

**Entwicklung eines Extraktions-
und Analysenverfahrens zur
quantitativen Bestimmung des
Gehalts an MCPP und MCPP-Estern in
Polymerbitumen-Abdichtungsbahnen**

T 3366

T 3366

Dieser Forschungsbericht wurde mit modernsten Hochleistungskopierern auf Einzelanfrage hergestellt.

Die in dieser Forschungsarbeit enthaltenen Darstellungen und Empfehlungen geben die fachlichen Auffassungen der Verfasser wieder. Diese werden hier unverändert wiedergegeben, sie geben nicht unbedingt die Meinung des Zuwendungsgebers oder des Herausgebers wieder.

Die Originalmanuskripte wurden reprotechnisch, jedoch nicht inhaltlich überarbeitet. Die Druckqualität hängt von der reprotechnischen Eignung des Originalmanuskriptes ab, das uns vom Autor bzw. von der Forschungsstelle zur Verfügung gestellt wurde.

© by Fraunhofer IRB Verlag

2019

ISBN 978-3-7388-0284-9

Vervielfältigung, auch auszugsweise,
nur mit ausdrücklicher Zustimmung des Verlages.

Fraunhofer IRB Verlag

Fraunhofer-Informationszentrum Raum und Bau

Postfach 80 04 69

70504 Stuttgart

Nobelstraße 12

70569 Stuttgart

Telefon (07 11) 9 70 - 25 00

Telefax (07 11) 9 70 - 25 08

E-Mail irb@irb.fraunhofer.de

www.baufachinformation.de

Fraunhofer-Institut für Bauphysik IBP

Forschung, Entwicklung,
Demonstration und Beratung auf
den Gebieten der Bauphysik

Zulassung neuer Baustoffe,
Bauteile und Bauarten

Bauaufsichtlich anerkannte Stelle für
Prüfung, Überwachung und Zertifizierung

Institutsleitung

Prof. Dr. Philip Leistner
Prof. Dr. Klaus Peter Sedlbauer

IBP-Bericht Nr. UHS-047/2018/282

Entwicklung eines Extraktions- und Analysenverfahrens zur quantitativen Bestimmung des Gehalts an MCPP und MCPP-Estern in Polymerbitumen-Abdichtungsbahnen

Abschlussbericht zum Forschungsvorhaben
P 52-5- 20.95-2021/18

Durchgeführt im Auftrag des
Deutschen Instituts für Bautechnik DIBt
Frau Dr. Kathleen Buller
Kolonnenstraße 30 B
10829 Berlin

Der Bericht umfasst
56 Seiten Text
17 Tabellen
16 Abbildungen

Andreas Schmohl
Sabine Johann

Holzkirchen, 11. Dezember 2018

Gruppenleiterin



M.Sc. Sabine Johann

Bearbeiter



Dr. rer. nat. Andreas Schmohl

Inhalt

1	Zusammenfassung	5
2	Ausgangssituation	7
3	Ziel des Forschungsvorhabens	9
4	Methodik	9
4.1	Untersuchte Dachabdichtungsbahnen und allgemeine Prüfparameter	9
4.2	Stoffnamen, CAS-Nummern und Strukturformeln	10
4.3	Extraktionsverfahren für wurzelhemmende Wirkstoffe aus Bitumendachabdichtungsbahnen zur nachfolgenden Gehaltsbestimmung	11
4.4	Aufbereitung der Extrakte	11
4.5	Chromatografische Analyseverfahren zur Bestimmung von MCPP und MCPP-Estern	11
4.5.1	Instrumentelle Analytik für Mecoprop	11
4.5.2	Instrumentelle Analytik für Mecoprop-Ester	12
4.6	Berechnung des flächenspezifischen Gehalts (FSG)	13
5	Ergebnisse zur Verfahrensentwicklung	15
5.1	Materialproben	15
5.2	Extraktion	15
5.3	Filtration	17
5.4	Verdünnung für UPLC-Analytik	20
5.5	Verdünnung für GC-Analytik	20
5.6	Interner Standard	20
6	Validierung des Gesamtverfahrens	22
6.1	Validierung UPLC-MS/MS (MCPP Racemat)	22
6.1.1	Analytische Kenngrößen UPLC-MS/MS	22
6.2	Validierung GC-MS (MCPP-Ester)	22
6.2.1	Linearität	22
6.2.2	Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze	24
6.2.3	Reproduzierbarkeit der Kalibrierung	26
6.3	Wiederfindung	28
6.4	Robustheit des Gesamtverfahrens	30
6.5	Stabilität der MCPP-Ester in den Extrakten und Lösungen	35
6.5.1	Stabilität in der Stammlösung	35
6.5.2	Stabilität in der verdünnten Isopropanol-Lösung	35

7	Anwendung der Verfahren: Bestimmung des Molverhältnisses MCPPE / MCPPE-Ester in Bitumen-Dachabdichtungsbahnen	37
8	Diskussion und Ausblick	39
9	Literaturverzeichnis	41
A.1	Standardarbeitsanweisungen	44
A.1.1	Extraktionsverfahren zur quantitativen Bestimmung des Gehalts an MCPPE und MCPPE-Estern in Polymerbitumen-Abdichtungsbahnen	44
A.1.2	UPLC-MS/MS-Analysenverfahren zur quantitativen Bestimmung des Gehalts an MCPPE in Polymerbitumen-Abdichtungsbahnen	51
A.1.3	Flüssiginjektion-GC-MS Analysenverfahren zur quantitativen Bestimmung des Gehalts an MCPPE-Estern in Polymerbitumen-Abdichtungsbahnen	52

Abkürzungsverzeichnis:

eFSG	erfasster bzw. ermittelter flächenspezifischer Gehalt in g/m ²
EH-Ester	Mecoprop-P-2-ethylhexylester
FSG	flächenspezifischer Gehalt in g/m ²
GC	Gaschromatografie
GFS	Geringfügigkeitsschwellenwert
IPA	Isopropanol
IS	Interner Standard [= MCPA-(2-ethylhexyl)ester]
LAWA	Bund-/Länderarbeitsgemeinschaft Wasser
LSM	Lösungsmittel
MCPA	4-Chlor-2-methylphenoxyessigsäure
MCPA-EH-Ester	MCPA-2-ethylhexylester [für Wiederfindung]
MCPP	2-(4-Chlor-2-methylphenoxy)propionsäure, Mecoprop
MCPP-P	(R)-(+)-2-(4-Chlor-2-methylphenoxy)propionsäure, Mecoprop-P
Mecoprop	2-(4-Chlor-2-methylphenoxy)propionsäure
MRM	multiple reaction monitoring
MS	Massenspektrometrie
MS/MS	Tandem-Massenspektrometrie
nO-Ester	Mecoprop-P-n-octylester
PSMBP	Pflanzenschutzmittel und Biozidprodukte
R1	1. Robustheitsversuch
R2	2. Robustheitsversuch
R3	3. Robustheitsversuch
Rges	Mittelwert aus R1 bis R3
SAA	Standardarbeitsanweisung
SIM	selected ion monitoring
THF	Tetrahydrofuran
UPLC	Ultrahochleistungs-Flüssigchromatografie

1 Zusammenfassung

In dem Vorhaben wurden ein Verfahren zur Extraktion von MCPP-Estern und MCPP aus Bitumen-Dachabdichtungsbahnen sowie die zugehörigen Analyseverfahren entwickelt, validiert und auf Polymerbitumen-Dachabdichtungsbahnen angewendet.

Die Extraktion der Analyten aus Bitumen-Dachabdichtungsbahnen erfolgte mit Toluol bei Raumtemperatur unter Rühren für 1 bis 3 Stunden. Die Materialproben wurden mit einem Stanzeisen aus den Dachabdichtungsbahnen ausgestanzt. Im Anschluss an das Rühren wurden die Extrakte filtriert und unter Wechsel des Lösungsmittels verdünnt.

MCPP wurde mit einem bereits bewährten Analyseverfahren bestimmt: Bei der UPLC-MS/MS-Analytik liegt die Bestimmungsgrenze mit 1 µl Injektionsvolumen bei 0,3 µg/l; über einen Konzentrationsbereich von 1 bis 200 µg/l kann mit einer linearen Regression gearbeitet werden.

Die Bestimmung der MCPP-Ester erfolgte mittels GC-MS. Die Proben werden flüssig injiziert. Als Analyten wurden zwei MCPP-octylester eingesetzt – MCPP-P-2-ethylhexylester (= EH-Ester) und MCPP-P-n-octylester (= nO-Ester) – weil diese MCPP-Ester häufig in Polymerbitumen-Dachabdichtungsbahnen enthalten sind und auch in den im Vorhaben als Materialproben verwendeten Polymerbitumen-Dachabdichtungsbahnen enthalten waren. Die GC-MS-Analytik weist, wie auch die UPLC-MS/MS-Analytik, eine Bestimmungsgrenze von unter 1 µg/l auf, sofern unterhalb von 1 µg/l kalibriert wird.

Für die Validierung der GC-MS-Analytik sowie des Gesamtverfahrens wurden die Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen ermittelt sowie die Linearität des Analyseverfahrens, die Reproduzierbarkeit der Kalibrierung, die Wiederfindung, die Robustheit des Gesamtverfahrens und die Stabilität der Lösungen getestet. Außerdem erfolgten Untersuchungen an Extrakten zum Einfluss des Filtrierprozesses.

Für die GC-MS-Analytik muss ein quadratisches Regressionsmodell verwendet werden, wenn der Konzentrationsbereich sich über mehr als eine Dekade erstreckt. Im Kalibrierbereich von 1 bis 10 µg/l liegt die Bestimmungsgrenze für den nO-Ester bei 0,8 µg/l und für den EH-Ester bei 0,4 µg/l; dies entspricht einem flächenspezifischen Gehalt von 0,08 bzw. 0,04 g/m² und liegt weit unterhalb des üblichen flächenspezifischen Gehaltes von 10 g/m².

Der Einsatz von MCPA-2-ethylhexylester (MCPA-EH-Ester) als interner Standard für die GC-MS-Analytik der MCPP-Ester hat sich nicht bewährt. Eine externe Kalibrierung genügt für eine zuverlässige Bestimmung der MCPP-Ester.

Die Schwankungen des Messsignals sind beim nO-Ester größer als beim EH-Ester; die instrumentelle Analytik (auch die Kalibrierung) funktioniert beim EH-Ester zuverlässiger und reproduzierbarer. Das Extraktionsverfahren ist dagegen für den nO-Ester robuster: die Mittelwerte aus 12 Injektionen weichen bei den drei Versuchsdurchführungen im Rahmen der Robustheitsprüfung nur um 6 %

ab. Beim EH-Ester liegt die Abweichung innerhalb eines Versuchstages zwar bei nur 5 bis 6 % (beim nO-Ester 7 bis 11 %), die Abweichung zwischen den Versuchstagen liegt jedoch bei 17 %.

Die MCPP-Ester sind sowohl im Toluol-Extrakt als auch in der mit Isopropanol verdünnten Lösung über lange Zeit stabil. Bei einer Lagerung des Extraktes über 28 Tage bei -30 °C, anschließender Verdünnung mit Isopropanol und darauf folgender Lagerung der Isopropanol-Verdünnung über 12 Tage bei Raumtemperatur war keine Abnahme der Ester-Gehalte festzustellen.

Die Wiederfindung von bei der Extraktion zugesetztem (MCPP-)nO-, (MCPP-)EH- und MCPA-EH-Ester liegt für das Gesamtverfahren der Extraktion aus Polymerbitumendachbahnen im Rahmen der Messgenauigkeit bei 100 %.

Mit den validierten Verfahren wurden zwei Bitumen-Dachabdichtungsbahnen auf den Gehalt an MCPP sowie die zwei MCPP-Ester untersucht.

Der Gehalt an MCPP-P-n-octylester in Dachabdichtungsbahn 1 liegt bei etwa 9 g/m² bzw. 1.400 ppm (m/m), der Gehalt an MCPP-P bei 14 mg/m² bzw. 2 ppm. Die Wiederfindung in Bezug auf die Herstellerangabe liegt für den MCPP-P-n-octylester bei 92 ± 5 %. Das Mol-Verhältnis von Carbonsäure zu Ester beträgt 0,3 %; nur ein verschwindend kleiner Teil des Mecoprops liegt somit als freie Carbonsäure vor.

Der Gehalt an MCPP-P-2-ethylhexylester in Dachabdichtungsbahn 2 liegt bei etwa 6 g/m² bzw. 1.000 ppm (m/m), der Gehalt an MCPP-P bei 43 mg/m² bzw. 7 ppm (m/m). Die Wiederfindung in Bezug auf die Herstellerangabe liegt für den MCPP-P-2-ethylhexylester bei 64 ± 13 %. Das Mol-Verhältnis von Carbonsäure zu Ester beträgt 1,1 %; nur ein sehr kleiner Teil des Mecoprops liegt somit als freie Carbonsäure vor.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die MCPP-Ester erst an der Oberfläche oder im Wasser hydrolysieren, nicht jedoch in der Bitumen-Dachabdichtungsbahn selbst.

2 Ausgangssituation

Polymerbitumendachbahnen werden sehr häufig als Dachabdichtung, oft auch in Kombination mit einer Dachbegrünung, eingesetzt. Die Beschädigung der Dachabdichtungsbahn mit Dachbegrünung durch das mit der Zeit erfolgende Wurzelwachstum und das Ausbreiten der Wurzeln im Bitumen wird durch den Einsatz von radiziden Materialschutzmitteln verhindert. Zum Einsatz kommt jedoch nicht der Wirkstoff wie die (R)-(+)-2-(4-Chlor-2-methylphenoxy)propionsäure (Mecoprop-P, MCPP-P) selbst. Vielmehr werden verschiedene Ester der Säuren in die Dachabdichtungsbahn eingearbeitet. Unter der Einwirkung von Feuchtigkeit werden die Ester hydrolytisch gespalten und die Säure wird freigesetzt. Eine Dachabdichtungsbahn gilt als wurzelfest, wenn bei der Prüfung nach [FLL 2008] oder [DIN EN 13948] keine Wurzeldurchdringung festzustellen ist. Die Bestimmung von Wirkstoffkonzentrationen in der Dachabdichtungsbahn erfolgt dabei nicht.

Die Kenntnis der für einen wirksamen Durchwurzelungsschutz minimal erforderlichen Ester-Konzentration sowie deren zeitlicher Entwicklung in einer Bitumendachbahn kann daher für die Hersteller im Rahmen der Produktentwicklung von großem Interesse sein.

Burkhardt et al. postulieren folgende Mechanismen zur Freisetzung von Mecoprop aus Bitumendachbahnen [Burkhardt 2009]:

- Der Ester wird in der Bitumenbahn hydrolysiert und Mecoprop wird ausgewaschen.
- Der Ester wird ausgewaschen; im Wasser kommt es zur hydrolytischen Freisetzung von Mecoprop.

Ein weiterer möglicher Mechanismus ist:

- Der Ester diffundiert an die Phasengrenze Bitumenbahn/Wasser, hydrolysiert an der Oberfläche und Mecoprop löst sich im Wasser.

Eine gewisse Wasserlöslichkeit ist für Biozide zwingend notwendig, damit sie von ihren Zielorganismen aufgenommen werden können. Die Löslichkeiten der freien Säure betragen 620 mg/l (Mecoprop Racemat) bzw. 900 mg/l (Mecoprop-P) in Wasser, die Säure ist somit wesentlich besser löslich als die quasi unlöslichen Ester (Mecoprop-Polyethylenglykolester 110 mg/l, Mecoprop-P-n-octylester und Mecoprop-P-2-ethylhexylester < 0,1mg/l) [ECHA 2016, Gestis 2016, SDB 2012]. Für den Freisetzungsmechanismus, bei dem die Ester mit ablaufendem Regenwasser ausgetragen werden, nennt die ECHA Halbwertszeiten für den Mecoprop-P-n-octylester und den Mecoprop-P-2-ethylhexylester in Wasser bei pH 7 von 4,34 Stunden (Daten für den Mecoprop-Polyethylenglykolester liegen nicht vor) [ECHA 2016].

Seit den 1990er Jahren wird über das Auftreten von Mecoprop in Oberflächengewässern berichtet. Als Quelle für die gefundenen Konzentrationen wird überwiegend die landwirtschaftliche Nutzung Mecoprop-haltiger Produkte angege-

ben [Ivashechkin 2005, Triebskorn 2008]. In der Schweiz konnten bereits im Jahr 1998 neben der Landwirtschaft auch Bauprodukte, im konkreten Fall mit Preventol B2 (Mecoprop-Polyethylenglykolesters) ausgerüstete Dachabdichtungsbahnen, als Quelle für Mecoprop bei der Entwässerung urbaner Flächen identifiziert werden [Bucheli 1998]. Auch [Wittmer 2010] und [Singer 2010] stellten die Bedeutung der Freisetzung von Mecoprop aus Bauprodukten für den Eintrag in Gewässer fest.

Dänische Studien berichten von konstanten Mecoprop-Konzentrationen in der Regenentwässerung von Wohngebieten während eines Regenereignisses [Bollmann 2014a, Bollmann 2014b]. In Deutschland (Stuttgart) fand [Launay 2016] keine jahreszeitlichen Schwankungen der Mecoprop-Konzentrationen im Kläranlagen-Einlauf, dafür aber hohe Konzentrationen in der Mischwasserentlastung bei Starkregenereignissen. In Berlin tritt Mecoprop als relevanter Spurenstoff im Regenablaufwasser selbst in Einzugsgebieten mit geringem Dachanteil auf [Riechel 2015, Wicke 2016]. Die von [Wicke 2016] gefundene Maximalkonzentration betrug 6,9 µg/l, die mittlere Konzentration lag bei 0,51 µg/l. Auch hier wurden konstante Konzentrationen während eines Regenereignisses festgestellt und Bitumendachbahnen aufgrund der Probenahmesituation als Quelle identifiziert.

Die unter Realbedingungen ermittelten Mecoprop-Konzentrationen liegen überwiegend deutlich über der derzeit gültigen Umweltqualitätsnorm für Oberflächengewässer von 0,1 µg/l [OGewV 2016]. Auch der Geringfügigkeitschwellenwert (GFS) der Bund-/Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA) für „einzelne Wirkstoffe in Pflanzenschutzmitteln und Biozidprodukten einschließlich Abbauprodukte“ (PSMBP) liegt bei 0,1 µg/l [LAWA 2017].

Vor diesem Hintergrund stellt sich die Frage, ob der Estergehalt in den Polymerbitumendachbahnen noch weiter reduziert werden kann, ohne gleichzeitig den Durchwurzelungsschutz zu gefährden. Bisherige Erkenntnisse aus Freiland- sowie aus Laborversuchen lassen eine Abnahme der freigesetzten Mecopropmengen mit der Zeit vermuten [Hübner 2018]. Insofern wären Gehaltsbestimmungen an der Witterung ausgesetzten, realen Bitumenbahnen nach z. B. 20 oder 30 Jahren Nutzung von großem Interesse. Nach Herstellerinformationen existiert bislang noch kein einheitliches, validiertes Verfahren, mit dem der Estergehalt für Zwecke der Qualitätssicherung, Produktentwicklung und ggfs. Schadensfallanalytik einer Polymerbitumen-Dachabdichtungsbahn bestimmt werden kann. Auch im Rahmen der CE-Kennzeichnung, für die eine „Declaration of Performance“ hinsichtlich Hygiene und Umweltschutz erforderlich ist, könnte ein solches einheitliches Verfahren Anwendung finden.

3 Ziel des Forschungsvorhabens

Die durchgeführten Arbeiten sollen zu einem robusten Untersuchungsverfahren führen, mit dem der Gehalt an MCPP-Ester und MCPP in der Dachabdichtungsbahn durch Extraktion bestimmt werden kann. Für das vorgeschlagene Untersuchungsverfahren soll:

- ein reproduzierbares, quantitatives Extraktionsverfahren für MCPP und MCPP-Ester erstellt und
- ein chromatografisches Analysenverfahren für MCPP und seine Ester entwickelt werden.

4 Methodik

4.1 Untersuchte Dachabdichtungsbahnen und allgemeine Prüfparameter

Die Untersuchungen erfolgten an zwei Polymerbitumen-Dachabdichtungsbahnen mit einer Stärke von 5,2 mm und einer mit Naturschiefer versehenen Oberfläche. Bei den beiden Dachabdichtungsbahnen handelt es sich um käuflich erwerbbaare Produkte unterschiedlicher Hersteller, die mit zwei unterschiedlichen Mecoprop-Estern ausgerüstet waren. „Dachabdichtungsbahn 1“ enthielt Mecoprop-P-n-octylester (im Folgenden nO-Ester genannt), „Dachabdichtungsbahn 2“ enthielt Mecoprop-P-2-ethylhexylester (im Folgenden EH-Ester genannt). Die Einsatzkonzentrationen lagen jeweils bei ca. 0,3 % Radizid-Produkt bezogen auf den Bitumenanteil der Abdichtungsbahnen. Laut Herstellerangaben wirkstofffreien Bitumen-Dachabdichtungsbahnen wurde im Rahmen des Forschungsvorhabens nicht untersucht.

Der flächenspezifische Gehalt an Mecoprop-P-n-octylester in Dachabdichtungsbahn 1 beträgt laut Hersteller 10 g/m². Bei einer flächenspezifischen Bitumenmasse von etwa 3,6 kg/m² (Herstellerangabe) entspricht dies einem Massenanteil von 0,28 % (m/m) im Bitumen. Der Bitumenanteil liegt bei 55 ± 2 % (m/m) (= flächenspezifische Bitumenmasse / flächenspezifische Gesamtmasse).

Dachabdichtungsbahn 2 enthält laut Hersteller 0,3 % (m/m) Mecoprop-P-2-ethylhexylester in der Bitumenmasse bei einer flächenspezifischen (Gesamt-) Masse von 6,0 ± 0,3 kg/m²; bei einem Bitumenanteil zwischen 55 ± 5 % entspricht dies einem flächenspezifischen Gehalt zwischen 9,9 ± 0,9 g/m².

Für die Gehaltsbestimmung an MCPP-Ester in Polymerbitumen-Dachabdichtungsbahnen wurde Mecoprop-P-n-octylester (aus Dachabdichtungsbahn 1) und Mecoprop-P-2-ethylhexylester (aus Dachabdichtungsbahn 2) mittels eines geeigneten Lösungsmittels extrahiert und für die instrumentelle Analytik aufbereitet. Die instrumentelle Analytik wurde i. d. R. direkt im Anschluss an die Probenvorbereitung durchgeführt und erfolgte mittels Gaschromatografie-Massenspektrometrie (GC-MS; Analyse der MCPP-Ester) bzw. Ultrahochleistungsflüssigchromatografie-Tandem-Massenspektrometrie (UPLC-MS/MS; Analyse von MCPP).

4.2 Stoffnamen, CAS-Nummern und Strukturformeln

In Tabelle 1 sind die CAS-Nummern und Strukturformeln der während des Vorhabens eingesetzten Verbindungen (Carbonsäuren und deren Ester) aufgeführt.

Tabelle 1:
Stoffnamen, CAS-Nummern und Strukturformeln der während des Vorhabens eingesetzten Verbindungen.

Stoffname(n)	CAS-Nummer	Isomerie	Strukturformel(n)
MCPA, m -Chloro- o-methyl- phenoxy- acetic acid	[94-74-6]	(keine Enantio- mere)	
Mecoprop, MCPP, m -Chloro- o-methyl- phenoxy- propionic acid	[93-65-2] [7085-19-0]	Racemat	
Mecoprop-P, MCPP-P, (R)-(+)-Meco- prop, (R)-(+)-MCP	[16484-77-8]	(R)-(+)	
(S)-(-)-Meco- prop, (S)-(-)-MCP	[25333-13-5]	(S)-(-)	
MCPA- 2-ethylhexyl- ester	[29450-45-1]	(keine Enantio- mere)	
Mecoprop-P- 2-ethylhexyl- ester, MCPP-P- 2-ethylhexyl- ester	[861229-15-4]	(R)-(+)	
Mecoprop-P- n-octylester, MCPP-P- n-octylester	[66423-13-0]	(R)-(+)	

4.3 Extraktionsverfahren für wurzelhemmende Wirkstoffe aus Bitumendachabdichtungsbahnen zur nachfolgenden Gehaltsbestimmung

Die Extraktion erfolgt in 500 ml Schraubdeckel-Weithalsflaschen durch Rühren von Materialproben aus Bitumen-Dachabdichtungsbahnen in einem Lösungsmittel. Die Details zur Entwicklung des Extraktionsverfahren sind in Ziffer 5.2 beschrieben.

Die zu untersuchenden Materialproben wurden mit einem Stanzeisen (\varnothing 12 mm) aus den Bitumen-Dachabdichtungsbahnen herausgestanzt. Die Stanzkörper wurden in verschlossenen Plastiktüten im Kühlschrank bei 6 °C gelagert.

In den Vorversuchen wurden folgende Lösungsmittel sowie Lösungsmittelmischungen getestet:

- Tetrahydrofuran (THF)
- THF mit Methanol (75:25, 50:50, 75:25 und 87,5:12,5)
- 3:1-Toluen/Methanol-Mischung
- 3:2:1-Toluen/Methanol/Cyclohexan-Mischung
- Toluol
- 3:1-Toluen/Cyclohexan-Mischung
- Cyclohexan

4.4 Aufbereitung der Extrakte

Nach Abschluss des Rührvorgangs werden die Extrakte mit einem Spritzenaufsatzfilter filtriert, um Partikel und Tröpfchen $> 0,2 \mu\text{m}$ zu entfernen. Anschließend erfolgt eine Verdünnung unter Wechsel des Lösungsmittels.

Für die Bestimmung der Ester (GC-MS) wurde in Vorversuchen die Eignung folgender Lösungsmittel zur Verdünnung untersucht:

- Methanol
- Ethanol
- Isopropanol (= 2-Propanol)

Für die Bestimmung der freien Carbonsäure mittels UPLC-MS/MS ist Methanol für die Verdünnung zu verwenden, da das Lösungsmittel an das Chromatografie-Laufmittel angepasst sein muss.

4.5 Chromatografische Analysenverfahren zur Bestimmung von MCPP und MCPP-Estern

4.5.1 Instrumentelle Analytik für Mecoprop

Zu Beginn des Projektes wurde getestet, ob MCPP mit dem selben analytischen Verfahren (Gaschromatografie) bestimmt werden kann wie die MCPP-Ester. Da diese Tests nicht zufriedenstellend ausfielen, wurde auf ein für MCPP bereits

bewährtes Analysenverfahren zurückgegriffen: das in [Hübner 2018] beschriebene Analysenverfahren mittels UPLC-MS/MS.

Die Bestimmung von Mecoprop (Racemat) erfolgte daher mittels Ultrahochleistungsflüssigchromatografie-Tandem-Massenspektrometrie (UPLC-MS/MS) im MRM-Modus (multiple reaction monitoring) angelehnt an DIN 38407-35 [DIN 38407-35]. Die Gerätekombination bestand aus einer UPLC-Anlage ACQUITY UPLC I-Class und einem Tandem-Massenspektrometer Xevo TQ-S (Waters GmbH, Eschborn). Zur chromatografischen Trennung der Einzelsubstanzen einer Probe kam eine Reversed Phase Trennsäule (ACQUITY UPLC BEH, C18 end-capped, $l = 100$ mm, $\varnothing = 2,1$ mm, Partikeldurchmesser = $1,7 \mu\text{m}$, Waters GmbH, Eschborn) bei einer Temperatur von $40 \text{ }^\circ\text{C}$ zum Einsatz. Als Eluenten wurden Reinstwasser und Methanol, versetzt mit jeweils $0,01 \text{ Vol-\%}$ Ameisensäure, verwendet. Die Laufzeit der chromatografischen Trennung betrug unter Anwendung eines linearen Lösungsmittel-Gradienten (von 90 \% Reinstwasser / 10 \% Methanol auf 2 \% Reinstwasser / 98 \% Methanol) 10 min. Das Injektionsvolumen betrug $1 \mu\text{l}$. Die Identifikation von Mecoprop (Racemat, CAS-Nr. 7085-19-0) fand anhand zweier Massenübergänge statt (ESI-Modus, m/z (Precursor-Ion) = 213 , m/z (Produkt-Ion 1) = 141 , m/z (Produkt-Ion 2) = 71 , siehe z. B. [Frkova 2016]). Die Quantifizierung erfolgte mittels externer Kalibrierung (Kalibrierbereich $1 \mu\text{g/l}$ bis $200 \mu\text{g/l}$ in Methanol).

4.5.2 Instrumentelle Analytik für Mecoprop-Ester

Die Bestimmung von MCPP-Estern erfolgte mittels Gaschromatografie-Massenspektrometrie (GC-MS) im SIM-Modus (selected ion monitoring). Die Gerätekombination bestand aus einem GC-MS-System QP 2010 Ultra (Shimadzu) mit Split/Splitless Injektor und automatischem Probengeber zur Flüssiginjektion (AOC 20i+s). Zur chromatographischen Trennung der Einzelsubstanzen wurde eine niedrigpolare Kapillarsäule (Rxi-XLB, $l = 30$ m, $\varnothing = 0,25$ mm, Filmdicke = $0,25 \mu\text{m}$, Restek AG, Fuldabrück) bei einem Helium-Durchfluss von $1,35 \text{ ml/min}$ eingesetzt. Die chromatographischen Bedingungen waren wie folgt: Starttemperatur $150 \text{ }^\circ\text{C}$ (halten für $1,0$ min), erhöht mit $15 \text{ }^\circ\text{C/min}$ auf $290 \text{ }^\circ\text{C}$, dann auf $320 \text{ }^\circ\text{C}$ mit $20 \text{ }^\circ\text{C/min}$ (halten für $4,0$ min). Die Gesamtzeit des GC-Laufs betrug $15,83$ min. Die Temperaturen von Injektorport, Interface und Ionenquelle wurden auf $200 \text{ }^\circ\text{C}$, $300 \text{ }^\circ\text{C}$ bzw. $230 \text{ }^\circ\text{C}$ eingestellt. Die Analyse wurde im Splitless-Modus unter Verwendung eines Topaz Liner Split mit Glaswolle (Restek AG, Fuldabrück) durchgeführt, das Injektionsvolumen betrug $1 \mu\text{l}$. Die Identifikation von MCPP-Estern fand anhand zweier Qualifier-Ionen statt [1. Mecoprop-P-2-ethylhexylester: CAS-Nr. 861229-15-4, m/z (Target-Ion) = 326 , m/z (Qualifier-Ionen) = 142 und 169 ; 2. Mecoprop-P-n-octylester: CAS-Nr. 66423-13-0, m/z (Target-Ion) = 326 , m/z (Qualifier-Ionen) = 142 und 169]. Die Quantifizierung erfolgte mittels externer Kalibrierung (Kalibrierbereich $25 \mu\text{g/l}$ bis $150 \mu\text{g/l}$ in Isopropanol). Die Konzentration der MCPP-n-octylester-Stammlösung betrug $0,52 \text{ mg/ml}$, die der MCPP-P-2-ethylhexylester-Stammlösung $1,22 \text{ mg/ml}$.

Das Lösungsmittel, das zur Verdünnung der Probe (Ziffer 4.4) verwendet wird und letztlich in das GC-MS-System injiziert wird, kann einen Einfluss auf das

Messergebnis der instrumentellen Analytik haben. Nach der Injektion muss das Lösungsmittel im Liner schnell verdampfen, daher wird ein Lösungsmittel benötigt, das eine geringe Verdampfungsenthalpie aufweist. Außerdem ist ein Lösungsmittel zu bevorzugen, das in der Chromatografie keine zu große Wechselwirkung mit dem Säulenmaterial aufweist, damit der Lösungsmittel-Peak möglichst schnell durch die GC-Säule wandert und damit die Chromatografie der Analyten möglichst wenig beeinflusst. Diese Eigenschaften erfüllen die niederen Alkohole Methanol, Ethanol und Isopropanol.

Mit folgenden Lösungsmitteln wurden in Vorversuchen Kalibrierungen durchgeführt:

- Methanol
- Ethanol
- Isopropanol

4.6 Berechnung des flächenspezifischen Gehalts (FSG)

Aus den ermittelten Konzentrationen in den Probenvials wird der flächenspezifische Gehalt mit der Formel (1) berechnet:

$$FSG \frac{g}{m^2} = c \frac{\mu g}{l} \cdot \frac{V \cdot f_1 \cdot f_2}{n \cdot \frac{\pi}{4} \cdot d^2} \cdot \left[\frac{g \cdot mm^2}{\mu g \cdot m^2} \right] \quad (1)$$

- mit FSG = flächenspezifischer Gehalt
 c = Konzentration der Lösung im Probenvial
 V = Extraktions- bzw. Toluenvolumen in l
 n = Anzahl der Stanzkörper
 d = Durchmesser der Stanzkörper in mm
 f₁ = 1. Verdünnungsfaktor
 f₂ = 2. Verdünnungsfaktor

Die Parameter können zusammengefasst werden zum Umrechnungsfaktor K, der nach Formel (2) berechnet wird:

$$K = \frac{\frac{\pi}{4} \cdot d^2 \cdot n}{V \cdot f_1 \cdot f_2} \cdot \left[\frac{\mu g}{g} \cdot \frac{m^2}{mm^2} \right] \quad (2)$$

- mit K = Umrechnungsfaktor
 d = Durchmesser der Stanzkörper in mm
 n = Anzahl der Stanzkörper
 V = Extraktions- bzw. Toluenvolumen in l
 f₁ = 1. Verdünnungsfaktor
 f₂ = 2. Verdünnungsfaktor

Mit den verwendeten Parametern und der Berechnungsformel (2) ergibt sich für den Umrechnungsfaktor K:

$$K = 11,31 \left[\frac{m^2}{g} \cdot \frac{\mu g}{l} \right] \quad (3)$$

mit K = Umrechnungsfaktor
d = Durchmesser der Stanzkörper = 12 mm
n = Anzahl der Stanzkörper = 2
V = Extraktions- bzw. Toluenvolumen = 0,100 l
f₁ = 1. Verdünnungsfaktor = 20
f₂ = 2. Verdünnungsfaktor = 10

Unter Verwendung des mit Formel (2) berechneten Umrechnungsfaktors K (3) vereinfacht sich Formel (1) zu Formel (4):

$$FSG \frac{g}{m^2} = c \frac{\mu g}{l} \cdot \frac{1}{K} \quad (4)$$

Mit den verwendeten Parametern wird die Umrechnungsformel (5) erhalten:

$$FSG \frac{g}{m^2} = c \frac{\mu g}{l} \cdot \frac{1}{11,31} \left[\frac{l}{\mu g} \cdot \frac{g}{m^2} \right] \quad (5)$$

Die erwartete Konzentration c wird aus der FSG mit Formel (6) berechnet:

$$c \frac{\mu g}{l} = FSG \frac{g}{m^2} \cdot 11,31 \left[\frac{m^2}{g} \cdot \frac{\mu g}{l} \right] \quad (6)$$

5 Ergebnisse zur Verfahrensentwicklung

5.1 Materialproben

Für die Extraktion der Materialproben wurden je Ansatz zwei Stanzkörper mit einem Durchmesser von 12 mm eingesetzt, dies entspricht einer Fläche von $2,26 \text{ cm}^2$. Da die Entwicklung des Verfahrens im Vordergrund stand, wurden die Stanzkörper von nahe beieinander liegenden Stellen entnommen. Das Probengewicht lag bei Dachabdichtungsbahn 1 bei $1,52 \pm 0,08 \text{ g}$ und bei Dachabdichtungsbahn 2 bei $1,43 \pm 0,08 \text{ g}$. Dies entspricht einem Flächengewicht von $6,7 \pm 0,3 \text{ kg/m}^2$ (Dachabdichtungsbahn 1) bzw. $6,3 \pm 0,3 \text{ kg/m}^2$ (Dachabdichtungsbahn 2).

Die Masse eines Stücks der Dachabdichtungsbahn 1 mit einer Fläche von $9,8 \text{ cm} \times 3,6 \text{ cm} = 35,3 \pm 1,0 \text{ cm}^2$ betrug $22,74 \text{ g}$, dies entspricht $6,4 \pm 0,2 \text{ kg/m}^2$.

Der Fehler durch unterschiedlich große bzw. schwere Stanzkörper liegt im Bereich von etwa 5 %. Um diesen Fehler weitgehend herauszumitteln, wurden für jede zu untersuchende Bitumen-Dachabdichtungsbahn mehrere Stanzkörper pro Extraktionsflasche bzw. Ansatz eingesetzt. Bei einem Durchmesser von 12 mm sind 2 Stanzkörper geeignet, bei einem Durchmesser von 8 mm 4 oder 5 Stanzkörper pro Ansatz. Außerdem erfolgte eine Doppelbestimmung, es wurden also je zu untersuchender Bitumen-Dachabdichtungsbahn zwei Extraktionen durchgeführt, im Folgenden Ansatz A und Ansatz B genannt.

5.2 Extraktion

Die Vorversuche zur Auswahl eines geeigneten Extraktionsmittels ergaben folgende Resultate:

- 3:1-Toluen/Cyclohexan-Mischung
Mit diesem Extraktionsmittel konnten die höchsten Esterkonzentrationen im Extrakt erhalten werden.
- Toluen
Mit Toluen wurde unter gleichen Extraktionsbedingungen etwa 89 % der Ausbeute der 3:1-Toluen/Cyclohexan-Mischung erhalten. Die geringere Ausbeute kann durch geeignete Extraktionsbedingungen (längere Extraktionszeit und höheres Volumen/Masse-Verhältnis) kompensiert werden.
- 3:1-Toluen/Methanol-Mischung
Mit der Toluen/Methanol-Mischung wurden unter gleichen Extraktionsbedingungen etwa 74 % der Ausbeute der 3:1-Toluen/Cyclohexan-Mischung erhalten. Ein großer Teil der Bitumenbestandteile löst sich nicht in Methanol. Dies zeigt sich auch bei der Verdünnung des Toluenextraktes mit Methanol, bei der i. d. R. eine Trübung erfolgt.
- 3:2:1-Toluen/Methanol/Cyclohexan-Mischung
Mit der Toluen/Methanol/Cyclohexan-Mischung wurden unter gleichen Extraktionsbedingungen nur etwa 50 % der Ausbeute der 3:1-Toluen/Cyclohexan-Mischung erhalten. Die Kombination von Lösungs-

mitteln mit sehr unterschiedlicher Polarität führt zu keiner Verbesserung des Extraktionsvermögens.

- Tetrahydrofuran (THF)
THF löst sehr viele Kunststoffe und andere Stoffe. Dadurch ist die Gefahr von Verunreinigungen erhöht. Des Weiteren neigt THF als Ether zur Bildung von gefährlichen Peroxiden. Da zudem mit THF bei gleichen Extraktionsbedingungen nur 37 % der Ausbeute der 3:1-Toluol/Cyclohexan-Mischung erhalten wurde, ist THF für die Extraktion der Bitumen-Dachabdichtungsbahnen als wenig geeignet einzustufen.
- Cyclohexan
In Cyclohexan löst sich Bitumen nicht auf. Pures Cyclohexan ist daher kein geeignetes Extraktionsmittel. Erst die Kombination mit Toluol ergibt ein gutes Extraktionsmittel für Bitumen.
- THF mit Methanol (75:25, 50:50, 75:25 und 87,5:12,5)
Auch eine Mischung aus THF und Methanol mit hohem THF-Anteil (>75 %) kann als Extraktionsmittel verwendet werden, wenn das Volumen/Masse-Verhältnis hoch genug gewählt wird und die Extraktionszeit lang genug ist. Die THF-Methanol-Mischung hat im Rahmen dieses Vorhabens jedoch gegenüber Toluol keine Vorteile (da keine Mischbarkeit des Extraktionsmittels mit Wasser erforderlich ist).

Aufgrund der Ergebnisse der Vortests und pragmatischer Überlegungen (möglichst effektives und zugleich effizientes Verfahren) wurden alle weiteren Versuche mit purem Toluol als Extraktionsmittel durchgeführt.

Die Extraktion der Materialproben erfolgt durch Rühren in einem Extraktionsmittel (Bild 1). Je zu untersuchender Dachabdichtungsbahn werden zwei 500 ml Flaschen (aus Weißglas) mit Weithals-Schraubdeckel benötigt.

Die Flaschen werden mit A und B gekennzeichnet (Ansatz A und B; siehe Ziffer 5.1 letzter Absatz). In jede Flasche werden mit einer 100 ml Vollpipette 100 ml Toluol vorgelegt. Nach Zugabe eines Rührfisches (20 mm) sowie der Stanzkörper werden die Flaschen mit dem Schraubdeckel verschlossen und die Mischungen auf einem Mehrfach-Magnetrührer bei 400 U/min 1 bis 3 h lang bei Zimmertemperatur (ca. 22 °C) gerührt.

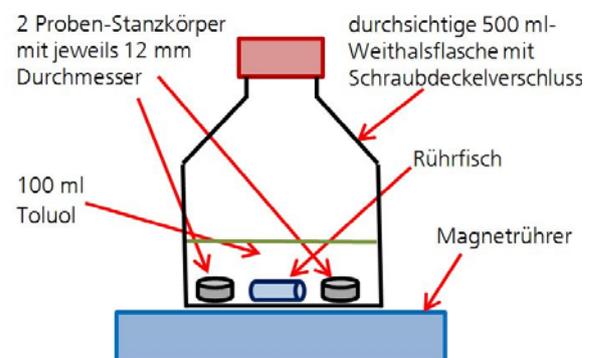


Bild 1:
Extraktion der Proben-Stanzkörper in Toluol unter Rühren mit 400 U/min bei Zimmertemperatur. Links: Foto. Rechts: schematisch.

5.3 Filtration

Nach Abschluss des Rührvorgangs wurden die Extrakte mit einem Spritzenaufsatzfilter (regenerierte Cellulose; Porengröße 0,2 µm) filtriert, um Partikel und Tröpfchen > 0,2 µm zu entfernen.

Da die Filtration potenziell fehleranfällig ist, wurden aus jedem Ansatz bzw. aus jeder Extraktionsflasche 2 Extrakt-Proben entnommen und separat filtriert. Aus den zwei Ansätzen werden somit insgesamt vier Extrakte entnommen:

- Ansatz A: Extrakt A1 und A2 aus Flasche A
- Ansatz B: Extrakt B1 und B2 aus Flasche B

Prüfung des Filtrationsvorgangs:

Um zu überprüfen, ob durch den Filtrationsvorgang Verluste auftreten, wurden Lösungen mit vier verschiedenen Konzentrationen angesetzt (Stufe 1 bis 4 in Tabelle 2). Zwischen jeder Stufe ist die Konzentration um den Faktor 3 erhöht. Die eingesetzten Konzentrationen entsprechen bei einer Gesamtstanzkörperfläche von 2,26 cm² und bei einem Toluenvolumen von 100 ml einem bestimmten flächenspezifischen Gehalt in g/m², dieser ist ebenfalls in der Tabelle 2 aufgeführt (FSG genannt). Bitumen-Dachabdichtungsbahnen weisen i. d. R. einen FSG zwischen Stufe 3 und 4 auf.

Tabelle 2:

Verwendete Konzentrationen für den Filtrationstest. FSG = flächenspezifischer Gehalt in g/m² (nach Formel (1) mit $f_1 = 1$ und $f_2 = 1$ berechnet).

Stufe	EH-Ester		nO-Ester	
	Konz. [mg/l]	FSG [g/m ²]	Konz. [mg/l]	FSG [g/m ²]
1	2,0	0,9	1,9	0,8
2	6,0	2,7	5,8	2,5
3	18,0	8,0	17,2	7,6
4	54,0	23,9	51,8	22,9

Aus den filtrierten Lösungen (Stufe 1 bis 4) wurden jeweils Verdünnungsreihen angesetzt. Die Konzentration an EH-Ester in den analysierten Lösungen ist in Tabelle 3 aufgeführt. Die Konzentrationen der nO-Ester sind jeweils um 4,2 % geringer. Die kleinste mit Stufe 4 hergestellte Konzentration war 13,5 µg/l (bzw. 12,9 µg/l).

Tabelle 3:

Matrix A1 bis E4: EH-Ester-Konzentrationen der angesetzten Verdünnungen aus den filtrierten Lösungen der Stufe 1 bis 4 für den Vergleich der filtrierten Lösungen. (Die nO-Ester-Konz. sind jeweils um 4,2 % geringer.)

Stufe	A c [$\mu\text{g/l}$]	B c [$\mu\text{g/l}$]	C c [$\mu\text{g/l}$]	D c [$\mu\text{g/l}$]	E c [$\mu\text{g/l}$]
1	9,0	13,5	27,0	80,0	-
2	9,0	13,5	27,0	80,0	200
3	9,0	13,5	27,0	80,0	200
4	-	13,5	27,0	80,0	200

In Bild 2 sind die Peakflächen aller 18 analysierten Lösungen (Matrix A1 bis E4) aus Tabelle 3 gegen die berechneten Konzentrationen, sowie jeweils eine lineare und eine quadratische Fitfunktion aufgetragen. Die verwendeten Fitfunktionen (linear und quadratisch; bzgl. Linearität siehe Ziffer 6.2.1) für die beiden Ester sind in Tabelle 4 aufgeführt.

Tabelle 4:

In Bild 2 und 3 verwendete lineare und quadratische Fitfunktionen für den EH-Ester und den nO-Ester.

Fitfunktion	EH-Ester	nO-Ester
linear	$f(c) = 790 c$	$f(c) = 840 c$
quadratisch	$f(c) = 1.500 + 690 c + 0,5 c^2$	$f(c) = 1.500 + 710 c + 0,7 c^2$

Bis auf B4 liegen alle Messpunkte in Bild 2 auf derselben quadratischen Fitfunktion. Bild 3 zeigt die Daten in logarithmischer Darstellung mit linearer und quadratischer Fitfunktion. Die Abweichung nach oben bei B4 (Bild 3) erklärt sich aus dem höheren Volumenfehler bei der Zudosierung von 5 μl mit einer 100 μl Pipette.

Weder bei hohen Konzentrationen im Filtrat (Stufe 4) noch bei niedrigen (Stufe 1) treten größere Abweichungen nach unten auf. Die Messwerte der Stufe 1 weisen besonders geringe Abweichungen von der Fitfunktion auf (schwarze Kreise in Bild 2 und Bild 3). Es gibt somit keinen Hinweis auf Verluste durch den Filtrationsvorgang.

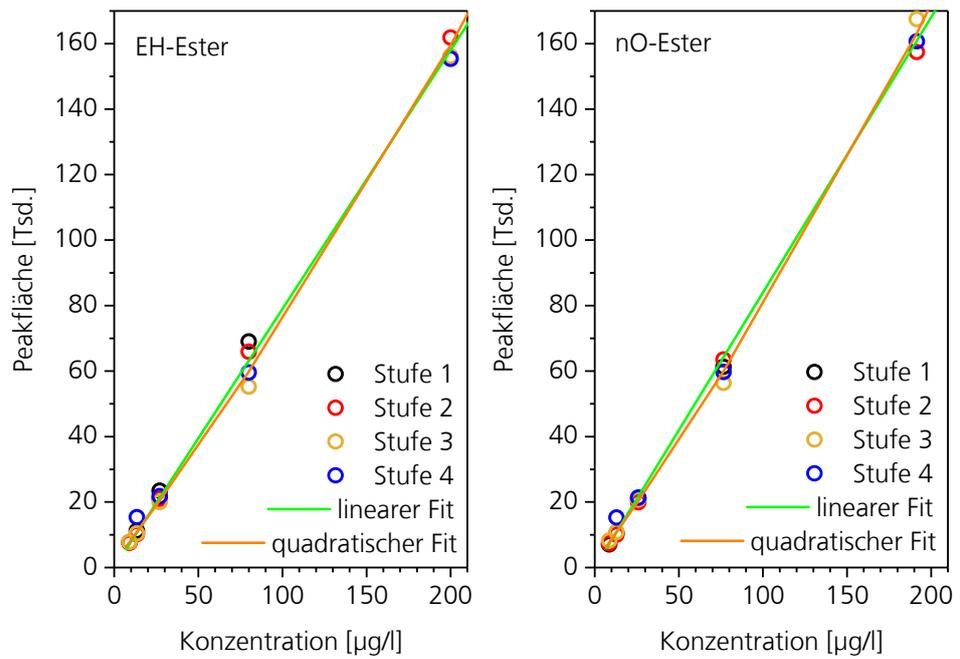


Bild 2:
Peakflächen aller 18 analysierten Lösungen aus Tabelle 3 (Matrix A1 bis E4) aufgetragen gegen die berechneten Konzentrationen.

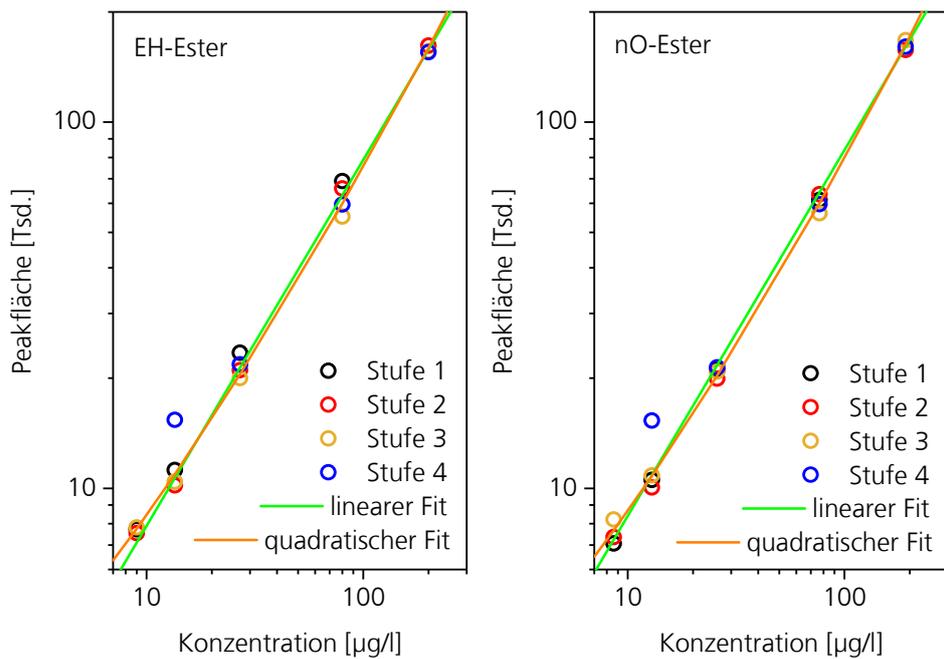


Bild 3:
Peakflächen aller 18 analysierten Lösungen aus Tabelle 3 (Matrix A1 bis E4) aufgetragen gegen die berechneten Konzentrationen in doppelt logarithmischer Darstellung.

Im Anschluss an die Filtration des Toluol-Extraktes erfolgt eine Verdünnung unter Wechsel des Lösungsmittels. Das Lösungsmittel für die Verdünnung muss an das analytische Verfahren angepasst sein (Mecoprop => Ziffer 5.4, Mecoprop-Ester => Ziffer 5.5).

5.4 Verdünnung für UPLC-Analytik

Für die UPLC-MS/MS-Analytik wurden die filtrierte Extrakte im 2 ml Messkolben mit Methanol um den Faktor 10 verdünnt (200 µl in 2 ml). Die verdünnte Lösung wird gut geschüttelt und anschließend für wenige Minuten (5 bis 10 min) stehen gelassen. Dabei entsteht i. d. R. eine Trübung, da sich einige Bitumen-Bestandteile nicht ausreichend in Methanol lösen. Der Lösungsmittelwechsel zu Methanol ist notwendig, da als Laufmittel in der UPLC ein Methanol/Wasser-Gemisch eingesetzt wird und vermieden werden muss, dass die unlöslichen Bestandteile in der Chromatographiesäule ausfallen. Die filtrierte Lösung wird in Vials abgefüllt und der UPLC-MS/MS-Analytik zugeführt; 1 µl dieser Lösung wird in die UPLC injiziert.

5.5 Verdünnung für GC-Analytik

Als Lösungsmittel für die Verdünnung für die GC-MS-Analytik wurden neben Isopropanol auch Methanol und Ethanol eingesetzt. Bei Methanol waren Stabilität der Ester und Lösungs-fähigkeit für bestimmte Bitumenbestandteile nicht ausreichend; beim Verdünnen trat eine Trübung auf. Ethanol zeigte gegenüber Isopropanol keine Vorteile. Um eventuelle Probleme durch Vergällungsmittel zu vermeiden, wurde für die weiteren Arbeiten die Verwendung von Isopropanol gewählt.

Die filtrierte Extrakte werden im 2 ml Messkolben um den Faktor 20 mit Isopropanol verdünnt (100 µl in 2 ml). Ein weiterer Verdünnungsschritt wird direkt im Vial durchgeführt. 100 µl der im Messkolben verdünnten Extraktionslösung wird zu 900 µl Isopropanol hinzugegeben. Die Verdünnung erfolgt aus zwei Gründen zweistufig:

1. Der Fehler beim Zudosieren von 10 µl ist zu groß und die Verwendung von zu großen Lösungsmittel-Volumina sollte vermieden werden.
2. Falls eine Trübung auftritt, kann die Emulsion bzw. Suspension erneut filtriert werden.

1 µl der Isopropanol-Lösung (Extrakt um Faktor 200 verdünnt) werden flüssig in das GC-MS-System injiziert.

5.6 Interner Standard

Es wurde untersucht, ob sich MCPA-2-ethylhexylester [29450-45-1] (siehe Ziffer 4.2) als Interner Standard eignet bzw. bewährt.

Aufgrund von starken Messwertschwankungen beim MCPA-2-ethylhexylester (etwa $\pm 12\%$; siehe Bild 4 oben) und relativ dazu stabileren Messwerten bei den Mecoprop-Estern führt die Verwendung von MCPA-2-ethylhexylester als Interner Standard nicht zu einer höheren Reproduzierbarkeit der Ergebnisse.

Wegen des notwendigen relativ großen Volumen/Masse-Verhältnisses bei der Extraktion müsste dem Extraktionsmittel eine relativ große Menge an internem Standard (1 mg pro Ansatz bzw. Flasche) zudosiert werden. Bei einem Preis des

(analysenreinen) Stoffes von ca. 0,6 €/mg entspricht dies (in der Routine) Kosten von ca. 1,2 € pro zu untersuchende Bitumen-Dachabdichtungsbahn; der finanzielle Aufwand durch den internen Standard hielt sich somit in Grenzen.

Da sich die verschiedenen Ester bei der Lagerung der Toluenextrakte bzw. der daraus hergestellten verdünnten Lösungen unterschiedlich verhalten, hilft MCPA-2-ethylhexylester als Interner Standard nicht, um eine längere zulässige Lagerungsdauer zu ermöglichen. Hierfür würden deuterierte Ester benötigt.

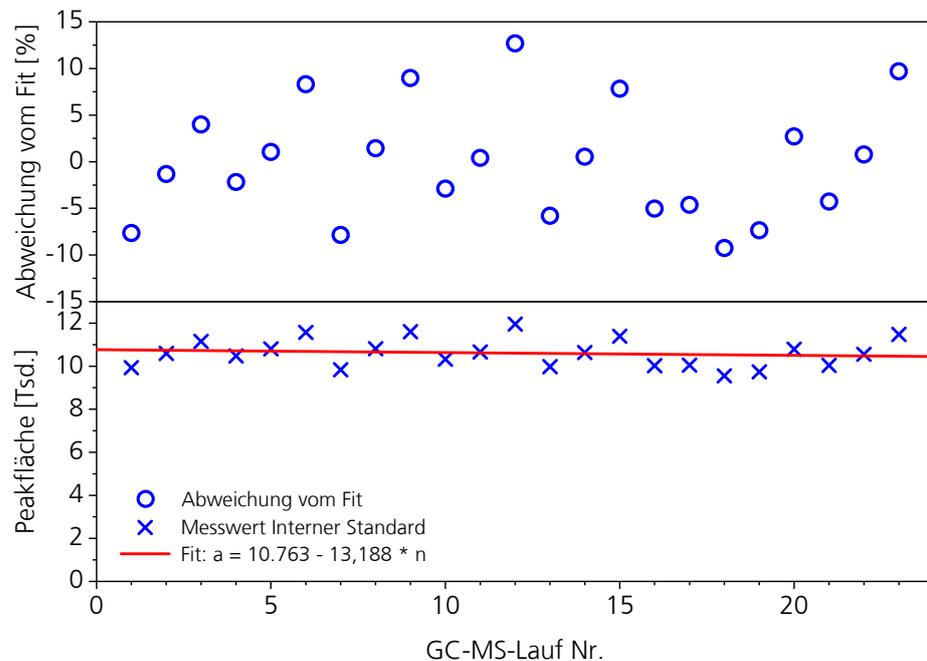


Bild 4:
Analyse von MCPA-EH-Ester als IS mittels GC-MS. Unten: Peakflächen; oben: Relative Abweichungen vom Langzeittrend.

Auch aus folgenden Gründen kann auf die Verwendung eines internen Standards verzichtet werden:

1. Alle im Verfahrensablauf auftretenden Volumina sind bekannt und sehr exakt bestimmbar.
2. Wiederfindungsversuche ergaben keine Verluste während der Extraktion (wenn die Analyse am selben Tag wie die Extraktion erfolgt).
3. Das instrumentelle analytische Verfahren ist für die Mecoprop-Ester ausreichend stabil.

6 Validierung des Gesamtverfahrens

6.1 Validierung UPLC-MS/MS (MCP-PP Racemat)

Zur Erfassung der Kenngrößen des Verfahrens zur Analyse von Mecoprop mittels UPLC-MS/MS wurden im Rahmen einer Validierung nach [DIN 32645] die Linearität sowie die Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze ermittelt.

6.1.1 Analytische Kenngrößen UPLC-MS/MS

Die UPLC-MS/MS-Analysenmethode ist im Kalibrierbereich 1 µg/l bis 200 µg/l (in Methanol) linear. Die Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen von Mecoprop sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5:
Kenngrößen des analytischen Verfahrens für Mecoprop (Racemat) nach [DIN 32645].

Analyt	Nachweisgrenze [µg/l]	Erfassungsgrenze [µg/l]	Bestimmungsgrenze [µg/l]
Mecoprop, MCP-PP (Racemat) [7085-19-0] Injektionsvolumen 1 µl	0,10	0,21	0,29

Zur Ermittlung des Gehaltes an MCP-PP aus Polymerbitumendachabdichtungsbahnen wurde die instrumentelle Analytik direkt anschließend an die Extraktion durchgeführt. Ausgehend davon, dass sich durch Hydrolyse der MCP-PP-Ester zusätzliche freie Säure im Extrakt bilden kann, ist eine direkte Analyse auf MCP-PP zu empfehlen; ansonsten ist eine Verfälschung der Ergebnisse möglich und eine Unterscheidung zwischen MCP-PP aus Polymerbitumendachbahnen und im Extrakt nachgebildetem MCP-PP nicht zuverlässig erkennbar.

6.2 Validierung GC-MS (MCP-PP-Ester)

Zur Erfassung der Kenngrößen des Verfahrens zur Analyse der Mecoprop-Ester mittels GC-MS per Flüssiginjektion wurden im Rahmen einer Validierung nach [DIN 32645] die Linearität sowie die Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze ermittelt.

6.2.1 Linearität

Das Analysenverfahren wurde im Bereich von 1 bis 500 µg/l MCP-PP-Ester in Isopropanol getestet. Die Kalibrierkurve ist annähernd linear, die Krümmung ist gering positiv (die Kurve ist also nach oben gekrümmt).

Wenn größere Konzentrationsbereiche (z. B. Faktor 16, das bedeutet die maximale Konzentration ist 16x größer als die minimale Konzentration) kalibriert werden, so empfiehlt der Linearitätstest nach [DIN 32645] vereinzelt die Anwendung eines quadratischen Regressionsmodells. Beispielsweise empfiehlt der

Linearitätstest nach [DIN 32645] für den Kalibrierbereich von 10 bis 160 µg/l folgende quadratische Regression (Bild 5):

$$f(c) = 1,1 (\mu\text{g/l})^{-2} c^2 + 711 (\mu\text{g/l})^{-1} c + 2.043 \text{ mit } c \text{ in } \mu\text{g/l}$$

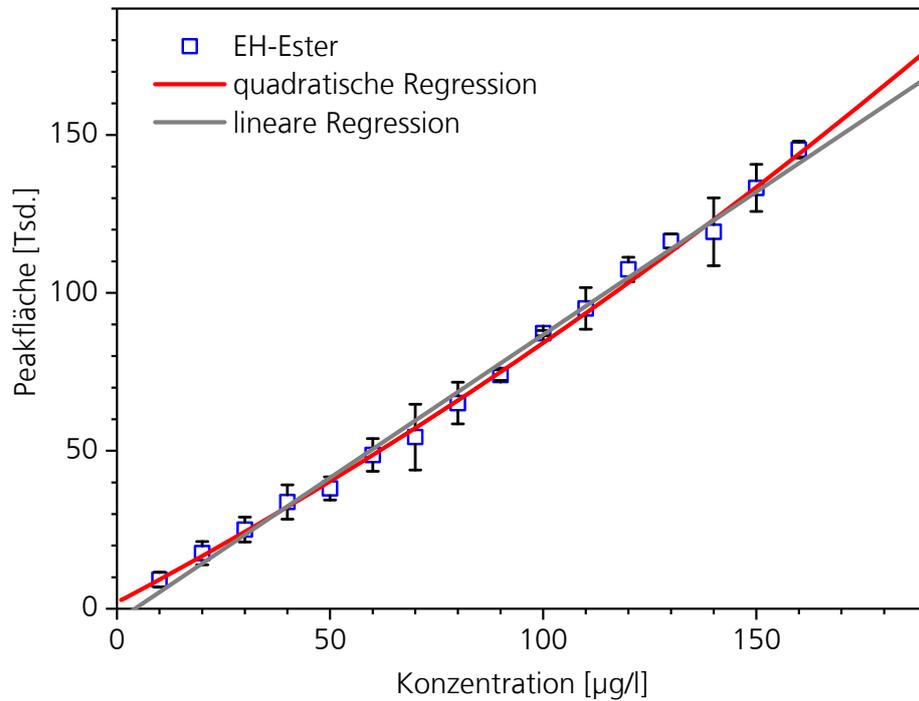


Bild 5:

Messdaten sowie lineare und quadratische Regression bei einer Kalibrierung für den EH-Ester im Konzentrationsbereich von 10 bis 160 µg/l.

Der Linearitätstest nach [DIN 32645] empfiehlt ein quadratisches Regressionsmodell in den Kalibrierbereichen von:

- 10 bis 160 µg/l 16 x 3 Messpunkte, Faktor: 16
- 25 bis 150 µg/l 6 x 3 Messpunkte, Faktor: 6
- 50 bis 150 µg/l 5 x 2 Messpunkte, Faktor: 3

wobei für den nO-Ester in allen drei Fällen ein lineares Regressionsmodell als vertretbar angegeben wird, für den EH-Ester jedoch nur in den letzten beiden Fällen. Im Kalibrierbereich von 10 bis 160 µg/l muss für den EH-Ester ein quadratisches Regressionsmodell angewendet werden (Bild 5).

Ein lineares Regressionsmodell empfiehlt der Linearitätstest nach [DIN 32645] beispielsweise in den Kalibrierbereichen von:

- 1 bis 10 µg/l 10 x 3 Messpunkte, Faktor: 10
- 2 bis 20 µg/l 10 x 3 Messpunkte, Faktor: 10
- 10 bis 80 µg/l 8 x 2 Messpunkte, Faktor: 8
- 20 bis 180 µg/l 9 x 3 Messpunkte, Faktor: 9
- 50 bis 150 µg/l 11 x 2 Messpunkte, Faktor: 3
- 80 bis 500 µg/l 3 x 4 Messpunkte, Faktor: 6,25

Ein lineares Regressionsmodell ist folglich i. d. R. dann vertretbar, wenn die oberste Konzentration nicht mehr als 10 x höher als die niedrigste Konzentration der Kalibrierreihe ist.

6.2.2 Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze

Die Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen der Mecoprop-Ester sind in den folgenden Tabellen für mehrere Kalibrierbereiche aufgeführt:

- 1 bis 10 µg/l ⇒ Tabelle 6
- 2 bis 20 µg/l ⇒ Tabelle 7
- 10 bis 80 µg/l ⇒ Tabelle 8
- 20 bis 180 µg/l ⇒ Tabelle 9
- 50 bis 150 µg/l ⇒ Tabelle 10

Tabelle 6:

Kenngößen des analytischen Verfahrens für die Mecoprop-Ester (Racemate) nach [DIN 32645]. Kalibrierbereich 1 bis 10 µg/l. Injektionsvolumen 5 µl; 10 x 3 Messpunkte.

Analyt	Regression	Nachweisgrenze [µg/l]	Erfassungsgrenze [µg/l]	Bestimmungsgrenze [µg/l]
EH-Ester	linear R = 0,9999	0,12	0,24	0,40
nO-Ester	linear R = 0,9996	0,25	0,50	0,82

Tabelle 7:

Kenngößen des analytischen Verfahrens für die Mecoprop-Ester (Racemate) nach [DIN 32645]. Kalibrierbereich 2 bis 20 µg/l. Injektionsvolumen 5 µl; 10 x 3 Messpunkte.

Analyt	Regression	Nachweisgrenze [µg/l]	Erfassungsgrenze [µg/l]	Bestimmungsgrenze [µg/l]
EH-Ester	linear R = 0,9978	1,1	2,1	3,2
nO-Ester	linear R = 0,9986	0,8	1,6	2,5

Tabelle 8:

Kenngößen des analytischen Verfahrens für die Mecoprop-Ester (Racemate) nach [DIN 32645]. Kalibrierbereich 10 bis 80 µg/l. Injektionsvolumen 5 µl; 8 x 3 Messpunkte.

Analyt	Regression	Nachweisgrenze [µg/l]	Erfassungsgrenze [µg/l]	Bestimmungsgrenze [µg/l]
EH-Ester	linear R = 0,9976	6,0	11,9	17,9
nO-Ester	Linear R = 0,9973	6,4	12,8	19,1

Tabelle 9:

Kenngößen des analytischen Verfahrens für die Mecoprop-Ester (Racemate) nach [DIN 32645]. Kalibrierbereich 20 bis 180 µg/l. Injektionsvolumen 5 µl; 9 x 3 Messpunkte.

Analyt	Regression	Nachweisgrenze [µg/l]	Erfassungsgrenze [µg/l]	Bestimmungsgrenze [µg/l]
EH-Ester	linear R = 0,9987	8,7	17,5	27,6
nO-Ester	linear R = 0,9990	7,6	15,1	24,1

Tabelle 10:

Kenngößen des analytischen Verfahrens für die Mecoprop-Ester (Racemate) nach [DIN 32645]. Kalibrierbereich 50 bis 150 µg/l. Injektionsvolumen 5 µl; 11 x 2 Messpunkte.

Analyt	Regression	Nachweisgrenze [µg/l]	Erfassungsgrenze [µg/l]	Bestimmungsgrenze [µg/l]
EH-Ester	linear R = 0,9975	8,4	16,8	24,9
nO-Ester	linear R = 0,9968	9,7	19,4	28,0

6.2.3 Reproduzierbarkeit der Kalibrierung

Der Einfluss der Kalibrierung auf die Robustheit des Gesamtverfahrens wurde anhand von 4 Kalibrierreihen untersucht (siehe Tabelle 11).

Tabelle 11:

Kalibrierreihen K6 bis K9.

Kalibrierreihe	Anzahl Konz.	Anzahl Injekt.	Anzahl Messpunkte	Einsatz für...
K6	16	2	32	Robustheit R1
K7	13	2	26	Wiederfindung
K8	6	5	30	Robustheit R2
K9	6	3	18	Robustheit R3

In Bild 6 sind die Peakflächen gegen die Konzentrationen der Kalibrierlösungen aufgetragen. Die Diagramme für den nO-Ester sind im Bild oben, die für den EH-Ester unten aufgeführt. Jeweils links sind die 106 Einzelwerte dargestellt und jeweils rechts die Mittelwerte für eine bestimmte Konzentration innerhalb einer Kalibrierreihe.

Die Empfindlichkeit des analytischen Verfahrens (Steigung der Kalibriergerade) ist bei beiden Estern sehr ähnlich (Bild 6 rechts). Der Vergleich der Diagramme für die beiden eingesetzten Ester ergibt, dass die instrumentelle Analytik beim EH-Ester deutlich reproduzierbarer ist als beim nO-Ester. Das Verfahren funktioniert demnach nicht für alle Mecoprop-Ester gleich gut.

Die sehr gute Reproduzierbarkeit der EH-Ester-Kalibrierung deckt sich mit den wesentlich kleineren Fehlerbalken bei der Bestimmung der Ester aus den Extrakten der Robustheitstests (Ziffer 6.4). Bei den Einzelwerten gibt es nur wenige Ausreißer, i. d. R. hin zu geringeren Peakflächen.

Die Reproduzierbarkeit der nO-Ester-Kalibrierung ist wesentlich schlechter. Eine Mittelung aus mehreren Einzelwerten ist beim nO-Ester unbedingt notwendig, um zu belastbaren Resultaten zu gelangen.

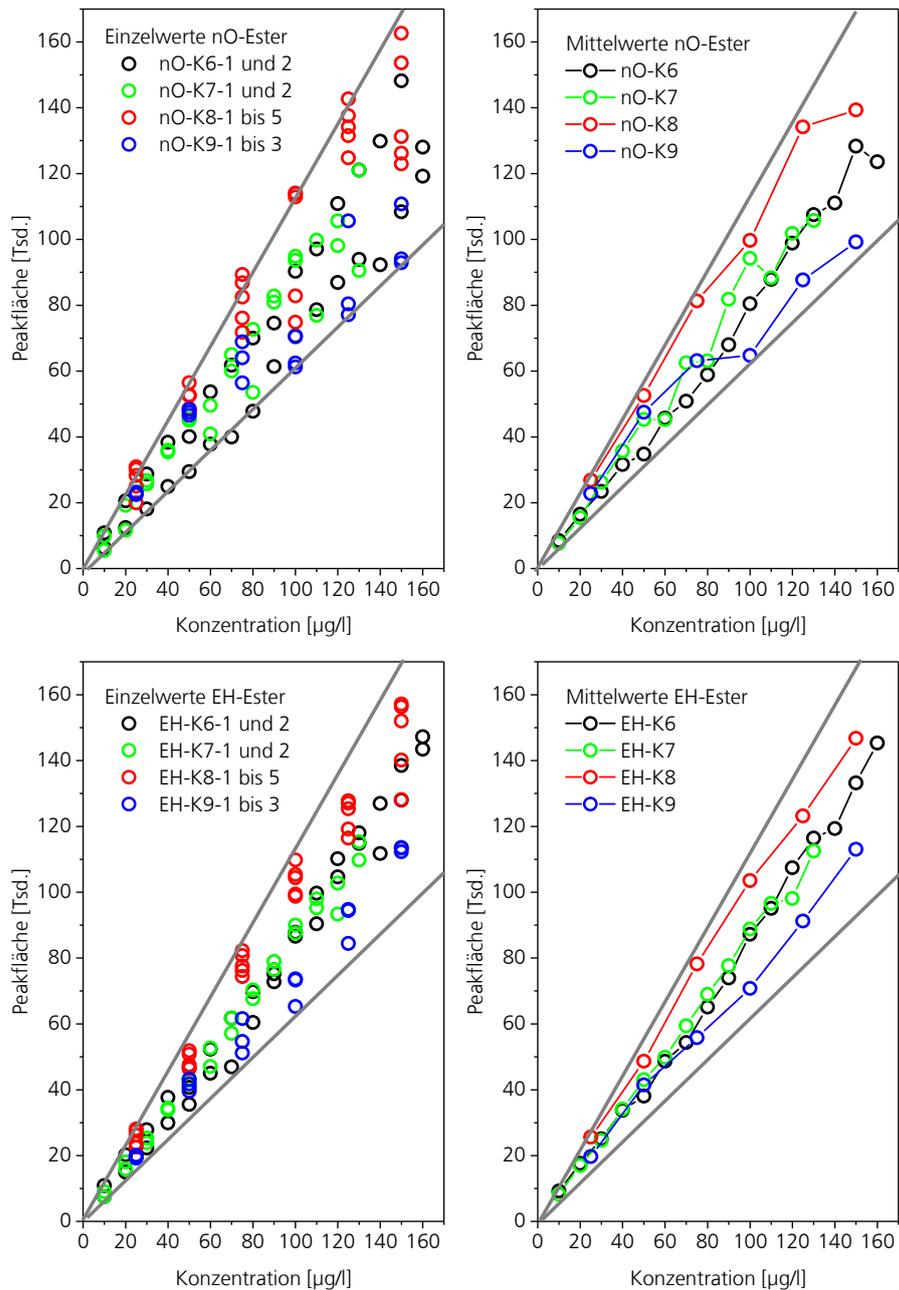


Bild 6: Kalibrationsmesspunkte bei der Testung der Reproduzierbarkeit der Kalibration. Links: Einzelmesswerte; rechts: Mittelwerte; oben: nO-Ester; unten: EH-Ester.

Die Einzelwerte der Kalibrierreihe K8 (nO-K8-1 bis 5, rot) streuen sehr stark (Bild 6 oben links), die Auftragung der Mittelwerte aus jeweils 5 Injektionen (nO-K8, rot) weist nur geringe Abweichungen von der (hier nicht gezeigten) Kalibriergerade (Bild 6 oben rechts). Auch bei K6 (nO-K6-1 und 2, schwarz, links) schwanken die Einzelwerte wesentlich stärker als die Mittelwerte (nO-K6, schwarz, rechts).

Durch die großen Messwertschwankungen für den nO-Ester in der instrumentellen Analytik ist die Verwendung einer geringen Anzahl von Kalibrierpunkten (< 8) kritisch. Dies ist in Bild 6 bei K9 (nO-K9, blau) zu sehen: Die Mittelwerte aus jeweils drei Injektionen weisen einen sigmoiden Verlauf auf (Bild 6 rechts

oben). Bei 13 Kalibrierpunkten genügen zwei Injektionen, um zu einer zuverlässigen Kalibrierkurve zu gelangen (in Bild 6 oben: nO-K7, grün), da hier die Ausreißer besser erkannt werden können.

6.3 Wiederfindung

Bitumen besteht aus einem Gemisch von hochmolekularen Stoffen. Verschiedene Bestandteile des Bitumens lösen sich nur schlecht, so dass ein Teil des Bitumens im Toluol-Extrakt in Form von Partikeln oder Tröpfchen vorliegt. Da bei der Filtration Partikel und Tröpfchen $> 0,2 \mu\text{m}$ von der Lösung abgetrennt werden und auch nach der Filtration eventuell noch kleinere Partikel oder Tröpfchen vorhanden sind, besteht die Möglichkeit, dass die MCPPEster aufgrund von Ad- und Absorptionsvorgängen nicht vollständig von der Analytik erfassbar sind.

Im Rahmen der Validierung wurde die Wiederfindung überprüft, indem zu Beginn des Rührvorgangs in 4 von 5 Extraktionsflaschen (mit je $2,26 \text{ cm}^2$ Materialprobe) jeweils eine definierte Menge (208 / 416 / 624 / 832 μg) an Estern zugesetzt wurde. Bei allen Extraktionsflaschen wurde mit Toluol auf 104 ml Gesamtvolumen aufgefüllt. In den 5 Extrakten wurden somit 0 / 2 / 4 / 6 / 8 mg/l zugesetzt. Bei einer Verdünnung um Faktor 200 entspricht dies einer zugesetzten Konzentration von 0 / 10 / 20 / 30 / 40 $\mu\text{g/l}$.

Da die Dachabdichtungsbahn 1 (Probe 24) nur nO-Ester und die Dachabdichtungsbahn 2 (Probe 25) nur EH-Ester enthält, wurde die Wiederfindungsprüfung mit beiden Dachabdichtungsbahnen und mit drei Estern (nO-, EH- sowie MCPPEster) durchgeführt.

In Bild 7 sind die ermittelten Konzentrationen gegen die zugesetzten Konzentrationen für die Ester dargestellt, die nicht in der jeweiligen Materialprobe enthalten sind. Alle ermittelten Konzentrationen stimmen mit den zugesetzten Konzentrationen überein, die Wiederfindung liegt (im Rahmen der Messgenauigkeit) bei 100 %.

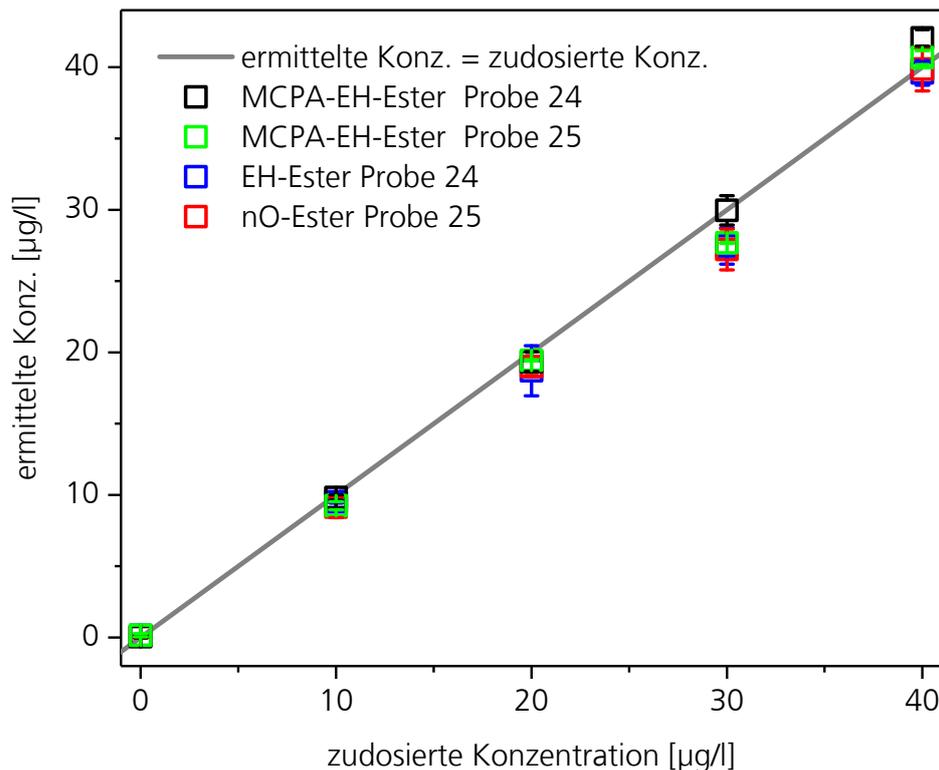


Bild 7:

Ergebnis der Wiederfindungsversuche: Aufgetragen ist die ermittelte Konzentration gegen die zudosierte Konzentration für die Ester, die nicht in der jeweiligen Materialprobe enthalten sind.

In Probe 24 (Dachabdichtungsbahn 1) sind nach den Ergebnissen des Robustheitstests (Ziffer 6.4) $9,22 \text{ g/m}^2$ nO-Ester (Rges) enthalten, dies entspricht unter den Versuchsbedingungen (104 statt 100 ml Toluol) einer Konzentration von $100,2 \text{ µg/l}$ in der 1:200 verdünnten Isopropanollösung. Mit diesem Wert als y-Achsenabschnitt und der Steigung 1 wird die rote Gerade in Bild 8 erhalten. Die magentafarbene Gerade wird erhalten, wenn die Konzentration verwendet wird, die dem FSG aus R1 entspricht ($9,76 \text{ g/m}^2$ bzw. $106,2 \text{ µg/l}$; Ziffer 6.4).

In Probe 25 (Dachabdichtungsbahn 2) sind nach den Ergebnissen des Robustheitstests (Ziffer 6.4) $6,36 \text{ g/m}^2$ EH-Ester (Rges) enthalten, dies entspricht unter den Versuchsbedingungen einer Konzentration von $69,2 \text{ µg/l}$ in der 1:200 verdünnten Isopropanollösung. Mit diesem Wert als y-Achsenabschnitt und der Steigung 1 wird die blaue Gerade in Bild 8 erhalten. Die cyanfarbene Gerade wird erhalten, wenn die Konzentration verwendet wird, die dem FSG aus R1 entspricht ($7,62 \text{ g/m}^2$ bzw. $82,9 \text{ µg/l}$; Ziffer 6.4).

Bei beiden Estern liegen die Messwerte im erwarteten Korridor (Bild 8), es gibt also auch bei den in den Materialproben bereits enthaltenen Estern keine Hinweise auf Verluste. Die Streuung der Messwerte ist jedoch größer als bei den nicht in den Materialproben enthaltenen Estern (Bild 7).

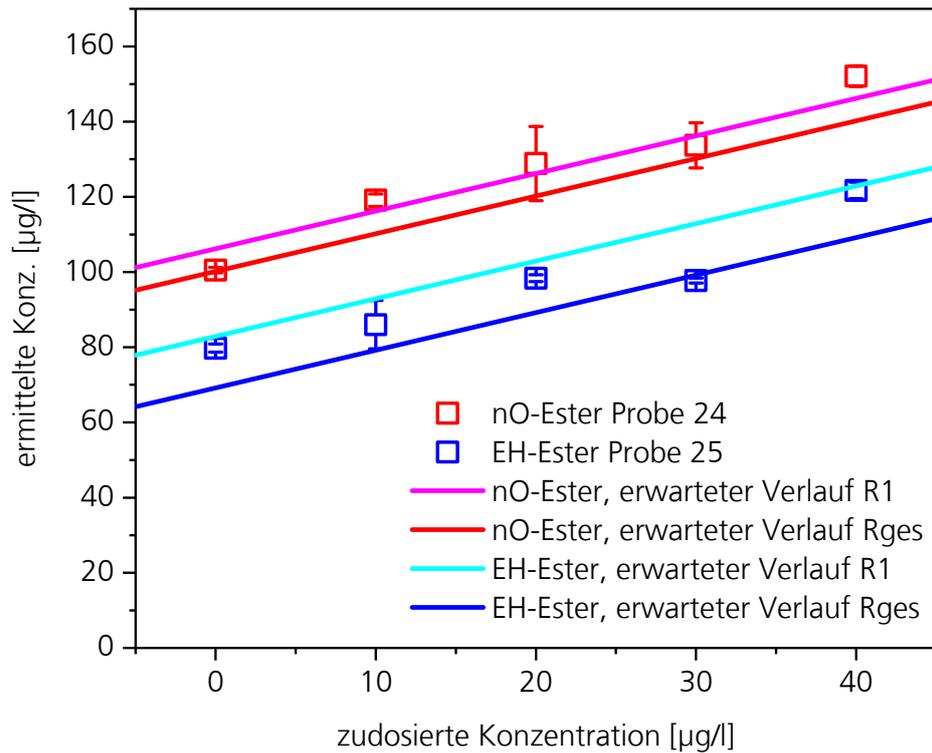


Bild 8:
Ergebnisse der Wiederfindungsversuche: Aufgetragen ist die ermittelte Konzentration gegen die zudosierte Konzentration für die Ester, die bereits in der jeweiligen Materialprobe enthalten sind (R1: Robustheitstest 1; Rges: Mittelwert aus R1 bis R3).

6.4 Robustheit des Gesamtverfahrens

Der Robustheitstest wurde im Wesentlichen nach der Standardarbeitsanweisung (SAA) im Anhang zu diesem Bericht durchgeführt. Die SAA wurde im Nachgang zum Robustheitstest überarbeitet, dabei wurde u. a. die Extraktions- bzw. Rührzeit von 1 h auf 3 h erhöht und statt 2 x ø 12 mm werden 4 x ø 8 mm Stanzkörper empfohlen (Tabelle 12).

Tabelle 12:

Parameter der Standardarbeitsanweisung zum Zeitpunkt der Durchführung des Robustheitstests sowie in der überarbeiteten Version der SAA im Anhang.

Stand	Probenfläche	Toluenvolumen	Rührzeit	Lagerzeit
Robustheitstest	2,26 cm ²	100 ml	1 h	keine
überarbeitete Version*	2,01 cm ²	100 ml	3 h	bis 1 Woche

* siehe Anhang

Die Extraktionen wurden von 3 Personen jeweils im Abstand von 2 Wochen durchgeführt. Beim Robustheitstest gab es situationsbedingt zwei größere zeitliche Abweichungen von der Standardarbeitsanweisung, diese sind in Tabelle

13 aufgeführt. Das Ansetzen der Kalibrationslösungen ist Bestandteil des Robustheitstests für das Gesamtverfahren.

Tabelle 13:
Parameter beim Robustheitstest.

Robustheitstest	Probenfläche	Toluenvolumen	Rührzeit	Lagerzeit	Kalibrationsreihe
R1	2,26 cm ²	100,9 ml	3 h	Keine [#]	K6
R2	2,26 cm ²	100 ml	1 h	5 Tage [§]	K8
R3	2,26 cm ²	100 ml	1 h	Keine [#]	K9

[#] Die Vials mit den verdünnten Lösungen der Extrakte (1:200-Verdünnung in Isopropanol) sowie die Vials mit den frisch verdünnten Kalibrationslösungen wurden direkt im Anschluss an die Herstellung im GC-MS analysiert.

[§] Die Vials mit den verdünnten Lösungen der Extrakte (1:200-Verdünnung in Isopropanol) sowie die Vials mit den verdünnten Kalibrationslösungen wurden für 5 Tage bei -30 °C gelagert und danach im GC-MS analysiert.

Die Extrakte der Robustheitstests R1, R2 und R3 wurden separat am Tag der Extraktion verdünnt, analysiert (nur R2 fünf Tage später) und jeweils mit einer eigenen Kalibrierung ausgewertet. Die Berechnung des flächenspezifischen Gehaltes erfolgt mit Formel (1) bzw. Formel (5) (Ziffer 4.6).

Die Ergebnisse für den nO-Ester sind in Bild 9 dargestellt, die für den EH-Ester in Bild 10. Die Säulendiagramme in Bild 9 und Bild 10 enthalten folgende Mittelwerte und Standardabweichungen für die Robustheitsversuche R1 (links), R2 (Mitte) und R3 (rechts):

- A1: Extraktionsflasche A, 1. Entnahme, MW aus 3 Injektionen
- A2: Extraktionsflasche A, 2. Entnahme, MW aus 3 Injektionen
- B1: Extraktionsflasche B, 1. Entnahme, MW aus 3 Injektionen
- B2: Extraktionsflasche B, 2. Entnahme, MW aus 3 Injektionen
- A: Extraktionsflasche A, MW aus 6 Messwerten
- B: Extraktionsflasche B, MW aus 6 Messwerten
- alle: MW aus 12 Messwerten

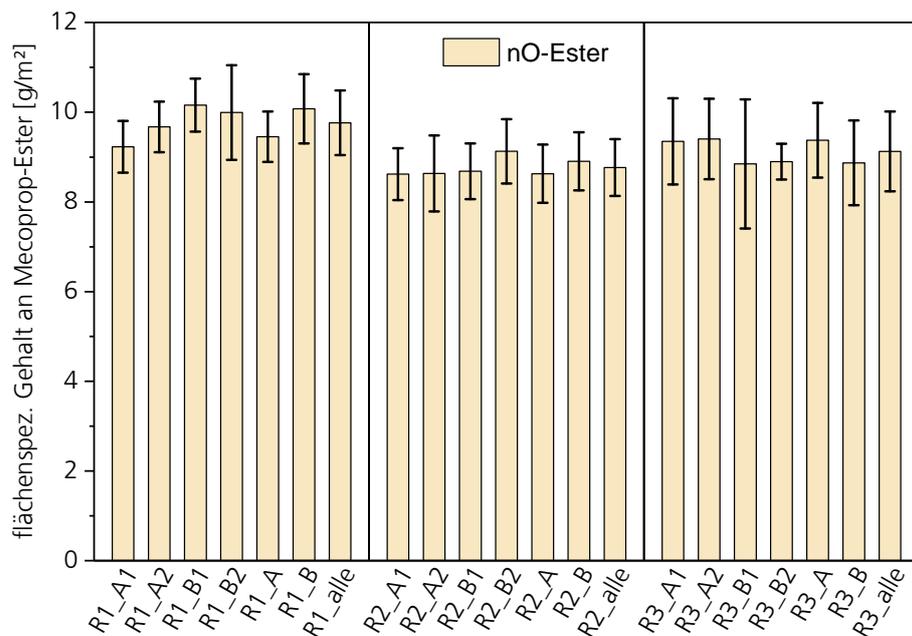


Bild 9:
Ermittelter flächenspezifischer Gehalt an nO-Ester in den Materialproben der drei Robustheitstests.

Bild 9 zeigt, dass beim nO-Ester der Messfehler (bezogen auf die Analytik) relativ groß ist: er liegt zwischen 5 und 11 % (ein Ausreißer liegt bei 16 %). Der Unterschied zwischen den beiden Ansätzen A und B ist kleiner als der Messfehler, er ist aber dennoch zu erkennen, wenn über viele Messpunkte gemittelt wird. Zwischen den ersten und den zweiten Entnahmen (1 und 2) aus den Extraktionsflaschen ist keine wesentliche Abweichung zu erkennen. Bei vier von sechs Paaren sind beide Werte nahezu gleich. Die Filtration ist also unkritisch.

Bild 10 zeigt, dass beim EH-Ester der Messfehler wesentlich kleiner ist: er liegt zwischen 1 und 8 % (ein Ausreißer liegt bei 10 %). Der Unterschied zwischen den beiden Ansätzen A und B ist ebenso wie auch zwischen den ersten und den zweiten Entnahmen (1 und 2) aus den Extraktionsflaschen kleiner als der Messfehler. Obwohl die ermittelten flächenspezifischen Gehalte innerhalb eines Versuchstages kaum schwanken, ist der im ersten Versuchstag (R1) ermittelte Gehalt deutlich höher als an den anderen beiden Versuchstagen (R2 und R3).

Zusammenfassend bedeuten die Ergebnisse, dass für den nO-Ester die Extraktion robuster ist als die instrumentelle Analytik und für den EH-Ester umgekehrt die Analytik robuster ist als die Extraktionsprozedur.

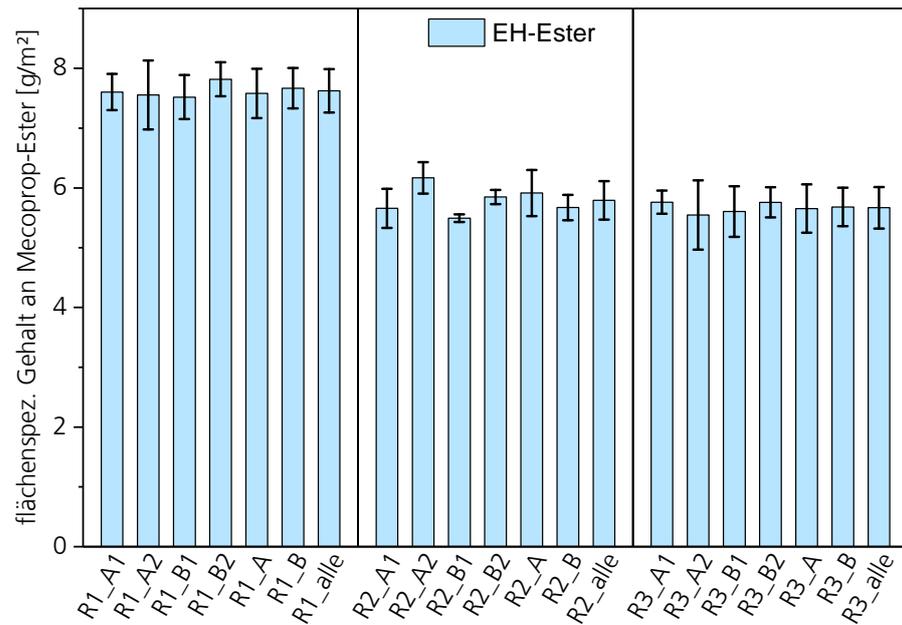


Bild 10:
Ermittelter flächenspezifischer Gehalt an EH-Ester in den Materialproben der drei Robustheitstests.

Die Standardabweichung aus den 12 Messwerten beträgt für den nO-Ester bei R1: 7,4 %, bei R2: 7,2 %, und bei R3: 9,7 % (Bild 11 links). Für den EH-Ester beträgt sie bei R1: 4,7 %, bei R2: 5,6 % und bei R3: 6,1 % (Bild 11 rechts). Die höhere Schwankung der Werte für den nO-Ester (7 bis 10 %) im Vergleich zum EH-Ester (5 bis 6 %) ist auf die schlechtere Reproduzierbarkeit der instrumentellen Analytik zurückzuführen, die sich bereits bei der Überprüfung der Robustheit der Kalibration gezeigt hat.

Beim EH-Ester liegt die Standardabweichung aus den 12 Extraktionsansätzen (R1 bis R3 jeweils A1, A2, B1 und B2) mit 17,2 % deutlich über der Abweichung innerhalb eines Messtages von 5 bis 6 %. Der in R1 erfasste flächenspezifische Gehalt (eFSG) von 7,6 g/m² übersteigt den eFSG aus R2 und R3 um 32 bzw. 35 % (5,8 bzw. 5,7 g/m²). Der höhere eFSG an EH-Ester in R1 kann durch die längere Extraktionszeit bei R1 erklärt werden (Tabelle 13). Der verzweigte Alkoholrest behindert die Diffusion, weshalb der EH-Ester langsamer freigesetzt wird als der nO-Ester. Die geringere Hydrolyseempfindlichkeit des EH-Esters ist ebenfalls auf die Verzweigung im Alkoholrest zurückzuführen; dies erklärt warum der eFSG von R2 nicht kleiner als der von R3 ist.

Der eFSG nimmt beim nO-Ester in der Reihe R1 > R3 > R2 (9,8 / 9,1 / 8,8 g/m²) ab; die Standardabweichung aus den 12 Extraktionsansätzen ist um 0,5 g/m² bzw. 5,5 %, geringer als die Abweichungen innerhalb der einzelnen Robustheitsversuche (0,4 bis 1,1 g/m² bzw. 5 bis 11 %). Die Abnahme des eFSG in der Reihe R1 > R3 > R2 ist damit kaum signifikant, die Reihe entspricht aber der Erwartung, da R1 länger gerührt hat und R2 vor der Analyse länger gelagert wurde.

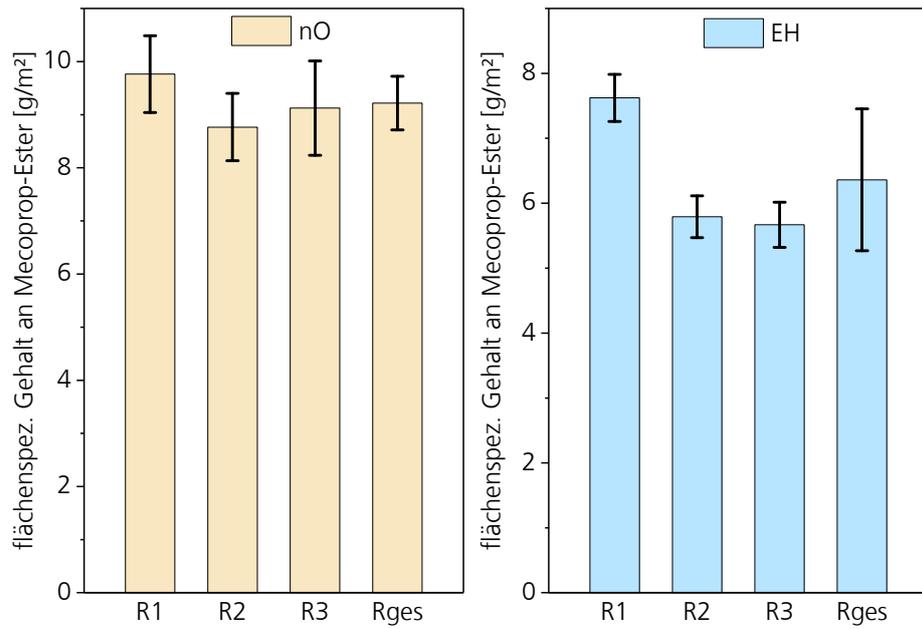


Bild 11:
Ermittelter flächenspezifischer Gehalt an nO-Ester (links) und EH-Ester (rechts)
in den Materialproben der drei Robustheitstests.

6.5 Stabilität der MCPPEster in den Extrakten und Lösungen

6.5.1 Stabilität in der Stammlösung

Die Stammlösungen der MCPPEster sind mindestens 1 Monat stabil (Bild 12).

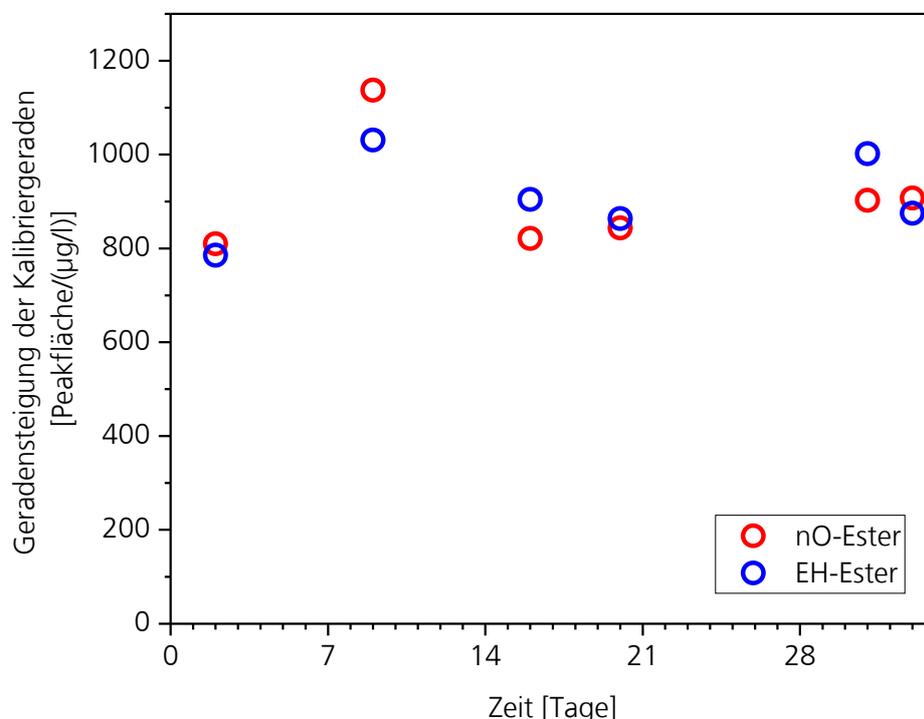


Bild 12:
Stabilität der Stammlösungen. nO-Ester: 52,0 mg in 100 ml Toluol. EH-Ester:
12,2 mg in 10 ml Toluol.

6.5.2 Stabilität in der verdünnten Isopropanol-Lösung

Ester können in Alkohol prinzipiell umestern (in Isopropanol zum Isopropylester) oder durch Spuren von Wasser zur Carbonsäure hydrolysieren.

In Bild 13 sind die ermittelten flächenspezifischen Gehalte der Materialproben P20A2 (enthält nO-Ester) und P23B1 (enthält EH-Ester) nach einer Lagerung der Toluol-Extrakte von 28 Tagen im Gefrierschrank bei -30 °C, anschließender Verdünnung in Isopropanol (1:200) und darauf folgender 12-tägiger Lagerung der Isopropanollösung bei Zimmertemperatur (Säulen „RT“) bzw. im Gefrierschrank bei -30 °C (Säulen „-30 °C“) den entsprechenden am Extraktionstag ermittelten flächenspezifischen Gehalten (Säulen „frisch“) gegenübergestellt. Der EH-Ester erweist sich als vollkommen stabil (Bild 13 rechts). Beim nO-Ester ist das Ergebnis nicht eindeutig, da die Messwertschwankungen zu groß sind. (Es ist wenig plausibel, dass die ungekühlte Probe stabiler zu sein scheint als die tiefgekühlte Probe.) Es gibt jedoch keinen Hinweis auf einen schnellen Abbau des nO-Esters. Die Lagerungsdauer von insgesamt 40 Tagen, darunter 12 Tage in Isopropanol, übersteigt die in der SAA vorgesehene Lagerungshöchstdauer von 1 Woche deutlich.

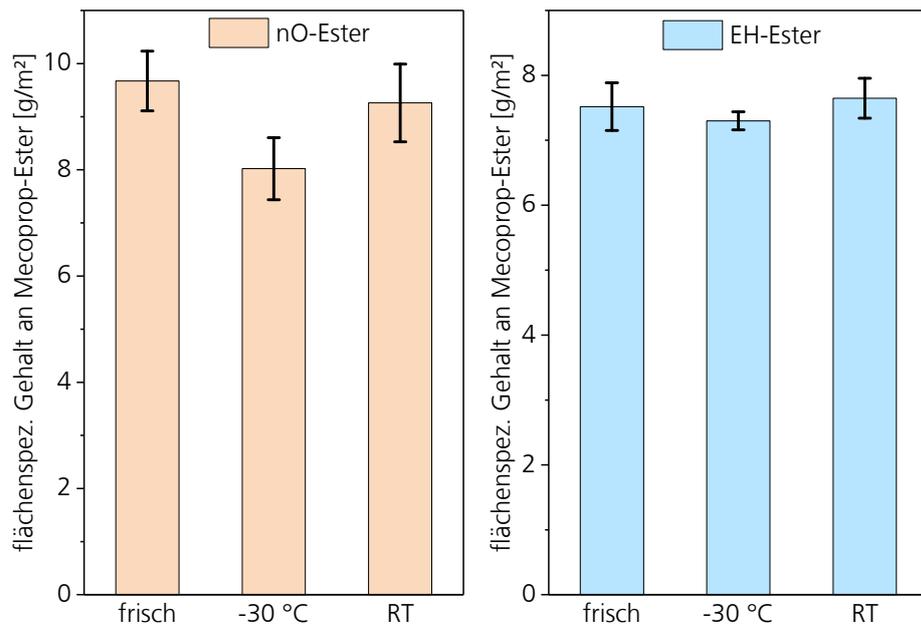


Bild 13:
 Ermittelter flächenspezifischer Gehalt an nO-Ester (links) und EH-Ester (rechts) in den Materialproben für die am selben Tag analysierten Extrakte bzw. Verdünnungen sowie für zwei unterschiedlich gelagerte verdünnte IPA-Lösungen (Beschreibung im Text).

7 Anwendung der Verfahren: Bestimmung des Molverhältnisses MCPP / MCPP-Ester in Bitumen-Dachabdichtungsbahnen

Die Bestimmung der MCPP-Ester in den Dachabdichtungsbahnen ist bereits in Ziffer 6.4 behandelt. Dachabdichtungsbahn 1 enthält $9,2 \pm 0,5$ g/m² nO-Ester. Bei einem Flächengewicht von etwa 6,7 kg/m² entspricht dies einem Massen-gehalt von 1.400 ppm (m/m). Dachabdichtungsbahn 2 enthält $6,4 \pm 1,1$ g/m² bzw. 1.000 ppm (bei 6,3 kg/m²).

Die MCPP-Gehaltsbestimmung erfolgte mittels UPLC-MS/MS. Während die Ester in den Dachabdichtungsbahn-Extrakten in hohen Konzentrationen (%) gefunden wurden, lagen die Konzentrationen von MCPP im Spurenbereich (ppm). Das Mol-Verhältnis (Ester/Carbonsäure) beträgt für Dachabdichtungsbahn 2 nur 1,1 %, für Dachabdichtungsbahn 1 nur 0,3 %. Das entspricht bei Dachabdichtungsbahn 1 einem Gehalt von etwa 4 ppm (m/m) und bei Dachabdichtungsbahn 2 einem Gehalt von etwa 11 ppm. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass der Ester erst an der Oberfläche oder im Wasser hydrolysiert, nicht jedoch in der Bitumen-Dachabdichtungsbahn selbst. Da die Reaktion zum Ester (bei der Herstellung) eine Gleichgewichtsreaktion ist, kann MCPP bereits als Verunreinigung in den Estern enthalten sein.

In Bild 14 sind die flächenspezifischen MCPP-Gehalte sowie das Mol-Verhältnis von MCPP zum MCPP-Ester gegen die Lagerungszeit aufgetragen. Die im Gefrierschrank bei -30 °C gelagerten Extrakte von R1 (54 d gelagert), R2 (40 d gelagert) und R3 (26 d gelagert) wurden am selben Tag wie ein frischer Extrakt (0 d gelagert) in Methanol verdünnt (siehe Ziffer 5.4).

Während der MCPP-Gehalt bei der Materialprobe mit EH-Ester über ca. 8 Wochen völlig stabil bleibt (Bild 14 rechts), steigt der MCPP-Gehalt bei der Probe mit nO-Ester mit der Zeit langsam an (Bild 14 links). Der unverzweigte nO-Ester erweist sich erneut als hydrolyseempfindlicher als der verzweigte EH-Ester. Aufgrund des geringen Mol-Verhältnisses (1:91 bzw. 1:330) ist die korrespondierende Abnahme der Ester-Konzentrationen verschwindend klein.

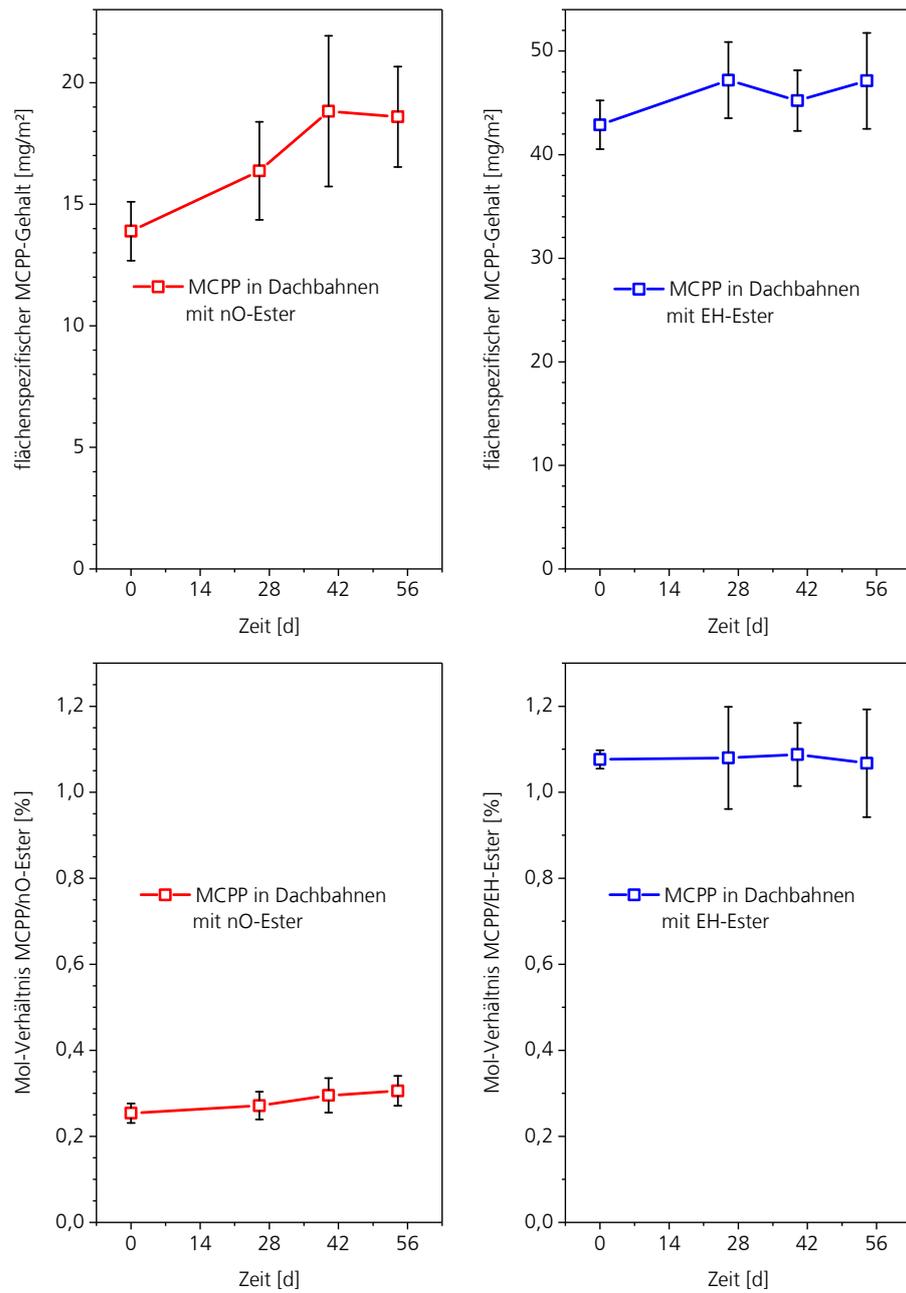


Bild 14:

Oben: Ermittelter flächenspezifischer Gehalt an MCPP in Dachabdichtungsbahn 1 (enthält nO-Ester) (links) und in Dachabdichtungsbahn 2 (enthält EH-Ester) (rechts) aufgetragen gegen das Alter des Extraktes in Tagen. Unten: Verhältnis von Carbonsäure zu Ester in Prozent.

8 Diskussion und Ausblick

Die Materialproben werden mit einem Stanzeisen, aus möglichst verschiedenen Bereichen der Bitumen-Dachabdichtungsbahn, ausgestanzt. Um eine potenzielle Inhomogenität des flächenspezifischen Gehaltes an Mecoprop-Ester auszugleichen, werden mehrere Materialproben aus den Bitumen-Dachabdichtungsbahnen entnommen und extrahiert.

Bei der Verwendung von 4 x \varnothing 8 mm Stanzkörpern, 100 ml Toluol als Extraktionsmittel und einer Verdünnung in Isopropanol um den Faktor 200 können die flächenspezifischen Gehalte in g/m^2 aus den Konzentrationen in $\mu\text{g/l}$ einfach durch Multiplizieren mit 0,1 umgerechnet werden.

Mögliche Abweichungen bei Entnahme und Filtration werden gemittelt, indem aus zwei Extraktions-Ansätzen je zwei Extrakte entnommen werden. Insgesamt stehen somit pro zu untersuchender Materialprobe 4 Extrakt-Proben aus insgesamt mind. 4 bis max. 10 Stanzkörpern (in der SAA im Anhang: 8 Stanzkörper) für die instrumentelle Analytik zur Verfügung.

Um Partikel und Tröpfchen von unlöslichen Bitumen-Bestandteilen aus den Extrakten zu entfernen, werden diese durch einen Spritzenaufsatzfilter aus regenerierter Cellulose mit Porengröße 0,2 μm filtriert. Durch die Filtration gab es weder Verluste noch negative Einflüsse auf die Reproduzierbarkeit.

Bewährt haben sich Toluol als Extraktionsmittel, Isopropanol als Lösungsmittel für die Flüssiginjektion ins GC-MS und Methanol als Lösungsmittel für die UPLC-MS/MS. Die empfohlene Lösungsmittelmenge für die Extraktion liegt bei 50 ml/cm^2 Materialprobe. Bei der Verdünnung für die GC-MS-Analytik wird ein Verdünnungsfaktor von mindestens 200 empfohlen. Aufgrund der geringen Gehalte an MCPPE wird für die UPLC-MS/MS-Analytik ein Verdünnungsfaktor von 10 empfohlen, wobei die Mischung nach der Verdünnung erneut filtriert werden muss.

Der Einsatz von MCPPE-2-ethylhexylester als internem Standard hat sich nicht bewährt. Eine externe Kalibrierung genügt für eine zuverlässige Bestimmung der MCPPE-Ester.

Bei der UPLC-MS/MS-Analytik kann über einen Konzentrationsbereich von 1 bis 200 $\mu\text{g/l}$ mit einer linearen Regression gearbeitet werden. Für die GC-MS-Analytik muss ein quadratisches Regressionsmodell verwendet werden, wenn sich der Konzentrationsbereich über mehr als eine Dekade erstreckt. Empfohlen wird beispielsweise eine 9-Punkt-Kalibrierung im Konzentrationsbereich von 20 bis 180 $\mu\text{g/l}$ oder von 2 bis 18 $\mu\text{g/l}$.

Beide analytischen Verfahren weisen eine Bestimmungsgrenze von unter 1 $\mu\text{g/l}$ auf, wenn bis 1 $\mu\text{g/l}$ hinunter kalibriert wird. Zur Schonung des Analysengerätes wird eine möglichst hohe Verdünnung der Extrakte empfohlen, denn mit jeder Injektion (unter Anwendung der Parameter der SAA im Anhang) werden mehrere Nanogramm Bitumenbestandteile injiziert. Es gibt keine Hinweise auf Matrixeffekte durch die mit-injizierten Bitumenbestandteile.

Die Schwankungen des GC-MS-Messsignals sind beim nO-Ester größer als beim EH-Ester; die instrumentelle Analytik (auch die Kalibrierung) funktioniert beim EH-Ester zuverlässiger und reproduzierbarer. Das Extraktionsverfahren ist dagegen für den nO-Ester robuster: die Mittelwerte aus 12 Injektionen (bzw. 2 Ansätze x 2 Entnahmen x 3 Injektionen) weichen bei den drei Versuchsdurchführungen im Rahmen der Robustheitsprüfung nur um 6 % ab. Beim EH-Ester liegt die Abweichung innerhalb eines Versuchstages zwar nur bei 5 bis 6 %, die Abweichung zwischen den Versuchstagen liegt jedoch bei 17 %. Als Ursache für den höheren ermittelten flächenspezifischen Gehalt bei Versuch R1 ist die längere Extraktionszeit (3 h statt 1 h) zu sehen. In der Standardarbeitsanweisung im Anhang dieses Berichtes wird daher eine Extraktionszeit von 3 bis 5 h empfohlen.

Die Ester sind sowohl im Toluol-Extrakt als auch in der mit Isopropanol verdünnten Lösung über lange Zeit (mehrere Wochen) stabil. Für ein sicheres Verfahren sollte die Lagerungsdauer (zunächst) nicht zu hoch gewählt werden; empfohlen wird eine maximale Lagerungsdauer von einer Woche bei -30 °C. Die Stammlösungen (in Toluol) können (mindestens) ein Monat bei -30 °C gelagert werden.

Die Anwendung der Bestimmung von MCPP und dessen Octylester (nO- und EH-Ester) erfolgte anhand von zwei Bitumen-Dachabdichtungsbahnen. Der ermittelte flächenspezifische Gehalt an MCPP-P-n-octylester in Dachabdichtungsbahn 1 beträgt $9,2 \pm 0,5$ g/m². Dachabdichtungsbahn 2 enthält $6,4 \pm 1,1$ g/m² MCPP-P-2-ethylhexylester. MCPP wurde in beiden Dachabdichtungsbahnen im Spurenbereich gefunden. Das Mol-Verhältnis (Ester/Carbonsäure) beträgt für Dachabdichtungsbahn 2 nur 1,1 %, für Dachabdichtungsbahn 1 nur 0,3 %. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass der Ester erst an der Oberfläche oder im Wasser hydrolysiert, nicht jedoch in der Bitumen-Dachabdichtungsbahn selbst.

Die Wiederfindung von während der Extraktion zugesetzten nO- und EH-Estern liegt für das Gesamtverfahren der Extraktion aus Polymerbitumendachabdichtungsbahnen im Rahmen der Messgenauigkeit bei 100 %. In Bezug auf die Herstellerangaben beträgt die Wiederfindung 92 ± 5 % bei Dachbahn 1 und 65 ± 13 % bei Dachbahn 2. Bei einer längeren Extraktionsdauer von 3 h (Robustheitstest R1) steigt die Wiederfindung bei Dachbahn 2 auf 77 ± 8 %. Die Extraktionsdauer ist daher in der Standardarbeitsanweisung im Anhang auf 3 h erhöht bzw. festgelegt worden.

Untersuchungen an laut Herstellerangaben wirkstofffreien Bitumen-Dachabdichtungsbahnen wurde im Rahmen des Forschungsvorhabens nicht durchgeführt. Aufgrund der hohen Empfindlichkeit des Verfahrens können ca. 10 ppm bzw. 0,001 % MCPP-Ester im Bitumenanteil nachgewiesen werden, so dass bereits kleinste Spuren von MCPP-Estern im Produkt analytisch erfasst werden können.

9 Literaturverzeichnis

- [Bollmann 2014a] Bollmann, U., Vollertsen, J., Carmeliet, J., Bester, k., Dynamics of biocide emissions from buildings in a suburban stormwater catchment - Concentrations, mass loads and emission processes. *Water Research*, 2014, (56), 66-76.
- [Bollmann 2014b] Bollmann, U., Tang, C., Eriksson, E., Jönsson, K., Vollertsen, J., Bester, K., Biocides in urban wastewater treatment plant influent at dry and wet weather: Concentrations, mass flows and possible sources. *Water Research*, 2014, (60), 64-74.
- [Bucheli 1998] Bucheli, T., Müller, S., Heberle, S., Schwarzenbach R., Occurrence and behavior of pesticides in rainwater, roof runoff, and artificial stormwater infiltration. *Environmental Science and Technology*, 1998, 32, 3457-3464.
- [Burkhardt 2009] Burkhardt, M., Zuleeg, S., Eugster, J., Boller, M., Hean, S., Haag, R., Schmid, P., Kohler, M. Mecoprop in Bitumenbahnen. Auswaschung von Mecoprop aus Bitumenbahnen und Vorkommen im Regenkanal. Forschungsbericht im Auftrag des Bundesamtes für Umwelt, Abteilung Stoffe, Boden, Biotechnologie, Bern, und des Amt für Abfall, Wasser, Energie und Luft (AWEL), Abteilung Gewässerschutz, Zürich. 2009. DOI: 10.13140/RG.2.1.3294.0649
- [DIN 38407-35] DIN 38407-35:2010-10, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung – Gemeinsam erfassbare Stoffgruppen (Gruppe F) – Teil 35: Bestimmung ausgewählter Phenoxyalkancarbonsäuren und weiterer acider Pflanzenschutzmittelwirkstoffe – Verfahren mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS) (F 35)*.
- [DIN 32645] DIN 32645:2008-11, *Chemische Analytik - Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen - Begriffe, Verfahren, Auswertung*.
- [DIN EN 13948] Abdichtungsbahnen - Bitumen-, Kunststoff- und Elastomerbahnen für Dachabdichtungen - Bestimmung des Widerstandes gegen Wurzelpenetration; Deutsche Fassung EN 13948:2007 Ausgabedatum 2008-01
- [Echa 2016] http://apps.echa.europa.eu/registered/data/dossiers/DISS-c4c53047-ca8b-681a-e044-00144f67d031/AGGR-bc2b9771-1ff3-4c46-8f0b-2adcb587aa38_DISS-c4c53047-ca8b-681a-e044-00144f67d031.html (Stand 25.1.2016)
- [FLL 2008] Verfahren zur Untersuchung der Wurzelfestigkeit von Bahnen und Beschichtungen für Dachbegrünungen. In: Dachbegrünungsrichtlinie: Richtlinie für die Planung, Ausführung und Pflege von Dachbegrünungen. FLL Forschungsgesellschaft Landschaftsentwicklung Landschaftsbau e.V. 2008, ISBN 978-3-940122-08-7.
- [Frkova 2016] Frkova, Z.; Johansen, A.; Jonge, L. D.; Olsen, P.; Gosewinkel, U.; Bester, K.: Degradation and enantiomeric fractionation of mecoprop in soil previously exposed to phenoxy acid herbicides – New insights for bioremediation. *Sci-*

ence of the Total Environment, 2016, (569–570), S. 1457–1465.

- [Hübner 2018] Hübner, S.; Scherer, C.; Schwerd, R.; Schwitalla, C.: *Freisetzung von Durchwurzelungsschutzmitteln aus Dachabdichtungen*. Stuttgart: Fraunhofer IRB Verlag, 2018. ISBN 978-3-7388-0111-8
- [Gestis 2016] GESTIS-Stoffdatenbank des IFA Institut für Arbeitsschutz der Deutschen gesetzlichen Unfallversicherung (Stand 27.1.2016)
- [Ivashechkin 2005] Ivashechkin, P., Literaturlauswertung zum Vorkommen gefährlicher Stoffe im Abwasser und in Gewässern. Forschungsbericht zum Vorhaben AZ IV 9 – 042059 im Auftrag des Ministeriums für Umwelt und Naturschutz, Landwirtschaft und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen. Institut für Siedlungswasserwirtschaft der RWTH Aachen. 2005.
- [Launay 2016] Launay, M., Dittmer, U., Steinmetz, H., Organic micropollutants discharged by combined sewer overflows - Characterisation of pollutant sources and stormwater-related processes. *Water Research*, 2016, 104, 82-92.
- [LAWA 2017] Bund-/Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA): Ableitung von Geringfügigkeitsschwellenwerten für das Grundwasser. Aktualisierte und überarbeitete Fassung 2016. Herausgegeben von Herausgegeben von der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA), Ministerium für Umwelt, Klima und Energiewirtschaft Baden-Württemberg, Stuttgart, Januar 2017.
- [OGewV 2016] Verordnung zum Schutz der Oberflächengewässer - Oberflächengewässerverordnung vom 20. Juni 2016 (BGBl. I S. 1373)
- [Riechel 2015] Riechel, M., Schubert, R.-L., Caradot, N., Sperling, K., Kahlert, P.-C., Heise, S., Köhler, M., Kaiser, D., Schmidt, M., Heinzmann, B., Joswig, K., Matzinger, A., Austrag und Rückhalt von Mecoprop durch Maßnahmen der Regenwasserbewirtschaftung. Beitrag im Rahmen der 5. Aqua Urbanica vom 07. -08. Oktober 2015 in Stuttgart.
- [SDB 2012] Sicherheitsdatenblatt Preventol B2, LANXESS Distribution GmbH, 2012
- [Singer 2010] Singer, H., Jaus, S., Hanke, I., Lück, A., Hollender, J., Alder, A., Determination of biocides and pesticides by on-line solid phase extraction coupled with mass spectrometry and their behaviour in wastewater and surface water. *Environmental Pollution*, 2010, 158, 3054-3064.
- [Triebskorn 2008] Triebskorn, R., Literaturstudie zu Mikroverunreinigungen und deren Effekte auf Gewässerbiozöosen im Bodensee-Einzugsgebiet: Nährstoff- und Schadstoffgehalte, ökotoxikologische und fischereibiologische Untersuchungen in den Fließgewässersystemen Argen, Schussen und Seefelder Aach. Im Auftrag der Landesanstalt für Umwelt, Messungen und Naturschutz Baden-Württemberg LUBW, 2008.
- [Wicke 2016] Wicke, D., Matzinger, A., Rouault, P., Relevanz organischer Spurenstoffe im

Regenwasserabfluss Berlins OgRe. Kompetenzzentrum Wasser Berlin. 2016.

[Wittmer 2010] Wittmer, I., Bader, H.-P., Scheidegger, R., Singer, H., Lück, A., Hanke, I., Carlsson, C., Stamm, C., Significance of urban and agricultural land use for biocide and pesticide dynamics in surface waters. *Water Research*, 2010, 44, 2850-2862.

Anhang

A.1 Standardarbeitsanweisungen

A.1.1 Extraktionsverfahren zur quantitativen Bestimmung des Gehalts an MCPP und MCPP-Estern in Polymerbitumen-Abdichtungsbahnen

Zweck

Qualitative und quantitative Bestimmung von verschiedenen Mecoprop-Estern (z. B. Mecoprop-P-n-octylester oder Mecoprop-P-2-ethylhexylester) in Dachabdichtungsbahnen mittels Flüssigextraktion und Flüssig-Injektion-GC-MS.

Kurzbeschreibung

Mecoprop und Mecoprop-Ester werden in Glasflaschen unter Rühren bei Zimmertemperatur mit Toluol aus Bitumen-Dachabdichtungsbahnen extrahiert. Das Bitumen löst sich dabei weitgehend auf. Es entsteht ein braun bis schwarz gefärbter Extrakt. Dieser wird filtriert, um Partikel und ungelöste Bitumen-Tröpfchen abzutrennen.

Für die GC-MS-Analytik wird das Filtrat in einem Messkolben mit Isopropanol verdünnt. In einem Vial wird erneut mit Isopropanol verdünnt. Anschließend wird die Lösung mittels Flüssiginjektion-GC-MS qualitativ und quantitativ auf die Mecoprop-Ester untersucht. Eine Verdünnung mit Methanol wird für die UPLC-MS/MS-Analytik benötigt.

Durchführung der Extraktion

Aus der zu untersuchenden Bitumen-Dachabdichtungsbahn werden 8 Materialproben bzw. Stanzkörper, jeweils mit einem Durchmesser von 8 mm, ausgestanzt (Bild 15). Vier Probenkörper mit einem Durchmesser von 8 mm entsprechen 2,01 cm².

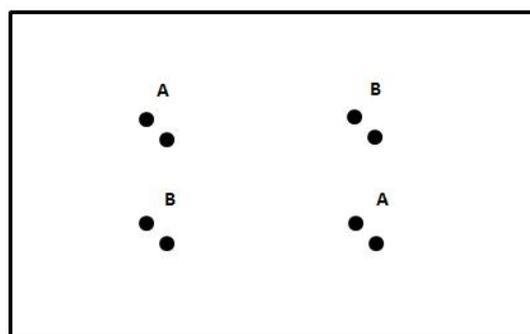


Bild 15:

Ausstanzen der Materialproben aus der Bitumen-Dachabdichtungsbahn: 4 Stanzkörper mit \varnothing 8 mm für Flasche A und 4 für Flasche B.

Für jede zu untersuchende Dachabdichtungsbahn werden 2 farblose 500 ml Weithals-Schraubdeckel-Flaschen jeweils mit einem Rührfisch (Länge ca. 20 mm oder größer) versehen (Bild 16). Eine Flasche wird mit **A** sowie der laborinternen Probennummer, die andere Flasche mit **B** sowie der laborinternen Probennummer beschriftet.

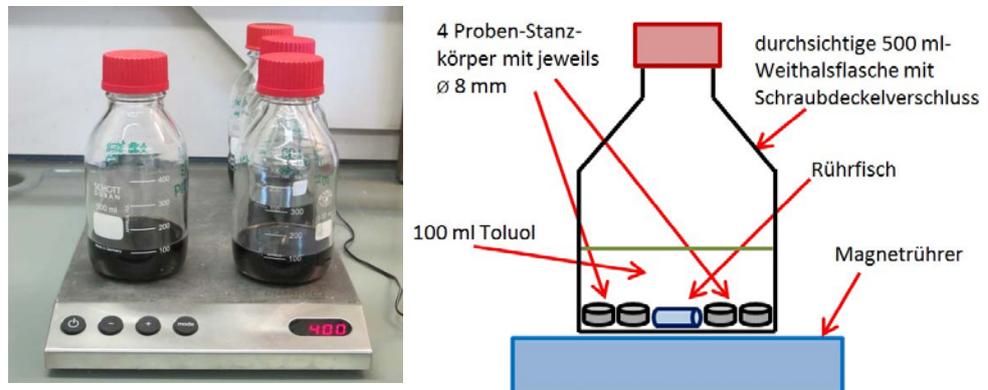


Bild 16:
Extraktion der Proben-Stanzkörper in Toluol unter Rühren mit 400 U/min bei Zimmertemperatur. Links: Foto. Rechts: schematisch.

In jede Flasche werden jeweils 4 ausgestanzte Probenkörper zugegeben (Bild 16): Die vier Stanzkörper mit der Benennung A in Flasche A und die vier Stanzkörper mit der Benennung B in Flasche B.

Dann werden mit einer 100 ml-**Vollpipette** in jede Flasche jeweils **100 ml Toluol** hinzugegeben. Anschließend werden die Flaschen mit dem Schraubdeckel verschlossen und die Mischung wird **3 bis 4 Stunden** bei Zimmertemperatur bei 400 U/min gerührt (Bild 16). Längere Rührzeiten sind erlaubt, beispielsweise 5 h, sollten jedoch definiert und gleichgehalten werden. Das Bitumen löst sich bereits nach wenigen Minuten weitgehend auf, wobei eine braun bis schwarz gefärbte Lösung bzw. Emulsion bzw. Suspension entsteht. Das Trägermaterial, in der Regel ein Vlies, bleibt ungelöst.

Zum Abfüllen der Extrakte werden je zu untersuchende Dachabdichtungsbahn vier 4 ml-Schraubdeckelgläser beschriftet mit

- A1 und interne Probennummer für die erste Abfüllung des Extraktes aus Flasche A,
- A2 und interne Probennummer für die zweite Abfüllung des Extraktes aus Flasche A,
- B1 und interne Probennummer für die erste Abfüllung des Extraktes aus Flasche B,
- B2 und interne Probennummer für die zweite Abfüllung des Extraktes aus Flasche B.

Nach drei Stunden werden aus jeder Flasche mit zwei 5 ml-Spritzen 2 mal etwa 4 ml Extrakt entnommen. Nach dem Aufziehen der Mischung in die Spritze wird auf die Spritze ein Cellulose-Filter (hydrophilic regenerated cellulose; Porengröße: 0,2 µm) aufgesteckt und die Mischung wird durch den Filter in das entsprechend beschriftete 4 ml Schraubdeckelglas gedrückt. Je Flasche werden jeweils 2 Schraubdeckelgläser befüllt. Je zu untersuchende Bitumen-Dachabdichtungsbahn erhält man somit $2 \times 2 = 4$ Filtrate.

In vier 2 ml Messkolben werden die Filtrate mit **Isopropanol** verdünnt. Die vier Messkolben werden beschriftet mit

- A1 und interne Probennummer für die erste Abfüllung des Extraktes aus Flasche A,
- A2 und interne Probennummer für die zweite Abfüllung des Extraktes aus Flasche A,
- B1 und interne Probennummer für die erste Abfüllung des Extraktes aus Flasche B,
- B2 und interne Probennummer für die zweite Abfüllung des Extraktes aus Flasche B.

Je zu untersuchende Bitumen-Dachabdichtungsbahn wird in die vier 2 ml Messkolben jeweils 1800 µl Isopropanol vorgelegt. Anschließend werden aus jedem 4 ml Schraubdeckelglas 100,0 µl Filtrat entnommen und in den entsprechenden Messkolben zugegeben. Die Messkolben werden verschlossen und gut geschüttelt. Anschließend werden die Messkolben mit Isopropanol bis zur 2 ml-Markierung aufgefüllt. Die Messkolben werden erneut verschlossen und gut geschüttelt.

In vier 1,5 ml Vials mit Crimp-Verschluss werden die Isopropanol-Verdünnungen aus den Messkolben weiter verdünnt. Die vier Vials werden beschriftet mit

- A1 und interne Probennummer für die erste Abfüllung des Extraktes aus Flasche A,
- A2 und interne Probennummer für die zweite Abfüllung des Extraktes aus Flasche A,
- B1 und interne Probennummer für die erste Abfüllung des Extraktes aus Flasche B,
- B2 und interne Probennummer für die zweite Abfüllung des Extraktes aus Flasche B.

In allen Probenvials werden 900 µl Isopropanol vorgelegt. Anschließend werden in jedes beschriftete Vial aus dem entsprechenden Messkolben 100,0 µl Isopropanol-Verdünnung zugegeben.

Die Vials werden mit Crimp-Deckel ohne Schlitz verschlossen, gut geschüttelt und der instrumentellen Analytik zugeführt.

Stabilität der Lösungen

Die Toluolösungen sind mehrere Wochen stabil und können auf Vorrat hergestellt werden. Die Isopropanollösungen werden nach Bedarf frisch hergestellt. Die Lagerung aller Lösungen erfolgt bei -30 °C im Gefrierschrank und in Vials mit Crimp-Verschluss.

Vorbereitung der Vials für die Kalibrierung

Die Stammlösungen werden in Toluol angesetzt. Die Einwaagen und Zielkonzentrationen sind in Tabelle 14 aufgeführt.

Tabelle 14:

Empfohlene Einwaage für die Stammlösungen V0-EH und V0-nO. Lösungsmittel: Toluol. Die Stammlösungen können im Gefrierschrank bei -30 °C für 1 Monat gelagert werden.

Bez.	Ester	Einwaage Ester [mg]	Messkolben [ml]	Konz. Ester [$\mu\text{g}/\mu\text{l}$]
V0-nO	M CPP-P-n-octylester	25	50	0,50
V0-EH	M CPP-P-2-ethylhexylester	25	50	0,50

Aus den Stammlösungen wird eine Mischung hergestellt, die beide Ester in möglichst gleichen Konzentrationen enthält (Tabelle 15). Zur Verdünnung wird Toluol eingesetzt, da die Ester in Toluol keine Umesterungsreaktionen eingehen können. Die Lösung V1 kann im Gefrierschrank bei -30 °C für (mind.) 1 Monat gelagert werden.

Tabelle 15:

Empfohlene Verdünnung für die Ester-Mischung V1. Lösungsmittel: Toluol. Die Mischung kann im Gefrierschrank bei -30 °C für 1 Monat gelagert werden.

Bez.	Ester Konz. V0 [$\mu\text{g}/\mu\text{l}$]	Volumen [μl]	Messkolben [ml]	Ester Konz. V1 [$\mu\text{g}/\text{l}$]
V1	0,50	800	20	20.000
	0,50	800		

Der Lösungsmittelwechsel von Toluol zu Isopropanol erfolgt bei der Herstellung der Lösung V2 aus der Lösung V1 (Tabelle 16). Die Lösung V2 wird immer frisch hergestellt. Das Volumen des Messkolbens von 5 ml reicht für eine Kalibrierrei-

he. Wenn mehrere Kalibrierreihen angesetzt werden sollen, sind die Volumina entsprechend zu erhöhen.

Tabelle 16:

Empfohlene Verdünnung für die Ester-Mischung V2. Lösungsmittel: Isopropanol. Die Lösung V2 wird immer frisch angesetzt.

Bez.	Ester Konz. V1 [µg/µl]	Volumen [µl]	Messkolben [ml]	Ester Konz. V2 [µg/µl]
V2	20.000	50	5	200

Die eigentliche Kalibrierreihe wird in 10 Vials angesetzt. Die zuzugebenden Volumina sind in Tabelle 17 enthalten, das Lösungsmittel ist wieder Isopropanol.

Tabelle 17:

Empfohlene Verdünnung in den Kalibriervials. Lösungsmittel: Isopropanol (IPA).

Bez.	Volu- men IPA [µl]	Ester Konz. V2 [µg/µl]	Volu- men V2 [µl]	Gesamt- volumen [µl]	Ester Konz. [µg/µl]
Kal020	900	200	100,0	1.000	20
Kal040	800		200	1.000	40
Kal060	700		300	1.000	60
Kal080	600		400	1.000	80
Kal100	500		500	1.000	100
Kal120	400		600	1.000	120
Kal140	300		700	1.000	140
Kal160	200		800	1.000	160
Kal180	100		900	1.000	180
Kal200	0		1.000	1.000	200

Berechnung des flächenspezifischen Gehalts aus der Konzentration

Aus den ermittelten Konzentrationen in den Probenvials wird der flächenspezifische Gehalt mit der Formel (1) berechnet:

$$FSG \frac{g}{m^2} = c \frac{\mu g}{l} \cdot \frac{V \cdot f_1 \cdot f_2}{n \cdot \frac{\pi}{4} \cdot d^2} \cdot \left[\frac{g \cdot mm^2}{\mu g \cdot m^2} \right] \quad (1)$$

mit FSG = flächenspezifischer Gehalt
c = Konzentration der Lösung im Probenvial
V = Extraktions- bzw. Toluenvolumen in l
n = Anzahl der Stanzkörper
d = Durchmesser der Stanzkörper in mm
f₁ = 1. Verdünnungsfaktor
f₂ = 2. Verdünnungsfaktor

Die Parameter können zusammengefasst werden zum Umrechnungsfaktor K, der nach Formel (2) berechnet wird:

$$K = \frac{\frac{\pi}{4} \cdot d^2 \cdot n}{V \cdot f_1 \cdot f_2} \cdot \left[\frac{\mu g}{g} \cdot \frac{m^2}{mm^2} \right] \quad (2)$$

mit K = Umrechnungsfaktor
d = Durchmesser der Stanzkörper in mm
n = Anzahl der Stanzkörper
V = Extraktions- bzw. Toluenvolumen in l
f₁ = 1. Verdünnungsfaktor
f₂ = 2. Verdünnungsfaktor

Mit den empfohlenen Parametern und der Berechnungsformel (2) ergibt sich für den Umrechnungsfaktor K:

$$K = 10,05 \left[\frac{m^2}{g} \cdot \frac{\mu g}{l} \right] \approx 10 \left[\frac{m^2}{g} \cdot \frac{\mu g}{l} \right] \quad (3)$$

mit K = Umrechnungsfaktor
d = Durchmesser der Stanzkörper = 8 mm
n = Anzahl der Stanzkörper = 4
V = Extraktions- bzw. Toluenvolumen = 0,100 l
f₁ = 1. Verdünnungsfaktor = 20
f₂ = 2. Verdünnungsfaktor = 10

Unter Verwendung des mit Formel (2) berechneten Umrechnungsfaktors K (3) vereinfacht sich Formel (1) zu Formel (4):

$$FSG \frac{g}{m^2} = c \frac{\mu g}{l} \cdot \frac{1}{K} \quad (4)$$

Mit den empfohlenen Parametern wird die Umrechnungsformel (5) erhalten:

$$FSG \frac{g}{m^2} = c \frac{\mu g}{l} \cdot \frac{1}{10,05} \left[\frac{l}{\mu g} \cdot \frac{g}{m^2} \right] \quad (5)$$

Näherungsweise kann die einfache Formel (6) verwendet werden:

$$FSG \frac{g}{m^2} \approx c \frac{\mu g}{l} \cdot \frac{1}{10} \left[\frac{l}{\mu g} \cdot \frac{g}{m^2} \right] \quad (6)$$

Die erwartete Konzentration c wird aus der FSG mit Formel (7) berechnet:

$$c \frac{\mu g}{l} \approx FSG \frac{g}{m^2} \cdot 10 \left[\frac{m^2}{g} \cdot \frac{\mu g}{l} \right] \quad (7)$$

A.1.2 UPLC-MS/MS-Analysenverfahren zur quantitativen Bestimmung des Gehalts an MCPP in Polymerbitumen-Abdichtungsbahnen

Die Bestimmung von Mecoprop (Racemat) erfolgt mittels Ultrahochleistungs-flüssigchromatografie-Tandem-Massenspektrometrie (UPLC-MS/MS) im MRM-Modus (multiple reaction monitoring) angelehnt an DIN 38407-35 [DIN 38407-35]. Es wird eine Gerätekombination aus einer UPLC-Anlage und einem Tandem-Massenspektrometer benötigt.

Geräte- bzw. Analysenparameter

Zur chromatografischen Trennung der Einzelsubstanzen einer Probe wird eine Reversed Phase Trennsäule (z. B. C18 endcapped, l = 100 mm, Ø= 2,1 mm, Partikeldurchmesser = 1,7 µm) bei einer Temperatur von 40 °C eingesetzt.

Als Eluenten werden Reinstwasser und Methanol, versetzt mit jeweils 0,01 Vol-% Ameisensäure, verwendet.

Die Laufzeit der chromatografischen Trennung beträgt unter Anwendung eines linearen Lösungsmittel-Gradienten (von 90 % Reinstwasser / 10 % Methanol auf 2 % Reinstwasser / 98 % Methanol) 10 min.

Das Injektionsvolumen beträgt 1 µl.

Die Identifikation von Mecoprop (Racemat, CAS-Nr. 7085-19-0) findet anhand zweier Massenübergänge statt (ESI--Modus, m/z (Precursor-Ion) = 213, m/z (Produkt- Ion 1) = 141, m/z (Produkt-Ion 2) = 71, siehe z. B. [Frkova 2016]).

Die Quantifizierung erfolgt mittels externer Kalibrierung (Kalibrierbereich 1 µg/l bis 200 µg/l in Methanol).

A.1.3 Flüssiginjektion-GC-MS Analysenverfahren zur quantitativen Bestimmung des Gehalts an MCPP-Estern in Polymerbitumen-Abdichtungsbahnen

Die Bestimmung von MCPP-Estern erfolgt mittels Gaschromatografie-Massenspektrometrie (GC-MS) im SIM-Modus (selected ion monitoring). Es wird eine Gerätekombination aus einem GC-MS System mit Split/ Splitless Injektor und Flüssiginjektion-Autosampler benötigt.

Geräte- bzw. Analysenparameter

Zur chromatographischen Trennung der Einzelsubstanzen wird eine niedrigpolare Kapillarsäule (z. B. Rxi-XLB, $l = 30 \text{ m}$, $\varnothing = 0.25 \text{ mm}$, Filmdicke = $0.25 \mu\text{m}$, bei einem Helium Durchfluss von $1,35 \text{ ml/min}$ eingesetzt.

Die chromatographischen Bedingungen sind wie folgt:

- Starttemperatur $150 \text{ }^\circ\text{C}$ (halten für $1,0 \text{ min}$),
- erhöht bei $15 \text{ }^\circ\text{C/min}$ auf $290 \text{ }^\circ\text{C}$,
- dann auf $320 \text{ }^\circ\text{C}$ mit $20 \text{ }^\circ\text{C/min}$ (halten für $4,0 \text{ min}$).

Die Gesamtzeit des GC-Laufs beträgt $15,83 \text{ min}$.

Die Temperaturen von Injektorport, Interface und Ionenquelle werden auf $200 \text{ }^\circ\text{C}$, $300 \text{ }^\circ\text{C}$ bzw. $230 \text{ }^\circ\text{C}$ eingestellt.

Die Analyse erfolgt im Splitless-Modus unter Verwendung eines Topaz Liner Split mit Glaswolle, das Injektionsvolumen beträgt $1 \mu\text{l}$.

Die Identifikation von MCPP-Estern erfolgt anhand zweier Qualifier-Ionen:

1. Mecoprop-P-2-ethylhexylester: CAS-Nr. 861229-15-4, m/z (Target-Ion) = 326, m/z , (Qualifier-Ionen) = 142 und 169;

2. Mecoprop-P-n-octylester, CAS-Nr. 66423-13-0, m/z (Target-Ion) = 326, m/z (Qualifier-Ionen 1) = 142 und 169.

Die Quantifizierung erfolgt mittels externer Kalibrierung (Kalibrierbereich $20 \mu\text{g/l}$ bis $200 \mu\text{g/l}$ in Isopropanol). Ggf. ist eine quadratische Regression erforderlich.

Bildverzeichnis

Bild 1:	Extraktion der Proben-Stanzkörper in Toluol unter Rühren mit 400 U/min bei Zimmertemperatur. Links: Foto. Rechts: schematisch.	16
Bild 2:	Peakflächen aller 18 analysierten Lösungen aus Tabelle 3 (Matrix A1 bis E4) aufgetragen gegen die berechneten Konzentrationen.	19
Bild 3:	Peakflächen aller 18 analysierten Lösungen aus Tabelle 3 (Matrix A1 bis E4) aufgetragen gegen die berechneten Konzentrationen in doppelt logarithmischer Darstellung.	19
Bild 4:	Analyse von MCPA-EH-Ester als IS mittels GC-MS. Unten: Peakflächen; oben: Relative Abweichungen vom Langzeittrend.	21
Bild 5:	Messdaten sowie lineare und quadratische Regression bei einer Kalibrierung für den EH-Ester im Konzentrationsbereich von 10 bis 160 µg/l.	23
Bild 6:	Kalibrationsmesspunkte bei der Testung der Reproduzierbarkeit der Kalibration. Links: Einzelmesswerte; rechts: Mittelwerte; oben: nO-Ester; unten: EH-Ester.	27
Bild 7:	Ergebnis der Wiederfindungsversuche: Aufgetragen ist die ermittelte Konzentration gegen die zudosierte Konzentration für die Ester, die nicht in der jeweiligen Materialprobe enthalten sind.	29
Bild 8:	Ergebnisse der Wiederfindungsversuche: Aufgetragen ist die ermittelte Konzentration gegen die zudosierte Konzentration für die Ester, die bereits in der jeweiligen Materialprobe enthalten sind. (R1: Robustheitstest 1; Rges: Mittelwert aus R1 bis R3)	30
Bild 9:	Ermittelter flächenspezifischer Gehalt an nO-Ester in den Materialproben der drei Robustheitstests.	32
Bild 10:	Ermittelter flächenspezifischer Gehalt an EH-Ester in den Materialproben der drei Robustheitstests.	33
Bild 11:	Ermittelter flächenspezifischer Gehalt an nO-Ester (links) und EH-Ester (rechts) in den Materialproben der drei Robustheitstests.	34
Bild 12:	Stabilität der Stammlösungen. nO-Ester: 52,0 mg in 100 ml Toluol. EH-Ester: 12,2 mg in 10 ml Toluol.	35
Bild 13:	Ermittelter flächenspezifischer Gehalt an nO-Ester (links) und EH-Ester (rechts) in den Materialproben für die am selben Tag analysierten Extrakte bzw. Verdünnungen sowie für zwei unterschiedlich gelagerte verdünnte IPA-Lösungen (Beschreibung im Text).	36

Bild 14:	Oben: Ermittelter flächenspezifischer Gehalt an MCPP in Dachabdichtungsbahn 1 (enthält nO-Ester) (links) und in Dachabdichtungsbahn 2 (enthält EH-Ester) (rechts) aufgetragen gegen das Alter des Extraktes in Tagen. Unten: Verhältnis von Carbonsäure zu Ester in Prozent.	38
Bild 15:	Ausstanzen der Materialproben aus der Bitumen-Dachabdichtungsbahn: 4 Stanzkörper mit \varnothing 8 mm für Flasche A und 4 für Flasche B.	44
Bild 16:	Extraktion der Proben-Stanzkörper in Toluol unter Rühren mit 400 U/min bei Zimmertemperatur. Links: Foto. Rechts: schematisch.	45

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Stoffnamen, CAS-Nummern und Strukturformeln der während des Vorhabens eingesetzten Verbindungen.	10
Tabelle 2: Verwendete Konzentrationen für den Filtrationstest. FSG = flächenspezifischer Gehalt in g/m ² (nach Formel (1) mit $f_1 = 1$ und $f_2 = 1$ berechnet).	17
Tabelle 3: Matrix A1 bis E4: EH-Ester-Konzentrationen der angesetzten Verdünnungen aus den filtrierten Lösungen der Stufe 1 bis 4 für den Vergleich der filtrierten Lösungen. (Die nO-Ester-Konz. sind jeweils um 4,2 % geringer.)	18
Tabelle 4: In Bild 2 und 3 verwendete lineare und quadratische Fitfunktionen für den EH-Ester und den nO-Ester.	18
Tabelle 5: Kenngrößen des analytischen Verfahrens für Mecoprop (Racemat) nach [DIN 32645].	22
Tabelle 6: Kenngrößen des analytischen Verfahrens für die Mecoprop-Ester (Racemate) nach [DIN 32645]. Kalibrierbereich 1 bis 10 µg/l. Injektionsvolumen 5 µl; 10 x 3 Messpunkte.	24
Tabelle 7: Kenngrößen des analytischen Verfahrens für die Mecoprop-Ester (Racemate) nach [DIN 32645]. Kalibrierbereich 2 bis 20 µg/l. Injektionsvolumen 5 µl; 10 x 3 Messpunkte.	25
Tabelle 8: Kenngrößen des analytischen Verfahrens für die Mecoprop-Ester (Racemate) nach [DIN 32645]. Kalibrierbereich 10 bis 80 µg/l. Injektionsvolumen 5 µl; 8 x 3 Messpunkte.	25
Tabelle 9: Kenngrößen des analytischen Verfahrens für die Mecoprop-Ester (Racemate) nach [DIN 32645]. Kalibrierbereich 20 bis 180 µg/l. Injektionsvolumen 5 µl; 9 x 3 Messpunkte.	25
Tabelle 10: Kenngrößen des analytischen Verfahrens für die Mecoprop-Ester (Racemate) nach [DIN 32645]. Kalibrierbereich 50 bis 150 µg/l. Injektionsvolumen 5 µl; 11 x 2 Messpunkte.	26
Tabelle 11: Kalibrierreihen K6 bis K9.	26
Tabelle 12: Parameter der Standardarbeitsanweisung zum Zeitpunkt der Durchführung des Robustheitstests sowie in der überarbeiteten Version der SAA im Anhang.	30
Tabelle 13: Parameter beim Robustheitstest.	31
Tabelle 14: Empfohlene Einwaage für die Stammlösungen V0-EH und V0-nO. Lösungsmittel: Toluol. Die Stammlösungen können im Gefrierschrank bei -30 °C für 1 Monat gelagert werden.	47

Tabelle 15: Empfohlene Verdünnung für die Ester-Mischung V1. Lösungsmittel: Toluol. Die Mischung kann im Gefrierschrank bei -30 °C für 1 Monat gelagert werden.	47
Tabelle 16: Empfohlene Verdünnung für die Ester-Mischung V2. Lösungsmittel: Isopropanol. Die Lösung V2 wird immer frisch angesetzt.	48
Tabelle 17: Empfohlene Verdünnung in den Kalibriervials. Lösungsmittel: Isopropanol (IPA).	48