



PRiMaT
Präventives Risikomanagement in der
Trinkwasserversorgung

Probenahme für die organische Spurenstoffanalytik

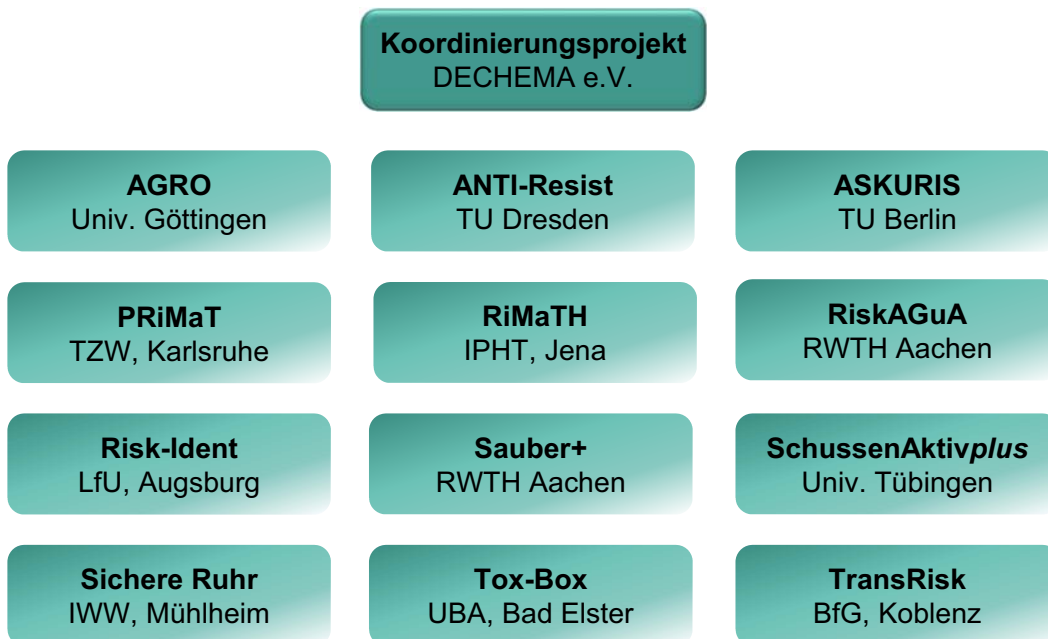


Frank Sacher
DVGW-Technologiezentrum Wasser (TZW)

BMBF – Fördermaßnahme „Risikomanagement von neuen Schadstoffen und Krankheitserregern im Wasserkreislauf“

Projektträger Karlsruhe (PTKA)





www.riskwa.de/

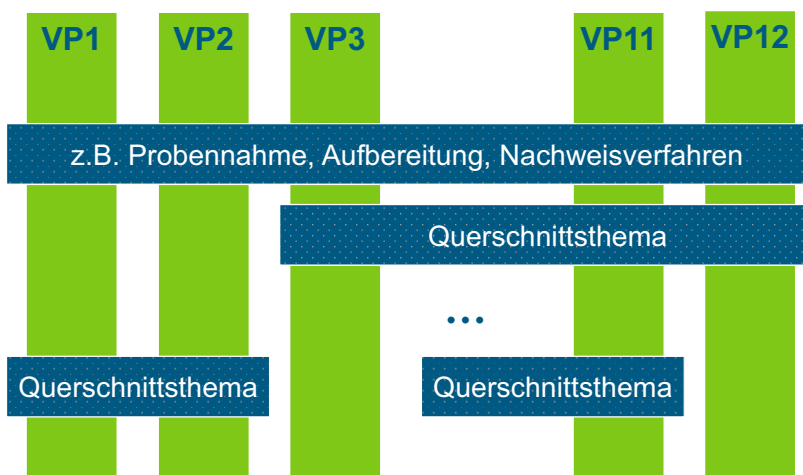
TZW

Querschnittsthemen & Fachgespräche



Querschnittsthemen = Themenschwerpunkte,

- welche in mehreren Verbundprojekten parallel, aber z.T. unter verschiedenen Gesichtspunkten bearbeitet werden
- zu denen ein verbundprojektübergreifender Austausch allen Akteuren einen Mehrwert bietet



www.riskwa.de/



- RiSKWa-Querschnittsthema „Probenahme und Probenvorbereitung“
- 2 Workshops: 19.03.2012 und 06.11.2012
- Ziel: Erarbeitung einer einheitlichen, abgestimmten (und möglichst korrekten) Vorgehensweise für die Entnahme, Lagerung und Stabilisierung von Wasserproben für die Bestimmung mikrobiologischer Parameter, chemischer Parameter (Spurenstoffe) und Wirkungstests
- Im Einzelnen sollten festgelegt werden:
 - Art der Probenahmegefäße
 - Stabilisierung der Proben
 - Lagerung/Transport der Proben
 - Filtration der Proben
 - Art der Proben



Vanderford et al., Anal Bioanal Chem 399:2227–2234 (2011)

- demineralisiertes Wasser
- Braunglas, silanisiertes Braunglas, Weißglas, klares HDPE
- 14 Tage Lagerzeit
- Temperatur 4 °C

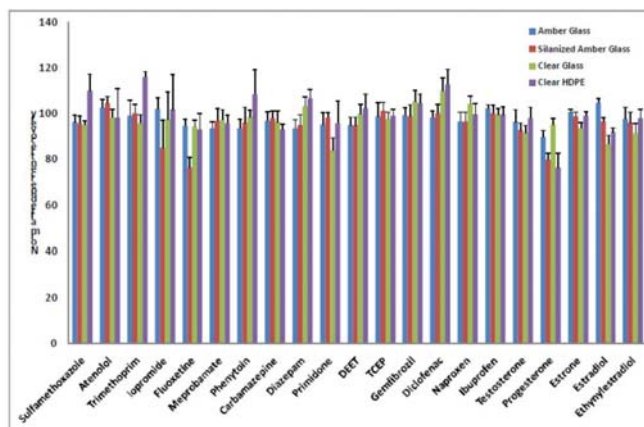


Figure S1 Effect of sample bottle type on normalized recovery of target analytes (Blue (first bar) – Amber glass, Red (second bar) – Silanized amber glass, Green (third bar) – Clear glass, Purple (fourth bar) – Clear HDPE). Error bars indicate one standard deviation.

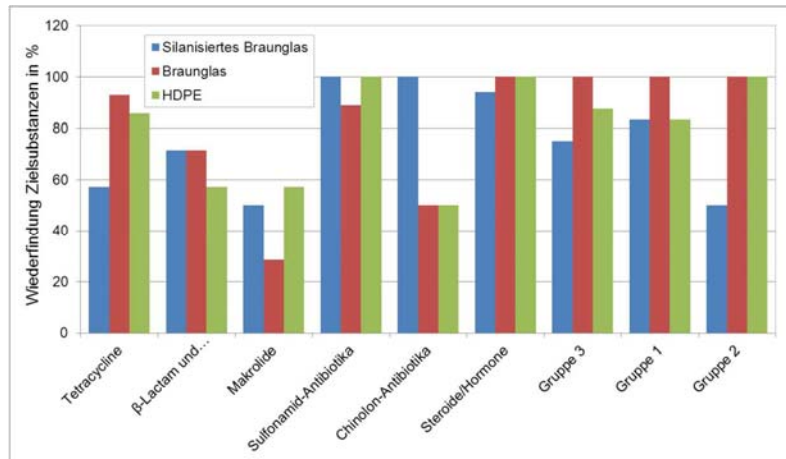
- Braunglasflaschen für alle Zielsubstanzen akzeptabel
- silanisierte Braunglasflaschen nicht für Progesteron und Fluoxetin geeignet
- Weißglas nicht geeignet für Trimethoprim und Progesteron
- HDPE nicht geeignet für Sulfamethoxazol (Co-Elution mit unbek. Störsubstanz)



PROBENAHMEGEFÄßE

U.S. Environmental Protection Agency (EPA): EPA-820-R-10-008

- MilliQ-Wasser
- Braunglas, silanisiertes Braunglas, HDPE
- 7 Tage Lagerzeit
- Temperatur 4 °C



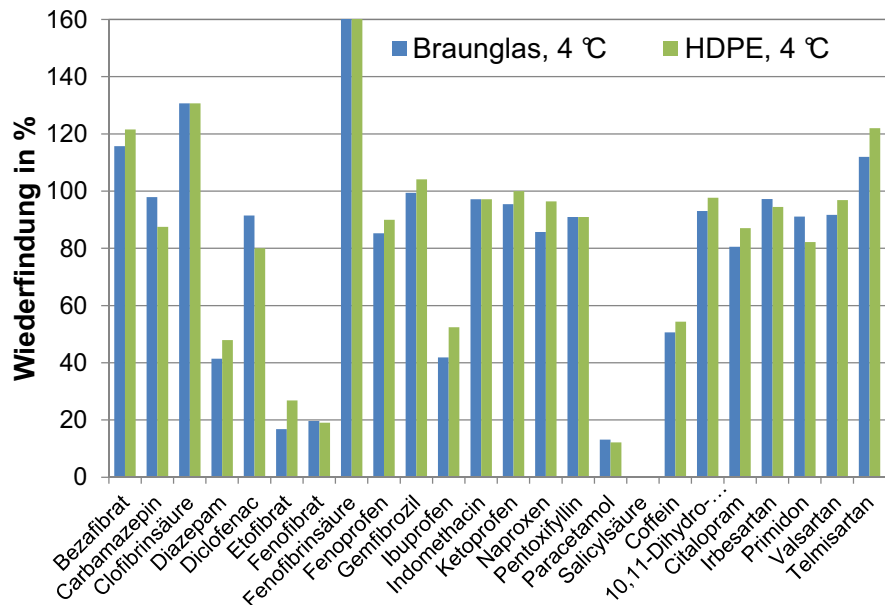
- Unterschiede zwischen Glas- und HDPE-Flaschen gering
- mögliche Vorteile von silanisierten Flaschen vorrangig für Chinolon- und Sulfonamid-Antibiotika erkennbar
- Tetracycline, beta-Lactame und Makrolide zeigen allgemeines Stabilitätsproblem



PROBENAHMEGEFÄßE

Pharmaka

- Kläranlagenablauf
- Braunglas, HDPE
- 14 Tage Lagerzeit
- Temperatur 4 °C

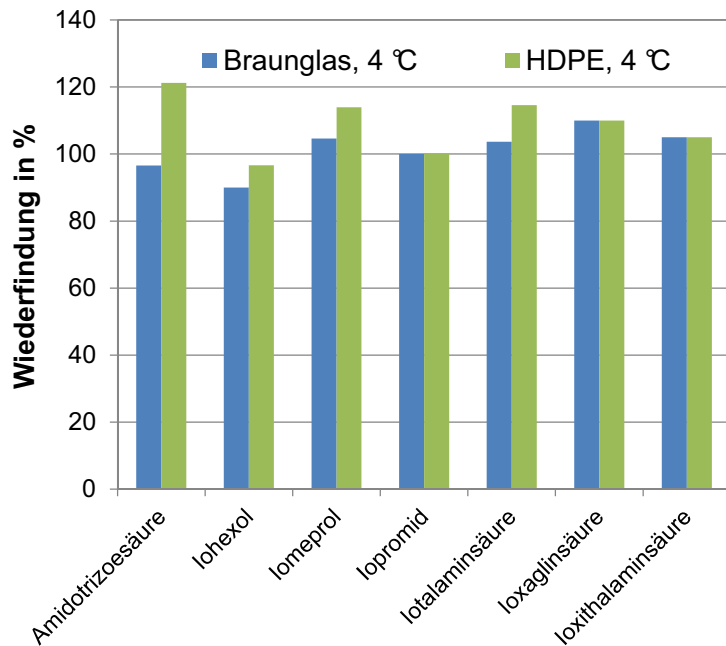


- keine signifikanten Unterschiede zwischen Braunglas- und HDPE-Flaschen



Röntgenkontrastmittel

- Kläranlagenablauf
- Braunglas, HDPE
- 14 Tage Lagerzeit
- Temperatur 4 °C



- keine signifikanten Unterschiede zwischen Braunglas- und HDPE-Flaschen

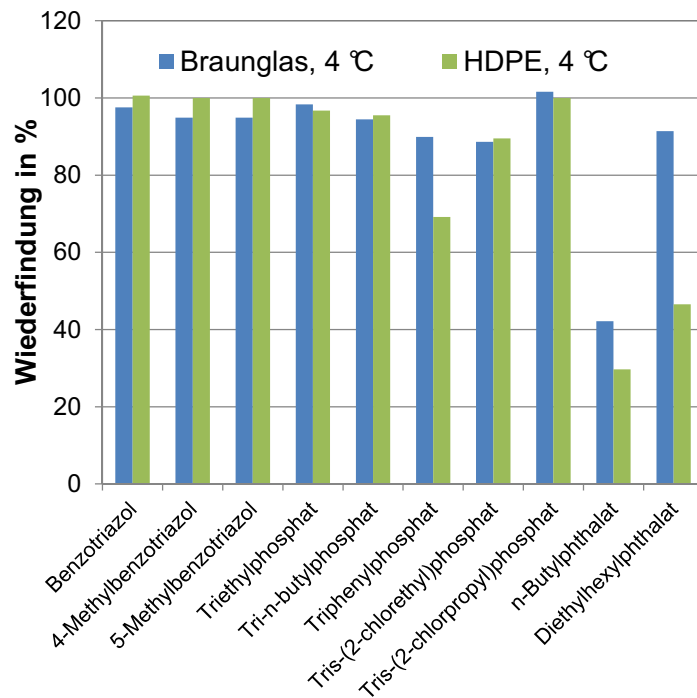
Jahrestagung AQS BW 07.03.2013

TZW



Industriechemikalien

- Kläranlagenablauf
- Braunglas, HDPE
- 14 Tage Lagerzeit
- Temperatur 4 °C



- teilweise leichte Minderbefunde bei HDPE-Flaschen

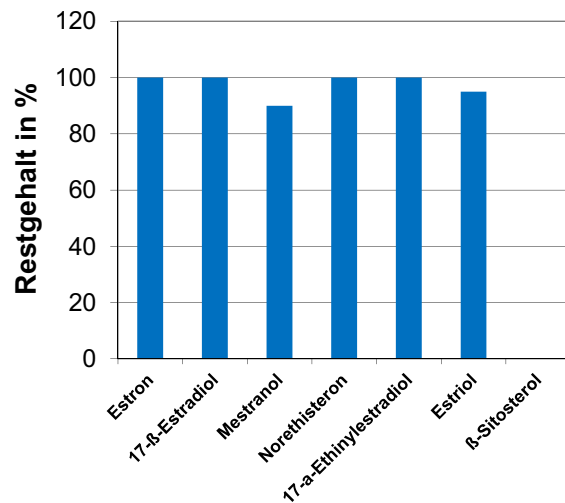
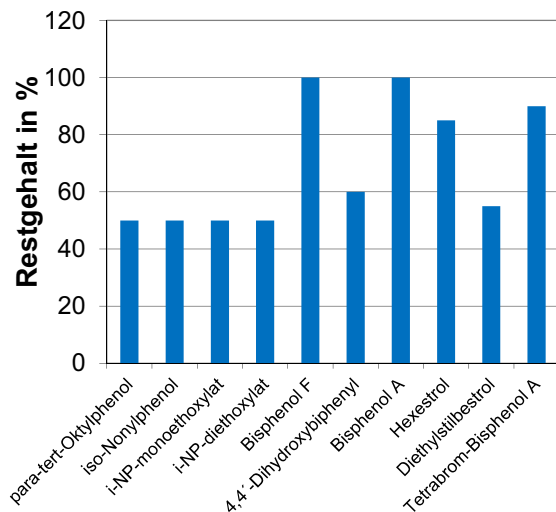
Jahrestagung AQS BW 07.03.2013

TZW



Alkylphenole und Steroidhormone

Oberflächenwasser, HDPE, 21 Tage Lagerzeit, -18 °C



- Alkylphenole nehmen teilweise bis zu 50% ab
- Steroidhormone zeigen keine Konzentrationsabnahme

Jahrestagung AQS BW 07.03.2013

TZW



- HDPE-Flasche + 20 mL Aceton (16 Stunden)
 - keine Phthalate nachweisbar (DEHP u.a.)
 - kein iso-Nonylphenol nachweisbar
 - kein tert.-Oktylphenol nachweisbar
 - 20 ng/L Bisphenol A (bezogen auf 1 L Wasserprobe)
- HDPE-Flasche + 1 L Milli-Q Wasser (16 Stunden)
 - keine Phthalate und keine Alkylphenole nachweisbar
- HDPE-Flasche + 1 L Oberflächenwasser (21 Tage)
 - 23 ng/L Bisphenol A (Hintergrundwert: 6 ng/L)
- HDPE-Flasche + 20 mL 1%ige HNO₃ (16 Stunden)
 - 8,3 µg/L Zink (bezogen auf 1 L Wasserprobe)
 - keine weiteren Schwermetalle nachweisbar

Jahrestagung AQS BW 07.03.2013

TZW



REDUKTIONSMITTEL

Vanderford et al., Anal Bioanal Chem 399:2227–2234 (2011)

- Braunglasflaschen
- demineralisiertes gechlortes Wasser
- 50 mg/L Reduktionsmittel (Ascorbinsäure, Natriumsulfit, Natriumthiosulfat)
- 14 Tage Lagerzeit
- Temperatur 4 °C

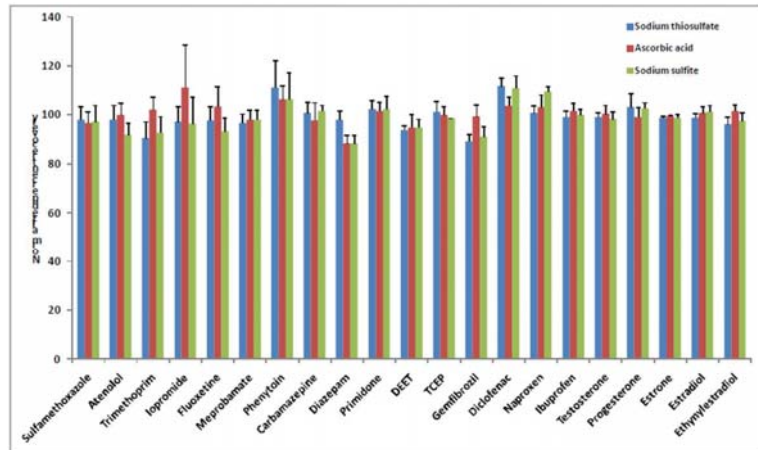


Figure S2 Effect of quenching agents on normalized recovery of target analytes (Blue (first bar) – Sodium thiosulfate, Red (second bar) – Ascorbic acid, Green (third bar) – Sodium sulfite). Error bars indicate one standard deviation.

- keine der 21 Substanzen zeigt negative Effekte mit einem der Reduktionsmittel
- Ammoniumchlorid nicht anwendbar, da zu langsame Reaktion



TEMPERATUR - STABILISIERUNGSREAGENZILIEN

Vanderford et al., Anal Bioanal Chem 399:2227–2234 (2011)

- Braunglasflaschen
- 28-35 Tage Lagerzeit
- versch. Temperaturen, versch. Stabilisierungsmittel
- Oberflächenwasser
- Abbau der Hormone bei 4 °C und 25 °C, teilweiser Abbau bei -20 °C
- pH-Abhängigkeit für Sulfamethoxazol, Iopromid, Diclofenac
- TCEP, Sulfamethoxazol und Carbamazepin mit Wiederfindungen < 85% bei -20 °C
- 4 °C und Natriumazid als optimale Kombination

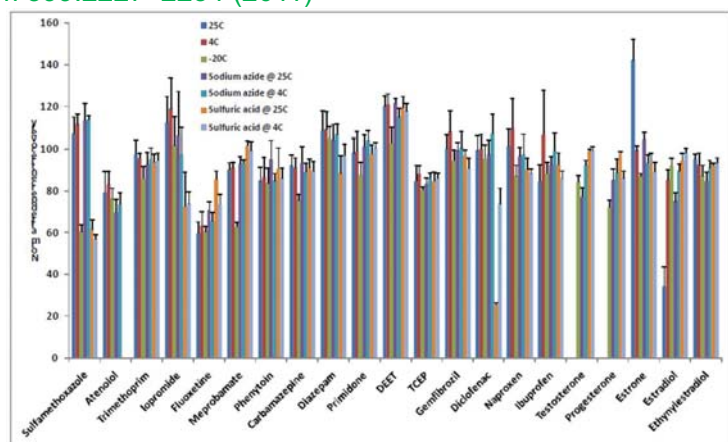


Figure S3 Effect of preservation techniques on normalized recovery of target analytes (Dark blue (first bar) – 25°C, Red (second bar) – 4°C, Green (third bar) – -20°C, Purple (fourth bar) – Sodium azide @ 25°C, Light blue (fifth bar) – Sodium azide @ 4°C, Orange (sixth bar) – pH <2 @ 25°C, Gray (seventh bar) – pH <2 @ 4°C). Error bars indicate one standard deviation.

Table 2 Preservation techniques not recommended for use with listed compounds

25 °C	4 °C	-20 °C	Sodium azide(25 °C)	Sodium azide(4 °C)	Sulfuric acid(pH<2(25 °C))	Sulfuric acid(pH<2(4 °C))
Atenolol	Atenolol	Atenolol	Atenolol	Atenolol	Atenolol	Atenolol
DEET	DEET	Carbamazepine	DEET	DEET	DEET	DEET
Estrone*	Fluoxetine	Fluoxetine	Estradiol	Fluoxetine	Diclofenac	Diclofenac
Estradiol	Progesterone	Meprobamate	Fluoxetine		Iopromide	Fluoxetine
Fluoxetine	Testosterone	Progesterone	Testosterone		Sulfamethoxazole	Iopromide
Progesterone		Sulfamethoxazole				Sulfamethoxazole
Testosterone		TCEP				
		Testosterone				

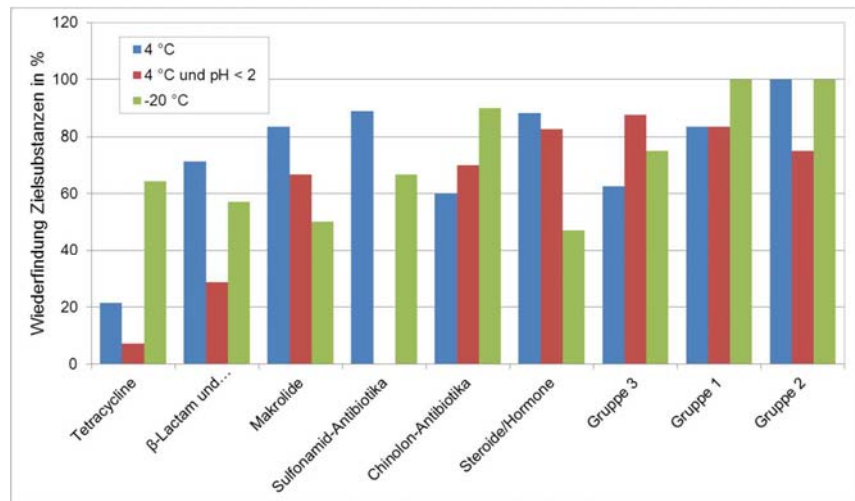
*Only if estradiol is expected to be present at a high enough concentration



TEMPERATUR - STABILISIERUNGSREAGENZIEN

U.S. Environmental Protection Agency (EPA): EPA-820-R-10-008

- dotierter Kläranlagen-Ablauf
- 4 °C, 4 °C und pH 2, -20 °C
- 7 Tage Lagerzeit



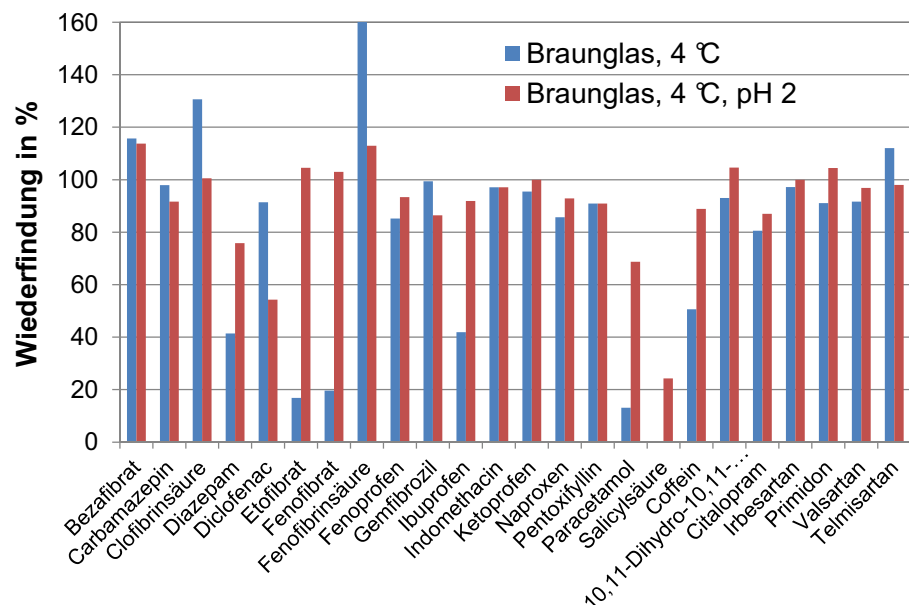
- keine verbesserte Stabilität für Makrolide, Sulfonamid-Antibiotika, Steroide und Hormone durch Einfrieren
- teilweise Verluste durch Ansäuern (Tetracycline, β-Lactame, Sulfonamide)



SÄUREZUGABE

Pharmaka

- Kläranlagenablauf
- Braunglas
- Original-pH und pH 2 (Salzsäure)
- 14 Tage Lagerzeit
- Temperatur 4 °C



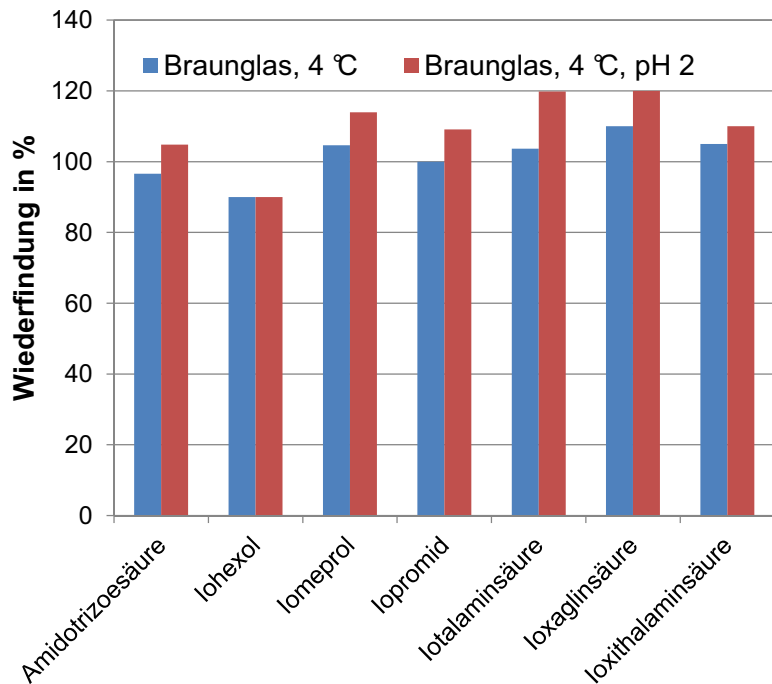
- für einige Verbindungen (Diazepam, Etofibrat, Fenofibrat, Ibuprofen, Paracetamol, Salicylsäure) deutliche Minderbefunde bei Original-pH
- für Diclofenac und einige Betablocker Minderbefunde bei pH 2



SÄUREZUGABE

Röntgenkontrastmittel

- Kläranlagenablauf
- Braunglas
- Original-pH und pH 2 (Salzsäure)
- 14 Tage Lagerzeit
- Temperatur 4 °C



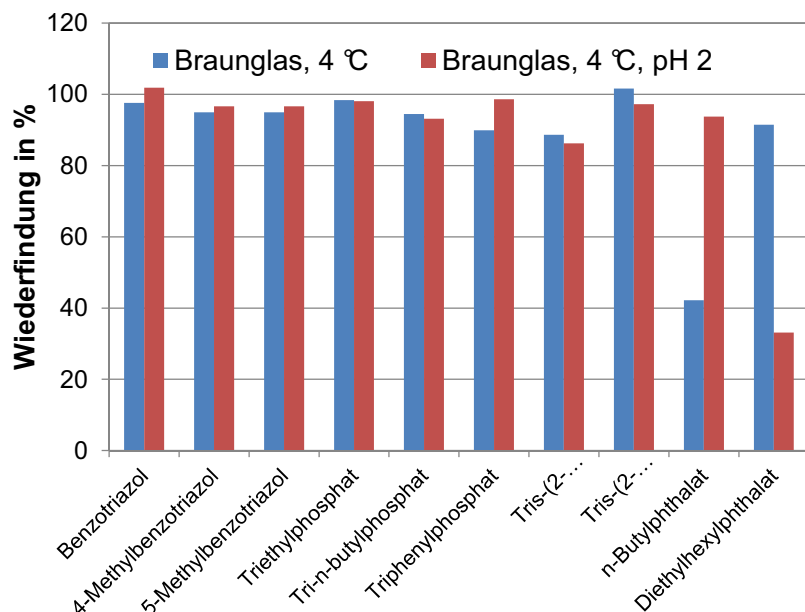
- kein signifikanter Einfluss des pH-Wertes



SÄUREZUGABE

Industriechemikalien

- Kläranlagenablauf
- Braunglas
- Original-pH und pH 2 (Salzsäure)
- 14 Tage Lagerzeit
- Temperatur 4 °C

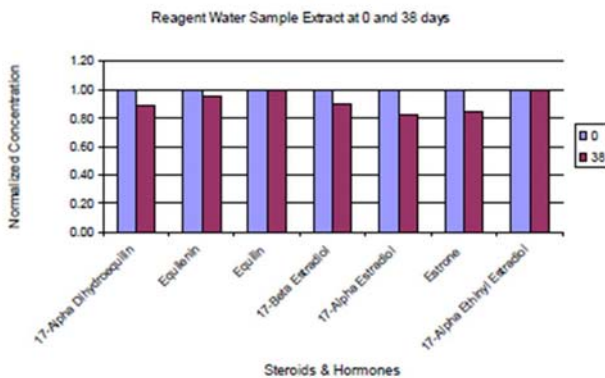
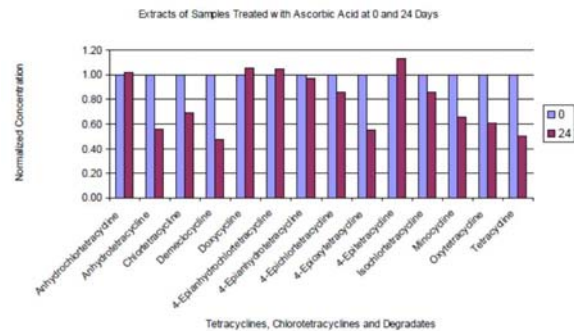
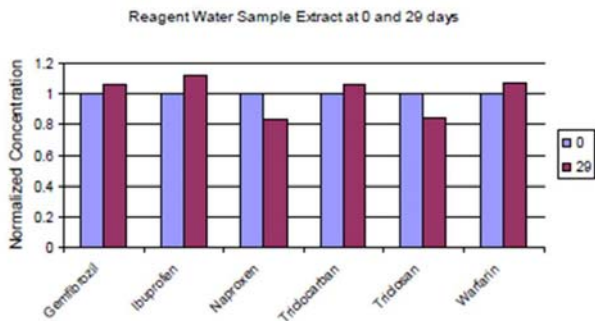


- kein großer Einfluss des pH-Wertes
- Minderbefunde bei pH 2 für DEHP
- Minderbefunde bei Original-pH für Di(n-butyl)phthalat



STABILITÄT DER EXTRAKTE

U.S. Environmental Protection Agency (EPA): EPA-820-R-10-008

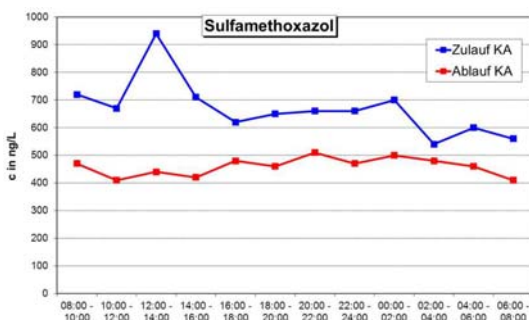
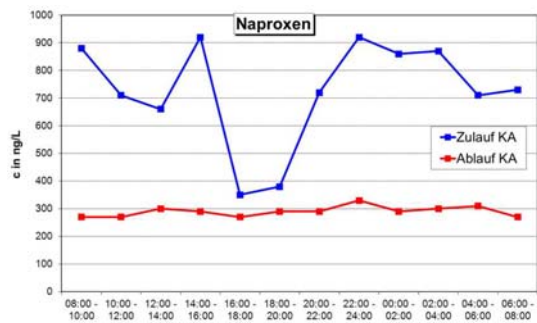
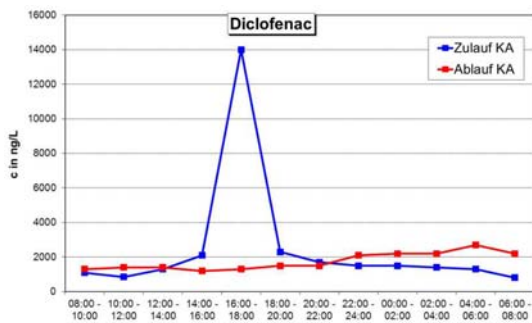


Lagerung der Extrakte (Methanol/ Ameisensäure) bei 4 °C über verschiedene Zeiträume

- die meisten PPCP sind im Extrakt bis zu 30 Tage stabil
- Ausnahme: Tetracycline



STICHPROBE VS. MISCHPROBE



- Insbesondere bei der Betrachtung von Eliminationsraten und bei der Berechnung von Massenbilanzen sind Mischproben vorzuziehen
- Problem: Stabilität der Verbindungen



VANDERFORD-STUDIE : SCHLUSSFOLGERUNGEN

PRiMa T

- ⇒ nur geringe Unterschiede zwischen Braunglas und HDPE
- ⇒ bei 4 °C sind in Braunglas nahezu alle Verbindungen 3 Tage stabil

- Flaschen: Braunglasflaschen
- Stabilisierung: Natriumazid
- Reduktionsmittel: Ascorbinsäure
- Lagerung: 4 °C
- Aufbewahrung: Aufarbeitung innerhalb von 28 Tagen



EPA-STUDIE: SCHLUSSFOLGERUNGEN

PRiMa T

- ⇒ kein Probenahmegefäß mit eindeutigen Vorteilen für alle Verbindungen
- ⇒ Entscheidung in Abhängigkeit von projektspezifischen Verbindungen

- Flaschen: Braunglasflaschen oder braune HDPE-Flaschen
- Proben nicht auf pH 2 ansäuern
- Reduktionsmittel: Ascorbinsäure
- Lagerung: im Dunkeln bei < 6 °C
- Aufbewahrung: Aufarbeitung innerhalb von sieben Tagen; Analyse der Extrakte innerhalb von 30 Tagen



- Flaschen: Braunglasflaschen (Glasstopfen)
- Proben nicht auf pH 2 ansäuern
- Lagerung: bei 4 °C
- Aufarbeitung so schnell wie möglich



Jahrestagung AQS BW 07.03.2013

TZW



- Art der Probenahmegefäße
 - **Braunglasflaschen mit Vollstopfen**
 - Glasflaschen mit Schraubverschluss und Teflondichtung
 - **Keine Kunststoffflaschen**
- Spülen der Probenahmegefäße
 - **Säure**, (Lauge)
 - Organische Lösemittel (Aceton)
 - **Kein Spülmittel**
 - Falls möglich: Ausheizen bei mind. 200 °C

Jahrestagung AQS BW 07.03.2013

TZW



- Stabilisierung der Proben bei Transport und Lagerung
 - **Analytik so rasch wie möglich, spätestens nach 7 Tagen**
 - Falls keine rasche Analytik möglich: Einfrieren
 - Extrakte und beladene SPE-Kartuschen können im Gefrierschrank für max. 30 Tage gelagert werden
 - **Proben kühl transportieren und lagern (4 °C)**
 - **Keine Zugabe von Säure, Natriumazid o.ä.**
 - Bei Mischproben über längere Zeiträume (> 3 Tage): Stabilisierung durch Natriumazid (ca. 1 g/L)
 - Bei Wirkttests: grundsätzlich keine Stabilisierung



- Zerstörung von Oxidationsmitteln („Abstoppen“)
 - **Vorgehensweise hängt von Fragestellung ab**
 - Natriumsulfit
 - Natriumthiosulfat
 - Ascorbinsäure
 - Begasen mit Stickstoff oder Luft
- Filtration der Proben
 - Abhängig von der Fragestellung
 - Bei Auswahl des Filtermaterials Blindwerte und Adsorptionsverluste berücksichtigen
 - Negativ- und Positivkontrollen sollten analysiert werden
 - Vorgehensweise bei der Ergebnisangabe vermerken



- Art der Probe
 - **Probenart hängt von Fragestellung ab**
 - Stichprobe
 - Mischprobe (Stabilität der Zielverbindungen beachten)
 - Bei automatisierten Probenehmern Blindwerte und Adsorptionsverluste berücksichtigen



- Es gibt keine Bedingungen für Probenahme und Lagerung, die für alle Verbindungen gleichermaßen optimal sind
- Entscheidung muss immer in Abhängigkeit von spezifischen Randbedingungen (Zielverbindungen, Matrix, Fragestellung) getroffen werden
- Vereinbarungen innerhalb des RiSKWa-Verbundes:
 - Flaschen: Braunglasflaschen (Glasstopfen)
 - Proben nicht auf pH 2 ansäuern
 - Lagerung: bei 4 °C
 - Aufarbeitung so rasch wie möglich, spätestens nach 7 Tagen
 - über Filtration der Probe, Art der Probe, Entfernung von Oxidationsmitteln muss abhängig von der Fragestellung entschieden werden