 10:11	1860 10:41	420 10:41	420 10:41	600 10:48	180 10:45	00:00 0	10:48 1
27 10:58	1860 11:28	420 11:28	420 11:28	600 11:35	180 11:32	00:00 0	11:35 1
28 11:45	1860 12:15	420 12:15	420 12:15	600 12:22	180 12:19	00:00 0	12:22 1
29 12:32	1860 13:02	420 13:02	420 13:02	600 13:09	180 13:06	00:00 0	13:09 1
30 13:19	1860 13:49	420 13:49	420 13:49	600 13:56	180 13:53	00:00 0	13:56 1
31 14:06	1860 14:36	420 14:36	420 14:36	600 14:43	180 14:40	00:00 0	14:43 1
32 14:53	1860 15:23	420 15:23	420 15:23	600 15:30	180 15:27	00:00 0	15:30 1
33 15:40	1860 16:10	420 16:10	420 16:10	600 16:17	180 16:14	00:00 0	16:17 1
34 16:27	1860 16:57	420 16:57	420 16:57	600 17:04	180 17:01	00:00 0	17:04 1
35 17:14	1860 17:44	420 17:44	420 17:44	600 17:51	180 17:48	00:00 0	17:51 1
36 18:01	1860 18:31	420 18:31	420 18:31	600 18:38	180 18:35	00:00 0	18:38 1

Abb. 19: Automatisierung Schadstoffanreicherung und GC/LAMS-Messung:  
 (a) Ecotimer – Steuerplatine  
 (b) Standardsoftware-Zeitprogrammierung & Steuerung Ecotimer  
 (c) Excel-Makro-Zeitprogrammierung & Speicherung Ecotimer

## 2.7 Mobilisierung

In Zusammenarbeit mit dem Industriepartner UP Umweltanalytische Produkte GmbH wurde ein fahrbares Gestell (s. Abb. 20) entwickelt, das den mobilen Einsatz der Messtechnik z.B. an Kläranlagen, Wasserwerken, usw. erlaubt. Der Geräteschrank hat eine Größe von 108 x 88 x 183 cm. Da es sich sowohl beim verwendeten GC-MS Gerät als auch bei Lasersystem um kompakte Desktopgeräte handelt, ist eine 220 V / 16 A Stromversorgung der einzige externe Anschluss der benötigt wird.

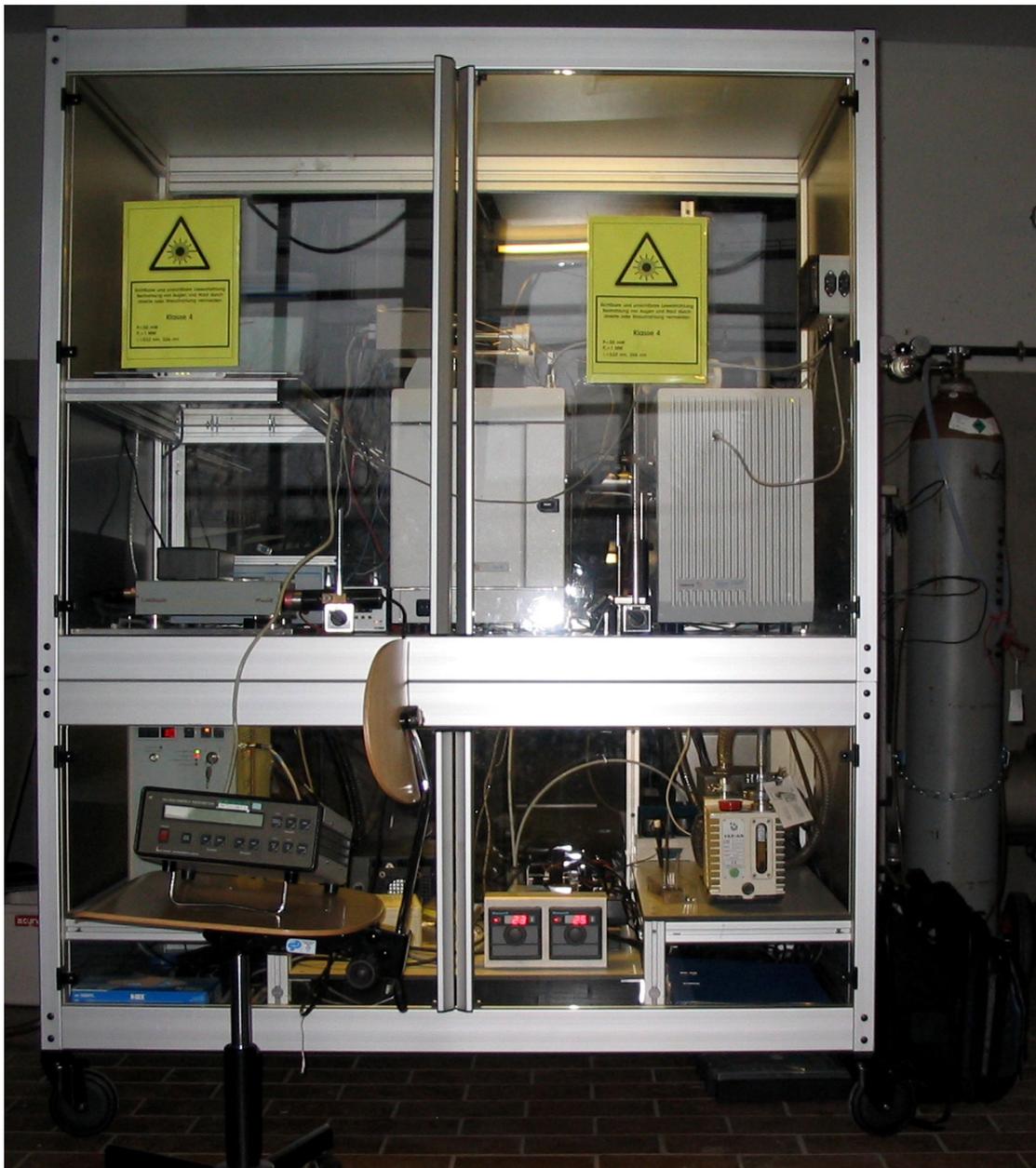


Abb. 20: Fahrbarer Geräteschrank für den mobilen Einsatz der Messtechnik

## 2.8 Probenvorbereitung SPME und In-Tube SPME Untersuchung

Zur Überprüfung der Leistungsfähigkeit des entwickelten Verfahrens wurden Untersuchungen an polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) durchgeführt. Alle untersuchten PAK wurden als Reinsubstanz von der Firma Sigma-Aldrich Chemie GmbH bezogen. Die Herstellung der wässrigen Einzelstandardlösungen in einem Konzentrationsbereich von 1ng/l – 1000 ng/l gliedert sich in folgende Schritte:

1. Einwiegen der Reinsubstanz mit einer Analysenwaage.
2. Herstellung der Stammlösung in Acetonitril mit einer Konzentration von 100 ng/μl.
3. Herstellung der Verdünnungsreihe in Acetonitril im Konzentrationsbereich von 0,1 ng/μl – 100 ng/μl.
4. 10 μl der entsprechenden Verdünnung werden in einem 1000 ml Maßkolben vorgelegt und der Maßkolben mit bidestilliertem Wasser bis zur Eichmarke aufgefüllt.

## 2.9 Probenvorbereitung für die Untersuchung endokrin wirksamer Substanzen

Für die GC/MS-Untersuchung der vom UFZ-Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH zur Verfügung gestellten Standards an endokrin wirksamen Stoffen (EWS) mussten einige Substanzen (Bisphenol A, Nonylphenol, Ethinylestradiol...) derivatisiert werden, da diese ohne Derivatisierung gar nicht oder nur schlecht nachgewiesen werden konnten.

Eine gängige Derivatisierungsmethode, die bereits in mehreren Arbeiten [Stu1996, Hol1999, Hol2001] für die spurenanalytische Untersuchung von EWS erfolgreich eingesetzt wurde, ist die Silylierung (Trimethylsilylierung). Bei dieser Derivatisierungsreaktion wird der aktive Wasserstoff in –OH, –COOH, =NH, –NH<sub>2</sub> und –SH Gruppen durch eine Trimethylsilylgruppe (–Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ausgetauscht. Der Massenshift pro ersetztes Proton beträgt 72 amu. Es handelt sich bei dieser Reaktion um eine nucleophile Substitution, die in der Abbildung 21 schematisch dargestellt ist. „X“ steht für den Rest des verwendeten Derivatisierungsmittels und „R“ für den des Analyten. Bei der Silylierung von Nonylphenol mit MSTFA [N-Methyl-N-trimethylsilyl-trifluoracetamid] z.B. ist R= C<sub>9</sub>H<sub>19</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> und X= F<sub>3</sub>C-CO-N-CH<sub>3</sub>.

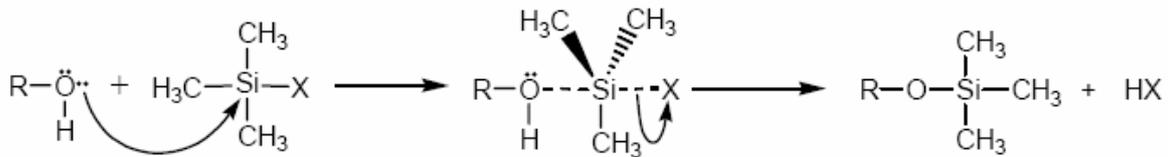


Abb. 21: Reaktionsschema der Trimethylsilylierung an einer Hydroxylgruppe

Als Derivatisierungsreagenz wurde ein Gemisch von N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoracetamid (BSTFA) mit 1% Trimethylchlorsilan (TMCS) verwendet, das von der Macherey-Nagel GmbH unter dem Namen „Silyl-991“ verkauft wird. Dabei handelt es sich um eine Reagenzienmischung mit hoher Reaktivität, die neben der Trimethylsilylierung von Alkoholen, Aminen, Phenolen, Carbonsäuren und Steroiden auch die Derivatisierung von Fettsäureamiden, sekundären Aminen und sterisch gehinderten Hydroxylgruppen ermöglicht. TMCS dient hierbei als Katalysator, der die Reaktivität von BSTFA steigert.

Die Derivatisierung der hormonaktiven Substanzen wurde off-line in 2 ml Autosampler-Probenfläschchen durchgeführt. 100 µl der methanolischen Stammlösung der endokrin wirksamen Reinsubstanz (10 ng/µl) wurden in das Probenfläschchen pipettiert und das Lösungsmittel vorsichtig im Stickstoff-Strom abgedampft. Der lösungsmittelfreie Rückstand wurde mit 50 – 100 µl Silyl-991 versetzt und das Probenfläschchen luftdicht verschlossen.

Das verwendete Silylierungsreagenz ist so reaktiv, dass bereits bei Raumtemperatur eine vollständige Umsetzung erfolgt. Um jedoch unter allen Bedingungen einen vollständigen Umsatz zu gewährleisten und die Derivatisierungsreaktion zu beschleunigen, wurde das Probenfläschchen ca. 20 Minuten auf 60-80 °C erwärmt. Nach der Abkühlung wurde mit Hexan auf 1 ml aufgefüllt und für die Kalibrierung weitere Verdünnungen in Hexan hergestellt.

## 2.10 Probenahme Felduntersuchung

Zur Durchführung der Feldmessungen am Ein- und Auslauf der Kläranlage in Cottbus wurde ein automatisiertes Probenahmesystem entwickelt, mit dem das Wasser von der Probenahmequelle zum Schadstoffanreicherungs-system befördert wird. Das Probenwasser wird zunächst mit einer Membranpumpe (Shurflo S512) über ein Filtersystem in eine Wasser-Durchfluss-Zelle („Aquabox“, behr Labortechnik GmbH) befördert. Die Anreicherung der Schadstoffe erfolgt wie im Laborbetrieb. Dazu wird das filtrierte Wasser mit Hilfe der Peristaltikpumpe von der Durchflusszelle, über ein 1/16“ Edelstahlrohr, durch das

## 2 Experimentelle Aufbauten und Techniken

Schadstoffanreicherungssystem gesaugt. In Abbildung 22 ist der Aufbau des eingesetzten Probenahmesystems schematisch dargestellt.

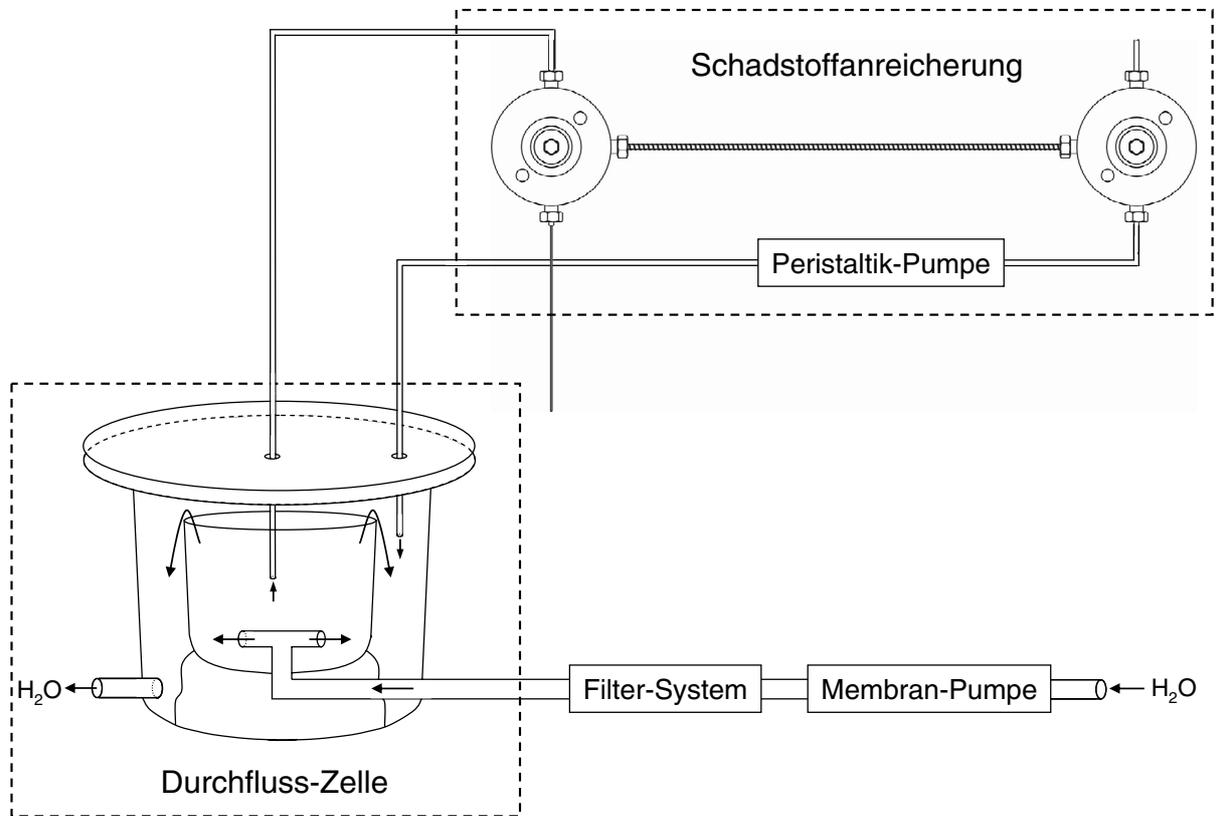


Abb. 22: Eingesetztes Probenahmesystem zur Abwasseruntersuchung an der Kläranlage in Cottbus

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Erprobung des Lasermassenspektrometers und Bestimmung der Empfindlichkeit

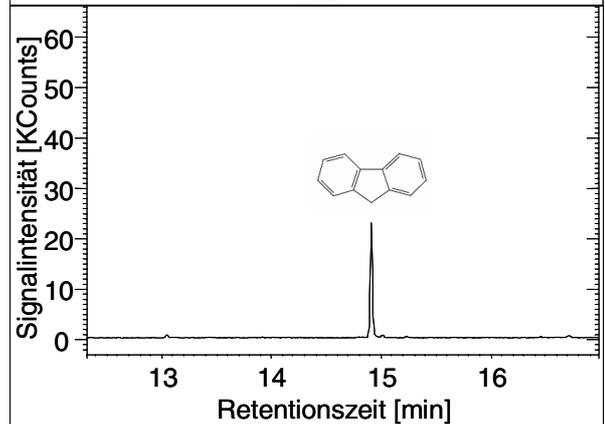
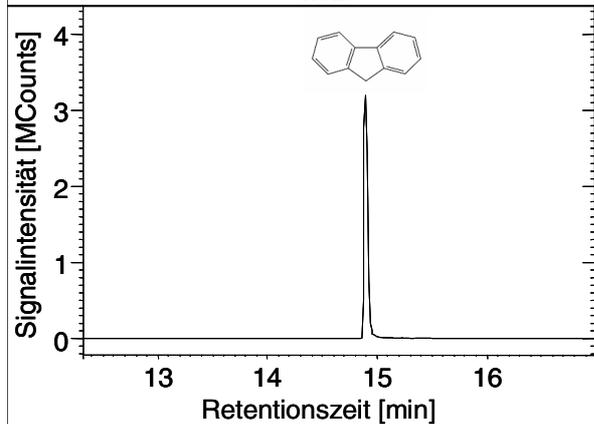
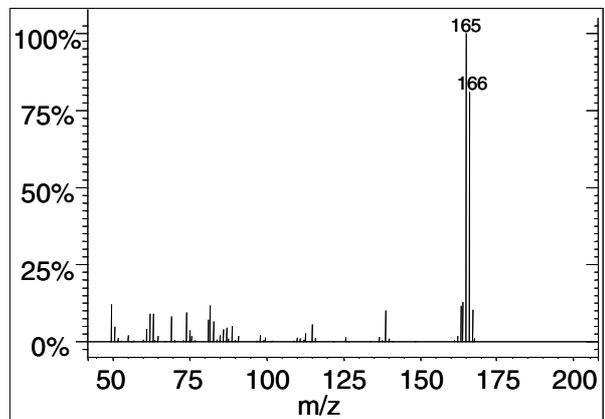
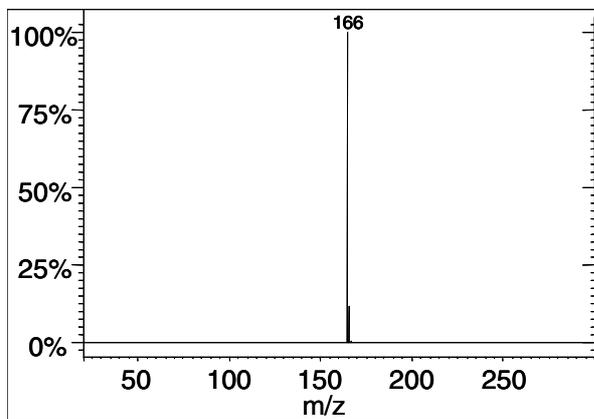
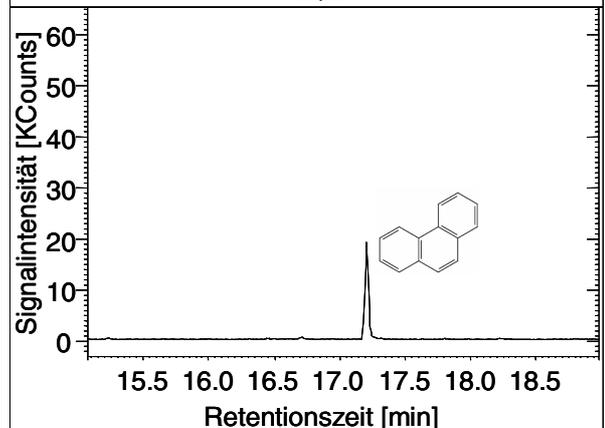
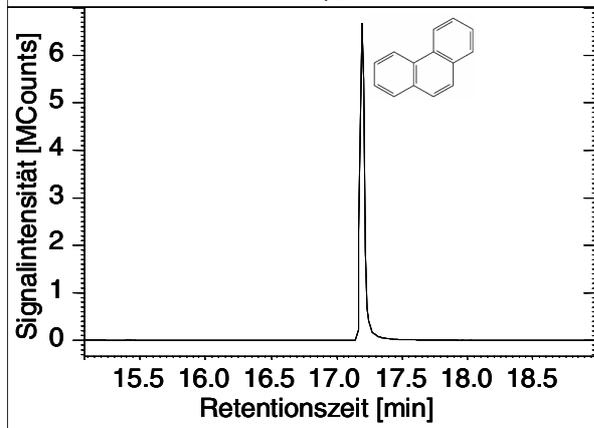
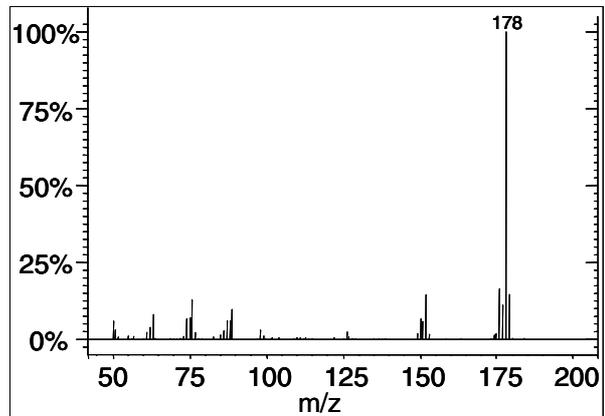
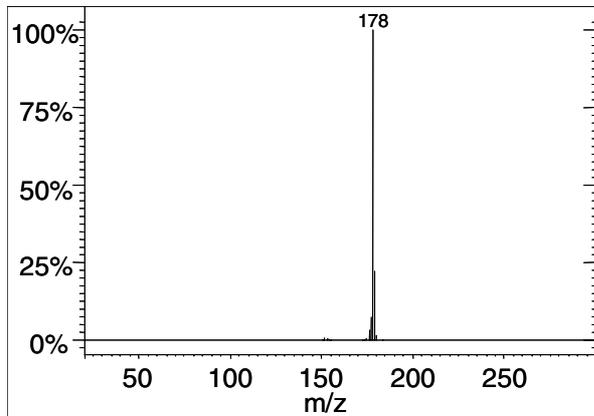
Zunächst wurden einige Vertreter aus der Gruppe der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAK) direkt, also ohne Voranreicherung mit dem Lasermassenspektrometer untersucht. Dazu wurden Einzelstandards in Hexan in einem Konzentrationsbereich von  $1\text{ ng}/\mu\text{l}$  –  $100\text{ fg}/\mu\text{l}$  hergestellt und mit einer Mikroliterspritze in den heißen Injektor ( $T=250\text{ °C}$ ) des Gaschromatographen eingespritzt. Die Injektion des Samplevolumens ( $1\mu\text{l}$ ) erfolgte splitlos. Mit dieser Untersuchung konnte zunächst überprüft werden, ob sich die massenspektrometrischen Eigenschaften der modifizierten Ionenfalle gegenüber dem kommerziellen Gerät verändert haben. Beim Vergleich der Messdaten die vor und nach dem Umbau des MS mit der Elektronenionisation (EI) erhalten wurden, konnten keine Veränderungen festgestellt werden. Weiterhin diente diese Untersuchung dem direkten Vergleich von Photonen- (PI) und Elektronenionisation und der Bestimmung der Nachweisgrenze des modifizierten Gerätes.

Die Elektronenionisation erfolgte unter optimierten Bedingungen mit eingeschalteter AGC-Steuerung über einen Massenbereich von 50 - 200 amu bei einer Scanzeit von 0,5 sec/Scan (3  $\mu\text{Scans}$ ) und einem Filament-Emissionstrom von 10  $\mu\text{A}$ . Die Laserionisation wurde bei einer Wellenlänge von 266 nm mit einer Laserpulsenergie von 0,5 mJ durchgeführt.

Beim Vergleich des erhaltenen Signal/Rausch-Verhältnisses sind zwischen EI und PI Unterschiede in der Ionisationseffizienz von mehr als zwei Größenordnungen zugunsten der Laserionisation festzustellen, was man anhand der dargestellten GC/MS-Spektren von Phenanthren, Fluoren und Naphthalin in Abbildung 23 deutlich erkennen kann.

**Photonenionisation**

**Elektronenionisation**



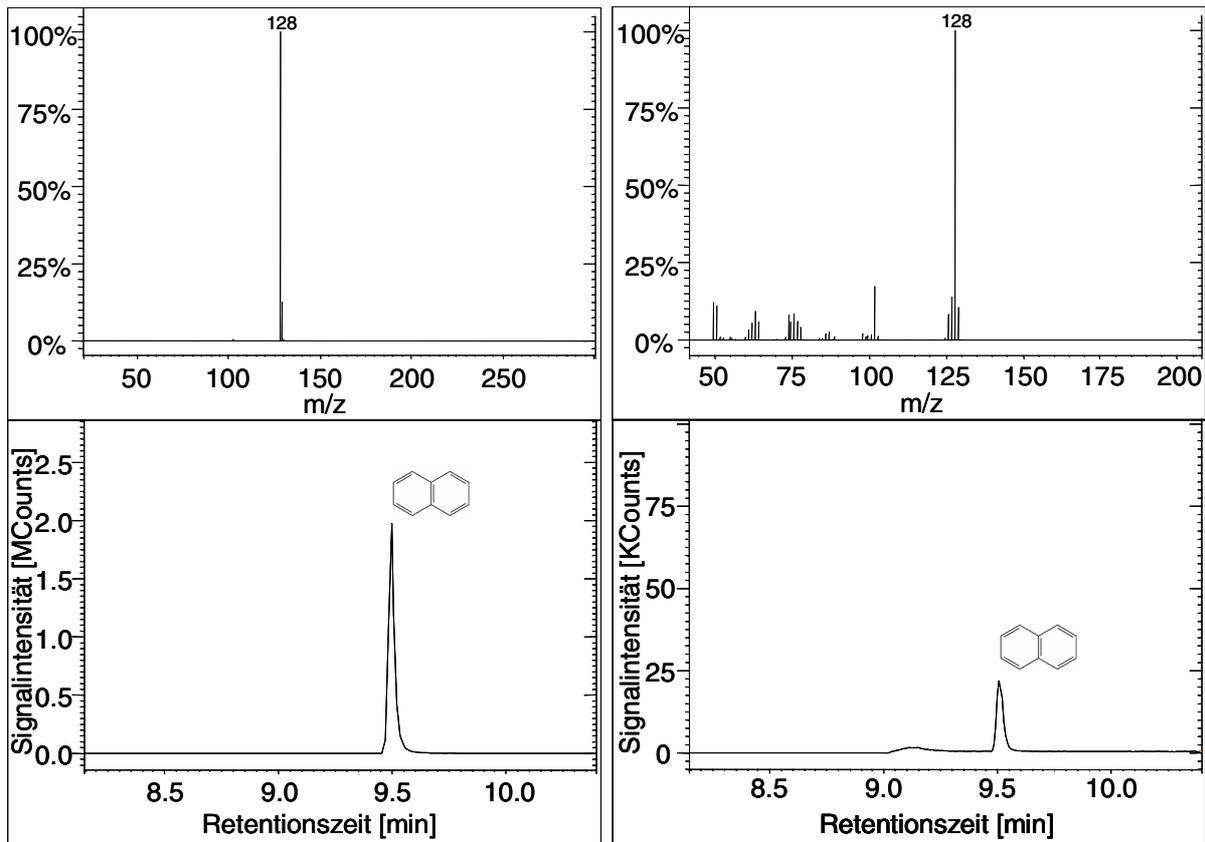


Abb. 23: GC/MS-Spektren PAK-Standards in Hexan ( $\beta=1 \text{ ng}/\mu\text{l}$ )

Beim Vergleich des Fragmentierungsgrades der Massenspektren kann man sehr gut erkennen, dass die Ionisierung mittels Photonen weicher und somit fragmentärmer, als mit Elektronen erfolgt. Durch die weiche Ionisierung erhält man überschaubare und gut interpretierbare Massenspektren, was für die Untersuchung von Wässern mit starker Matrixbelastung von Vorteil ist.

Ein weiterer Vorteil der Laserionisation gegenüber der Elektronenionisation ist der verbesserte Untergrund, der besonders bei der Untersuchung von Substanzen deutlich wird, die erst bei hohen Temperaturen (280-320 °C), also in der Nähe der maximalen Arbeitstemperatur der verwendeten GC-Säule eluiert werden. Jede Stationäre Phase beginnt sich zu zersetzen, wenn sie bei hohen Temperaturen betrieben wird. Durch die Bildung von Abbauprodukten kommt es zu einem höheren Untergrundrauschen, was man deutlich am Anstieg der Basislinie (s. Abb. 24) erkennen kann. Da es sich bei den Abbauprodukten der verwendeten GC-Säule (CP-SIL 8) um Siloxanfragmente handelt die nicht beziehungsweise nur mit sehr geringer Wahrscheinlichkeit durch Photonen ionisiert werden, konnte bei der Laserionisation kein Anstieg der Basislinie wie bei der Elektronenionisation beobachtet werden.

### 3 Ergebnisse

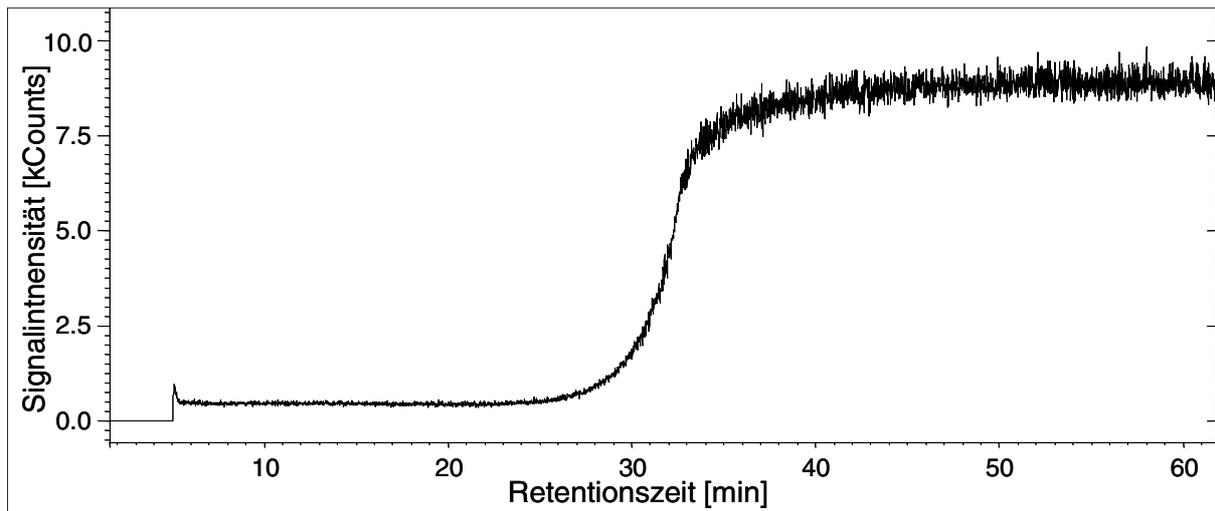


Abb. 24: Blindlauf GC/MS: Elektronenionisation

Aufgrund der dargestellten Ergebnisse sind für die Gruppe der PAK mit Hilfe der Laserionisation generell geringere Nachweisgrenzen zu erwarten als mit der Elektronenionisation.

Zur Bestimmung der minimalen Nachweisgrenze des Lasermassenspektrometers wurden für jede Verdünnungsstufe im Konzentrationsbereich von 1 ng/ $\mu$ l – 100 fg/ $\mu$ l jeweils 5 Wiederholungsmessungen durchgeführt. Die Multiphotonenionisation erfolgte bei einer Laserpulsenergie von etwa 1 mJ. Bei einer Konzentration von 100 fg/ $\mu$ l wurde für Phenanthren noch ein exzellentes Signal/Rausch-Verhältnis von ca. 8000 und für Fluoren von etwa 1500 detektiert. Im Vergleich dazu konnte mit der Elektronenionisation bei gleichen chromatographischen Bedingungen bei einer Konzentration von 10 pg/ $\mu$ l ein Signal/Rauschverhältnis von etwa 90 – 100 für Fluoren und Phenanthren ermittelt werden. Die Bestimmung der Signal/Rausch-Verhältnisse erfolgte jeweils aus dem selektiven Massenchromatogramm (s. Abb. 25) für Fluoren (m/z 166) bzw. für Phenanthren (m/z 178).

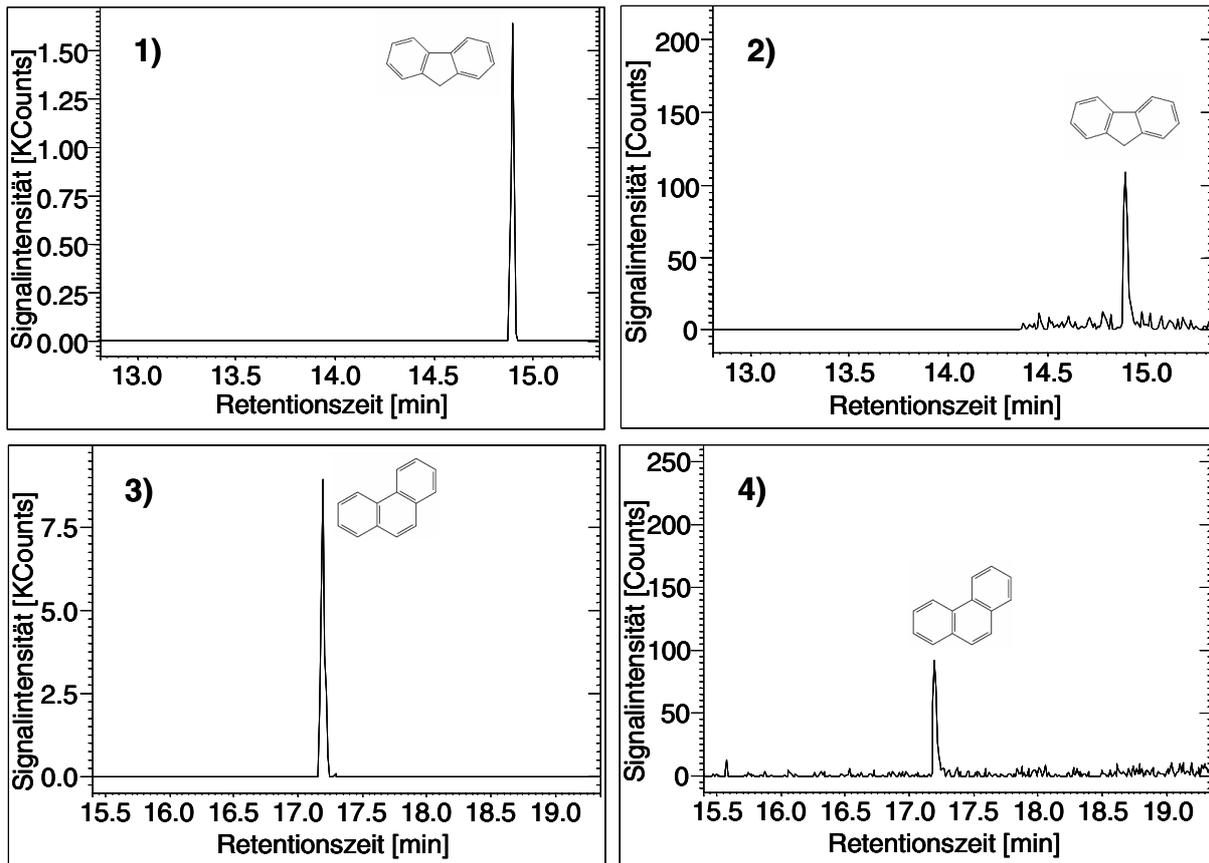


Abb. 25: Einzelionenchromatogramme von : 1) Fluoren 100 fg/μl PI 2) Fluoren 10 pg/μl EI  
 3) Phenanthren 100 fg/μl PI 4) Phenanthren 10 pg/μl EI

Anhand der Beispiele von Fluoren und Phenanthren ist zu erkennen, dass mit dem modifizierten Gerät bereits ohne Voranreicherung Empfindlichkeiten erzielt werden, die im oberen Konzentrationsbereich liegen der für die Trinkwasseranalytik von PAK gefordert wird.

### 3.2 Kopplung von konventioneller SPME mit der GC-LAMS zur Untersuchung von PAK-Standards in Wasser

In der Ultrapurenanalytik von Wasserschadstoffen ist eine Vorkonzentrierung der Analyten erforderlich, um die geforderten Nachweisgrenzen im ppt-Bereich zu erzielen. Dazu ist oft eine arbeits- und zeitaufwendige Probenvorbereitung notwendig. Um den Aufwand für die Probenpräparation auf ein Minimum zu reduzieren, sollte im Rahmen des Forschungsprojektes eine automatisierte Schadstoffanreicherung auf der Grundlage der Festphasenmikroextraktion entwickelt werden. Nachdem die Leistungsfähigkeit des Lasermassenspektrometers durch die Analyse von direkt injizierten PAK-Standards bereits erfolgreich demonstriert werden konnte, sollte nun untersucht werden, ob die Kopplung von

### 3 Ergebnisse

Festphasenmikroextraktion mit der Lasermassenspektrometrie prinzipiell für die Analyse aromatischer Wasserschadstoffe in den relevanten Konzentrationsbereichen (1-100 ng/l) geeignet ist. Dazu wurde eine Reihe von PAK mit der manuellen Festphasenmikroextraktion (SPME) aus der wässrigen Phase angereichert und mittels Lasermassenspektrometrie nachgewiesen. Die untersuchten Substanzen wurden aus einem Samplevolumen von 10 ml an einer 100 µm PDMS Faser absorbiert. Die Anreicherung erfolgte über einen Zeitraum von 30 min bei Raumtemperatur und einer Magnetrührgeschwindigkeit von etwa 300 U/min. Über eine Dauer von 3 min wurden die Analyten im heißen GC-Injektor ( $T=280^{\circ}\text{C}$ , splitlos) thermisch von der Faser desorbiert und mit dem Lasermassenspektrometer bei einer Pulsenergie von 0,5 mJ analysiert.

In den Abbildungen 26 und 27 sind die Ergebnisse der SPME-Untersuchung am Beispiel eines Naphthalin- und eines Phenanthrenstandards mit einer Konzentration von je 1 ng/l zu sehen. Anhand der dargestellten GC/MS-Spektren kann man sehr gut erkennen, dass durch die Kopplung der Festphasenmikroextraktion mit der Lasermassenspektrometrie die geforderten Nachweisgrenzen für die Untersuchung von PAK bereits bei niedrigen Laserintensitäten erreicht werden. Aufgrund des sehr guten Signal/Rauschverhältnisses von über 2000 für Naphthalin und über 25000 für Phenanthren ist hier folglich die Nachweisgrenze des Verfahrens noch nicht erreicht und eine gute Voraussetzung für eine aussagekräftige Quantifizierung gegeben.

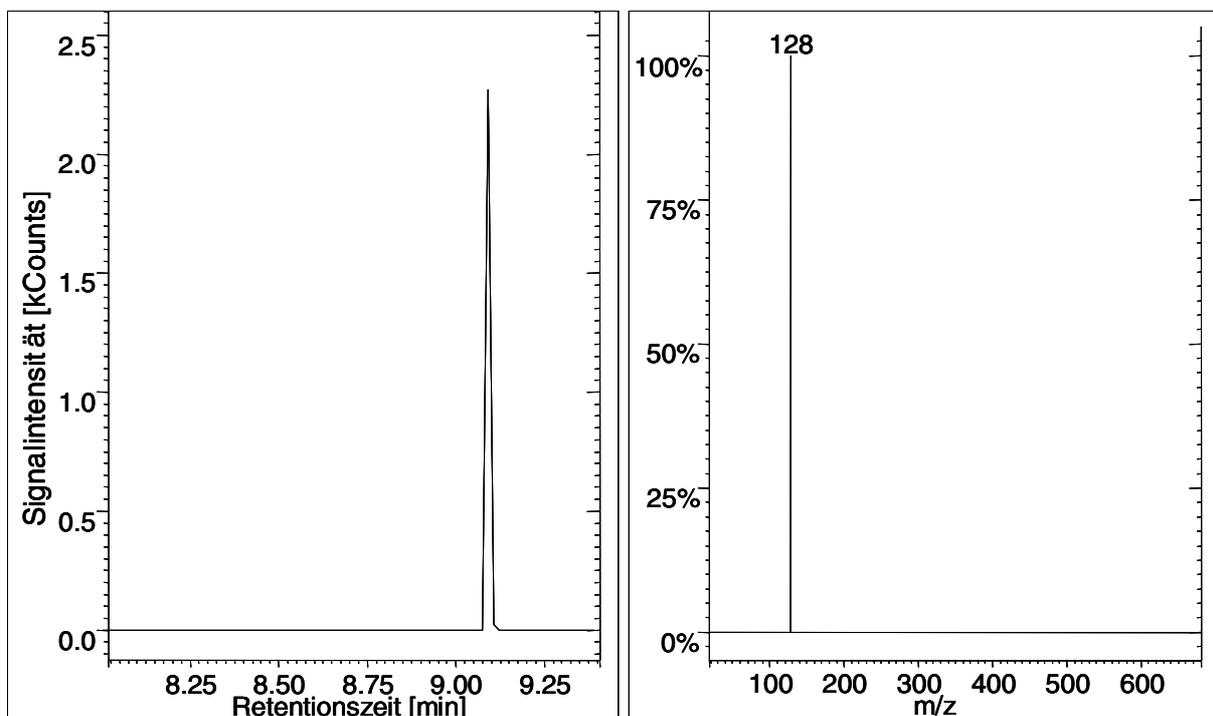


Abb. 26: SPME GC/LAMS-Spektrum Naphthalin-Standard 1 ng/l angereichert aus der wässrigen Phase an einer 100 µm PDMS Faser

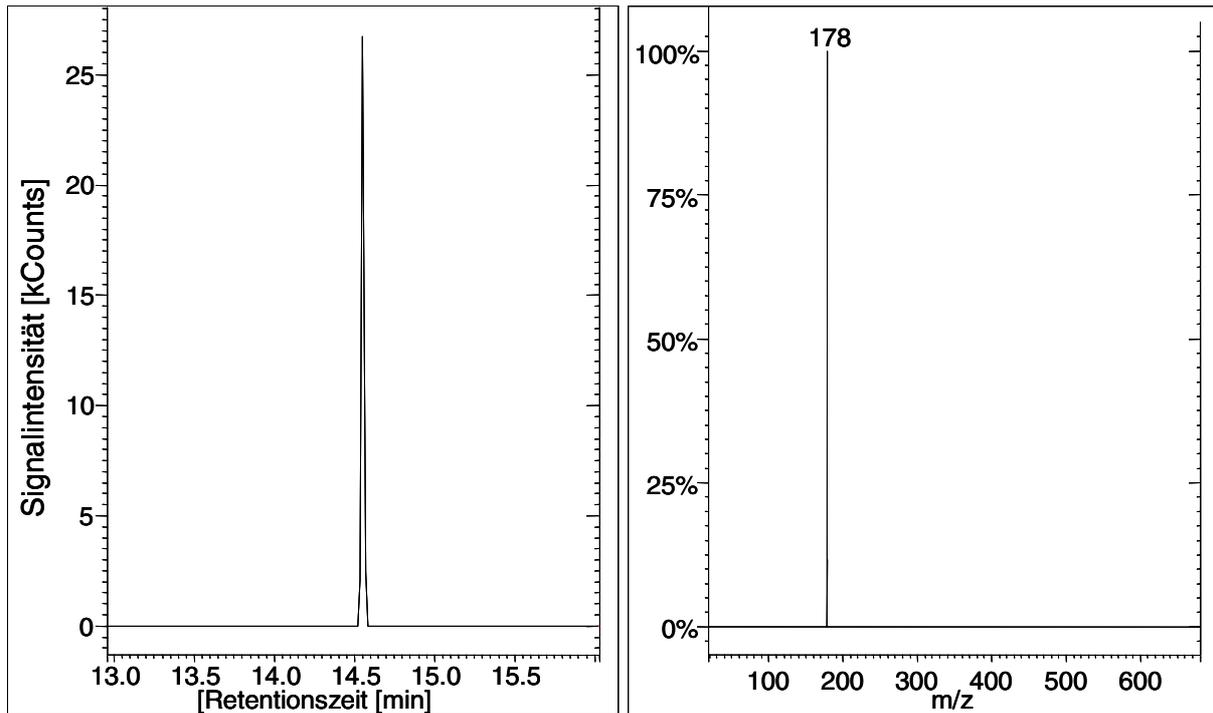


Abb. 27: SPME GC/LAMS-Spektrum Phenanthrenstandard 1 ng/l angereichert aus der wässrigen Phase an einer 100  $\mu\text{m}$  PDMS Faser

Zur Untersuchung des linearen Bereichs des Verfahrens wurde für Naphthalin und Phenanthren eine Kalibrierung im Konzentrationsbereich von 1-1000 ng/l durchgeführt. Die Ergebnisse der Verdünnungsreihe sind in einem Diagramm (Abb. 28) dargestellt, in dem die Signalfäche über der Konzentration aufgetragen ist. Jeder Datenpunkt der Kalibrierkurven resultiert aus dem Mittelwert von jeweils 5 Einzelmessungen. Anhand der dargestellten Kalibrierfunktionen ist zu erkennen, dass im gemessenen Konzentrationsbereich ein linearer Zusammenhang zwischen der Signalfäche und der Massenkonzentration besteht. Die bei der linearen Regression berechneten Korrelationskoeffizienten von 0,999 für die Naphthalin- und 0,998 für die Phenanthrenkalibrierung bestätigen diese Aussage. Mit einer maximalen relativen Standardabweichung von ca. 10 % im unteren Konzentrationsbereich liefert das Verfahren reproduzierbare Ergebnisse, die den Anforderungen an eine spurenanalytische Methode genügen.

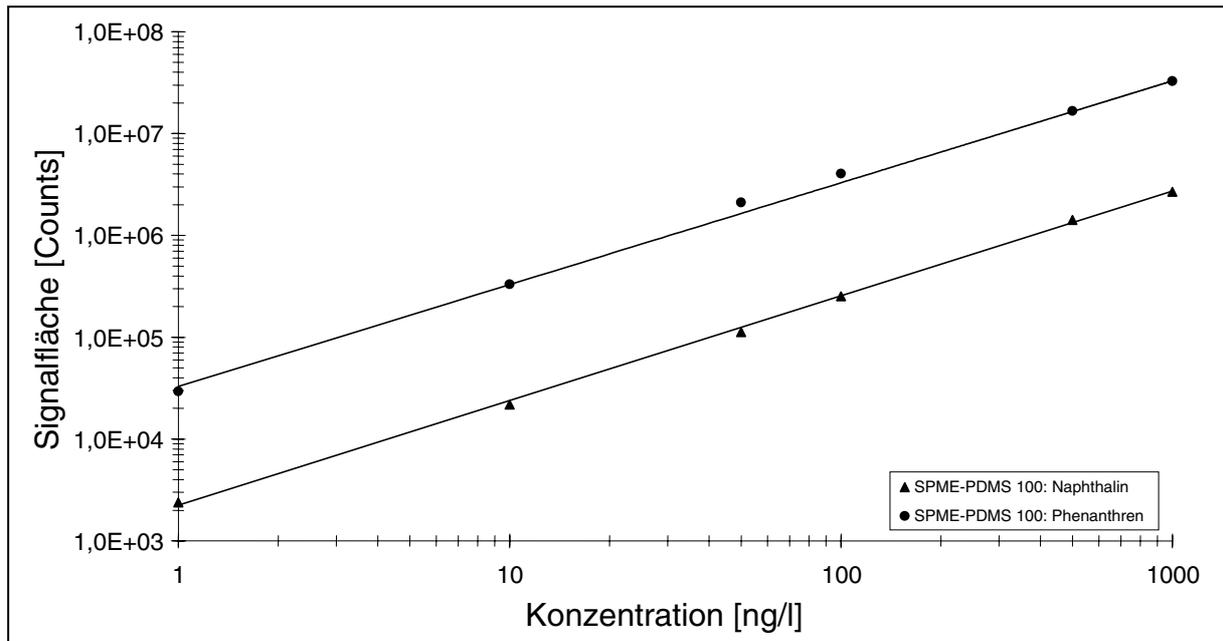


Abb. 28: Kalibrierung Naphthalin- und Phenanthrenstandard angereichert aus der wässrigen Phase an einer 100  $\mu\text{m}$  PDMS-Faser

### 3.3 Vergleich von konventioneller Festphasenmikroextraktion mit dem In-Tube SPME Verfahren

Anhand der Ergebnisse, die bei der Untersuchung von PAK-Standards in Wasser mit der manuellen SPME-Technik erzielt wurden, konnte gezeigt werden, dass die Kombination der Festphasenmikroextraktion mit der Lasermassenspektrometrie die Anforderungen an ein spurenanalytisches Verfahren zur Untersuchung von aromatischen Wasserschadstoffen erfüllt. Deshalb wurde eine Methode zur automatisierten Schadstoffanreicherung entwickelt, die ebenfalls auf der Grundlage der Festphasenmikroextraktion basiert. Das Verfahren wird als In-Tube SPME bezeichnet da die Anreicherung der Schadstoffe nicht an einer Faser sondern an der Innenwand einer GC-Kapillarsäule stattfindet.

Zur Erprobung der In-Tube SPME-GC/LAMS Kopplung wurden zunächst definierte PAK-Standardlösungen in einem Konzentrationsbereich von 1-1000 ng/l untersucht. Diese Untersuchungen dienten zum einen zur Bestimmung der Empfindlichkeit, der Linearität und der Reproduzierbarkeit des Verfahrens und zum anderen, dem direkten Vergleich mit der konventionellen SPME. Um einen Vergleich der Ergebnisse zu ermöglichen wurde unter identischen GC-LAMS Bedingungen gemessen. Die Schadstoffanreicherung erfolgte ebenfalls über einen Zeitraum von 30 min bei Zimmertemperatur. Dazu wurde der wässrige

PAK-Standard mit einer Flussrate von 12 ml/min durch die 20 cm lange GC-Kapillare (ID 0,53 mm; Df 5  $\mu$ m PDMS) gesaugt. Nach der Anreicherung wurde die Apparatur 4 min lang mit einem Heliumstrom von 10 ml/min getrocknet und die Ventile anschließend auf eine Temperatur von 300 °C beheizt. Die Desorption des Analyten erfolgte über einen Zeitraum von 3 min bei einer Temperatur von 230 °C und einem Heliumfluss von 10 ml/min.

In Abbildung 29 sind die Einzelionenchromatogramme eines Phenanthrenstandards mit einer Konzentration von 1 ng/l nach der In-Tube SPME-Anreicherung (Bild 1) und nach der Anreicherung an einer 100  $\mu$ m PDMS Faser (Bild 2) zu sehen. Für Phenanthren wurde mit der In-Tube SPME Technik eine etwa doppelt so große Signalfläche erhalten als mit der konventionellen Technik. Berücksichtigt man jedoch das um ca. 50 % geringere Extraktionsvolumen der 1cm langen SPME-Faser gegenüber der ca. 20 cm langen Kapillarsäule, so erzielen beide Anreicherungsverfahren vergleichbare Extraktionseffizienzen.

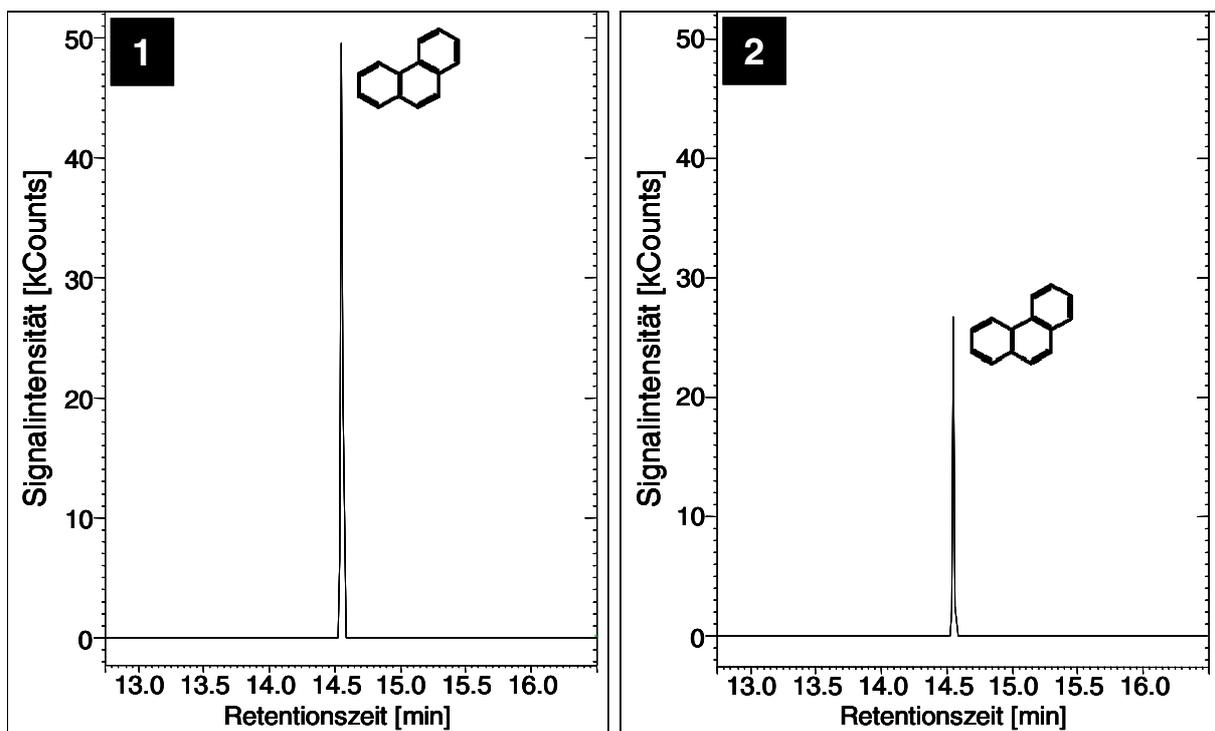


Abb. 29: Einzelionenchromatogramme eines Phenanthrenstandards ( $\beta=1$  ng/l) angereichert aus der wässrigen Phase mittels: 1. Automatisierter In-Tube SPME  
2. Konventioneller SPME-Faser (PDMS 100  $\mu$ m)

Bei der Anreicherung von Naphthalin hingegen konnten mit der In-Tube SPME Technik trotz des größeren Extraktionsvolumens der Kapillarsäule gegenüber der SPME-Faser nur Signale erhalten werden, deren Flächen um etwa 30 % geringer sind (s. Abb. 30). Das Ergebnis kann mit dem hohen Dampfdruck des Naphthalins erklärt werden. Der Dampfdruck von Naphthalin ist bei Raumtemperatur mit 7,2 Pa – 11,3 Pa etwa 500-mal höher als der von Phenanthren.

### 3 Ergebnisse

Aufgrund der hohen Flüchtigkeit des Naphthalins ist während der Trocknungsphase mit einem höheren Substanzverlust zu rechnen, als beim Phenanthren. Die Trocknung der In-Tube SPME Apparatur nach der Probenanreicherung muss jedoch durchgeführt werden, um eine Beschädigung der Ventile und der Kapillarsäule während der thermischen Desorption zu vermeiden. Durch eine Optimierung der Parameter Heliumfluss und Trocknungsdauer kann der Verlust an leichtflüchtigen Substanzen minimiert werden. Die bessere Wahl für die Untersuchung leichtflüchtiger Schadstoffe wäre jedoch die Anreicherung aus dem Dampfraum, da man hier vollständig auf den Trocknungsschritt verzichten kann.

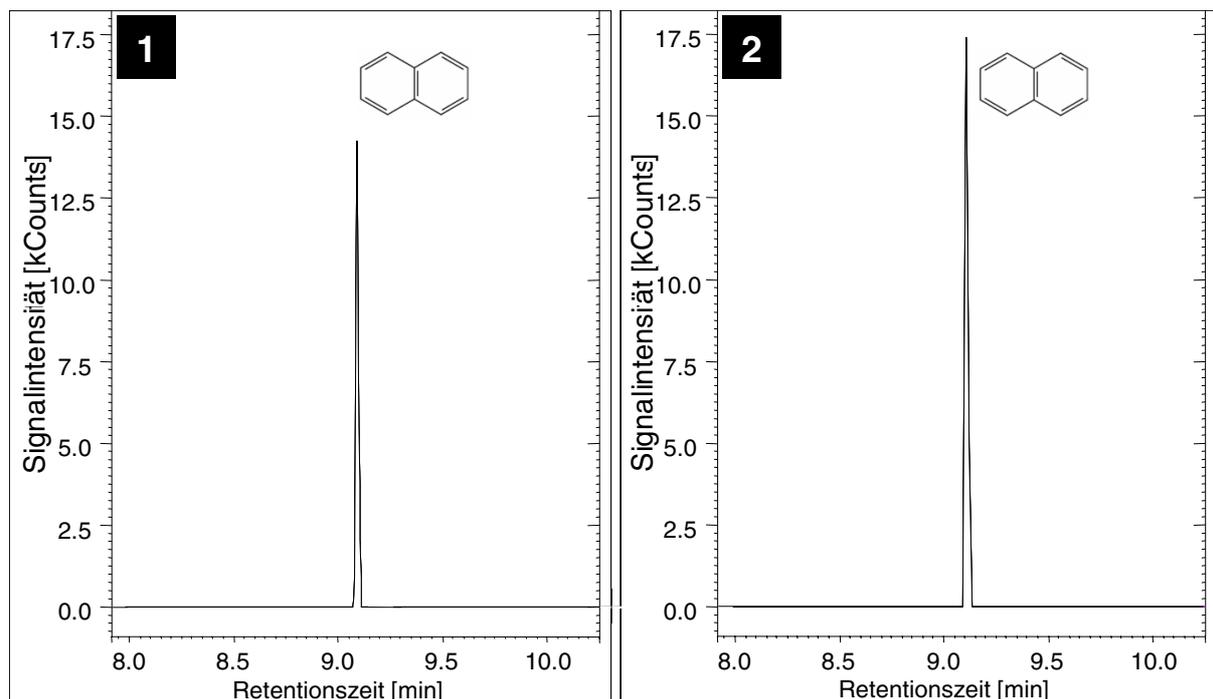


Abb. 30: Einzelionenchromatogramme eines Naphthalinstandards ( $\beta=10$  ng/l) angereichert aus der wässrigen Phase mittels: 1. Automatisierter In-Tube SPME  
2. Konventioneller SPME-Faser (PDMS 100  $\mu$ m)

Trotz der Unterschiede in der Desorptionstemperatur und in der Wärmekapazität konnten keine Veränderungen bezüglich der Elutionszeit und der Signalbreite zwischen beiden Anreicherungstechniken beobachtet werden. Große Abweichungen in der Elutionszeit waren auch nicht zu erwarten, da die Desorptionszeit und alle GC-LAMS Parameter bei beiden Verfahren identisch waren. Eine zusätzliche Signalverbreiterung aufgrund der größeren Wärmekapazität der In-Tube SPME-Apparatur wird aufgrund der schnellen Wärmeübertragung zwischen dem beheizten Edelstahlrohr und der darin befindlichen GC-Kapillare und der höheren Heizleistung vermieden.

Zur Untersuchung von Memory-Effekten wurde bei verschiedenen Konzentrationen durch eine wiederholte Desorption überprüft, ob die Analyten vollständig von der SPME-Faser bzw. von der In-Tube SPME-Kapillare desorbiert wurden. Störende Memory-Effekte konnten bei beiden SPME-Techniken vor allem bei der Anreicherung von schwer- bis mittelflüchtigen PAK im hohen Konzentrationsbereich beobachtet werden, wenn mit der hochempfindlichen Laserionisation gearbeitet wurde. Zur vollständigen Reinigung muss die kontaminierten In-Tube SPME-Kapillare über einen Zeitraum von mindestens 30-60 min im Bereich der maximalen isothermen Arbeitstemperatur (280-300 °C) ausgeheizt werden. Um eine Oxidation des PDMS-Films der Kapillare zu vermeiden, muss die Säule während des bake-outs mit einem inerten Gas (Helium, Stickstoff) gespült werden. Für ein Verfahren, das z.B. für die Online-Überwachung von Fließgewässern eingesetzt werden soll, sind so lange Reinigungsprozeduren generell ungeeignet. Das Problem trat jedoch nicht bei der ultraspurenanalytische Untersuchung von Schadstoffen auf, was das Ziel dieser Arbeit ist. Bei der Untersuchung von PAK im ng/l Bereich wurden die Analyten während der dreiminütigen Desorptionsphase nahezu vollständig entfernt. Sowohl mit der konventionellen als auch mit der In-Tube SPME-Technik wurden fast identische Ergebnisse erzielt. Bei einer Konzentration von 100 ng/l wurden alle untersuchten PAK noch vollständig entfernt. Bei einer Konzentration von 1000 ng/l hingegen konnte nach der ersten Desorption ( $t=3\text{min}$ ) noch 0,4 % Phenanthren an der SPME-Faser und 0,6 % an der In-Tube SPME Kapillare nachgewiesen werden, wie man anhand der Messdaten in der Abbildung 31 sehen kann. Naphthalin hingegen wurde aufgrund der höheren Flüchtigkeit bei dieser Konzentration vollständig desorbiert.

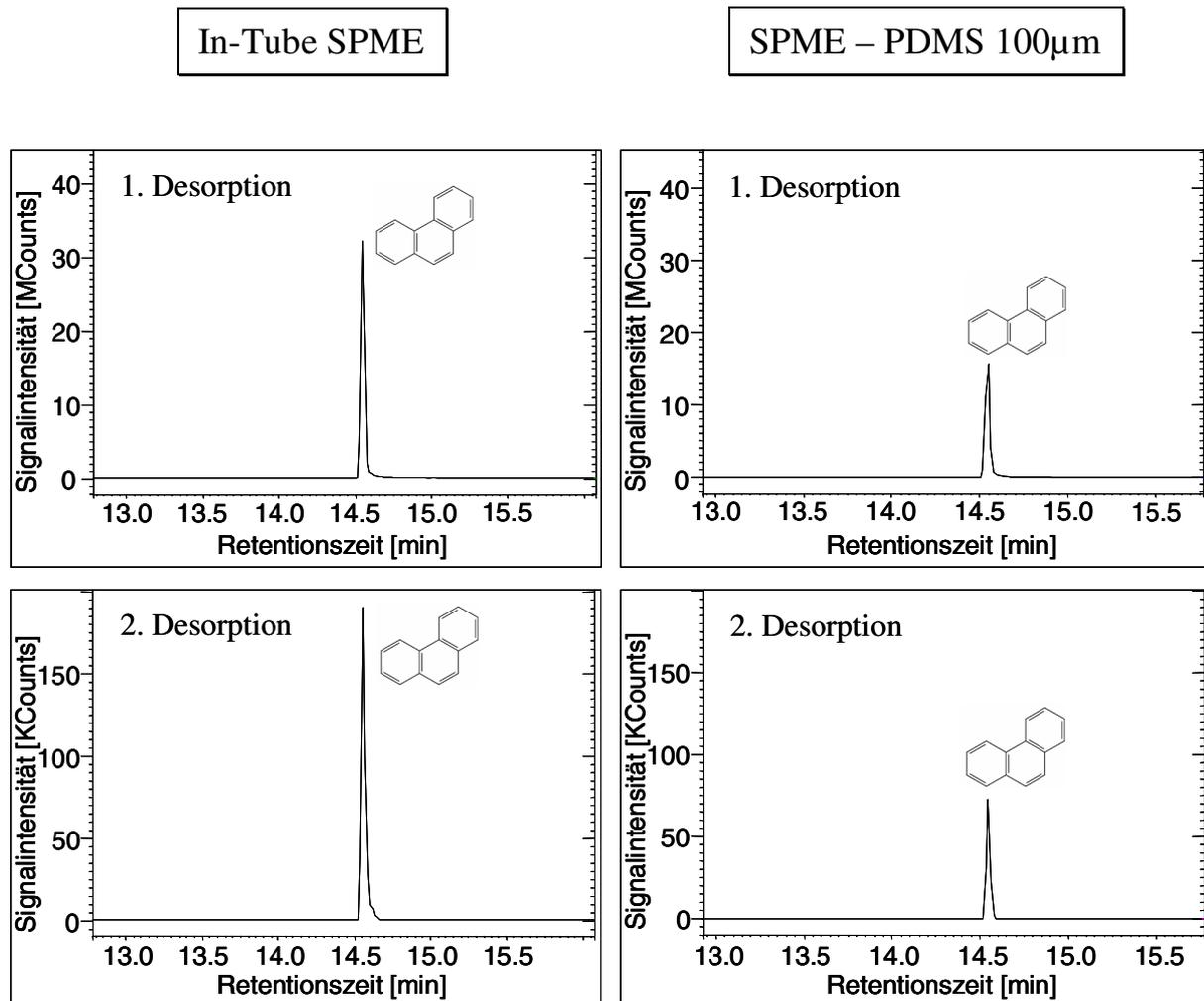


Abb. 31: Untersuchung von Carry-Over Effekten am Beispiel von Phenanthren ( $\beta=1000$  ng/l)

Zur Untersuchung der Linearität des In-Tube SPME Verfahrens wurden wässrige Phenanthren- und Naphthalinstandards in einem Konzentrationsbereich von 1 – 1000 ng/l untersucht. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in der Abbildung 32 dargestellt. Für jede Konzentration wurden 5 Einzelmessungen zu einem Mittelwert zusammengefasst. Jede Kalibrierfunktion ist gut durch eine Gerade mit einem Korrelationskoeffizienten von  $R=0,999$  beschreibbar. Für die Messreihe von Phenanthren wurde eine maximale relative Standardabweichung von etwa 7 % und für Naphthalin von ca. 15 % berechnet.

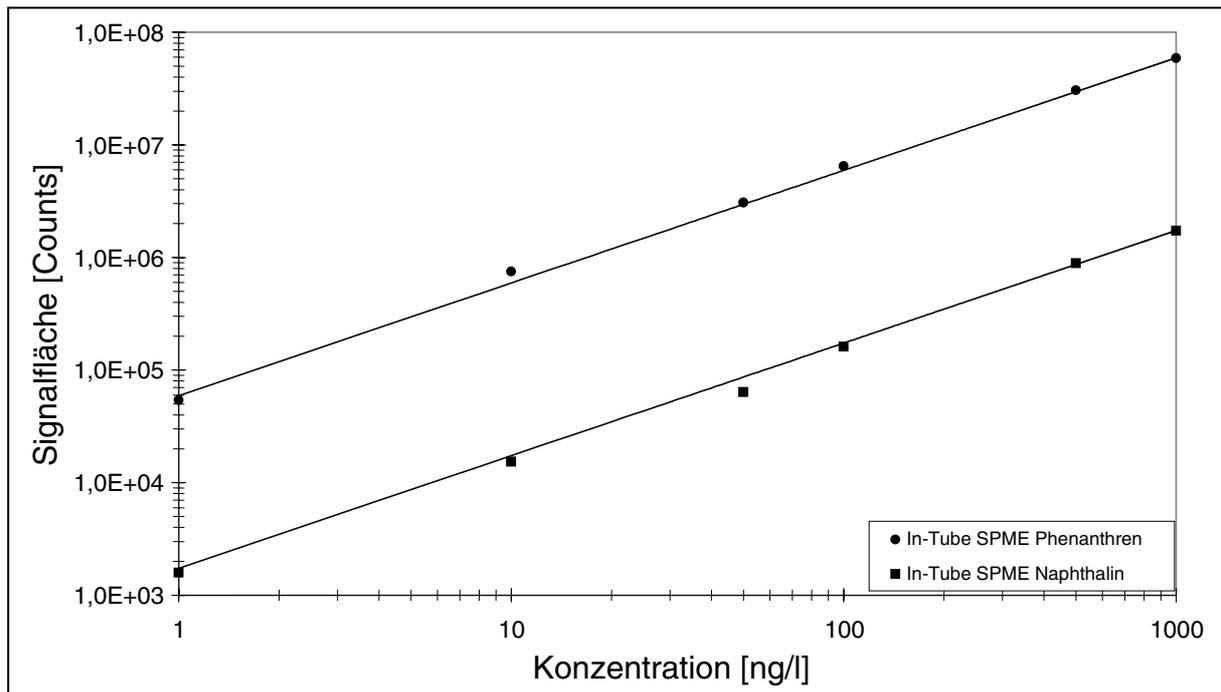


Abb. 32: Kalibrierung Naphthalin- und Phenanthrenstandard angereichert aus der wässrigen Phase mittels In-Tube SPME

### 3.4 Labormessungen an realen Proben

Nachdem durch Messungen an definierten Standards sichergestellt werden konnte, dass mit der Kopplung von In-Tube SPME und GC-LAMS reproduzierbare Ergebnisse im spurenanalytischen Bereich erzielt werden, musste die Funktionsfähigkeit des Verfahrens an Umweltproben überprüft werden. Dazu wurde Oberflächenwasser der Spree auf den Gehalt an polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen untersucht. Die Spreewasserproben wurden unmittelbar nach der Probenahme filtriert und unter den gleichen Bedingungen wie die PAK-Standards vermessen. Das Ergebnis einer solchen Untersuchung ist in der Abbildung 33 zu sehen, in der das rekonstruierte Ionenchromatogramm der Molekülonen von Naphthalin, Fluoren, Phenanthren/Anthracen und Fluoranthen/Pyren dargestellt ist. Durch die Multiphoton-Ionisation bei einer Laserwellenlänge von 266 nm werden nur aromatische Verbindungen ionisiert, was zu einer deutlichen Reduktion von massenspektrometrischen Interferenzen beiträgt. Die Quantifizierung erfolgte mit externen Standards und ergab folgende Konzentrationen: Naphthalin 34 ng/l, Fluoren 8 ng/l, Phenanthren 38 ng/l und Fluoranthen 9 ng/l. Anthracen und Pyren wurden in dieser Probe nicht nachgewiesen.

### 3 Ergebnisse

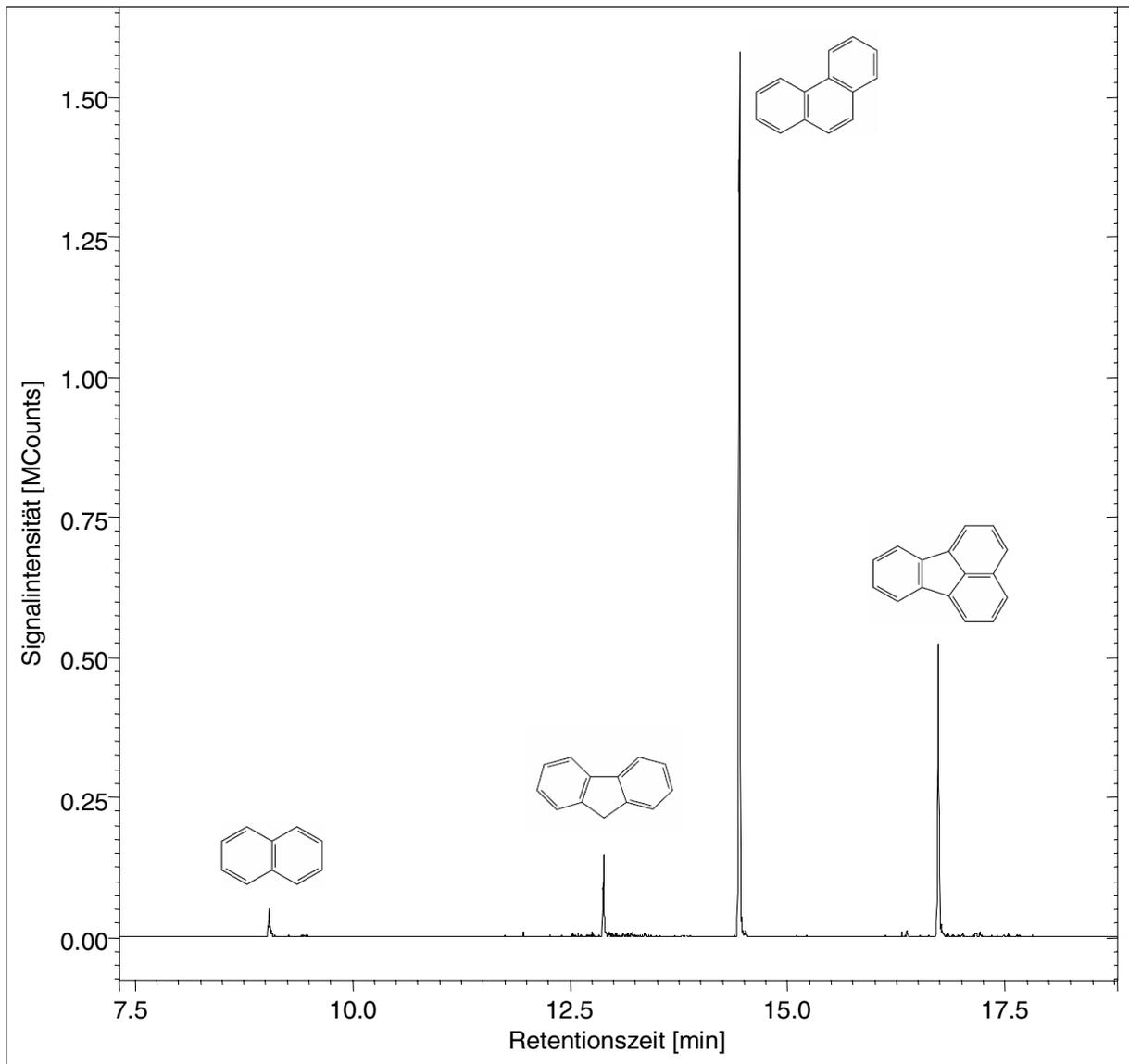


Abb. 33: Rekonstruiertes Ionenchromatogramm der In-Tube SPME-GC-LAMS Untersuchung einer Spreewasserprobe. Dargestellt sind die Massenspuren  $m/z$  128, 166, 178 und 202 der Molekülionen von Naphthalin, Fluoren, Phenanthren / Anthracen und Fluoranthen / Pyren

Anhand der Spreewasseruntersuchungen konnten die Vorteile der automatisierten Festphasenmikroextraktion auch für die Analyse von aromatischen Schadstoffen in flüssigen Umweltproben mit komplexer Matrix gezeigt werden. Der Probenvorbereitungsaufwand ist minimal und beschränkt sich lediglich auf die Filtration der Wasserproben. Weitere Arbeitsschritte, angefangen bei der Probenanreicherung bis zur Analyse der Probe mittels GC-LAMS, wurden vollautomatisiert. Die entwickelte Schadstoffanreicherung basierend auf der In-Tube SPME ist robust, da die Anzahl der beweglichen Teile auf ein Minimum beschränkt ist. Damit ist das entwickelte Verfahren prinzipiell für die quasi-kontinuierliche Online-Überwachung von organischen Schadstoffen in Gewässern geeignet.

### 3.5 Feldmessungen: Abwasseruntersuchung am Klärwerk in Cottbus

Zur Untersuchung der Onlinefähigkeit der entwickelten Methode, wurden Feldmessungen an der Kläranlage in Cottbus durchgeführt. Dafür wurde in Zusammenarbeit mit dem Industriepartner UP Umweltanalytische Produkte GmbH ein fahrbarer Geräteschrank entwickelt (siehe Kapitel 2.7), der den Transport der Anlage zu den entsprechenden Messplätzen erlaubt. Untersucht wurde das Wasser am Ein- und Auslauf des Klärwerks in Cottbus. Ziel der Messungen war die Überwachung des Konzentrationsverlaufs von aromatischen Schadstoffen über einen Zeitraum von mindestens 24 Stunden und der Vergleich der Schadstoffkonzentrationen vor und nach der Abwasseraufbereitung.

Dank der guten Transportsicherung überstand die verwendete Messtechnik die Fahrt zur Kläranlage unbeschadet und konnte ohne Komplikationen in Betrieb genommen werden. Trotz der teilweise geringen Außentemperaturen von unter 10 °C wurde in dem Geräteschrank sehr schnell die notwendige Temperatur erzielt, um einen problemlosen Einsatz der Geräte zu gewährleisten, denn sowohl beim Nd:YAG-Laser als auch beim verwendeten GC-MS System handelt es sich um Laborgeräte, die demzufolge bei Raumtemperatur betrieben werden sollten, um eine Beschädigung zu vermeiden.

Beim Vergleich der Schadstoffbelastung des Wassers am Ein- und Auslauf der Kläranlage sind klare Konzentrationsunterschiede sichtbar. Anhand der in Abbildung 34 dargestellten Totalionenchromatogramme (Fullscan) kann man eine deutliche Reduktion an aromatischen Kohlenwasserstoffen nach der Aufbereitung des Abwassers erkennen. Sowohl die Anzahl der Signale als auch die Signalintensität der detektierten Aromaten haben sich durch die verschiedenen Prozesse in der Abwasseraufbereitung deutlich verringert. Dieser Trend spiegelt sich auch für die Gruppe der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe wieder, was man am Beispiel der rekonstruierten Ionenchromatogramme in der Abbildung 35 sehen kann.

### 3 Ergebnisse

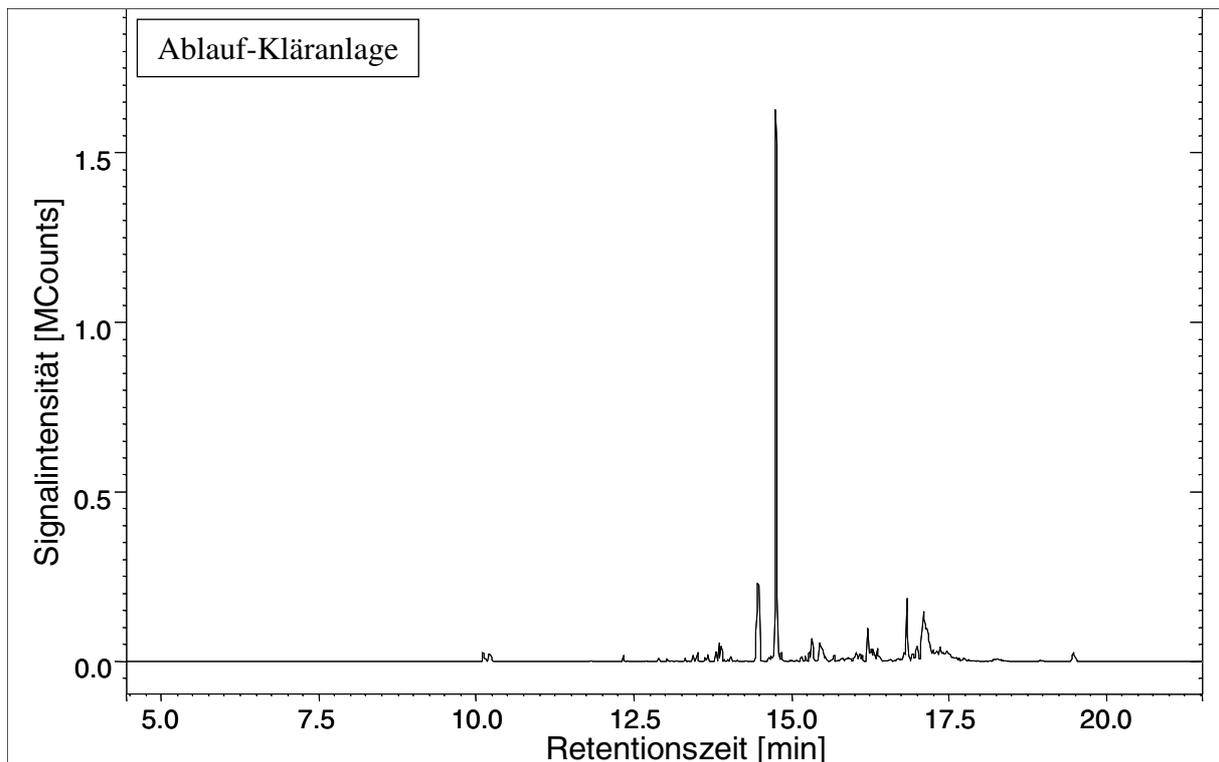
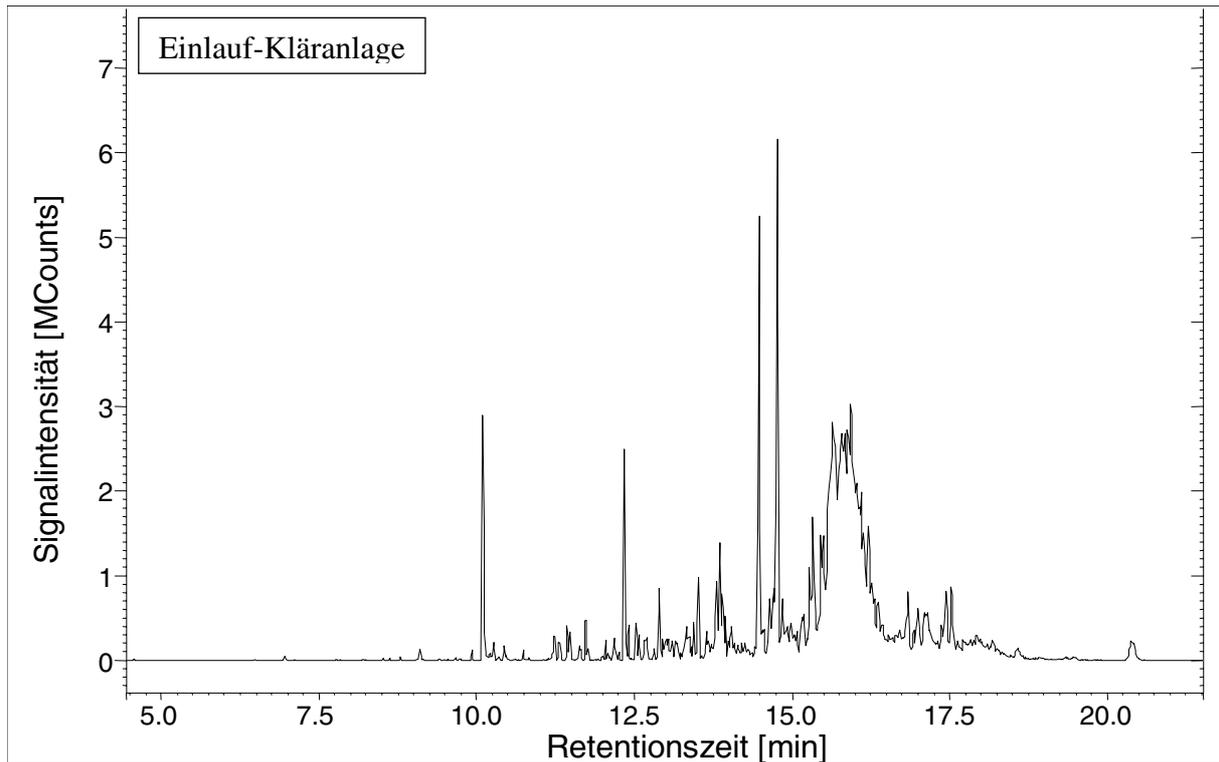


Abb. 34: Totalionchromatogramme der In-Tube SPME-GC-LAMS Untersuchung des Abwassers am Ein- und Auslauf der Kläranlage in Cottbus.

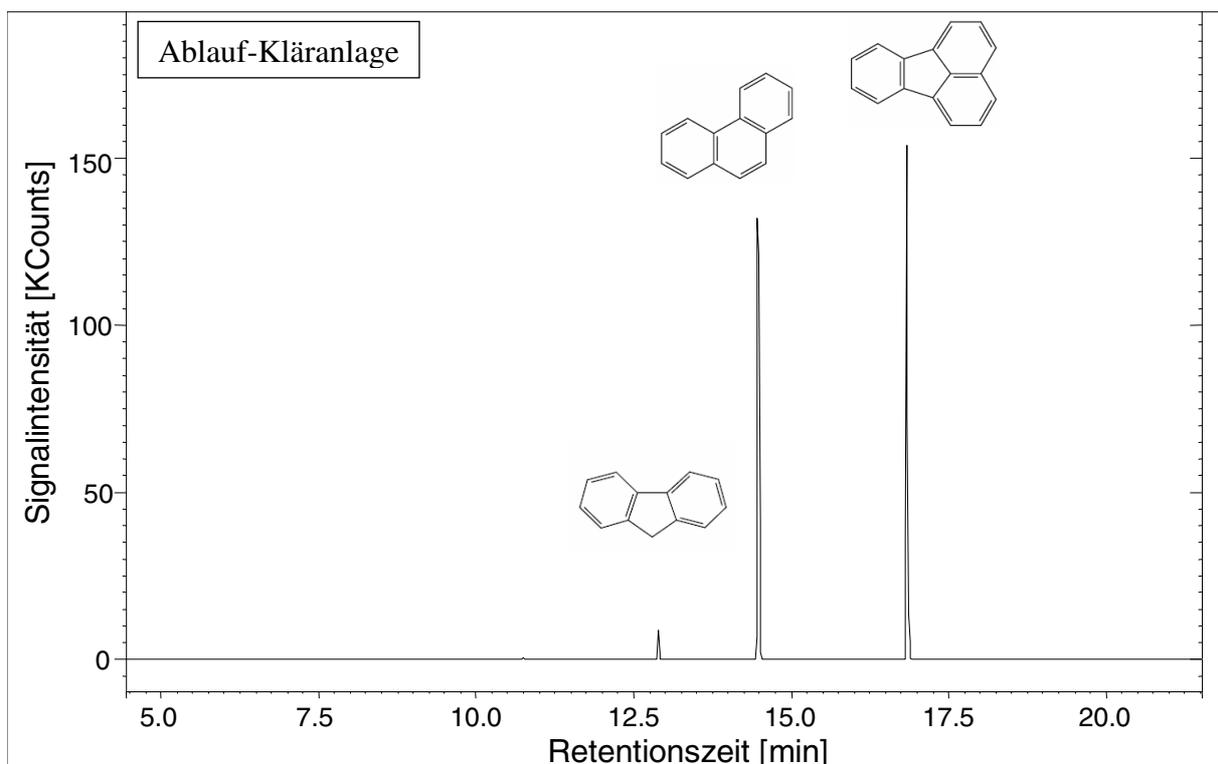
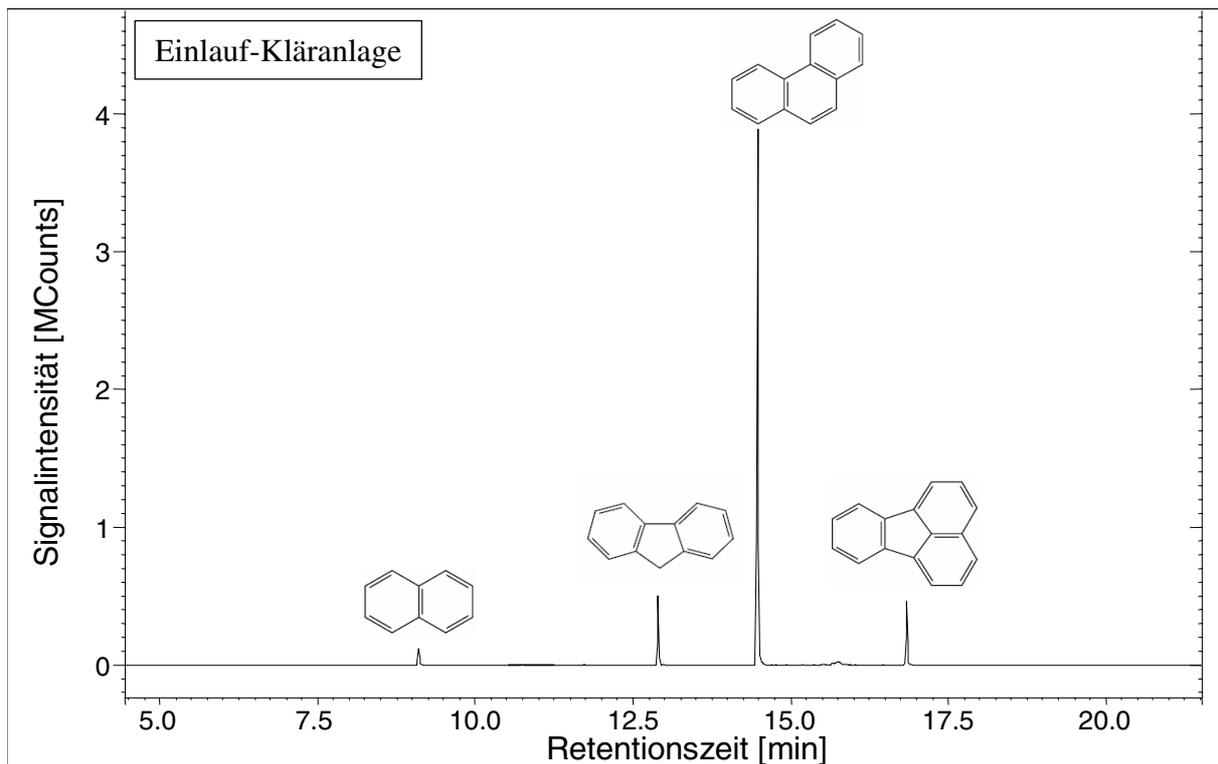


Abb. 35: Rekonstruierte Ionenchromatogramme der Abwasseruntersuchung an der Kläranlage in Cottbus, erhalten durch automatisierte In-Tube SPME Anreicherung gekoppelt mit GC-LAMS. Dargestellt sind die Massenspuren  $m/z$  128, 166, 178 und 202 der Molekülionen von Naphthalin, Fluoren, Phenanthren / Anthracen und Fluoranthen / Pyren.

### 3 Ergebnisse

Die quantitative Analyse mit externem Standard ergab für die detektierten PAK folgende Konzentrationen:

Substanz	Konzentration am Einlauf der Kläranlage [ng/l]	Konzentration am Auslauf der Kläranlage [ng/l]
Naphthalin	118	<NG
Fluoren	31	<1
Phenanthren	122	5,2
Anthracen	<NG	<NG
Fluoranthren	10,5	3,5
Pyren	<NG	<NG

Wie man anhand der Ergebnisse sieht, wurden PAK sowohl am Ein- als auch am Auslauf der Kläranlage in Cottbus gefunden. Am Einlauf traten sie vereinzelt in Konzentrationen über 100 ng/l auf. Nach der Abwasseraufbereitung sank die Konzentration unter die Grenze von 10 ng/l. Das Ergebnis war zu erwarten, da PAK aufgrund ihrer relativ geringen Wasserlöslichkeit, die mit zunehmender Zahl kondensierter Ringe weiter abnimmt, mit hoher Affinität an Boden- und Sedimentpartikeln adsorbiert werden. Vor allem höhermolekulare PAK werden aufgrund der steigenden Hydrophobizität bzw. Lipophilie im Klärschlamm angereichert und dort teilweise mikrobiologisch abgebaut. Für niedermolekulare PAK (1-3 Ringe) kann eine Metabolisierung durch Mikroorganismen (Bakterien, Pilze) bereits im flüssigen Medium erfolgen. [Vol1992].

Anhand der durchgeführten Messungen an der Kläranlage in Cottbus konnte die Feldtauglichkeit des Gerätes erfolgreich unter Beweis gestellt werden. Demzufolge ist das entwickelte Verfahren zur schnellen Detektion aromatischer Spurenstoffe prinzipiell für die Online-Überwachung von Fließgewässern einsetzbar. Allerdings zeigte diese Felduntersuchung auch die Grenzen des Verfahrens. Eine lückenlose Tagesüberwachung war beispielsweise nicht möglich, da die Partikelbelastung des untersuchten Wassers teilweise so hoch war, dass innerhalb von wenigen Stunden das für die Probenahme verwendete Filtersystem verstopfte und gereinigt werden musste. Insbesondere am Kläranlageneinlauf stellte die Probenahme ein nicht zu unterschätzendes Problem dar, weil hier das Abwasser zusätzlich mit Faulschlamm beimpft wird. Infolgedessen war nur die Aufnahme kleiner Messserien möglich, in denen jedoch keine gravierenden Konzentrationsunterschiede

zwischen den Einzelmessungen festgestellt wurden. Trotzdem müssen Alternativen bezüglich der Probenahme entwickelt werden, um den Überwachungszeitraum von Gewässern mit hoher Partikelbelastung zu vergrößern.

### **3.6 Untersuchung der Laserionisation von endokrin wirksamen Substanzen**

An einer Reihe von Standards, die vom Umweltforschungszentrum in Leipzig zur Verfügung gestellt wurden, sollte untersucht werden ob die Laserionisation auch für die spurenanalytische Untersuchung von endokrin wirksamen Substanzen (EWS) geeignet ist. Insbesondere sollte überprüft werden ob sich Vorteile bezüglich der Empfindlichkeit und des Fragmentierungsgrades gegenüber der Elektronenionisation ergeben. Um die Flüchtigkeit und damit die GC-Gängigkeit einiger Vertreter mit polaren funktionellen Gruppen (aktive Wasserstoffatome) zu erhöhen, wurden diese vor der Analyse derivatisiert (Arbeitsanweisung siehe Kap. 2.9). Als Derivatisierungsreagenz wurde SILYL-991 (Macherey-Nagel) ein Gemisch von BSTFA [N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoracetamid] mit 1% Trimethylchlorsilan (TMCS) erfolgreich eingesetzt.

Um einen Vergleich zwischen der Elektronen- und der Laserionisation zu ermöglichen, wurden die derivatisierten Standards unter identischen GC-Parametern gemessen. Das Ergebnis dieser Untersuchung, ist am Beispiel der silylierten Standards von n-Nonylphenol und Bisphenol A (BPA) in den Abbildungen 36 und 37 zu sehen. Beim Vergleich der Messergebnisse, die mittels EI bzw. PI erzielt wurden, spiegelt sich der gleiche Sachverhalt wie bei der Analyse der PAK-Standards wieder. Unterschiede in der Ionisationseffizienz von ca. 2 Größenordnungen zugunsten der Laserionisation wurden neben den dargestellten EWS auch für weitere Vertreter wie z.B. Naproxen und 17- $\alpha$ -Ethinylestradiol festgestellt. Aufgrund der weichen Ionisierung werden bei der PI für n-Nonylphenol und Bisphenol A fragmentarme Massenspektren erhalten, bei denen das Molekülionensignal dem Basispeak entspricht. Im Gegensatz dazu weisen die EI-Massenspektren der dargestellten Verbindungen einen wesentlich höheren Fragmentierungsgrad auf. Teilweise fragmentieren die EWS so leicht, dass die Intensität des Molekülions geringer ist, als die der gebildeten Tochterionen. Im EI-Massenspektrum von TMS-BPA z.B. besitzt das Signal mit m/z 357, das durch Methylabspaltung aus dem Molekülion ( $M^+$  372) entstanden ist, die größte Intensität. Beim Nonylphenol entspricht nicht  $M^+$  sondern das  $(M-C_8H_{17})^+$ -Fragment dem Basispeak im EI-Massenspektrum.

### 3 Ergebnisse

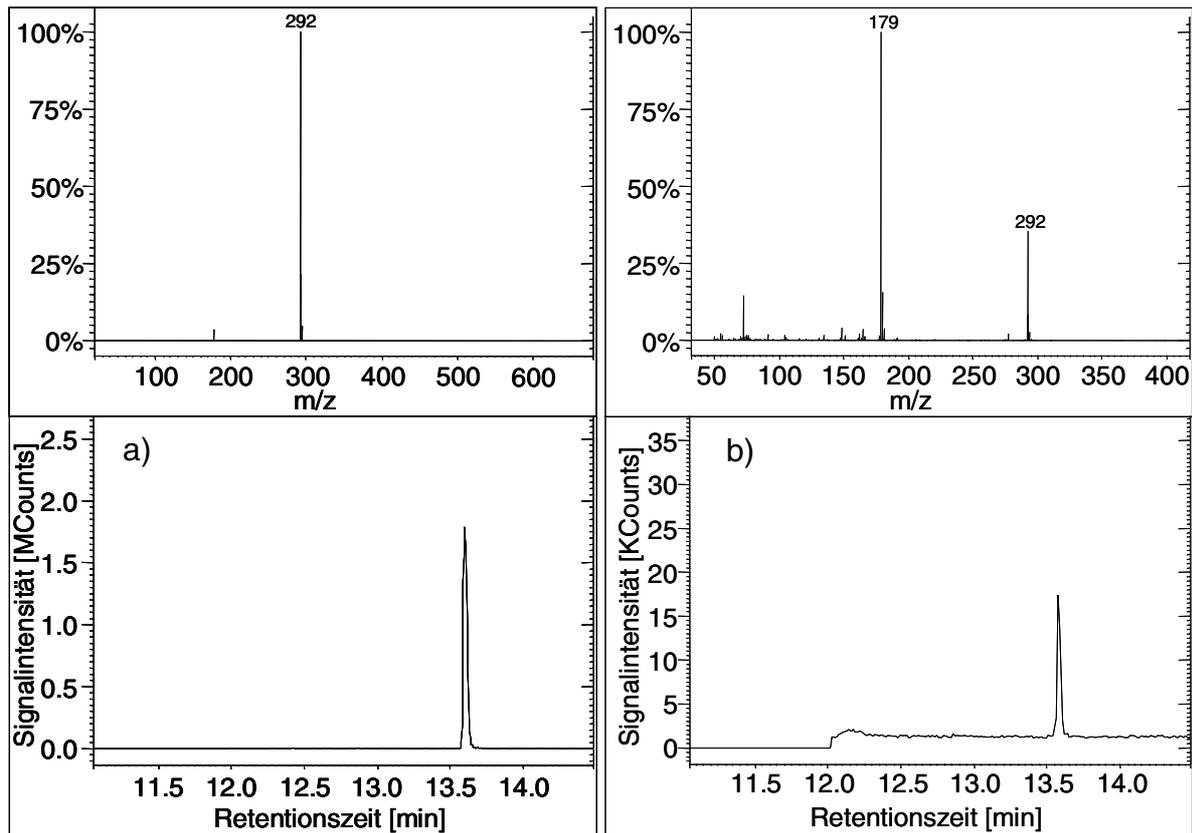


Abb. 36: *n*-Nonylphenol als Trimethylsilylether (1 ng/ $\mu$ l): a) Laserionisation ( $\lambda=266\text{nm}$ ,  $PE < 1\text{mJ}$ )  
b) Elektronenionisation

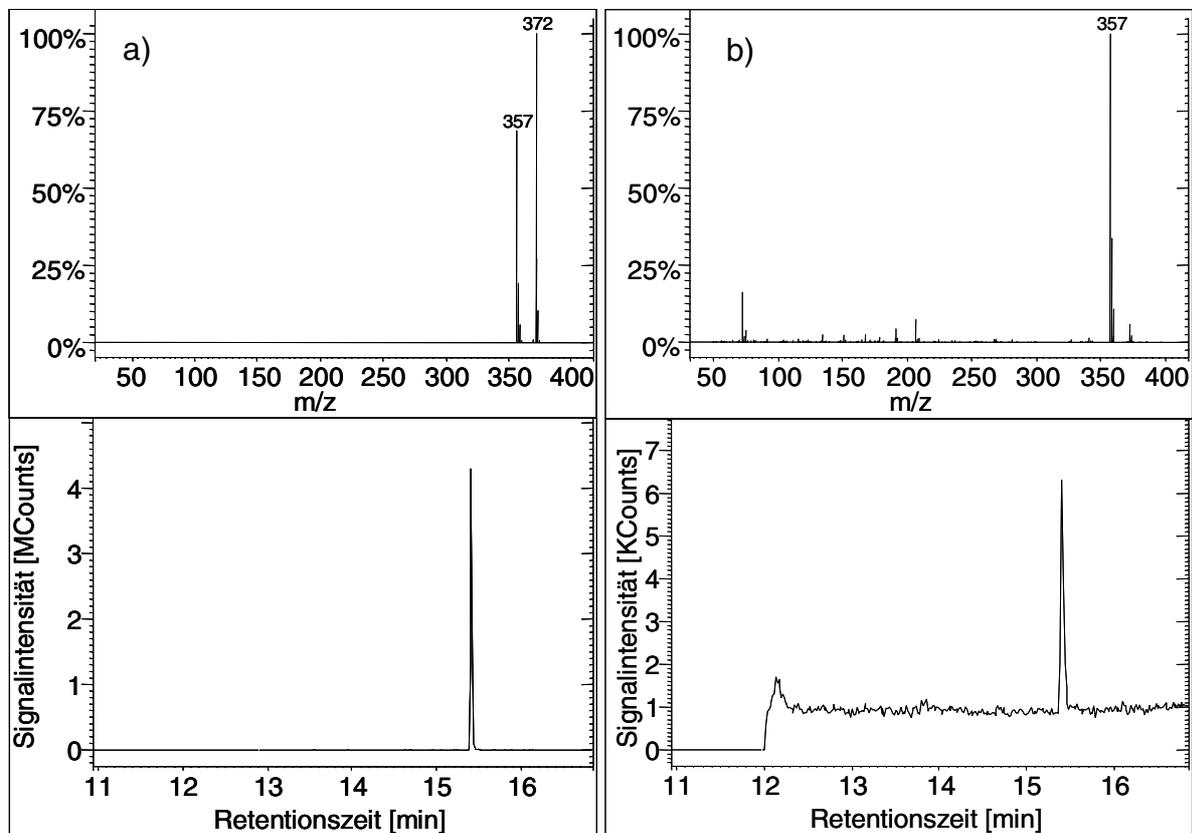


Abb. 37: Bisphenol A als Trimethylsilylether (100 pg/ $\mu$ l): a) Laserionisation ( $\lambda=266\text{nm}$ ,  $PE = 1\text{mJ}$ )  
b) Elektronenionisation

Aufgrund der Ergebnisse dieser Voruntersuchungen sind mit der Laserionisation für eine Reihe von EWS geringere Nachweisgrenzen zu erwarten, als mit der Elektronenionisation. Begründet wird diese Aussage neben dem verbesserten Signal/Rausch-Verhältnis durch fragmentärmere Massenspektren, die den Nachweis hormonaktiver Substanzen in komplexen Matrices wie z.B. Abwasser wesentlich erleichtern.

Zur Untersuchung des linearen Bereichs und zur Bestimmung der Nachweisgrenze wurden TMS-BPA-Standards in einem Konzentrationsbereich von 0,5 – 100 pg/µl untersucht. Die Herstellung und Derivatisierung der Stammlösung erfolgte nach der Arbeitsanleitung (siehe Kapitel 2.9). Durch Verdünnung der trimethylsilylierten Stammlösung mit Hexan wurden die Probenkonzentrationen der Messreihe hergestellt. Jede Verdünnungsstufe wurde 4-mal splitlos in den heißen GC-Injektor ( $T=250^{\circ}\text{C}$ ) eingespritzt. Für die Probenaufgabe wurde der Autosampler „CTC-A200 S“ der Firma Chromtech verwendet. In der Abb. 38 ist das Ergebnis dieser Untersuchung in einem Diagramm abgebildet. Im dargestellten Konzentrationsbereich besteht ein linearer Zusammenhang zwischen der Probenkonzentration und der Signalfläche. Die lineare Regression ergab eine Gerade mit einem Korrelationskoeffizienten von  $R=0,999$ .

Mit einer Verfahrensstandardabweichung von ca. 5% und einer relativen Standardabweichung von unter 10 % bei einer Konzentration von 0,5 pg/µl werden mit dieser Methode reproduzierbare Ergebnisse erzielt. Bei der geringsten Konzentrationsstufe konnte im Ionenchromatogramm ( $m/z$  357 + 372) noch ein Signal/Rausch-Verhältnis von über 6000 ermittelt werden. Somit ist die Nachweisgrenze des Verfahrens kleiner als 0,5 pg/µl.

### 3 Ergebnisse

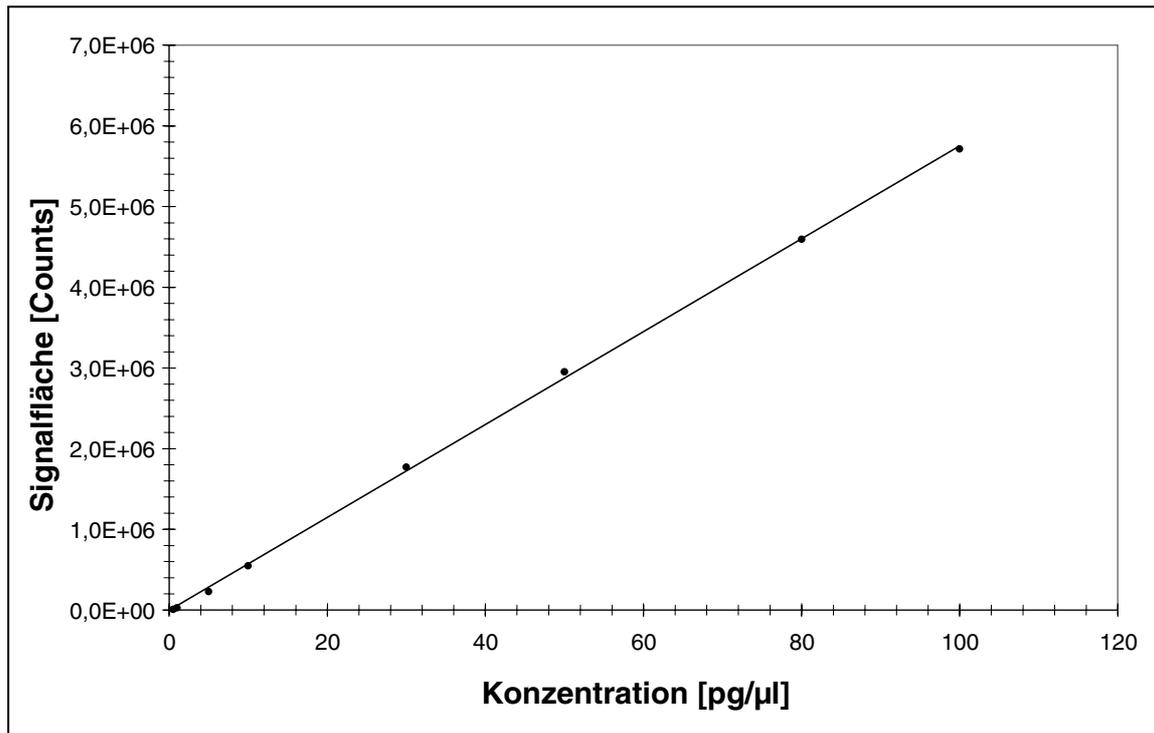


Abb. 38: Kalibrierung Bisphenol A als Trimethylsilylether

## 4 Zusammenfassung und Ausblick

### 4.1 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Schnellverfahren zur quantitativen Spurenanalytik aromatischer Verbindungen in Wasserproben entwickelt, das auf der Kopplung von resonanter Multiphoton-Ionisation, Ionenfallen-Massenspektrometrie und automatisierter Festphasenmikroextraktion basiert. Dazu wurde eine kommerzielle Quadrupol-Ionenfalle für die Kopplung mit der resonanten Multiphoton-Ionisation modifiziert, wobei die massenspektrometrischen Eigenschaften des Gerätes nicht beeinträchtigt wurden und die Elektronenionisation weiterhin verwendet werden konnte. Neben der zu erwartenden hohen Selektivität der Laserionisation ergab ein Vergleich der Effizienzen der beiden Ionisationstechniken durchgeführt an einigen polyzyklischen Aromaten Unterschiede von mehr als zwei Größenordnungen zugunsten der Laserionisation. Das modifizierte Gerät weist folglich deutlich geringere Nachweisgrenzen für die Gruppe der PAK auf als das serienmäßige Massenspektrometer. Bereits ohne Voranreicherung wurden mit diesem Laser-Massenspektrometer für PAK in wässrigen Matrices Nachweisgrenzen im oberen ppt-Bereich erhalten.

Für die spurenanalytische Bestimmung aromatischer Verbindungen in wässrigen Matrices wurde ein vollautomatisiertes Probenahme-, Anreicherungs- und Einlasssystem auf der Basis der Festphasenmikroextraktion entwickelt, das den Arbeitsaufwand für die Probenvorbereitung auf ein Minimum reduziert und durch seinen einfachen Aufbau (nur zwei bewegliche Teile) und seine Robustheit charakterisiert ist. Vor der Probenanreicherung muss die Probe lediglich filtriert werden, was vor oder während der automatisierten Probenahme erfolgen kann. Der Zeitaufwand für eine Messung wird im Wesentlichen durch die Dauer der Probenanreicherung bestimmt, die in Abhängigkeit von der analytischen Aufgabenstellung variiert. Bei einer Anreicherungszeit von 30 Minuten ergaben sich in Verbindung mit dem entwickelten Lasermassenspektrometer für die Untersuchung von PAK Nachweisgrenzen klar unter 1 ng/l. Die Kopplung des im Rahmen des vorliegenden Projekts entwickelten Anreicherungsverfahrens in Form der In-Tube SPME mit der Lasermassenspektrometrie erreicht folglich problemlos die für die Spurenanalyse von Gewässerproben geforderten Nachweisgrenzen.

#### *4 Zusammenfassung und Ausblick*

In Zusammenarbeit mit dem Projektpartner UP Umweltanalytische Produkte GmbH wurde zur Durchführung von Feldmessungen ein fahrbarer Geräteschrank entwickelt, mit dem die Gerätetechnik zum Messplatz transportiert werden konnte. Durch Untersuchungen, die am Zu- und Ablauf der Kläranlage in Cottbus durchgeführt wurden, konnte die Feldtauglichkeit des Verfahrens erfolgreich geprüft und prinzipiell bestätigt werden. Nur bei der Probenahme traten gelegentlich Probleme auf, die mit der hohen Partikelbelastung des untersuchten Abwassers in Zusammenhang stehen. Durch die Verstopfung des Filtersystems war eine kontinuierliche Tagesüberwachung leider nicht möglich. Dieses Problem kann aber durch eine zusätzlich vorgeschaltete Filterstufe behoben werden und stellt keine Einschränkung für das entwickelte Verfahren dar.

Aufgrund der seit einigen Jahren geführten Diskussion um endokrin wirksame Substanzen in der aquatischen Umwelt und der verstärkten Nachfrage nach leistungsfähigen Verfahren zu deren Nachweis, wurde an einer kleinen Auswahl an Substanzen aus dieser Schadstoffgruppe untersucht, ob diese mittels Lasermassenspektrometrie nachgewiesen werden können. Bei der Gegenüberstellung der erhaltenen Signal/Rausch-Verhältnisse konnten für Bisphenol A, Nonylphenol und weiteren Vertretern aus der Gruppe der EWS Unterschiede von bis zu 2 Größenordnungen zugunsten der Laserionisation gegenüber der Elektronenionisation festgestellt werden. Darüber hinaus waren die erhaltenen Laser-Massenspektren durch einen geringen Fragmentierungsgrad mit dem Molekülion als Basispeak und durch das Auftreten weniger, aber strukturspezifischer Fragmentionen gekennzeichnet.

Zahlreiche pharmazeutisch wirksame Verbindungen erfordern zum Nachweis mittels GC/MS eine vorgeschaltete Derivatisierung. Auch derartige Derivate wurden hinsichtlich ihrer Eignung für die Laserionisation untersucht und erbrachten ähnliche Ergebnisse wie für die direkt nachweisbaren Substanzen.

Anhand der untersuchten Stoffe wurde gezeigt, dass mit dem entwickelten Lasermassenspektrometer deutlich geringere Nachweisgrenzen zu erwarten sind, als mit dem kommerziellen Gerät, bei dem die Ionisation durch Elektronen erfolgt. Die quantitative Bestimmung von Bisphenol A konnte im untersuchten Konzentrationsbereich von 0,5 bis 100 pg/ $\mu$ l durch eine lineare Kalibrierfunktion abgebildet werden, wobei die maximale relative Standardabweichung 10 % beträgt.

Die Ergebnisse in dieser Arbeit haben gezeigt, dass mit der entwickelten Gerätetechnik ein schnellanalytisches Verfahren zur Verfügung steht, das sowohl im Labor als auch im Feld zur spurenanalytischen Untersuchung von Aromaten in Wasserproben eingesetzt werden kann. Gegenüber den etablierten Normverfahren, die in der Routineanalytik eingesetzt werden,

zeichnet sich diese Methode neben dem geringen Arbeits- und Personalaufwand durch eine hohe Empfindlichkeit und Selektivität aus. Am Beispiel polyzyklischer Aromaten konnte gezeigt werden dass die Leistungsfähigkeit des Verfahrens voll den Anforderungen an ein schnelles Verfahren zur Ultraspurenanalyse von Wasserproben entspricht. Erste Untersuchungen zeigen, dass die entwickelte Gerätetechnik zukünftig auch für die Untersuchung von endokrin wirksamen Substanzen eingesetzt werden könnte. Es wurden somit alle für das Projekt mit der Deutschen Bundesstiftung Umwelt gesetzten Ziele erreicht.

## 4.2 Ausblick

Um den dynamischen Bereich und die Empfindlichkeit des lasermassenpektrometrischen Verfahrens weiter zu verbessern und eine Überladung der Ionenfalle bei hohen Probenkonzentrationen zu verhindern, müsste in Anlehnung an die AGC-Scanfunktion, die bei der Elektronenionisation zur variablen Steuerung der Ionisationszeit eingesetzt wird, eine Regelung zur schnellen Anpassung der Laserpulsenergie entwickelt werden. Die AGC-Scanfunktion für die Laserionisation müsste demzufolge anhand der Prescan-Messung die benötigte Pulsenergie des Lasers bestimmen und regeln, um die Ionenfalle im nachfolgenden Hauptscan optimal zu füllen.

Eine weitere Möglichkeit zur zusätzlichen Steigerung der Empfindlichkeit und der Selektivität des Verfahrens wäre die Aufrüstung des modifizierten Gerätes für die MS/MS-Analyse. In der MS/MS Analytik werden bevorzugt weiche Ionisationsverfahren verwendet, da bei diesen Ionisationstechniken aufgrund der geringeren Fragmentierung nur wenige aber sehr intensive Ionensignale erhalten werden, die ein guter Ausgangspunkt für die MS/MS-Analyse sein können. Da die Laserionisation zu den weichen Ionisationsverfahren gehört und der Fragmentierungsgrad sogar durch Variation der Laserintensität gesteuert werden kann, bringt sie ideale Voraussetzungen für die MS/MS-Analyse mit. Bei der Untersuchung von stark matrixhaltigen Wasserproben mit einem hohen Anteil an Aromaten könnte die erste Trennstufe ( $MS_1$ ) als massenspezifischer „Clean-up“ verwendet werden. Nach einer sich anschließenden stoßinduzierten Fragmentierung von ausgewählten Ionen erfolgt dann die Bestimmung des Analyten über das charakteristische Massenspektrum der Tochterionen oder die Quantifizierung über substanzspezifische Signale. Kommerziell erhältliche Massenspektren-Bibliotheken könnten demzufolge für die Stoffidentifikation verwendet werden, was ebenfalls von Vorteil ist.

#### *4 Zusammenfassung und Ausblick*

Auf Seiten der Ionisation ließen sich sowohl Selektivität als auch Sensitivität durch den Einsatz eines abstimmbaren, d.h. wellenlängenvariablen Lasersystems erhöhen. Diese immer noch kostspieligen und empfindlichen Geräte kommen zwar derzeit für eine routineanalytische Anwendung kaum in Frage, doch lässt die dynamische Entwicklung des Lasermarktes eine baldige Änderung dieser Situation erhoffen. Insbesondere der Einsatz abstimmbarer Festkörper-Lasersysteme (Optische Parametrische Oszillatoren) erscheint hier viel versprechend.

Neben den instrumentellen Weiterentwicklungen steht die Erschließung weiterer Anwendungsgebiete für das entwickelte Verfahren an. Pharmazeutisch und endokrin wirksame Substanzen wurden in diesem Zusammenhang bereits genannt und anhand ausgewählter Beispiele untersucht. Für das Partnerunternehmen von besonderem Interesse ist die Untersuchung von Bodensickerwässern vor Ort. Hierbei kann die Schnelligkeit des laser-massenspektrometrischen Verfahrens in vollem Umfang genutzt werden, indem die Anreicherung simultan an mehreren SPME-Fasern durchgeführt wird, die dann in schneller Folge dem Gerät zur Analyse zugeführt werden.

## 5 Literaturverzeichnis

- [All1995] Allner, B.: *Umweltchemikalien mit endokriner Wirkung*, UBA-Texte **65/95**, 69–76 (Berlin, 1995)
- [Art1990] Arthur C., Pawliszyn J.: *Anal. Chem.* **62**, 2145 (1990)
- [Bal1999] Baltussen E, Sandra P, David F, Cramers C.: *J. Microcolumn Separations* **11**, 737-747 (1999)
- [Bec1992] Becker J.S., Dietze H.J.: *Fres. J. Anal. Chem.*, **334**, 69 (1992)
- [Bel1989] Belardi R., Pawliszyn J.: *Water Pollution Research J. Canada* **24**, 179 (1989)
- [Bel1997] Beltran J., López F.J., Forcada M., Hernández, F. (1997): *Chromatographia*, **44**, 274 (1997)
- [Bel1998] Beltran J., López F.J., Cepria O., Hernandez F.: *J. Chromatogr. A* **808**, 257 (1998)
- [Bla1993] Blau K., Halket J.: *Handbook of Derivatives for Chromatography (2nd ed.)* (Wiley & Sons, New York, 1993)
- [Boe1981a] Boesl U., Neusser H.J., Schlag E.W.: *J. Am. Chem. Soc.* **103**, 5058 (1981)
- [Boe1981b] Boesl U., Neusser H.J., Schlag E.W.: *Chem. Phys.* **55**, 193 (1981)
- [Boe1987] Boesl U.: *Habilitationsschrift*, FB Chemie, Biologie und Geowissenschaften, TU München (1987)
- [Boe1998a] Boesl U., Zimmermann R., Nagel H.: *Analytiker Taschenbuch* **19**, 164-213 (1998)

## 5 Literaturverzeichnis

- [Boe1998b] Boesl U., Nagel H., Schlag E. W, Weickhardt C., Frey R.: *Vehicle Exhaust Emission; Analysis by Laser Mass Spectrometry* (Robert A. Meyers, Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation, John Wiley & Sons, Inc., 1998)
- [Boe2000] Boesl U., Rink J., Zimmermann R., Püffel P.: *VDI-Berichte* **1551**, 85-90 (2000)
- [Boy1994] Boyd-Boland A. A. et al.: *Environmental Science and Technology*, **28**, 569A (1994)
- [Boy1994] Boyd-Boland A. A. et al.: *Environmental Science and Technology*, **28**, 569A (1994)
- [Bru1993] Bruner F.: *Gas Chromatographic Environmental Analysis* (Wiley, New York, 1993)
- [Bru1998] De Bruin L.S., Josephy P.D., Pawliszyn J.B.: *Anal. Chem.* **70**, 1986 (1998)
- [Car1992] Carlsen E., Giwercman A, Keiding N., Shakkebaek N.E.: *Brit. Med. J.* **305**, 609 (1992)
- [Col1993] Colborn T., vom Saal F.S., Soto A.M.: *Environ. Health. Perspect.* **101**, 378 (1993)
- [Col1996] Colborn T., Dumanoski D., Myers J.P.: *Die bedrohte Zukunft – Gefährden wir unsere Fruchtbarkeit und Überlebensfähigkeit?* (Droemer Knauer, München, 1999)
- [Com 2001] Comision of European Communities White Paper Strategy for a Future Chemicals Policy. COM (2001) 88 final **2001**.
- [Cot1994] Cotter R.J.: Time-of-Flight Mass spectrometry: *Instrumentation and Application in Biological Research* (American Chemical Society, Washington DC, 1994)

- [Cra1999a] Cramers C.A et al.: *J. Chromatogr.* **842**, 3-13 (1999)
- [Cra1999b] Cramers C.A et al.: *J. Chromatogr.* **856**, 315-329 (1999)
- [Dug1998] Dugay J., Miège C., Hennion M.C.: *J. Chromatogr. A* **795**, 27 (1998)
- [Eis1996] Eisert R., Levsen K.: *GIT Fachz. Lab.* **6**, 581 (1996).
- [Eis1997] Eisert R., Pawliszyn J.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* **27**, 103 (1997).
- [Eur2000] European Commission DG ENV Towards the Establishment of a Priority List of Substances for Further Evaluation of their Role in Endocrine Disruption. Final Report M0355008/1786Q/10/11/00. BKH Consulting Engineers, Delft, The Netherlands **2000**
- [Fri1999] Fritz, J.S.: *Analytical Solid-Phase Extraction* (Wiley & Sons, New York, 1999)
- [Fri2000] Friedrichs K., Lennartz D.: *LaborPraxis* **9**, 46-48 (2000)
- [Gär1998] GÄRTNER: *Schriftenreihe der Hessischen Landesanstalt für Umwelt* **254**, 59-64, Wiesbaden (1998)
- [Gho1995] Ghosh P.K.: *Ion Traps* (Clarendon Press, Oxford, 1995)
- [Gla1998] Glaeske, G.: *Schriftenreihe der Hessischen Landesanstalt für Umwelt* **254**, 105-109 Wiesbaden (1998)
- [Glo2003] Globig D., Weickhardt C.: *Anal. Bioanal. Chem.* **377**, 1124 (2003)
- [Gro1988] Grotemeyer J., Schlag E.W.: *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **27**, 447 (1988)
- [Gro1993] Grob K.: *Split and splitless injection in capillary gas chromatography: with some remarks on PTV injection* (Hüthig Verlag, Heidelberg, 1993)

## 5 Literaturverzeichnis

- [Gül1997] Gülden, M. et al. (1997): *Substanzen mit endokriner Wirkung in Oberflächengewässern*, Umweltbundesamt Forschungsbericht 102 04 279. UBA-Texte 46/97, Berlin (1997)
- [Har1983] Harrison A.G.: *Chemical Ionization Mass Spectrometry* (CRC Press, Boca Raton Fl, 1983)
- [Har1997] Harries, J. et al.: *Environ.Toxicol. Chem.* **16**, 534–542 (1997)
- [Hay1987] Hayes J.M.: *Chem. Rev.* **87**, 745 (1987)
- [Her1998] Herman, R. L., Kincaid, H.: *Aquaculture* **72**, 165–172 (1998)
- [Hin2001a] Hinshaw J.: *LCGC Europe* **19**, 170–177 (2001)
- [Hin2001b] Hinshaw J.: *LCGC Europe* **19**, 1136–1140 (2001)
- [Hin2001c] Hinshaw J.: *LCGC Europe* **19**, 1198–1203 (2001)
- [Hüb1996] Hübschmann, H. J.: *Handbuch der GC/MS - Grundlagen und Anwendung*, (VCH, Weinheim 1996)
- [Hol1999] Holtey-Weber R., Färber H.A., Schöler H.F: *Vom Wasser* **92**, 1-9 (1999)
- [Hol2001] Holtey-Weber R.: *Multi-Methode zur Bestimmung von endokrin wirksamen Substanzen in Wasser*, Dissertation, Univ. Heidelberg (2001)
- [Hur1980] Hurst G.S., Payne M.G., Kramer S.D., Chen C.H.: *Phys. Today* **9**, 24 (1980)
- [Kalb1998] Kalbfus, W.: *Exposition und Wirkung endokriner Substanzen im aquatischen System*, Wiener Mitteilungen **153**, 33–44 (1998)
- [Kat2002] Kataoka H.: *Anal. Bioanal. Chem.* **373**, 31-45 (2002)
- [Klu1990] Kluge H.J.: *Inst. Phys. Conf. Ser.* **114**, 1 (1990)

- [Kna1979] Knapp D.R.: *Handbook of Analytical Derivatization Reactions* (John Wiley & Sons, New York, 1979)
- [Kol2002] Kolb B.: *Gaschromatographie in Bildern* (Wiley-VCH, Weinheim, 2002)
- [Kuc1999] Kuch H.M., Ballschmiter K.: *Hormonell wirksame Verbindungen in der Umwelt Baden-Wuerttembergs*, Arbeitsbericht Nr. 159 der Akademie für Technikfolgenabschätzung in Baden-Wuerttemberg, Stuttgart (1999)
- [Let1987] Letokhov V.S.: *Laser Photoionization Spectroscopy* (Academic Press, Orlando FL, 1987)
- [Lev1981] Levy D.H.: *Science* **214**, 263 (1981).
- [Lub1985] Lubman D.M, Tembreull R., Sin C.H.: *Anal. Chem.* **57**, 1084 (1985)
- [Lub1990] Lubman D.M. (Ed.): *Laser and Mass Spectrometry* (Oxford University Press, New York, 1990)
- [Mas1996] Mason, C. F.: *Kind und Umwelt* **4**: 95–110 (Zürich 1996)
- [Mei1990a] Meijer G., de Vries M.S., Hunziker H.E, Wendt H.R.: *J. Chem. Phys* **92**, 7625-7632 (1990)
- [Mei1990b] Meijer G., de Vries M.S., Hunziker H.E, Wendt H.R.: *Appl. Phys. B* **51**, 395-403 (1990)
- [Nar2003a] Nardi L.: *J. Chromatogr. A* **1017**, 1-15 (2003)
- [Nar2003b] Nardi L.: *Am. Lab.* **34**, 30-37 (2003)
- [Paw1995] Pawliszyn, J.: *Trends Anal. Chem.*, **14**, 113-122 (1995)

## 5 Literaturverzeichnis

- [Paw1997] Pawliszyn, J.: *Solid phase microextraction: theory and practice* (Wiley-VCH, New York, 1997)
- [Pop1995] Popp P., Kauert A., Kalbitz K.: *GIT Fachz. Lab.* **4**, 325 (1995).
- [Pur1994] Purdom, C. et al.: *J. Chem. Ecol.* **8**, 275–285 (1994)
- [Rob2000] ROBAKOWSKI, H.: *Arzneimittelrückstände und endokrin wirkende Stoffe in der aquatischen Umwelt*, Literaturstudie, Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg, Karlsruhe (2000)
- [Roc1979] Rockwood S., Reilly J.P., Hohla K., Kompa K.L.: *Opt. Commun.* **28**, 175 (1979)
- [Roh1988] Rohlfing E.A.: *22nd Symp. (Intern.) on Combustion / Combustion Institut*, p. 1843 (1988)
- [Sma1977] Smalley R.E., Wharton L., Levy D.H.: *Acc. Chem. Res* **10**, 139 (1977)
- [Son1998] Soni M.H., Baronavski A.P., Mc Elvany S.W.: *Rapid Communication of Mass Spectrometry* **12**, 1635 (1998).
- [Sta1994] Stan H., Herberer T., Linkenhägner M.: *Vom Wasser* **83**, 57-68 (Wiley, Weinheim, 1994)
- [Stu1996] Stumpf M., Ternes T., Haberer K., Baumann W.: *Vom Wasser* **87**, 251-261 (Wiley, Weinheim, 1996)
- [Stu1998] Stumpf, M., Ternes, TH.A., Haberer, K., Baumann, W.: *Vom Wasser* **91**, 291-303 (Wiley, Weinheim, 1998)
- [TEM1985] Tembreull R., Sin C.H., Li P., Pang H.M., Lubman D.M.: *Anal. Chem.* **57**, 1186 (1985)

- [Tem1986] Tembreull R., Lubmann D.M.: *Anal. Chem.* **58**, 1299-1303
- [Tes1998] Teske J., Efer J., Engewald W.: *Chromatographia*, **47**, 35 (1998)
- [Tha1998] Thanner R., Oser H., Grotheer H.H.: *Eur. Mass Spectrom.* **4**, 215 (1998)
- [Thu1998] Thurman E.M., Mills M.S.: *Solid-Phase Extraction: Principles and Practice* (Wiley, New York, 1998)
- [UBA1996] Umweltbundesamt: *Umweltprobleme durch Arzneimittel*, Forschungsbericht 106 041 121, Berlin (1996)
- [Ven1996] Venema A., Jelink J.T.: *J. High Resol. Chromatogr.*, **19**, 234 (1996)
- [Vol1992] Volkering F., Breure A. M., Sterkenburg A., Van Andel, J. G.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **36**, 548-552 (1992)
- [Wei1993] Weickhardt C., Zimmermann R., Boesl U., Schlag E.W.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **7**, 83 (1993)
- [Wei1994a] Weickhardt C., Boesl U., Schlag E.W.: *Anal. Chem.* **66**, 1062 (1994)
- [Wei1994b] Weickhardt C., Zimmermann R., Schramm K.-W., Boesl U., Schlag E.W.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **8**, 381 (1994)
- [Wei1996] Weickhardt C., Moritz F., Grotemeyer J.: *Mass Spectrom. Rev.* **15**, 139 (1996)
- [Wei2002a] Weickhardt C., Tonnie K., Globig D.: *Anal. Chem* **74**, 4861-4867
- [Wey1985] Weyssenhoff H., Selze H.L., Schlag E.W.: *Z. Naturforsch* **40a**, 674-676 (1985)
- [Zan1979] Zandee L., Bernstein R.B.: *J. Chem. Phys.* **71**, 1359 (1979)
- [Zha1994] Zhang Z., Yang M.J., Pawliszyn J.: *Anal. Chem.* **66**, 844A (1994).

## 5 Literaturverzeichnis

- [Zim1994] Zimmermann R., Boesl U. Weickhardt C., Lenoir D., Schramm K.-W., Kettrup A., Schlag E.W.: *Chemosphere* **29**, 1877 (1994)
- [Zim2001] Zimmermann R., Blumenstock M., Schramm K.-W., Kettrup A.: *Environ. Sci. Technol.* **35**, 1019 (2001)

# Anhang

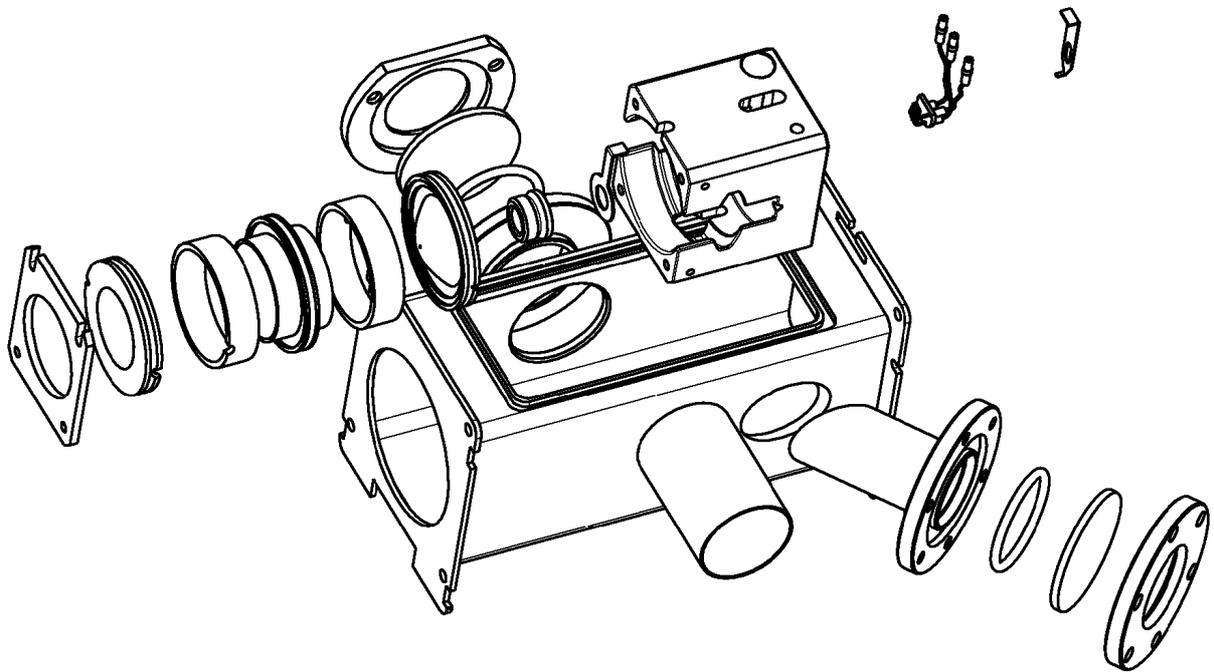
## Anhang A: Verzeichnis der Abkürzungen

Abb.	Abbildung
AGC	engl. Automatic Gain Control (Steuerung der variablen Ionisationszeit)
bidest.	bidestilliert
BPA	Bisphenol A
CEM	engl. Channel Electron Multiplier (Sekundärelektronenvervielfacher für MS)
CI	Chemische Ionisation
DAD	Dioden Array Detektor
DDT	Dichlordiphenyltrichlorethan (1,1,1-Trichlor-2,2-bis(4-chlorphenyl)ethan)
DF	Filmstärke (Kapillarsäule GC)
DIN	Deutsches Institut für Normung
ECD	engl. Electron Capture Detector (Elektroneneinfangdetektor)
EFC	engl. Electronic Flow Control (Elektronische Flußkontrolle)
EI	Elektronenionisation
engl.	Englisch
EPA	Environmental Protection Agency
EWS	Endokrin wirksame Substanzen
FID	Flammenionisationsdetektor
FLD	Fluoreszenzdetektor
GC	Gaschromatograph, -ie
GC/MS	Gaschromatographie/Massenspektrometrie-Kopplung
He 5.0	Helium mit einer Reinheit von 99,9990 %
HPLC	engl. High Performance Liquid Chromatography (Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie)
ID	Innendurchmesser
Kap.	Kapitel
LAMS	Lasermassenspektrometrie
LD	Laserdesorption
LLE	engl. Liquid - Liquid Extraction (Flüssig - Flüssig Extraktion)
m/z	Quotient aus Masse und Ladung eines Ions in amu

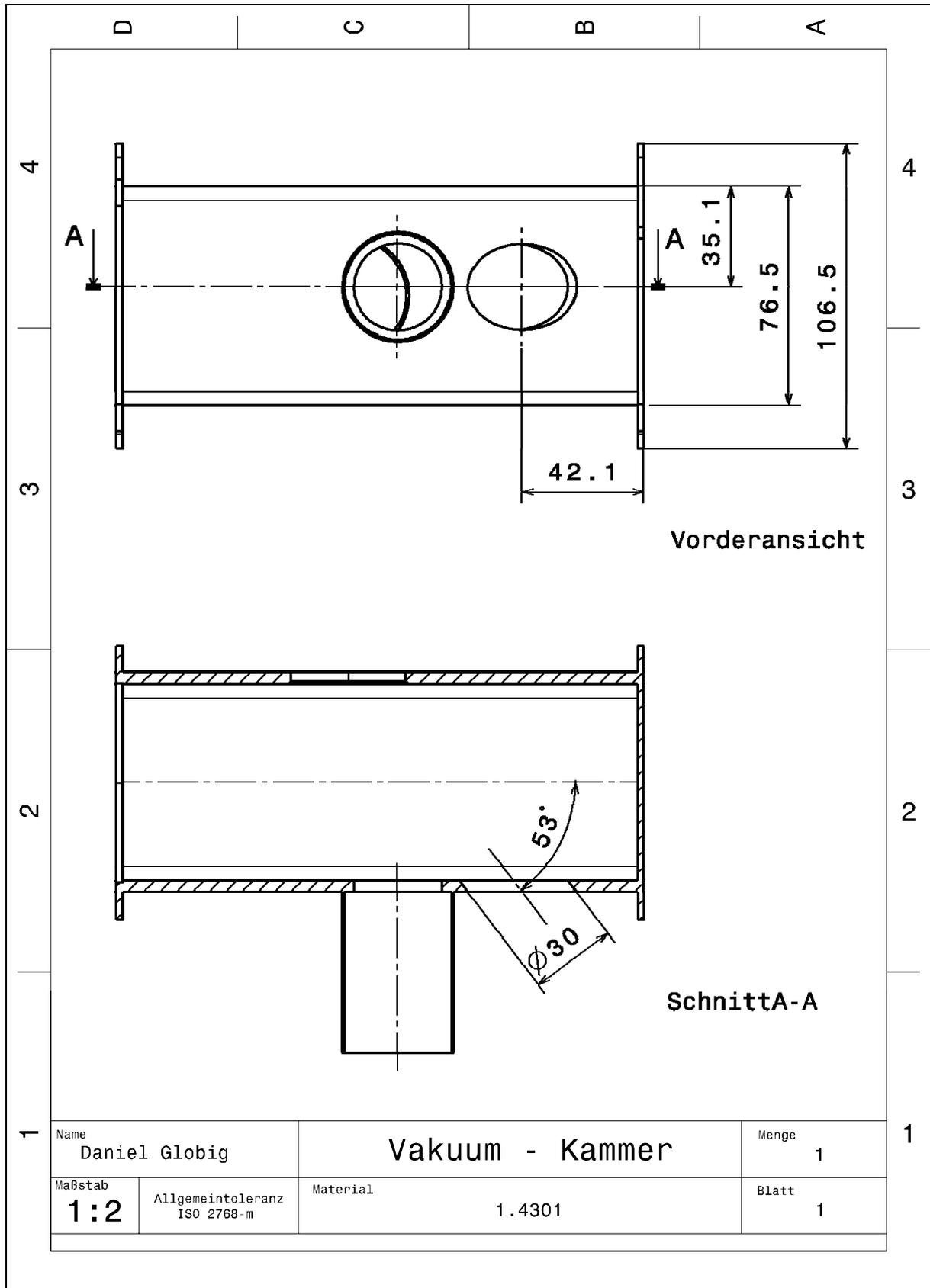
## Anhang

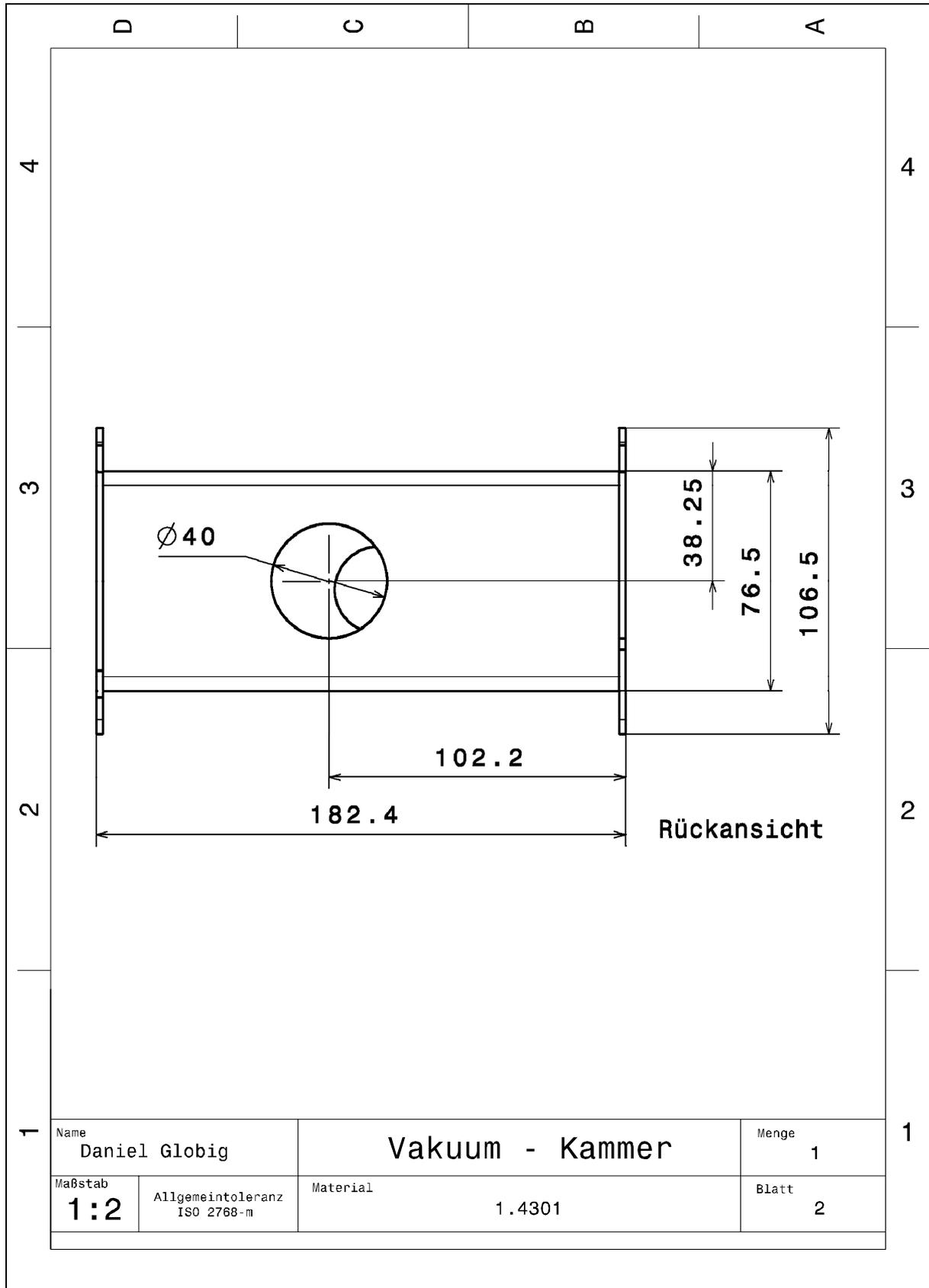
M+	ionisiertes Molekül, Molekülion
(M-x)+	Ion, das durch Verlust einer Masse x aus dem Molekülion entsteht
MS	Massenspektrometer, -trie
MS/MS	Tandem-Massenspektrometrie
Nd:YAG	Neodym: Yttrium Aluminium Granat (Festkörper-Lasermedium)
PAK	Polzyklische Aromatische Kohlenwasserstoffe
PCB	Polychlorierte Biphenyle
PCDD	Polychlorierte Dibenzodioxine
PDMS	Polydimethylsiloxan
PE	Pulsenergie
PI	Photonenionisation
ppt	pars per trillion
QIT	engl. Quadrupol Ion Trap (Quadrupol-Ionenfalle)
R	Korrelationskoeffizient
REMPI	engl. Resonance Enhanced Multi Photon Ionization (resonanzverstärkte Mehrphotonenionisation)
RF-	Radiofrequenz-
SBSE	engl. Stir Bar Sorptive Extraction
sec	Sekunde
SPE	Solid Phase Extraction (Festphasenextraktion)
SPME	Solid Phase Micro Extraction (Festphasenmikroextraktion)
T	Temperatur
t	Zeit
TCB	Trichlorbenzen
TMS-	Trimethylsilyl-
tr.	trocken
TRIAC	engl. Triade Alternating Current Switch (Halbleiterbauelement)
u	unit
UV	Ultraviolett
$\beta$	Massenkonzentration [Masse/Volumen]
$\lambda$	Wellenlänge
$\emptyset$	Durchmesser

**Anhang B: Technische Zeichnungen - Umbau MS-Saturn 2100 T**

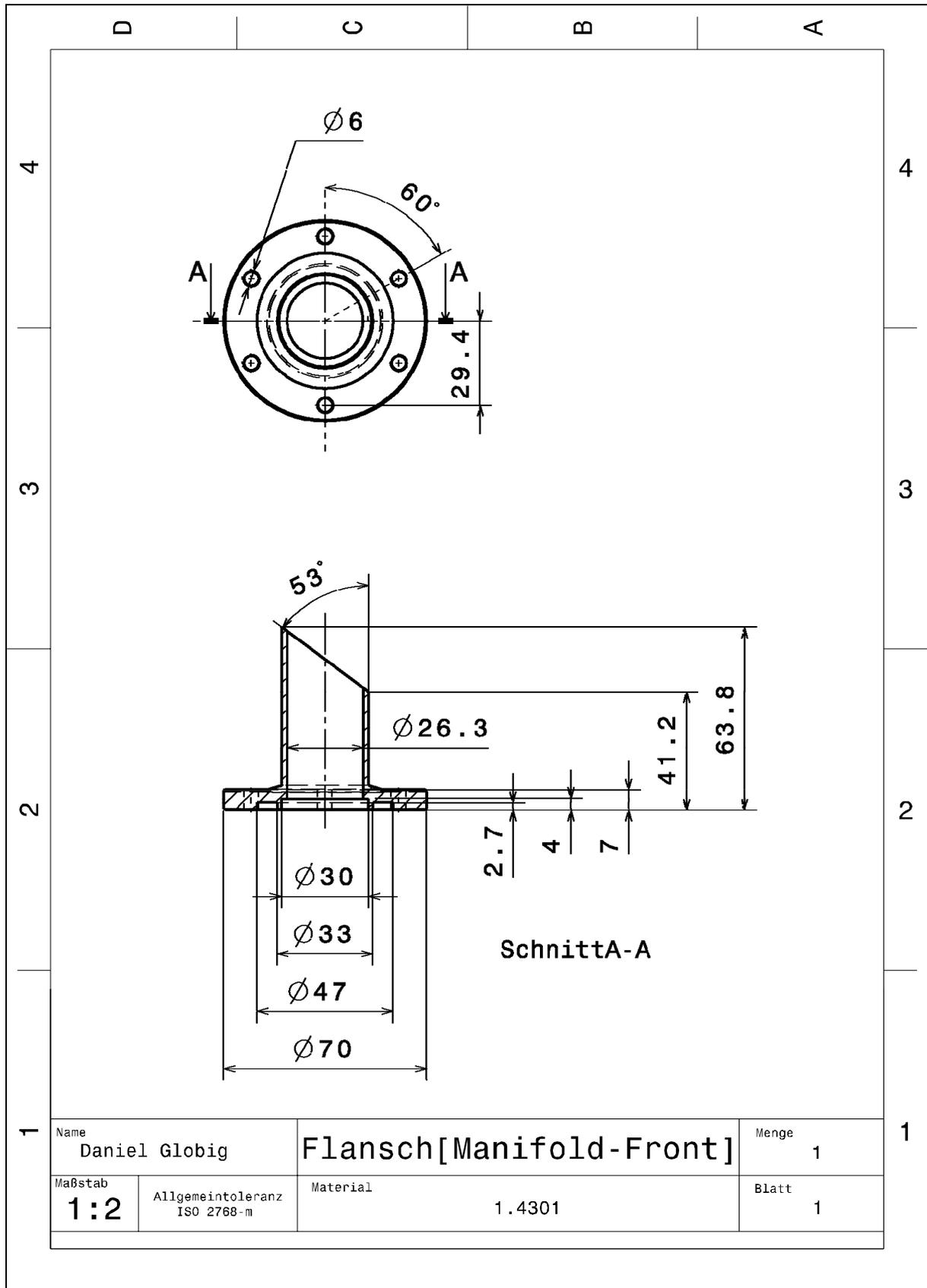


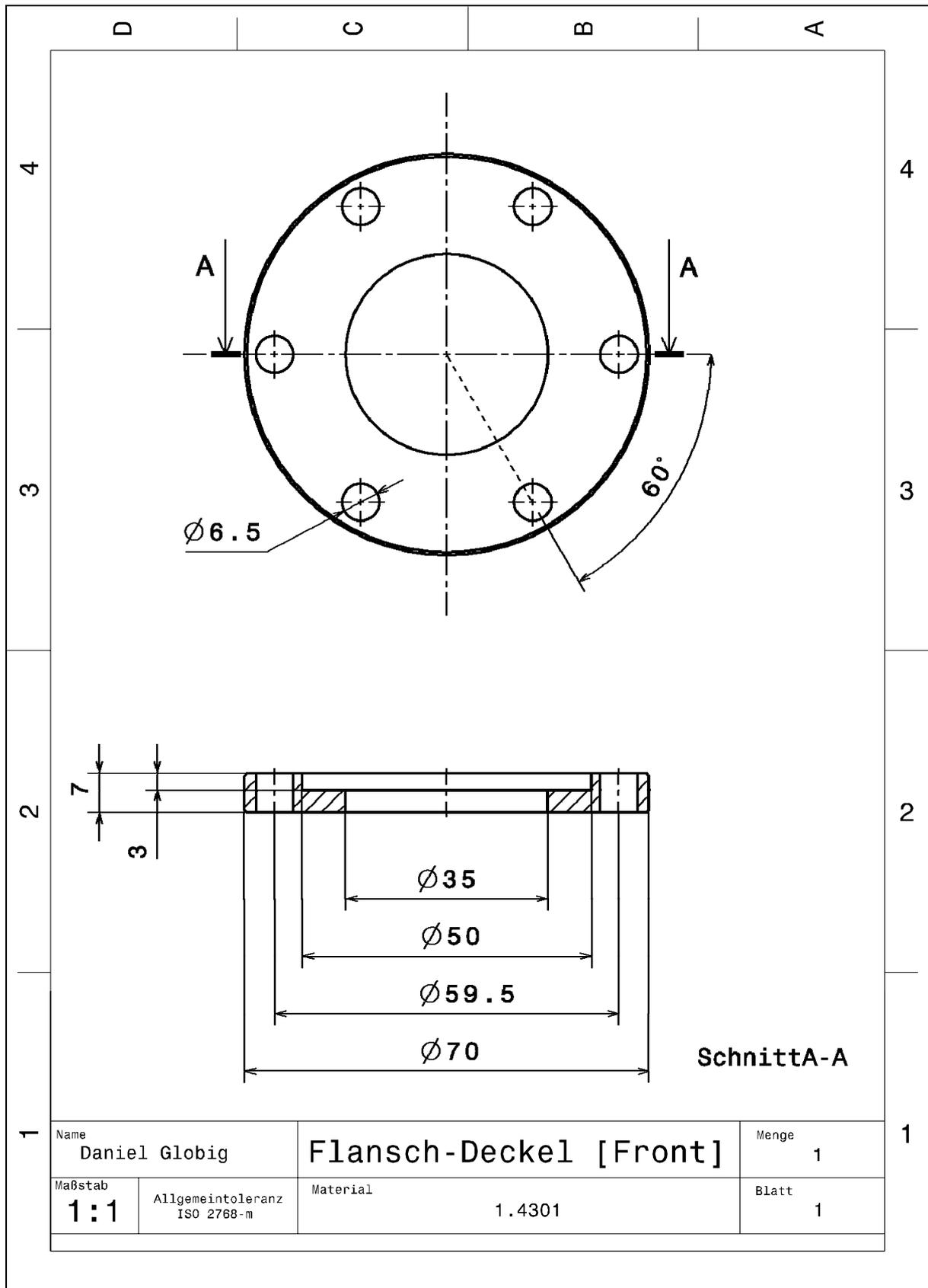
**Anhang B1: Bearbeitung Vakuumkammer (Manifold)**

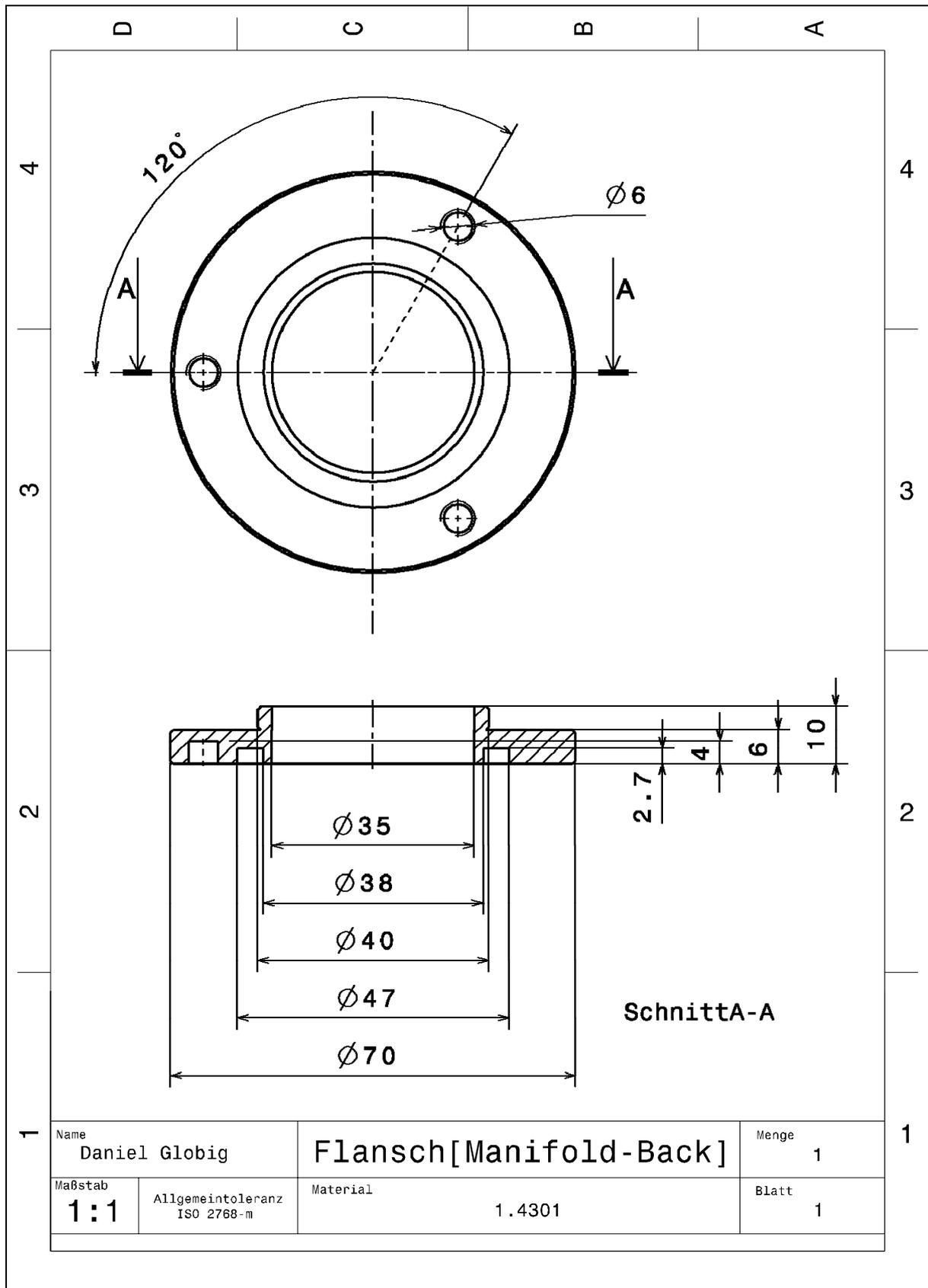


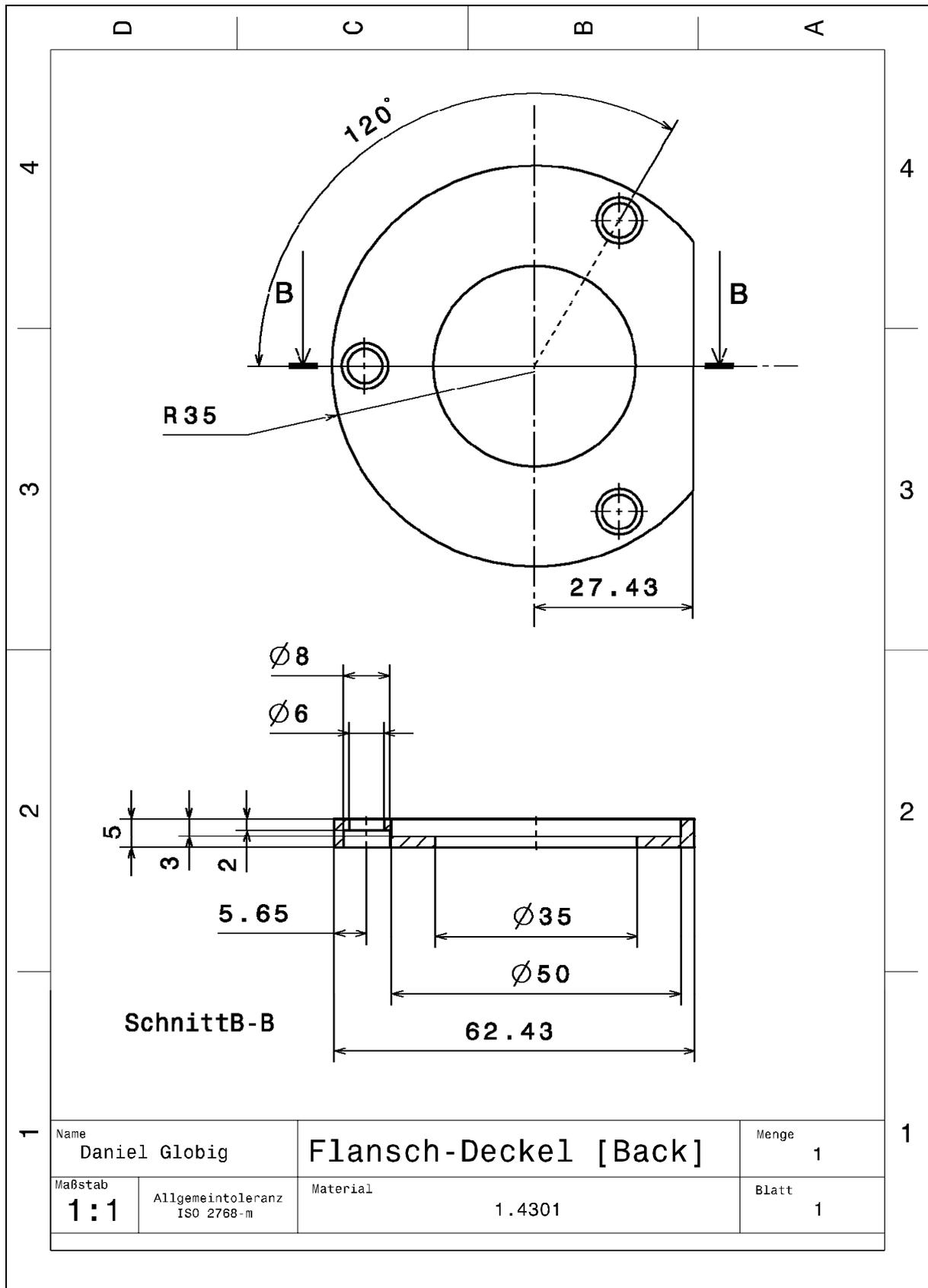


Anhang B2: Konstruktion - Flansche Vakuumkammer

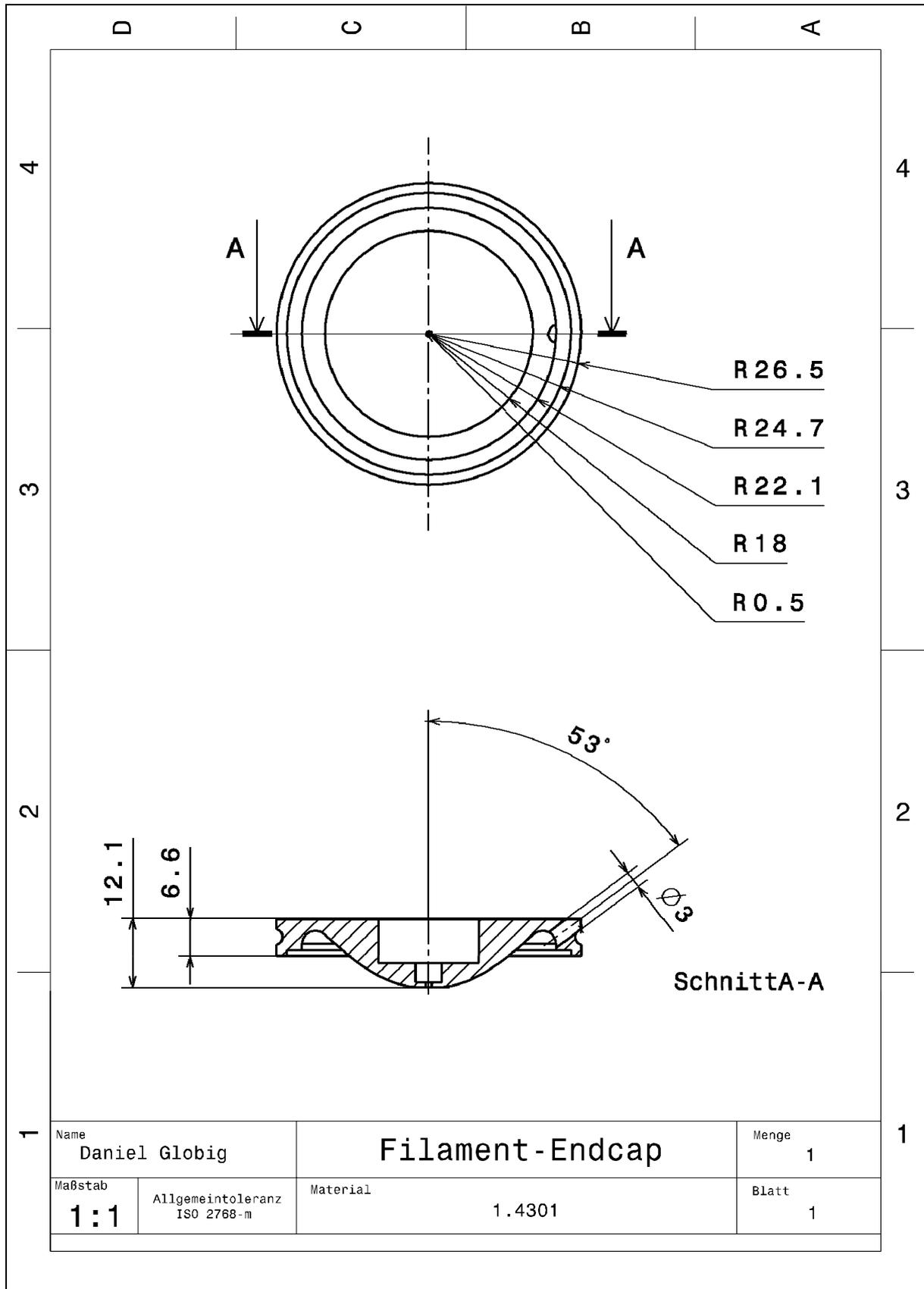


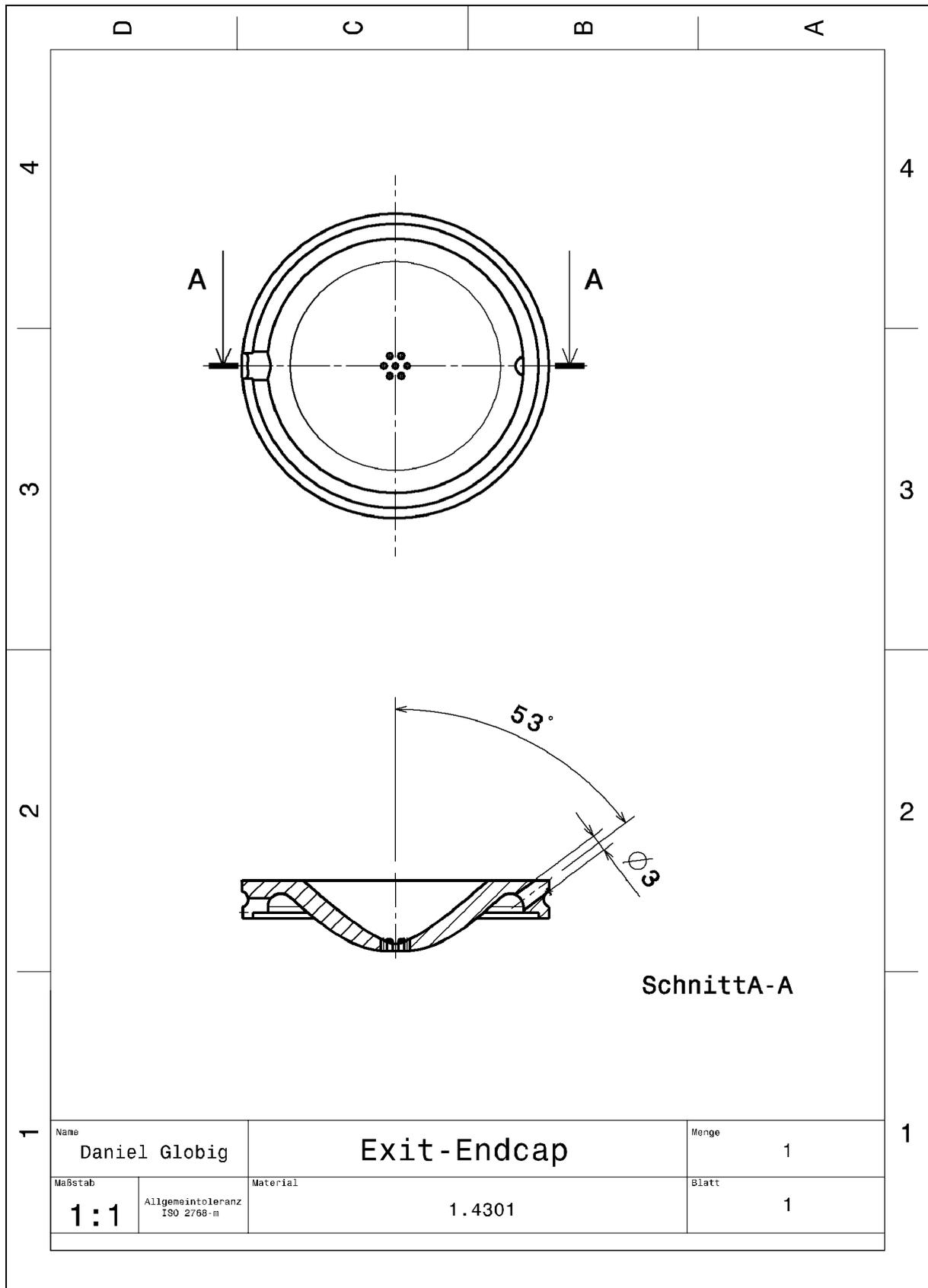






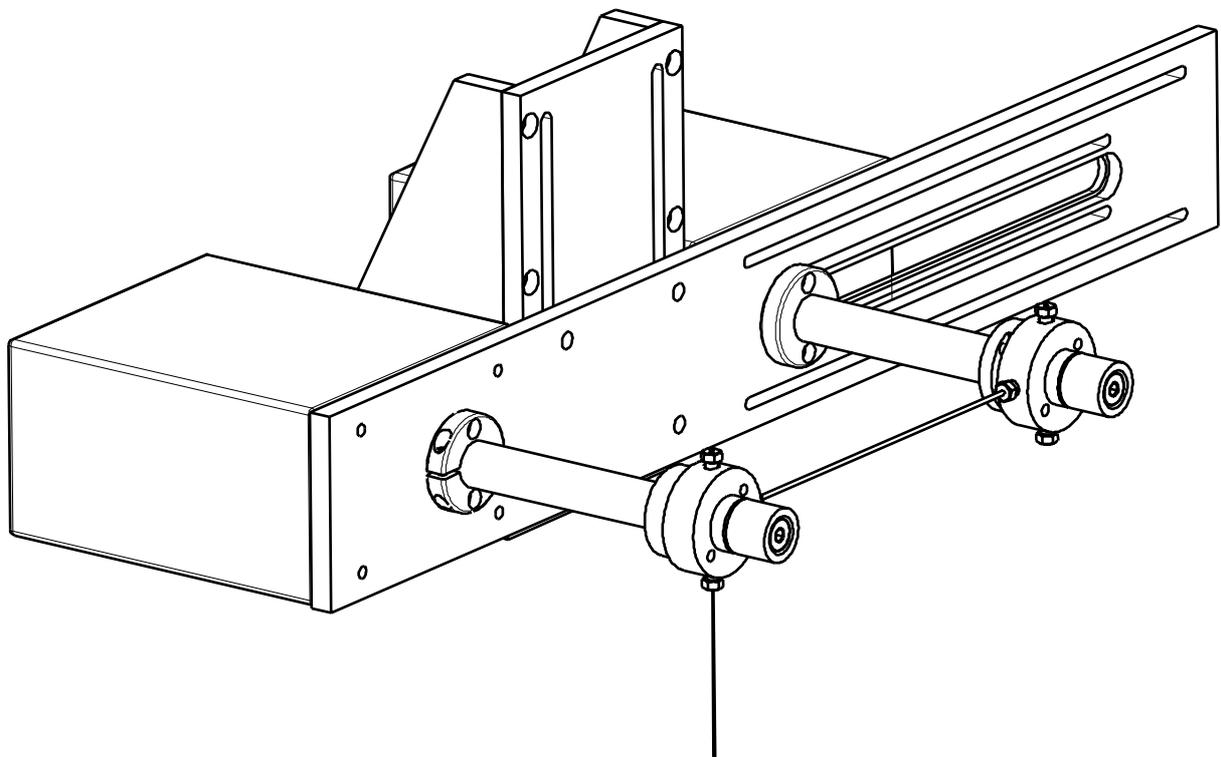
**Anhang B3: Bearbeitung End-Elektroden (Endcaps)**

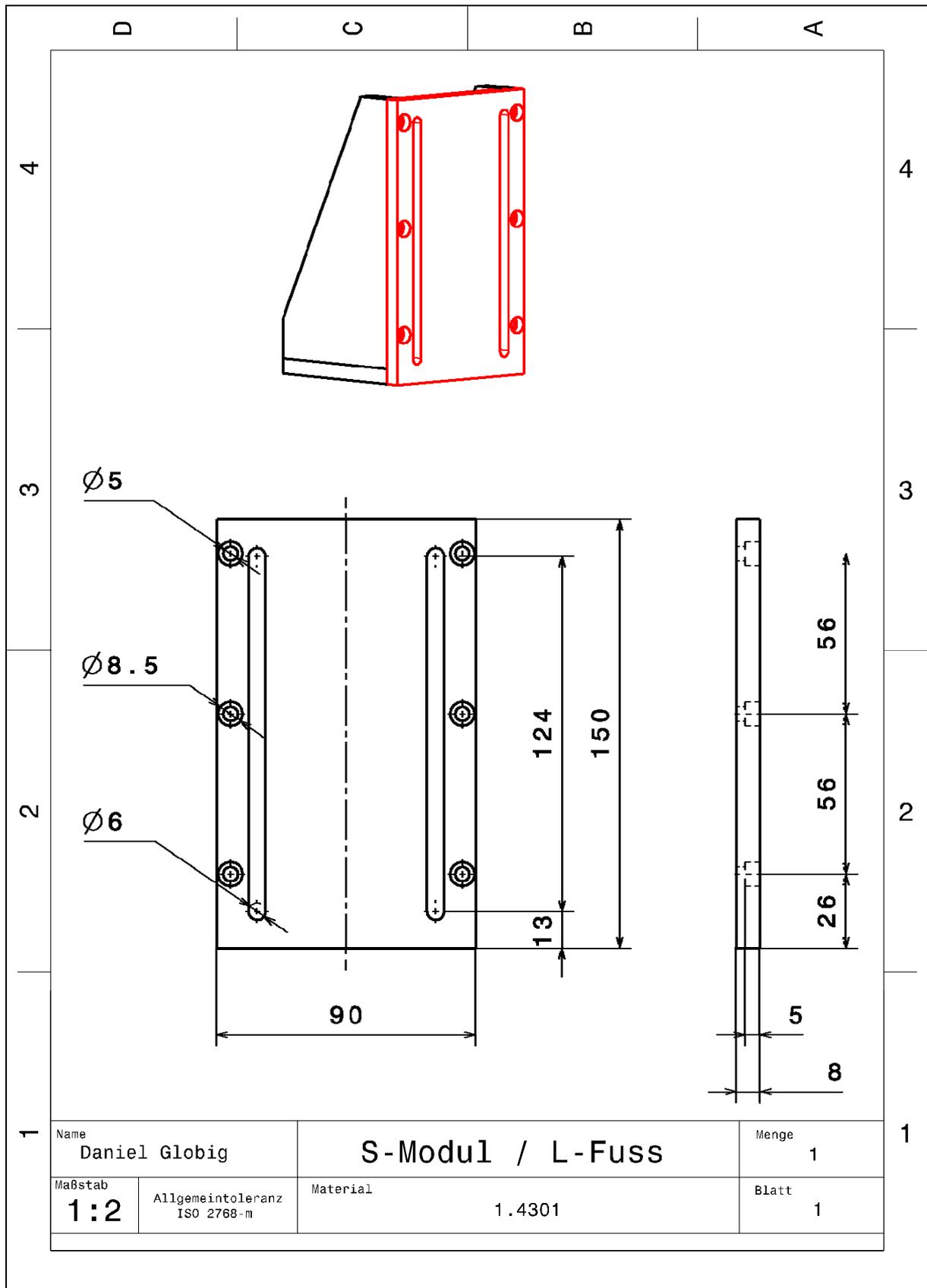


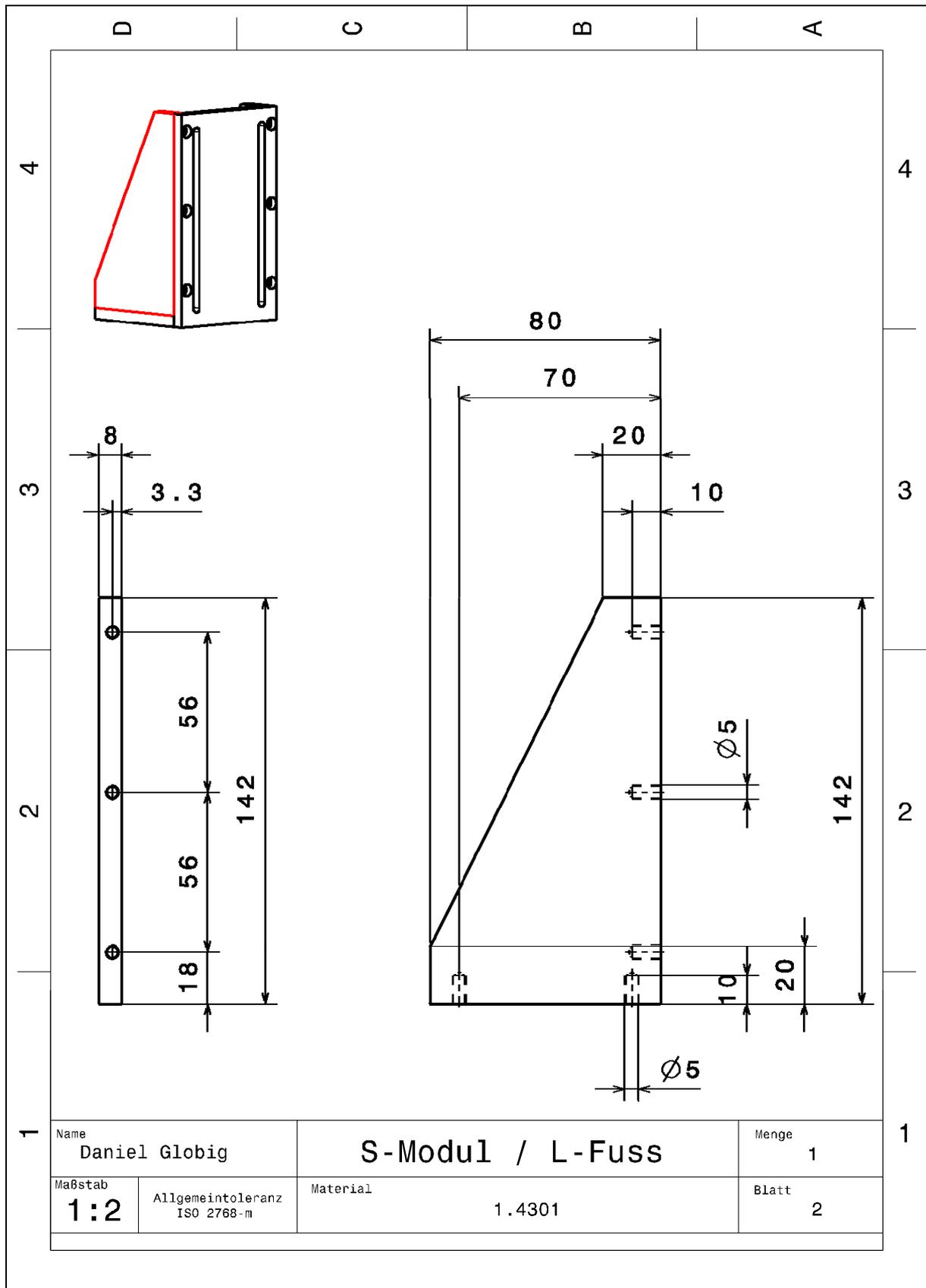


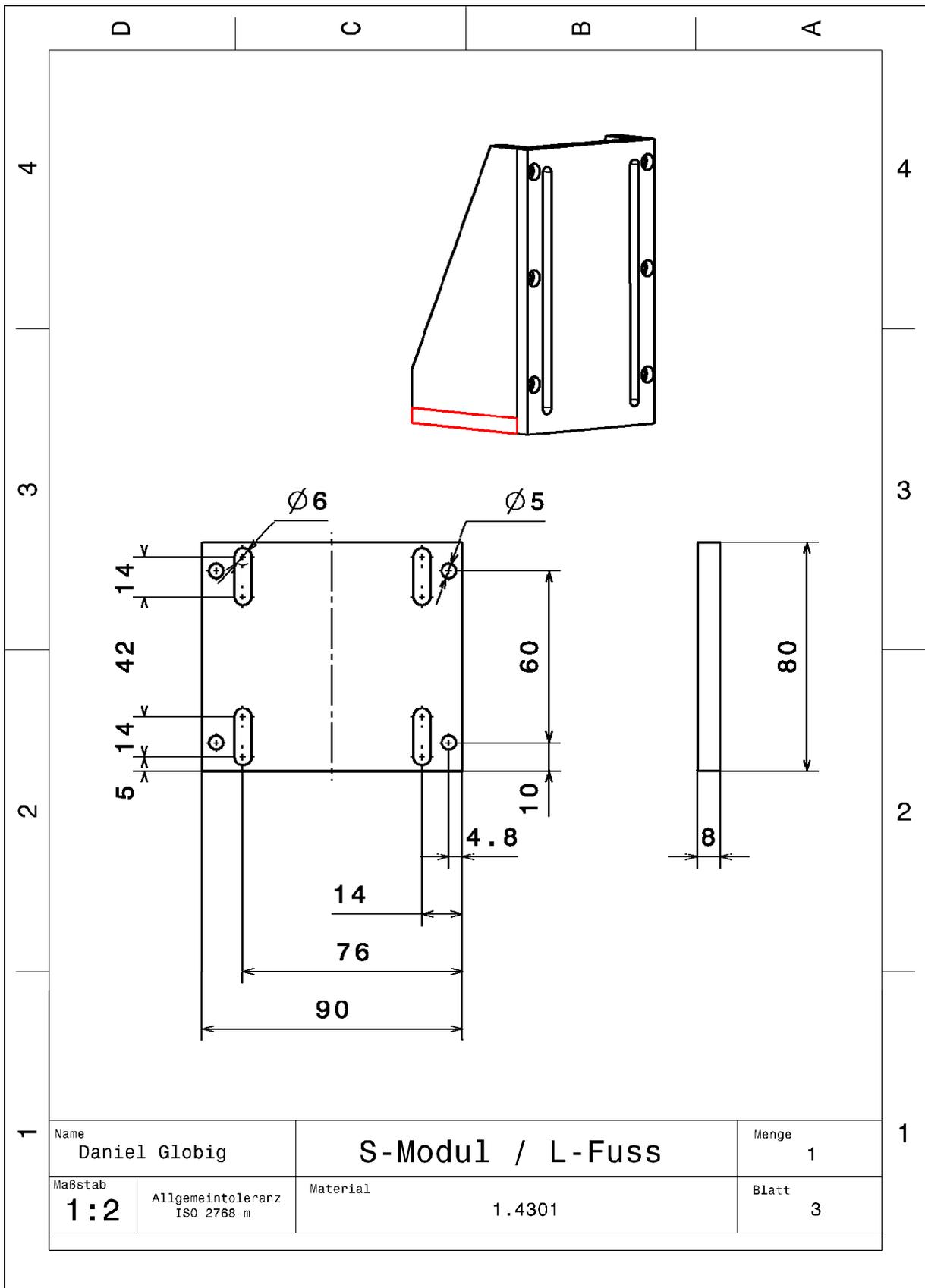
Name Daniel Globig		Exit-Endcap		Menge 1
Maßstab 1:1	Allgemeintoleranz ISO 2768-m	Material 1.4301	Blatt 1	

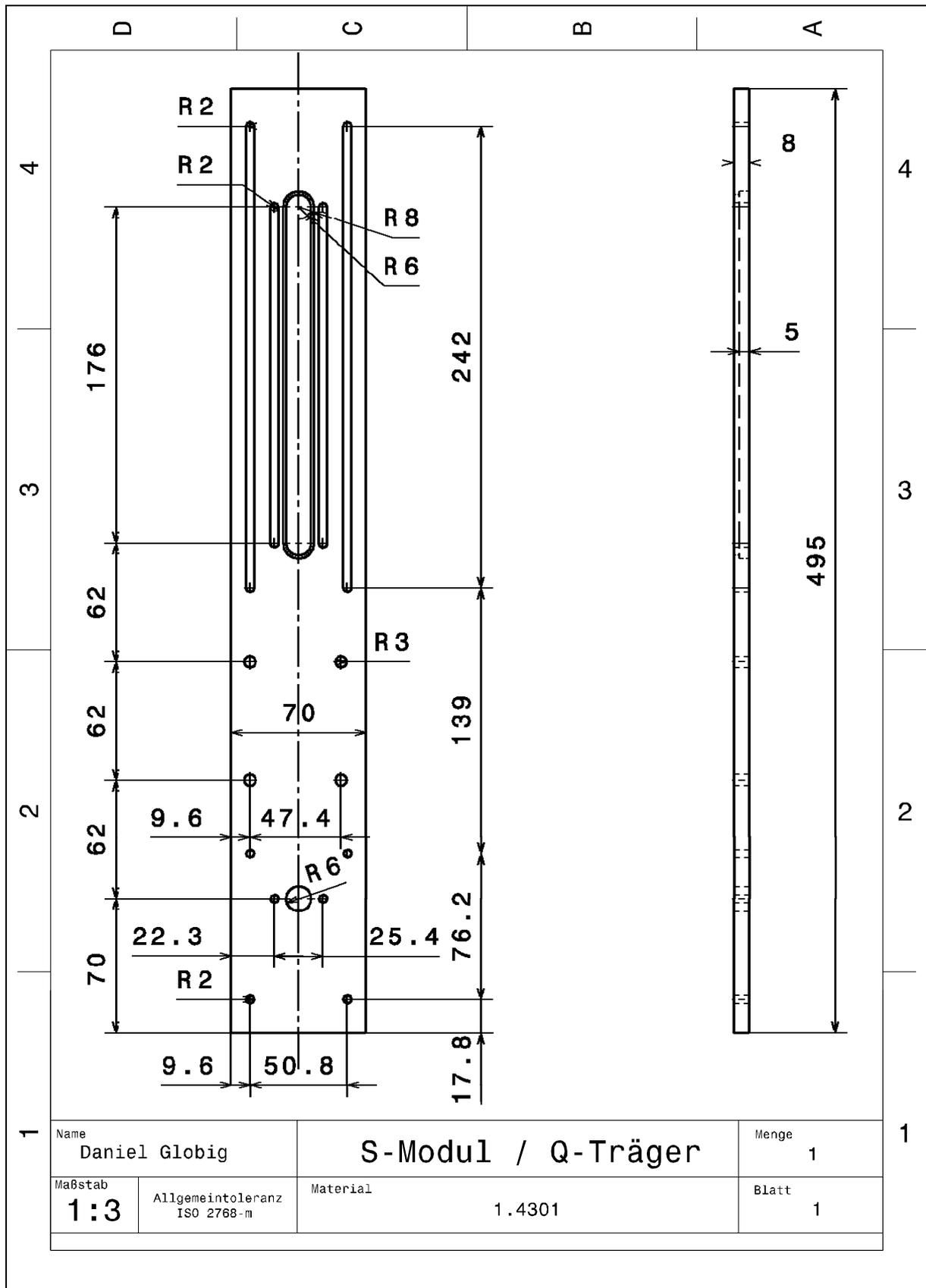
**Anhang C: Technische Zeichnungen - Gestell Schadstoffanreicherung**











## Anhang D: Verzeichnis der Veröffentlichungen

### Zeitschriften:

"Detection and Quantification of Aromatic Contaminants in Water and Soil Samples by Means of Laser Desorption Laser Mass Spectrometry"

C. Weickhardt, K. Tönnies, D. Globig

*Anal. Chem.*, **74**, 4861 (2002)

“Rapid Analysis of Aromatic Contaminants in Water Samples by Means of Laser Ionization Mass Spectrometry”

D. Globig, C. Weickhardt

*Anal. Bioanal. Chem.*, **377**, 1124 (2003)

“Fully automated in-tube solid-phase microextraction for liquid samples coupled to gas chromatography”

D. Globig, C. Weickhardt

*Anal. Bioanal. Chem.*, **377**, 656-659 (2004)

### Poster:

„Analyse aromatischer Schadstoffe in Wasserproben mittels Lasermassenspektrometrie“

D. Globig, K. Tönnies, C. Weickhardt

35. DGMS-Diskussionstagung, 03.03. – 06.03., Heidelberg (2002)

„Schnelle Boden- und Wasseranalytik mittels Lasermassenspektrometrie“

D. Globig, K. Tönnies, C. Weickhardt

36. DGMS-Diskussionstagung, 09.03. – 12.03., Münster (2003)

*Anhang*

„Ionenfallen-Massenspektrometrie gekoppelt mit Laserionisation“

D. Globig, C. Weickhardt

37. DGMS-Diskussionstagung, 07.03. – 10.03., Leipzig (2004)

„Solid Phase Microextraction combined with Multiphoton Ionization Mass Spectrometry in Quadrupole Ion Trap: Fast Analysis of Aromatics in Water“

C. Weickhardt, D. Globig

52<sup>th</sup> ASMS Conference, 23.05 – 27.05., Nashville, TN (2004)

## Anhang E: Lebenslauf

### Persönliche Daten:

Name, Vorname: Globig, Daniel  
Geburtsdatum: 10.07.1975  
Geburtsort: Cottbus

### Schulbildung:

1982 - 1990 6. Polytechnische Oberschule in Cottbus  
1990 - 1992 2. Gesamtschule, Fachoberschulreife mit der Berechtigung  
zum Besuch der gymnasialen Oberstufe  
1992 - 1995 Fürst-Pückler Gymnasium in Cottbus, allg. Hochschulreife

### Wehrdienst:

1995-1996 Panzerbataillon 373 Doberlug - Kirchhain, entlassen als  
Hauptgefreiter der Reserve

### Hochschulausbildung:

1996 - 1997 BTU Cottbus, Informatikstudium  
09/1997 Immatrikulation an der FH-Lausitz in Senftenberg, Studiengang  
Chemieingenieurwesen  
07/1999 Vordiplom  
05/2001 Diplomprüfung, Schwerpunkt- und Vertiefungsfach  
Analytische Chemie

*Anhang*

06/2001 - 02/2002

Diplomarbeit am Lehrstuhl Physikalische Chemie und  
Analytik der Brandenburgischen Technischen Universität  
in Cottbus

seit 03/2002

Technischer Angestellter am Lehrstuhl Physikalische Chemie  
und Analytik der Brandenburgischen Technischen Universität  
in Cottbus