

Entwicklung einer Thermodesorptionseinheit
für die GC/MS
zur Bestimmung
hochreaktiver, biogener Kohlenwasserstoffe
und deren Anwendung im Rahmen
von Labor- und Feldstudien

Dissertation zur Erlangung des Grades
„Doktor der Naturwissenschaften“

im Promotionsfach Chemie
am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften
der Johannes Gutenberg-Universität
in Mainz

vorgelegt von Julia Münz
geboren in Diez an der Lahn

Mainz, 2010

Dekan:

1. Berichterstatter:

2. Berichterstatter:

Tag der mündlichen Prüfung:

Zusammenfassung

Flüchtige organische Verbindungen (*volatile organic compounds*, VOCs), besonders Terpene, gelten als Vorläufer des sekundären organischen Aerosols (*secondary organic aerosols*, SOA). Terpene werden von Pflanzen zur Abwehr oder zur Attraktion von Bestäubern emittiert. Ungesättigten Verbindungen, wie Sesquiterpene, sind sehr ozonolyseempfindlich und weisen nur geringe Konzentrationen in der Atmosphäre auf. Zudem lassen sie sich mit handelsüblichen Thermodesorptionseinheiten meist nicht ohne Artefakte nachweisen, da sie eine hohe Reaktivität mit vielen Oberflächen zeigen.

Diese Arbeit präsentiert Forschungsergebnisse der qualitativen und (semi)quantitativen Auswertungen flüchtiger organischer Verbindungen in Laborstudien und biogenen Emissionsproben (Feldmessungen) mittels Thermodesorption-Gaschromatographie-Massenspektrometrie (TD-GC/MS). Speziell zur Analyse hochreaktiver Verbindungen wurde eine Thermodesorptionseinheit für die GC/MS entwickelt. Diese besteht aus einer Kryofokussierung, einem Desorptionsofen und einer Heizung. Die Steuerung erfolgt über eine eigens dafür geschaffene Bedienoberfläche von Labview[®] an einem PC über eine nachgeschaltete SPS (speicherprogrammierbare Steuerung). Das komplette Desorptionsprogramm und der Start der GC/MS-Analyse wurden automatisiert.

Die Quantifizierung aller Proben wurde über Diffusionsquellen und Vergleichsmessungen durch auf Adsorptionsröhrchen aufgebrachte Verdünnungsreihen realisiert. Um Informationen über die mutmaßlichen Vorläufer des sekundären organischen Aerosols zu erhalten, wurde zudem eine Ozon-Scrubber-Methode basierend auf Propen entwickelt. Diese wurde anhand von Standards in einer Reaktionskammer getestet und in Feldmessungen erfolgreich angewendet. Quantitative Analysen zeigen, dass die meisten Terpene so vollständig vor der Ozonolyse bewahrt werden können. Für hochreaktive Analyte wie α -Humulen oder β -Caryophyllen wurden Wiederfindungsraten von über 80 % erreicht. So konnte die Temperaturabhängigkeit der Terpen-Emissionen der Fichte (*Picea abies*) in Feldmessungen nachgewiesen werden.

Eine weitere Anwendungsmöglichkeit wurde mit der Unterscheidung verschiedener Arten der gleichen Gattung anhand der Emissionsmuster und der möglichen Abgrenzung verschiedener Bestäubertypen am Beispiel der Gattung *Salvia* untersucht. Die Emissionsanalysen zeigen, dass eine Zuordnung der Verwandtschaftsverhältnisse zusätzlich zu anderen Vergleichen möglich ist. Das gleiche gilt für die Differenzierung von Bestäubertypen. Die Ergebnisse der Feldmessungen wurden durch Methodenvergleich zwischen biogenen Emissionsmessungen mit anschließender TD-GC/MS-Analyse und Extraktionen der jeweiligen Blüten/Blätter mit anschließender GC/MS-Messung bestätigt.

Die Anwendungen des neuen TD-GC/MS-Systems für Proben, die an der westirischen Küste genommen wurden, ergaben neben halogenhaltige Verbindungen wie Iodmethan und Diiodmethan und auch Mono- und Sesquiterpene. Anhand der Messergebnisse konnten Zusammenhänge zwischen dem Wetter bzw. der Lichtintensität und der Analytkonzentration nachgewiesen werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es mit dem im Zuge dieser Arbeit neu entwickelten Thermodesorptionssystem als Injektor für die GC-MS möglich ist, flüchtige, hochreaktive Analyten im Spurenbereich in Realproben quantitativ zu bestimmen. Mittels des verwendeten Ozon-Scrubber basierend auf Propen konnte gezeigt werden, dass reaktive Verbindungen auch bei hohen Ozonkonzentrationen in Feldmessungen nachgewiesen werden können. Die beobachteten Korrelationen wie die Temperaturabhängigkeit unterstreichen den großen Anwendungsbereich und die Verlässlichkeit der Methode. Dies bildet die Basis für weitere Untersuchungen, um die Zusammenhänge, die zur Emission flüchtiger organischer Substanzen und zur Partikelbildung führen, vollständig zu verstehen.

Summary

Volatile organic compounds (VOCs), especially terpenes, are considered to be precursors of secondary organic aerosols (SOA). Terpenes are emitted by plants for defence or attracting pollinators. Unsaturated compounds like sesquiterpenes are very sensitive to ozone and show only low concentrations in the atmosphere. Due to their high reactivity on many surfaces artefacts were often formed during sampling and measuring.

This work presents results of qualitative and (semi-) quantitative analyses of volatile organic compounds in laboratory studies and in field measurements with plenty of biogenic emissions by thermodesorption gas chromatography mass spectrometry (TD-GC/MS). A new thermodesorption unit as an injector for the GC-MS system, consisting of a cryo trap, a desorption oven and a heating, was developed. The TD unit is connected to a GC-MS system by a self-made operating interface of Labview[®], which is automatically controlled by a “SPS” (“*speicherprogrammierbare Steuerung*”).

The quantification was achieved by external calibration of adsorption tubes by self-certified diffusion sources and comparative measurements of liquid samples. A new ozone scrubber method based on propene was developed to analyze high reactive VOCs in the atmosphere. It was tested with standards in a reaction chamber. Quantitative analyses showed that most of the terpene can be completely preserved from ozonolysis. Recovery rates for high reactive analytes such as α -Humulen and β -Caryophyllen are higher than 80 %. This technique was successfully applied in field measurements to analyze monoterpenes and sesquiterpenes. So a temperature dependence of the terpene emission from spruce (*Picea abies*) has been indicated.

Correlations of different species of the same genus and between varied pollinators by the analyses of flower emissions have been tested on *Salvia*. The results showed that TD-GC/MS is a reliable method for classification of the relationship between different species of the same genus and for correlation of the differentiation of pollinators. The results of the field measurements were confirmed by method comparison between biogenic emission samples with TD-GC/MS analysis and extractions of the blossoms followed by GC/MS measurement.

The applications of the TD-GC/MS system in field samples from the West-Irish coast showed that not only organoiodides such as CH_3I and CH_2I_2 but also monoterpenes and sesquiterpenes could be successfully detected. Moreover, correlations between analyte concentration and environmental parameters such as weather conditions and light intensity were found.

To sum up, a new TD-GC/MS system has been developed to determine quantitatively volatile, highly reactive analytes in trace levels. The new ozone scrubber provides the possibility of field measurements under high ozone concentrations. The observed correlations and temperature dependence confirm the large applicability and consistency of the method. This method provides a basis for further detailed

investigations on SOA precursors and their influencing factors. For a better understanding more efforts have to be undertaken in the future.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	III
Tabellenverzeichnis.....	III
Abkürzungsverzeichnis.....	III
Motivation und Zielsetzung dieser Arbeit.....	3
1 Grundlagen.....	3
1.1 Biogene, flüchtige organische Substanzen.....	3
1.1.1 Attraktion.....	3
1.1.2 Abwehr.....	3
1.2 Biosynthese der Terpene.....	3
1.3 Emissionen von Terpenen und Stressoren.....	3
1.4 Gebrauch, Anwendung und Gewinnung von Terpenen	3
1.5 Aerosol	3
1.6 Flüchtige organische Iodverbindungen	3
1.7 Theorie zur Luftprobenahme (Gasphasenkomponenten).....	3
1.8 Temperaturabhängigkeit der biogenen Terpenemissionen.....	3
1.9 Entfernung von atmosphärischem Ozon in Bodennähe	3
1.10 Die Thermodesorption.....	3
1.11 Analytik von Terpenen.....	3
1.11.1 Bestimmung von Pflanzen-Emissionen in der Atmosphäre.....	3
1.11.2 Bestimmung von Pflanzeninhaltsstoffen mittels Extraktion.....	3
1.12 Gaschromatographie.....	3
1.13 Massenspektrometrie.....	3
2 Entwicklung und Aufbau einer Thermodesorptionseinheit.....	3
2.1 Aufbau.....	3
2.2 Ablauf des Thermodesorptionsprozesses.....	3
3 Experimentelle Teil.....	3
3.1 Verwendete Substanzen und Geräte.....	3
3.1.1 Verwendete Chemikalien und Verbrauchsmaterialien	3
3.1.2 Lagerung von Proben, Standards und Adsorptionsröhrchen.....	3
3.1.3 Störsignale und Blindwerte, sowie deren Vermeidung	3
3.1.4 Messparameter des verwendeten GC/MS-Systems.....	3
3.1.5 Optimierung der Kapillargaschromatographie.....	3

3.2	Qualitative und quantitative Analyse.....	3
3.2.1	Präparation und Optimierung der Adsorptionsröhrchen.....	3
3.2.2	Identifizierung und Quantifizierung der Analyten	3
3.2.3	Quantifizierung durch Probenahme an Diffusionsquellen	3
3.2.4	Herstellung von Terpen-Standards in Cyclohexan	3
3.2.5	Quantifizierung über das Aufbringen von Terpen-Standards.....	3
3.3	Ozon-Scrubber	3
3.3.1	Entwicklung einer neuen Methode zur Verringerung von Ozon in Außenluftproben mittels Propen.....	3
3.3.2	Vorgehensweise	3
3.3.3	Durchbruchsvolumen.....	3
3.4	Probenahme	3
3.4.1	Probenahme-Orte, Zeitpunkte und Temperaturen.....	3
3.4.2	Anwendung des Ozon-Scrubbers	3
3.4.3	Emissionsmessungen von Einzelblüten.....	3
3.4.4	Methodenvergleich	3
3.4.5	Extraktion von Realproben.....	3
3.4.6	Marine Emissionsproben.....	3
4	Auswertung und Ergebnisse.....	3
4.1	Quantitative Analyse ausgewählter Mono- und Sesquiterpene mittels TD-GC/MS.....	3
4.1.1	Diffusionsquellen.....	3
4.1.2	Vergleichmessungen in Cyclohexan.....	3
4.2	Quantitative Analyse von Terpenen mit Propen als Ozon-Scrubber in Labor- und Freilandmessungen	3
4.2.1	Ozon.....	3
4.2.2	Propen als Ozon-Scrubber	3
4.2.2.1	Versuche in der Reaktionskammer	3
4.2.2.2	Versuche nach Adsorption.....	3
4.2.3	Anwendung der neu entwickelten Ozon-Scrubber-Methode im Labor und in Feldmessungen am Beispiel der Fichte (<i>Picea abies</i>)	3
4.2.3.1	Zugabe von Ozon im Labor	3
4.2.3.2	Feldmessungen mit Propen.....	3
4.3	Anwendung der neu entwickelten Thermodesorptionseinheit für Emissionsanalysen.....	3
4.3.1	Reproduzierbarkeit der Feldmessungen	3

4.3.2	Temperaturabhängigkeit der Freilandemissionen	3
4.3.3	Qualitativer Methodenvergleich zwischen Emissionsmessungen und Extraktionen	3
4.3.3.1	Beispiel „Aristolochia Salvadorensis“	3
4.3.3.2	Beispiel „Fichte“ (<i>Picea abies</i>)	3
4.3.3.3	Beispiel „ <i>Salvia oxiphora</i> “ (Blüte).....	3
4.3.4	Zuordnung von Pflanzenarten innerhalb einer Gattung anhand des Emissionsmusters	3
4.3.5	Unterscheidung der Bestäubertypen mittels Emissionsanalyse ..	3
4.3.6	Anwendung für halogenhaltige Analyten bei gleichzeitiger Bestimmung von Terpenen in marinen Emissionsproben.....	3
4.3.6.1	Marine Emission.....	3
4.3.6.2	Beispiel „geringe Lichtintensität“	3
4.3.6.3	Beispiel „hohe Lichtintensität“	3
5	Zusammenfassung und Ausblick.....	3
	Literaturverzeichnis.....	3
	Danksagung.....	3
	Anhang	3
A-1	Zu Kapitel 2.....	- 3 -
A-2	Zu Kapitel 3.....	- 3 -
A-3	Zu Kapitel 4.....	- 3 -

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1:	Funktionen von Sekundärmetaboliten	3
Abbildung 1.2:	Vier möglichen Funktionen der biogenen VOCs (Holopainen, J. K., 2004)	3
Abbildung 1.3:	Semiochemikalien	3
Abbildung 1.4:	Direkte und indirekte Abwehr von Herbivoren (nach Degenhardt et al., 2003)	3
Abbildung 1.5:	Verknüpfung der Isopreneinheiten (Hänsel, R. und Sticher, O., 2010)	3
Abbildung 1.6:	Übersicht über die Hauptgruppen der Terpene (Hänsel, R. und Sticher, O., 2010)	3
Abbildung 1.7:	Schematische Darstellung des klassischen Acetat-Mevalonat (Ac-MVA)- und des alternativen Nicht-Mevalonat(DXP/MEP)-Biosyntheseweges von Isopren (Hänsel, R. und Sticher, O., 2010)	3
Abbildung 1.8:	neue Bildungswege von Terpenen (Yu, F. und Utsumi, R., 2009)	3
Abbildung 1.9:	Quellen und Senken atmosphärischer Aerosolpartikel..	3
Abbildung 1.10:	Vereinfachte Darstellung der Größenverteilung atmosphärischer Partikel in Quellennähe und der wichtigsten atmosphärischen Prozesse und Eliminationsmechanismen (Schnelle-Kreis et al., 2007)	3
Abbildung 1.11:	Schematische Darstellung des Iodkreislaufs in der maritimen Umgebung.....	3
Abbildung 1.12:	Überblick über die verschiedenen Techniken zur Luftprobenahme von Gasphasenkomponenten (modifiziert nach Cammann, 2000)	3
Abbildung 1.13:	Kanister und Adsorptionsröhrchen	3
Abbildung 1.14:	Schematische Darstellung der Adsorption und Desorption	3
Abbildung 1.15:	Überblick der Probenahmetechniken.....	3
Abbildung 1.16:	VOC-Emission of Scots pine (V. Tarvainen et al., 2005)	3
Abbildung 1.17:	Möglichkeiten der Visualisierung der Temperaturabhängigkeit: Änderungen der α -Pinen-Temperaturabhängigkeit (Holzke, 2006) und α -Pinen-Temperaturabhängigkeit (Schuh, 1997) ...	3
Abbildung 1.18:	Aufbau eines Gaschromatographen (GV: Gasversorgung, GR: Gasregelung, E: Einlaß für Proben, DS: Datenverarbeitungssystem).....	3
Abbildung 1.19:	Die „van-Deemter“-Gleichung	3
Abbildung 1.20:	„Constant flow“ und „constant pressure“	3
Abbildung 1.21:	Strukturen der stationären Phase (100 % Dimethylsiloxan, 5 %-Phenyl-/ 95 %-Dimethylsiloxan, Polyethylenglykol)....	3

Abbildung 1.22:	Allgemeines Schema zum Aufbau eines Massenspektrometers (A: Einlaß-System, B: Ionenquelle, C: Analysator, D: Detektor/ Datensystem, E: Vakuumsystem).....	3
Abbildung 1.23:	Schematischer Aufbau einer EI-Ionenquelle.....	3
Abbildung 1.24:	Ionenausbeute als Funktion der Primärelektronenenergie	3
Abbildung 1.25:	Schematischer Aufbau eines Quadrupols (Schmidt, 1999) und Blick in z-Richtung (Gross, 2004)	3
Abbildung 1.26:	Schematischer Aufbau einer dreidimensionalen Quadrupol-Ionenfalle und Seitenansicht (Gross 2004)	3
Abbildung 2.1:	Thermodesorptionsinjektor (schematische Abbildung und Foto)	3
Abbildung 2.2:	Schematischer Aufbau und Außenansicht des Messingofens	3
Abbildung 2.3:	Kryofokussierungseinheit.....	3
Abbildung 3.1:	Strukturen von Tenax [®] und Carbotrap [®]	3
Abbildung 3.2:	Foto und schematischer Aufbau eines Adsorptionsröhrchens mit Tenax [®] und Carbotrap [®]	3
Abbildung 3.3:	Schematischer Aufbau der Probenahmestation und Reaktionskammer	3
Abbildung 3.4:	Quelle mit Quellengefäß und Thermostat	3
Abbildung 3.5:	Schematischer Aufbau und Foto eines neu entwickelten Diffusionsquellengefäßes	3
Abbildung 3.6:	Taunusobservatorium am kleinen Feldberg (Karte) und Foto (IMG der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt)	3
Abbildung 3.7:	Probenahme mit Propen.....	3
Abbildung 3.8:	schematischer Aufbau und Foto der Probenahme mit dem verwendeten Einlasssystem.....	3
Abbildung 3.9:	Extraktion	3
Abbildung 3.10:	Mace Head (Nähe Carna), Probenahmeort an der westirischen Küste.....	3
Abbildung 3.11:	Probenahme an der westirischen Küste mittels Stativ und direkt auf den Algen	3
Abbildung 4.1:	Chromatogramm der Diffusionsquellen der „Terpenmassenspur“ (Summe der Massenspuren (m/z = 51, 53, 65, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 119, 121, 133, 136, 147, 161, 189, 204))	3
Abbildung 4.2:	a) EI-MS Spektrum von β -Pinen b) EI-MS Spektrum von Isolongifolen.....	3
Abbildung 4.3:	Kalibrierfunktionen von a) β -Pinen und b) Aromadendren	3
Abbildung 4.4:	Kalibrierfunktionen von a) β -Pinen und b) Aromadendren in Cyclohexan	3

Abbildung 4.5:	Sesquiterpene a) vor und b) nach der Zugabe von Ozon, Chromatogramm der Summe der Massenspuren ($m/z = 51, 53, 65, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 119, 121, 133, 136, 147, 161, 189, 204$)3
Abbildung 4.6:	Wiederfindungsraten der Sesquiterpene in Anwesenheit von Ozon (75 ppb).....3
Abbildung 4.7:	Wiederfindungsraten der Monoterpene in Anwesenheit von Ozon (75 ppb).....3
Abbildung 4.8:	Wiederfindungsraten der Sesquiterpene a) α -Cedren und b) β -Caryophyllen bei Zugabe von Stickstoff als Standard (hellblau), Ozon (rot) und Propen (grün)3
Abbildung 4.9:	Wiederfindungsraten der Sesquiterpene a) α -Humulen und b) α -Cedren bei Zugabe von Stickstoff (hellblau), Ozon (rot) und Propen (grün).....3
Abbildung 4.10:	Chromatogramm der Summe der Massenspuren ($m/z = 51, 53, 65, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 119, 121, 133, 136, 147, 161, 189, 204$) der getopften Fichte (<i>Picea abies</i>).....3
Abbildung 4.11:	vergrößerter Ausschnitt des Monoterpen-Bereichs, Chromatogramm der Summe der Massenspuren ($m/z = 51, 53, 65, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 119, 121, 133, 136, 147, 161, 189, 204$) der getopften Fichte.....3
Abbildung 4.12:	vergrößerter Ausschnitt des Sesquiterpen-Bereichs, Emissions-Chromatogramm der Summe der Massenspuren ($m/z = 51, 53, 65, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 119, 121, 133, 136, 147, 161, 189, 204$) der getopften Fichte.....3
Abbildung 4.13:	vergrößerter Ausschnitt des Sesquiterpen-Bereichs der getopften Fichte mit anschließender Zugabe von Ozon (5 min, 800 ppb), Emissions-Chromatogramm der Summe der Massen-spuren ($m/z = 51, 53, 65, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 119, 121, 133, 136, 147, 161, 189, 204$).....3
Abbildung 4.14:	vergrößerter Ausschnitt des Sesquiterpen-Bereichs einer Fichte am kleinen Feldberg, Feldmessung unter Zugabe von Propen, Emissions-Chromatogramm der Summe der Massen-spuren ($m/z = 51, 53, 65, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 119, 121, 133, 136, 147, 161, 189, 204$).....3
Abbildung 4.15:	Probenahme mit und ohne Propen als Ozon-Scrubber am Beispiel der Limonenkonzentration.....3
Abbildung 4.16:	Drei Chromatogramme (rot, grün, schwarz) von <i>Aristolochia Salvadorensis</i> aus Feldmessungen im Bereich von 20 min bis 35 min. Summe der m/z Verhältnisse gegen die relative Intensität3
Abbildung 4.17:	EI-MS-Spektren der Signale bei a) 24,33 min bzw. b) 29,28 min3

- Abbildung 4.18: Konzentration der Limonen-Emissionen und Temperatur gegen Probenahmezeit 3
- Abbildung 4.19: Linearer Zusammenhang zwischen Temperatur und Limonen-Konzentration 3
- Abbildung 4.20: Vergleich der Ozonwerte gegenüber der Limonenkonzentration 3
- Abbildung 4.21: Chromatogramme des TIC und ausgewählte m/z-Verhältnisse (204, 189, 161, 147, 93, 136) verschiedener Terpene in Cyclohexan 3
- Abbildung 4.22: Kalibrierung a) des Monoterpens α -Pinen und b) des Sesquiterpens β -Caryophyllen in Cyclohexan mittels GC/MS 3
- Abbildung 4.23: a) oberes Chromatogramm (Summe ausgewählter m/z-Verhältnisse): Emissionsanalyse der Blüte der „Aristolochia Salvadorensis“ mittels TD-GC/MS ; b) unteres Chromatogramm (ausgewählte m/z-Verhältnisse): Extraktion der Blüte der „Aristolochia Salvadorensis“ in Cyclohexan und anschließender GC/MS-Messung..... 3
- Abbildung 4.24: vergrößerter Ausschnitt des Sesquiterpen-Bereichs a) oberes Chromatogramm (Summe ausgewählter m/z-Verhältnisse): Emissionsanalyse der Blüte der „Aristolochia Salvadorensis“ mittels TD-GC/MS ; b) unteres Chromatogramm (ausgewählte m/z-Verhältnisse): Extraktion der Blüte der „Aristolochia Salvadorensis“ und in Cyclohexan anschließender GC/MS-Messung..... 3
- Abbildung 4.25: Massenspektren der unbekanntenen Signale bei 29,43 min und 32,138 min, a) Oberes Massenspektrum bei 29,54 min: Emissionsanalyse der Blüte der „Aristolochia Salvadorensis“ mittels TD-GC/MS , b) Unterem Massenspektrum bei 32,138 min: Extraktion der Blüte der „Aristolochia Salvadorensis“ in Cyclohexan und anschließender GC/MS-Messung..... 3
- Abbildung 4.26: Chromatogramm der Fichtenadelextraktion (oberes: TIC, unteres: Massenspuren m/z 204, 189, 161, 147, 136, 93)..... 3
- Abbildung 4.27: Blüten von *Aristolochia grandiflora*, *Aristolochia arborea* und *Aristolochia salvadorensis* 3
- Abbildung 4.28: Chromatogramme der 3 *Aristolochia* Arten (Terpenmassenspur) 3
- Abbildung 4.29: Ausschnitt des Chromatogramms ausgewählter m/z-Verhältnisse (Terpenmassenspur) 3
- Abbildung 4.30: Ausschnitt des Chromatogramms ausgewählter m/z-Verhältnisse (Terpenmassenspur) der *Salvia sclarea* (links) und der *Salvia nutans* (rechts) a) oben im Bereich der Monoterpene b) unten im Bereich der Sesquiterpene..... 3
-

-
- Abbildung 4.31: Ausschnitt des Chromatogramm ausgewählter m/z-Verhältnisse (Terpenmassenspur) der *Salvia patens* (links) und der *Salvia fulgens* (rechts), a) oben im Bereich der Monoterpen, b) unten im Bereich der Sesquiterpen.....3
- Abbildung 4.32: Chromatogramm und vergrößerter Ausschnitt ausgewählter Massenspuren Summe ausgewählter m/z-Verhältnisse: 127, 141, 142, 268), Probe vom 06.08.2007.....3
- Abbildung 4.33: Massenspektren von Iodmethan und Diiodmethan, Probe vom 06.08.20073
- Abbildung 4.34: Chromatogramm aus gewählter m/z-Verhältnisse (Terpenmassenspur).....3
- Abbildung 4.35: Ausschnitt des Chromatogramms aus gewählter m/z-Verhältnisse (Terpenmassenspur), Probe vom 06.08.20073
- Abbildung 4.36: Massenspektrum bei Retentionszeit 5,99 min (α -Pinen) und 9,52 min (Limonen), Probe vom 06.08.2007.....3
- Abbildung 4.37: Ausschnitt des Chromatogramm ausgewählter m/z-Verhältnisse (Terpenmassenspur), Probe vom 06.08.20073
- Abbildung 4.38: Massenspektrum bei Retentionszeit 24,00 min (Longicyclen) und 24,73 min (unbekanntes Sesquiterpen), Probe vom 06.08.20073
- Abbildung 4.39: Chromatogramm der Emissionen am 4.7.2006 an der west-irischen Küste und Ausschnitt des Chromatogramm im Bereich von 2 min bis 15 min (Summe aus gewählter m/z-Verhältnisse: 127, 141, 142, 268).....3
- Abbildung 4.40: EI-Massenspektrum Iodbutan (Probe vom 04.07.2006) 3
- Abbildung 4.41: Chromatogramm aus gewählter m/z-Verhältnisse (Terpenmassenspur) der marinen Emissionsprobe vom 04.07.2006; grün unterlegt die Retentionsbereiche der Mono- und Sesquiterpene.....3
- Abbildung 4.42: Ausschnitt des Chromatogramm ausgewählter m/z-Verhältnisse (Terpenmassenspur) im Bereich der Monoterpene der marinen Emissionsprobe vom 04.07.2006.....3
- Abbildung 4.43: Massenspektrum bei Retentionszeit 5,96 min und 7,33 min (Irland 04.07.2006).....3
- Abbildung 4.44: Ausschnitt des Chromatogramm ausgewählter m/z-Verhältnisse (Terpenmassenspur)) im Bereich der Sesquiterpene der marinen Emissionsprobe vom 04.07.2006.....3
- Abbildung 4.45: Massenspektrum bei Retentionszeit 24,69 min und 25,27 min (Irland 04.07.2006)3
-

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1:	Anzahl der erforschten Sekundärmetabolite in höheren Pflanzen (Wink, 2008) 3
Tabelle 1.2:	Physikalische, chemische und biotische Stressoren für Pflanzen 3
Tabelle 1.3:	geschätzte Emissionen von Vorläufersubstanzen für sekundäre Partikel in Terragramm/Jahr 3
Tabelle 1.4:	Schätzungen der globalen Emissionen biogener VOCs in Terragramm/Jahr (Seinfeld u. Pandis, 2006)..... 3
Tabelle 1.5:	Ratekonstanten k (in $\text{cm}^3 \text{Moleküle}^{-1} \text{s}^{-1}$) und atmosphärische Lebensdauer verschiedener Verbindungen (MT, SQT, u.ä.) für die Reaktionen mit Ozon, OH- und NO_3 -Radikalen 3
Tabelle 1.6:	atmosphärische Konzentrationen verschiedener VOI (Carpenter, 2003)..... 3
Tabelle 1.7:	häufig eingesetzte Adsorbentien (fettgedruckt die verwendeten Adsorbentien Tenax und Carbotrap B), Informationen je nach Angaben des Herstellers 3
Tabelle 1.8:	Vor- und Nachteile der Thermodesorption 3
Tabelle 1.9:	Ionisationsarten für organische Analyte..... 3
Tabelle 2.1:	Vergleich zweier Thermodesorptionssysteme..... 3
Tabelle 3.1:	Verwendete Chemikalien und Gase 3
Tabelle 3.2:	Verwendeten Geräteeinstellungen..... 3
Tabelle 3.3:	Retentionszeiten und zur Quantifizierung benutzte Targetionen der Terpene..... 3
Tabelle 3.4:	Retentionszeiten und zur Quantifizierung benutzte Targetionen der iodhaltigen Verbindungen 3
Tabelle 3.5:	Schema zum Ansetzen der Kalibrationsstandards..... 3
Tabelle 3.6:	Dichten der verwendeten Terpene..... 3
Tabelle 3.7:	Methode 1 der Entwicklung eines Ozon-Scrubbers (direkte Wirkung in der Reaktionskammer) 3
Tabelle 3.8:	Flussraten für die Ozon-Propen-Experimente..... 3
Tabelle 3.9:	Methode 2 der Entwicklung eines Ozon-Scrubbers (Wirkung auf dem Adoptionsröhrchen)..... 3
Tabelle 4.1:	Eigenschaften der Monoterpene und Sesquiterpene in ihrer Retentionsreihenfolge..... 3
Tabelle 4.2:	Eigenschaften ausgewählter Terpene (Ratekonstanten k (in $\text{cm}^3 \text{Moleküle}^{-1} \text{s}^{-1}$) für die Reaktionen mit Ozon)..... 3
Tabelle 4.3:	Übersicht der Wiederfindungsraten der analysierten Terpene in Prozent ohne Propen als Ozon-Scrubber und mit Propen 3

Tabelle 4.4:	Übersicht der Wiederfindungsraten in Prozent der analysierten Terpene.....3
Tabelle 4.5:	Quantifizierung der Emissionen der getopften Fichte (<i>Picea abies</i>).....3
Tabelle 4.6:	Quantifizierung der Emissionen der getopften Fichte...3
Tabelle 4.7:	Konzentrationen der quantifizierten Terpene der Messungen am Feldberg (24h-Kampagne).....3
Tabelle 4.8:	Retentionszeiten der beiden Sesquiterpene (in Minuten) der <i>Aristolochia Salvadorensis</i>3
Tabelle 4.9:	Gleichungen für die quantifizierten Terpene.....3
Tabelle 4.10:	Methodenvergleich Emissionsanalysen und Extraktionen 3
Tabelle 4.11:	Methodenvergleich der Extraktion und der Emissionsanalysen am Beispiel der <i>Aristolochia Salvadorensis</i>3
Tabelle 4.12:	Monoterpene, die in verschiedenen <i>Aristolochia</i> Spezies nachgewiesen werden konnten (A. = <i>Aristolochia</i>) (T.-S. Wu et al., 2004)3
Tabelle 4.13:	Sesquiterpene, die in verschiedenen <i>Aristolochia</i> Spezies nachgewiesen werden konnten (A. = <i>Aristolochia</i>) (T.-S. Wu et al., 2004)3
Tabelle 4.14:	Methodenvergleich der Extraktion und der Emissionsanalyse am Beispiel der Fichte (<i>Picea abies</i>).....3
Tabelle 4.15:	Methodenvergleich der Extraktion und der Emissionsanalyse am Beispiel der <i>Salvia oxyphora</i>3
Tabelle 4.16:	Vergleich der analysierten <i>Aristolochia</i> -Arten.....3
Tabelle 4.17:	Verzeichnis der Emissionsmessung bei verschiedenen <i>Salvia</i> -Arten.....3
Tabelle 4.18:	Kurze Zusammenfassung der Ergebnisse der marinen Emissionsproben.....3

Abkürzungsverzeichnis

AACT	Acetoacetyl-CoA-thiolase
APCI	atmospheric pressure chemical ionization (chemische Ionisierung bei Atmosphärendruck)
BOVOC	biogenic oxygenated volatile organic carbon (Oxidationsprodukte biogener flüchtiger Kohlenwasserstoffe)
BTV	Durchbruchsvolumen (Break-Through-Volumen)
BVOC	biogenic volatile organic carbon (biogene flüchtige Kohlenwasserstoffe)
CoA	Coenzym A
df	Schichtdicke der stationären Phase
DMAPP	Dimethylallylpyrophosphat
DXP	1-Deoxy-D-xylulose-5-Phosphat
EI	Elektronenstoß-Ionisierung
ESI	Elektrospray-Ionisierung
eV	Elektronen-Volt
FCKW	Fluorkohlenwasserstoffe
FID	Flammenionisationsdetektor
GA3P	D-Glycerinaldehyd-3-phosphat
GC	Gaschromatographie
h	Stunden
HMBPP	Hydroxymethylbutenyl-4-diphosphat
HMG-CoA	3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA
HPLC	high pressure/performance liquid chromatography (Hochleistungsflüssigchromatographie)
ID	Innendurchmesser
IPP	Isopentylpyrophosphat
IPPI	Isopentylpyrophosphatisomerase
IR	Infrarot
LVI	Large Volume Injection
m/z	Masse-zu-Ladungs-Verhältnis
MAK	Maximale Arbeitsplatzkonzentration
MBL	Marine Grenzschicht (marine boundary layer)
MDC	Mevalonat-5`-diphosphatdecarboxylase
ME-cPP	2-C-Methyl-D-erythritol-2,4-cyclodiphosphat
MEP	2-C-Methylerythritol-4-phosphat
min	Minuten
MS	Massenspektrometrie
MT	Monoterpen(e)
MVA	Mevalonsäure
NIST	National Institute of Standards and Technology
NMHC	non methane hydrocarbon
NMVOC	Nicht-Methan-Kohlenwasserstoffe (non methane volatile organic compound)
NWG	Nachweisgrenze
PAH	Polyaromatic hydrocarbon
ppb	parts per billion
ppm	parts per million
RT	retention time – Retentionszeit
s	Sekunden
SIM	single ion mode
SOA	secondary organic aerosol
SPME	Solis Phase Micro Extraction

SPS	speicherprogrammierbare Steuerung
SQT	Sesquiterpen(e)
t	Zeit
TD	Thermodesorption
TIC	Totalionenstrom (total ion current)
TRK	Technische Richtkonzentration
UV	Ultra Violett
VOC	Volatile Organic Compounds

Motivation und Zielsetzung dieser Arbeit

Terpenoide werden wie auch andere flüchtige organische Substanzen (*volatile organic compounds*, VOC) von der Vegetation in die Atmosphäre emittiert. Die physiologische Bedeutung dieser Sekundärmetaboliten liegt meist in der Abwehr oder Attraktion von Bestäubern. Die genaue Rolle und Funktion der flüchtigen biogenen Kohlenwasserstoffe in der Pflanzenkommunikation sind dabei weitgehend unbekannt. Auch die Zusammenhänge sowie die Abhängigkeit von biotischen und abiotischen Faktoren sind bisher noch wenig erforscht. Mit diesem Wissen könnten Pflanzen gezüchtet werden, die z.B. Resistenzen gegen Pathogene zeigen. Auch die Möglichkeiten zur Bestimmung von verschiedenen Arten innerhalb einer Gattung und die Zuordnung bestimmter Bestäuber anhand der Emissionsanalysen erklären den Forschungsbedarf auf dem Gebiet der speziellen Botanik (Atkinson und Arey 2003; Kesselmeier und Staudt 1999).

Troposphärisches Aerosol zeigt Auswirkungen auf das Klima, das Wetter und die menschliche Gesundheit. Von biogenen Kohlenwasserstoffen ist bekannt, dass sie eine wichtige Rolle als Vorläufer bei der Bildung des sekundären organischen Aerosols spielen. So wurden die Reaktionen von Isopren und verschiedenen Monoterpenen bereits in vielen Studien untersucht. Über die Emission von Sesquiterpenen hingegen, sowie über ihre Oxidationsprodukte oder deren Beitrag zur Partikelbildung ist bisher nur wenig bekannt. Es wird jedoch vermutet, dass diese Stoffklasse aufgrund ihrer schnellen Reaktion mit atmosphärischen Oxidantien (Shu, Atkinson 1994, 1995) und der hohen Molekülmassen ihrer Oxidationsprodukte eine wichtige Rolle hinsichtlich der Partikelbildung spielt. Zudem werden Terpene und Terpenoide als wichtige Vorläufer bei der photochemischen Bildung von troposphärischem Ozon erachtet (Calogirou, Larsen et al. 1996). Weiterhin könnten Terpene zur Bestimmung des Alter und der Herkunft von Luftmassen herangezogen werden. Daher besteht ein großes wissenschaftliches Interesse darin, die genaue chemische Zusammensetzung der Aerosole sowie die Mechanismen ihrer Bildung vollständig aufzuklären.

Ein weiterer Aspekt ist, dass die Reaktivität der Oberfläche und das bei der Probenahme vorhandene Ozon zu einer Neuordnung auf molekularer Ebene und zur Abreaktion der ungesättigten biogenen Verbindungen führen kann. Daher lassen sich hochreaktive Terpene mit handelsüblichen Thermodesorptionseinheiten meist nicht ohne Artefakte nachweisen. So stellt die Analyse dieser isomeren Verbindungen auch aufgrund mangelnder Referenzsubstanzen und Vergleichsspektren eine besondere Herausforderung dar.

Die Entwicklung einer Thermodesorptionseinheit für ein gekoppeltes Gaschromatograph-Massenspektrometer-System und deren Anwendung zur Analyse hochreaktiver, flüchtiger organischer Verbindungen im Spurenbereich stehen im Zentrum dieser Arbeit. Anhand eines bestehenden Vorbildes soll zunächst ein solches

System neu angefertigt, die Handhabung optimiert und dessen Betrieb weitgehend automatisiert werden.

Dabei wird die Quantifizierung mittels ausgewählten Standardverbindungen in Diffusionsquellen verbessert und durch einen Methodenvergleich mit auf Adsorptionsröhrchen aufgebrachten Verdünnungsreihen überprüft. Die Analyse der biogenen Kohlenwasserstoffe und die Identifizierung erfolgen dabei mittels gaschromatographischer und massenspektroskopischer Techniken.

Um die Bestimmung von hochreaktiven Sesquiterpen auch bei hohen Ozonkonzentrationen zu ermöglichen, wird ein neuer Ozon-Scrubber basierend auf Propen entwickelt. Durch Atmosphärensimulationsexperimente im Labor mit Standards und Realproben soll die Verringerung von Ozon überprüft werden, bevor er abschließend in Feldmessungen zum Einsatz kommt. Um klimarelevante Informationen zu erhalten wird als biogener Emitter möglichst eine Pflanze ausgewählt, die in großen Waldbeständen in Europa vorkommt. Anhand der gewonnenen Ergebnisse sollen Zusammenhänge wie die Korrelationen der Emission mit der Temperatur oder dem Ozongehalt nachgewiesen werden.

Auf dem Gebiet der Emissionsanalysen von Blüten gibt es bisher ebenfalls nur sehr wenige Untersuchungen. Zur Klärung der Hypothese, ob der Bestäuberwechsel vom Insekt zum Vogel bei der Gattung *Salvia* auch eine Verringerung der Sekundärmetaboliten mit sich bringt, werden ebenso Versuchsreihen durchgeführt wie zum Vergleich verschiedener Arten einer Gattung am Beispiel der *Aristolochia*. Dies beinhaltet auch die Weiterentwicklung der Probenahmetechnik zur Bestimmung von Einzelblüten-Emissionen. Da sich in der Literatur meist nur Extraktionsanalysen finden, aber keine Charakterisierung der Emissionen unbeschädigter Pflanzen, werden zum Methodenvergleich auch einige Extraktionen beprobter Pflanzenteile untersucht. Abschließend soll die Eignung des neuen TD-GC/MS-Systems für die Analyse halogenhaltiger Kohlenwasserstoffe anhand einiger Proben aus Messkampagnen an der westirischen Küste überprüft werden.

1 Grundlagen

1.1 Biogene, flüchtige organische Substanzen

Terpene gehören zur Klasse der biogenen, flüchtigen organischen Substanzen (*biogenic volatile organic compounds*, BVOC), die organische Atmosphären-Spurengase außer Kohlendioxid und -monoxid umfasst. Konzentriert man sich auf Kohlenwasserstoffe mit Ausnahme des Methans, so verwendet man den Begriff *non methane VOCs* (NMVOCs). Dieser beinhaltet eine große Gruppe von gesättigten, ungesättigten und oxidierten Derivaten. So schließen die BVOCs neben den Isoprenoiden die Alkane, Alkene, Alkine, Carbonyle, Alkohole, Ester, Ether und auch Säuren ein (Kesselmeier und Staudt 1999).

Eine große Anzahl von Terpenoiden sind pflanzlichen Ursprungs, wobei nur eine relativ geringe Anzahl am Primärmetabolismus beteiligt ist (essentiell für das Wachstum und die Entwicklung). Sterole (C₃₀) sind essentielle Komponenten der Membranen, Carotinoide (C₄₀) fungieren als Photopigmente, Gibberellins (C₂₀) und Abscisinsäure (C₁₅) sind Phytohormone und zahlreiche andere Terpenoide sind in den mitochondrialen Elektronentransport involviert. Auf der anderen Seite werden einige Terpenoide wie Monoterpene (C₁₀), Sesquiterpen (C₁₅) und Diterpene (C₂₀) nur in einigen Spezies oder in verwandten Gruppen gefunden. Diese werden als Sekundärmetabolite bezeichnet und sind häufig auf spezielle Organismengruppen beschränkt, d.h. sie haben im Primärstoffwechsel der Zelle keine Funktion. Lange Zeit hielt man sie deshalb für Abfallprodukte (Hartmann, T., 2007).

In den siebziger Jahren des 20. Jahrhunderts konnte gezeigt werden, dass eine Anzahl von Terpenen als Gift, Abwehrstoff gegen Herbivoren und Pathogene oder als Anziehungsduft (*attractant*) für Bestäuber wirken. Damit war bewiesen, dass diese eine wichtige ökologische Rolle in der Pflanzen-Pflanzen-Kommunikation und der Pflanzen-Umgebungs-Interaktion haben (Tholl et al., 2006; Gershenzon, J. und Dudareva, N., 2007; Wink, 2008). Allerdings gestaltet sich die Unterscheidung von Primär- oder Sekundärmetaboliten aufgrund der chemischen Strukturen, ihrer Biosynthesen oder Verwandtschaft zu biosynthetischen Vorstufen teilweise als sehr schwierig (Waterman, P.G., 2007). Die Tabelle 1.1 gibt einen Überblick über die Anzahl der bisher erforschten Sekundärmetabolite in höheren Pflanzen.

Tabelle 1.1: Anzahl der erforschten Sekundärmetabolite in höheren Pflanzen (Wink, 2008)

Stickstoffhaltige Sekundärmetaboliten	geschätzte Anzahl
Alkaloide	21000
Nonprotein Aminosäuren (NPAAs)	700
Amine	100
Cyanogene Glycoside	60
Glycosnolate	100
Alkylamide	150
Lectin, Peptide, Polypeptide	2000

Sekundärmetaboliten ohne Stickstoff	geschätzte Anzahl
Monoterpene (C ₁₀) mit Iridoid	2500
Sesquiterpene (C ₁₅)	5000
Diterpene	2500
Triterpene, Steroide, Saponine (C ₃₀ , C ₂₇),	5000
Tetraterpene	500
Flavonoide, Anthocyanine, Catechine, Tannine	5000
Phenylpropanoide, Lignin, Coumarine, Lignane	2000
Polyacetylene, Fettsäuren, Wachse	1500
Polyketide	750
Kohlenhydrate, einfache Säuren	400

Durch Sekundärmetaboliten überwinden Pflanzen viele Einschränkungen ihrer standortgebundenen Lebensweise und ihres fehlenden Immunsystems zur Abwehr von Mikroorganismen. (Wink, 2008). Trotzdem ist die biologische Rolle und ökochemische Funktion der meisten Terpenoide immer noch unbekannt (Gershenzon, J. und Dudareva, N., 2007, Breitmaier, E. 2005). Sekundärmetabolite (hier im Speziellen Terpenoide) fungieren als Pigment-, Duft- oder Lockstoffe von Blüten oder Früchten in der Interaktion (Attraktion) zwischen Pflanzen und verschiedenen Lebewesen wie Insekten zur Pollenübertragung oder zur Ausbreitung der Samen. Sie wirken als Pflanzenwachstumsregulatoren (Phytohormone) und können so auch die Keimung und Entwicklung konkurrierender Pflanzen hemmen (Heldt, H.-W., 2003; Gershenzon, J. und Dudareva, N., 2007). Zumeist dienen sie der Abwehr, Abschreckung oder Vergiftung (Phytoalexine) von Herbivoren und wirken als Antibiotika bei der Abwehr von pathogenen Mikroorganismen, wie Bakterien, Pilzen und sogar Viren, deren Wachstum und die Entwicklung sie verhindern können. Terpenoide spielen eine große Rolle in der Pflanzen-Interaktion: z.B. Pflanzen-Pflanzen-Kommunikation sowie in der Pflanzen-Insekten-Kommunikation nach Herbivorenbefall. Sie schützen Pflanzen vor photooxidativen Stress, UV-Licht und Ozon und dienen der Verbesserung der Thermotoleranz (Tholl et al., 2006;

Gershenson, J. und Dudareva, N., 2007; Wink, 2008). Diese verschiedenen Funktionen der Sekundärmetaboliten sind auch in Abbildung 1.1 zu sehen.

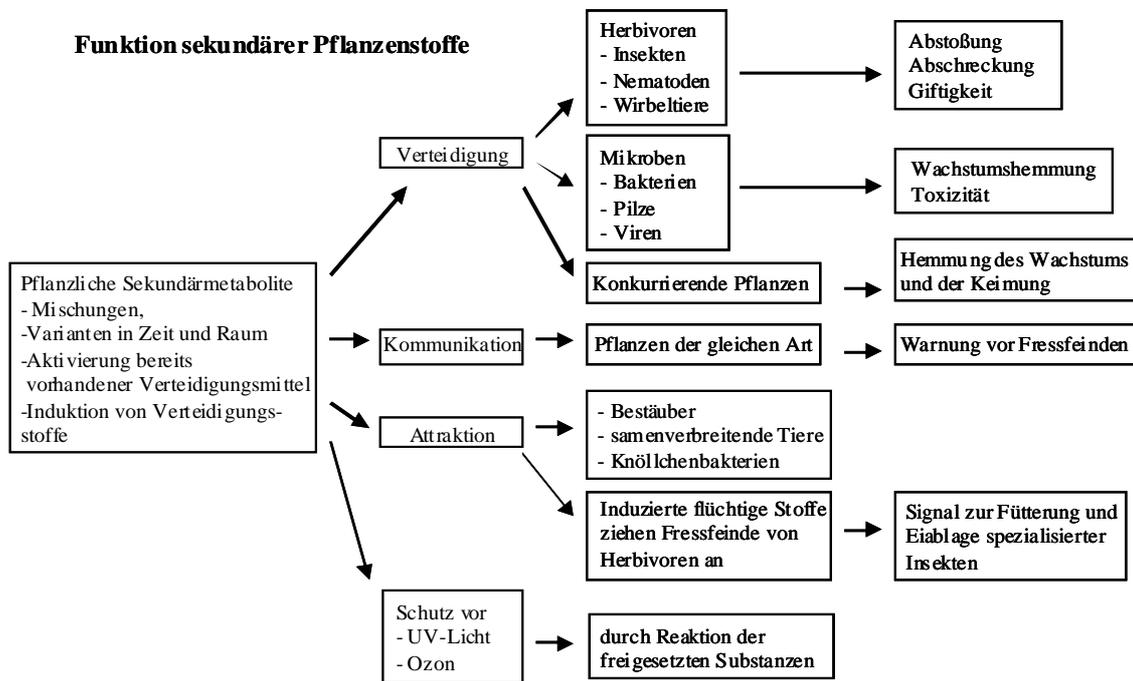


Abbildung 1.1: Funktionen von Sekundärmetaboliten

Das nachfolgende Beispiel verdeutlicht die vielfältigen Funktionen von Terpenen. Induzierte flüchtige organische Verbindungen (IVOCs) wie Terpene werden von Pflanzen nach biotischem oder abiotischem Stress kurzzeitig emittiert und erhöhen die Gesamtkohlenstoffemission erheblich (Holopainen, J. K., 2004). Diese haben sowohl die Funktion der Ozon-Verringerung und dienen damit des Schutzes auf zellulärer Ebene (1.) und der Blattoberfläche als auch der Pathogenabwehr (2.). Sie ziehen die natürlichen Feinde der Herbivoren an und sind so ebenfalls an der Pflanzen-Pflanzen-Kommunikation beteiligt (3.), sowie an der Entstehung sehr feiner Aerosolpartikel (4.) durch Reaktionen mit Ozon, NO_3 und OH-Radikalen. (Holopainen, J. K., 2004). Anhand dieses einfachen Beispiels wird die Komplexität der Rolle der emittierten Terpene klar. Sie erfüllen weit mehr als eine Funktion in Pflanzen. In der folgenden Abbildung 1.2 wird nun die biologische Bedeutung unter verschiedenen Aspekten in Ansätzen verdeutlicht.

4. Atmosphärische Ebene
Partikelbildung, Wetter- und Klimawirkung

3. Ökosystem
Inter- und intraspezifische Pflanzenkommunikation

2. Blattoberfläche
Schutz gegen Schäden

1. zelluläre Ebene
Schutz gegen Schäden

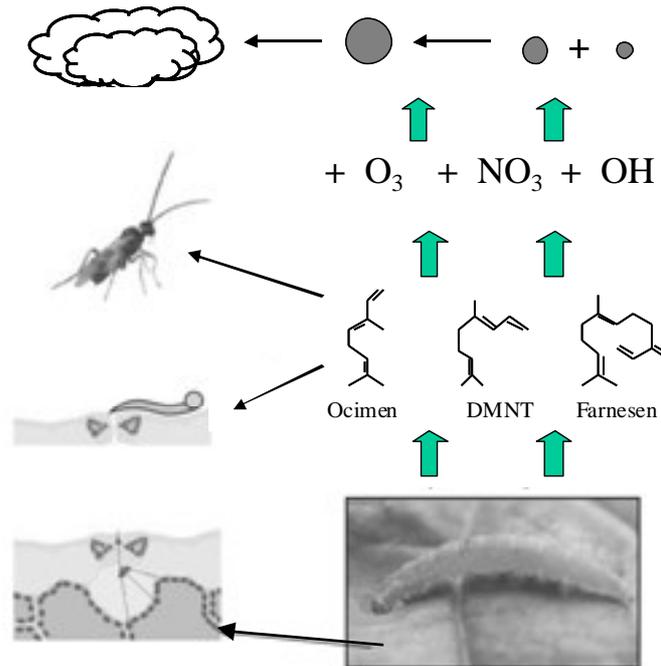


Abbildung 1.2: Vier möglichen Funktionen der biogenen VOCs (Holopainen, J. K., 2004)

Intra- und interspezifische Interaktion zwischen Lebewesen erfolgt über taktile, visuelle, akustische und insbesondere olfaktorische Reize. Zur Kommunikation fungieren dabei chemische Botenstoffe, sogenannte Semiochemikalien, als Informationsträger, deren Klassifizierung nach ihrer Funktion und Wirkung erfolgt. Dies wird auch in der nachfolgenden Abbildung 1.3 deutlich. Während Pheromone der intraspezifischen Kommunikation dienen, vermitteln Allelochemikalien Informationen zwischen verschiedenen Arten (Heldt, 2003). Die Unterteilung der Pheromone erfolgt in Primer, die eine physiologische Veränderung des Empfängers auslösen und Releaser, die eine Verhaltensänderung bewirken. Bei den Allelochemikalien werden Allomone, Kairomone, Synomone und Apneumone unterschieden. Allomone sind vorteilhaft für den Emittenten, z.B. Abwehrsubstanzen als Schutz vor Fressfeinden. Liegt der Vorteil auf Seiten des Empfängers, z.B. bei der Beutelokalisierung so spricht man von Kairomonen. Profitieren sowohl der Emittent als auch der Empfänger, so handelt es sich um Synomone. Als Beispiel sei hier die Attraktion von Feinden der Herbivoren durch Herbivorenfraß induzierte Signalstoffe bestimmter Pflanzen genannt. Apneumone stellen einen Sonderfall dar, da sie die Wechselwirkung mit lebloser Materie beschreiben, z.B. Parasiten der Fruchtfliegenlarve, die häufig auf faulenden Früchten zu finden sind, nutzten den Fäulnisgeruch zur Wirtfindung.

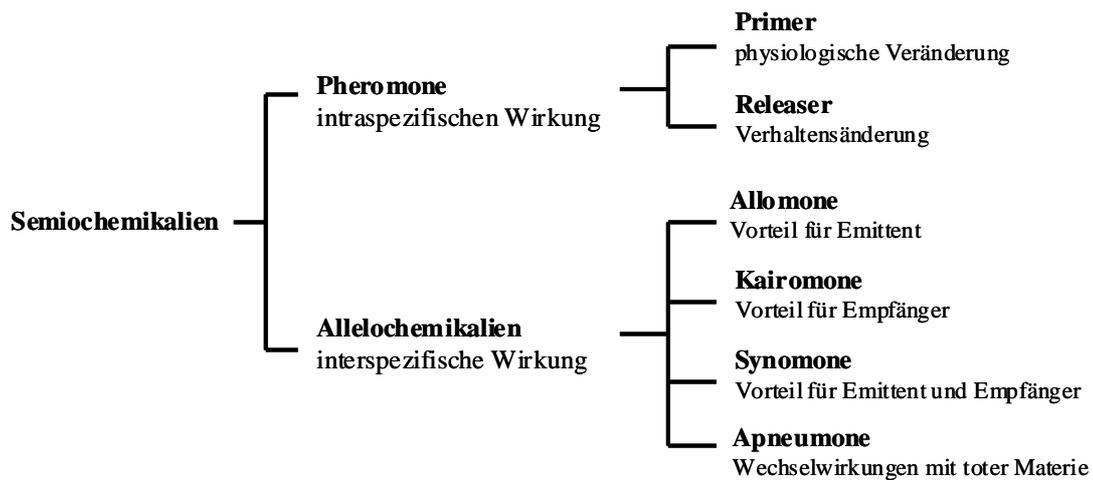


Abbildung 1.3: Semiochemikalien

1.1.1 Attraktion

Semiochemikalien sind daher neben der Farbe und Gestalt ein aktives Mittel der Pflanzen in der Attraktion von Bestäubern (Zoophilie). Dies erlaubt eine gezielte Bestäubung und begünstigt die Fremdbestäubung. So entstand eine Coevolution von Blüten und Bestäubern, d.h. die Blüten entwickelten sich mit den Bestäubern und umgekehrt unter gegenseitiger Anpassung. Diese Wechselwirkung zwischen Bestäubern und Pflanzen ist dabei teilweise sehr individuell. Eine verbreitete Ansicht in diesem Kontext ist, dass ein enger Verwandtschaftsgrad innerhalb einer Pflanzenart auch ähnliche Gene bedingt, was zu einer ähnlichen Blütenform und zur Produktion ähnlicher Semiochemikalien führt. So kann man auf dieser Theorie aufbauend die emittierten Stoffe der Pflanzen analysieren, um dann erste Schlüsse auf eine mögliche Nähe des Verwandtschaftsgrades ziehen zu können. Des Weiteren sollte durch den Druck der Evolution und die Anpassung an die jeweiligen Bestäuber nicht nur die morphologische Merkmale geändert, sondern auch überflüssig gewordene Sekundärmetaboliten zurückgebildet worden sein. Als Beispiel dafür stehen Duftstoffe, die beim Wechsel des Bestäubers von Insekten, die Semiochemikalien zur Nahorientierung nutzen, zu Kolibris, die eher durch Farben angelockt werden, an Intensität verlieren. Mono- und Sesquiterpene sind die Hauptkomponenten von floralem Duft und spielen eine wichtige Rolle in der Anlockung von Bestäuber. Gerade die Ausprägung dieser Isoprenoide sollte Rückschlüsse auf die Zugehörigkeit verschiedener Pflanzen geben. So eignet sich diese Methode grundsätzlich auch zur Charakterisierung und zur Zertifizierung von (geklontem) Pflanzengut (Yu, F., Utsumi, R., 2009).

1.1.2 Abwehr

Pflanzen haben Möglichkeiten der direkten und indirekten Abwehr, wenn sie von Herbivoren angegriffen werden oder Pilzen und bakteriellen Pathogenen ausgesetzt sind. Die direkte Abwehr erfolgt über die physikalischen Strukturen mechanischer Barrieren wie Dornen und die Akkumulation von chemischen oder biochemischen Substanzen, die antibiotische oder toxische Wirkung besitzen. Phytoalexine sind Komponenten mit geringer molarer Masse, die von Pflanzen zur Abwehr produziert werden, wie z.B. Sesquiterpene und Diterpene. Die indirekte Abwehr zeigt das Phänomen, dass Pflanzen in der Lage sind, die Effektivität der natürlichen Feinde der Herbivoren zu steigern. Dies geschieht über physikalische Strukturen und chemische Stoffe. Eines der meist zitierten Beispiele der indirekten Abwehr bei Pflanzen ist die Anlockung von Karnivoren der Herbivoren durch Freisetzung einer bestimmten Mischung von flüchtigen Verbindungen nach dem Herbivorenbefall. Als Beispiele dafür seien die Limabohne, Mais, Pappel, Tabak und Baumwolle genannt (Cheng, A.-X., 2007).

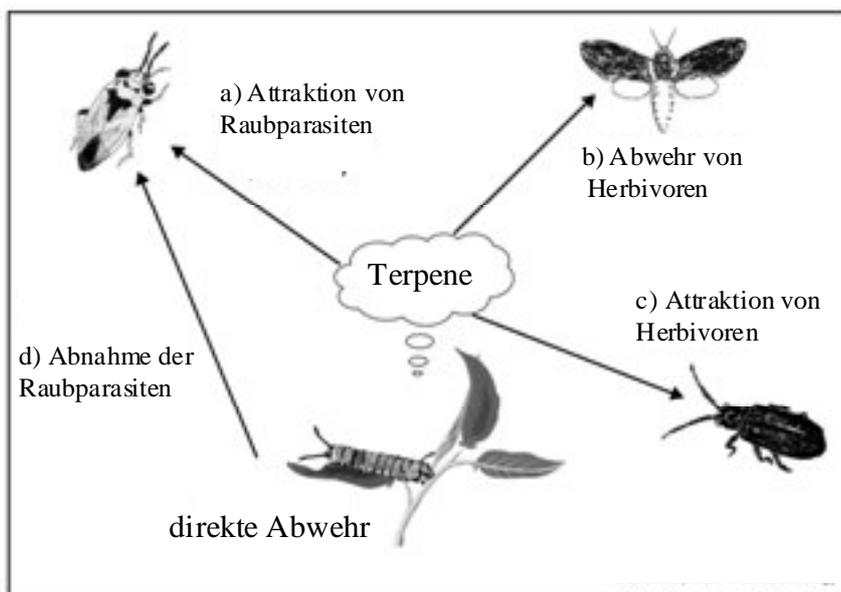


Abbildung 1.4: Direkte und indirekte Abwehr von Herbivoren (nach Degenhardt et al., 2003)

Die Abbildung 1.4 zeigt die direkte und indirekte Abwehr von Herbivoren durch Terpene am Beispiel einer Raupe und ihrer Futterpflanze. Der größte Teil der flüchtigen Verbindungen, die von Blättern als Antwort auf einen Herbivorenbefall emittiert sind Mono- und Sesquiterpene. Dadurch können dann die natürlichen Feinde der Herbivoren, entweder Räuber oder Parasiten, angelockt werden (a). Zugleich können die emittierten Terpenoide weiter Herbivoren anlocken (c), während andere durch diese Duftstoffe abgewehrt werden (b). Durch die direkte Abwehr der Pflanze kann es allerdings auch zu Schäden bei den Karnivoren der Herbivoren kommen (d).

Zusätzlich können Herbivoren induzierte flüchtige Terpene als Botenstoffe wirken, um Nachbarpflanzen oder weiter entfernten, eigenen, unbeschädigten Blättern zu instruieren, sich auf künftige Insektenattacken vorzubereiten. Durch Untersuchungen konnte die Vermutung bestätigt werden, dass durch Herbivorenbefall induzierte flüchtige Verbindungen sowohl eine externe als auch eine interne Pflanzenkommunikation darstellen. Die Terpene werden in fast allen Fällen als Mischungen abgegeben. Zum Beispiel vermutet man, dass dadurch in der Kommunikation spezifischere Nachrichten mit einem höheren Informationsgehalt ermöglicht werden. Des Weiteren kann es von Vorteil sein, wenn die abgegebenen Substanzen synergetisch wirken, z.B. um eine höhere Toxizität oder Abwehrwirkung zu erreichen (Gershenzon, J., Dudareva, N., 2007). Monoterpene und Sesquiterpene sind die Hauptkomponenten der flüchtigen organischen Verbindungen, die nach einem Herbivorenschaden von Pflanzen freigesetzt werden. Zusätzlich zu den flüchtigen Terpenen sind einige Diterpene und Sesquiterpene als Phytoalexine in die direkte Abwehr der Pflanzen gegen Herbivoren und mikrobiologische Pathogene involviert. (Cheng, 2007). Die meist in Mischungen freigesetzten Duftsignale können allerdings bisher noch nicht einzelnen Feinden der Herbivoren zugeordnet werden. Es scheint zwar wie zuvor beschrieben Spezies spezifische Unterschiede in der Quantität und Qualität der Mischung der emittierten Verbindungen zu geben, aber es gibt kaum gesicherte Erkenntnisse dazu. Des Weiteren geht man davon aus, dass die überwiegende Anzahl der Karnivoren die Fähigkeit besitzt zu lernen, wenn sie mit einem bestimmten Geruch ein positives Erlebnis (Beute) verbinden.

Die meisten der Mono- und Sesquiterpene werden speziell als Antwort auf eine Verletzung durch Herbivoren hervorgerufen und erscheinen nicht bei einfacher mechanischer Beschädigung. Dies wurde auch mittels der von Bohland et al. entwickelten Maschine MecWorm gezeigt (Bricchi, 2010). So erkannte man auch, dass Pflanzen unterscheiden können zwischen nur einfachem mechanischen Schaden, kontinuierlichem mechanischen Schaden und Schaden, der durch Herbivoren ausgelöst wird. Dies wird mit Hilfe des Speichels verschiedener Insekten nachgewiesen, der auf die mechanisch verursachten Wunden einwirkt. Die Zusammensetzung der freigesetzten Verbindungen unterscheidet sich in den genannten Fällen deutlich voneinander. Die Emissionen der Verbindungen erfolgen allerdings nicht nur von den verwundeten Abschnitten, sondern auch von nicht beschädigten, und dauern für einige Stunden oder wenige Tage an. Dabei scheint es ebenfalls eine Korrelation zwischen Tag und Nacht und der Aktivität der Feinde der Herbivoren zu geben, d.h. sind diese tagaktiv, so werden die Alarmsignale auch nur tagsüber abgegeben (Arimura, G. et al., 2007). Durch die Reaktion der freigesetzten BVOC (meist hochreaktive Mono- und Sesquiterpene) mit Ozon, NO_x, OH-Radikalen etc., ist die Reichweite der Botenstoffe auf nur wenige Meter (<10m) begrenzt (Holopainen, J. K., 2004). Diese kurze atmosphärische Lebensdauer und die Anpassung der Emissionen hat Vorteile: Räuberische Insekten und Parasiten werden sehr gezielt zu den erst vor kurzer Zeit von Herbivoren verletzten Pflanzen geführt.

Zudem sind die Pflanzen dann nicht dauerhaftem, durch induzierte VOCs hervorgerufenen Abwehrstress ausgesetzt. Denn die meisten der emittierten biogenen VOCs sind induziert und unter „normalen“ Umständen nicht oder nur wenig in der Pflanze enthalten. Der Vorteil induzierten VOCs (IVOCs) ist, dass sie nur wenn sie gebraucht werden, *de novo* synthetisiert werden. So reduziert der ökonomische Umgang mit Kohlenstoff auch nicht die Fitness der Pflanze.

Die durch Herbivorenbefall ausgelösten flüchtigen Verbindungen der Pflanzen haben auch Einfluss auf die genetische Ausprägung und Auswirkungen auf den Beginn der Abwehrhaltung/-antwort der benachbarten Spezies, sowie auf nicht verwandte, benachbarte Pflanzen, die nicht angegriffen wurden (Cheng, 2007). Setzt man unverletzte Pflanzen dem “Duft” befallener Nachbarpflanzen aus, so kann man nach kurzer Zeit feststellen, dass sich in den “Empfängerpflanzen” das Genexpressionsprofil ändert. Besonders betroffen hierbei sind Gene, die PR-Proteine (*pathogenesis-related proteins*), eine Lipoxygenase und Terpensynthasen codieren. Damit wird deutlich, dass Pflanzen nicht nur flüchtige Verbindungen emittieren können, sondern auch selbst darauf reagieren (Maffei, M.E. et al.; 2007). Noch immer weitgehend unbekannt ist, in welchem Maß Informationen zwischen Pflanzen ausgetauscht werden und welche Rezeptoren dabei genau in der Signalkette welche Rolle spielen. Zudem ist auch die Genexpression durch den Duft in derselben und/oder benachbarten Pflanzen wenig untersucht. Durch systematisches Ausschalten von wichtigen Resistenzgenen und genauen Experimenten erhofft man sich grundlegende Informationen über die Bedeutung bestimmter Gene und Genfamilien für die Interaktion von Pflanzen mit ihrer Umwelt und Fressfeinden. Es gibt die These, dass es sich eher um keine festgefügte Zuordnung von Herbivoren und konsumierten Pflanzen handelt, sondern wahrscheinlich um eine dynamische Zuordnung, die sich aus der Kombination der Physiologie und Eigenschaften der attackierten Pflanze und Herbivore ergibt. Genetisch veränderte Pflanzen, denen die Abwehr genommen wurde, könnten zukünftig als Futterpflanzen dienen. Ebenso könnten Nutzpflanzen, die nur eine geringe „Selbstverteidigung“ besitzen resistenter gegen Herbivoren gemacht werden, um so ressourcenschonenden Pflanzenschutz zu ermöglichen.

Die Wirkung der Terpene als Schutz vor Ozon und UV-Strahlung beruht auf der Reaktivität der freigesetzten Verbindungen und der damit verbundenen Aerosolbildung. Große Mengen an hochreaktiven Sesquiterpenen werden sofort von Ozon resistenten Tabakpflanzen abgegeben, sobald sie Ozon ausgesetzt werden. Bei Tabakpflanzen, die empfindlich auf Ozon reagieren, steigt die Sesquiterpenemission am nächsten Tag sehr steil an. Es gibt ebenfalls Hinweise darauf, dass Pflanzen evtl. aktiv die Partikelbildung beeinflussen, um die UV-B-Strahlung zu reduzieren. Zum Beispiel steigt die Monoterpen-Emission der Vegetation unter erhöhter UV-B-Bestrahlung und die Gene, die dies steuern werden ebenfalls durch steigende UV-B-Strahlung aktiviert (Holopainen, J. K, 2004).

Viele Insekten metabolisieren die mit der Nahrung aufgenommenen Terpene zu Entwicklungshormonen und Pheromonen. Pheromone sind Lock- und Signalstoffe (Sozialhormone), welche die Insekten zur Kommunikation mit ihren Artgenossen ausscheiden, z.B. zur Warnung (Alarmpheromone), zur Markierung von Nahrungsquellen, zur Wegfindung (Spurpheromone), zur Kennzeichnung von Versammlungsplätzen (Aggregationspheromone) oder zur Paarung (Sexualpheromone). Sie können auf umweltfreundliche Weise konventionelle Insektizide ersetzen, in dem sie Schadinsekten wie z.B. Borkenkäfer mit ihren eigenen Pheromonen in eine Falle locken (Breitmaier, 2005).

1.2 Biosynthese der Terpene

Die Terpenoide bilden eine der größten, variationsreichsten und stark heterogenen Klassen von Naturstoffen, die hauptsächlich pflanzlicher, selten mikrobieller oder tierischer Herkunft sind. Sie befinden sich in allen Geweben der Pflanzen und liegen dort als niedermolekulare, flüchtige bis hin zu hochmolekularen, polymeren Verbindungen vor. Mehr als 40.000 verschiedene pflanzliche Terpenoide sind nachgewiesen worden und es werden ständig neue Substanzen identifiziert (Heldt, 2003; Chen, F. et al. 2009, Yu et al., 2009). Die Gruppe der Terpenoide umfasst sowohl die Terpene (reine, häufig auch als Isoprene bezeichnete Kohlenwasserstoffe) als auch die Verbindungen, die direkt auf Terpene zurückgeführt werden können (Terpen-Alkohole, Aldehyde, Säuren etc.). Dies wird in der Literatur oftmals nicht unterschieden und berücksichtigt. Ebenso fasst man häufig die Terpenoide mit den Steroiden, auf Grund ihres ähnlichen Aufbaus zusammen.

Der Begriff Terpen stammt vom Terpentin (*Balsamum Terebinthinae*) ab. Terpentin, das „Kiefernharz“ ist der zähflüssige Balsam mit angenehm frischem Geruch, welcher beim Anschneiden oder Einkerbens aus der Rinde und dem jungen Holz verschiedener Kiefern (*Pinaceae*) fließt. Terpentin enthält die „Harzsäuren“ und einige Kohlenwasserstoffe, die zunächst herkunftsgemäß als Terpene bezeichnet wurden (Breitmaier, 2005). 1910 bekam Otto Walach den Nobelpreis für Chemie, da er Isopren als Grundbaustein der Terpene erkannte. Aufbauend auf dessen Arbeiten entdeckte Leopold Ruzicka, dass Isopren ein universeller Baustein für die Synthese sehr vieler Naturstoffe ist. Er erhielt 1939 den Nobelpreis für Chemie und postulierte eine biogenetische Isopren-Regel, die durch Feodor Lynen nachgewiesen werden konnte, indem er Isopentenylpyrophosphat identifizierte (Nobelpreis für Medizin 1964) (Heldt, 2003). Chemisch gesehen sind Terpene reine Kohlenwasserstoffe, die aus C₅-Einheiten aufgebaut sind. Basierend auf der Anzahl der Isopreneinheiten lassen sich die Terpene formal in Monoterpene (2 Isopreneinheiten, C₁₀), Sesquiterpene (3 Isopreneinheiten, C₁₅), Diterpene (4 Isopreneinheiten, C₂₀), Sesterterpene (5 Isopreneinheiten, C₂₅), Triterpene (6 Isopreneinheiten, C₃₀), Tetraterpene (8 Isopreneinheiten, C₄₀) und Polyterpene (größer als 8 Isopreneinheiten) einteilen.

Isoprenmoleküle können im Zuge der Biosynthese auf zweierlei Weise miteinander verknüpft werden: Entweder wird das C-1 der einen Einheit mit der C-4 der anderen verbunden (Kopf-Schwanz-Verknüpfung, K-S), oder die Kondensation erfolgt über die beiden C-4-Enden (Schwanz-Schwanz-Verknüpfung, S-S). Dies ist in der folgenden Abbildung 1.5 noch einmal verdeutlicht. Die Grundeinheiten der jeweiligen Isoprenoidgruppen kommen durch 1,4-Verknüpfung (Kopf-Schwanz-Verknüpfung) zustande, die Dimerisierung hingegen über eine 4,4-Verknüpfung wie in Abbildung 1.6 zu sehen. Dabei kommt es sowohl zur Bildung aliphatischer Ketten als auch zu mono-, bi- oder oligocyclischen Ringen.

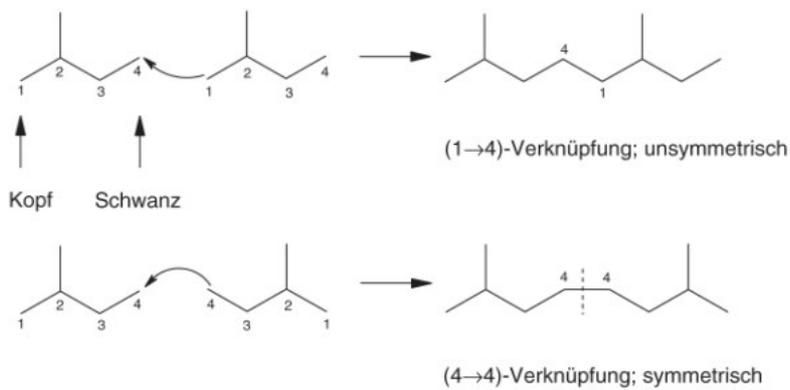


Abbildung 1.5: Verknüpfung der Isopreneinheiten (Hänsel, R. und Sticher, O., 2010)

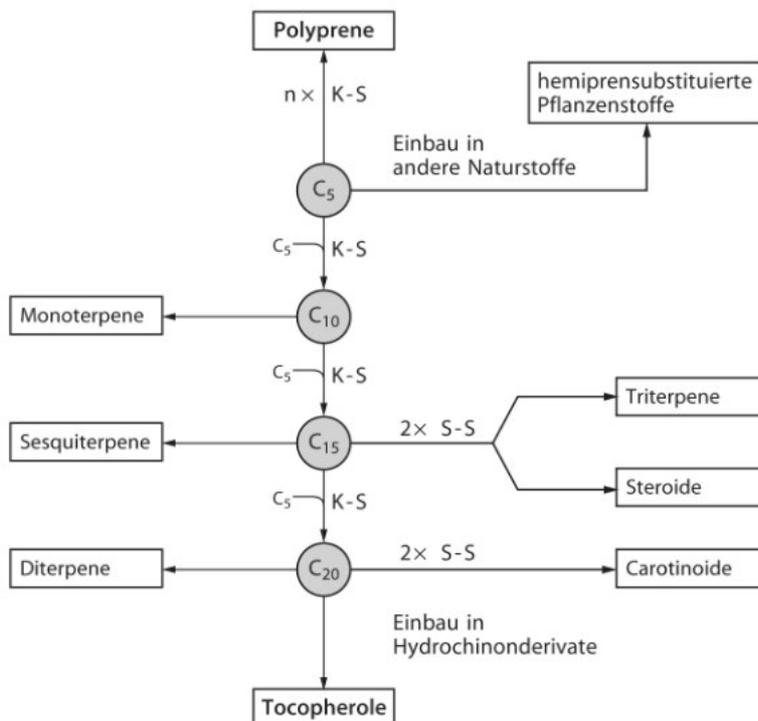


Abbildung 1.6: Übersicht über die Hauptgruppen der Terpene (Hänsel, R. und Sticher, O., 2010)

Biosynthese-Wege in der Pflanzenzelle

Die Ausgangsmoleküle für die Biosynthese der Terpene bilden die aktivierten Formen der Isopren- bzw. Isopentyleinheiten wie das Dimethylallylpyrophosphat (DMAPP) und das Isopentylpyrophosphat (IPP). Neue Untersuchungen der letzten 10 Jahre haben ergeben, dass die Biosynthese der Terpene nicht immer auf dem klassischen Acetat-Mevalonat-Weg erfolgt. Es existiert ein alternativer Biosyntheseweg, der heute als DXP/MEP-Weg (1-Desoxy-D-Xylulose-5-phosphat/2-C-Methylerythritol-4-phosphat) bezeichnet wird (Hänsel, R. und Sticher, O., 2010). Dieser wird in Abbildung 1.7 dargestellt und im weiteren Verlauf beschrieben.

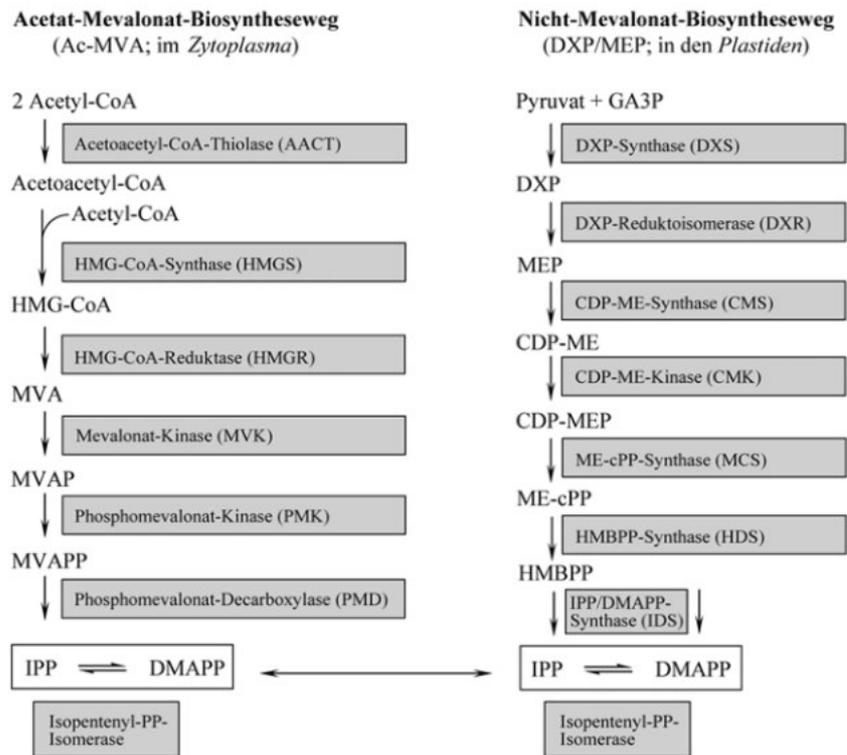


Abbildung 1.7: Schematische Darstellung des klassischen Acetat-Mevalonat (Ac-MVA)- und des alternativen Nicht-Mevalonat(DXP/MEP)-Biosyntheseweges von Isopren (Hänsel, R. und Sticher, O., 2010)

Beim Ac-MVA-Biosyntheseweg werden 2 Moleküle Acetyl-CoA zu Acetoacetyl-CoA kondensiert. Addition eines dritten Acetyl-CoA führt zu 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA). HMG-CoA wird zu Mevalonsäure (MVA) reduziert. MVA wird durch zweimalige Phosphorylierung in MVA-diphosphat (MVAPP) umgewandelt. Beim DXP/MEP-Biosyntheseweg sind Pyruvat und D-Glycerinaldehyd-3-phosphat (GA3P) die Vorläufer. Sie werden zu 1-Deoxy-D-xylulose-5-P (DXP) kondensiert. In einem zweiten Schritt erfolgt die Umwandlung von DXP in 2C-Methyl-Derythritol-4-P (MEP). Danach werden CDP-Methyl-D-erythritol (CDP-ME), CDP-Methyl-D-erythritol-2-P (CDPMEP) und 2C-Methyl-D-erythritol-2,4-cyclodiphosphat (ME-cPP) sowie Hydroxymethylbutenyl-4-diphosphat (HMBPP) gebildet. Für die an den Reaktionen beteiligten Enzyme wird auf die Abbildung, für die sie codierenden Gene und die an den Reaktionen beteiligten Coenzyme auf die Literatur verwiesen. Isopentenylidiphosphat (IPP) entsteht einerseits aus MVAPP und andererseits aus HMBPP. Im Ac-MVA-Weg wird IPP durch eine Isomerase in Dimethylallyldiphosphat (DMAPP) umgewandelt (Starterverbindung der Isoprenoide). Im alternativen Weg kann HMBPP durch das Enzym IDS auch direkt in DMAPP umgewandelt werden (Hänsel, R. und Sticher, O., 2010).

Die Bildung von Terpenen über den DXP/MEP-Biosyntheseweg kann in Organismen mit Photosynthese (z.B. Algen, höheren Pflanzen) sowie in Bakterien und Diatomeen nachgewiesen werden. Er findet in den Plastiden statt und führt zur Biosynthese von Hemi-, Mono-, Di- und Tetraterpenen, während Sesqui- und Triterpene sowie Sterole im Zytoplasma via den AC-MVA-Weg gebildet werden. In jüngster Zeit konnte allerdings bewiesen werden, dass es keine absolute kompartimentelle Trennung zwischen dem IPP, das auf dem MVA-Weg im Zytoplasma gebildet wird und dem des MEP-Wegs in den Plastiden gibt (Yu, F. und Utsumi, R., 2009; Dudareva, N. et al., 2005). Es scheint einen Austausch von Terpenvorstufen zwischen den beiden Kompartimenten und Biosynthesewegen zu existieren, wobei der Grad des Austausches von der Spezies und der Gegenwart und Konzentration von Vorstufen abhängt. Des Weiteren gibt es nun deutliche Hinweise, dass auch die Produktion der verschiedenen Terpene nicht vollständig aufgeteilt ist. Entgegen der früheren Meinung können z.B. Sesquiterpene auch in den Plastiden und Monoterpene auch im Zytoplasma selbst gebildet werden. Dies ist auch in Abbildung 1.8 gezeigt: blau und rot die neu in dieser Region entdeckten Terpene. So kommen sowohl Mono- als auch Sesquiterpene im Zytoplasma und den Plastiden vor.

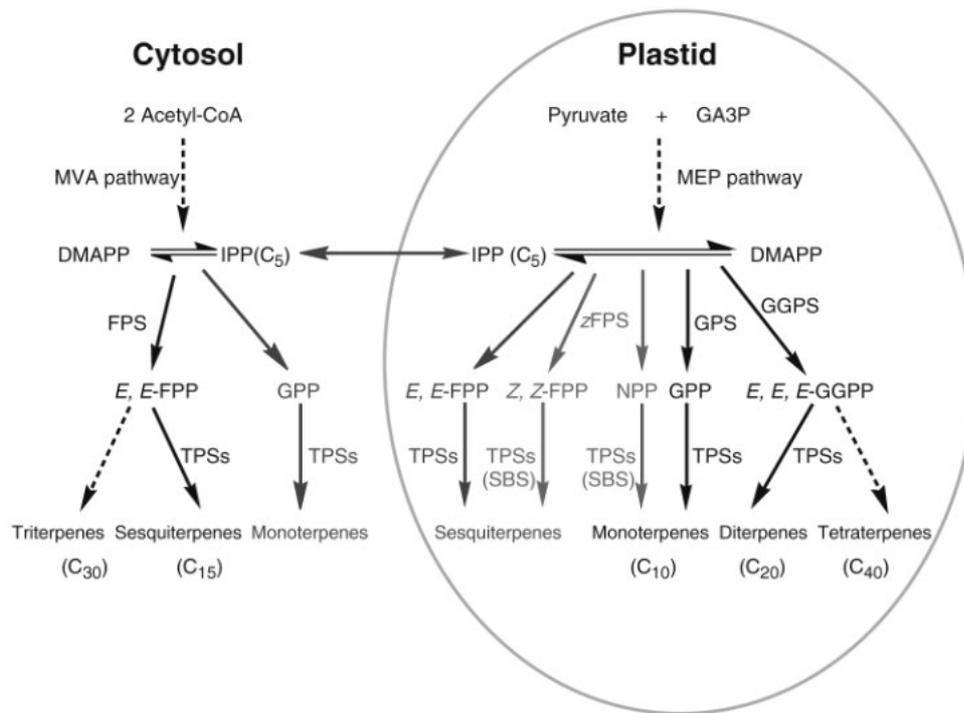


Abbildung 1.8: neue Bildungswege von Terpenen (Yu, F. und Utsumi, R., 2009)

1.3 Emissionen von Terpenen und Stressoren

Die biogene Emission von Sekundärmetaboliten ist von verschiedenen Stressoren abhängig. Man unterscheidet abiotische Faktoren wie Temperatur, Licht, tägliche Emissionszyklen, Jahreszeit, Bodenfeuchte, Luftfeuchte. Bei den biotischen Faktoren ist der phenologische Zustand der Pflanze (Alter, Fertilitätslevel der Pflanze, Alter der Blätter, Blüte etc.) enorm wichtig. Ebenso kann die Freisetzung von Substanzen beispielsweise durch mechanische Beschädigungen (Bodenbewegungen, Feuer, aber auch bei der Probenahme) und Befall durch Herbivore oder Pathogene hervorgerufen werden, da als Abwehrmechanismus seitens der Pflanze häufig die induzierte Emission von Terpenoiden Anwendung findet. In der folgenden Tabelle 1.2 ist eine Übersicht über physikalischen, chemischen und biologischen Stressoren für Pflanzen zu sehen.

Tabelle 1.2: Physikalische, chemische und biotische Stressoren für Pflanzen

Physikalische Stressoren	Chemische Stressoren	Biotische Stressoren
Lichtmangel/ -überschuß	Wassermangel/ Trockenheit	Insektenbefall
UV-Strahlung	Überflutung, Eisüberzug	Pilzbefall
Elektrische u. magnetische Felder	Sauerstoffmangel	Bakterienbefall
Hohe/ niedrige	Nährstoffmangel, -überschuß	Virusbefall
Temperaturen	hohe Salzkonzentration	Verbiss
Feuer	niedrige/ hohe Protonen-	Konkurrenz in Pflanzen-
Wind	konzentration (z.B. Ca ⁺)	gemeinschaften
Bodenbewegungen	Schwermetalle	
Verschüttung	gasförmige Luftschadstoffe (Ozon)	

In der Literatur (Duhl et al., 2008) wird bereits dargelegt, dass bei den abiotischen Faktoren die Temperatur für die Emission von Sesquiterpenen die bedeutendste Rolle spielt. Wenn die Temperatur steigt, so werden auch mehr Sesquiterpene emittiert. Die Belichtungsintensität und -dauer ist ebenfalls von Bedeutung, allerdings wird der Einfluss der Temperatur als wesentlich größer eingeschätzt. Selbst die Jahreszeiten spielen eine wichtige Rolle. So sind in Europa die Emissionen im Frühjahr am höchsten, im Spätsommer/beginnenden Herbst erneut hoch und im Hochsommer und Winter kaum detektierbar. Es muss jedoch immer berücksichtigt werden, dass all diese Faktoren in der Umwelt nicht einzeln betrachtet werden können, denn handelt sich hier um ein enorm komplexes System. Wenn die Temperaturen im Sommer hoch sind (was für hohe Emissionsraten sprechen würde), leiden die Pflanzen oft unter Trockenstress und schließen um möglichst wenig Wasser zu transpirieren beispielsweise ihre Stomata (Spaltöffnungen). Dieses einfache Beispiel macht deutlich, dass es Überlappungen/Wechselwirkungen der biogenen Mechanismen gibt, die sehr schwer abzuschätzen und bisher nur unvollständig untersucht worden sind. Des Weiteren sind in den heißen Sommermonaten häufig die Ozonkonzentrationen so hoch, dass sie einerseits die Emissionen von Terpenen erhöhen können, andererseits durch mögliche Abbaureaktionen die genaue Emissionsbestimmung im Freiland erheblich erschweren. Bei den biologischen Faktoren ist neben der Attraktion von Bestäubern hauptsächlich die Abwehrreaktion als Hauptursache für die vermehrte Freisetzung von Terpenen zu nennen. Daher ist es bei der Emissionsprobenahme von Pflanzen zwingend notwendig diese Faktoren soweit wie möglich zu berücksichtigen.

1.4 Gebrauch, Anwendung und Gewinnung von Terpenen

Terpenoide haben große wirtschaftliche Bedeutung als Aromastoffe in Nahrungsmitteln und Getränken, als Duftstoffe in der Kosmetik- und Parfümindustrie, als Vitamine, als natürliche Insektizide, als Lösungsmittel, als Kautschuk und Guttapercha, als Pigmente, als Antioxidantien/ Konservierungsstoffe für Lebensmittel und Kosmetika, sowie als Vorstufen für Pharmaka (Breitmaier, 2005). Für die Arzneimittelforschung öffnet sich aufgrund ihrer cytotoxischen, antibiotischen, fungistatischen, virostatistischen, anthelmintischen, antiphlogistischen und sedativen Eigenschaften ein breites Spektrum zur Darstellung neuer Wirkstoffe. Sie finden Anwendung bei der Beeinflussung des Wachstums von Kulturpflanzen und im Pflanzenschutz zur umweltfreundlichen Bekämpfung von Schadinsekten mit ihren eigenen Lockstoffen (Pheromonen). Die ökologische und kommerzielle Bedeutung von Terpenoiden zeigt sich auch in der rapiden Entwicklung einer technischer Terpenoidproduktion in transgenen Pflanzen. Neuste Erfolge in der Dechiffrierung der terpenoiden Biosynthesewege und die Identifizierung von Genen und Enzymen, die in diese Wege involviert sind, haben die genetische Manipulation in Pflanzen enorm verbessert. Die genetische Manipulation kann die Menge und die Häufigkeit der Ernte, Pestresistenzen, Unkrautkontrolle, die Erhöhung des Aromas von Früchten und Gemüsen und die Produktion von medizinisch genutzten Verbindungen bewirken.

Zusätzlich könnten transgene Pflanzen mit verändertem Terpenoidprofil ein mögliches Hilfsmittel für die weitere Erforschung der Biosynthese und Regulation dieser Komponenten und ihrer ökologischen Funktion in der Pflanzen-Umgebungsinteraktion sein. Mittels verschiedener physikalischer Methoden (z.B. Wasserdampfdestillation, Extraktion, Chromatographie) lassen sich vor allem Mono-, Sesqui- und Diterpene aus pflanzlichen Geweben oder ätherischen Ölen gewinnen. Viele komplexe Terpene können heutzutage nur sehr begrenzt und unter großem Aufwand durch organische Synthese hergestellt werden. Eine Alternative stellt die Produktion mit Hilfe von Verfahren der Biotechnologie. Mikroorganismen wie Bakterien und Pilze sind in der Lage mit Hilfe bestimmter Enzyme ihres Stoffwechsels Terpene umzuwandeln. Es gibt sowohl Mikroorganismen, die Terpen vollständig metabolisieren und als einzige Kohlenstoff- und Energiequelle nutzen, als auch solche, die Terpene lediglich teilmetabolisieren bzw. funktionalisieren, d.h. im Sinne der Biotransformation in strukturell verwandte Produkte umwandeln.

Als Ausgangsverbindung zur Herstellung von Terpenoiden bieten sich ihre natürlichen Vorstufen an, die in der Natur in großen Mengen vorkommen und dadurch günstig verfügbare chirale Ausgangsverbindungen darstellen. Besonderes Interesse gilt dabei Mono-, Sesqui- und Triterpenen und deren oxyfunktionalisierten Derivaten, die für die Aroma-, Kosmetik-, und Pharmaindustrie von Bedeutung sein können. So gewonnene Terpenoide, die aus natürlichen Rohstoffen erzeugt werden, haben im Lebensmittelsektor als „natürliche Aromastoffe“ eine deutlich höhere Nachfrage als ihre chemisch synthetisierten „naturidentischen“ Analoga (Prüfer, D. et al., 2007).

Davon abzugrenzen ist das sekundäre Aerosol, das erst durch chemische Reaktionen in der Atmosphäre oder durch Kondensation von sekundären Produkten auf vorhandene Partikel entsteht. Die Bildung dieser Partikel erfolgt durch die chemische Umwandlung flüchtiger Vorläufergase anorganischer (z.B. SO_2 , H_2S , NO_x , NH_3) oder organischer Natur (Terpene, aromatische Kohlenwasserstoffe) in schwerflüchtigen Verbindungen durch atmosphärische Oxidantien (wie Ozon, $\text{OH}\cdot$, $\text{NO}_3\cdot$ Radikale). Bei der „gas-to-particle-conversion“ entstehen extrem kleine Partikel (ultrafeines Aerosol $< 0,01 \mu\text{m}$). Diese wachsen durch Kondensation und Koagulation zu feinem Aerosol ($0,01\text{-}1 \mu\text{m}$) an. In der Abbildung 1.10 erkennt man deutlich die Größenverteilung des atmosphärischen Aerosols. Die Senken des Aerosols liegen in der Impaktion sowie in der nassen oder trockenen Deposition je nach Größe der Teilchen.

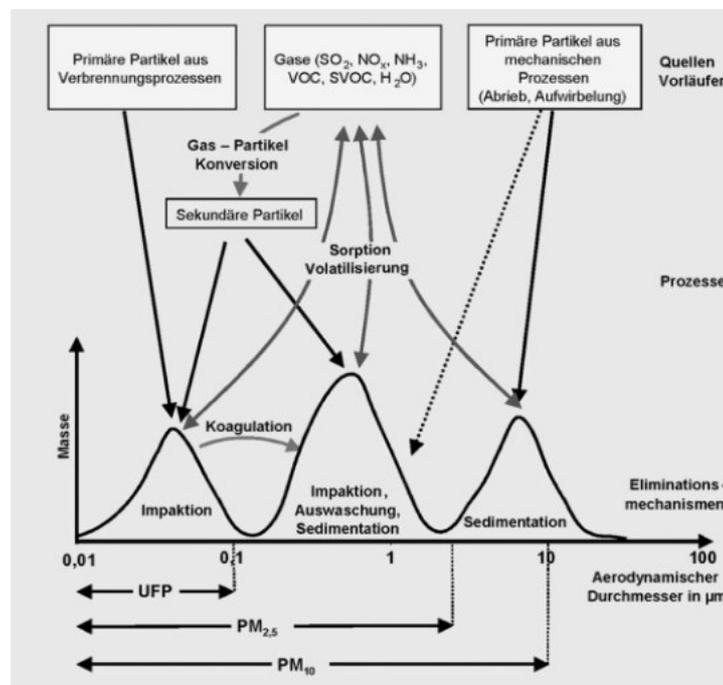


Abbildung 1.10: Vereinfachte Darstellung der Größenverteilung atmosphärischer Partikel in Quellennähe und der wichtigsten atmosphärischen Prozesse und Eliminationsmechanismen (Schnelle-Kreis et al., 2007)

Der Anteil sekundärer organischer Partikel am Gesamt-Aerosol-Budget lässt sich nicht direkt bestimmen. Daher gibt es nur Schätzungen, die jahreszeitlich bedingt zwischen 0 % und 80 % liegen. Schwierigkeiten bei der Abschätzung des atmosphärischen Beitrags des sekundären organischen Aerosols (*secondary organic aerosol*, SOA) bereitet u.a. die Verteilung mittelflüchtiger Substanzen zwischen Gas- und Partikelphase. Der temperaturabhängige Verteilungskoeffizient wird dabei auch von der Substanzmenge in der Partikelphase beeinflusst, was die Modellierungen der SOA-Bildung verkompliziert (Takekawa, Minoura et al., 2003). Voraussetzung für die SOA-Bildung sind leichtflüchtige Vorläufersubstanzen, die eine hinreichend schnelle Reaktion in der Atmosphäre aufweisen und zu schwerflüchtigen Produkten führen. Diese schwerflüchtigen Produkte besitzen ein hinreichend großes Molekulargewicht

und polare Funktionen. Als klassisches Beispiel aus der Gruppe der Terpene gelten Mono- und Sesquiterpene. Hemiterpene wie das Isopren dagegen bilden nur wenig schwerflüchtige Produkte und Diterpene sowie größere Terpene sind selbst nicht flüchtig genug. Monoterpenen wird ein wesentlicher Beitrag zum sekundären organischen Aerosol zugesprochen (Hoffmann 1998, 1997; Reinnig, M.-C. et al., 2008), was durch die hohe Neigung zur Aerosolbildung und die hohe Emissionsstärke bedingt wird. Sesquiterpene besitzen zwar nicht so hohe Emissionsraten wie Monoterpene, verfügen dafür aber über eine höhere Reaktivität als Monoterpene und bilden auf Grund ihrer Masse schwerer flüchtige Produkte (Griffin et al, 1999; Hofmann, Odum et al., 1997). Die Vegetation emittiert eine große Menge flüchtiger organischer Kohlenwasserstoffe besonders Isopren, Terpene und oxidierte Terpenoide. Terpene und Terpenoide werden als mögliche Quellen für Aerosole und als wichtige Vorläufer bei der photochemischen Bildung von Oxidationsmitteln (Ozon) erachtet. Auf Grund ihres ungesättigten Charakters reagieren biogene NMHCs leicht mit Ozon. Dieses starke Oxidationsmittel ist in der Umgebungsluft in typischen Bereich zwischen 40-150 ppbv, abhängig von Ort, Jahreszeit, Wetter und Tageszeit (Calogirou, Larsen et al., 1996) nachweisbar.

Auch kann die Menge an eingebrachten Vorläufersubstanzen für die Bildung sekundärer Partikel nur geschätzt werden, da sie von sehr vielen, unterschiedlichen Faktoren abhängig ist. Die VOC-Emissionen sind eine der größten Quellen, wie die nebenstehende Tabelle 1.3 verdeutlicht. Die angegebenen Schätzungen belaufen sich für die Terpene (ohne Isopren und oxidierte VOCs) zwischen 40-400 Terragramm/Jahr (Schnelle-Kreis 2007). Damit übertreffen die Emissionen an

Tabelle 1.3:

geschätzte Emissionen von Vorläufersubstanzen für sekundäre Partikel in Terragramm/Jahr

	Global
NO _x	30-70
NH ₃	40-70
SO ₂	67-130
DMS und H ₂ S	13-42
VOC	100-1150

biogenen VOCs bei weitem die der anthropogenen Verbindungen wie Ammoniak, Schwefeldioxid. An der großen Schwankungsbreite erkennt man die Unsicherheit, mit der diese Zahlen behaftet sind. Eine genauere Abschätzung der VOC-Emissionen ist in der folgenden Tabelle aufgeführt. Darin ist die Quellenstärke von Isopren, den Monoterpenen und anderen reaktiven flüchtigen organischen Verbindungen (Other Reactive Volatile Organic Compounds, ORVOC) biogenen Ursprungs sowie die Gesamt-VOC-Emission in Abhängigkeit der emittieren Quellen/Gebiet/Landschaft/Umgebung zu sehen. Dabei findet durch Wälder die größte Freisetzung statt, während die Emissionen der Ozeane nur einen verschwindend geringen Bruchteil dazu beitragen. Ebenso wird deutlich, dass Isopren mehr als 40 % und die Monoterpene mehr als 10 % der globalen Emissionen ausmachen (vergleiche Tabelle 1.4). Der Anteil der Sesquiterpene ist deutlich geringer (5 %).

Tabelle 1.4: Schätzungen der globalen Emissionen biogener VOCs in Terragramm/Jahr (Seinfeld u. Pandis, 2006)

Quelle	Isopren	Monoterpene	ORVOC	Gesamt-VOC*
Wälder	372	95	177	821
Anbauflächen	24	6	45	120
Busch	103	25	33	194
Ozeane	0	0	2,5	5
Andere	4	1	2	9
Gesamt	503	127	259,5	1150
Beitrag in %	44	11	23	

ORVOC = other reactive volatile organic compounds

* beinhaltet zusätzlich nichtreaktive VOCs, die links davon in der Tabelle nicht aufgeführt sind

Neben der Emissionsstärke ist auch wie bereits erwähnt die Reaktivität der Vorläufersubstanzen von großer Bedeutung. Die Reaktionsratekonstanten und die atmosphärischen Lebensdauer in der Anwesenheit von Oxidantien wie Ozon oder OH-Radikalen geben Aufschluss darüber, wie schnell solche Reaktionen in der Atmosphäre ablaufen. Dies ist in Tabelle 1.5 gut zu erkennen. Darin finden sich neben Mono- und Sesquiterpene auch andere biogene Spurengase wie Ethylen und das im weiteren Zusammenhang als Ozon-Scrubber verwendete Propen. Wie deutlich zu erkennen ist, besitzen die Sesquiterpene besonders β -Caryophyllen und α -Humulen sehr hohe Reaktionsratekonstanten und damit eine sehr geringe Lebensdauer im Bereich von zwei Minuten in Anwesenheit von Ozon. Die der Monoterpene liegt im Bereich von 44 Minuten bis hin zu einem Tag. Das Sesquiterpen Longifolen allerdings bildet mit seiner atmosphärischen Lebensdauer von mehr als 33 Tagen in Anwesenheit von Ozon eine Ausnahme. Dies ist auf die fehlenden Doppelbindungen und die damit einhergehende geringere Reaktivität zurückzuführen. Propen weist in etwa die gleiche Reaktionsgeschwindigkeit wie das Monoterpene β -Pinen auf.

Tabelle 1.5: Ratekonstanten k (in $\text{cm}^3 \text{Moleküle}^{-1} \text{s}^{-1}$) und atmosphärische Lebensdauer verschiedener Verbindungen (MT, SQT, u.ä.) für die Reaktionen mit Ozon, OH- und NO_3 -Radikalen

Verbindung	O_3 - Ratekonstante ($\times 10^{-17}$)	Lebensdauer in Anwesenh. von Ozon	OH- Ratekonstante ($\times 10^{-11}$)	Lebensdauer in Anwesenh. von OH	NO_3 - Ratekonstante ($\times 10^{-14}$)	Lebensdauer in Anwesenh. von NO_3
a-Pinen	8,66 ^b	4,6 h ^d	5,4 ^b	2,6 h ^d	616 ^b	11 min ^d
β -Pinen	1,5 ^b	1,1 Tage ^d	7,9 ^b	1,8 h ^d	251 ^b	27 min ^d
3-Caren	3,7 ^b	11 h ^d	8,8 ^b	1,6 h ^d	910 ^b	7 min ^d
Sabinen	8,6 ^b	4,4 h ^d	11,7 ^b	1,2 h ^d	1010 ^b	7 min ^d
Myrcen	490 ^b	50 min ^d	21,5 ^b	39 min ^d	1100 ^b	6 min ^d
Ocimen	560 ^b	44 min ^d	25,2 ^b	33 min ^d	2200 ^b	3 min ^d
Limonen	20,1 ^c	2 h ^d	17,1 ^b	49 min ^d	1220 ^b	5 min ^d
a-Copaen	15,8 ^c	2,5 h ^d	9 ^b	1,5 h ^d	1600 ^b	4 min ^d
a-Cedren	2,8 ^c	14 h ^d	6,7 ^b	2,1 h ^d	820 ^b	8 min ^d
β -Caryophyllen	1160 ^b	2 min ^d	19,7 ^b	42 min ^d	1900 ^b	3 min ^d
α -Humulen	1170 ^e	2 min ^d	29 ^e	28 min ^d	3500 ^e	2 min ^d
Longifolen	<0,07 ^e	>33 Tage ^d	4,7 ^e	2,9 h ^d	68 ^e	1,6 h ^d
Ethen	0,1 ^f		0,85 ^f		0,021 ^f	
Acetylen	0,0078 ^a		0,09 ^f		<0,01 ^f	
Propen	1,4 ^f		2,63 ^f		0,95 ^f	
1-Buten	0,8 ^f		3,14 ^f		1,35 ^f	
trans-2-Buten	20,2 ^f		6,4 ^f		39 ^f	

a (Atkinson, Aschmann et al., 1992)

b (Caligirou, Larsen et al., 1999)

c (Shu and Atkinson, 1994)

d (Atkinson and Arey, 2003)

e (Shu and Atkinson, 1995)

f (Atkinson, 1997)

1.6 Flüchtige organische Iodverbindungen

Neben dem 1975 entdeckten Iodmethan oder Methyljodid (CH_3I) (Lovelock, 1975) kennt man heute eine Gruppe von mehreren flüchtigen iodorganischen Verbindungen (volatile organic iodine compounds, VOI), zu denen Diiodmethan (CH_2I_2), Iodpropan ($\text{C}_3\text{H}_7\text{I}$) und gemischte Iod-Chlor bzw. Iod-Brom Verbindungen wie CH_2ClI oder CH_2BrI gehören (Carpenter 2000, Collén 1994). Die Hauptquelle dieser Verbindungen sind die Weltmeere (Carpenter 2003). Dort werden sie in Küstennähe und an der Oberfläche von Makroalgen, Mikroalgen (Phytoplankton) und Bakterien aus Iodat gebildet. Die genauen Mechanismen sind jedoch bis heute unbekannt. Man vermutet, dass die flüchtigen iodorganischen Verbindungen als Reaktion auf Stress wie UV-Licht oder Trockenstress produziert werden. Für einige Makroalgen und Phytoplanktonkulturen (mit Bakterien) konnte dies bereits nachgewiesen werden (Steven et al. 1997, Laturnus et al. 2004), was bei marinen Mikroalgen bisher nicht gelang (Hughes 2006). Die Konzentrationen dieser Verbindungen liegen im Bereich von einigen pptv wie die nachfolgende Tabelle 1.6 zeigt.

Tabelle 1.6: atmosphärische Konzentrationen verschiedener VOI (Carpenter, 2003)

Verbindung	Region	Konzentration (pptv)		Referenz
		Mittelwert	Bereich	
CH_3I	W.Ireland (Spring)	0.43	0.12~1.47	Carpenter et al. 1999
	W.Ireland (Summer)	3,78	1.30~12.03	Carpenter et al. 2000
	W.Ireland (Summer)	3,40	1.9~8.7	Bassford et al. 1999
	Spritzbergen, Arctic	1,04	<0.004~2.12	Schall & Heumann 1993
	Asian Seas	0.63	0.24~2.0	Yokouchi et al. 1997
	W.Pacific	0.87	0.05~5.0	Yokouchi et al. 1997
	Okinawa, Japan	1,20	0.5~2.0	Li et al. 1999
$\text{C}_2\text{H}_5\text{I}$	W.Ireland (Spring)	0.06	<0.02~0.21	Carpenter et al. 1999
	W.Ireland (Summer)	0.16	<0.02~0.50	Carpenter et al. 2000
	Asian Seas	0.09	0.03~0.31	Yokouchi et al. 1997
	Spritzbergen, Arctic	0.20	<0.02~2.28	Schall & Heumann 1993
	Spritzbergen, Arctic	2.00	<0.02~5.98	Schall & Heumann 1993
CH_2I_2	W.Ireland (Spring)	0.05	<0.02~0.36	Carpenter et al. 1999
	W.Ireland (Summer)	0.10	<0.02~0.46	Carpenter et al. 2000
	Spritzbergen, Arctic	0.46	<0.08~1.02	Schall & Heumann 1993

Die Konzentrationen der übrigen iodorganischen Verbindungen sind weit geringer als die von Iodmethan. Sie sind jedoch auf Grund ihrer Photolabilität eine große Quelle für Iodatome (Schall 1993, Carpenter 1999, Carpenter 2000). Der Bereich der atmosphärischen Lebensdauer reicht von 2-6 Tagen für Iodmethan (Röhl et al. 1997), über etwa 61 min für Bromiodmethan (Mössinger et al. 1998) bis hin zu 5 bis 6 min

für Diiodmethan. Elementares Iod (I_2), das ebenfalls in der marinen Grenzschicht zu finden ist, hat eine atmosphärische Lebensdauer von 5-10 Sekunden in der Sonne. Die durch Photolyse (der VOIs) gebildeten, hochreaktiven Iodradikale können mit Ozon und/oder OH-Radikalen reagieren. Dabei werden unter anderem schwerflüchtige Iodoxide gebildet, die in die Partikelphase übergehen können, wie in Abbildung 2.11 zusehen ist. Durch Niederschlag können die Partikel zurück in das Meer gelangen. Neben verschiedenen, halogenhaltigen Verbindungen konnten auch Terpene (Hattab et al., 2007; Kamendarska et al., 2006) sowie halogenierte Terpene (Ji et al., 2009) nach der Extraktion von Algen nachgewiesen werden. Daher besteht die Vermutung, dass sich hochreaktive (halogenhaltige) Terpene ebenfalls in der marinen Grenzschicht befinden können.

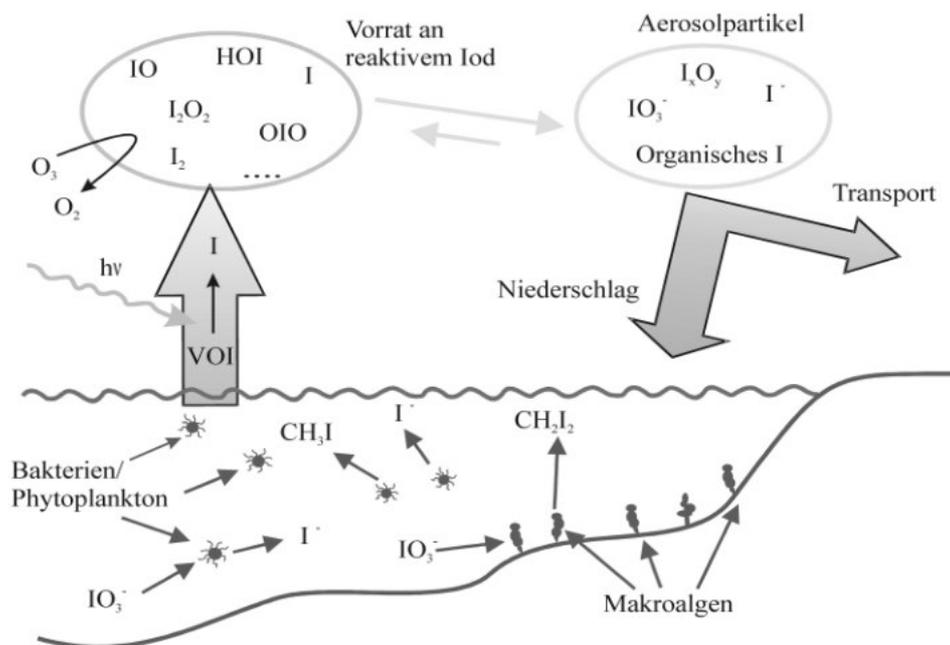


Abbildung 1.11: Schematische Darstellung des Iodkreislaufs in der maritimen Umgebung

Das Hauptinteresse an der Erforschung der flüchtigen organischen Iodverbindungen liegt in ihrem Potential von der Meeresoberfläche in die Gasphase überzugehen und dort nach Reaktionen als Vorläufer für iodhaltige Partikel in Erscheinung zu treten (O'Dowd, 2005). Damit bilden sie einen wichtigen Teil des Iodkreislaufs. Atmosphärisches Iod bzw. Iodradikale können die Ozonkonzentration in der marinen Grenzschicht (Figgans et al, 2000) und die fortschreitende Emission der Treibhausgase wie Methan beeinflussen. Des Weiteren tragen sie zur Bildung neuer Partikel und zur Erzeugung von Kondensationskeimen bei, die einen Einfluss auf den Strahlungshaushalt und das Klima haben (O'Dowd, 1999; Baker, 2000; Hoffmann, 2001; O'Dowd, 2002).

1.7 Theorie zur Luftprobenahme (Gasphasenkomponenten)

Die Forderung nach Erfassung flüchtiger Schadstoffe in der Umgebungsluft hat sich in den letzten Jahrzehnten soweit verstärkt, dass sich die Luftanalytik als wichtiges Forschungsgebiet in der Analytischen Chemie etablieren konnte (Cammann, 2000). Dabei geht es nicht nur um die Überwachung des Arbeitsplatzes oder industrieller Emissionen zur Einhaltung von Grenzwerten oder Richtlinien (MAK-Werte/ TRK-Werte), sondern auch um die Untersuchung der Schadstoffverbreitung (z.B. FCKWs) in der Atmosphäre. In der Abbildung 1.12 ist ein Überblick der verschiedenen Probenahmetechniken zur Untersuchung von Luft und Luftinhaltsstoffen in der Gasphase gezeigt. Die Anwendung sowie die Vor- und Nachteile der einzelnen Techniken für die VOC-Bestimmung erfolgt im Weiteren.

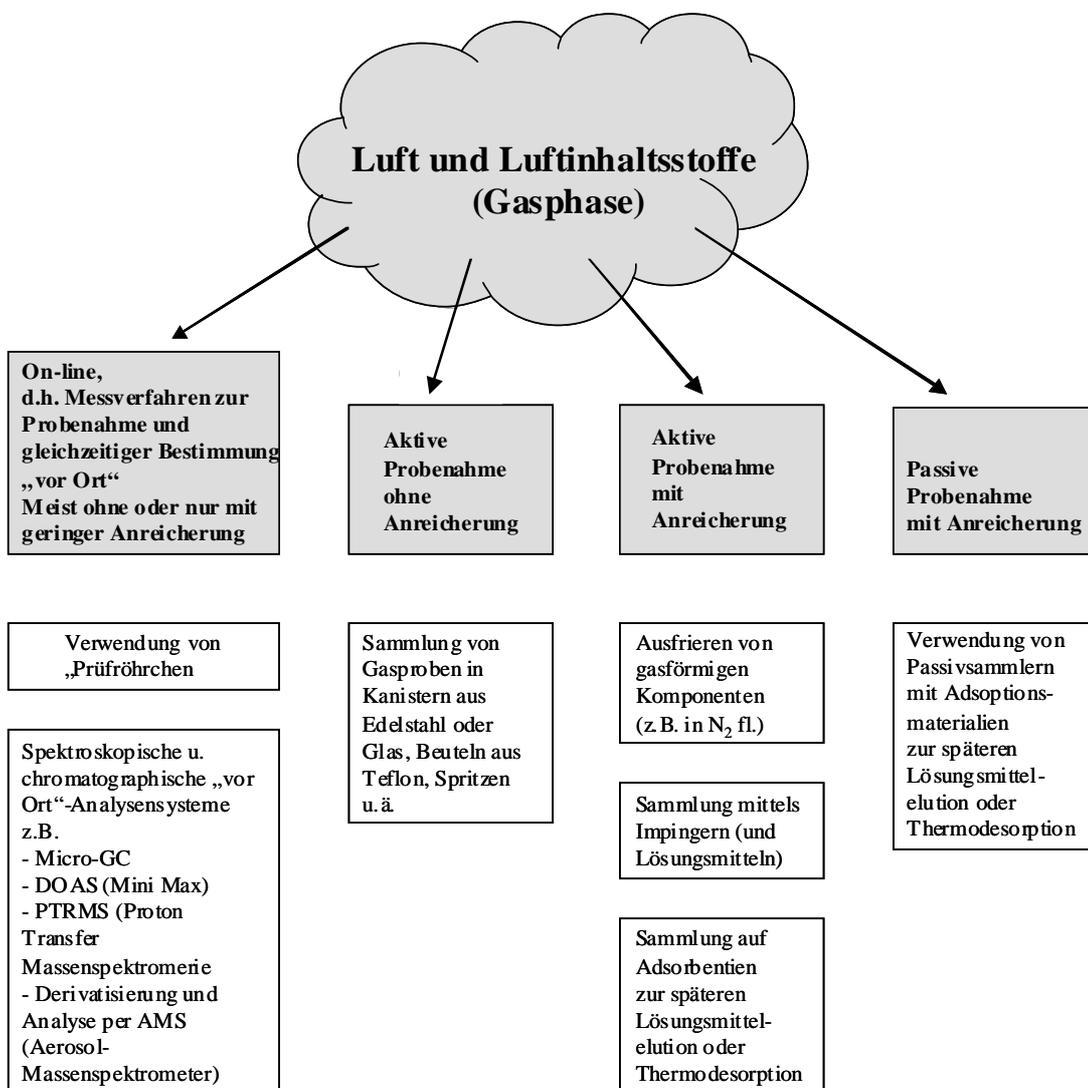


Abbildung 1.12: Überblick über die verschiedene Techniken zur Luftprobenahme von Gasphasenkomponenten (modifiziert nach Cammann, 2000)

Ein wichtiger Aspekt der Luftprobenahme ist die Zeitauflösung. Hier kommen Messverfahren zur Probennahme mit gleichzeitiger Bestimmung vor Ort zum Einsatz. Diese reichen von einfachen Prüfröhrchen für Gase wie Ozon, Ammoniak, Schwefeldioxid und Lösungsmitteln wie Hexan oder Benzol bis zu spektroskopischen Verfahren wie IR, UV und Chemilumineszenz sowie verschiedenen Detektoren z.B. Flammenionisationsdetektor, Photoionisationsdetektor, Massenspektrometer. Die Messverfahren müssen speziell auf die zu untersuchenden Substanzen abgestimmt sein und können meist nicht für mehrere Analyten gleichzeitig verwendet werden. Vorteile der on-line Systeme sind neben der erwähnten hohen Zeitauflösung, die Vermeidung von Probeverlusten oder Artefaktbildung während der Anreicherung oder Lagerung. Für die Analytik flüchtiger organischer Verbindungen sind die meisten der aufgeführten Verfahren aufgrund der Reaktivität der Analyten und der damit einhergehenden Probleme im Analyseverfahrens, der geringen Konzentration in einer teilweise sehr komplexen Matrix und der schwierigen Unterscheidung von Strukturisomeren nur selten geeignet.

Eine weitere Möglichkeit der online-Luftanalytik ist die Verwendung von speziellen, kommerziell erhältlichen, mobilen Gaschromatographen. Diese sind kompakt konzipiert und werden zur Gasanalyse (Stickstoff, Methan, Kohlendioxid bis hin zum Hexan) eingesetzt. Die Analysezeiten liegen im Bereich von einigen Sekunden. Die Detektion erfolgt üblicherweise über einen Wärmeleitfähigkeitsdetektor. Die Empfindlichkeit wird zwischen 10 ppm und 50 ppm angegeben (*inrag, microGC C2V*). Diese GC-Systeme gestatten aufgrund ihrer hohen Zeitauflösung sehr schnelle vor Ort Analysen. Die Methode bleibt leider auf sehr flüchtige Substanzen beschränkt, und da keine Anreicherung stattfindet, sind Spurenkomponenten damit nur schwer zu detektieren. Des Weiteren erlaubt der Wärmeleitfähigkeitsdetektor im Gegensatz zum Massenspektrometer keine weiteren Aussagen über die Struktur unbekannter Verbindungen.

Für online-Messungen von VOCs wird häufig ein Protonen-Transfer-Reaktion-Massenspektrometer (Proton Transfer Reaktion – Mass Spektrometrie, PTR-MS) eingesetzt. Die sanfte Ionisierung der genommenen Luftprobe erfolgt durch Protonentransfer meist von H_3O^+ . Dadurch werden die Hauptbestandteile der Luft wie Stickstoff, Sauerstoff, Argon und Kohlendioxid aufgrund ihrer geringeren Protonenaffinität nicht ionisiert. Das PTR-MS liefert Daten mit einer sehr hohen Zeitauflösung (Sekunden bis Minuten). Allerdings kann man aufgrund der fehlenden oder nur geringen Trennung der Analyten kaum eine profunde Aussage über unbekannte Substanzen abgeben. Durch die fehlender Anreicherung werden daher meist nur die Hauptkomponenten identifizieren. Bei chemisch sehr ähnlich aufgebauten Substanzen, wie den Strukturisomeren der Mono- und Sesquiterpene liefert diese Methode nur den Summenwert.

Luftprobenahme ohne Anreicherung, die die ganze Umgebungsluft einbezieht (*whole-air-sampling*), ist eine weitverbreitete Technik, um Kohlenwasserstoffe mit geringem Molekulargewicht im Anschluss zu messen. Dies findet üblicherweise mittels rostfreien Edelstahl- oder Glascontainern statt (Abbildung 2.13). Allerdings kann die Reaktivität der Oberfläche und das bei der Probenahme aufgenommene Ozon zu einer Neuordnung auf molekularer Ebene und zur Abreaktion der ungesättigten biogenen NMHC führen.

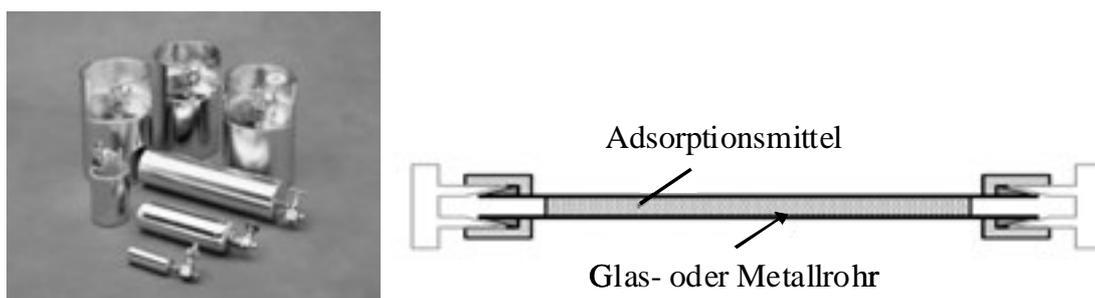


Abbildung 1.13: Kanister und Adsorptionsröhrchen

Für die Analytik flüchtiger und mittelflüchtiger organischer Komponenten im pptv-Bereich muss oft eine Anreicherung der Analyten erfolgen. Die Anreicherung in Lösungsmittel hat trotz ihrer einfachen Handhabung, der einfachen Möglichkeit Reaktionen (z.B. Derivatisierungen) anschließen und der Möglichkeit neben der Gaschromatographie auch die Flüssigkeitschromatographie sowie andere Detektoren (z.B. Photometer) nutzen zu können den Nachteil, dass es leichter Reaktionen in der Lösung geben kann als auf einem festen Adsorbens und möglichen Probeverlust beim Einengen der Lösungen. In Kühlfallen kondensiert häufig der in der Luft vorhandene Wasserdampf aus. Häufig werden dabei Trockenmittel eingesetzt, die wiederum bei ungesättigten Verbindungen zu Isomerisierungsreaktionen führen können.

Daher wird die Probenahme von biogenen NMHC vorzugsweise auf Adsorbentien durchgeführt (Calogirou, Larsen et al. 1996). Dabei kann die Anreicherung mittels flüssigem Stickstoff bei -196 °C oder auf speziellen Adsorbentien mit extrem großer Oberfläche erfolgen. Bei der Probennahme auf Adsorbentien unterscheidet man zwischen passiver Probennahme durch Diffusion der Analyten auf die Adsorbentien oder aktiver Probennahme. Im letzteren Fall wird die zu beprobende Luft mittels einer Pumpe unter Flusskontrolle durch ein geeignetes Röhrchen - gefüllt mit Adsorbens - geleitet, wobei sich die zu bestimmenden Komponenten, die eine geringere Flüchtigkeit als Permanentgase wie Stickstoff aufweisen, dabei auf dem Adsorbens anreichern. Die Prozesse, die dabei eine Rolle spielen, sind schematisch in Abbildung 1.14 noch einmal verdeutlicht.

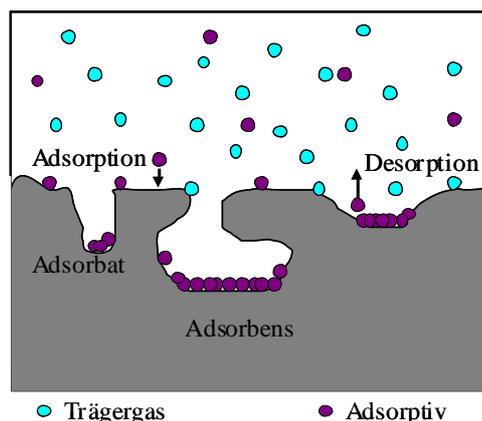


Abbildung 1.14: Schematische Darstellung der Adsorption und Desorption

Adsorbentien werden heute auch in der Filtertechnologie zur Entfernung von Gerüchen aus Toiletten, Küchen, Jagdkleidung und Einlegeschuhsolen etc. genutzt. Ihre Einsatzmöglichkeiten reichen vom Schutz vor giftigen Substanzen (wie PCB, Formaldehyd, Pestizide, Nitrosaminen) über spezielle Tapeten, Hüllen und Decken bis in Schutzkleidung und Atemschutzmasken als Protektion vor chemischen Kampfstoffen (Saratech, Blücher technologies). Ein wichtiger Gesichtspunkt für die Anwendung von Adsorptionsröhrchen in der Luftanalytik ist die Auswahl der Materialien. Es gibt kommerziell verfügbare Röhrchen aus Edelstahl oder Glas. Je nach Reaktivität der Analyten ist hier entsprechend abzuwägen. Das gleiche gilt für die Auswahl und Menge der Adsorptionsmaterialien, von denen es mittlerweile eine große Fülle gibt, wie in der folgenden Tabelle 1.7 angedeutet. Die Analyten müssen zum einen vollständig angereichert werden, zum anderen müssen sie zur Analyse unzersetzt und vollständig vom Adsorbens desorbiert werden. Weiterhin sollten die Adsorbentien keine große Affinität zu Wasser aber eine hohe Aufnahmekapazität für organische Komponenten besitzen. Eine weitgehende chemische Stabilität gegenüber reaktiven Luftbestandteilen (O₃, NO_x), thermische Stabilität bei der Desorption bzw. Stabilität gegenüber dem Lösungsmittel bei der Flüssigextraktion und möglichst keine Untergrundsignale (Blindwerte) sind erforderlich.

Tabelle 1.7: häufig eingesetzte Adsorbentien (fettgedruckt die verwendeten Adsorbentien Tenax und Carbotrap B), Informationen je nach Angaben des Herstellers

Handelsname	Grundgerüst	Temperaturstabilität (°C)	Spezifische Oberfläche (m ² /g)	Eignung	Substanzen
Kieselgel	Kieselsäure	300	1-30	m	
Aluminiumoxid	Aktiviertes Aluminiumoxid	300	300	m	
Aktivkohle	Kohlenstoff aus Kokosnußschale	>400	800	l,m	
Carbotrap B	graphitisierter Kohlenstoff (GCB)	300	100	m	C5-C12
Carbosieve S-III	Molekularsieb aus Kohlenstoff (CMS)	400	820-975	l,m	C2-C5
Tenax TA	Poly-2,6-Diphenyl-p-phenylenoxid	350	30-40	m	
Porapak Q	Diphenylbenzol-Ethylvinylbenzol	250	700	m	
Chromosorb 102	Styrol-Divinylbenzol	250	350	m	
Chromosorb 106	Styrol-Divinylbenzol	250	750	l	
Amberlite XAD-4	Styrol-Divinylbenzol	200	750	m	
Amberlite-2	Styrol-Divinylbenzol	200	300	m	
Carbotrap C	graphitisierter Kohlenstoff (GCB)	300	10		C9-C30
Carbotrap F	graphitisierter Kohlenstoff (GCB)	300	5		>C20
Carbopack X	graphitisierter Kohlenstoff (GCB)	300	240		C3-C9
Carbopack Y	graphitisierter Kohlenstoff (GCB)	300	24		C12-C20
Carbosieve S-II	Molekularsieb aus Kohlenstoff (CMS)	225	1000	l	C1-C2
Carbosieve G	Molekularsieb aus Kohlenstoff (CMS)	<200	1000	l	C1-C5
Carboxen 569	Molekularsieb aus Kohlenstoff (CMS)		485		C2-C5
Carboxen 1000	Molekularsieb aus Kohlenstoff (CMS)		1200	l	C2-C5
Carboxen 1012	Molekularsieb aus Kohlenstoff (CMS)		1500	l	C2-C6

m: mittelflüchtige Substanzen l: leichtflüchtige Substanzen

Die Desorption der Analyten kann sowohl thermisch als auch durch Extraktion mittels geeigneter Lösungsmittel erfolgen. In der einfachen Handhabbarkeit der Adsorptionsröhrchen, der Mobilität aufgrund kleiner Probenahmepumpen und Lagerungsfähigkeit der beprobten Adsorptionsröhrchen liegen die Vorteile dieser Technik. Zusätzlich erspart die lösungsmittelfreie Desorption einen weiteren manuellen Arbeitsschritt und durch die Automatisierung der Probenanalyse ist ein schneller Probendurchsatz möglich. Die Analyse der gesamten angereicherten Luftprobe in einem Schritt und die hohe Nachweisstärke der Thermodesorption sind ebenfalls wichtige Aspekte. Eine neuere Entwicklung ist der Einsatz der Solid Phase Micro Extraction (SPME) in der Luftprobenahme (Grab Sampling). Dabei werden die Analyten auf einer beschichteten Festphase (fiber) adsorbiert, wenn diese der Luft ausgesetzt wird. Die Analyse erfolgt nach Thermodesorption (oder Lösungsmittelextraktion) mittels GC, GC-MS oder HPLC. Bisher gibt es allerdings kommerziell nur drei verschiedene Phasen für die Probenahme organischer Verbindungen: Polydimethylsiloxan, Carboxen/Polydimethylsiloxan und

Polydimethylsiloxan/DVB StableFlex fiber, was die Anwendung noch etwas einschränkt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass zur Bestimmung flüchtiger organischer Verbindungen aufgrund der geringen Konzentration in der Außenluft ein Anreicherungsschritt meist unumgänglich ist. Des Weiteren ist häufig angesichts der komplexen Matrix und der großen Anzahl verschiedenartiger flüchtiger organischer Verbindungen ein Trennverfahren nötig, insbesondere dann, wenn die zu erfassenden Verbindungen der gleichen Substanzklasse angehören und Strukturisomere wie in der vorliegenden Arbeit die Terpene sind. Die Trennung der unpolaren flüchtigen und mittelflüchtigen Verbindungen ist mittels Gaschromatographie trotz ihrer ähnlichen chemischen und physikalischen Eigenschaften problemlos. Die Massenspektrometrie bietet sich nach der chromatographischen Trennung als Detektor an, da diese sehr nachweisstark ist und eine substanzspezifische Zuordnung auch im Fall der erwähnten Strukturisomere ermöglicht.

Nach der theoretischen Beschreibung der Probenahme folgen nun noch einige Anmerkungen zu den Probenahmebedingungen von BVOC-Emissionen, die in der vorliegenden Arbeit ebenfalls eine große Rolle spielen. Prinzipiell gibt es die Möglichkeit der direkten Probenahme vor Ort ohne Eingriffe in die äußeren Bedingungen oder der verpackenden „enclosure“-Techniken sowie der Simulation in einem Gewächshaus oder einer Atmosphärensimulationskammer. Die Einteilung der Methoden ist in der Abbildung 1.15 gezeigt. Die einzelnen Techniken werden im folgenden näher erläutert.

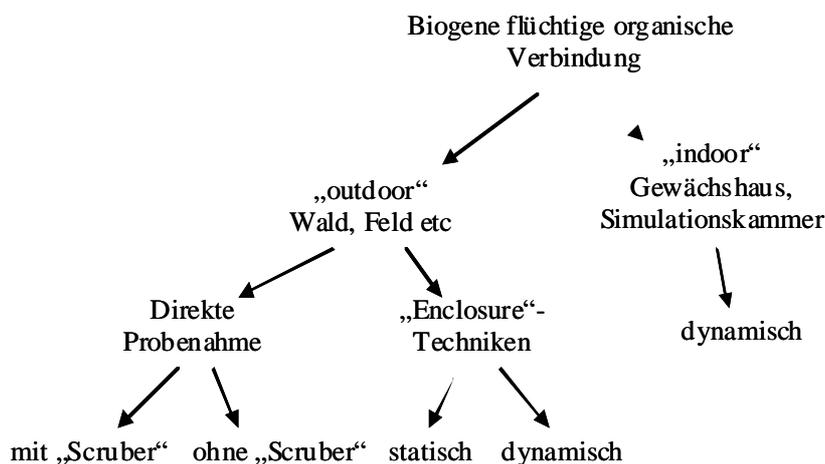


Abbildung 1.15: Überblick der Probenahmetechniken

Bei der direkten Probenahme ohne Hilfsmittel kann es gerade in Bezug auf die Analyse/Bestimmung hochreaktiver Verbindungen, wie Sesquiterpene und einzelne Monoterpene es sind, durch Reaktion mit OH-Radikalen, Ozon oder auch an reaktiven Oberflächen zu Artefaktbildung und damit zu falschen Messergebnissen kommen. Um dem entgegenzuwirken finden verschiedene Maßnahmen wie der Einsatz von Ozon-

Scrubbern Anwendung. Um unerwünschte Reaktionen auszuschließen, oder zumindest die Probenahmebedingungen deutlich vergleichbarer und damit auch kontrollierbarer zu gestalten werden sehr häufig einzelne Teile der interessierenden Vegetation - der zu beprobenden Pflanzen - in „Durchflussreaktoren“ und „Durchflussküvetten“ eingeschlossen („enclosure“-Techniken). Diese können dann statisch (ohne Durchfluss) oder dynamisch (mit Durchfluss) betrieben werden, wobei die statische Methode viele Nachteile aufweist wie zum Beispiel keine konstante CO₂-Konzentration und zu hohe Lufttemperatur. Weiterhin kommt es bei der statischen Messung auch aufgrund der kurzen Messdauer und der mit dem Stress des „Einpackens“ verbundenen erhöhten Pflanzenmissionen sehr häufig zu verfälschten Werten. Die Alternative dazu bedeutet die Bereitstellung und Kontrolle eines aufwendiges Zubehör (Parameter für Temperatur, CO₂, Luftfeuchte). Allgemein ist es einfacher, solche Experimente („monitoring“) in Gewächshäusern durchzuführen, da auch die experimentellen Bedingungen leichter kontrolliert werden können. Dazu gehört auch das Vorhandensein von Messgeräten, Strom und Infrastruktur. Allerdings bleiben solche Versuchsreihen meist auf kleine Pflanzen beschränkt. Und sie können nur unter simulierten Bedingungen wie künstlichem Sonnenlicht, Temperatur, Gehalt an CO₂, O₂, N₂, Wasserdampf, sowie sonstige Effekte wie ausreichend Wasser und Nährstoffe, Anwesenheit von Herbivoren, etc. durchgeführt werden. Solche Gewächshausexperimente können Korrelationen zwischen den Emissionen und der Kontrolle der Umweltbedingungen erläutern und aufklären. Dabei bleibt allerdings unklar, wie diese Ergebnisse in die natürliche Umwelt übertragen werden können.

1.8 Temperaturabhängigkeit der biogenen Terpenemissionen

Die Zusammenhänge, die zur Freisetzung von Terpenen führen, wurden bereits in mehreren Studien untersucht (Lappalainen et al., 2009 ; Hansen et al., 2003 ; Schuh et al., 1997 ; Kesselmeier et al., 1999 ; Holzke et al., 2006 ; Duhl, et al., 2008 ; Helmig et al., 2006 ; Komenda et al., 2003, Dement et al., 1975, Tarvainen et al., 2005). Dabei wird häufig eine Korrelation von abiotischen Faktoren wie Luft-, Blatt- und Boden-Temperatur, Licht, Tagesrhythmus, Jahreszeiten, Feuchtigkeit des Bodens und der Luft vermutet. Belegt werden konnte bisher für Isopren und Monoterpene eine Korrelation zur Lichtintensität. Zudem besteht eine große Abhängigkeit zwischen der Umgebungstemperatur (Luft) bzw. Blatttemperatur und der biogenen Emission von Terpenen, wobei es sehr schwierig ist, die Faktoren unter natürlichen Bedingungen zu separieren. Forschungen haben gezeigt, dass zum Zeitpunkt der höchsten Tagestemperaturen, die meist zur Mittagszeit auftreten, die größten Terpenemissionen existieren (siehe Abbildung 1.16). Dies scheint für sehr viele unterschiedliche Pflanzenfamilien zu gelten (z.B. für Fichte (*pinus silvestris*), Salbei (*salvia mellivera*), Zitruspflanzen (*citrus*)).

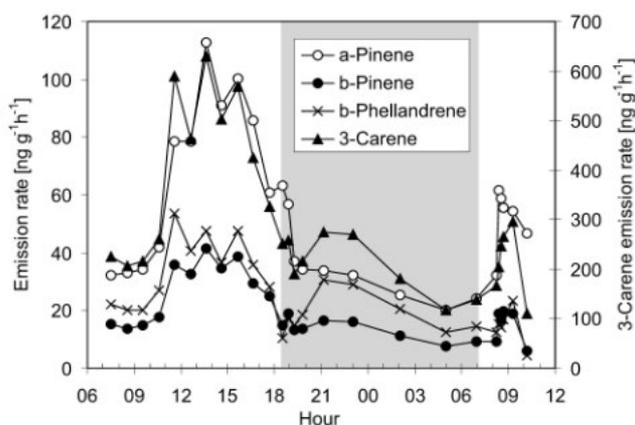


Abbildung 1.16: VOC-Emission of Scots pine (V. Tarvainen et al., 2005)

Zudem wurde für Sesquiterpenemissionen eine deutlich stärkere Temperaturabhängigkeit als für Monoterpenemissionen gefunden (Helmig et al., 2006). Dies kann auch auf die geringere Flüchtigkeit der Sesquiterpene auf Grund der höheren Molmasse zurückgeführt werden. Bei der mathematischen Beschreibung dieses Zusammenhangs finden sich in der Literatur mehrere Ansätze. Im folgenden (Gleichung A und B) sind zwei davon näher dargestellt. Darin wird für die Emission jeweils eine Boltzmann ähnliche Verteilung beschrieben, d. h. wird die Terpenkonzentration gegen die (Blatt-)Temperatur aufgetragen, so erhält man eine Exponential-Kurve. Je nach Modell werden dabei unterschiedliche Faktoren wie die Herkunft der Terpene, die Lichtintensität, die Gaskonstante und weitere empirische Parameter in den vorgeschlagenen Gleichungen berücksichtigt. Als β wird die

Steigung der Kurve bezeichnet. Diese liegt in der Literatur zwischen 0,057 und 0,144 °C⁻¹.

Gleichung A) von Tingey et al., 1980 aus Kesselmeier, Staudt, 1999:

$$E = E_S * \exp(\beta * (T - T_S))$$

E: Emission bei Temperatur T

β: Steigung dlnE / dT

E_s: Emissionen bei Standardtemperatur T_s

Gleichung B) von Holzke et al., 2006:

$$E = E_{\text{pool}} + E_{\text{synth}},$$

with

$$E_{\text{pool}} = E_{\text{stand}}^p \left(\frac{\exp\left[\frac{C_{T_1}}{R} \frac{(T-T_s)}{TT_s}\right]}{C_{T_3} + \exp\left[\frac{C_{T_2}}{R} \frac{(T-T_M)}{TT_s}\right]} \right)$$

and

$$E_{\text{synth}} = E_{\text{stand}}^s C_L \left(\frac{\alpha L}{\sqrt{1 + \alpha^2 L^2}} \right) \times \left(\frac{\exp\left[\frac{C_{T_1}}{R} \frac{(T-T_s)}{TT_s}\right]}{C_{T_3} + \exp\left[\frac{C_{T_2}}{R} \frac{(T-T_M)}{TT_s}\right]} \right)$$

E: Standard Emissionsrate

E_{pool}: Temperatur abhängige Terpen-Emission der Pools

E_{synth}: Temperatur und Licht abhängige Terpen-Emission der de novo-Synthese

E_{stand}^p: Standartemissionsfaktor

E_{stand}^s: Standardemissionsfaktor

T: Temperatur in K

T_s: Standardtemperatur (303K)

T_M: kritische Temperatur der Enzymdenaturierung (314K) C_{T1}, C_{T2}, C_{T3}, α, C_L: empirische Parameter

L: Lichtintensität (μmol m² s⁻¹)

R: Gaskonstante (8,314 J mol⁻¹ K⁻¹)

Dieser Verlauf legt die Vermutung nahe, dass die freigesetzten Terpene sowohl aus Pools stammen als auch *de novo* synthetisiert werden (Lappalainen et al., 2009). Dabei nehmen manche Autoren (Hansen, Seufert, 1999) auch eine sogenannte Schwellenwert-Temperatur (*threshold temperature*) an, unterhalb der keine Sesquiterpenemissionen erscheinen. Es gilt als wahrscheinlich, dass die Emission von mehreren Faktoren bestimmt werden. Die Temperatur hat dabei einen Effekt auf die Diffusion und die Gleichgewichtskoeffizienten zwischen den „*storage pools*“ (Lappalainen et al., 2009). Meist erfolgt die Abbildung der Ergebnisse durch Auftragung der Terpenkonzentration gegen die Temperatur (Lappalainen et al., 2009) bzw. Auftragung des natürlichen Logarithmus der Terpenkonzentration gegen den reziproken Temperaturwert (Schuh et al., 1997; Holzke et al., 2006). Dies ist in der Abbildung 1.17 dargestellt.

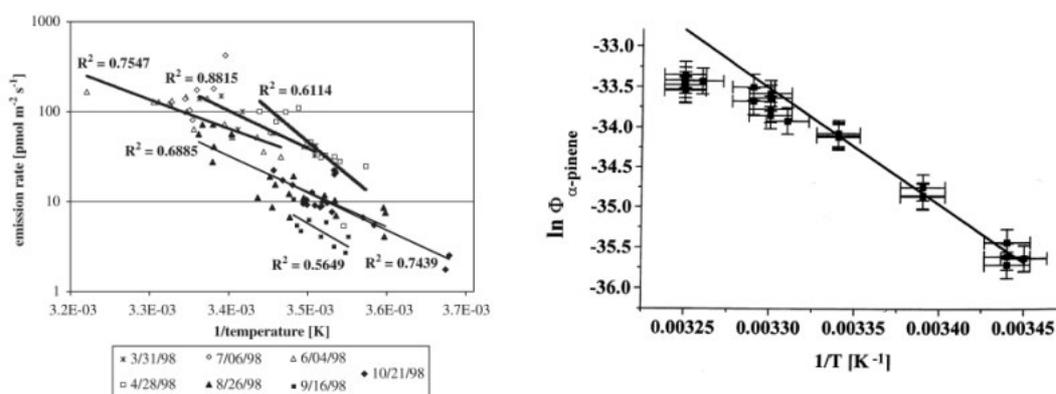


Abbildung 1.17: Möglichkeiten der Visualisierung der Temperaturabhängigkeit: Änderungen der α -Pinen-Temperaturabhängigkeit (Holzke, 2006) und α -Pinen-Temperaturabhängigkeit (Schuh, 1997)

Betrachtet man diese Abhängigkeit, so ist bei allen Emissionsstudien der Temperaturverlauf zu beachten und zu dokumentieren, um sie vergleichbarer zu machen. Kammerversuche (*enclosure experiments*) können aufgrund des Aufheizens der verwendeten Gefäße durch die Sonne verfälscht werden, und damit zu hohen Ergebnissen führen. Dies kann durch eine genaue Überwachung der Temperatur erklärt und korrigiert werden.

1.9 Entfernung von atmosphärischem Ozon in Bodennähe

Wie schon im Kapitel 1.7 beschrieben ist die Reaktion der hochreaktiven VOCs mit Ozon ein großes Problem bei der Probenahme. Die Oxidation der Analyten kann dabei nicht nur in der Umgebungsluft, sondern auch auf dem Adsorptionsröhrchen erfolgen. Ebenso können bestimmte Adsorptionsmaterialien wie Tenax Reaktionen mit Ozon eingehen, was zu erhöhten Blindwerten führt. Um die oben genannten Reaktionen zu vermeiden, sollte Ozon so weit wie möglich entfernt werden. In der Literatur (Hoffmann 1995, Helmig et a. 2004, 2003, 1997) wurden dazu folgende Untersuchungen zu verschiedenen Techniken des Ozonabbaus bzw. der Ozonverringerng beschrieben: ein mit Mangandioxid beschichtetes Kupfernetz, geheizte Katalysatoren, Aktivkohle-Scrubber, mit Natriumthiosulfat behandelte Glasfiberfilter sowie die Zugabe von reaktiven Substanzen im Überschuss (z.B. trans-2-Buten). Das aktive, zur Ozonverringerng eingesetzte Medium wird im weiteren Verlauf als Ozon-Scrubber bezeichnet.

Neben der erwünschten Reaktion des Ozonabbaus treten bei einigen genannten Techniken Probleme mit der Wiederfindungsrate der Analyten, sowie positive und negative Artefaktbildungen auf. Diese beruhen auf der Interaktion der Analyten mit den Ozon-Scrubbern. Reaktive VOC zeigen Reaktionen auf und mit der Oberfläche der Ozon-Scrubber z.B. Isomerisierungen auf der aktiven Oberfläche von Metallen oder Fragmentierung bei geheizten Katalysatoren. Des Weiteren kommt es im Fall der Aktivkohle zu Verlusten durch Absorption und daher zu negativen Artefakten der weniger flüchtigen Analyten. J. Pollmann (2005) konnte zeigen, dass die mit Natriumthiosulfat behandelten Glasfiberfilter am geeignetsten sind. Eine völlig andere Herangehensweise ist die Entfernung von Ozon mittels reaktiver Substanzen (Arnts, 2008). Dies basiert hier auf der Reaktion von Ozon mit aktiven Substanzen, z.B. Buten oder Propen, die im Überschuss zugegeben werden. Das hat den Vorteil, dass der Ozon-Scrubber keine Reaktionen mit den Analyten in der vorliegenden Arbeit Terpenen eingeht, da Propen und evtl. mitgeführte Inhaltsstoffe des Propens (Propan, Butan, Buten) nicht mit den interessierenden Mono- und Sesquiterpene reagieren. Zudem kann sichergestellt werden, dass die Oberfläche des Adsorbens nicht vom Scrubber besetzen wird und es so zu keinem verfrühten Substanzdurchbruch kommt.

Die Trennung der Analyten und des zur Ozonverringerng eingesetzten Kohlenwasserstoffes per GC ist problemlos möglich. Blindwerte des verwendeten Propens und der mitgeführten Inhaltsstoffe des Propens (Propan, Butan, Buten) werden durch Vorproben bestimmt. Die Oxidationsprodukte des Propens sind bereits gut untersucht und stellen aufgrund der Flüchtigkeit auch ohne Derivatisierung kein Problem für die Gaschromatographie dar. Zusammengefasst liegen die Vorteile des Ozon-Scrubbers auf Propen-Basis im Fehlen unerwünschter Reaktionen (wie Isomerisierung auf reaktiven Oberflächen) und negativer Artefaktbildung (Adsorption der Analyten z.B. beim Einsatz von Aktivkohle). Dabei kann die Wirkung durch Erhöhung/Senkung der Konzentration immer optimal an die jeweiligen

Ozonkonzentrationen angepasst werden. In kleinen Druckgasflaschen abgefüllt, ist der verwendete Ozon-Scrubber sehr mobil, auch in schwierigem Gelände einsetzbar und gut transportabel. Der Nachteil liegt in der Brennbarkeit dieses entzündlichen Gases.

1.10 Die Thermodesorption

Nach Anreicherung der Analyten auf den Adsorptionsmaterialien durch aktive oder passive Probenahme sollen die so gesammelten Substanzen möglichst vollständig und ohne unerwünschte Reaktionen durch geeignete Probenüberführung in ein Analysegerät injiziert werden. Klassisch ist dies durch Elution oder Extraktion mit einem Lösungsmittel oder einem Lösungsmittelgemisch möglich. Häufig Verwendung findet auch die thermische Desorption. Eine solche Anlage wurde eigens zu diesem Zweck aufgebaut und in dieser Forschungsarbeit eingesetzt. Hierbei wird das mit Adsorbens gefüllte Röhrchen (im weiteren Verlauf Adsorptionsröhrchen genannt) im Labor in einem Ofen langsam auf ausreichend hohe Temperaturen geheizt und die angereicherten Analyten mit einem Inertgasström ausgetrieben. Vor dem Transfer auf die chromatographische Trennsäule müssen die Komponenten in einer Kühlfalle (Kryotrap) fokussiert werden, um eine möglichst zeitgleiche Injektion zu gewährleisten. Danach erfolgt die automatische Probenaufgabe auf das GCMS System. Eine Probenvorbereitung, z.B. durch Eluieren mit Lösemitteln, ist nicht erforderlich. In Tabelle 1.8 sind die Vor- und Nachteile der Thermodesorption als Injektionseinheit für die Gaschromatographie aufgeführt.

Tabelle 1.8: Vor- und Nachteile der Thermodesorption

Vorteile	Nachteile
ein fache Handhabung	Zugabe eines (internen) Standards nur schwierig möglich
Automatisierbar	Zersetzung der Adsorbmaterialien bei hohen Temperaturen (Blindwerte)
keine Verdünnung/ hohe Nachweisstärke	nur eine einmalige Analyse der Probe möglich
Keine Probenvorbereitung	kaum Derivatisierungsreaktionen möglich
Keine Lösungsmittel nötig, keine störenden Lösungsmittelsignale	hochmolekulare Verbindungen werden u.U. nicht vollständig desorbiert
keinen Verluste durch Einengen der Lösung	
kaum Folgereaktionen der Analyten auf dem Adsorbens nach der Probenahme	
split-/splitless- Injektion möglich	
kaum Kontamination möglich	

Die Thermodesorption findet ihre Anwendung in der Untersuchungen von Schadstoffen und organischen Komponenten in der Luft und in gasförmigen Proben z.B. im Rahmen der Arbeitsplatz-, Prozeß- oder Umweltüberwachung, in der Analyse von Feststoffen auf flüchtige Bestandteile wie die Bestimmung der Restlösungsmittelkonzentration in Tabletten oder in der Bestimmung von Wasser/Lösungsmittel-Inhaltstoffen nach Prüfkammer- und Stripppverfahren (purge-and-trap). Ein Thermodesorptionsinjektor für die Gaschromatographie kann u.a. kommerziell von folgenden Firmen erworben werden: PerkinElmer, Gerstel, CDS/Dynatherm Instruments, Teledyne Tekmar, AMA, Chromtech, etc.. Ebenfalls können die Adsorptionsröhrchen mit verschiedenen Adsorbentien individuell zusammengestellt und kommerziell von z.B. Supelco erworben werden. Eine relativ neue Technik ist die Analyse von SPME (*solid phase micro extraction*) mittels Thermodesorption. Dabei wird die beprobte feste Phase in ein leeres - nur mit einer sich im unteren Drittel befindlichen Glasfritte gefülltes - Röhrchen gegeben und danach wie ein mit Adsorbens gefülltes Röhrchen behandelt.

1.11 Analytik von Terpenen

Hierbei muss differenziert werden, wie der Analyt, d. h. in diesem Fall die Terpene vorliegen. Bei der Bestimmung von Pflanzeninhaltsstoffen gibt es prinzipiell die Unterscheidung, zwischen dem, was die Pflanze in die Atmosphäre emittiert und welche Substanzen sie enthält. Dies kann recht unterschiedlich sein, denn nicht alle enthaltenen Bestandteile sind flüchtig. Zudem kontrolliert die Pflanzen die Emission flüchtiger und mittelflüchtiger Substanzen wie z.B. Mono- und Sesquiterpene und setzt sie für bestimmte Zwecke gezielt ein (siehe Kapitel 1.1. etc.).

1.11.1 Bestimmung von Pflanzen-Emissionen in der Atmosphäre

Für die Emissionen von BVOC wurden die Methoden zur Probenahme bereits in Kap. 1.6. Luftprobenahmetechniken benannt und genauer hinsichtlich ihrer Vor- und Nachteile beschrieben. Es gibt bisher nur wenige quantitative Studien zur Emission von Sesquiterpenen. Hauptsächlich ist dies im Fehlen geeigneter Analysetechniken zur Bestimmung von Sesquiterpenen und dem Verlust der Terpene durch reaktive Gase oder an Wänden etc. zu begründen (Helmig et al., 2004, Hoffmann, T., 1992).

1.11.2 Bestimmung von Pflanzeninhaltsstoffen mittels Extraktion

Für die Extraktion von Pflanzeninhaltsstoffen stehen verschiedene Methoden zur Verfügung, die unterschiedlich schonend und zeitaufwändig sind. Die am häufigsten zur Gewinnung von essentiellen Ölen eingesetzte Methode ist die Wasserdampfdestillation. Sie ist mit einigen Stunden sehr zeitaufwändig und kann aufgrund der hohen Temperaturen zur Zerstörung empfindlicher Substanzen führen. Zudem können bei einer Wasserdampfdestillation leichtflüchtige, wasserlösliche und nicht wasserdampfliche Komponenten verloren gehen. Schonender sind die Extraktion mit einem kalten Lösungsmittel, eine „*accelerated solvent extraction*“ (ASE), eine „*supercritical fluid extraction*“ (SFE) oder eine Festphasenextraktion („*solid phase microextraction*“, SPME). Bei der ASE wird versucht, die Löslichkeit der Komponenten durch programmierte Erhöhung der Temperatur und des Druckes zu verbessern. Für die SFE wird ein überkritisches Gas, meistens CO₂, als Lösungsmittel verwendet, das sich am Ende der Extraktion verflüchtigt. Die SPME wird komplett ohne Lösungsmittel mittels einer kleinen, beschichteten Festphase durchgeführt. Bei den Lösungsmittelextraktionen hängt der Erfolg der Extraktion von der Löslichkeit der Analyten im betreffenden Lösungsmittel ab. Ein Nachteil ist, dass hier auch andere Inhaltsstoffe, wie z.B. Fette, Fettsäuren, Wachse und Pigmente extrahiert werden können. Außerdem muss die Zusammensetzung der extrahierten Komponenten nicht die wahren Stoffverhältnisse in der Pflanze widerspiegeln.

Da die Terpene meist als Mischungen gefunden werden, die einzelne Komponenten oft nur in Spuren enthalten, sind effektive chromatographische Techniken für die optimale Trennung und Identifizierung unerlässlich. In den letzten zwei Jahrzehnten sind folgende Analysemethoden für die Bestimmung von Sesquiterpenen in der Literatur verwendet worden: GC-FID, GC-EI-MS, GC-MS-MS, GC-FT-IR, GC-UV, GC-AES, ¹³C-NMR, PY-GC-MS, SPE-GC, SPME-GC, HPLC-UV, HPLC-TSP, SFE, SFC, SFC-UV, wobei GC-MS die am häufigsten verwendete Methode ist (Merfort, 2002). Sehr oft bedient man sich auch neuer Techniken wie der zweidimensionalen Separation z.B. GCxGC. Handelt es sich bei den Analyten nicht nur um unpolare Terpene, sondern auch um polare Oxidationsprodukte der Terpene wie Säure, Ketone oder Aldehyde, so ist der Einsatz von Derivatisierungen mit Silylierungsreagenzien vor der Bestimmung mittels Gaschromatographie üblich. Des Weiteren finden alle gängigen Detektoren Anwendung, die diese meist unpolaren (oder wenig polaren Verbindungen) bestimmen können. Massenspektrometrie ist dank der zusätzlichen Strukturinformationen ein häufig verwendeter Detektor. Sind die Terpene kristallin, so ist die Röntgen-Beugung eine gute Möglichkeit zur vollständigen Strukturaufklärung. Auch die hochauflösende NMR-Spektroskopie liefert gute Resultate. Andere spektroskopische Methoden wie UV- oder IR dienen zur Identifizierung bereits bekannter Terpene durch Spektrenvergleich (Breitmaier, E. 2005).

1.12 Gaschromatographie

Chromatographie ist ein physikalisch-chemisches Separationsverfahren, bei dem die zu trennenden Substanzen zwischen zwei Phasen verteilt werden, von denen die eine, die stationäre Phase, festliegt, während die andere, die mobile Phase, sich in einer bestimmten Richtung bewegt. Je nach mobiler Phase unterscheidet man zwischen Gaschromatographie (GC), Flüssigkeitschromatographie (HPLC) sowie der überkritischen Fluidchromatographie (SFC). Die Gaschromatographie ist eine der wichtigsten, am häufigsten verwendeten und am weitest verbreiteten chromatographischen Trenntechniken in der modernen Chemie (Cammann, 2000; Bartle, 2002). Sie wird als Routinemethode aufgrund ihrer Nachweisgrenzen, Präzision, Genauigkeit und Richtigkeit sehr häufig in der organischen Spurenanalytik verwendet. Dabei dient sie der Trennung von Stoffen, die bis 400 °C unzersetzt verdampfbar sind oder einen genügend hohen Dampfdruck besitzen. Durch Derivatisierung werden auch ansonsten schwer flüchtige oder schwierig detektierbare Analyten zugänglich. Die Probengrößen bewegen sich im Bereich von wenigen Pikogramm bis hin zu mehreren Gramm, je nach verwendetem System. Die Gaschromatographie, wie wir sie heute kennen, wurde bereits 1952 von Martin und James erfunden, und wurde durch die Entwicklung der Kapillarsäule im Jahr 1957 von M. Golay entscheidend verbessert (Bartle, 2002). Der allgemeine Aufbau eines Gaschromatographen ist in der Abbildung 1.18 zu sehen. Die einzelnen Komponenten eines Gaschromatographen gliedern sich wie folgt in Trägergaszuleitung, Einlasssystem, thermostatisierter Ofen mit Trennsäule, Detektor, Datenverarbeitungssystem.

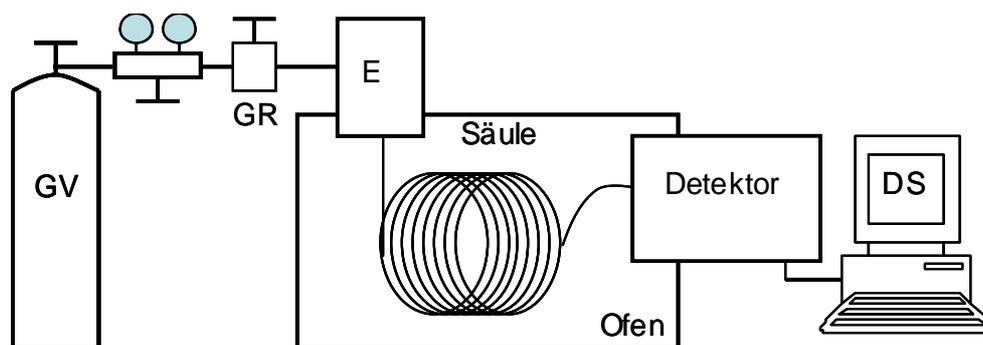


Abbildung 1.18: Aufbau eines Gaschromatographen (GV: Gasversorgung, GR: Gasregelung, E: Einlaß für Proben, DS: Datenverarbeitungssystem)

Als Trägergase kommen aufgrund ihrer Inertheit im allgemeinen Helium, Wasserstoff und Stickstoff zum Einsatz. Wie aus der unten aufgezeigten „van-Deemter“-Gleichung (Abbildung 1.19) zu erkennen ist, spielen die Eddy-Diffusion (A-Term, bei Kapillarsäulen zu vernachlässigen), die Longitudinaldiffusion (B-Term) und der Massentransfer (C-Term) sowie insbesondere die vom Anwender zu optimierende Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase (u) bei der Bestimmung der minimalen Höhe

eines theoretischen Bodens (H) eine wichtige Rolle. Dieses klassische, sehr anschauliche Modell ist heute in vielen Teilen modifiziert und verbessert worden (Cammann, 2000).

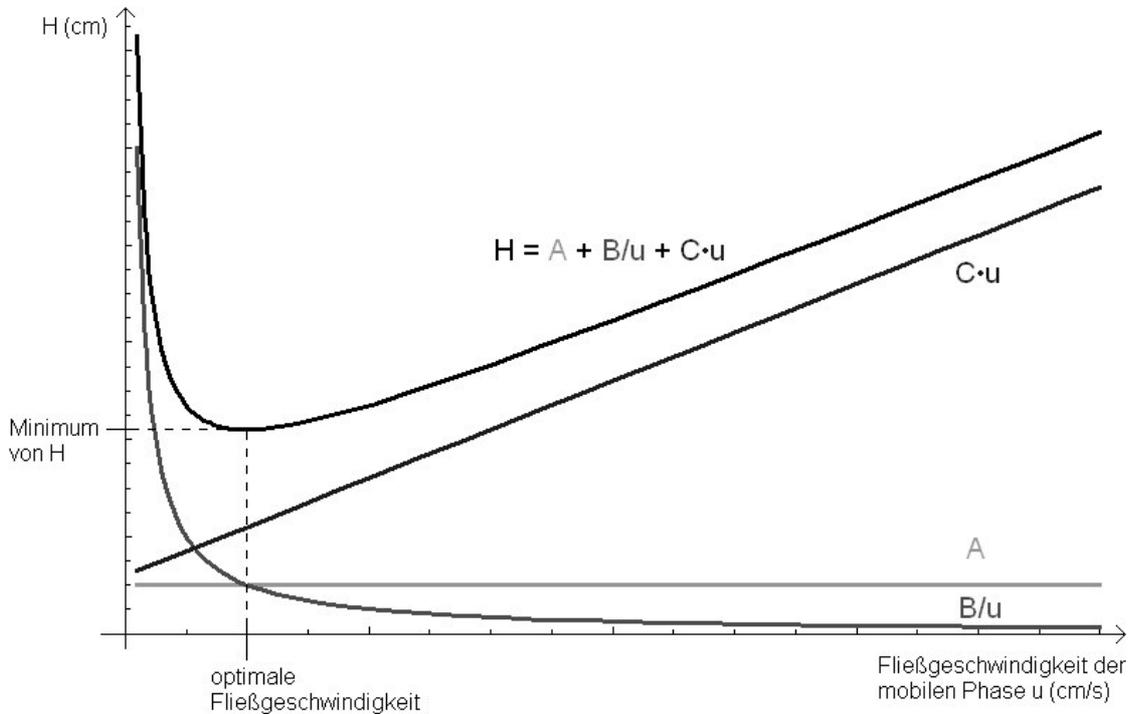


Abbildung 1.19: Die „van-Deemter“-Gleichung

Aufgrund der leichteren Handhabung, der Sicherheitsrisiken von Wasserstoff und der im Vergleich mit preisgünstigem Stickstoff schnelleren Trennung, findet häufig Helium als mobile Phase in der GC Anwendung. Um eine möglichst optimale Trennung der Analyten sowie kurze Analysenzeiten zu realisieren, ergeben sich meist Trägergasflussraten von ca. 0,5 mL/min bis 2 mL/min. Die Trägergasregelung kann mittels Vordruckregelung („forward pressure controll“) oder Rückdruckregelung („back pressure controll“) erfolgen. Der Volumenstrom eines Gases ist allerdings auch temperaturabhängig. Dies hängt mit einer erhöhten Viskosität eines Gases bei erhöhter Temperatur zusammen, d.h. bei konstantem Vordruck und steigender Temperatur sinkt der Gasfluß. Häufig findet man auch neben dem Verweis auf konstanten Druck („constant pressure“) die Angabe konstanter Fluss („constant flow“), bei dem der durch eine elektronisch gesteuerte Erhöhung des Trägergasdrucks die Trägergasgeschwindigkeit unabhängig von der Temperatur ist. Dies wird in der nachfolgenden Abbildung 1.20 verdeutlicht (Kolb 1999).

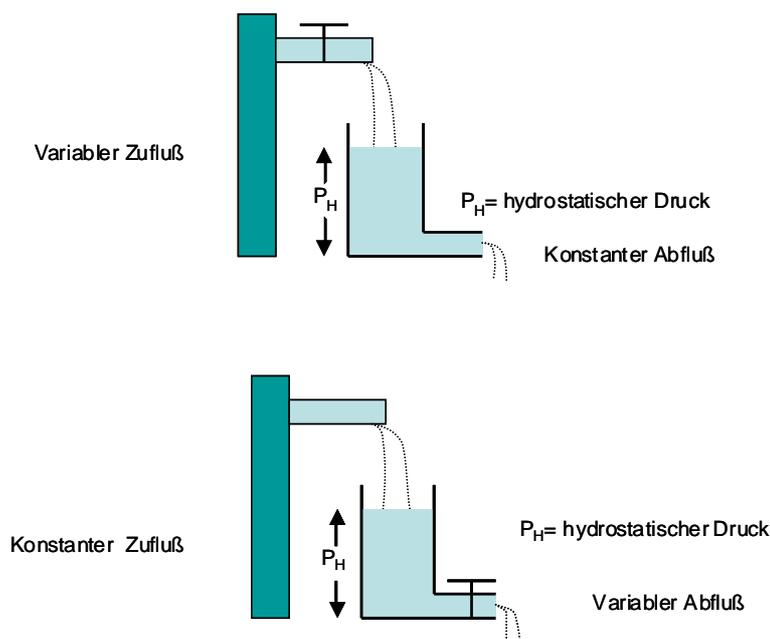


Abbildung 1.20: „Constant flow“ und „constant pressure“

Je nach Aggregatzustand der zu analysierenden Probe gibt es eine Vielzahl von Einlasssystemen z.B. split/splitless-, on-Column-Injektor sowie programmed-temperature vaporizer für flüssige Proben, Headspaceamplifier, Thermodesorption für gasförmige Proben, Pyrolysatoren für feste Proben, sowie diverse Modifizierungen der Probenaufgabe wie „purge-and-trap“, Gasdosierschleife, und viele mehr, auf die hier nicht weiter eingegangen werden soll. Gemeinsam ist allen die Überführung der Analyten auf die Säule in möglichst kurzer Zeit, wobei keine Analyten diskriminiert werden dürfen und die Probe sich nicht verändern darf. Zudem muss die Probe falls nötig unmittelbar verdampft werden und es sollte möglichst vermieden werden Feststoffe in die gaschromatographische Trennsäule zu bringen. Häufig dient diesem Zweck ein sogenannter Liner. Meist wird für die Probenaufgabe auch ein Autosampler verwendet, um Fehler so gering wie möglich zu halten und hohe Reproduzierbarkeit zu gewährleisten. Man unterscheidet im Allgemeinen zwischen gepackten und offenen Säulen („*open tubular columns*“). Heute kommen hauptsächlich Fused-Silica-Kapillarsäulen zum Einsatz. Die stationäre Phase ist in diesen Fällen eine feste Schicht (Adsorptionschromatographie, „*support coated open tubular column*“, SCOT oder „*porous layer open tubular columns*“, PLOT) oder ein flüssiger Film der auf der Säule immobilisiert fixiert wird (Verteilungschromatographie, „*wall coated open tubular columns*“ WCOT). Dies erfolgt häufig durch Quervernetzung „*cross-linked*“ oder „*bonded phases*“.

Gebräuchlich sind Innendurchmesser von 0,1 mm bis 0,53 mm und Filmdicken von 0,05 μm bis 5 μm . Die Längen liegen im Bereich von 5 m („*fast-GC*“, „*comprehensive GC*“) bis 100 m. Die Trennung beruht auf der Einstellung von Gleichgewichten zwischen der stationären und mobilen Phase. Die in der Probe enthaltenen

Verbindungen wechselwirken unterschiedlich stark mit der stationären Phase und werden so nach Siedepunkten und Polarität getrennt. Je nach Polarität oder Trennproblem finden unterschiedliche Filme Verwendung. Diese reichen von unpolaren Filmen wie 100 % Dimethylsiloxan über Standard-Säulen wie 5 %-Phenyl-/ 95 %-Dimethylsiloxan, die für Umweltproben und Aromaanalysen eingesetzt werden bis hin zu polaren Säulen wie Polyethylenglykol für die Lösungsmittel-, Säure- und Aminanalytik und Hochtemperatursäulen wie Polycarboransiloxan für die Benzinanalytik (Abbildung 1.21).

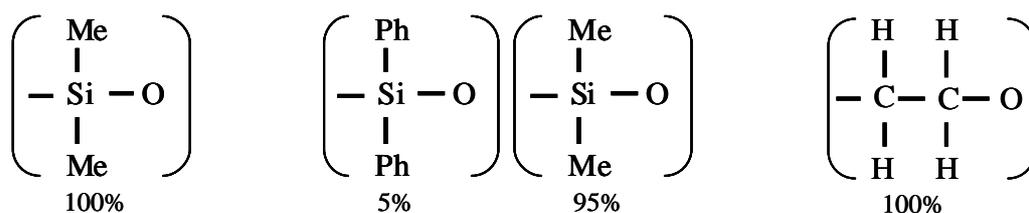


Abbildung 1.21: Strukturen der stationären Phase (100 % Dimethylsiloxan, 5 %-Phenyl-/ 95 %-Dimethylsiloxan, Polyethylenglykol)

Die Trennleistung und Probenkapazität der Trennsäule werden von der verwendeten stationären Phase, der Länge der Säule, dem inneren Durchmesser der Säule und der Schichtdicke der stationären Phase bestimmt. Für eine ausführliche Erläuterung und Auswahl einer Trennsäule sei an dieser Stelle auf die entsprechende Literatur verwiesen, in der man sich an McReynolds- und Rohrschneider-Konstanten gut orientieren kann. Für die effiziente Auftrennung eines Substanzgemisches ist neben unterschiedlichen Polaritäten und Siedepunkten der Verbindungen die Temperaturkontrolle der Säule entscheidend: Die Säulentemperatur beeinflusst die Verteilungskoeffizienten der zu trennenden Komponenten in der stationären Phase. Für die Separation komplexer Stoffgemische ist die Säulentemperatur dann optimal, wenn sich die Verteilungskoeffizienten der Komponenten besonders stark unterscheiden. Während des Trennvorgangs ist es möglich isotherm zu arbeiten oder einen Temperaturgradienten anzuwenden. Hierfür bieten sich thermostatisierte Öfen an, deren Temperaturverlauf programmierbar ist.

Je nach Verhältnis der Injektions- und Anfangstemperatur des Ofens spricht man hier auch vom „cold trapping“ oder „solvent effect“. Dies bedeutet, dass gerade mittel und schwerer flüchtige Komponenten in der Kapillarsäule durch eine Kondensation fokussiert werden, was eine Optimierung der Separation zur Folge hat. Am Ende der gaschromatographischen Säule erfolgt die Identifizierung und Quantifizierung der Substanzen mittels eines geeigneten Detektors. Auch hier gibt es eine vielfältige Auswahl wie z.B. Flammenionisationsdetektor (FID), Leitfähigkeitsdetektor (WLD), Elektroneneinfangdetektor (ECD), Stickstoff/Phosphordetektor (NP-Detektor), und Massenspektrometer (MS), die je nach Analyt, benötigter Nachweisgrenze und Kosten Anwendung finden. Die Verwendung eines Massenspektrometers erweist sich dank

der strukturellen Information als vorteilhaft. Zudem sind GC-MS Kopplungen bautechnisch leicht realisierbar, da die Gasphase über eine beheizte Zuleitung direkt ins Vakuum des Massenspektrometers geleitet werden kann. Die Auswertung der resultierenden Chromatogramme, bei denen Signalintensität gegen Retentionszeit aufgetragen wird, erfolgt meist über Datenverarbeitungssysteme mit entsprechender Auswertesoftware.

1.13 Massenspektrometrie

Die Massenspektrometrie ist ein physikalisches Verfahren, das Ionen, die im Vakuum stabil sind, nach ihrem Verhältnis von Masse zu Ladung (m/z) trennt. In vielen Bereichen der qualitativen und quantitativen Analytik wird diese Technik sowohl für Moleküle als auch für Elemente heute aufgrund ihrer Schnelligkeit, Selektivität und Nachweisstärke zunehmend eingesetzt (Cammann, 2000). Den Ursprung der Massenspektrometrie legten die 1886 von E. Goldstein entdeckten Kanalstrahlen. 1910 konnte J.J. Thomson (1906 Nobelpreis für Physik) die Neonisotope ^{20}Ne und ^{22}Ne mittels eines Parabelspektrographen unterscheiden.

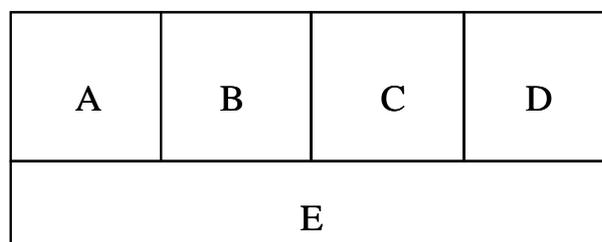


Abbildung 1.22: Allgemeines Schema zum Aufbau eines Massenspektrometers (A: Einlaß-System, B: Ionenquelle, C: Analysator, D: Detektor/ Datensystem, E: Vakuumsystem)

Der Aufbau eines Massenspektrometers gliedert sich, wie in Abbildung 1.22 zu sehen ist, in das Einlasssystem für die Analyten, eine Ionisationseinheit, ein Trennsystem für die nach m/z fraktionierten Massen und eine Detektoreinheit zum Nachweis der Ionenmassen, an welche die Signalverarbeitung angeschlossen ist. Die Auftrennung der zu untersuchenden Stoffe gemäß ihrem m/z -Verhältnis findet im Hochvakuum statt, da sonst weder eine bleibende Ionisation noch ungestörte Flugbahnen der Ionen ermöglicht werden können. Zudem würden die Stickstoff- und Sauerstoffionen aus der Luft jedes andere Signal überlagern und aufgrund der „Überlastung“ die Empfindlichkeit des Detektor stark herabsetzen.

Die Probenzuführung zu einem Massenspektrometer kann sowohl online als auch offline erfolgen. Dies hängt sowohl von der Art der Probe (fest, flüssig, gasförmig) als

auch von der Probenvorbereitung ab. Die gesamte Probe, flüchtige oder verdampfbare Bestandteile oder die bereits vorseparierten Analyten wird durch verschiedene Probenzuführungs- und Einlasssysteme in das Massenspektrometer gebracht. Teilweise erfolgt die Verdampfung der Analyten im gleichen Schritt wie deren Ionisation. Die Probenzuführung eines gekoppelten Systems (wie z.B. der GC/MS oder der LC/MS) ist oft auf eine beheizbare Übertragungskapillare („*transferline*“) beschränkt. Für die Überführung der eingebrachten Substanzen in Ionen gibt es eine große Anzahl recht unterschiedlicher Methoden, die hier der Vollständigkeit halber nur kurz erwähnt werden sollen. Die gebräuchlichsten Ionisationsarten für organische Analyten sind in der Tabelle 1.9 aufgeführt. Man unterscheidet in der organischen Massenspektrometrie zwischen eher weichen Ionisationstechniken, wie z.B. APCI oder ESI, bei der hauptsächlich Molekülonen detektiert werden können und eher harten wie z.B. EI, die charakteristische Fragmentationen liefert.

Tabelle 1.9: Ionisationsarten für organische Analyte

APCI	Athmospheric Pressure Chemical Ionisation
APLI, APPI	Athmospheric Pressure Laser Ionisation / Photoionisation Ionisation
CI	Chemical Ionisation mittels z.B. Methan or Lithium- Attachment
EI	Elektron Impact
ESI	Electro Spray Ionisation
FAB	Fast Atom Bombardment
FD, FI	Feld Desorption, Feld Ionisation
LD, LI	Laser Desorption, Laser Ionisation
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation
MPI	Multiphoton Ionisation
PD	Partikel Desorption
SIMS	Sekundär Ionen Massen Spektrometrie
TD, TI	Thermo Desorption, Thermo Ionisation
TSP	Thermo Spray

Von zentraler Bedeutung für die Massenspektrometrie flüssiger und gasförmiger Proben organischer und metallorganischer Verbindungen ist die Elektronenstoß-Ionisation (EI, *electron impact*) (Cammann, 2000). Die gasförmige Probe wird hierzu mit einem senkrecht zum Probenstrom verlaufenden Strahl thermischer Elektronen beschossen. Diese Primärelektronen werden durch eine Glühkathode (Filament) erzeugt und im Feld einer Anode in der Regel durch eine Spannung vom 70eV beschleunigt. Das Prinzip soll an der Abbildung 1.23 erläutert werden.

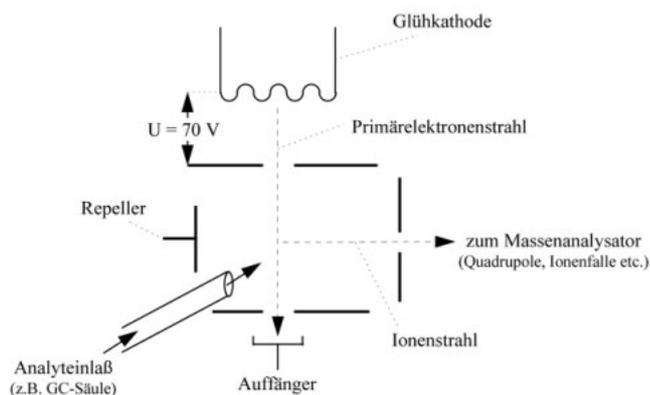
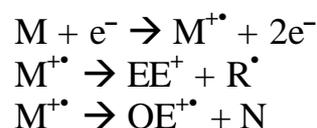


Abbildung 1.23: Schematischer Aufbau einer EI-Ionenquelle

Bei der Wechselwirkung der Primärelektronen mit den Analytmolekülen entstehen hauptsächlich Molekülkationen. Trifft ein Elektron ein Analytmolekül so entsteht ein Radikalkation mit einer ungeraden Elektronenzahl. Dieses



zerfällt üblicherweise in verschiedene Bruchstücke (Fragmentierung). Da das gebildete Radikalkation eine ungerade Anzahl von Elektronen besitzt, kann es auf zwei verschiedenen Wegen fragmentieren: Zum einen kann sich ein Radikal abspalten und es bleibt ein Kation mit gerader Elektronenzahl („even electron ion“). Zum anderen kann sich ein Neutralfragment unter Bildung eines neuen Radikalkations („odd electron ion“) abspalten. Die gebildeten Ionen (EE^+ , $OE^{+\bullet}$) können ihrerseits wieder fragmentieren.

Da sich das Maximum der Analytionenbildung bei einer Ionisierungsenergie von 70 eV befindet und sich die Reproduzierbarkeit der EI-Massenspektren in diesem Bereich ebenfalls als sehr gut erwies wurde diese Ionisierungsenergie als Standard definiert (siehe Abbildung 1.24).

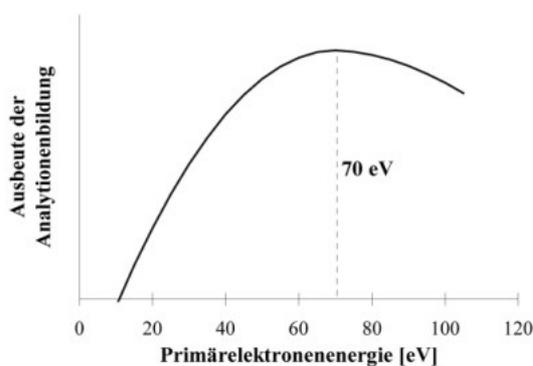


Abbildung 1.24: Ionenausbeute als Funktion der Primärelektronenenergie

Zudem sind die erhaltenen Massenspektren relativ unabhängig von den verwendeten Geräten. Daher können anhand der Fragmente und ihrer Intensität Rückschlüsse auf ionisierte Substanzen mittels Spektrenbibliotheken gezogen werden. So lassen sich selbst Strukturisomeren durch ihre charakteristischen m/z -Verhältnisse und deren Intensitätsmuster im den Abgleich mit Referenzsubstanzen in Datenbanken (z.B. NIST, massfinder) und eigenen gespeicherten EI-Massenspektren relativ genau bestimmen. Allerdings kann eine Identifizierung unbekannter Substanzen durch ein EI-Massenspektrum nur im gleichzeitigen Vergleich mit der durch die sorgfältige gaschromatographische Trennung erhaltenen Strukturinformation (Retentionszeit) erfolgen.

In der Massenspektrometrie erfolgt die Trennung der Ionen nach Masse zu Ladungsverhältnis (m/z) mittels sogenannter Analysatoren. Diese sind meist entsprechend ihrer Funktionsweise benannt. Auch hier noch mal eine kurze Übersicht der gebräuchlichsten Analysatoren nach ihren Prinzipien: Magnetfeld und Sektorfeld, Quadrupol, Ionenfalle, Ionencyclotronresonanz, Orbitrap, Flugzeit (TOF, *time of flight*), Massenbeschleuniger. Eine etwas detaillierte Beschreibung erfolgt nur für die in dieser Arbeit verwendeten Analysatoren.

Die Verwendung von linearen Quadrupol-Massenfiltern ist besonders in der Kombination mit Gaschromatographie weit verbreitet. Quadrupol-Massenfilter sind aus vier konzentrisch parallel zueinander angeordneten Stabelektroden aufgebaut, die gegenüberliegend paarweise an eine variable jeweils entgegengesetzt gepolte Gleichspannungsquelle (U) angeschlossen sind. Zusätzlich wird eine modulierte Hochspannung (V) mit der Frequenz ω überlagert, so dass nur Ionen mit gleichem Masse zu Ladungsverhältnis auf bestimmten stabilen Wellenbahnen beim Passieren dieser Stabelektroden den Massendetektor erreichen. So ergibt sich die Gleichung: $U_Q = U + V \cdot \cos \omega \cdot t$ (Cammann, 2000). Die folgenden Abbildungen verdeutlichen den Aufbau eines Quadrupols.

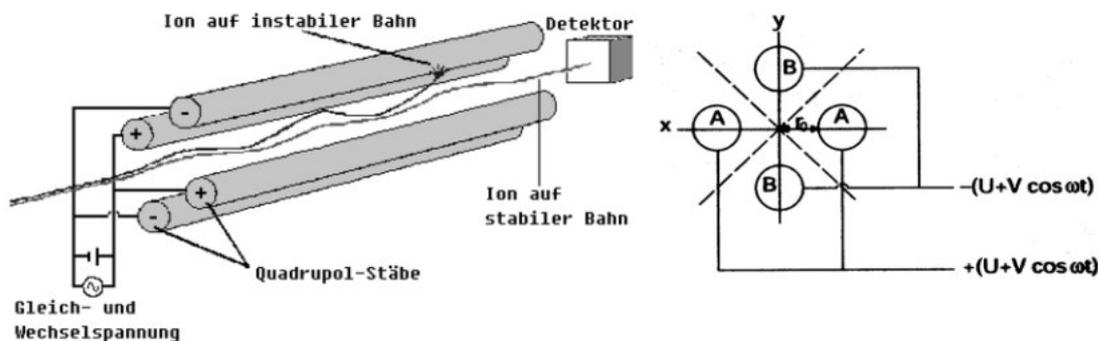


Abbildung 1.25: Schematischer Aufbau eines Quadrupols (Schmidt, 1999) und Blick in z-Richtung (Gross, 2004)

Die Ionenfalle, dreidimensionale Quadrupolionenfalle, auch Quistor (*Quadrupole Ion Store*) genannt, beruht auf der Weiterentwicklung des Quadrupolmassenfilter. Für die Entwicklung der Ionenfalle wurde der Nobelpreis für Physik im Jahre 1989 an W. Paul (Bonn) und H. G. Dehmelt (Washington) verliehen (Cammann, 2000). Analog zum Quadrupol-Massenfilter werden ausschließlich Ionen eines bestimmten m/z -Verhältnisses gespeichert, ausgeschleust und der austretende Ionenstrom in einem nachgeschalteten Detektor registriert. Durch Stöße mit Heliumatomen („*damping gas*“) wird die kinetische Energie reduziert und eine Fokussierung der Ionen in der Mitte der Falle erzielt. Hierdurch können Verluste von Ionen vermieden und eine höhere Auflösung erreicht werden.

Die Ionenfalle besteht aus zwei Elektroden in Form von parabolischen Endkappen, die entgegengesetzt angebracht werden und der dazwischen platzierten Ringelektrode. An die Ringelektrode wird eine variable Hochfrequenzspannung $U_Q = U + V \cdot \cos \omega \cdot t$ angelegt, während die beiden Abschirmelektroden geerdet sind. Es entsteht ein zeitlich veränderliches Potential, und eine abwechselnde Fokussierung in r- und z-Richtung, wodurch die Ionen in der Mitte der Falle gehalten werden. Hierbei zirkulieren die Ionen auf dreidimensionalen, stabilen, toroidialen Bahnen innerhalb des Elektrodenraums. Unter Einstellung einer bestimmten, an der Zelle anliegenden Wechselspannung, werden nur die Umlaufbahnen eines ausgesuchten Ions stabilisiert, während die Ionen verschiedener m/z -Verhältnisse an die Wand der Ringelektrode prallen. Diese Spannungswerte stehen mit sogenannten Mathieu-Parametern in linearem Zusammenhang, aus denen sich Stabilitätsdiagramme konstruieren lassen. Diese Gleichungen beschreiben, ob ein Ion der Masse m/z stabil in der Falle gehalten werden kann. Darunter finden sich die Abbildungen zum schematischen Aufbau einer Ionenfalle.

Mathieu –Parameter A und Q

$$A = \frac{8zeU}{mr_0^2\omega^2}$$

U Gleichspannungspotential

m Masse des Ions

$\omega/2\pi$ Frequenz der Wechselspannung

V Amplitude des Wechselspannungspotentials

r_0 Radius des Quadrupolfeldes

$$Q = \frac{4zeV}{mr_0^2\omega^2}$$

e Elementarladung

z Anzahl der Ladungen

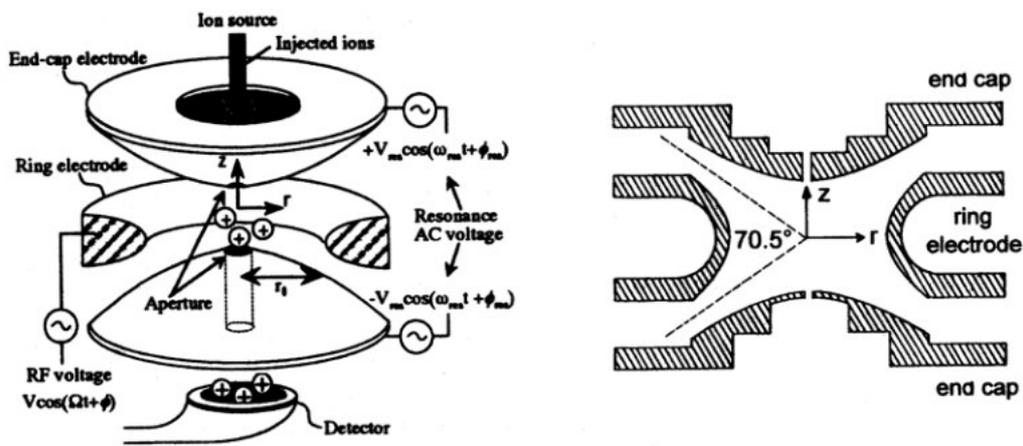


Abbildung 1.26: Schematischer Aufbau einer dreidimensionalen Quadrupol-Ionenfalle und Seitenansicht (Gross 2004)

Detektoren in der Massenspektrometrie wandeln den nach dem m/z -Verhältnis aufgetrennten Ionenstrom in einen elektrisch messbaren Strom um. Der verwendete Detektor besteht aus einer Konversionsdynode (*high energy conversion dynode*, HED) und dem Kanalelektronenvervielfacher (*electron multiplier horn*, EMH). Die ankommenden Ionen werden durch eine Konversionsdynode in Elektronen umgewandelt. Am Anfang der hornförmigen, kontinuierlichen Dynode liegt ein hohes, negatives Potential (bis zu einigen kV) und ist damit der Polarität der Ionen (Kationen) entgegengesetzt (Skoog and Leary, 1996). Die erzeugten Elektronen werden zu einer Multipliertdynode beschleunigt und schlagen dort weitere Elektronen heraus. Dieser Vorgang wiederholt sich, sodass es zu einem kaskadenartigen Anschwellen der Elektronenanzahl kommt. Beim Auftreffen auf die geerdete Kollektorelektrode erzeugen sie das Detektorsignal.

2 Entwicklung und Aufbau einer Thermodesorptionseinheit

Es existieren mehrere kommerzielle Thermodesorptionssysteme (Perkin Elmer, Gerstel, AMA, Chromtech, etc.), welche für die Untersuchungen von Schadstoffen und organischen Komponenten in der Luft und in gasförmigen Proben, sowie die Untersuchung von Feststoffen auf flüchtige Bestandteile oder für Prüfkammer- und Strippverfahren konzipiert sind. Hochreaktive Spurenkomponenten, wie beispielsweise Sesquiterpene, sind mit diesen Systemen oft nicht zu erfassen. Der für diese Arbeit angefertigte Thermodesorptionsinjektor wurde nach Vorbild eines bestehenden Systems von T. Hoffmann (1992) erstellt. Die Vorteile eines selbst angefertigten Systems liegen neben der besseren Nachweisgrenze im speziell auf die Analyten abstimmbaren Thermodesorptionsprozess mit Kryofokussierung und in der vollständigen Vermeidung von aktiven Oberflächen. Im Vergleich zu dem 1992 entstandenen System wurde auf die vollständige Automatisierung des Desorptionsablaufs und die Bedienfreundlichkeit, sowie die Haltbarkeit und den einfachen Austausch der verwendeten Komponenten großen Wert gelegt (siehe Tabelle 2.1).

Tabelle 2.1: Vergleich zweier Thermodesorptionssysteme

beibehaltene Aspekte der von T. Hoffmann (1992) entwickelten Thermodesorption	Modifizierungen der neuen Thermodesorption
- Vermeidung aktiver Oberflächen	- Vollständige Automatisierung des Ablauf inklusive Start der GC/MS
- Möglichkeit zum Einbau unterschiedlich langer Adsorptionsröhrchen	- Alle Temperaturen und Desorptionszeiten frei einstellbar
- Verwendung von variablen, kommerziellen Anschlüssen (Swagelok)	- Routineprogramme ganz einfach auf Knopfdruck
- Einseitig starre Befestigung der thermisch belasteten Teile der Apparatur	- Absicherung durch Not-Ausschalter, div 0,5-6A Sicherungen und Thermoschutzschalter
- Desaktivierung der Glasflächen innerhalb der Kühlfallenkapillare	- Möglichkeit zur automatisierten Mehrfach-Analyse eines Adsorptionsröhrchens
- Kryofokussierung des Analyten durch kalten Stickstoff	- Paßgenaue Form des Ofens für die verwendeten Adsorptionsröhrchen durch spezielle Ausfräsung des Messingofens zur besseren Wärmeübertragung
- Injektion der Analyten in die Trennsäule durch Aufheizen der Kühlfalle mittels eines heißen Gasstroms	- Genauere Temperaturanzeige durch Verwendung von sehr kleinem PT 100 (exakte Anbringung, längere Haltbarkeit)
- Einsatz eines Splitventils zur schnelleren Desorption der adsorbierten Verbindungen	- Bedienfreundlicherer Aufbau beim Austausch der Komponenten
	- Visualisierung u. einfache Möglichkeiten verschiedene Ablaufprogramme zu schreiben mittels Labview®

2.1 Aufbau

Der generelle Aufbau der Thermodesorptionseinheit setzt sich aus einem Desorptionsofen und einer Kryofokussierungseinheit zusammen. Die nebenstehende Abbildung zeigt den Thermodesorptionsinjektor für die Gaschromatographie. Wie aus der unten gezeigten, schematischen Abbildung 2.1 hervorgeht, wurde zu diesem Zweck die Thermodesorptionseinheit direkt auf den Gaschromatographen aufgesetzt und durch eine kleine Öffnung mit der chromatographischen Säule über ein T-Stück (Vici Valco, 1/16'') verbunden. Die Zuleitungen bestehen aus Kupferrohr und Swagelok®-Verbindern.

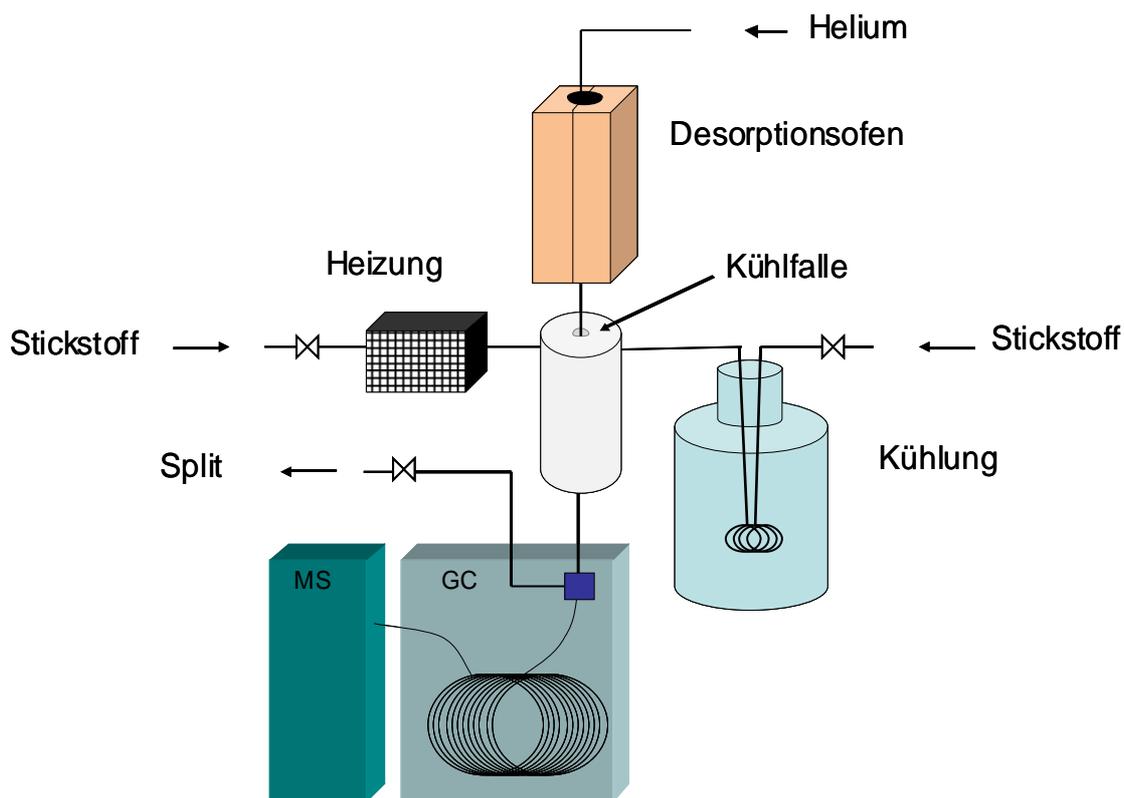


Abbildung 2.1: Thermodesorptionsinjektor (schematische Abbildung und Foto)

Im Folgenden werden die einzelnen Untereinheiten kurz beschrieben. Der Desorptionsofen besteht aus zwei Messingblöcken, die am hinteren Ende durch einen Stift zusammengehalten werden und in die jeweils zwei Bohrungen für Heizkartuschen eingebracht sind. In eine weitere kleine Bohrung ist ein Temperatursensor (PT100) eingelassen und in der Mitte der beiden Messingblöcke befindet sich eine exakte Aussparung für die Adsorptionsröhrchen, um eine möglichst gute Wärmeübertragung zu ermöglichen (siehe Abbildung 2.2). Der Ofen wird mit Hilfe eines 12-Volt-Motors automatisch geöffnet und geschlossen. Zwei Kontakte an den jeweiligen Enden bestimmen den jeweiligen Zustand (offen oder geschlossen) und leiten diese Information an die Steuerung weiter. Die Temperaturen des Desorptionsofens können beliebig gewählt und somit sehr gut an die entsprechenden Analyten angepasst werden.

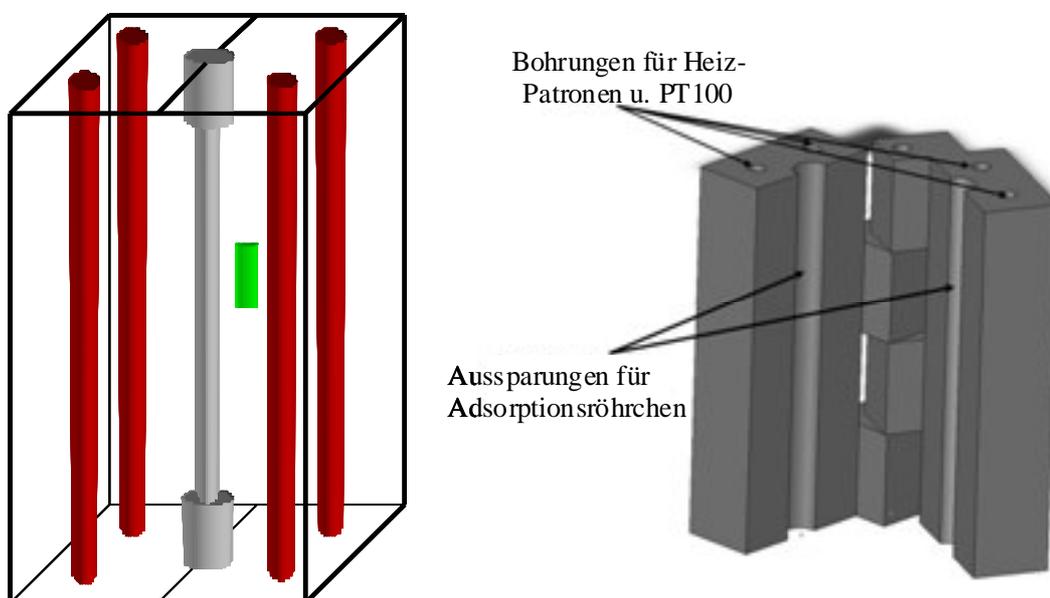


Abbildung 2.2: Schematischer Aufbau und Außenansicht des Messingofens

Die Kryofokussierungseinheit basiert auf einem durchbohrten Teflonblock, in den eine Kühlung und eine Heizung münden. Sie dient der Fokussierung der thermisch desorbierten Substanzen und schafft so einen gemeinsamen Startpunkt vor der Trennsäule. Zur Temperaturkontrolle ist auch hier ein PT100 eingelassen. Die Kühlung und die Heizung dieser Einheit basiert auf dem Prinzip des Wärme/Kältetransports durch einströmendes Gas. Zu diesem Zweck verfügen beide jeweils über einen Stickstoff- bzw. Druckluftanschluss und die dazugehörigen, steuerbaren Magnetventile, Druckminderer und Durchflussmesser. Die Kühlung erfolgt durch den Fluss trockenen, gasförmigen Stickstoffs durch ein mit flüssigem Stickstoff gefülltes Dewargefäß. Zur größeren Verweildauer und damit zur besseren Abkühlung wurde die verwendeten Kupferrohrleitung spiralförmige angeordnet. Der sogenannten „Injektorheizung“ liegt die Heizung eines Lötkolbens, der über ein mit Spänen gefülltes Messingrohr geschoben wurde, zugrunde. Hierbei wird Druckluft

durch das aufgeheizte Messingrohr geleitet, welche die Wärme aufnimmt und zu der benachbarten Kryofokussierungseinheit transportiert. In der Mitte der Kryofokussierungseinheit befindet sich eine 30 cm lange Edelstahlkapillare, die zur besseren Wärmeübertragung und zum Schutz der innenliegenden Kühlfalle dient. Diese Kühlfalle besteht aus einer ca. 35 cm langen Vorsäule (Chromatographie Service, Methyl-Silyl desaktiviert, 0,53 mm ID).

In der Kühlfalle werden die Analyten durch die niedrigen Temperaturen (meist $< -150\text{ °C}$) festgehalten und auf kleinem Raum aufkonzentriert. Ihren Anfang hat die Kühlfallenkapillare in einem Reduzierstück (Swagelock, 1/16'' auf 1/4''), das die Edelstahlkapillare direkt mit dem Adsorptionsröhrchen verbindet. Die Dichtung erfolgt hier durch ein Graphitferrule auf Seiten der Edelstahlkapillare und durch ein Teflonferrule auf Seiten des Adsorptionsröhrchens. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Kühlfallenkapillare immer etwa 1 cm in das Adsorptionsröhrchen hineinragt, um Verlusten und Reaktionen vorzubeugen. Die Kühlfallenkapillare ist an ihrem Ausgang direkt durch ein T-Stück (Valco, 1/16 Zoll) mit dem Split und der Säule verbunden. Um sicherzustellen, dass die Analyten nicht mit aktiven Oberflächen in Berührung kommen und um jegliche Totvolumina zu vermeiden, wird dabei die kleine chromatographische Kapillare durch das T-Stück in die Kühlfallenkapillare geschoben. Die Dichtung erfolgt mit Graphit-Vespel-Ferrulen. Am Ende des Splits befinden sich ein Durchflussmesser und Durchflussbegrenzer sowie ein ansteuerbares Magnetventil. Während der Ofen das Adsorptionsröhrchen aufheizt ist zur besseren Desorption das Splitventil geöffnet. Die Temperaturen der Kryofokussierungseinheit sind frei einstellbar. Die Temperaturen während der Kryofokussierung betragen meist $< -150\text{ °C}$. Innerhalb weniger Sekunden (ca. 30 s) wird nach Ablauf des Desorptionsprozesses die Kühlfallenkapillare von ca. -190 °C auf ca. 200 °C aufgeheizt und zur vollständigen Desorption für weitere 90 Sekunden bei dieser Temperatur gehalten. Diese schnelle Injektion ermöglicht eine sehr schmale Startzone und somit eine gute chromatographische Trennung. In der unteren Darstellung 3.3 ist der Aufbau der Kryofokussierungseinheit noch einmal verdeutlicht. Dabei wurde die Kühlfallenkapillare, die Edelstahlkapillare und der Temperatursensor PT100 zum besseren Verständnis etwas außerhalb der Teflon-Ummantelung abgebildet.

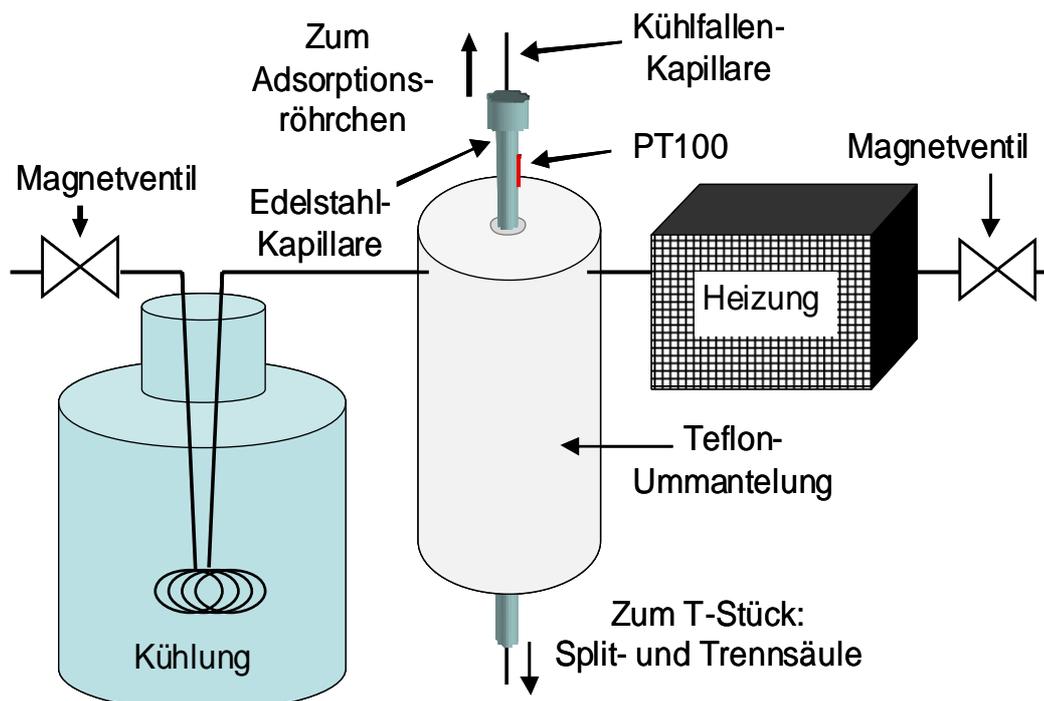


Abbildung 2.3: Kryofokussierungseinheit

Die gesamte Thermodesorptionseinheit wird mittels eines selbstentwickelten Programms durch eine speicherprogrammierbare Steuerung (SPS), die auch mit der GC/MS-Anlage verbunden ist, geregelt und angesteuert. So werden alle ein- und ausgehenden Signale über die SPS verarbeitet. Über Labview[®] (Programm) wird an einem angeschlossenen Computer der Verlauf des aktuellen Desorptions- und Injektionsprozesses graphisch dargestellt. Ebenso können über die Bedienoberfläche von Labview[®] die auf der SPS gespeicherten Programme individuell für die jeweilige Probe angepasst werden. Dies bedeutet, dass jede verfügbare Heiz-/Kühl-Temperatur und -Dauer individuell einstellbar ist und als neues Programm in die SPS übertragen und gespeichert werden kann. Für Routineanalysen sind 3 Programme auf der SPS abgelegt, die einfach per Tastendruck an dem dazugehörigen Schaltschrank aufgerufen werden können. Aus Sicherheitsgründen wurde am Schaltschrank ein Stop-Taster und ein Not-Aus-Taster verbaut, welcher die gesamte Anlage stromfrei schaltet. Bei auftretenden Störungen regelt die Software entsprechend entgegen oder es wird ein Thermoschutzschalter ausgelöst. Zur Absicherung der Anlage wurden mehrere 0,5A bzw. 6A-Sicherungen verwendet. Alle Schaltungen z. B. für die Magnetventile führen über Relais. Die Kommunikation der SPS mit der GC erfolgt über 5V-Signale. Automatisch startet das Desorptionsprogramm nach der Freigabe durch die GC/MS („ready“-Signal) zum Zeitpunkt der Injektion in die GC. Um Fehlsignale zu vermeiden wurden Freilaufdioden als Gleichrichter verwendet. Weitere Informationen hierzu befinden sich im Anhang: Es handelt sich um Aufzeichnungen zur Entwicklung der Regelung der Ofen-Temperatur, Pläne der Verdrahtung im Schaltschrank, beispielhafte Darstellungen des neu erstellten Programms der SPS, usw..

2.2 Ablauf des Thermodesorptionsprozesses

An dieser Stelle soll kurz der Ablauf des Thermodesorptionsprozess erläutert werden. Dieser Prozess besteht aus mehreren Schritten:

- Vorkühlen der Kryofokussierungseinheit (Kühlfallenkapillare) mit flüssigem Stickstoff auf die gewünschte Temperatur vor Einbau des Adsorptionsröhrchen, um zu gewährleisten, dass es zu keinem Verlust leicht flüchtigen Substanzen kommen kann.
- Einbau des Adsorptionsröhrchens entgegen der Probenahme-Richtung, damit Verbindungen, die vom Adsorptionsmaterial stark retardiert wurden, bei der nun folgenden thermischen Desorption nur kurze Wegstrecken zurücklegen müssen.
- Desorption und Kryofokussierung, bei der das Adsorptionsröhrchen im Ofen aufgeheizt und auf einer bestimmten Temperatur gehalten wird, während ein erhöhter Trägergasstrom die Analyten auf die durch flüssigen Stickstoff gekühlte Kapillare der Kühlfalle überführt. Dies ermöglicht eine schmale, gemeinsame Startzone für alle Analyten.
- Sehr schnelle Injektion der Analyten durch Aufheizen der Kryofokussierungseinheit innerhalb weniger Sekunden und gleichzeitiger Start der gaschromatographischen Trennung.

3 Experimentelle Teil

Der experimentelle Teil dieser Arbeit gliedert sich in 4 Abschnitte. Der erste Abschnitt befasst sich mit einer allgemeine Beschreibung der verwendeten Substanzen und Geräte. Der Zweite enthält die Präparation der Adsorptionsröhrchen, der Diffusionsquellen und der verwendeten Lösungen sowie die Experimente zur qualitativen und quantitativen Analyse ausgewählter Mono- und Sesquiterpene mittels TD-GC/MS. Im dritten Abschnitt werden die Versuchsdurchführungen zur Entwicklung einer neuen Ozon-Scrubber-Methode und deren Anwendung in Feldmessungen vorgestellt. Der vierte Abschnitt beinhaltet die Anwendung der neuen Thermodesorptionseinheit in Feldmessungen wie beispielsweise die Einzelblüten-Emissionsanalyse und den Methodenvergleich mittels Extraktionen mit anschließender GC-MS-Analyse.

3.1 Verwendete Substanzen und Geräte

3.1.1 Verwendete Chemikalien und Verbrauchsmaterialien

Spurenanalytisches Arbeiten bedeutet, dass alle möglichen Kontaminationsquellen vermieden werden müssen. Schon geringste Verunreinigungen aus Chemikalien, Verbrauchsmaterialien oder Geräten können zu erheblichen Verfälschungen von Ergebnissen führen. Die Reinigung der Geräte muss mit größter Sorgfalt erfolgen und es sind stets Chemikalien des höchsten Reinheitsgrades zu verwenden, um eine möglichst kontaminationsarme Analytik zu gewährleisten. In Tabelle 3.1 werden die in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien und Gase mit ihrer Reinheit und Bezugsquelle aufgeführt.

Tabelle 3.1: Verwendete Chemikalien und Gase

Name	Reinheitsgrad	Hersteller
Cyclohexan	p. a.	Fisher Scientific
Aceton	f. GC	Merck
Ethanol	>99,8 % Rotipuran	Carl Roth
Methanol	Rotisolv	Carl Roth
Salpetersäure	65 % p. a.	Carl Roth
Dichlorodimethylsilan	99 %	Acros Organics
α -Pinen	>99 %	Fluka
β -Pinen	99 %	Aldrich
3-Caren	>98,5 %	Fluka
α -Copaen	>90 %	Fluka
Limonen	97 %	Aldrich
Sabinen	99 %	Carl Roth
Myrcen	>95 %	Fluka
Pinan	endo/exo 99 %	Alfa Aesar
α -Pinenoxid	95 %	Acros
Longicyclen	>95 %	Fluka
Isolongifolen	>98 %	Fluka
α -Cedren	>99 %	Fluka
β / trans-Caryophyllen	>98,5 %	Fluka
Aromadendren	>97 %	Fluka
α -Humulen/ α -Caryophyllen	>98 %	Fluka
Farnesen	sample	Fluka
Copaen	90	Fluka
Isocaryophyllen	98	Fluka
Reinst-Wasser	> 0,05 μ S; 18,2M Ω	MilliQ
Helium	5.0	Westfälen
Stickstoff	5.0	Westfälen
synthet. Luft	4.6	Westfälen
Propen	4.6	Westfälen

3.1.2 Lagerung von Proben, Standards und Adsorptionsröhrchen

Der lipophile Charakter und die Leichtflüchtigkeit der zu analysierende Verbindungen stellt eine besondere Herausforderung an die Probenvorbereitung und Lagerung dar. Alle Proben und Standards wurden deshalb in Glasgefäßen mit Schraubdeckelverschlüssen bei 5 °C gelagert. Kunststoffgefäße sind aufgrund des lipophilen Charakters der Terpene zu vermeiden. Die Verschlüsse wurden zusätzlich mit Teflonband gesichert. Es wurden keine Verluste bei dieser Art der Lagerung festgestellt. Die Lagerung von Adsorptionsröhrchen erfolgte im Kühlschrank, wobei darauf geachtet wurde, dass die Röhrchen festverschlossen waren.

3.1.3 Störsignale und Blindwerte, sowie deren Vermeidung

Eine Dichtung mit Parafilm[®] führte teilweise zu unbekanntem Störsignalen. Das gleiche galt für das Berühren der Probengefäße in der Quelle oder der Verschlüsse der Adsorptionsröhrchen mit der Hand, sowie Beschriftung der Diffusionsgefäße. Auch die dauerhafte Verwendung von Vials mit Gummisepten in den Diffusionsquellen hatte unbekanntes Störsignale zur Folge. Ebenso führte die Verwendung von reaktiven Oberflächen wie Metaldichtungen (Swagelok[®]), unbehandeltem Glas oder Teflonverbindungen, sowie Leitungen aus Teflon[®] oder Kupfer zu erheblichen Blindwerten. Diese beruhen vermutlich auf der Isomerisierung der eingesetzten Komponenten und einem Memory-Effekt auf Grund des lipophilen Charakters der Terpene. Durch die weitestgehende Vermeidung der oben genannten Auslöser von Blindwerten z.B. durch das Tragen von Handschuhen (Baumwolle), Beschriftung nur mit Bleistift oder zuvor ins Glas eingebrannter Zeichen, welche silanisiert wurden, konnten diese unerwünschten Signale vermieden werden. Es wurden in den Diffusionsprobenahmestationen ab den Diffusionsquellen nur noch silanisierte Glasverbindungen bzw. desaktivierte Vorsäulen (CS Chromatographie Service, CS-Fused-Silica-Vorsäule, FS-Methyl-Sil, desaktiviert, ID 0,53 mm) verwendet. Auch trug die Erhöhung der Luftfeuchtigkeit auf 70 % durch eine Waschflasche zur Beseitigung der durch Isomerisierung verursachten Signale bei. Die durch den UV-Licht bedingten Zerfall von Tenax hervorgerufenen Blindwerte (z.B. Benzaldehyd) wurden durch das Umwickeln der Probenahmeröhrchen mit Aluminiumfolie deutlich verringert.

3.1.4 Messparameter des verwendeten GC/MS-Systems

Für den Großteil der durchgeführten Arbeiten wurde das Gaschromatographie-Massenspektrometrie-System (GC/MS) TraceGC-PolarisQ der Firma Thermo-Finnigan (Dreieich, Deutschland) verwendet, auf dem die neu entwickelte Thermodesorptionseinheit als Injektor dient. Ein Teil der Vorversuche wurde mit einem GC/MS mit der Fimen HP (ITD 800) und einem für diese analytische Fragestellung von Hoffmann (Hoffmann, 1992) entwickelten TD-GCMS durchgeführt. Für die Analyse der in Cyclohexan gelösten Proben wurde ein GCMS-System (5973N, MSD, Agilent) gewählt. Das als Trägergas verwendete Helium der Reinheit 5.0 wurde zur Beseitigung von Verunreinigungen über einen Filter (Filter zur Entfernung von KW, Agilent, RSMH2) geleitet. Die verwendeten GC/MS-Systeme und deren Einstellungen sind in der nachfolgenden Tabelle 3.2 genauer aufgelistet.

Tabelle 3.2: Verwendeten Gerät eeinstellungen

Firma	Thermo-Finigan	Agilent	Finnigan
Gerät ename	TraceGC-Polaris Q	5973N Mass selective detector	ITD 800
Analysator	Ionen falle	Quadrupol	Ionen falle
Trägergas	Helium	Helium	Helium
Injektor	Thermodesorption	Split/Splitless	Thermodesorption
Injektortemperatur	200 °C	250 °C	200 °C
Injektionsvolumen		1 µL	
Injektion	splitless	splitless	splitless
Trennsäule	Restek, Rtx-5MS	CS Chrom. FS Supreme-5	J&W, DB5-MS
Stationäre Phase	Crossbond 5 % Diphenyl- 95 % Dimethylpolysiloxan	Crossbond 5 % Diphenyl- 95 % Dimethylpolysiloxan	5 % Diphenyl- 95 % Dimethylpolysiloxan
Innendurchmesser	ID = 250 µm	ID 250 µm	ID 320 µm
Filmdicke	df = 0,25 µm	df = 0,25 µm	df = 0,5 µm
Länge	L = 30 m	L = 30 m	L = 60 m
Ionenquellentemperatur	200 °C	200 °C	200 °C
Druckmodus	Konstanter Druck: 1 bar	Konstanter Fluss: 1 mL/min	Konst. Druck 1,5 bar
Temperaturprogramm	40 °C für 2 min 3 °C/min auf 140 °C 10 °C/min auf 220 °C 40 °C/min auf 250 °C 250 °C für 2 min	40 °C für 2 min 3 °C/min auf 140 °C 10 °C/min auf 220 °C 40 °C/min auf 250 °C 250 °C für 2 min Post Run: 280 °C für 3 min	40 °C für 2 min 3 °C/min auf 140 °C 10 °C/min auf 220 °C 40 °C/min auf 250 °C 250 °C für 2 min

3.1.5 Optimierung der Kapillargaschromatographie

Für die komplexe Mischung emittierter VOCs aus unpolaren Terpenen sowie auch Alkoholen, Aldehyden und Ketonen erwies sich eine weitgehend unpolare Trennsäule (5 % Diphenyl- 95 % Dimethylpolysiloxan) als geeignet. Diese ist die am häufigsten für die Analyse von Sesquiterpenen verwendete GC-Kapillar-Säule und findet laut Herstellerangaben als Standardsäule für VOC-Analysen (Semivolatiles), der Inneneraum-Luftqualität nach EPA IP-8 sowie in der Duftanalyse Anwendung. Es wurde eine 30 m lange 5 %-Diphenyl-95 %-Dimethylpolysiloxan-Kapillarsäule (Rtx-5MS) mit einem Innendurchmesser von 0,25 mm und einer Filmdicke von 0,25 µm gewählt, die ein ausreichendes Trennvermögen bei akzeptabler Analysenzeit garantierte. Die verschiedenen, isomeren Terpene wurden sowohl nach ihren Siedepunkten als auch nach Polarität, der Anzahl ihrer Doppelbindungen bzw. ihrer Ringstruktur getrennt. Dies macht eine Zuordnung unbekannter Signale nicht immer einfach. Die Säulen wurden täglich morgens vor Analysenbeginn für 10 min auf 280 °C ausgeheizt. Im Standby-Status betrug die Temperatur 60 °C.

3.2 Qualitative und quantitative Analyse

3.2.1 Präparation und Optimierung der Adsorptionsröhrchen

Als Adsorptionsröhrchen kamen Glasröhrchen sowohl aus normales Glas, als auch hochschmelzendem, UV-Licht undurchlässigem Duran-Glas zum Einsatz (Innendurchmesser: 4 mm; Außendurchmesser: 6 mm; Länge: ca. 180 mm). Um Schnittverletzungen und aktive Stellen zu vermeiden wurden die Enden dieser Glasröhrchen abgeschmolzen. Als Adsorbens kamen pro Adsorptionsröhrchen 100 mg Tenax[®] TA und 100 mg Carbotrap[®] (Supelco, 20/40 mesh) sowie zu Vergleichszwecken auch 300 mg Tenax[®] TA (Supelco, 60/80 mesh) zum Einsatz (siehe Abbildung 3.1).

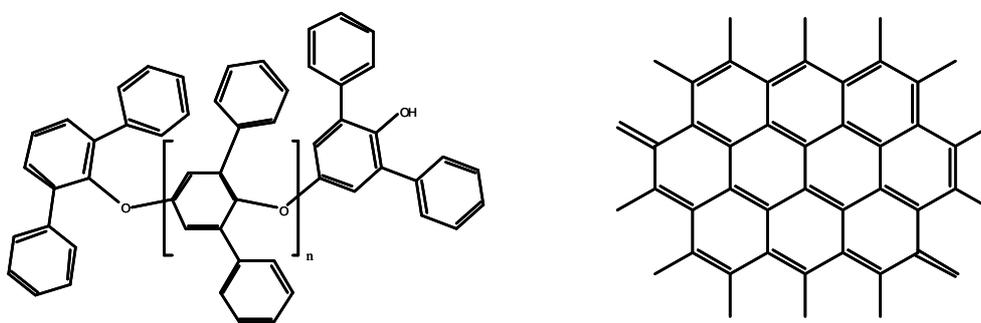


Abbildung 3.1: Strukturen von Tenax[®]

Carbotrap[®]

Um mögliche Einflüsse von aktiven Oberflächen der verwendeten Glasröhrchen auf den Analyten zu minimieren, wurden die Glasröhrchen vor ihrer Verwendung zur Deaktivierung der Oberfläche silanisiert. Die schrittweise Herstellung der Probenahmeröhrchen wird im Folgenden beschrieben: Die Glasröhrchen wurden mit MilliQ-Wasser gewaschen und anschließend in 50 °C warme, halbkonzentrierte Salpetersäure für eine Stunde eingelegt. Beim Stehen über Nacht wurden die OH-Gruppen der Glasröhrchenoberfläche im kalten Salpetersäurebad weiter aktiviert. Anschließend wurden die Röhrchen mehrfach mit MilliQ-Wasser gespült und in einem auf 120 °C temperierten Trockenschrank getrocknet. Zur Silanisierung wurden Glasröhrchen in einen Messzylinder, der mit n-Hexan (Gradient Grade; Merck) versetzt mit 10 Vol.% Dimethyldichlorsilan (99 %, Acros Organics) gefüllt war, eingetaucht und nach ca. 5 min in einen Messzylinder mit Methanol (SupraSolv; Merck) zum Abreagieren des überschüssigen Dimethyldichlorsilans gestellt. Anschließend wurden sie erneut bei 120 °C getrocknet. Die Adsorbentien Carbotrap[®] (Supelco, 20/40 mesh) und Tenax[®] TA (Supelco, 60/80 mesh) wurden in einem Soxhlet-Extraktor für 24 h mit Methanol gereinigt. Die Präparation der Röhrchen erfolgte nach der Schemazeichnung in Abbildung 3.2 mit silanisierter Glaswolle zur Fixierung und Trennung der Adsorptionsmaterialien. Die Enden wurden mit Swagelok[®] Blindstopfen (Messing, ¼ Zoll) und Teflonferrules (Bohrung 6 mm, Cs Chromatographie Service GmbH) verschlossen. Die endgültige Konditionierung

erfolgte durch Ausheizen der Röhren unter einem Gasstrom von ca. 30 mL min^{-1} Stickstoff in einem GC-Ofen mit speziell gefertigten Halterungen bei 230 °C für 12 h. Der Stickstoffgasstrom wurde vor dem Passieren der Röhren durch flüssigen Stickstoff geführt, um eventuelle Verunreinigungen auszufrieren. Um ein Eintreten von Verunreinigungen aus der Umgebungsluft zu verhindern, wurden die Röhren mit als Restriktoren dienenden Swagelok®-Blindstopfen, die mit einer 0,3 mm Bohrung versehen waren, auf der Auslassseite versehen. Nach ihrer Fertigstellung wurden die Adsorptionsröhren mit fortlaufenden Nummern versehen, mit Aluminiumfolie umwickelt und auf Blindwert untersucht. Im Anhang befindet sich beispielhaft eine Liste der präparierten Adsorptionsröhren.

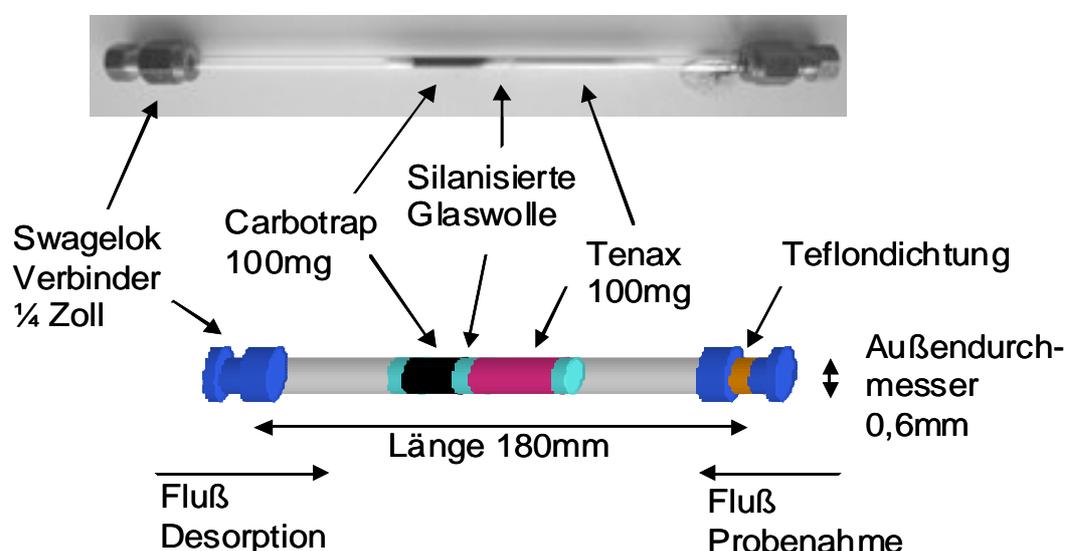


Abbildung 3.2: Foto und schematischer Aufbau eines Adsorptionsröhrchens mit Tenax® und Carbotrap®

Zur Kontrolle wurden alle Adsorptionsröhren vor jeder Probenahme mittels TD-GC/MS auf Blindwerte überprüft. Dies war zwar sehr aufwendig, garantierte aber dass die erhaltenen Chromatogramme frei von unbekanntem Blindwerten waren. Damit erfolgte gleichzeitig eine strikte Kontrolle etwaiger Memory-Effekte. Des Weiteren dienten immer im Untergrund auftauchende Zerfallsprodukte des Tenax wie beispielsweise Benzaldehyd als Retentionszeit-Marker.

3.2.2 Identifizierung und Quantifizierung der Analyten

Um mögliche Fehlerquellen in allen Schritten - von der Aufbereitung der Probe bis zur Bestimmung - einzuschließen, werden häufig Referenzsubstanzen herangezogen. Diese sind oft sehr teuer oder zum Teil auch nicht kommerziell verfügbar. Dies soll am Beispiel der Sesquiterpene verdeutlicht werden. Es sind von mehr als 3000 bekannten Verbindungen nur etwa 35 als Reinsubstanzen (meist $>98 \%$) zu erwerben.

Deshalb wird an dieser Stelle davon ausgegangen, dass die Ionisierungsrate im verwendeten Massenspektrometer für alle Monoterpene untereinander in etwa gleich ist. Dies wird ebenfalls für Sesquiterpene angenommen, um auch unbekannte Terpene, die anhand ihrer Retentionszeit und Massenspektren identifiziert wurden, quantifizieren zu können.

Die Auswahl der Referenzsubstanzen erfolgte nach folgenden Gesichtspunkten: Vorkommen in der Atmosphäre, Emission durch Pflanzen, Reaktivität mit Ozon und Potential zur Partikelbildung, sowie in der Literatur bereits beschriebene Analyten (Vergleichbarkeit) und die kommerzielle Verfügbarkeit. Als Vergleichssubstanzen wurden daher die Monoterpene α -Pinen, β -Pinen, Pinan, δ -3-Caren, Limonen und die Sesquiterpene Longicyclen, Isolongifolen, α -Cedren, β -Caryophyllen, Isocaryophyllen, Aromadendren, α -Humulen, Copaen und Farnesen ausgewählt. Die Signalidentifizierung erfolgte über die Retentionszeiten (RT) der einzeln vermessenen, reinen Referenzsubstanzen und deren Massenspektren. Die Quantifizierung der Substanzen beruht auf der Integration der Summe der Signale einzelner Ionen (Targetionen). Diese sind in Tabelle 3.3 und 3.4 aufgeführt.

Tabelle 3.3: Retentionszeiten und zur Quantifizierung benutzte Targetionen der Terpene

Terpen	Retentionszeit (min)	für die Quantifizierung verwendete m/z-Ionen
α -Pinen	6,0,8	51, 65, 77, 79, 91, 93, 105, 119, 121, 136
β -Pinen	7,46	51, 65, 67, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 121, 136
Pinan	8,23	50, 51, 65, 67, 77, 79, 91, 105, 107, 121, 136
α -3-Caren	8,74	51, 65, 77, 79, 91, 93, 105, 119, 121, 136
Limonen	9,47	50, 51, 53, 65, 67, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 121, 136
Longicyclen	23,98	51, 65, 67, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 119, 133, 147, 161, 175, 189, 204
Isolongifolen	24,71	65, 67, 91, 93, 105, 119, 133, 147, 161, 175, 189, 204
α -Cedren	25,76	51, 65, 67, 77, 91, 93, 105, 119, 133, 147, 161, 175, 189, 204
Caryophyllen	26,14	51, 65, 67, 77, 79, 91, 93, 105, 119, 133, 147, 161, 175, 189, 204
Aromadendren	26,95	51, 65, 67, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 119, 133, 147, 161, 189, 204
α -Humulen	27,55	51, 65, 67, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 119, 121, 133, 147, 161, 175, 189, 204

Tabelle 3.4: Retentionszeiten und zur Quantifizierung benutzte Targetionen der iodhaltigen Verbindungen

Substanz	Retentionszeit (min)	für die Quantifizierung verwendete m/z-Ionen
Jodmethan	0,98	67, 127, 142
Dijodmethan	5, 75	91, 127, 141, 254, 268

Die Quantifizierung der Emissionsmessungen mittels TD-GC/MS erfolgte durch externe Kalibrierung auf zwei Wegen: über Diffusionsquellen und über direktes Aufbringen verschiedener Terpen-Standards in Cyclohexan auf die Adsorptionsröhrchen. Zur Quantifizierung der Extraktionen mittels Flüssig- Injektion-GC/MS wurden verschiedene Terpen-Standards in Cyclohexan (externe Kalibrierung) verwendet.

3.2.3 Quantifizierung durch Probenahme an Diffusionsquellen

Es wurde eine Probenahmestation zusammengestellt, die das einfache und schnelle Beproben von Adsorptionsröhrchen mit Diffusionsquellen, sowie die Reaktionen mit Ozon und Propen und die gleichzeitige Überwachung des Ozongehaltes durch einen Ozonanalysator in Reaktionskammern verschiedener Größe erlaubte. Die exakten Flussraten konnten an einer übersichtlichen „Schaltwand“ kontrolliert und variiert werden. Zur Flussratenbestimmung dienten Durchflussmesser (Rotameter, ABB) sowie elektronische „flow meter“ (Profimess). Zum Aufbau der Probenahmestation wurde ab den Diffusionsquellen ausschließlich silanisiertes Glas verwendet, da speziell die Terpenkomponenten zu Zersetzungsreaktionen an aktiven Metalloberflächen bzw. Memory-Effekten an unpolaren Oberflächen (Kunststoffe) neigen. Für die Diffusionsquellen wurde Stickstoff 5.0 über Kipphebelventile und Reduzierventile (beides Swagelok[®]), über einen Durchflussmesser (Rotameter, ABB) und durch eine Waschflasche mit Reinstwasser zu den Quellengefäßen geleitet. Der zur Verdünnung eingesetzte Stickstoff und das als Reaktandgas genutzte Propen gelangten ebenso über Kipphebelventile, Reduzierventile, einen Durchflussmesser (Rotameter, ABB) und durch eine Waschflasche zur Reaktionskammer. Der zur Ozonerzeugung dienende Sauerstoff nahm den gleichen Weg zum Ozongenerator (Dasibi, 1008-RS) mit Ausnahme der Waschflasche. Alle ankommenden Ströme wurden durch silanierte Glasverbinder zur gläsernen Reaktionskammer (Volumen 500 oder 1500 mL) geleitet. An diese schloss sich ein Druckausgleich mit Durchflussmesser (Rotameter, ABB), ein Ozonanalysator (Dasibi, 1008-RS) und das Adsorptionsröhrchen an. Durch den Durchflussmesser (Profimess) wurde die Luft mittels einer Pumpe abgesaugt wurde. Die Flussraten für die externe Kalibrierung mittels der Diffusionsquellen belaufen sich meist auf jeweils 10 mL/min für die Mono- und Sesquiterpene, 500 mL/min für den Stickstoff und 20 mL/min für das Adsorptionsröhrchen. Der exakte Aufbau dieser Probenahmestation und Reaktionskammer ist in der folgenden Abbildung 3.3 gezeigt.

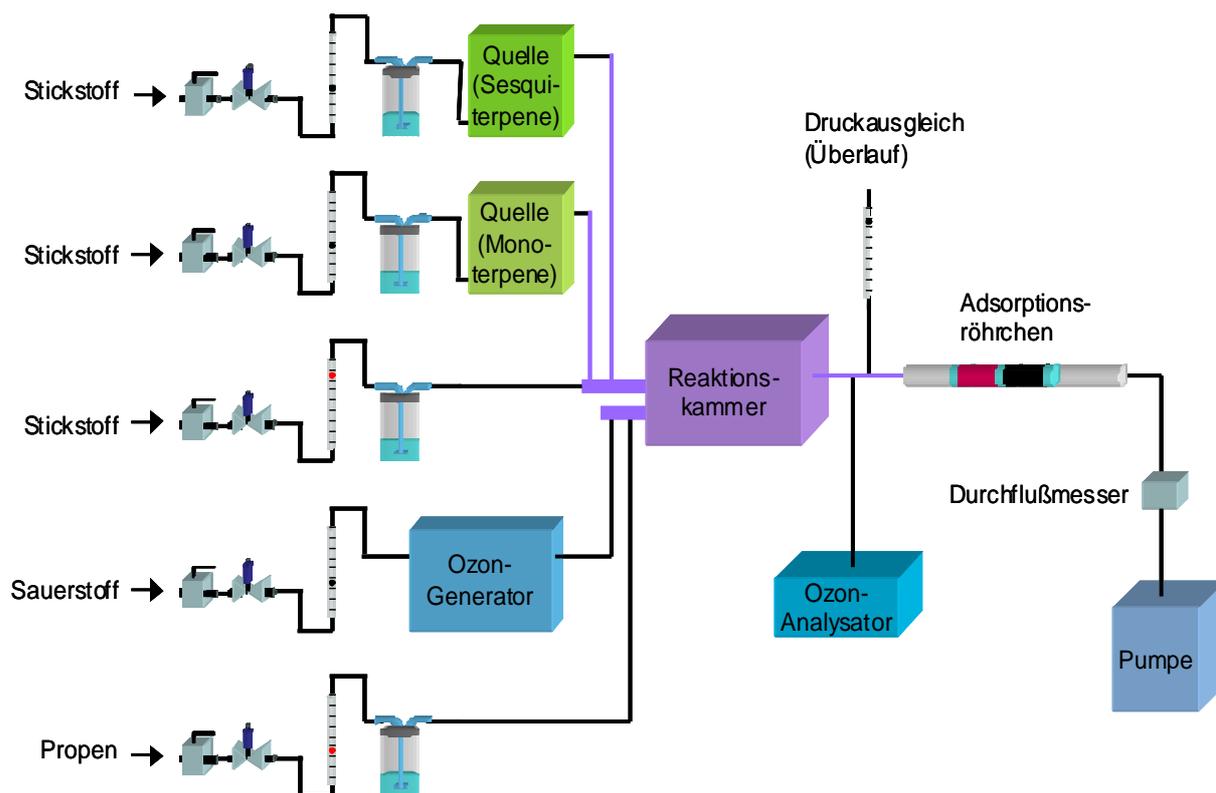


Abbildung 3.3: Schematischer Aufbau der Probenahmestation und Reaktionskammer

In dieser Arbeit wurde ein bekanntes System zur Kalibrierung von flüchtigen Kohlenwasserstoffen verwendet. Dieses Testgassystem beruht auf dem Prinzip des diffusionskontrollierten Transports der Referenzsubstanzen durch Kapillaren. Durch verschiedene Längen der Kapillaren kann auf einfache Weise den unterschiedlichen Dampfdrücken verschiedener VOCs Rechnung getragen werden. Dieses Verfahren ermöglicht z.B. die Herstellung einer multi-komponenten Mischung mit einer gleichzeitigen Kontrolle der äußeren Bedingungen wie Luftfeuchtigkeit und Temperatur. Zudem wird sichergestellt, dass die Anreicherung auf den Adsorptionsmaterialien auf dem gleichen Wege stattfindet wie bei der späteren Probenahme. Es standen zwei Diffusionsquellen zur Verfügung. Eine Quelle lieferte Monoterpene und oxidierte Monoterpenprodukte. Eine zweite separate Quelle lieferte Sesquiterpenkomponenten, da diese Komponenten aufgrund des geringeren Dampfdruckes nur schlecht gleichzeitig mit den oben genannten Komponenten aus ein und derselben Quelle kalibriert werden konnten. Um diese Diffusionsquellen zur Kalibration nutzen zu können, war es nötig, eine gründliche Charakterisierung durchzuführen, d.h. die Quellen über längere Zeiträume (in diesem Fall mehrer Monate) zu betreiben. Die Wägungen der Substanzgefäße mit einer Analysenwaage wurden in Abständen von etwa 3-7 Tagen durchgeführt. Über den Gewichtsverlust pro Zeit konnten die durchschnittlichen Emissionsraten für jede verwendete Standardverbindung berechnet werden. Die Kalibration erfolgte durch Anreicherung der Substanzen aus den Kalibrationsquellen unter zusätzlicher Verdünnung von

angefeuchtetem Stickstoff. Um eine Mehrpunktkalibration über den Konzentrationsbereich der Messungen zu erhalten, wurde die Anreicherungszeit zwischen 0,5 und 15 Minuten variiert, wodurch sich bei Flüssen über das Adsorbens von meist 20 mL/min Anreicherungsvolumina von 10 mL bis 300 mL ergeben. Die Reproduzierbarkeiten der Kalibrationen mit den Diffusionsquellen liegen für die meisten Substanzen in einem Bereich von besser als 10 %. Die Berechnung der Konzentrationen erfolgte über die folgende Gleichung, wobei c_A die Konzentration des Analyten A in ng, D_A die Diffusionsrate des Analyten pro Zeit (ng/min) und F die Flussrate der Probenahme in ng/min ist. Zu beachten ist, dass sich F aus der Summe der verschiedenen Flussraten der Diffusionsquellen (F_{MT} , F_{SQT}) und der Verdünnung mit Stickstoff F_{N_2} multipliziert mit dem Splitverhältnis S zusammensetzt.

$$c_A = D_A/F$$

$$F = \text{Summe} (F_{MT} + F_{SQT} + F_{N_2}) \cdot S$$

Der prinzipielle Aufbau der Quellen soll hier nur kurz umrissen werden. Das äußere Gefäß ist doppelwandig aus Glas gefertigt und wird mit einem Thermostaten auf 30 °C temperiert. Die Quellen werden ständig über entsprechende Gasflussmesser (Rotameter, ABB) mit Stickstoff (Reinheit 5.0) durchströmt. Die Darstellung einer Diffusionsquelle findet sich in Abbildung 3.4. Die Substanzbehälter, welche die reinen Substanzen (Fluka bzw. Aldrich > 93 % Reinheit) enthalten, bestehen aus extra zu diesem Zweck angefertigten kleinen Glasgefäßen. Diese Diffusionsquellengefäße gleichen einem 1 mL GC-Vial und wurden auf der Innen- und Außenseite silanisiert. An der Oberseite sind sie spitz ausgezogen und es wurde eine 3 bis 5 cm lange Kapillare (CS Chromatographie Service, CS-Fused-Silica-Vorsäule, FS-Methyl-Sil, deaktiviert, ID 0,53 mm) mit spezial GC-Glaskleber (CS Chromatographie Service, Polyimidkleber) eingeklebt. Der Kleber wird normalerweise zur Reparatur von gebrochenen GC-Kapillaren verwendet und härtet bei 100 °C vollständig aus. Die Kennzeichnung der einzelnen Gefäße erfolgt mittels eingebannter Zeichen. Der schematische Aufbau und ein Foto eines neuen Diffusionsquellengefäßes ist in Abbildung 3.5. zu sehen. Die Halter der kleinen Substanzbehälter zum Befestigen in der temperierten Quelle bestehen ebenfalls aus silanisertem Glas. Um Wandeffekte in den Leitungen zu den GC-Systemen zu minimieren, werden alle Gase angefeuchtet. Dazu wird der Stickstoff durch eine mit Milli-Q-Wasser (Millipore SA) gefüllte Waschflasche geleitet, was zu einer Gasfeuchtigkeit von ca. 70 % führt. Da die Konzentration der Kohlenwasserstoffe am Ausgang der Diffusionsquellen verglichen mit Pflanzenemissionen immer noch zu hoch ist, münden diese in eine Reaktionskammer aus silanisertem Glas. In diese wird zur Verdünnung Stickstoff geleitet.

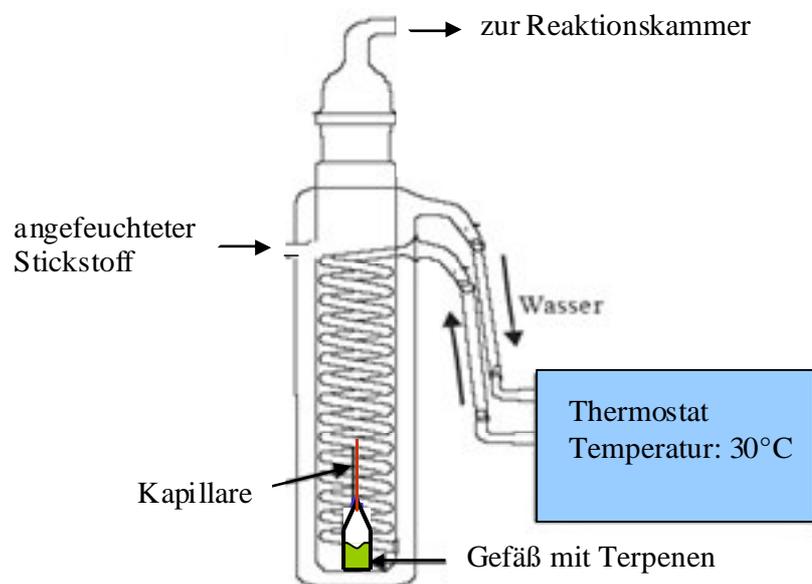


Abbildung 3.4: Quelle mit Quellengefäß und Thermostat

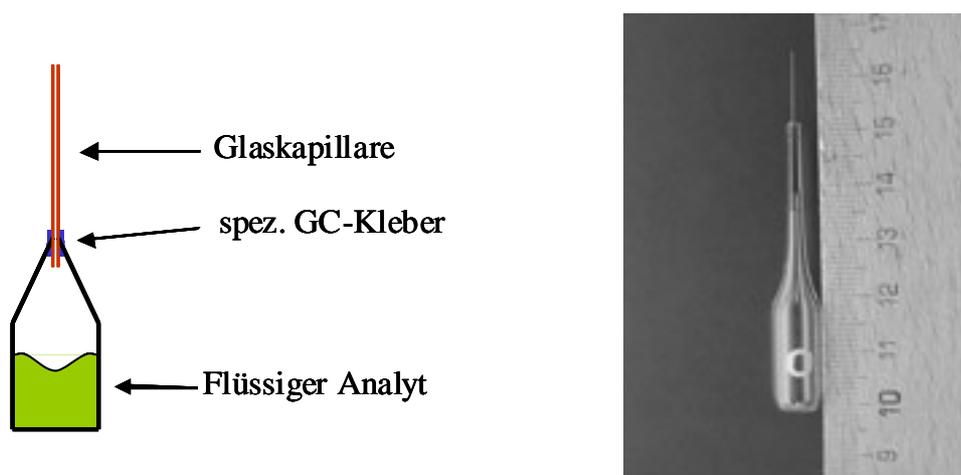


Abbildung 3.5: Schematischer Aufbau und Foto eines neu entwickelten Diffusionsquellengefäßes

3.2.4 Herstellung von Terpen-Standards in Cyclohexan

Um die Verluste von leichtflüchtigen Komponenten bzw. ein Aufkonzentrieren der Standards durch Verlust von Lösungsmittel bei der Probenentnahme der in Cyclohexan verdünnten Proben zu verhindern, wurden die Proben in 2 mL bzw. 5 mL große Braunglasgefäße abgefüllt. Diese waren mit einem Schraubdeckelverschluss und Septen versehen und blieben permanent verschlossen. So konnten die Standards weitgehend verlustfrei angesetzt und mit gasdichten Spritzen die für die Analyse benötigte Menge entnommen werden. Zunächst wurde von jeder Substanz Stammlösungen aus 4 μL Reinsubstanz in 4000 μL Cyclohexan angesetzt. Dabei kamen gasdichte Spritzen und Gefäße mit Septen zum Einsatz. Anschließend wurden

Kalibrationsstandards der Konzentrationen 0,5 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 7 ppm, 10 ppm und 20 ppm hergestellt. Hierbei wurden die Kalibrationsstandards aller Substanzen zusammen angesetzt, sodass jeder der sieben Kalibrationsstandards am Ende alle Substanzen enthielt. Die aufgrund der Verdünnung tatsächlich vorliegenden Konzentrationen wurden im Nachhinein rechnerisch über das Volumen ermittelt und sind in Tabelle 3.5 abgebildet.

Tabelle 3.5: Schema zum Ansetzen der Kalibrationsstandards

Nominelle Konzentration (ppm)	Zugabe an Stammlösung je Substanz (µl)	Zugabe an Cyclohexan (µl)	Tatsächliche Konzentration (ppmV)
0,5	2	4000	0,499
1	4	4000	0,998
2	4	2000	1,994
4	4	1000	3,980
7	7	1000	6,944
10	8	800	9,891
20	8	400	19,588

3.2.5 Quantifizierung über das Aufbringen von Terpen-Standards

Hierbei wird jeweils 1 µl der in Cyclohexan gelösten Standards mittels einer Spritze direkt auf die Glaswolle eines Adsorptionsröhrchens aufgebracht und das so mit Analyt angereicherte Röhrchen unmittelbar vermessen. Die externe Kalibration erfolgt mit 7 Proben von 0,5 ppm bis 20 ppm, wobei jede Probe zweifach analysiert wurde. Die Standardabweichungen der zweimalig Messungen liegen hier durchschnittlich im Bereich von 20 %. Um die Proben vergleichbarer zu machen, wurden für jede analysierte Probe die verwendeten Konzentrationen der Lösungen mit der eingesetzten Menge multipliziert und entsprechend der Dichte der jeweiligen Analyten anschließend in ng umgerechnet. Die Dichten der Terpene werden in Tabelle 3.6 aufgeführt.

Tabelle 3.6: Dichten der verwendeten Terpene

Analyt	β-Pinen	3-Caren	Limonen	α-Pinen
Dichte (g/mL)	0,871	0,864	0,84	0,871

Analyt	Longicyclen	Isolongifolen	β-Caryophyllen	Aromadendren	Humulen
Dichte (g/mL)	0,937	0,93	0,902	0,912	0,889

3.3 Ozon-Scrubber

3.3.1 Entwicklung einer neuen Methode zur Verringerung von Ozon in Außenluftproben mittels Propen

Terpene und insbesondere Sesquiterpene besitzen sehr hohe Reaktionsratekonstanten in Bezug auf Ozon. Daher wird für Außenmessungen ein wirksamer Ozon-Scrubber benötigt. Im Gegensatz zur herkömmlichen Ozonverringerung durch feste, katalytische Oberflächen beruht diese neu entwickelte Methode auf der Reaktion eines Reaktand-Gases, das zu den Analyten hinzugegeben wird. Auch wenn die Reaktivität und damit die Ozon-Reaktions-Ratekonstante von Propen mit $1,4 \times 10^{-17} \text{ cm}^3 \text{ molecule}^{-1} \text{ s}^{-1}$) im Vergleich zu den Monoterpenen (α -Pinen $8,66 \times 10^{-17} \text{ cm}^3 \text{ molecule}^{-1} \text{ s}^{-1}$) und den Sesquiterpenen (β -Caryophyllen: $1160 \times 10^{-17} \text{ cm}^3 \text{ molecule}^{-1} \text{ s}^{-1}$) deutlich kleiner ist, so ist doch eine ausreichend hohe Geschwindigkeit gegeben. Betrachtet man nun noch die Konzentrationen, so wird schnell deutlich, dass aufgrund des enormen Überschusses an Propen, die Reaktion von Propen mit Ozon viel wahrscheinlicher ist, als die Reaktion der Analyten mit Ozon. Des Weiteren wurde die Wirkung auf das Durchbruchsvolumen und evtl. auftretende Blindwerte durch Propen oder dessen Verunreinigungen bzw. Reaktionsprodukte untersucht. Die Tests des Durchbruchsvolumens waren alle negativ in Bezug auf die Analyten. Die Blindwerte beliefen sich auf die Signale von reinem Propen, Propan und kleine Spuren Butan/Buten, deren Retentionszeiten durch die gaschromatographische Trennung mit 1 min - 1,5 min allerdings so weit von den Analyten (SQT (23 min – 29 min); MT (6 min – 12 min)) entfernt lagen, dass sie als Störsignale nicht ins Gewicht fielen. Außerdem besaßen sie keine Übereinstimmung mit den Targetionen (Ionen der Terpene) und waren damit im Chromatogramm der Massenspuren (Extracted Ion-Modus) nicht mehr zu sehen. Zunächst wurden erste Versuche mittels der „Probenahme- und Reaktionskammer-Station“ hinsichtlich der Effektivität und der benötigten Mengen durchgeführt. Die Oxidationsprodukte des Propens sind bereits gut untersucht. Als Aldehyd sind hier das Acrolein, als Keton das Aceton, sowie 2-Propenol und 1-Propenol als Alkohole und Acrylsäure als Säure zu nennen. Die Siedepunkte liegen bei allen angegebenen Verbindungen unter 200 °C und stellen aufgrund der Flüchtigkeit auch ohne Derivatisierung kein Problem für die Gaschromatographie dar. Zu dem wurden Blindproben ohne Ozon zur Gewährleistung der korrekten Anzeige der Ozonkonzentration durch den Ozonanalysator durchgeführt.

3.3.2 Vorgehensweise

Bei der Entwicklung des neuen, auf Propen basierenden Verfahrens kamen zwei unterschiedliche Verfahren zum Einsatz. Bei der ersten Methode trafen in der silanisierten Reaktionskammer sowohl die Mono- und Sesquiterpene, als auch angefeuchtete Luft, Ozon und Propen aufeinander. Hiermit sollte die direkte Wirkung und Effektivität des im Überschuss vorliegenden Reaktandgases Propen auf Ozon in Anwesenheit der reaktiveren Analyten gezeigt werden. Zum Vergleich wurden die Experimente auch jeweils nur mit Ozon ohne Propen durchgeführt, was eine deutliche Abnahme der Analyten zur Folge hatte. Diese Reaktion wurde mit unterschiedlichen Ozonkonzentrationen wiederholt und jeweils doppelt beprobt, wie in Tabelle 3.7 zu sehen ist. Die Ozonkonzentrationen wurden mit einem Ozonanalysator (Dasibi) bestimmt. Die Proben, welche nur mit Stickstoff genommen wurden dienten der Vergleichbarkeit. Die Flussraten für die Experimente sind in der unten stehenden Tabelle 3.8 aufgeführt.

Tabelle 3.7: Methode 1 der Entwicklung eines Ozon-Scrubbers (direkte Wirkung in der Reaktionskammer)

Anzahl der Proben	Stickstoff	Propen	Ozon	Ozonkonzentration	Reaktionszeit (min)
8	x			18, 21 ppb	2, 3
8	x		x	94, 147 ppb	2, 3
8	x	x	x	25, 30 ppb	2, 3

Tabelle 3.8: Flussraten für die Ozon-Propen-Experimente

Flussraten in mL/min

in die Reaktionskammer hinein					aus der Reaktionskammer	
MT	SQT	Stickstoff	Ozon	Propen	Adsorptionsröhrchen	Ozonanalysator
10	10	1600	5	2	30	1000

Als zweites wurden mehrere Adsorptionsröhrchen mit einer bekannten Analytmenge aus Mono- und Sesquiterpenen beprobt. Das erste wurde danach einem Durchbruchsvolumentest mit Stickstoff unterzogen. Ein weiteres, ebenso beprobtes Röhrchen wurde mit Propen beschickt. Ein drittes wurde mit einer hohen Konzentration von Ozon versehen und das vierte mit einer Mischung aus Ozon und Propen. Damit sollte die Wirkung des Propens als Schutz für die auf dem Adsorptionsröhrchen befindlichen, reaktiven Terpene gezeigt werden. Diese Methode wurde 3mal mit unterschiedlichen Reaktionszeiten, wie auch in der nachfolgenden Tabelle 3.9 ersichtlich, wiederholt. Die Begasung mit Stickstoff (und Propen) diente neben dem Test auf Durchbruchsvolumen bzw. Blindwerten hier ebenfalls als Ausgangswert für die Verlustraten der Versuche mit Ozon bzw. Ozon und Propen. Die Ozonkonzentrationen wurden auch hier mit dem Ozonanalysator bestimmt.

Tabelle 3.9: Methode 2 der Entwicklung eines Ozon-Scrubbers (Wirkung auf dem Adsorptionsröhrchen)

Adsorptionsröhrchen	Stickstoff	Propen	Ozon	Ozonkonzentration	Reaktionszeit (min)
1, 5, 9	x			18 ppb	1, 3, 5
2, 6, 10	x	x		21 ppb	1, 3, 5
3, 7, 11	x		x	160 ppb	1, 3, 5
4, 8, 12	x	x	x	27 ppb	1, 3, 5

3.3.3 Durchbruchsvolumen

Bei den Analyten handelt es sich bei Stoffen der Summenformeln $C_{10}H_{16}$ bzw. $C_{15}H_{24}$ um mittelflüchtige Verbindungen. Daher wurden auch die verwendeten Adsorbentien entsprechend ausgewählt. Bei den durchgeführten Durchbruchsvolumentests wurde zunächst ein zweites Adsorptionsröhrchen hinter das eigentliche Probenahmeröhrchen fixiert. Es fand eine Probenahme an den Diffusionsquellen statt. Dann wurden bis zu zehn Liter feuchte Luft durch die zwei Adsorptionsröhrchen geleitet und anschließend beide analysiert. Diese Tests verliefen alle negativ, d.h. es wurde kein Analyt im Kontrollröhrchen gefunden. Bei den Tests zum Durchbruchsvolumen mit Terpenen und Propen konnten keine Analyten im zweiten Röhrchen detektiert werden, wohl aber das leichter flüchtige Propen.

3.4 Probenahme

3.4.1 Probenahme-Orte, Zeitpunkte und Temperaturen

Diese Faktoren wurden hinsichtlich ihres Einflusses auf die Probenahme genauer untersucht. Aus der Literatur geht hervor, dass die Terpenemissionen in Abhängigkeit der Temperatur und der Lichtintensität steigen. Daher wurden neben Messreihen aus zwei bis sechs Proben auch eine 24-Stunden Messkampagne bestehend aus 16 Proben am Taunusobservatorium auf dem kleinen Feldberg (50°N13'Nord 8°36'Ost) durchgeführt (siehe Abbildung 3.11). Er besitzt eine Höhe von 825m (ü.N.N.) und liegt in unmittelbarer Nähe zum Rhein-Main-Gebiet. Die umgebende Region ist eine typische Mittelgebirgslandschaft und dicht bewaldet. Die Messstation selbst ist für den öffentlichen, nicht wissenschaftlichen Verkehr gesperrt, und daher lokal nur geringen anthropogenen Einflüssen ausgesetzt. Dort befindet sich auch eine Wetterstation des Deutschen Wetterdienstes. Die dort ermittelten Ozonwerte lagen in dieser Zeit zwischen $70 \mu\text{g}/\text{m}^3$ und $140 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Daher war der Einsatz eines Ozon-Scrubbers unumgänglich. Die Temperaturen lagen zum Zeitpunkt der 24-Stunden-Kampagne im Bereich zwischen $10,5 \text{ }^\circ\text{C}$ bis $24 \text{ }^\circ\text{C}$, sowie im Fall der sechsfachen Messung im Bereich von $15 \text{ }^\circ\text{C}$ bis $24 \text{ }^\circ\text{C}$. Das Wetter war jeweils sonnig bis leicht bewölkt.

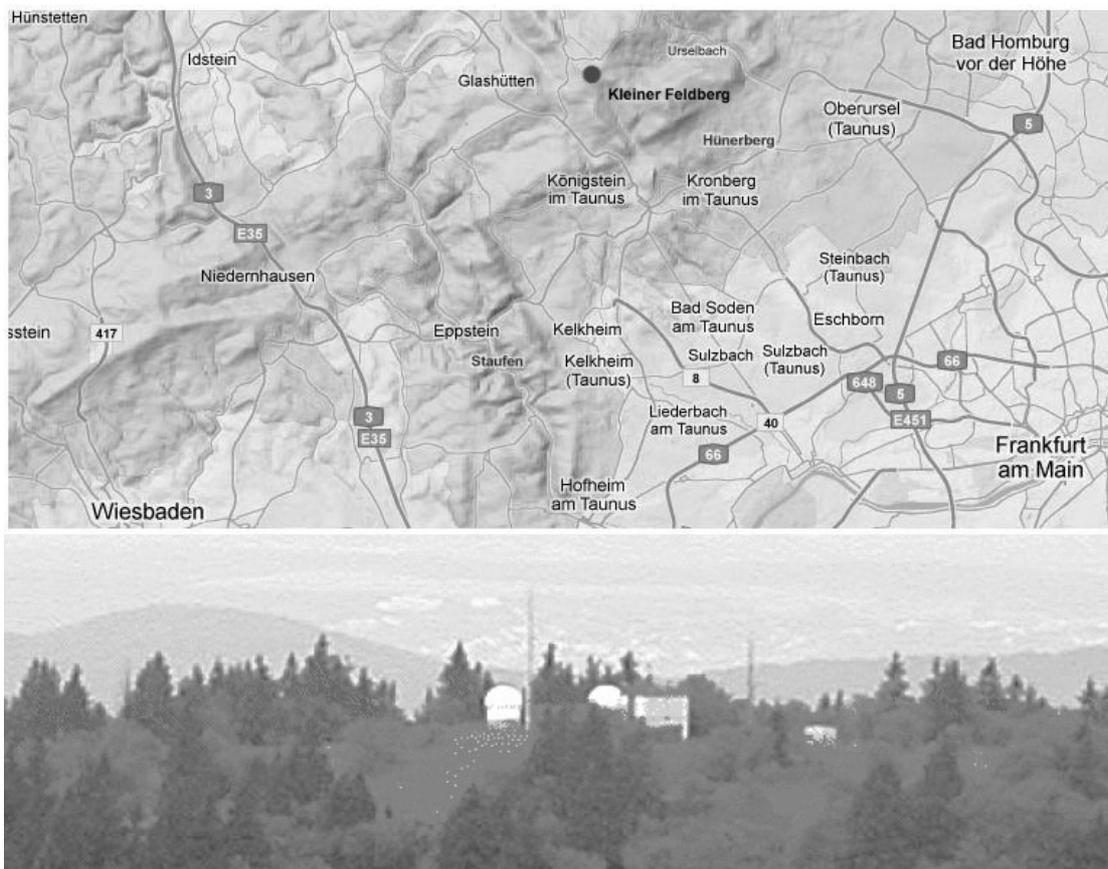


Abbildung 3.6: Taunusobservatorium am kleinen Feldberg (Karte) und Foto (IMG der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt)

Die Emissionsproben der Gattungen *Salvia* und *Aristolochia* wurden im botanischen Garten der Universität Mainz in den entsprechenden Gewächshäusern durchgeführt. Dabei wurde der jeweilige Probenahme-Zeitpunkt (zwischen 9 und 16 Uhr) und die Dauer (5 Stunden) nur sehr wenig variiert, um eine hohe Vergleichbarkeit der Analysen zu erreichen. Die Temperaturen lagen zwischen 18-27 °C (je nach Gewächshaus) und die Luftfeuchte im Gewächshaus bzw. im Tropenhaus bei ca. 40 % bzw. ca. 85 %.

3.4.2 Anwendung des Ozon-Scrubbers

Nach der Entwicklung der neuen, auf Propen basierenden Methode im Labor sollte die Wirkung auch im Feld unter Beweis gestellt werden. Dazu wurde ein Einlasssystem aus silanisierendem Glas mit einem Anschluss für Propen verwendet. Die Propengaszuleitung fand unmittelbar vor der Anreicherung auf das Adsorptionsröhrchen statt. In Abbildung 3.7 ist das verwendete Einlasssystem während der Probenahme gut zu erkennen. Die Flussraten des Propens betragen 1,5 mL/min. Die Durchflussgeschwindigkeiten zur Probenahme durch das Adsorptionsröhrchen lagen im Bereich zwischen 150 mL/min und 350 mL/min bei einer Dauer von

ca. 60 min. Die Proben wurden in direkter Umgebung einiger Fichten in der Nähe des Taunusobservatoriums genommen. Vor der Analyse der Feldmessungen wurden die Emissionen einer getopften Fichte in einem geschlossenen Raum an der Universität Mainz mittels TD-GC/MS analysiert. Dies diente der Vergleichbarkeit der Emissionsuntersuchungen der Feldkampagne. Zusätzlich fanden Extraktionsexperimente der Fichtennadeln in Cyclohexan und deren Analyse mittels GC/MS statt.

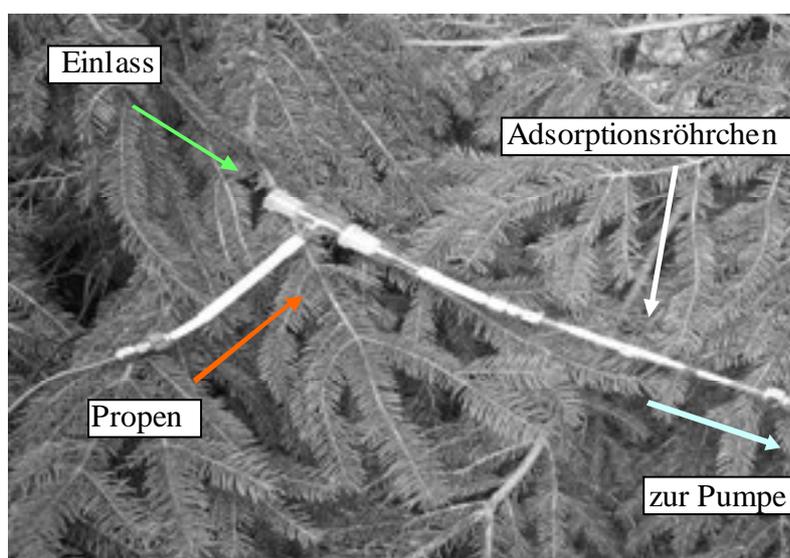


Abbildung 3.7: Probenahme mit Propen

3.4.3 Emissionsmessungen von Einzelblüten

Um möglichst genau die Emissionen der einzelnen Blüten zu adsorbieren, wurden die Flussraten bei der Probenahme stark gesenkt (von ca. 250 mL/min auf 30 mL/min). Dies hat den Vorteil, dass nur Luft aus der unmittelbaren Umgebung der einzelnen Blüte auf das Adsorptionsröhrchen gelangt und die Emissionen der Umgebung weniger stark zu berücksichtigen sind. Zusätzlich kam ein neues Einlasssystem für die Adsorptionsröhrchen, das bereits in den quantitativen Probenahmen der Diffusionsquellen getestet worden war, zum Einsatz. Hierbei handelt es sich um eine desaktivierte Glaskapillare (CS Chromatographie Service, ID: 0,5 mm, Länge: 5 cm), die mit Hilfe von Teflon[®]- und Graphitdichtungen über ein Reduzierstück (Swagelok[®], 1/16“ auf 1/4“) direkt an das Adsorptionsröhrchen befestigt wird. Diese Kapillare wird, wie die nachfolgende Abbildung 3.8 deutlicht, vorsichtig in die Blüte hineingeschoben, ohne diese zu verletzen. In diesem Fall wurde nicht mit einem Ozon-Scrubber gearbeitet, da die Messungen im Gewächshaus stattfanden, und daher der Ozongehalt in der Luft sehr gering war. Die Probenahmehvolumen lagen im Bereich von 9L bis 15L.

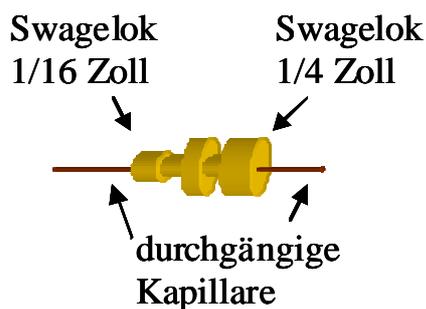


Abbildung 3.8: schematischer Aufbau und Foto der Probenahme mit dem verwendeten Einlasssystem

3.4.4 Methodenvergleich

Qualitativer und quantitativer Methodenvergleich zwischen der Extraktion mit anschließender GC-MS-Analyse und Anreicherung auf Adsorptionsröhrchen mit nachfolgender TD-GC/MS-Analyse

Die Extraktion ausgewählter Pflanzenteile diente zum Methodenvergleich, um festzustellen in welcher Menge die emittierten Terpene Inhaltsstoffe der Pflanzen wären und in wie weit starke Unterschiede zwischen den Emissionen und den tatsächlichen Inhaltstoffe existieren. Die Signalidentifizierung erfolgte auch hier über die Retentionszeiten (RT) der einzeln vermessenen, reinen Referenzsubstanzen und deren Massenspektren. Die Quantifizierung der Substanzen beruhte auf der Integration der Signale einzelner Ionen (Targetionen) nach ihren Massenspuren (Extracted Ion-Modus). Die Quantifizierung der Extraktionen mittels Flüssig- Injektion-GC/MS erfolgte über externe Kalibrierung durch Analyse verschiedener Terpen-Standards in Cyclohexan. Die Herstellung der Terpenstandards wurde bereits früher in diesem Kapitel beschrieben. Die in Cyclohexan gelösten Standards wurden mittels einer gasdichten Spritze in Autosampler-Gefäße abgefüllt. Die externe Kalibration erfolgte hier ebenfalls mit 7 Proben von 0,5 ppm bis 20 ppm, wobei jede Probe dreifach analysiert wird. Für vier Beispiele wurden zunächst die Emissionen der Pflanzen im Gewächshaus nach Anreicherung auf Adsorptionsröhrchen mittels TD-GC/MS analysiert und anschließend die vermessene Blüte (Nadeln) wie nachfolgend beschrieben gemörsert, in Cyclohexan extrahiert und mittels Flüssiginjektion-GC/MS untersucht.

3.4.5 Extraktion von Realproben

Für die Extraktion der Terpene im Rahmen dieser Arbeit war die mit kaltem Lösungsmittel die Methode der Wahl, da sie recht schonend und apparativ nicht aufwändig war. Die gesamte Extraktion einer Pflanze innerhalb von 15 Minuten abgeschlossen. 1 g der frischen Blüten/Nadeln wurde in einen zuvor im Kühlschrank gekühlten Achatmörser gegeben. Als Lösungsmittel wurde ca. 5 °C kaltes Cyclohexan verwendet. Es ist unpolar und das Ansetzen der Standards erfolgte ebenfalls in Cyclohexan. Nach Zugabe von 5 mL Cyclohexan wurden die Blüten/Nadeln ca. 5 Minuten gemörsert. Dabei wurden die gemörserten Pflanzenbestandteile unter der Flüssigkeitsoberfläche gehalten. Um eine Reaktion der extrahierten Substanzen mit Luftsauerstoff zurückzudrängen, fand die Extraktion unter Stickstoffbegasung statt (weißer Schlauch in Abbildung 3.9). Der Extrakt wurde anschließend mit 0,2µm-Spritzenfiltern von unlöslichen Bestandteilen abgetrennt und direkt mittels GCMS analysiert.



Abbildung 3.9: Extraktion

3.4.6 Marine Emissionsproben

Die Proben wurden in den Sommermonaten des Jahres 2006 und 2007 an der westirischen Küste in der Nähe des Ortes Carna genommen (siehe Abbildung 3.10). Die Probenahme erfolgte zu unterschiedlichen Zeiten (Tag, Nacht), Wasserständen (Ebbe, Flut) und Wetterbedingungen (Sonne, Wolken, Regen). Wie in der Abbildung 3.11 zu sehen ist, wurden die Emissionsproben sowohl in ca. 1 m Höhe über den Algen (mittels Stativ), als auch bei Ebbe in direkter Nähe zu den Pflanzen genommen. Die Probenahmeorte lagen in unmittelbarer Nähe des Meeres (ca. 0m bis zu 50m zur Wasserlinie), in dem verschiedene Algenarten zu sehen waren. In Carna (vor dem Institut) sind *Fucus vesiculosus*, *Fucus seratus*, *Ascophyllum nodosum* zu finden, in der Station um Mace Head die gleichen und zusätzlich *Laminaria*. Im Anhang befindet sich eine Liste der verschiedenen Probenahmen.

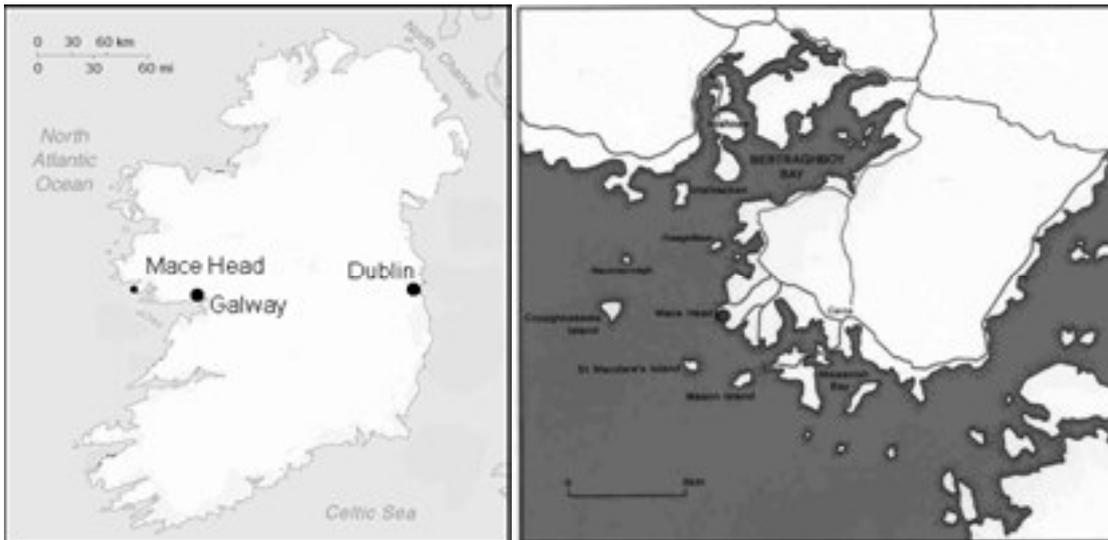


Abbildung 3.10: Mace Head (Nähe Carna), Probenahmeort an der westirischen Küste



Abbildung 3.11: Probenahme an der westirischen Küste mittels Stativ und direkt auf den Algen

4 Auswertung und Ergebnisse

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung einer Thermodesorptionseinheit für ein gekoppeltes Gaschromatograph-Massenspektrometer-System und deren Anwendung zur Analyse flüchtiger organischer Verbindungen. Terpene, besonders Sesquiterpene, sind hochreaktiv in Bezug auf aktive Oberflächen und sehr ozonolyseempfindlich. Ihre natürlichen Konzentrationen in der Atmosphäre liegen im Spurenbereich. Die Herausforderung lag im Aufbau des Mess- und Probenahmesystems zur Quantifizierung der Terpene im Labor und ihrer Charakterisierung in Realproben. Der Aufbau und die Entwicklung der Thermodesorptionseinheit wurde im experimentellen Teil (Abschnitt 3.2) bereits beschrieben. Die vorliegende Auswertung zeigt beispielhaft einige Ergebnisse der durchgeführten Messungen. Die Unterteilung erfolgt in drei Abschnitten:

Im ersten Teil wird die quantitative Analyse ausgewählter Mono- und Sesquiterpene mittels TD-GCMS gezeigt. Der zweite Abschnitt beinhaltet die Ergebnisse der ebenfalls quantitativen Experimente zur Entwicklung einer neuen Ozon-Scrubber-Methode und deren Anwendung in Realproben. Der dritte Teil enthält die Resultate zur Anwendung der neuen Thermodesorptionseinheit in Feldmessungen. Biogene Emissionsproben wurden unter Aspekten wie Reproduzierbarkeit der Probenahme, Methodenvergleich mittels Extraktion und Kalibrierungen in Cyclohexan sowie Temperaturabhängigkeit der Emissionen in Feldmessungen untersucht. Anhand der Emissionsmuster einiger *Aristolochia*- und *Salvia*-Blüten wird die Unterscheidung verschiedener Arten der gleichen Gattung gezeigt und die Differenzierung verschiedener Bestäubertypen experimentell überprüft. Zuletzt werden Beispiele für die gleichzeitige Bestimmung halogenhaltiger Analyte und Terpene in marinen Emissionsproben vorgestellt. Aufgrund der Ähnlichkeit der einzelnen Chromatogramme und Massenspektren werden jeweils nur beispielhaft ausgewählte besprochen. Eine Präsentation der Daten befindet sich im Anhang, Verweise darauf erscheinen in den jeweiligen Abschnitten.

4.1 Quantitative Analyse ausgewählter Mono- und Sesquiterpene mittels TD-GC/MS

4.1.1 Diffusionsquellen

Die qualitative und quantitative Analyse im Labor erfolgte mittels Diffusionsquellen. Dabei handelt es sich um ein System zur Kalibrierung, das auf dem Prinzip des diffusionskontrollierten Transports von ausgewählten Referenzsubstanzen durch Kapillaren beruht (Details siehe Experimenteller Teil 3.1.2). In der untenstehenden Abbildung 4.1 ist ein Beispiel-Chromatogramm der Diffusionsquellen abgebildet. Es zeigt fünf Monoterpene und sechs Sesquiterpene im Retentionszeitbereich 0 min bis 40 min. Dabei erfolgt die Darstellung der Chromatogramme nicht über den Totalionenstrom (TIC), sondern nur über ausgewählte Masse-zu-Ladungs-Verhältnisse (m/z), die alle relevanten Bruchstück-Ionen der Mono- und Sesquiterpene beinhalten. Aufgetragen ist damit die relative Intensität der Summen der angegebenen, charakteristischen Fragmentionen für Terpene gegen die Retentionszeit. Diese wird im weiteren Verlauf als „Terpenmassenspur“ bezeichnet und besteht aus der Summe der Massenspuren $m/z = 51, 53, 65, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 119, 121, 133, 136, 147, 161, 189, 204$.

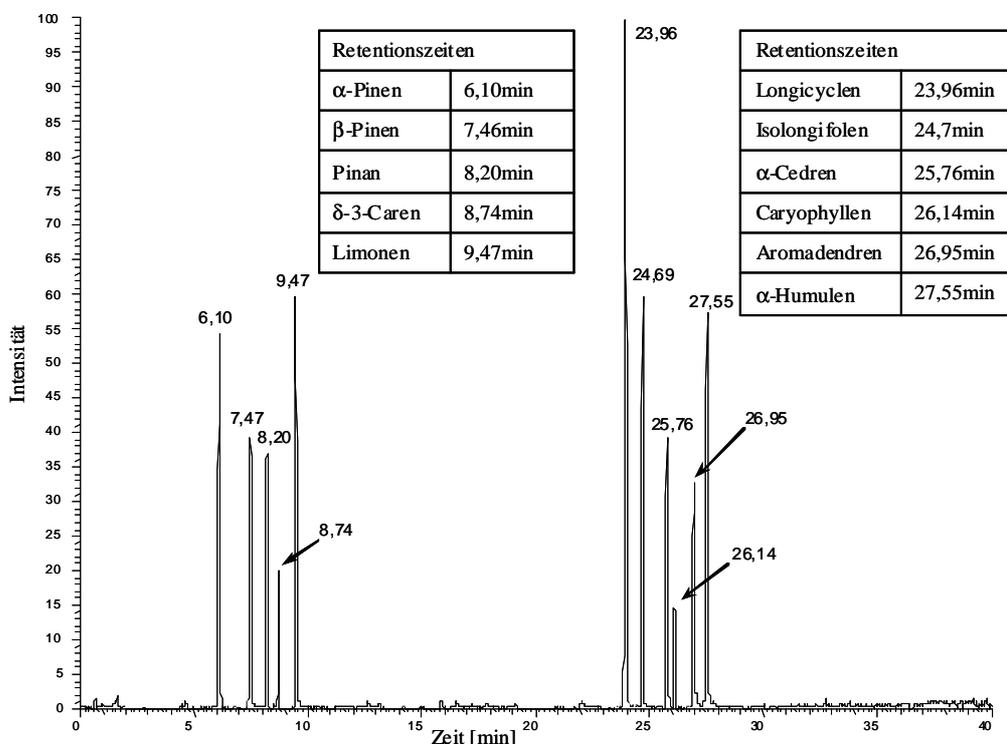


Abbildung 4.1: Chromatogramm der Diffusionsquellen der „Terpenmassenspur“ (Summe der Massenspuren ($m/z = 51, 53, 65, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 119, 121, 133, 136, 147, 161, 189, 204$))

Die Konzentration der hier gezeigten Terpene lag im Bereich von 10-20 ng pro Analyt. Die Monoterpene befinden sich aufgrund der größeren Flüchtigkeit im vorderen Bereich des Chromatogramms (von 5,5 min bis 10 min). Die Sesquiterpene schließen sich mit Retentionszeiten von 23,5 min bis 28,5 min an. Die Retentionszeiten bestimmen die Reihenfolge der Terpene in Übereinstimmung mit der Wechselwirkung (zumeist London-Kräfte) der verwendeten, unpolaren Säule (Restek Rtx-5MS). Dies erfolgt aufgrund der Anzahl der Doppelbindungen, der Struktur der Verbindungen und den Siedepunkten. Die nachfolgende Tabelle 4.1 charakterisiert die ausgewählten Mono- und Sesquiterpene.

Tabelle 4.1: Eigenschaften der Monoterpene und Sesquiterpene in ihrer Retentionsreihenfolge

Name	Siedepunkt (°C)	Anzahl der Doppelbindungen	Name	Siedepunkt (°C)	Anzahl der Doppelbindungen
α -Pinen	156-158	1	Longicyclen	252-254	0
β -Pinen	164-165	1	Isolongifolen	255-256	1
Pinan		0	α -Cedren	261-262	1
3-Caren	170-172	1	β / trans-Caryophyllen	262-264	2
Limonen	176-177	2	Aromadendren	261-263	1
			α -Humulen	266-268	3

Terpene zeigen im EI-MS-Spektrum ein charakteristisches Fragmentierungsverhalten: Es finden sich stets die bereits erwähnten Bruchstücke mit $m/z = 51, 53, 65, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 119, 121, 136$ für Monoterpene. Für Sesquiterpene kommen noch $m/z = 133, 147, 161, 189, 204$ hinzu. Die relativen Intensitäten dieser Fragmentionen unterscheiden sich von Terpen zu Terpen in Abhängigkeit ihrer Struktur. Allerdings lassen sich die Massenspektren der einzelnen Terpene oft kaum auseinander halten. Daher wird zur Identifikation immer auch die Retentionszeit herangezogen.

Beispielhaft werden hier zwei EI-Massenspektren von β -Pinen (einem Monoterpen) und Longicyclen (einem Sesquiterpen) im m/z -Bereich von 50-450 abgebildet (Abbildung 4.2). Für β -Pinen sind die Fragmente $m/z = 91, 93$ und 77 mit hoher Intensität und 136 und 119 in niedriger Intensität typisch. Isolongifolen-EI-Massenspektren kennzeichnen intensive Fragmente im Bereich $161, 133, 119, 105$ und 204 . Die Massenspektren wurden sowohl zur Bestimmung der Retentionszeit als auch zu Vergleichszwecken mit Realproben verwendet. Eine Liste der Fragmentionen und deren Summenformel befindet sich ebenfalls im Anhang.

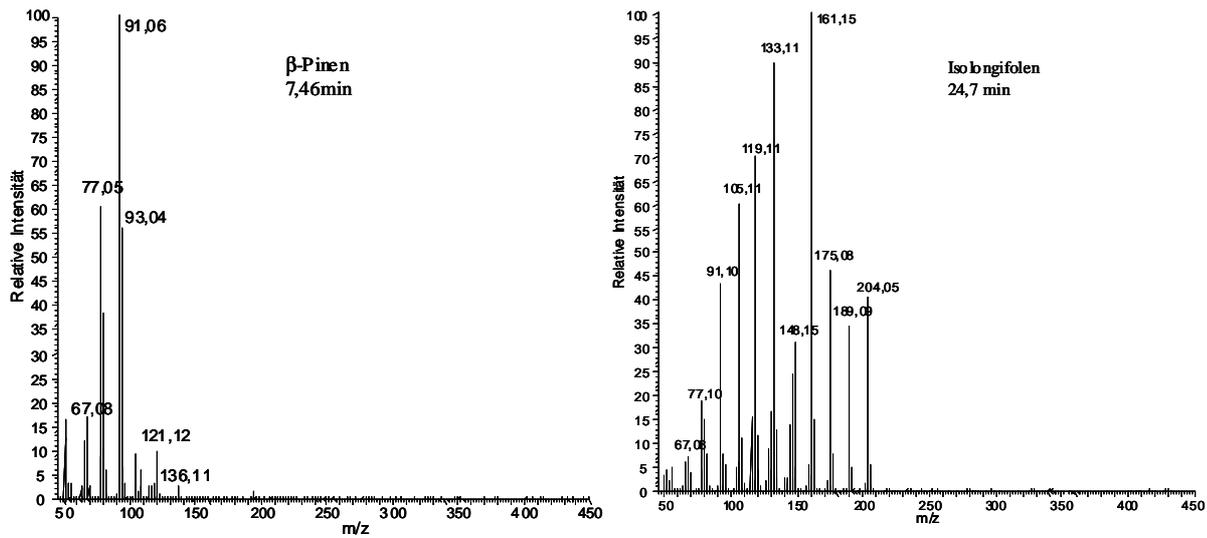
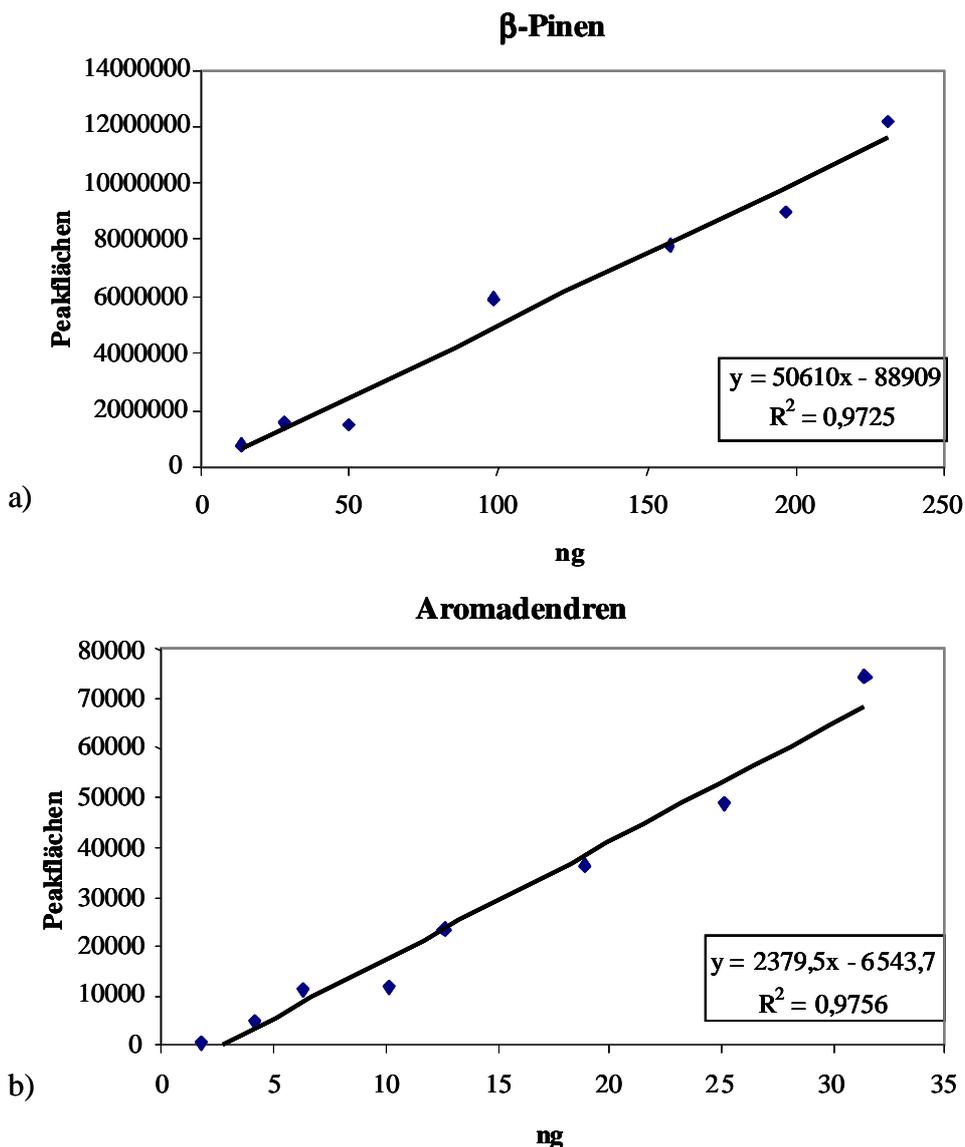


Abbildung 4.2: a) EI-MS Spektrum von β-Pinen b) EI-MS Spektrum von Isolongifolen

Die Identifizierung der einzelnen Terpene erfolgte durch Einzelbestimmung der entsprechenden Standards. Zur Quantifizierung wurden Kalibrierreihen mit sieben bis zehn Standards vermessen. Die Kalibrierungen wurden im Bereich von 0,1 ng bis 250 ng durchgeführt. Beispielhaft werden im Folgenden die Ergebnisse der Kalibrierung durch die Diffusionsquellen für das Monoterpene β-Pinen und das Sesquiterpen Aromadendren im Bereich von 10 ng bis 230 ng bzw. 2 ng bis 32 ng gezeigt. In den Abbildungen 4.3 sind deutlich die linearen Verläufe zu erkennen.

Abbildung 4.3: Kalibrierfunktionen von a) β -Pinen und b) Aromadendren

4.1.2 Vergleichsmessungen in Cyclohexan

Als Vergleich und zusätzliche externe Kalibrierung wurden Terpen-Lösungen in Cyclohexan auf die Adsorptionsröhrchen aufgegeben und direkt vermessen. Die Konzentrationen lagen zwischen 0,5 ng und 20 ng Terpen gelöst in Cyclohexan. Der lineare Verlauf ist am Beispiel des β -Pinen und des Aromadendren gut zu erkennen. Beide Vergleichsmessungen (Doppelbestimmung) werden hier in einem Diagramm aufgetragen.

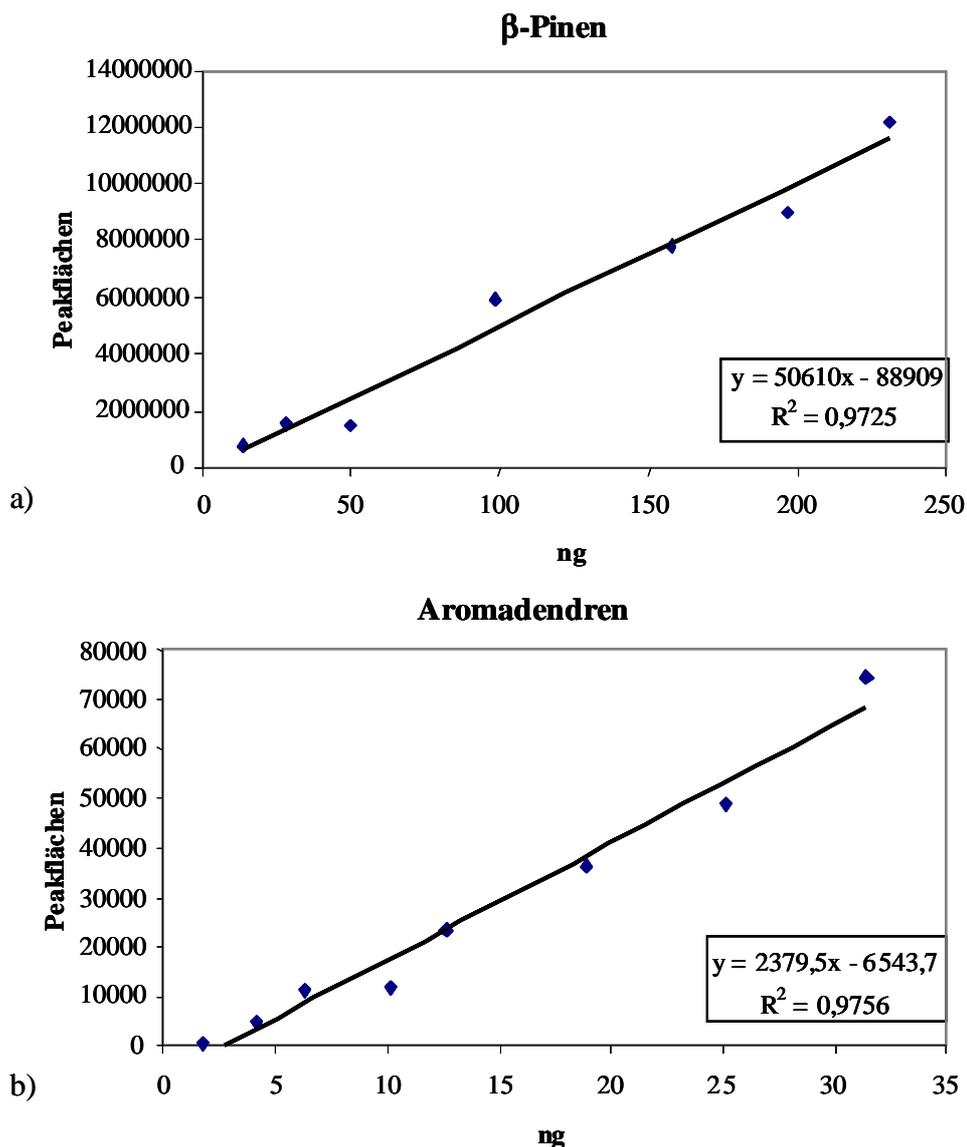


Abbildung 4.4: Kalibrierfunktionen von a) β -Pinen und b) Aromadendren in Cyclohexan

Die beiden verwendeten Methoden liefern vergleichbare Ergebnisse. In Einzelfällen kam es zu unterschiedlichen Steigungen der Kalibriergeraden. Dies ist durch die Flüchtigkeit der in Cyclohexan gelösten Standards zu erklären. Auch ergaben sich Probleme bei der Desorption durch die im Vergleich zum Analyten großen Lösungsmittelmengen, die in der Kühlfalle ausfrieren und so die vollständige Desorption der mittelflüchtigen Terpene erschweren. Die Methode der Diffusionsquellen entspricht weitgehend den realen Messbedingungen und war problemlos auch im niedrigen ng-Bereich durchzuführen. Daher wurden zur Quantifizierung der Realproben immer die Werte der Diffusionsquellen verwendet und die Quantifizierung durch in Cyclohexan gelöste Standards diente hier lediglich dem Methodenvergleich.

4.2 Quantitative Analyse von Terpenen mit Propen als Ozon-Scrubber in Labor- und Freilandmessungen

4.2.1 Ozon

Die Reaktion mit Ozon ist eine der wichtigsten Abbaureaktionen von Terpenen in der Atmosphäre. Damit gehört die Ozonolyse neben den geringen Konzentrationen und dem Verlust durch aktive Oberflächen zu den Hauptproblemen der quantitativen Bestimmung dieser hochreaktiven Verbindungen in Feldmessungen. Zur Untersuchung dieses Effekts auf die Probenahme wurden verschiedene Experimente mit Ozon und Terpenen aus den Diffusionsquellen in einer eigens angefertigten Reaktionskammer durchgeführt. Mögliche Wandverluste wurden durch eine silanisierte Oberfläche vermieden. Aus den beiden folgenden Abbildungen 4.5 wird die Wirkung von Ozon auf die vorhandenen Terpene ersichtlich. Die linke Abbildung 4.5 a) zeigt den Chromatogramm-Ausschnitt im Bereich der Sesquiterpene vor der Zugabe von Ozon. In der rechten Abbildung 4.5 b) wird der gleiche Bereich drei Minuten nach der Ozon-Zugabe dargestellt. Mit 75 ppbV liegen die Ozonkonzentrationen in der gleichen Größenordnung, wie sie unter Realbedingungen anzutreffen sind. Wie im Vergleich deutlich zu erkennen ist, sinken die Signalflächen der Sesquiterpene teilweise sehr stark ab. Im Fall der hochreaktiven Sesquiterpene β -Caryophyllen und α -Humulen sind keine Signalflächen mehr zu ermitteln. Für Longicyclen bleiben die Werte in etwa auf gleichem Niveau, während sie für Isolongifolen und α -Cedren leicht und für Aromadendren auf die Hälfte des Ursprungswertes sinken. Dies geschieht in Übereinstimmung mit der Anzahl der Doppelbindungen und der Reaktionsratekonstanten, die in der darunter befindlichen Tabelle 4.2 zu sehen sind.

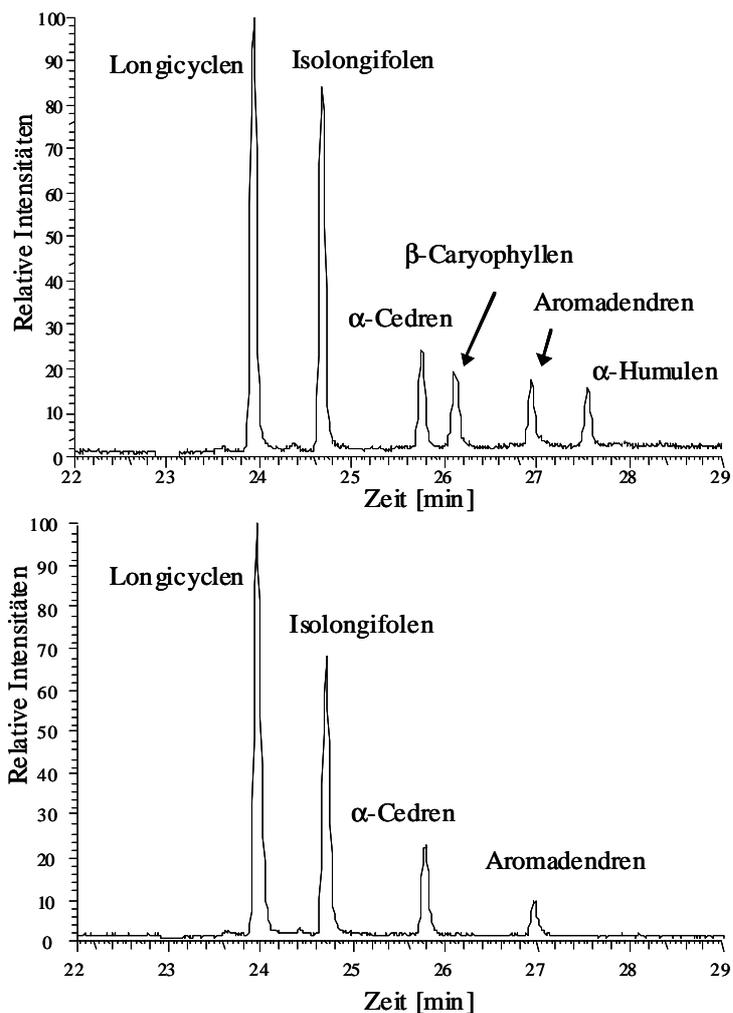


Abbildung 4.5: Sesquiterpene a) vor und b) nach der Zugabe von Ozon, Chromatogramm der Summe der Massenspuren ($m/z = 51, 53, 65, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 119, 121, 133, 136, 147, 161, 189, 204$)

Tabelle 4.2: Eigenschaften ausgewählter Terpene (Ratekonstanten k (in $\text{cm}^3 \text{Moleküle}^{-1} \text{s}^{-1}$) für die Reaktionen mit Ozon)

Name	Anzahl der Doppelbindungen	O_3 -Ratekonstante ($\times 10^{-17}$)	Name	Anzahl der Doppelbindungen	O_3 -Ratekonstante ($\times 10^{-17}$)
α -Pinen	1	$8,66^b$	Longicyclen	0	
β -Pinen	1	$1,5^b$	Isolongifolen	1	$2,6^f$
3-Caren	1	$3,7^b$	α -Cedren	1	$2,8^c$
Limonen	2	$20,1^c$	$\beta/ \text{trans-Caryophyllen}$	2	1160^b
			Aromadendren	1	650^f
			α -Humulen	3	1170^e

b (Caligirou, Larsen et al., 1999)

e (Shu and Atkinson, 1995)

c (Shu and Atkinson, 1994)

f (Atkinson, 1997)

In den folgenden Diagrammen sind die resultierenden Wiederfindungsraten in Prozent angegeben. Die Fehlerbalken (Standardabweichung) stammen aus der Doppelbestimmung der Messungen. Im Fall der Sesquiterpene erkennt man deutlich den zuvor gezeigten Abbau durch Ozon. Bei den Monoterpenen kommt es aufgrund der geringeren Reaktivität in Bezug auf Ozon zu Wiederfindungsraten zwischen 60 und 80 % des Ursprungswertes nach dreiminütiger Zugabe von 75 ppb Ozon. Auch in diesem Beispiel korrelieren die erhaltenen Ergebnisse mit der Anzahl der Doppelbindungen und der Ozonreaktionsratekonstante.

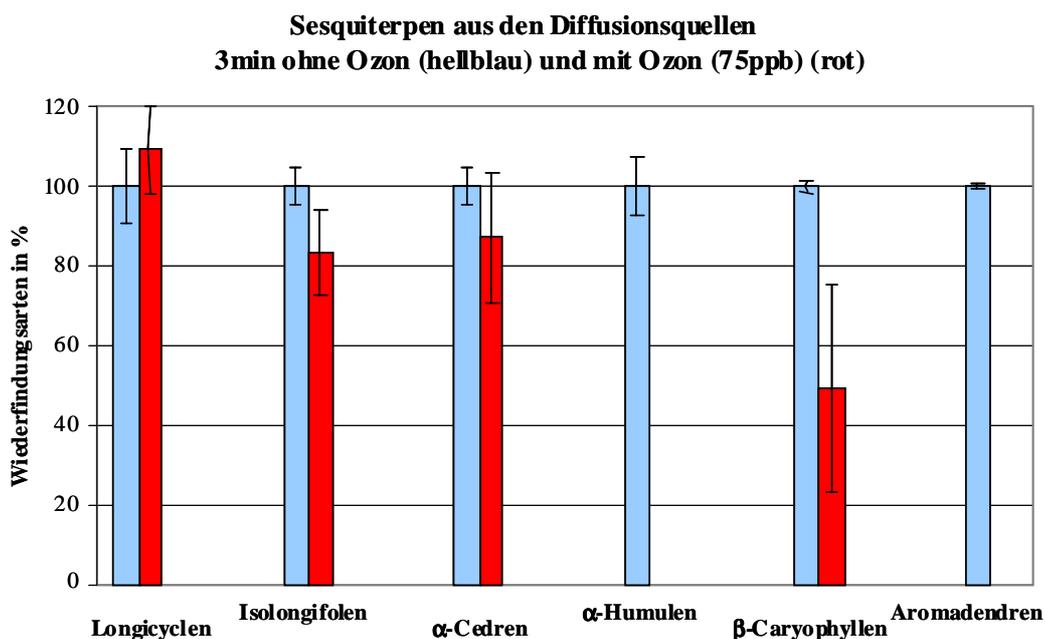


Abbildung 4.6: Wiederfindungsraten der Sesquiterpene in Anwesenheit von Ozon (75 ppb)

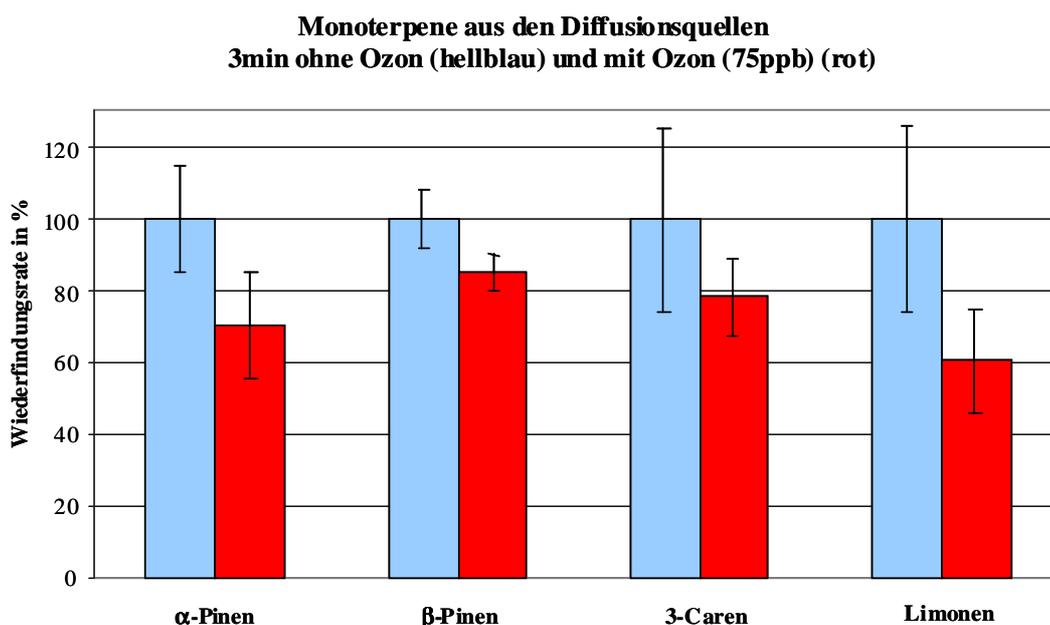


Abbildung 4.7: Wiederfindungsraten der Monoterpene in Anwesenheit von Ozon (75 ppb)

4.2.2 Propen als Ozon-Scrubber

Wie bereits in der Einleitung (Kapitel 1.7) erwähnt, werden zur Verringerung des Ozons bei der Probenahme häufig sogenannte Ozon-Scrubber eingesetzt. Hochreaktive Terpene können allerdings Wechselwirkungen mit den dazu verwendeten Materialien wie beschichtete Kupfernetze oder Aktivkohle eingehen. In dieser Arbeit wird eine neue Ozon-Scrubber-Methode vorgestellt, die auf der Entfernung von Ozon durch ein im Überschuss vorliegendes Reaktandgas beruht. Hierfür wurde Propen ausgewählt, da es keine Reaktion mit den Analyten eingeht. Da die Ozonolyse der Terpene nicht nur in der Luft, sondern auch auf dem Adsorptionsröhrchen erfolgen kann, wurden verschiedene Vorgehensweisen verfolgt und miteinander verglichen.

4.2.2.1 Versuche in der Reaktionskammer

Bei der ersten Methode wurde in der Reaktionskammer analog den zuvor gezeigten Ozonolyse-Experimenten neben den Mono- und Sesquiterpenen, angefeuchteter Stickstoff und Ozon nun auch Propen eingebracht. Zu Vergleichszwecken wurden die Proben standardmäßig nur mit Stickstoff verdünnt. Sie dienten als Referenz für die prozentualen Angaben der Versuche mit Ozon bzw. mit Ozon und Propen und sind in hellblau wiedergegeben.

In den beispielhaften Abbildungen 4.8 a) und b) sieht man deutlich den Verlust der Sesquiterpene α -Cedren und β -Caryophyllen nach der Zugabe von Ozon. Die Darstellung erfolgt in roten Balken. Auch in diesem Beispiel war bei Zugabe von Ozon kein β -Caryophyllen mehr nachweisbar. Diesmal wurde die Konzentration mit 147 ppb etwas höher als zuvor gewählt. Bei der Zugabe von Propen zu der Reaktionsmischung aus Terpenen und Ozon verringerte sich die gemessene Ozonkonzentration drastisch von 147 ppb auf 31 ppb. Die Wiederfindungsraten steigerten sich teilweise bis zum Ausgangswert. Die Wirkung von Propen als Reaktandgas zum Schutz der Terpene (grünen Balken) wurde damit erfolgreich nachgewiesen. An den prozentualen Ausbeuten mit Propen wird die Effektivität dieser Methode deutlich (Tabelle 4.3). Diese liegen, wie die untenstehende Abbildung zeigt für die Monoterpene und die in Bezug auf Ozon schwach reaktiven Sesquiterpene wie Longicyclen im Bereich bis zu 100 %. Für die hochreaktiven Sesquiterpene β -Caryophyllen und α -Humulen ergeben sich gute Wiederfindungsraten von mehr als 80 %.

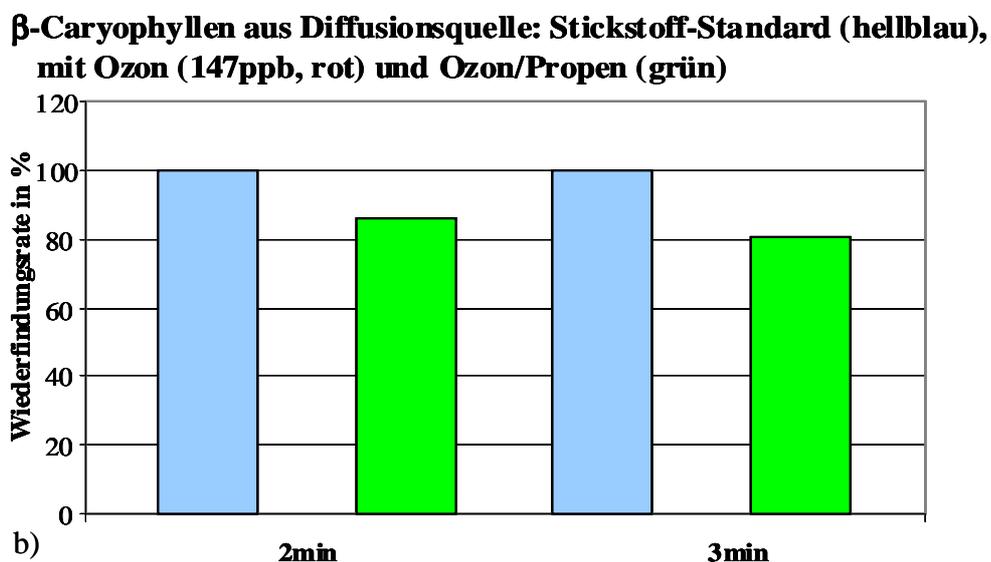
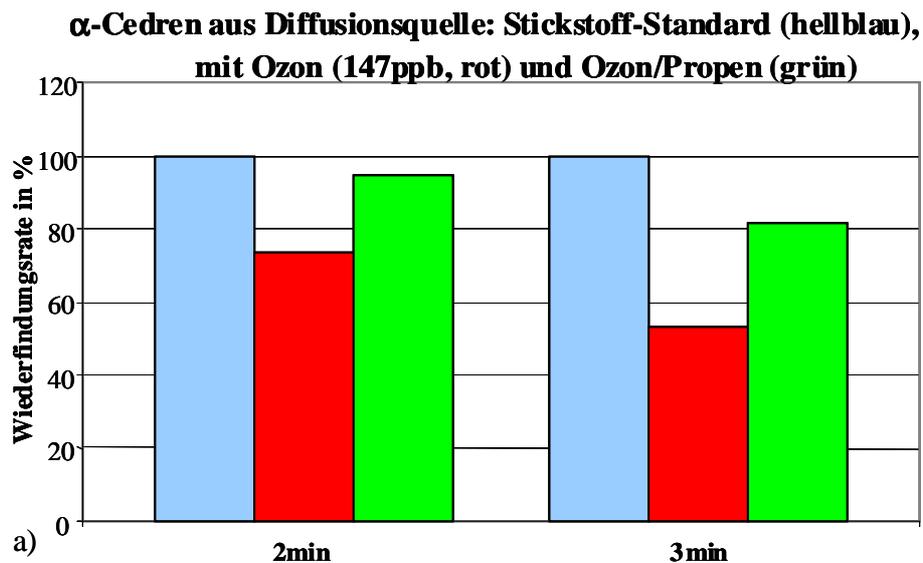


Abbildung 4.8: Wiederfindungsraten der Sesquiterpene a) α -Cedren und b) β -Caryophyllen bei Zugabe von Stickstoff als Standard (hellblau), Ozon (rot) und Propen (grün)

Tabelle 4.3: Übersicht der Wiederfindungsraten der analysierten Terpene in Prozent ohne Propen als Ozon-Scrubber und mit Propen

Monoterpen	Messung	Stickstoff-Standard	Ozon (147 ppb)	Ozon/Propen
α -Pinen	2 min	100	76,92	102,84
	3 min	100	72,88	103,76
β -Pinen	2 min	100	86,96	107,14
	3 min	100	69,03	96,31
3-Caren	2 min	100	90,91	99,41
	3 min	100	64,75	88,02
Limonen	2 min	100	66,67	92,75
	3 min	100	62,74	83,71

Sesquiterpen	Messung	Stickstoff-Standard	Ozon (147 ppb)	Ozon/Propen
Longicyclen	2 min	100	93,90	93,20
	3 min	100	96,85	101,45
Isolongifolen	2 min	100	90,01	112,83
	3 min	100	71,20	97,74
α -Cedren	2 min	100	73,46	94,83
	3 min	100	52,73	81,95
Caryophyllen	2 min	100	0,00	85,83
	3 min	100	0,00	80,54
Aromadendren	2 min	100	59,35	114,85
	3 min	100	62,13	107,22
α -Humulen	2 min	100	0,00	82,06
	3 min	100	0,00	78,68

4.2.2.2 Versuche nach Adsorption

Bei der zweiten verwendeten Methode geht es primär um den Schutz vor der Abreaktion von bereits auf dem Adsorptionsröhrchen befindlichen Analyten durch ozonhaltiger Luft, die bei der weiteren Probenahme durch das Röhrchen gesaugt wird. Daher wurden mit bekannter Analytkonzentration beprobte Adsorptionsröhrchen mit Ozon (161 ppb) begast. Das gleiche wurde mit Ozon/Propen-Mischungen und zu Vergleichszwecken mit Stickstoff durchgeführt. Um den Trend zu verdeutlichen wurden jeweils Versuche mit einer Dauer von einer Minute, drei Minuten und fünf Minuten durchgeführt. Auch hier werden die Wiederfindungsraten der Terpene bei Zugabe von Stickstoff als Standard (hellblau), Ozon (rot) und Ozon und Propen (grün) abgebildet (Abbildung 4.9)

Wie am Beispiel des hochreaktiven Sesquiterpens α -Humulen deutlich ersichtlich ist, sinkt die Analytkonzentration proportional zur Dauer der Reaktionszeit. Nach fünfminütiger Ozonolyse ist das Messsignal bereits unter 10 % des Ausgangswertes gesunken. Durch die Zugabe von Propen zu Ozon gelingt es, die Konzentration des

Analyten auf dem Adsorptionsröhrchen fast vollständig aufrechtzuerhalten, da Ozon mit dem im Überschuss vorliegenden Reaktandgas abreagiert und somit die Ozonolyse der Terpene verhindert. Dies verdeutlicht erneut die erfolgreiche Wirkung beim Einsatz von Propen als Ozon-Scrubber. Bei den weniger Ozonolyse empfindlichen Spezies wie α -Cedren lagen alle Werte im Bereich der Stickstoff-Standards (blau) mit einer Standardabweichung von etwa 15 % (Abbildung 4.9 b). Die gemessenen Ozonkonzentrationen betragen für Ozon (rot) 161 ppb und für Ozon/Propen (grün) 25 ppb. Somit können Analyten zuverlässig vor Ozonolyse durch Zugabe von Propen bei der Probenahme geschützt werden. Die Übersicht zu diesen Versuchen (Tabelle 4.4) befindet sich unter den beiden Diagrammen.

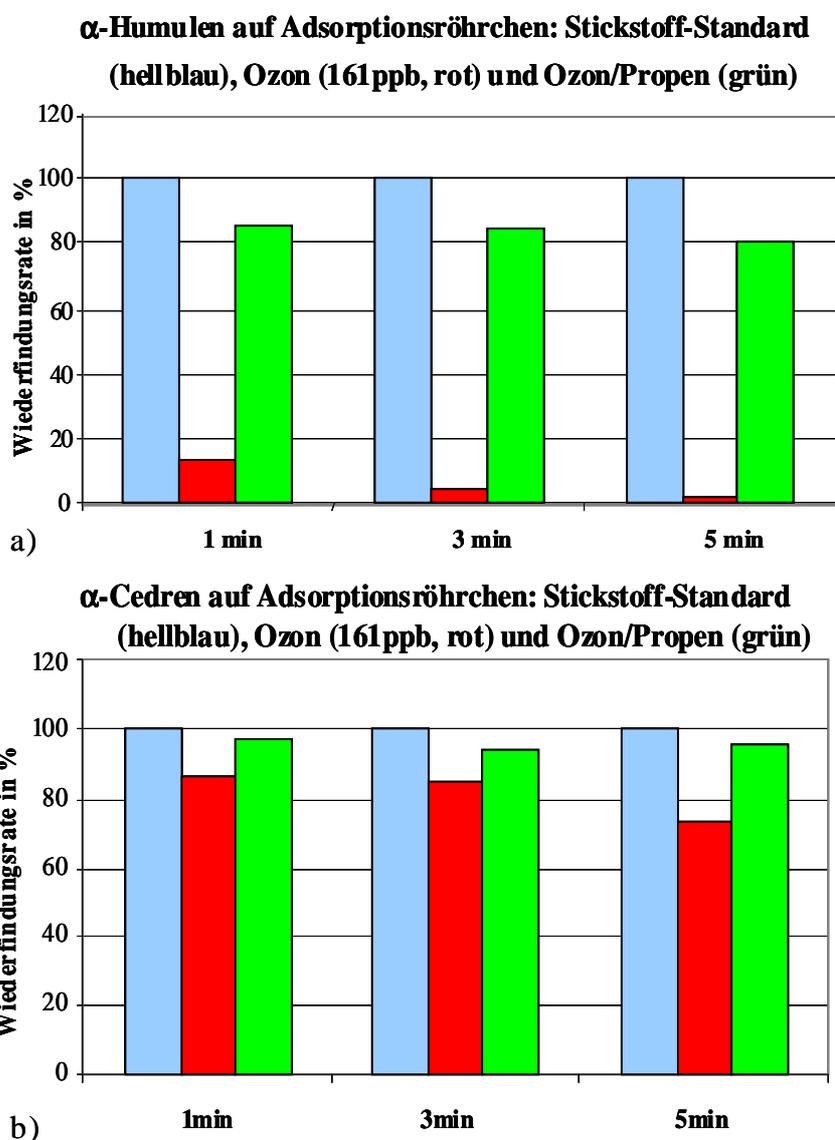


Abbildung 4.9: Wiederfindungsraten der Sesquiterpene a) α -Humulen und b) α -Cedren bei Zugabe von Stickstoff (hellblau), Ozon (rot) und Propen (grün)

Tabelle 4.4: Übersicht der Wiederfindungsraten in Prozent der analysierten Terpene

Monoterpen	Messung	Stickstoff-Standard	Ozon (161 ppb)	Ozon/Propen
α -Pinen	1 min	100,00	73,27	98,61
	3 min	100,00	54,61	89,86
	5 min	100,00	43,91	83,29
β -Pinen	1 min	100,00	59,80	93,43
	3 min	100,00	51,67	86,04
	5 min	100,00	42,96	92,24
β -Caren	1 min	100,00	70,09	97,39
	3 min	100,00	47,90	101,47
	5 min	100,00	49,10	88,80
Limonen	1 min	100,00	58,85	83,39
	3 min	100,00	34,74	86,85
	5 min	100,00	38,00	84,96

Sesquiterpen	Messung	Stickstoff-Standard	Ozon (161 ppb)	Ozon/Propen
Longicyclen	1 min	100,00	104,70	100,31
	3 min	100,00	112,72	125,30
	5 min	100,00	131,72	103,01
Isolongifolen	1 min	100,00	95,15	108,20
	3 min	100,00	96,29	99,40
	5 min	100,00	108,48	115,29
α -Cedren	1 min	100,00	86,15	96,83
	3 min	100,00	84,83	93,73
	5 min	100,00	73,07	95,50
Caryophyllen	1 min	100,00	38,24	87,28
	3 min	100,00	11,14	95,99
	5 min	100,00	3,76	78,90
Aromadendren	1 min	100,00	87,50	93,67
	3 min	100,00	73,70	118,75
	5 min	100,00	58,39	93,17
α -Humulen	1 min	100,00	13,37	85,56
	3 min	100,00	4,31	85,31
	5 min	100,00	2,33	80,13

4.2.3 Anwendung der neu entwickelten Ozon-Scrubber-Methode im Labor und in Feldmessungen am Beispiel der Fichte (*Picea abies*)

Der Entwicklung der neuen Ozon-Scrubber-Methode im Labor folgt nun deren Anwendung unter Realbedingungen. Vor der Probenahme und dem Einsatz des Ozon-Scrubbers basierend auf Propen in Feldmessungen wurden die Emissionen einer getopften Fichte (*Picea abies*) in einem geschlossenen Raum mittels TD-GCMS analysiert. Dies diente der Vergleichbarkeit der Untersuchungen der Feldkampagne. Zusätzlich fanden Extraktionsexperimente der Fichtennadeln in Cyclohexan und deren Analyse mittels GCMS statt (siehe auch 4.3.2). Große Waldbestände wie ausgedehnte Nadelwälder emittieren flüchtiger Kohlenwasserstoffe, die durch die Bildung von Oxidationsprodukten als mögliche Quellen für Aerosole gelten (siehe auch Kapitel 1.5). Um den Einfluss auf die Partikelbildung genauer zu untersuchen, sind die Charakterisierung, Quantifizierung und Studien zur Reaktivität gasförmiger Vorläufersubstanzen wie beispielsweise Mono- und Sesquiterpene von großer Bedeutung. Im folgenden Chromatogramm ist die Emission der getopften Fichte zu sehen. Grün unterlegt sind der Retentionsbereich der Mono- und Sesquiterpene. Die Charakterisierung der Fichte (*Picea abies*) als Monoterpen-Emitter (Heiden et al., 1996) wird durch die deutlich höheren Monoterpenkonzentrationen im Vergleich zu den Sesquiterpenkonzentrationen bestätigt (Abbildung 4.10).

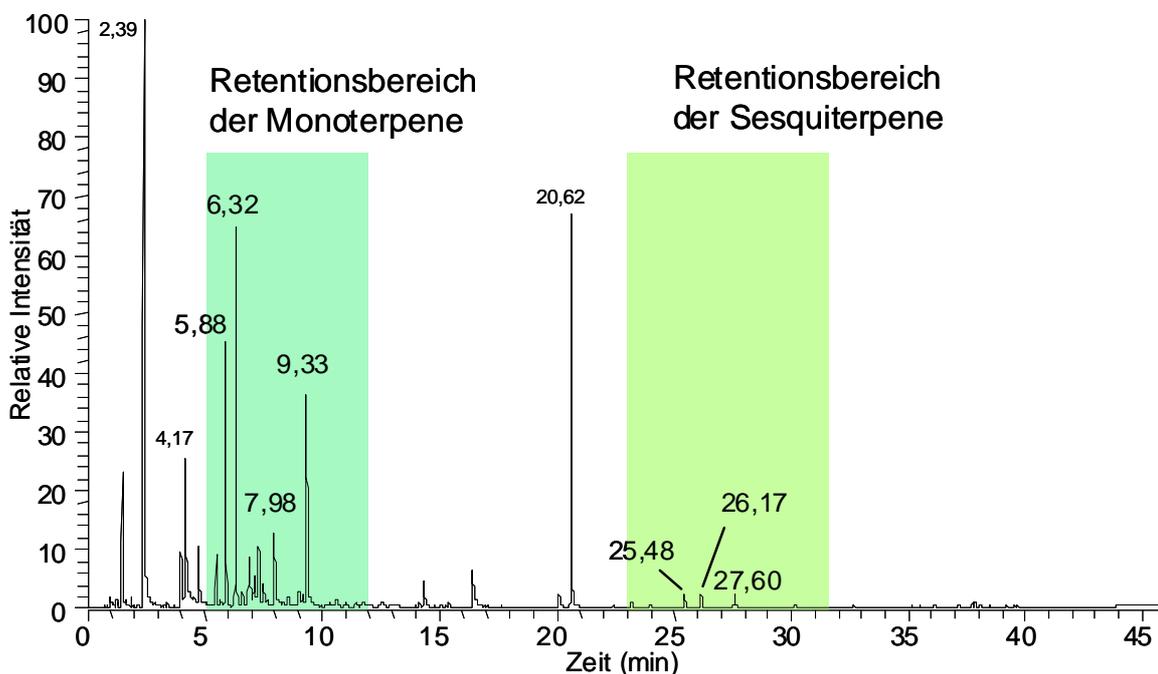


Abbildung 4.10: Chromatogramm der Summe der Massenspuren ($m/z = 51, 53, 65, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 119, 121, 133, 136, 147, 161, 189, 204$) der getopften Fichte (*Picea abies*)

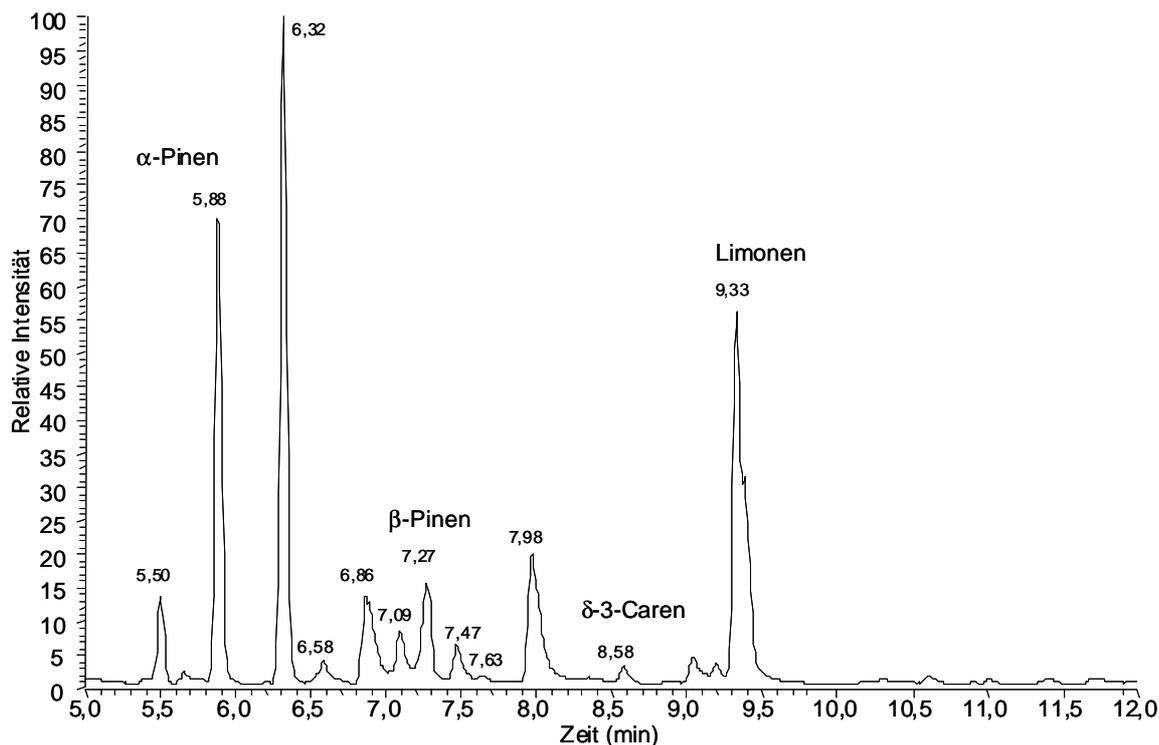


Abbildung 4.11: vergrößerter Ausschnitt des Monoterpen-Bereichs, Chromatogramm der Summe der Massenspuren ($m/z = 51, 53, 65, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 119, 121, 133, 136, 147, 161, 189, 204$) der getopften Fichte

Im vergrößerten Ausschnitt des Chromatogramms (Abbildung 4.11) ist der Retentionsbereich der Monoterpene dargestellt. Die mittels Abgleich der Diffusionsquellen, d.h. der Retentionszeit und den dazugehörigen Massenspektren zugeordneten Monoterpene sind α -Pinen (5,88 min), β -Pinen (7,27 min), δ -3-Caren (8,58 min) und Limonen (9,33 min). Die anderen Signale weisen auch die für Monoterpene typischen Fragmentationen im Massenspektrum auf. Laut Literatur und dem Vergleich mit der Massenspektrendatenbank NIST kann es sich dabei unter Berücksichtigung der Retentionszeiten um folgende Verbindungen handeln: Tricyclen (5,5 min), Camphen (6,32 min), Sabinen (6,86 min) und Myrcen (7,09 min). Die Quantifizierung erfolgte mittels der Diffusionsquellen. Für die Monoterpene, von denen keine Standards vorhanden waren, wurden die Werte durch die als Standard genutzten Analyten ersetzt und als Bereich der größte und der kleinste berechnete Wert als beste Näherung angegeben. Es wird hier jeweils die Spanne der in verschiedenen Messungen erhaltenen Werte aufgeführt.

Tabelle 4.5: Quantifizierung der Emissionen der getopften Fichte (*Picea abies*)

Terpen	Konzentration in ng/L
α -Pinen	0,32-0,73
β -Pinen	0,24-0,46
3-Caren	0,1-0,18
Limonen	0,96-1,55
5,50 min	0,17-0,39
6,32 min	0,6-1,25
6,86 min	0,26-0,5
7,09 min	0,1-0,23

Das folgende Chromatogramm 4.12 zeigt den vergrößerten Retentionszeit-Ausschnitt der Sesquiterpene. Deutlich sind sechs Signale zu erkennen, weitere befinden sich unterhalb der Nachweisgrenze. Drei der Signale konnten mittels Vergleich der vorhandenen Analyt-Standards (Retentionszeiten und Massenspektren) folgendermaßen zugeordnet werden: Longicyclen (24,00 min), β -Caryophyllen (26,17 min) und α -Humulen (27,60 min). Beim Abgleich der Retentionszeiten und Massenspektren mit der Datenbank NIST gelten für die übrigen Sesquiterpene folgende Vorschläge als sehr wahrscheinlich: Longifolen (25,48 min) und α -/ β -Farnesen (32,61 min). Die Quantifizierung erweist sich im Fall der Sesquiterpene schwieriger, da die gemessenen Konzentrationen wie erwartet sehr niedrig waren. Daher sollen die Werte in der Tabelle 4.6 mehr als Richtwert denn als absolute Größe dienen.

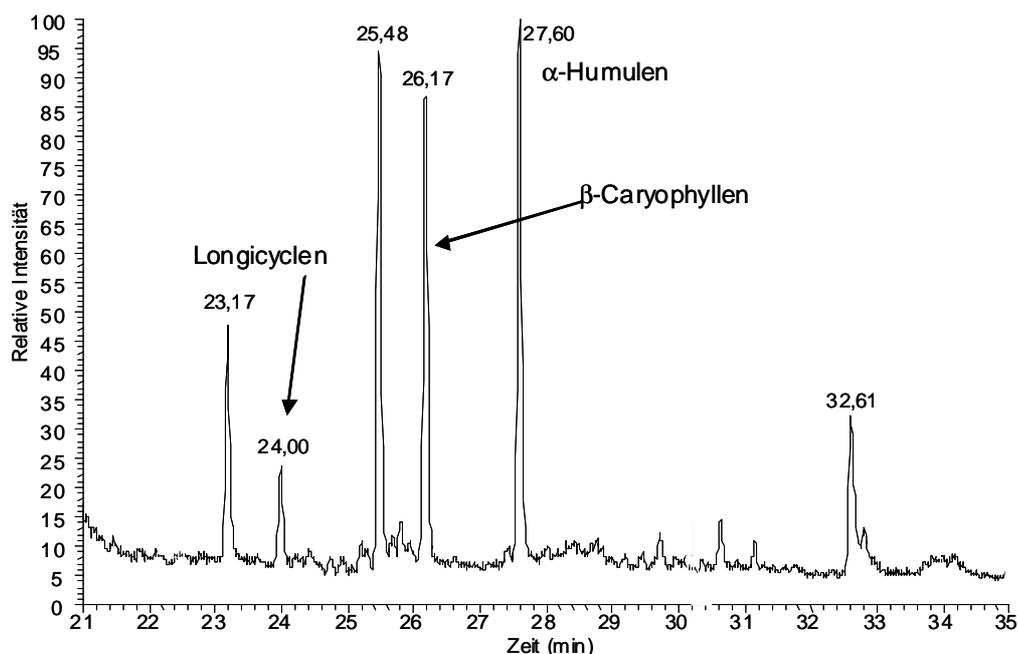


Abbildung 4.12: vergrößerter Ausschnitt des Sesquiterpen-Bereichs, Emissions-Chromatogramm der Summe der Massenspektren ($m/z = 51, 53, 65, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 119, 121, 133, 136, 147, 161, 189, 204$) der getopften Fichte

Tabelle 4.6: Quantifizierung der Emissionen der getopften Fichte

Terpen	Konzentration in ng/L
Longicyclen	0,011-0,02
β -Caryophyllen	0,035-0,069
α -Humulen	0,042-0,1
23,17 min	0,015-0,03
25,48 min	0,04-0,09
32,61 min	0,016-0,03

4.2.3.1 Zugabe von Ozon im Labor

Um die Reaktionen der Terpene, für die keine Standards vorhanden waren, mit Ozon zu analysieren, wurde zu einer Emissionsprobe der Fichte eine große Menge Ozon zugegeben. Dies erfolgte nach der Probenahme durch fünfminütiges Einleiten von Ozon (200 ppb) auf das bereits beprobte Adsorptionsröhrchen (analog der zweiten vorgestellten Methode in Abschnitt 2.2.2.). In Abbildung 4.13 ist ein Ausschnitt des Chromatogramms zu sehen. Im Retentionsbereich der Sesquiterpene sind fünf Signale zu erkennen. Wie erwartet sind einige Intensitäten im Vergleich zu der vorherigen Abbildung 4.12 (Emissionsprobenahme der Fichte ohne Ozon) geringer. Für die ersten drei Sesquiterpene, d.h. die Verbindung bei 23,20 min, Longicyclen bei 23,99 min und die Verbindung bei 25,49 min sind so gut wie keine Änderung nach Zugabe von Ozon auszumachen. Dies weist auf Strukturen mit keiner oder einer Doppelbindung und der damit verbundenen, geringeren Reaktivität in Bezug auf Ozon hin. Anders sieht es im Fall der hochreaktiven Spezies wie β -Caryophyllen und α -Humulen sowie der Verbindung mit der Retentionszeit von 32,61 min aus. Diese wurden oxidiert und waren daher nur noch in sehr geringem Maße bzw. gar nicht mehr zu detektieren. So konnten die Annahmen über den strukturellen Aufbau und die Reaktivität der unbekanntes Sesquiterpene weiter gefestigt werden.

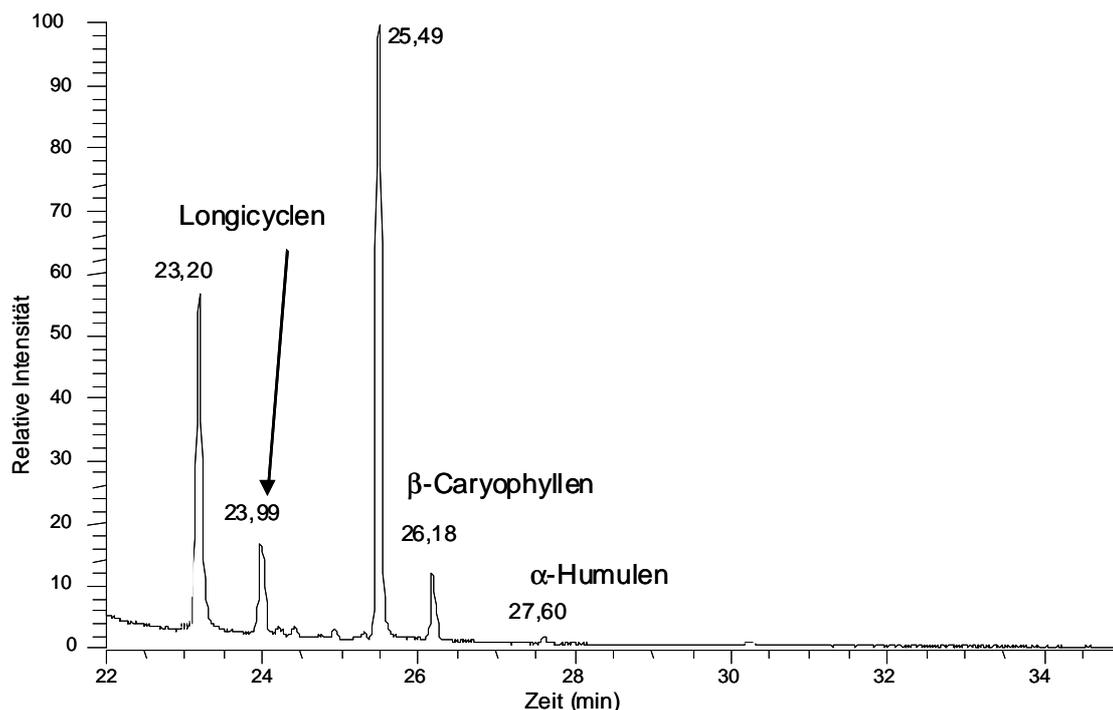


Abbildung 4.13: vergrößerter Ausschnitt des Sesquiterpen-Bereichs der getopften Fichte mit anschließender Zugabe von Ozon (5 min, 800 ppb), Emissions-Chromatogramm der Summe der Massen-spuren ($m/z = 51, 53, 65, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 119, 121, 133, 136, 147, 161, 189, 204$)

Um die zuvor gezeigte Ozonolyse der Terpene weitgehend zu verhindern wurde auch hier ein Ozon-Scrubber auf der Basis von Propen eingesetzt. Die Entwicklung dieser Technik wurde im vorigen Kapitel ausführlich beschrieben und bereits im Labor eingehend geprüft (siehe Kap 2.2.2.) Mit den Fichten-Emissionen zeigten sich die gleichen Ergebnisse wie unter reinen Laborbedingungen. So konnten auch hier die auf dem Adsorptionsröhrchen befindlichen, hochreaktiven Sesquiterpene mit über 80 % Wiederfindungsrate detektiert werden.

4.2.3.2 Feldmessungen mit Propen

In dem anschließenden Chromatogramm (Abbildung 4.14) wird die Anwendung der neuen Scrubber-Methode in Freiland-Messungen gezeigt. Dabei wird deutlich, dass es mittels einer effektiven Ozonreduzierung möglich ist, geringe Mengen der hochreaktiven Sesquiterpene ohne aufwendige „enclosure“-Techniken auch in der Außenluft nachzuweisen. Natürlich können die hochreaktiven Sesquiterpene wie β-Caryophyllen und α-Humulen nicht vor der Reaktion in der Luft bewahrt werden. Sind diese allerdings erst einmal adsorbiert, schützt sie das Propen weitgehend vor der Ozonolyse, wie im vorigen Abschnitt 4.2.2.2. ausführlich gezeigt wurde.

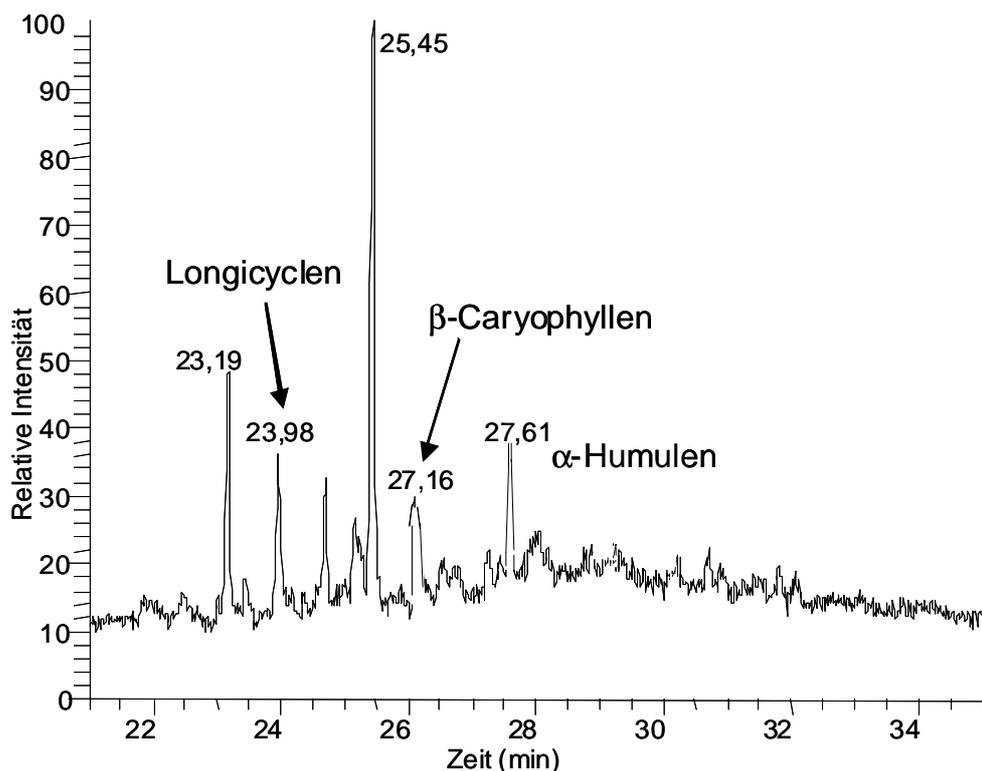


Abbildung 4.14: vergrößerter Ausschnitt des Sesquiterpen-Bereichs einer Fichte am kleinen Feldberg, Feldmessung unter Zugabe von Propen, Emissions-Chromatogramm der Summe der Massenpeaks ($m/z = 51, 53, 65, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 119, 121, 133, 136, 147, 161, 189, 204$)

Die analysierten Mengen waren jedoch in diesem Fall so gering, dass nicht alle Sesquiterpene quantifiziert werden können. Die Konzentrationen der Terpene bei 6,32 min und bei 25,45 min wurden nicht exakt bestimmt, da kein geeigneter Standard zur Verfügung stand. Ihre Konzentrationen wurden anhand der Diffusionsraten der Terpenstandards abgeschätzt. Die hier angegebenen Werte sollen daher als Orientierung und nicht als absolute Zahlen dienen, da sie teilweise außerhalb des kalibrierten Bereiches liegen. Die Ozonwerte zum Probenahmezeitpunkt lagen im Bereich von $79 \mu\text{g}/\text{m}^3$ bis $142 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Die analysierten, geringen Konzentrationen können auch in der Art der Probenahme begründet liegen. Alle durchgeführten Analysen beinhalteten ungefähr das gleiche Probenahmenvolumen. Jedoch wurden die Proben bei den Experimenten mit der getopften Fichte über mehrere Stunden genommen, im Bereich der Feldmessungen wurde mit höheren Flussraten in kürzerer Zeit gearbeitet. Daraus resultiert, dass es von Vorteil ist, die Flussraten gering zu halten und die Probenahmezeit auszudehnen, da die Pflanze nur sehr geringe Analytmengen pro Zeit emittiert und durch die erhöhte Probendauer höhere Konzentrationen zu erwarten sind.

Tabelle 4.7: Konzentrationen der quantifizierten Terpene der Messungen am Feldberg (24h-Kampagne)

Terpen	Konzentration in ng/L
α -Pinen	0,02-0,57
β -Pinen	0,04-1,23
Limonen	0,045-2,87
6,32 min	0,6-1,8
Longicyclen	0,007-0,016
β -Caryophyllen	0,004-0,009
α -Humulen	0,005-0,01
23,19 min	0,007-0,02
25,45 min	0,01-0,06

Die folgende Abbildung zeigt noch einmal eine Gegenüberstellung der Analysen paralleler Probenahmen einer Feldmessung mit und ohne Propen als Ozon-Scrubber. Die Limonen-Emissionswerte mit Ozon-Scrubber (blau) sind im Vergleich zu den Werten ohne Ozon-Scrubber (rot) um den Faktor 10 höher. Dies erklärt sich aus den Abbaureaktionen des sensitiv auf Ozonolyse reagierenden Monoterpens Limonen und der erfolgreiche Wirkung des Ozon-Scrubbers. Die steigenden Konzentrationen an Limonen während der Probenahme (11:30Uhr bis 16:20Uhr) können durch die steigenden Temperaturen an diesem Tag begründet werden. Der Zusammenhang wird im folgenden Kapitel noch eingehend erläutert.

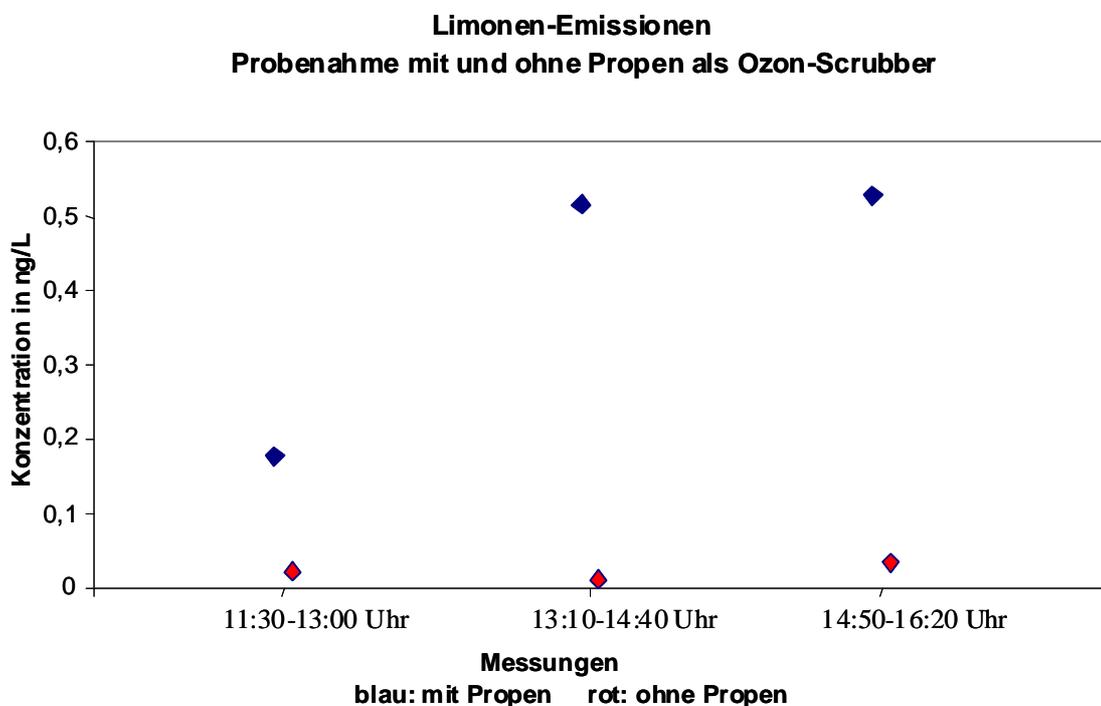


Abbildung 4.15: Probenahme mit und ohne Propen als Ozon-Scrubber am Beispiel der Limonenkonzentration

Die Entwicklung einer neuen Ozon-Scrubber-Methode mit guten Wiederfindungsraten selbst bei hochreaktiven Sesquiterpenen konnte sowohl im Labor an Terpenstandards als auch in Feldmessungen am Beispiel der Fichte (*Picea abies*) gezeigt werden. Der Einsatz von Propen als Ozon-Scrubber erlaubt so die Bestimmung von hochreaktiven BVOC im ppb-Bereich in Realproben selbst bei Ozonwerten über $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$.

4.3 Anwendung der neu entwickelten Thermodesorptionseinheit für Emissionsanalysen

Auswertung und Diskussion der Feldmessungen

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse biogener Emissionsprobenahmen in Feldmessungen als Anwendungsbeispiele für die entwickelte Thermodesorptionseinheit und den Ozon-Scrubber präsentiert. Es finden sich Auswertungen zur Reproduzierbarkeit der Probenahme in Feldmessungen, Beispiele für einen qualitativen Methodenvergleich zwischen Emissionsmessungen mit anschließender TD-GCMS-Analyse und Extraktionen mit GCMS-Messung und Studien zur Temperaturabhängigkeit der Emissionen. Weiterhin wird die Zuordnung von Pflanzenspezies innerhalb einer Gattung anhand der Emissionsmuster und die Unterscheidung der Bestäubertypen mittels Emissionsanalyse diskutiert. Die Anwendung für halogenhaltige Analyten bei gleichzeitiger Anwesenheit von Terpenen schließt das Kapitel. Bei allen Beispielen handelt es sich um biogene Realproben, d.h. Bestimmungen der biogenen Terpenemissionen unter natürlichen Bedingungen (teilweise Gewächshaus). Dabei kamen der neu entwickelte Ozon-Scrubber auf Propen Basis und eine spezielle Probenahmemethode für die Emissionsbestimmung von Einzelblüten zum Einsatz (siehe Experimenteller Teil 3.3.1 und 3.4.2)

4.3.1 Reproduzierbarkeit der Feldmessungen

Um die Reproduzierbarkeit der Methode nicht nur mittels der zur Kalibrierung verwendeten Diffusionsquellen sicherzustellen, war es notwendig eine ausreichend große Anzahl von Emissionsanalysen auch im Freiland durchzuführen. Daher wurden beispielhaft neun Einzelmessungen der gleichen Pflanze (*Aristolochia Salvadorensis*) an unterschiedlichen Tagen und unterschiedlichen Blüten innerhalb von zwei Monate realisiert. In Abbildung 4.16 ist der Ausschnitt des erhaltenen Chromatogramms im Bereich der Sesquiterpene gezeigt. Um die Vergleichbarkeit zu verdeutlichen, wurden

drei Chromatogramme (rot, grün, schwarz) übereinander gelegt. Zu sehen sind zwei sehr intensive Signale und mehrere kleine im Bereich von fünf Prozent bis maximal 25 Prozent der beiden Hauptsignale. Den Massenspektren nach handelt es sich eindeutig um Sesquiterpene. Die kleineren Signale sind mit sehr großer Wahrscheinlichkeit ebenfalls Sesquiterpene.

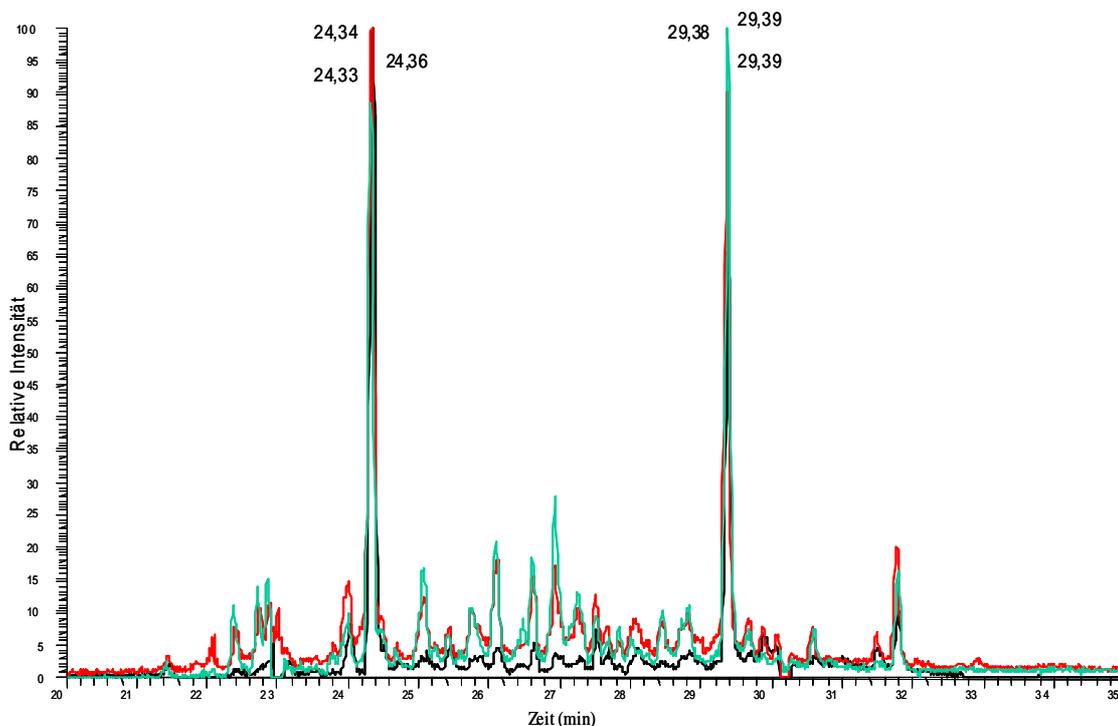


Abbildung 4.16: Drei Chromatogramme (rot, grün, schwarz) von *Aristolochia Salvadorensis* aus Feldmessungen im Bereich von 20 min bis 35 min. Summe der m/z Verhältnisse gegen die relative Intensität

Allerdings gehört keines der beiden großen Signale zu einem der ausgewählten Standards. Der Retentionszeit nach könnte es sich bei dem Signal bei 24,33 min um ein Sesquiterpen ohne oder nur mit einer Doppelbindung handeln. Auch das EI-Massenspektrum mit einem sehr hohen Anteil an dem m/z -Verhältnis 204 deutet auf sehr wenige Doppelbindungen hin (Abbildung 4.17 a). Ebenso weist das Signal mit einer Retentionszeit von 29,38 min und das EI-Massenspektrum stark auf ein Sesquiterpen hin (Abbildung 4.17 b). Die Retentionszeit und die m/z -Verhältnisse tragen die Kennzeichen einer mehrfach ungesättigten Verbindung. Vermutlich handelt es sich um ein Sesquiterpen mit drei bis vier Doppelbindungen. Da solche Verbindungen jedoch sehr empfindlich auf Ozon reagieren und in diesem Fall ohne Ozon-Scrubber bei der Probenahme gearbeitet wurde, lässt dies zwei Schlüsse zu: erstens, es war wenig Ozon am Probenahmeort (Gewächshaus) vorhanden oder zweitens, die Emissionen dieser hochreaktiven Verbindungen, besonders der Verbindung bei 29,28 min, waren sehr hoch.

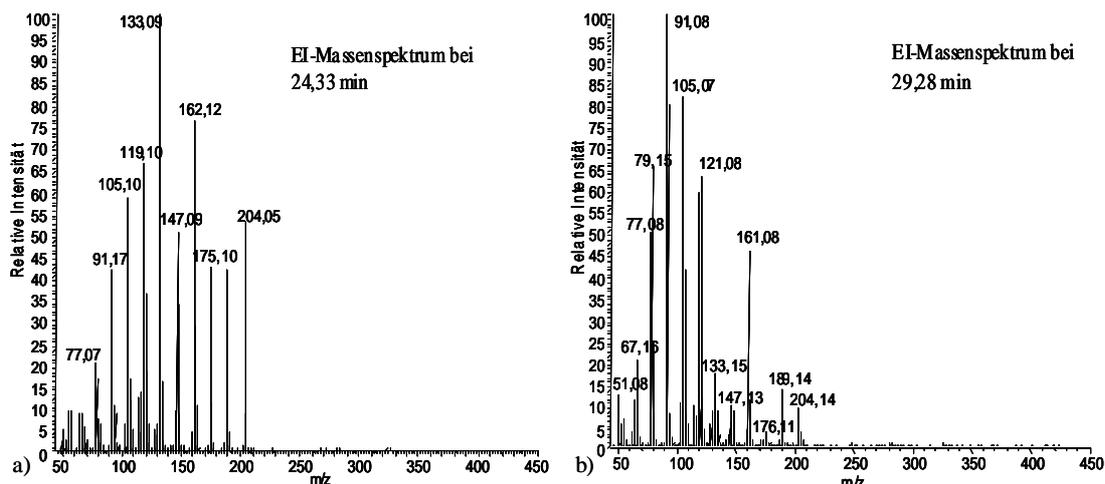


Abbildung 4.17: EI-MS-Spektren der Signale bei a) 24,33 min bzw. b) 29,28 min

Legt man die Chromatogramme übereinander (Abbildung 4.16), so erkennt man deutlich, dass die Signale immer die gleichen Charakteristik aufweisen. Der Mittelwert der Retentionszeiten aus neun Chromatogrammen liegt bei 24,333 min mit einer Standardabweichung von 0,0192 min bzw. bei 29,388 min mit einer Standardabweichung von 0,023 min. Die Retentionszeiten für diese beiden Sesquiterpene aus allen Analysen sind in der folgenden Tabelle 4.8 aufgeführt.

Tabelle 4.8: Retentionszeiten der beiden Sesquiterpene (in Minuten) der *Aristolochia Salvadorensis*

Analyse

1	2	3	4	5	6	7	8	9	MW	Stabw
24,29	24,33	24,3	24,36	24,35	24,34	24,33	24,33	24,33	24,33	0,0192
29,34	29,39	29,4	29,39	29,39	29,38	29,4	29,43	29,38	29,39	0,0233

Dieses Beispiel zeigt die sehr gute Reproduzierbarkeit der Analysen selbst bei Freilandexperimenten. Leichte Schwankungen in der Intensität können durch die unterschiedlichen Fertilitätslevel der Pflanzen und verschiedene Blütenstadien erklärt werden. Da es sich hierbei um eine Blütedauer von mehreren Tagen handelt und sich die unterschiedlich alten Blüten optisch nicht unterscheiden, wurden willkürlich zu beprobende Exemplare ausgewählt.

4.3.2 Temperaturabhängigkeit der Freilandemissionen

Wie aus der Literatur (Kesselmeier et al, 1999; Schuh et al., 1997; Holzke et al., 2006; Lappalainen et al., 2009; uvm.) bekannt, existiert für die Emission von Terpenen eine Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur. Acht Doppelbestimmungen, die innerhalb von 24 Stunden in der unmittelbaren Nähe einer Fichte (*Picea abies*) genommen wurden, verdeutlichen den Zusammenhang. Während dieses Tag-Nacht-Zyklus wurden Temperaturen zwischen 10 °C und 25 °C gemessen. Die analysierten Konzentrationen stiegen und fielen in Abhängigkeit zur Temperatur. Zur besseren Übersicht wurde der Bereich Nacht blau unterlegt. Zur Mittagszeit, d.h. auch zum Zeitpunkt der höchsten gemessenen Temperaturen wurden die höchsten Emissionen analysiert. Analog zu den tieferen Temperaturen in den frühen Morgenstunden vor Sonnenaufgang konnten neben der niedrigsten Temperatur die geringsten Emissionen bei den untersuchten Pflanzen nachgewiesen werden. Dies galt für alle quantifizierten Mono- und Sesquiterpene. Beispielhaft wird hier die Temperaturabhängigkeit der Limonen-Emission gezeigt (Abbildung 4.18).

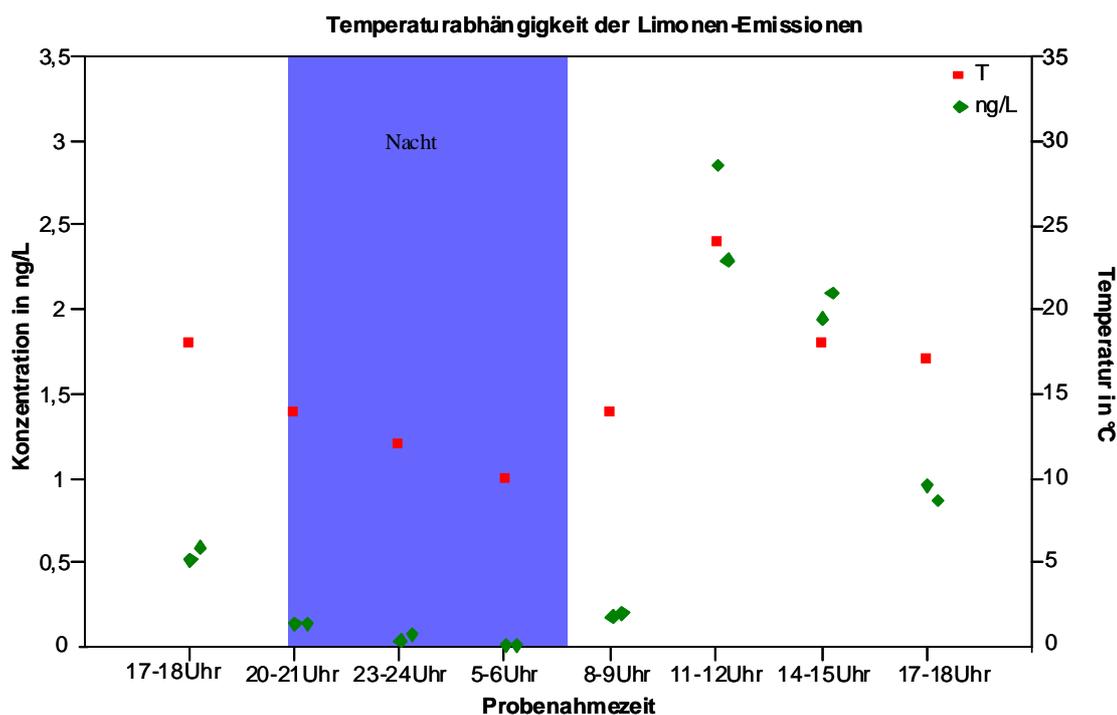


Abbildung 4.18: Konzentration der Limonen-Emissionen und Temperatur gegen Probenahmezeit

Wie schon in der Einleitung (2.10 Temperaturabhängigkeit der biogenen Terpenemissionen) beschrieben, wurden bereits mehrere Studien zu diesem Thema veröffentlicht. Auch die vorliegenden Analysen legen eine hohe Korrelation nahe. So wurde ein exponentieller Zusammenhang zwischen der Terpenkonzentration und der Temperatur gefunden. Die Darstellung (Abbildung 4.19) erfolgt analog Schuh et al., 1997 durch Auftragung des natürlichen Logarithmus der Terpenkonzentration gegen den reziproken Temperaturwert in °C. Dies liefert eine sehr gute Linearität, wie in der

folgenden Abbildung am Beispiel des Limonens deutlich sichtbar wird. In Tabelle 4.9 finden sich die Daten der quantifizierten Terpene der Feldmessung.

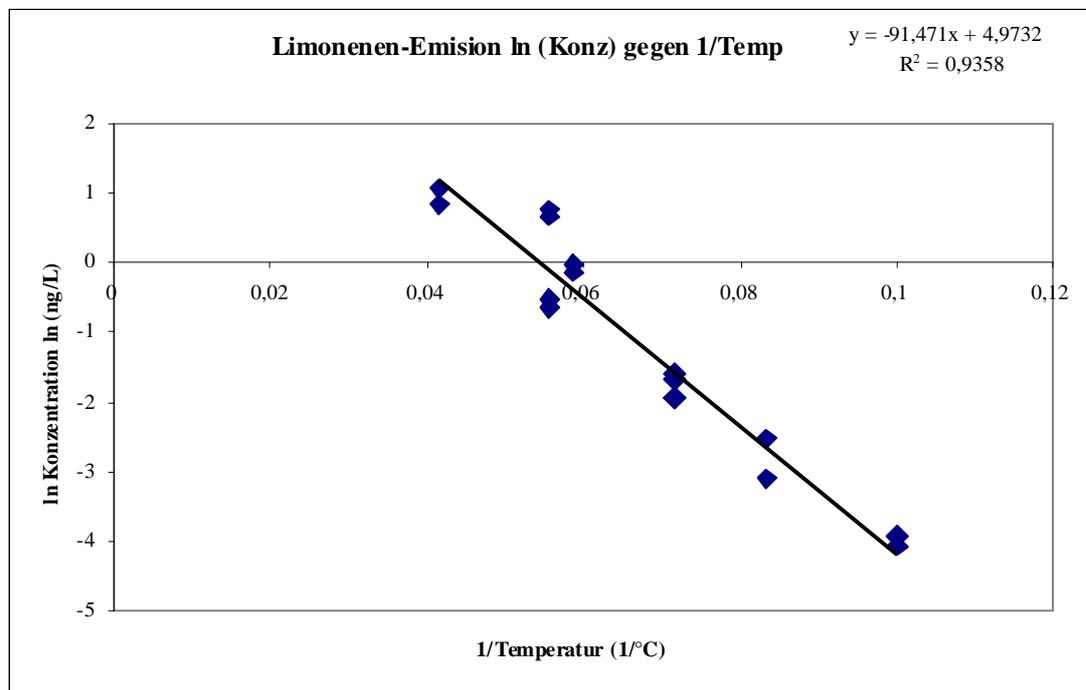


Abbildung 4.19: Linearer Zusammenhang zwischen Temperatur und Limonen-Konzentration

Tabelle 4.9: Gleichungen für die quantifizierten Terpene

Limonen	$Y = 91,471X + 4,9732$
α -Pinen	$Y = -64,601X + 0,1697$
β -Pinen	$Y = -103,11X + 4,8708$
Longicyclen	$Y = -13,066X - 1,9619$

Die Ozonwerte am kleinen Feldberg lagen zum Probenahmezeitpunkt im Bereich von $79 \mu\text{g}/\text{m}^3$ bis $142 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Die Werte des Hessischen Landesamtes für Umwelt und Geologie (HLUG), die in unmittelbarer Nähe aufgenommen wurden, korrelieren scheinbar nicht mit den VOC-Analysen. Dies wird in Abbildung 4.20 verdeutlicht. Daran ist zu erkennen, dass für den Tagesverlauf der Limonenkonzentrationen der Ozongehalt nur eine untergeordnete Rolle spielt. Dies kann auch auf die erfolgreiche Wirkung des Ozonscrubbers zurückgeführt werden.

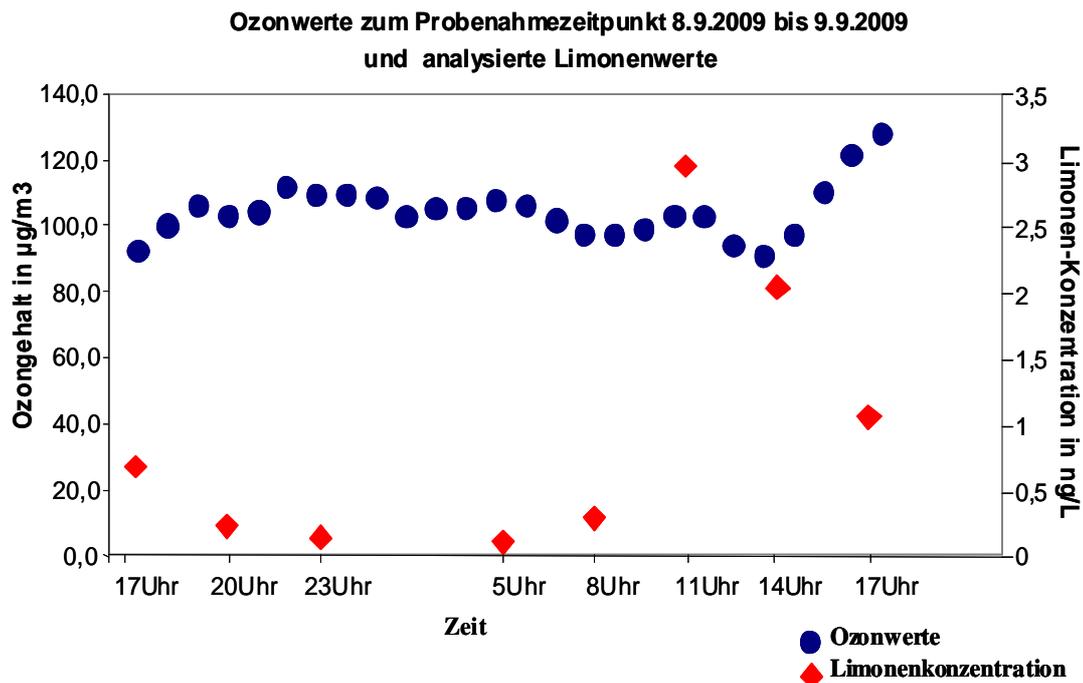


Abbildung 4.20: Vergleich der Ozonwerte gegenüber der Limonenkonzentration

4.3.3 Qualitativer Methodenvergleich zwischen Emissionsmessungen und Extraktionen

Um die Emissionsmessungen qualitativ und quantitativ mit Extraktionen vergleichen zu können, wurden Einzelmessungen und externe Kalibrierungen mit Standards in Cyclohexan im Bereich von 0,5ng bis 20ng mittels GC/MS (Autosampler-Injektion) durchgeführt. In der folgenden Abbildung 4.21 sind die Chromatogramme mit dem TIC (Total Ion Current, Totalionenstrom) und ausgewählte m/z-Verhältnisse (91, 93, 105, 136, 147, 161, 189, 204) gegen die Retentionszeit zu sehen. Unterschiede in den Retentionszeiten im Vergleich zur TD-GC/MS-Analyse sind auf die unterschiedlichen Injektionsarten und Trennsäulen zurückzuführen.

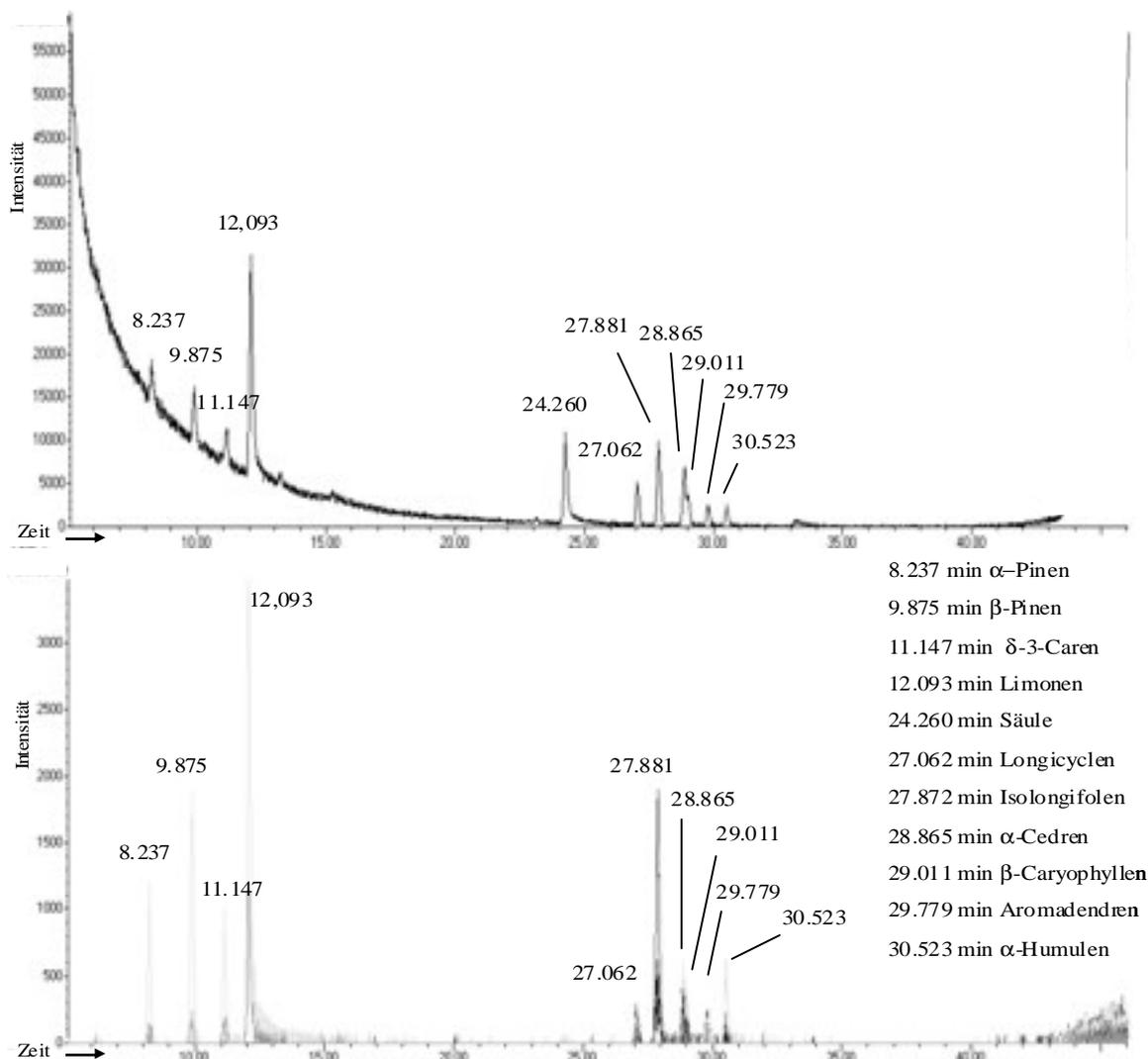


Abbildung 4.21: Chromatogramme des TIC und ausgewählte m/z-Verhältnisse (204, 189, 161, 147, 93, 136) verschiedener Terpene in Cyclohexan

Die nächsten Abbildungen 4.22 a) und b) zeigen die externe Kalibrierung von α -Pinen und β -Caryophyllen in Cyclohexan. Die Abweichungen der Messpunkte von der Kalibrierungsgeraden sind nur sehr gering. Die Kalibrierungsfunktionen der anderen Mono- und Sesquiterpene befinden sich ebenfalls im Anhang.

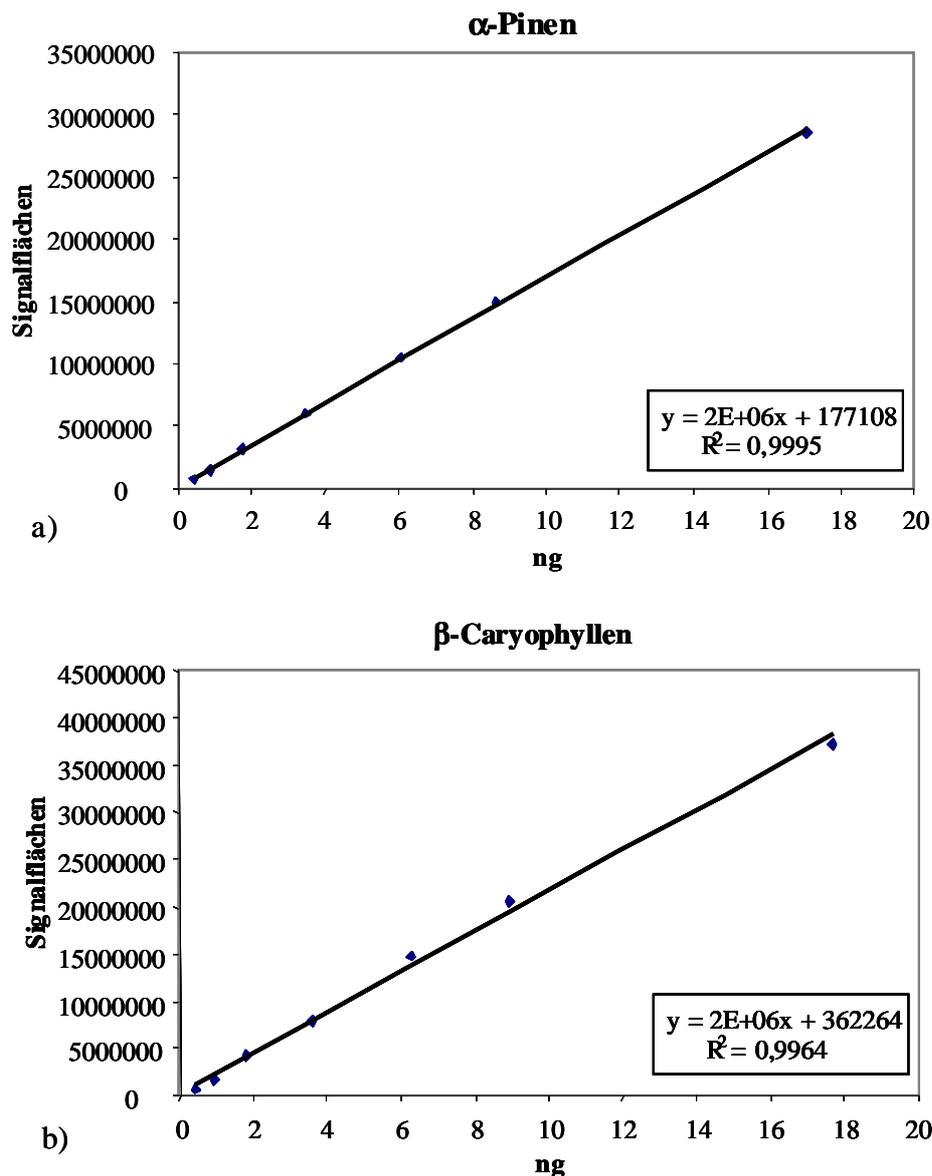


Abbildung 4.22: Kalibrierung a) des Monoterpens α -Pinen und b) des Sesquiterpens β -Caryophyllen in Cyclohexan mittels GC/MS

Mit Extraktionsexperimenten wurden die gewonnenen Ergebnisse der Emissionsanalysen bestätigt. Tabelle 4.10 zeigt die analysierten Spezies, die Analysetechnik und die Messergebnisse. Dabei wurden bei den Emissionsmessungen nur die Blüten berücksichtigt (Ausnahme *Salvia officinales*), da Emissionsmessungen unbeschädigter Blätter keine relevanten Ergebnisse zeigten. Zum Vergleich wurden jeweils Blüten und Blätter der gleichen Pflanze getrennt extrahiert und analysiert.

Tabelle 4.10: Methodenvergleich Emissionsanalysen und Extraktionen

Spezies	Analyse-Technik	Anzahl der Monoterpene	Anzahl der Sesquiterpene	Anzahl der Messungen
Fichte (<i>Picea abies</i>) (getopft)	Emission	8	6	4
Fichtennadeln (<i>Picea abies</i>)	Extraktion	7	9	2
<i>Aristolochia salvadorensis</i> Blüte	Emission	3	2 (+)	9
<i>Aristolochia salvadorensis</i> Blüte	Extraktion	4	2	2
<i>Salvia splendens</i> Blüte	Emission	/	/	2
<i>Salvia splendens</i> Blüte	Extraktion	1	3	2
<i>Salvia splendens</i> Blätter	Extraktion	4	10	2
<i>Salvia fulgens</i> Blüte	Emission	2	1	2
<i>Salvia fulgens</i> Blüte	Extraktion	6	3	2
<i>Salvia fulgens</i> Blätter	Extraktion	4	14	2
<i>Salvia oxiphora</i> Blüte	Emission	6	1	2
<i>Salvia oxiphora</i> Blüte	Extraktion	9	6	2
<i>Salvia oxiphora</i> Blätter	Extraktion	/	6	2
<i>Salvia uliginosa</i> Blüte	Emission	5	4	2
<i>Salvia uliginosa</i> Blüte	Extraktion	4	1	2
<i>Salvia uliginosa</i> Blätter	Extraktion	4	5	2
<i>Salvia officinales</i> Blätter, gequetscht	Emission	12	15	2
<i>Salvia officinales</i> Blätter	Extraktion	13	15	2

(+) mehr unterhalb der Nachweisgrenze detektiert

Wie in der Einleitung angesprochen (Abschnitt 1.9), müssen die durch Extraktion gewonnenen Terpene und die in Emissionen detektierten bei einer Pflanze nicht völlig übereinstimmen. Bei der Emissionsprobenahme besteht die Möglichkeit der negativen als auch der positiven Artefaktbildung. Oxidationen oder die Verdampfung einiger Substanzen bei der Extraktion sind mögliche Quellen für das Fehlen reaktiver oder leicht flüchtiger Substanzen. Die Ergebnisse sind gut vergleichbar, denn tendenziell wurden in den Extraktionsanalysen mehr Terpene detektiert, was darauf schließen lässt, dass Pflanzen ihre Inhaltsstoffe aktiv einsetzen. Die Anzahl und auch die Konzentration der detektierten Terpene war in den Extraktionen bei *Salvia officinales* Blättern, die auch als Heilpflanze bekannt ist, am höchsten. Im Anhang findet sich hierzu eine ausführliche Tabelle, die alle Extraktionsexperimente gegenüberstellt. Nachfolgend werden von zwei Beispielen zunächst das Emissions-Chromatogramm und danach das durch Analyse der Extraktion erhaltene Chromatogramm gezeigt.

4.3.3.1 Beispiel „Aristolochia Salvadorensis“

Verglichen wird im ersten Beispiel die bereits diskutierte Emissionsanalyse der Blüte der „Aristolochia Salvadorensis“ mittels TD-GC/MS mit der GC/MS-Messung der extrahierten Blüte. Die obere Abbildung 4.23 a) stellt das Chromatogramm der Emissionsanalyse dar. Das Chromatogramm darunter (Abbildung 4.23 b)) zeigt das Ergebnis der Extraktanalyse. In gleicher Reihenfolge ist der vergrößerte Sesquiterpenbereich abgebildet (Abbildung 4.24). Unterschiede in den Retentionszeiten sind auf die unterschiedlichen Analysetechniken, Injektionsarten und Trennsäulen zurückzuführen.

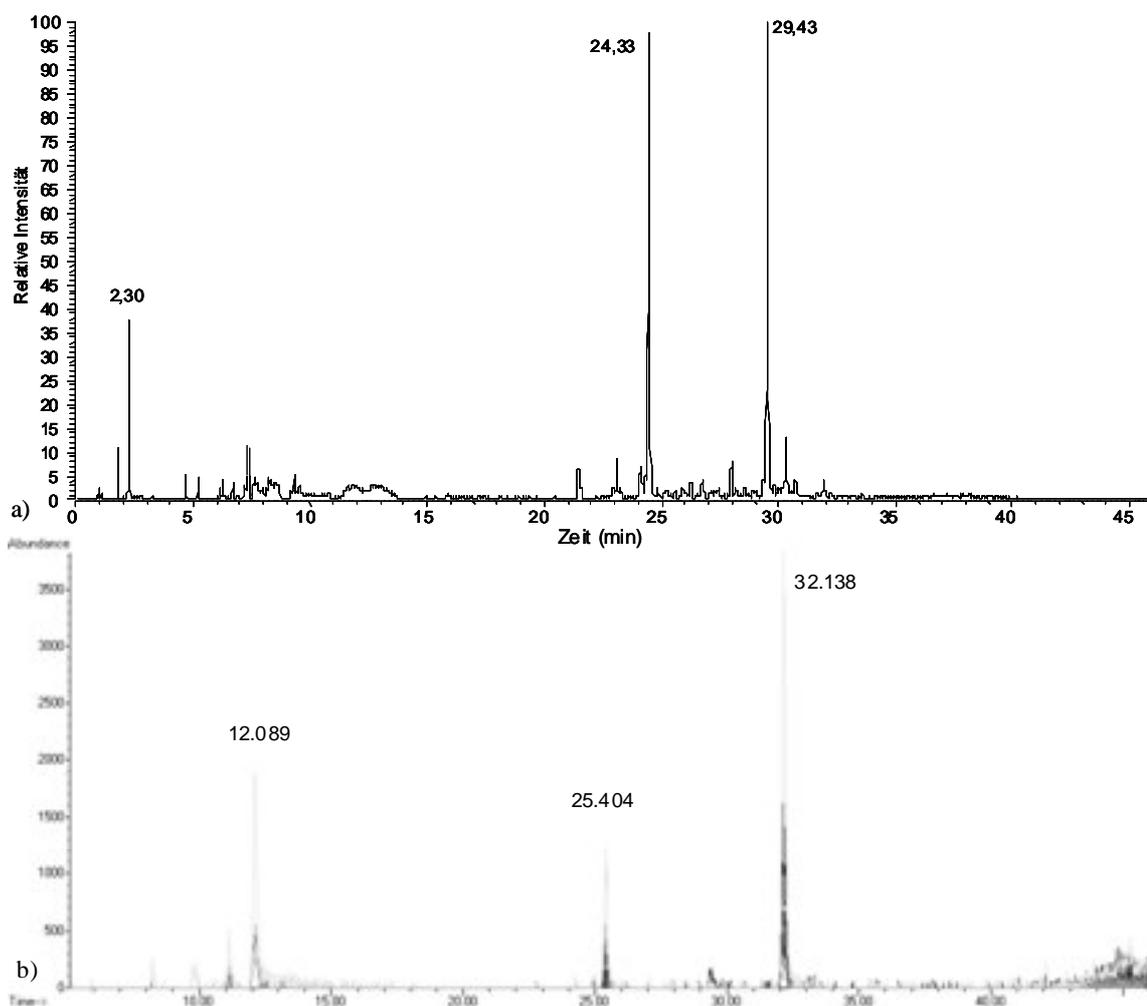


Abbildung 4.23: a) oberes Chromatogramm (Summe ausgewählter m/z-Verhältnisse): Emissionsanalyse der Blüte der „Aristolochia Salvadorensis“ mittels TD-GC/MS ; b) unteres Chromatogramm (ausgewählte m/z-Verhältnisse): Extraktion der Blüte der „Aristolochia Salvadorensis“ in Cyclohexan und anschließender GC/MS-Messung

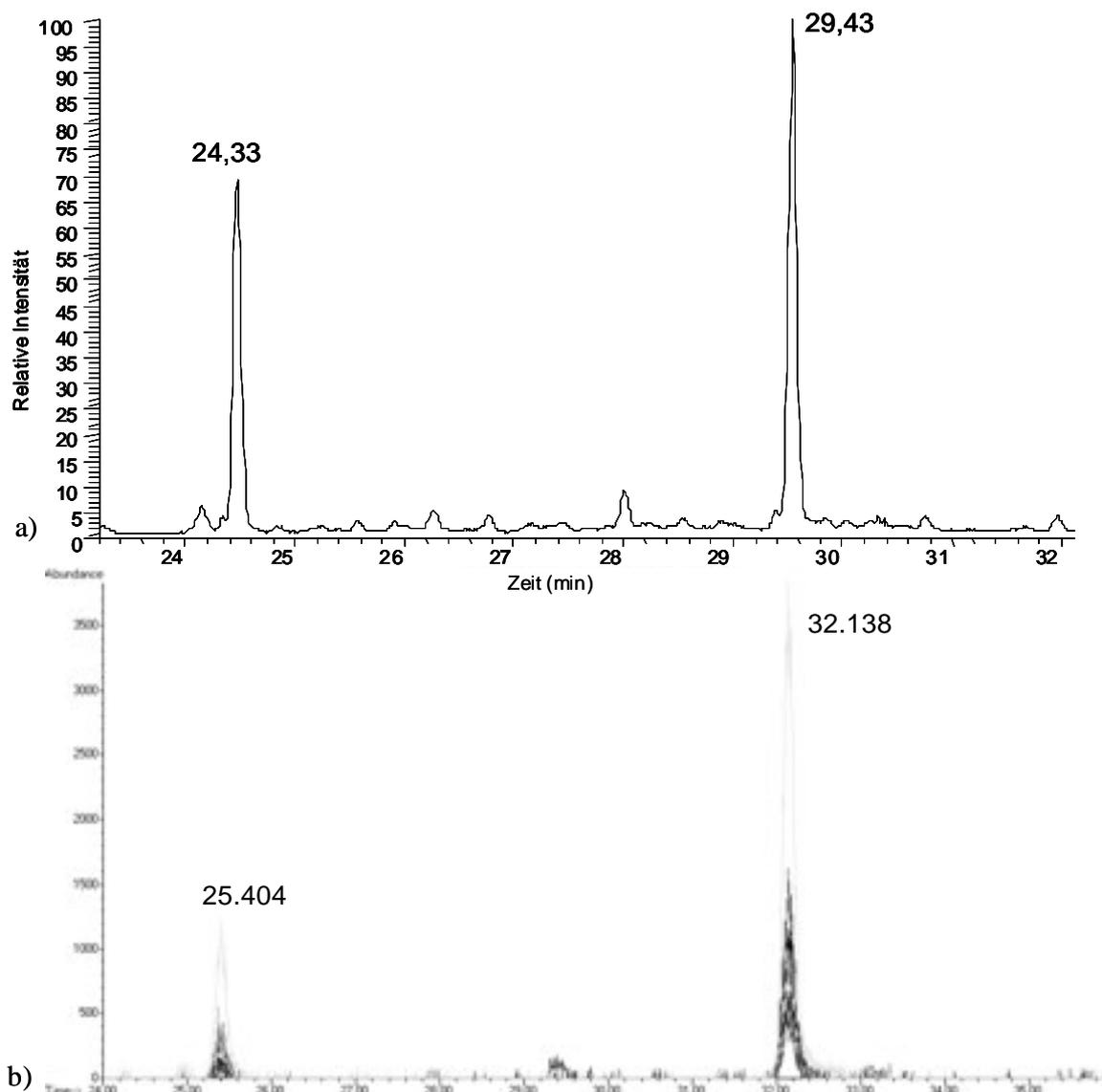


Abbildung 4.24: vergrößerter Ausschnitt des Sesquiterpen-Bereichs a) oberes Chromatogramm (Summe ausgewählter m/z-Verhältnisse): Emissionsanalyse der Blüte der „Aristolochia Salvadorensis“ mittels TD-GC/MS ; b) unteres Chromatogramm (ausgewählte m/z-Verhältnisse): Extraktion der Blüte der „Aristolochia Salvadorensis“ und in Cyclohexan anschließender GC/MS-Messung

Zu erkennen sind die guten Übereinstimmungen der Chromatogramme. Es finden sich mit beiden Analysemethoden jeweils Monoterpensignale und zwei charakteristische, hohe Sesquiterpensignale. Mit großer Wahrscheinlichkeit sind Spuren von α -Pinen, β -Pinen und Limonen aufgrund der Übereinstimmungen der Retentionszeit und Massenspektren sowohl im Chromatogramm der Emissionsprobenahme als auch in dem der Extraktion mit Cyclohexan vorhanden. Die beiden charakteristischen Signale im Retentionsbereich der Sesquiterpene können jedoch entsprechend ihrer Retentionszeit und ihren Massenspektren keinem der zur Kalibrierung verwendeten Sesquiterpenstandards zugeordnet werden. Aufgrund der ausgewerteten Massenspektren ist es wahrscheinlich, dass es sich bei beiden Verbindungen um

Sesquiterpene handelt. Entsprechend der Retentionszeiten könnte es sich bei dem ersten Signal bei 24,33 min bzw. 25,404 min um ein eher gesättigtes Sesquiterpen mit einigen Ringen und nur wenigen Doppelbindungen handeln. Bei dem zweiten Signal bei 29,43 min bzw. 32,138 min ist mit hoher Wahrscheinlichkeit von einem mehrfach ungesättigten Sesquiterpen mit mindestens 3 Doppelbindungen auszugehen. Im Chromatogramm der Emissionsmessung sind im Retentionsbereich der Sesquiterpene noch weitere kleine Signale zu sehen, die bei der Extraktionsanalyse fehlen. Dies liegt in der stärkeren Aufkonzentrierung durch das Adsorptionsverfahren begründet. Im folgenden Vergleich der Massenspektren (Abbildung 4.25) des Signals bei einer Retentionszeit von 29,43 min (TD-GCMS) bzw. 32,138 min (GCMS) erkennt man wieder die deutliche Übereinstimmung der unterschiedlich gewonnenen Massenspektren. Charakteristisch sind auch die für Sesquiterpene typischen Bruchstücke wie m/z 91, 105, 121, 161 und die Molekülmasse 204.

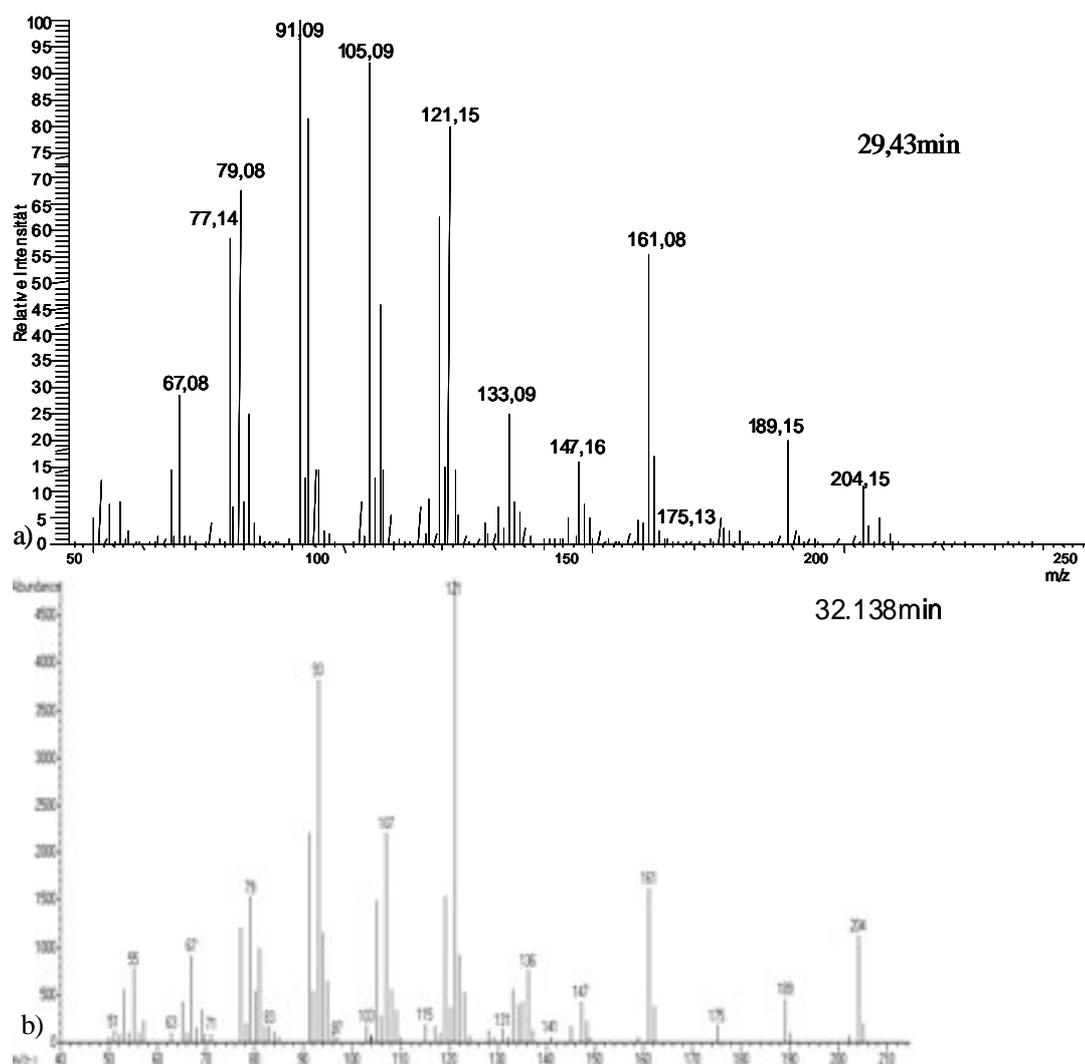


Abbildung 4.25: Massenspektren der unbekannt Signale bei 29,43 min und 32,138 min, a) Oberes Massenspektrum bei 29,54 min: Emissionsanalyse der Blüte der „*Aristolochia Salvadorensis*“ mittels TD-GC/MS, b) Unteres Massenspektrum bei 32,138 min: Extraktion der Blüte der „*Aristolochia Salvadorensis*“ in Cyclohexan und anschließender GC/MS-Messung

Die Ergebnisse des Methodenvergleichs weisen eine gute Übereinstimmung auf. Wie die Tabelle 4.11 zeigt, liegen die Konzentrationen der Monoterpene im Bereich zwischen 0,1 ng/L und 1 ng/L. Für die unbekanntes Sesquiterpene wird anhand der Sesquiterpenstandards eine Konzentration von etwa 0,7 bis 1,2 ng/L (Signal bei 25,404 min) und 2,7 ng/L bis 3,3 ng/L (Signal bei 32,138 min) pro Extraktion angenommen. Die ebenso abgeschätzten Konzentrationen der Emissionsmessungen für die nicht identifizierten Sesquiterpene betragen zwischen 0,4 bis 11 ng/L (je nach Messung).

Tabelle 4.11: Methodenvergleich der Extraktion und der Emissionsanalysen am Beispiel der *Aristolochia Salvadorensis*

Name	Retentionszeit (min)	Retentionszeit (min)	Bestimmung Terpen	Gehalt der analys. Extraktions- probe	Konzentration der Emissionsanalysen
	Extraktion	Emission			
Aristolochia	8,232	6,07	α -Pinen	< 0,1 ng/L	0,01 bis 0,3 ng/L
salvadorensis	9,786	7,51	β -Pinen	< 0,1 ng/L	0,006 bis 0,1 ng/L
Blüte	11,133		3-Caren	< 0,05 ng/L	
	12,089	9,5	Limonen	1,07 ng/L	0,01 bis 0,37 ng/L
	25,4	24,33	unbekanntes Sesquiterpen	0,7 bis 1,5 ng/L	0,4 bis 4,5 ng/L
	32,138	29,43	unbekanntes Sesquiterpen	2,7 bis 3,6 ng/L	0,9 bis 11 ng/L

In der Literatur finden sich zu den Inhaltsstoffen der *Aristolochia Salvadorensis* nur sehr wenige Angaben. Die genauen Inhaltstoffe der Blüten konnten daher nicht direkt verglichen werden. Allerdings finden sich in einem Übersichtsartikel von T.-S. Wu et al., 2004 einige terpenoide Inhaltstoffe anderer *Aristolochia*-Arten. Im Vergleich damit erscheinen die Ergebnisse sehr plausibel. Demnach ist die Gattung *Aristolochia* reich an Sesquiterpenen. Genaue Konzentrationsangaben finden sich allerdings nicht. In der Tabelle 4.12 sind einige Monoterpene mit ihrem Vorkommen aufgeführt. Da keine genauen qualitativen Angaben zu den beiden Sesquiterpensignalen möglich sind, werden hier nur mögliche Sesquiterpengruppen und deren Vorkommen in der gleichen Gattung aufgelistet (Tabelle 4.13). Wie an der Fülle der Verbindungen und Pflanzen zu erkennen ist, sind diese Sekundärmetaboliten in der Gattung der *Aristolochia* häufig zu finden. Welchen Zweck sie im einzelnen dienen ist weitgehend unbekannt. Als Inhaltsstoffe der Blüte wird die Attraktion von Bestäubern vermutet.

Tabelle 4.12: Monoterpene, die in verschiedenen Aristolochia Spezies nachgewiesen werden konnten
 (A. = Aristolochia) (T.-S. Wu et al., 2004)

Terpene	Vorkommen in
α -Pinen	A. argentina, A. debilis, A. elegans, A. gilbertii,
β -Pinen	A. argentina, A. brevipes, A. debilis, A. elegans, A. gilbertii,
Limonen	A. argentina, A. asclepiadifolia, A. debilis, A. elegans, A. gibertii, A. gigantea, A. ringens

 Tabelle 4.13: Sesquiterpene, die in verschiedenen Aristolochia Spezies nachgewiesen werden konnten
 (A. = Aristolochia) (T.-S. Wu et al., 2004)

Terpenoide	Anzahl der Doppelbindung	Vorkommen in
Farnesane	4	A. argentina, A. elegans, A. macroura
Bisabolane	3	A. arcuata, A. asclepiadifolia, A. chilensis, A. elegans, A. impudica
Elemane	3	A. acutifolia, A. argentina, A. brevipes, A. chilensis, A. debilis, A. elegans, A. gigantea, A. macroura, A. triangulis
Germacrene	3	A. argentina, A. brevipes, A. elegans, A. gibertii, A. kaempferi, A. mollissima, A. reticulata
Humulane	3	A. argentina, A. birostris, A. elegans, A. gibertii, A. indica, A. macroura, A. papillaris
Aristolane	1	A. arcuata, A. brevipes, A. clematitis, A. debilis, A. elegans, A. longa, A. papillaris
Cardinane	1	A. acutifolia, A. debilis, A. elegans, A. odoratissima, A. papillaris
Guaiane	1	A. acutifolia, A. brevipes, A. chilensis, A. debilis, A. elegans
Aromadendrane	1	A. acutifolia, A. argentina, A. asclepiadifolia, A. brevipes, A. chamissonis, A. chilensis, A. elegans, A. gibertii, A. indica, A. melanoglossa, A. mollissima, A. pentato-deltaidea
Cubebane	1	A. brevipes, A. debilis, A. elegans
Patchoulolane	1	A. Argentina
Himachalane	1	A. chilensis, A. elegans
Longifolane	1	A. elegans
Chamigrane	1	A. debilis
Cedrane	1	A. chilensis
Santalane	1	A. acutifolia, A. argentina, A. brevipes, A. chilensis, A. gigantea
Copaane	1	A. acutifolia, A. argentina, A. brevipes, A. elegans, A. gibertii, A. indica, A. macroura, A. papillaris, A. rodriguesia, A. triangularis
Ishwarane	0	A. argentina, A. indica, A. debilis
Bourbonane	0	A. argentina, A. brevipes, A. elegans, A. gibertii, A. rodriguesia

4.3.3.2 Beispiel „Fichte“ (*Picea abies*)

Als weiteres Beispiel für den Vergleich zwischen der Emissionsprobenahme mit anschließender TD-GC/MS-Analyse und Extraktionen mit anschließender GC/MS-Messung dient die bereits zuvor besprochene Fichte. Die Emissionsmessungen befinden sich in Kap 4.2.3.1 (Abbildungen 4.11 und 4.12). Daher werden hier nur die Chromatogramme der Extraktion und eine Tabelle zum Vergleich der erhaltenen Daten abgebildet. Das Chromatogramm der Extraktionsmessung zeigt Abbildung 4.26. Man erkennt hier ebenfalls, dass die Intensität der Monoterpene die der Sesquiterpene um mehr als 10fach überragen. Auffällig ist der hohe Gehalt an Limonen (12,065 min). Die Verbindung bei 23,507 min könnte aufgrund des Massenspektrums Essigsäurebornylester sein, vergleichbar mit der im Emissions-Chromatogramm in Abbildung 4.10 (Retentionszeit 20,62 min).

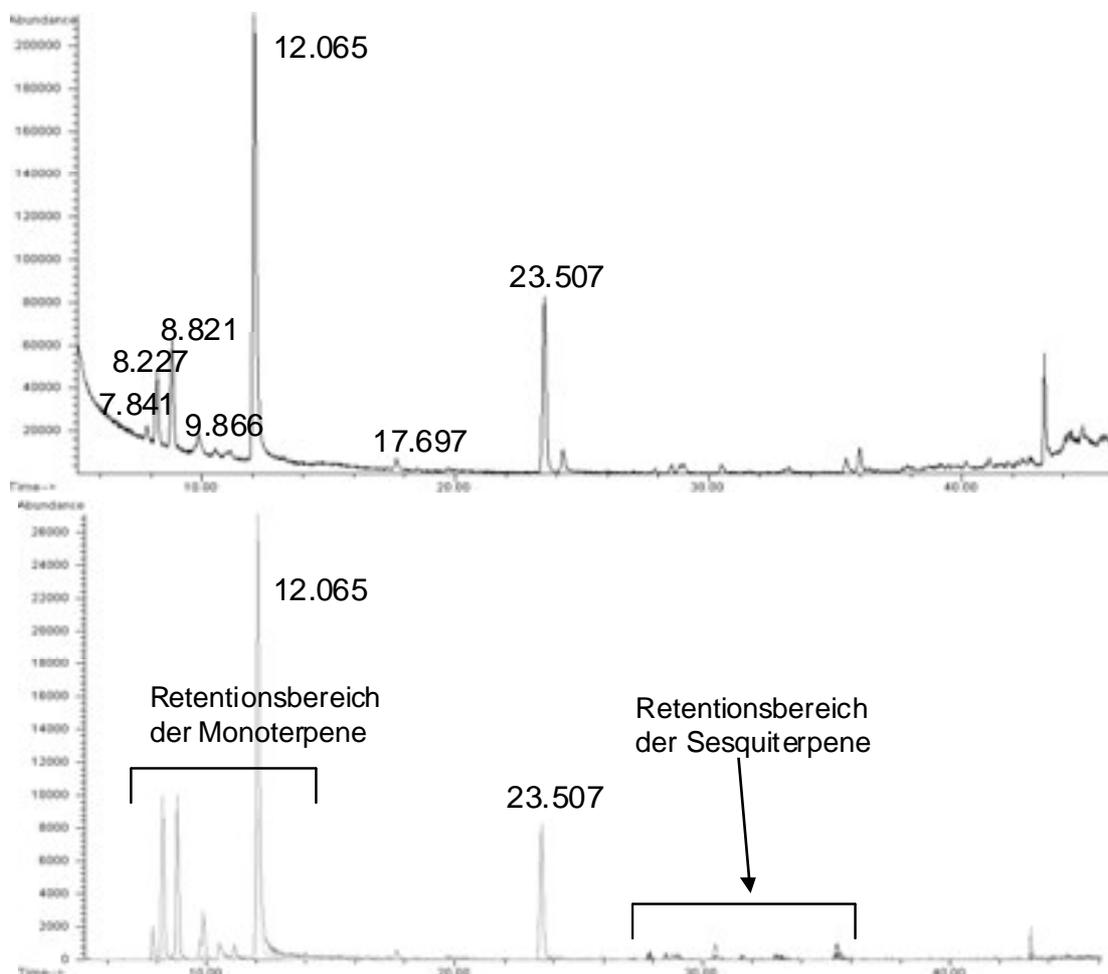


Abbildung 4.26: Chromatogramm der Fichtenadelextraktion (oberes: TIC, unteres: Massenspektren m/z 204, 189, 161, 147, 136, 93)

Wie aus Tabelle 4.14 hervorgeht, sind die Ergebnisse der Emissionsanalyse und der Extraktionsmessung in weiten Teilen identisch. Die mittels Standards, Retentionszeiten und Massenspektren bestimmten Terpene entsprechen denen der Literatur (Heiden et al., 1996). Die unterschiedlichen Konzentrationen einzelner Substanzen in der Emissionsanalyse und der Extraktionsmessung können mit den unterschiedlichen Probenahme-Arten erklärt werden. Die Konzentrationen der Terpene in der Extraktanalyse sind meist deutlich höher. Zudem konnten mehr Terpene nachgewiesen werden. Dies erklärt sich durch die geringe und selektive Emission der Terpene seitens der Pflanze. Sekundärmetaboliten wie Terpene werden stets zweckgebunden abgegeben. Gründe dafür können Reaktionen wie Abwehr oder die Antwort auf Stress sein. Trotz der unterschiedlichen Techniken sind die Ergebnisse gut vergleichbar. Man erkennt deutlich, dass die Monoterpene dominieren. In beiden Fällen weist Limonen die höchsten Konzentrationen auf.

Tabelle 4.14: Methodenvergleich der Extraktion und der Emissionsanalyse am Beispiel der Fichte (*Picea abies*)

Retentionszeit Emission	Konzentration ng/L	Retentionszeit Extraktion	Konzentration ng/L	Verbindung	Vorschlag
5,50 min	0,17-0,39	7,841min		unbekanntes Monoterpen	Tricyclen
5,88 min	0,32-0,73	8,227min	1,77	α -Pinen	
6,32 min	0,6-1,25	8,821min		unbekanntes Monoterpen	Camphen
6,68 min	0,26-0,5			unbekanntes Monoterpen	Sabinen
7,09 min	0,1-0,23			unbekanntes Monoterpen	Myrcen
7,27 min	0,24-0,46	9,866min	0,83	β -Pinen	
		10,525min		unbekanntes Monoterpen	Myrcen
8,58 min	0,1-0,18	11,114min	0,2	δ -3-Caren	
9,33 min	0,96-1,55	12,065min	18,88	Limonen	

23,17 min	0,015-0,03			unbekanntes Sesquiterpen	
24,00 min	0,011-0,02	27,053min		Longicyclen	
25,48 min	0,04-0,09	27,872min		unbekanntes Sesquiterpen	Longifölen
		28,526min		unbekanntes Sesquiterpen	
		28,856min		unbekanntes Sesquiterpen	
26,17 min	0,035-0,069	29,025min	0,12	β -Caryophyllen	
27,60 min	0,042-0,1	30,523min	0,3	α -Humulen	
		32,929min		unbekanntes Sesquiterpen	
		33,136min		unbekanntes Sesquiterpen	
32,61 min	0,016-0,03	35,420min		unbekanntes Sesquiterpen	α/β - Farnesen

4.3.3.3 Beispiel „*Salvia oxiphora*“ (Blüte)

In der folgenden Tabelle 4.15 ist beispielhaft für die Gattung *Salvia* der Konzentrationsvergleich der Extraktion und der Emissionsanalyse abgebildet. Dabei wurden nur anhand der Standards quantifizierte Terpene berücksichtigt. Es fanden sich gute quantitative und qualitative Übereinstimmungen. Die Konzentrationsunterschiede können mit der unterschiedlichen Probenahme als auch mit dem Emissionsverhalten der Pflanze begründet werden. Die analysierten Terpenkonzentrationen sind höher als die der Fichte (*Picea abies*) (Tabelle 4.13). Das Motiv dieses Verhaltens könnte darin begründet liegen, durch eine große Terpenproduktion möglichst viele Bestäuber anzulocken.

Tabelle 4.15: Methodenvergleich der Extraktion und der Emissionsanalyse am Beispiel der *Salvia oxiphora*

Name	Bestimmung Terpen	Gehalt der analys. Probe	Konzentration der Emissionsanalysen
<i>Salvia oxyphora</i> Blüten	α -Pinen	30,63 ng/L	6 ng/L
	β -Pinen	12,32 ng/L	5,15 ng/L
	3-Caren	0,14 ng/L	
	Limonen	3,04 ng/L	0,275 ng/L
	β -Caryophyllen	0,51 ng/L	0,35 ng/L
	Longicyclen		0,125 ng/L

Ein Vergleich mit der Hypothese (G. Mattern, S. Vogel, 1994), wonach die Lamiaceen-Blüten mit dem Kelch duften, bzw. die Blätter diese Funktion auch übernehmen können, konnte anhand der vorliegenden Emissionsstudien weder bestätigt noch widerlegt werden, da die Probenahme zumeist in intakten Blüten erfolgte (siehe Experimenteller Teil 3.4. Probenahme). Die Emissionsanalysen unverletzter Blätter zeigten keine Terpene. Die Extraktionen der Blüten und der Blätter liefern mit der Literatur vergleichbare Ergebnisse. Dabei konnte auch gezeigt werden, dass die Inhaltsstoffe der Blätter sich zum Teil deutlich von denen der Blüten unterscheiden, um Bestäuber möglichst direkt in zur Blüte zu dirigieren. So verfügt *Salvia oxiphora* entsprechend den Extraktionsmessungen der Blüten über neun Monoterpen und sechs Sesquiterpene (Tabelle 4.9). Im Extrakt der Blätter konnten keine Monoterpene und sechs Sesquiterpene in geringerer Konzentration als die der Blüten nachgewiesen werden.

4.3.4 Zuordnung von Pflanzenarten innerhalb einer Gattung anhand des Emissionsmusters

Die Emissionsmuster verschiedener Arten innerhalb einer Gattung besitzen sowohl ähnliche Züge als auch deutliche, arttypische Unterschiede. Dies könnte man nutzen, um Verwandtschaftsgrade deutlicher zu erkennen oder neue Züchtungen zu charakterisieren. Am Beispiel von 3 *Aristolochia*-Arten soll dies demonstriert werden. *Aristolochia* (Pfeifenblumen) sind eine Gattung aus der Familie der Osterluzegewächse. Diese weitverbreitete Gattung kommt in vielen Klimazonen vor und ist mit über 500 Arten vertreten. Bei den ausgewählten Arten handelt es sich um *Aristolochia grandiflora*, *Aristolochia arborea* und *Aristolochia salvadorensis*, wobei die beiden letztgenannten laut Literatur sehr eng miteinander verwandt sein sollen. Auch optisch und in ihrer Lebensweise sind sie sich sehr ähnlich. Beide Pflanzen bilden ca. 3 cm große, braun-weiße Blüten und leben auf und unter Bäumen im tropischen Regenwald (Abbildung 4.27). Bei *Aristolochia grandiflora* handelt es sich dagegen um eine sehr großblütige Pflanze (Blütendurchmesser bis zu 20 cm) mit intensivem Geruch.



Abbildung 4.27: Blüten von *Aristolochia grandiflora*, *Aristolochia arborea* und *Aristolochia salvadorensis*

Im Folgenden werden nun die Chromatogramme (Abbildung 4.28) der verschiedenen Spezies gezeigt. Auffällig sind sofort die sehr hohen Signalintensitäten im Bereich der Sesquiterpene. Diese übersteigen evtl. vorhandene Monoterpene teilweise um mehr als das Zehnfache. Bei allen Untersuchungen waren die Monoterpenemissionen sehr gering oder gar nicht zu identifizieren. Des Weiteren erkennt man im Retentionszeitbereich zwischen zwei Minuten und fünf Minuten Signale, die von organischen Verbindungen, z.B. Dimethylsulfid (bei 3,6 min) im Fall der *Aristolochia grandiflora*, herrühren.

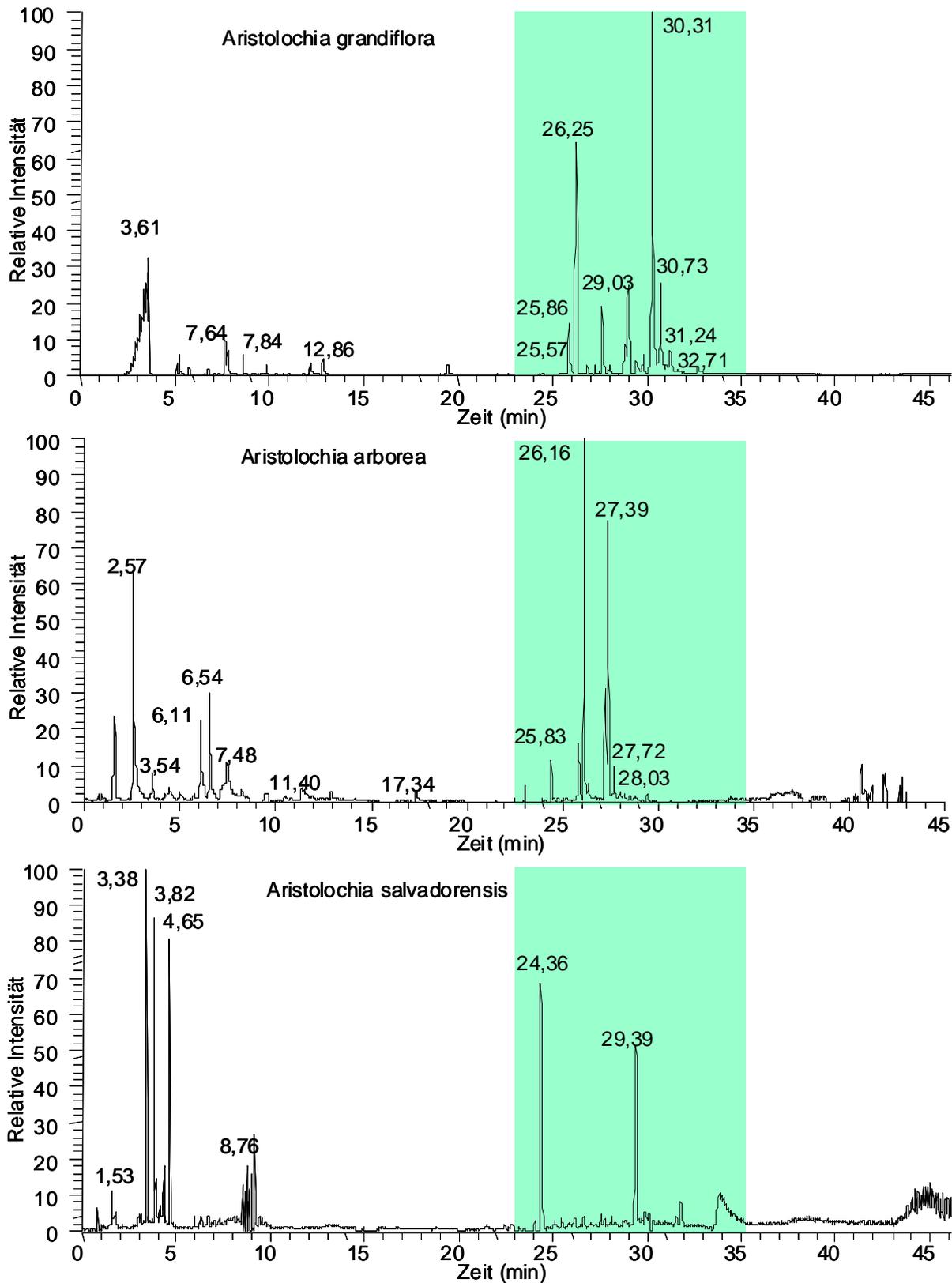


Abbildung 4.28: Chromatogramme der 3 *Aristolochia* Arten (Terpenmassenspur)

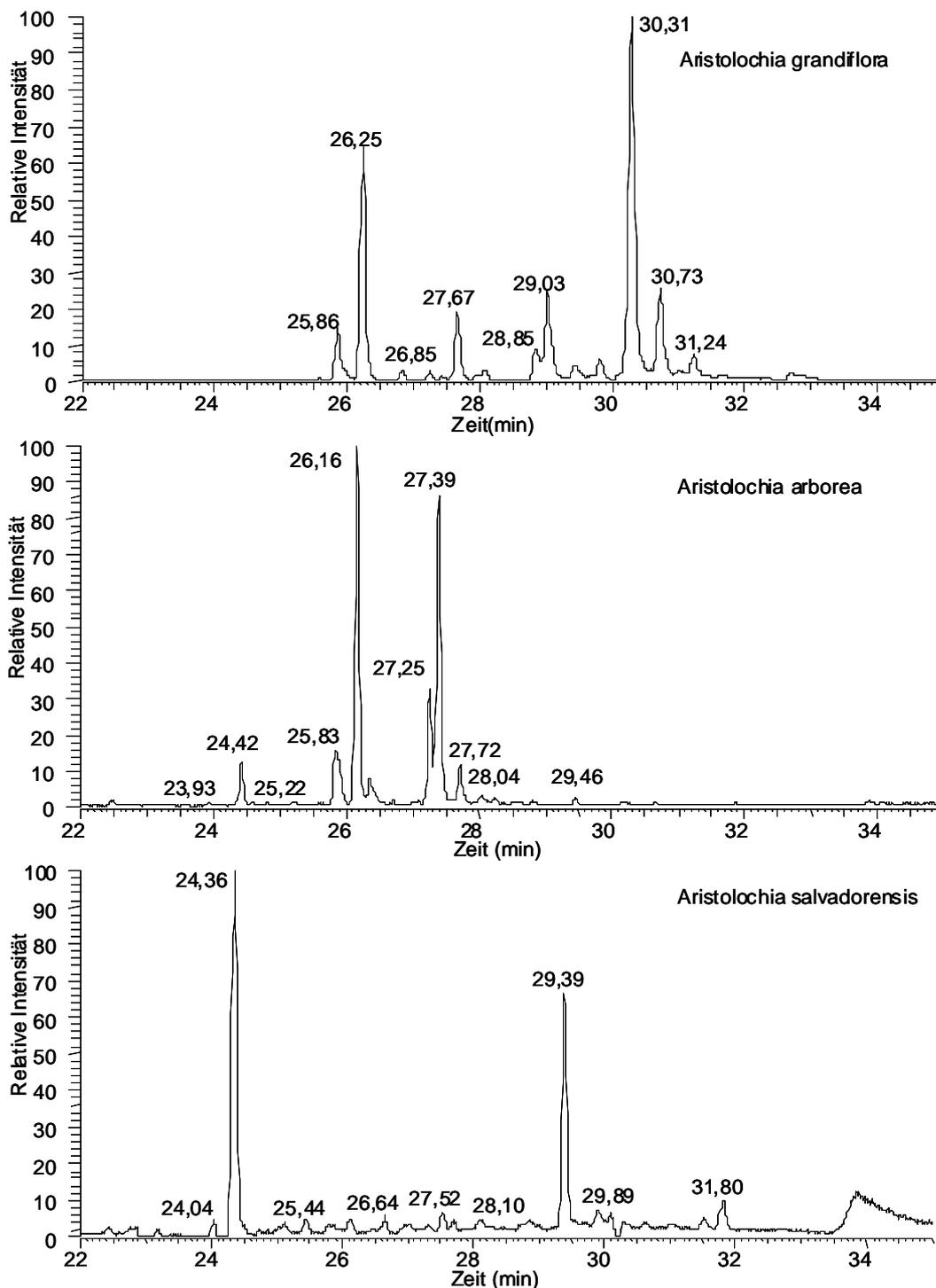


Abbildung 4.29: Ausschnitt des Chromatogramm ausgewählter m/z-Verhältnisse (Terpenmassenspur)

In einer vergrößerten Darstellung des Retentionsbereichs der Sesquiterpene (Abbildung 4.29) werden die bereits angesprochenen Übereinstimmungen noch deutlicher. Es scheint immer zwei Hauptsignale zu geben und einige andere, die lediglich eine Intensität im Bereich bis zu 30 % dieser Signale erreichen. Leider konnte keines der Sesquiterpene im Vergleich mit den verwendeten Standards zweifelsfrei identifiziert werden. Die Konzentrationen der Sesquiterpenemissionen

bewegen sich den Abschätzungen mit Terpenstandards zufolge im Bereich von 0,05 bis 20 ng/L. Damit sind diese Emissionen deutlich höher als die der Fichte (*Picea abies*) (Tabelle 4.14).

Unklar ist zu welchem Zweck die Pflanzen so hohe Konzentrationen an Sesquiterpenen emittieren. Sekundärmetaboliten wie Terpenoide dienen häufig der Attraktion von Bestäubern oder der Abwehr. Bekannt ist, dass *Aristolochia grandiflora* von Fliegen bestäubt wird, die sie mit ihrem aasähnlichen Geruch anlockt (vermutlich Dimethylsulfid). Die beiden anderen, die über keinen wahrnehmbaren Geruch verfügen, gehören wahrscheinlich zur Gruppe der Pilzmückenblüten. Allerdings zeigen alle drei Arten der gleichen Gattung ein auffallend ähnliches Profil im Bereich der Sesquiterpene. Die Untersuchung der Emissionen könnten daher zukünftig dazu dienen, weitere Hinweise auf die Zugehörigkeit zu einer bestimmten Gattung zu geben. Ebenso könnte in weiteren Studien geklärt werden, ob es anhand der Terpenmuster der Emissionsanalysen möglich ist, die Bestäubungsart bzw. den Bestäuber genauer einzugrenzen. Die folgende Tabelle 4.16 zeigt die analysierten Arten im direkten Vergleich.

Tabelle 4.16: Vergleich der analysierten *Aristolochia*-Arten

Spezies (nur Blüten)	Analyse- Technik	Anzahl der Monoterpene	Anzahl der Sesquiterpene	Anzahl der Messungen
<i>Aristolochia grandiflora</i>	Emission	/	14	4
<i>Aristolochia arborea</i>	Emission	2	5	2
<i>Aristolochia salvadorensis</i>	Emission	3	2 (+)	9
<i>Aristolochia salvadorensis</i>	Extraktion	4	2	2

(+) mehr unterhalb der Nachweisgrenze detektiert

Wie in der Einleitung angesprochen (Abschnitt 2.9), müssen die durch Extraktion gewonnenen Terpene und die in Emissionen detektierten bei einer Pflanze nicht völlig übereinstimmen. Bei der Emissionsprobenahme besteht die Möglichkeit der negativen als auch der positiven Artefaktbildung. Oxidationen oder die Verdampfung einiger Substanzen bei der Extraktion sind mögliche Quellen für das Fehlen reaktiver oder leicht flüchtiger Substanzen. Die Ergebnisse sind gut vergleichbar, denn tendenziell wurden in den Extraktionsanalysen mehr Terpene detektiert, was darauf schließen lässt, dass Pflanzen ihre Inhaltsstoffe aktiv einsetzen. Die Anzahl und auch die Konzentration der detektierten Terpene war in den Extraktionen bei *Salvia officinalis* Blättern, die auch als Heilpflanze bekannt ist, am höchsten. Im Anhang findet sich hierzu eine ausführliche Tabelle, die alle Extraktionsexperimente gegenüberstellt. Nachfolgend werden von zwei Beispielen zunächst das Emissions-Chromatogramm und danach das durch Analyse der Extraktion erhaltene Chromatogramm gezeigt.

4.3.5 Unterscheidung der Bestäubertypen mittels Emissionsanalyse

Die Unterscheidung wie eine Blüte bestäubt wird, erfolgt im Allgemeinen anhand der Blütenmorphologie. Man geht davon aus, dass es beim Bestäuber-Wechsel vom Insekt hin zum Kolibri im Zuge der Co-Evolution neben dem veränderten Äußeren der Blüte auch eine Verringerung der dann weniger wichtigen Sekundärmetabolitemission gegeben hat (siehe Einleitung 2.1 BVOC und Sekundärmetabolite). Um diese Theorie anhand einiger Beispiele zu bestätigen, wurden an Blüten verschiedener Arten der Gattung *Salvia* Emissionsstudien durchgeführt. Die Blütenfarben der von Bienen bestäubten Arten sind zumeist weiß oder hellblau, während die vogelbestäubten auffällig rot bis pink blühen und eine deutlich größere Blüte aufweisen. Die Tabelle 4.17 zeigt die 18 verschiedenen, analysierten Salbei-Arten. Neben der Art der Blütenbestäubung (Insekt/Vogel) wird die durch Emissionsanalysen ermittelte Zahl an Mono- und Sesquiterpenen sowie die Anzahl der Analysen angegeben.

Tabelle 4.17: Verzeichnis der Emissionsmessung bei verschiedenen *Salvia*-Arten

Salvia - Art	Bestäubung	nachgewiesene Monoterpene	nachgewiesene Sesquiterpene	Anzahl der Messungen
<i>sclarea</i>	BB	6	5	2
<i>verticillata</i>	BB	2	/	2
<i>amplifrons</i>	BB	3	1	3
<i>grandiflora</i>	BB	2	1	1
<i>nutans</i>	BB	4	5	3
<i>coahuilensis</i>	BB	2	1	2
<i>setulosa</i>	BB	2	1	2
<i>uliginosa</i>	BB	5	4	2
<i>patens</i>	VB	3	/	3
<i>coccinea</i>	VB	2	/	2
<i>buchananii</i>	VB	3	/	1
<i>fulgens</i>	VB	2	/	4
<i>splendens</i>	VB	/	/	2
<i>oxyphora</i>	VB	6	1	2
<i>scabra</i>	IB	2	/	3
<i>mohavensis</i>	IB	/	/	1
<i>longispicata</i>	IB	1	1	3
<i>gilliensis</i>	IB	3	1	2

VB: Vogel bestäubt

BB: Bienen bestäubt

IB: Insekten bestäubt

Wie schon aus der obigen Tabelle 4.17 ersichtlich, kann man die *Salvia*-Arten nicht nur nach ihrem Bestäubertyp unterscheiden, sondern auch nach ihren Emissionen. Es folgen nun jeweils zwei Darstellungen zu Salvien, deren nachgewiesene Bestäuber entweder Bienen oder Vögel sind. Zu sehen sind jeweils die Ausschnitte der Chromatogramme des Mono- und des Sesquiterpen-Bereichs. Als Exempel für von Bienen bestäubte Salbeipflanzen wurden *Salvia sclarea* und *Salvia nutans* ausgewählt (Abbildung 4.30). Für die von Vögeln bestäubten Arten dienen *Salvia patens* und *Salvia fulgens* als Modell (Abbildung 4.31). Dabei konnten die meisten der analysierten Terpene aufgrund ihrer Retentionszeit und ihres EI-Massenspektrums durch Vergleich mit den Standards nicht eindeutig identifiziert werden.

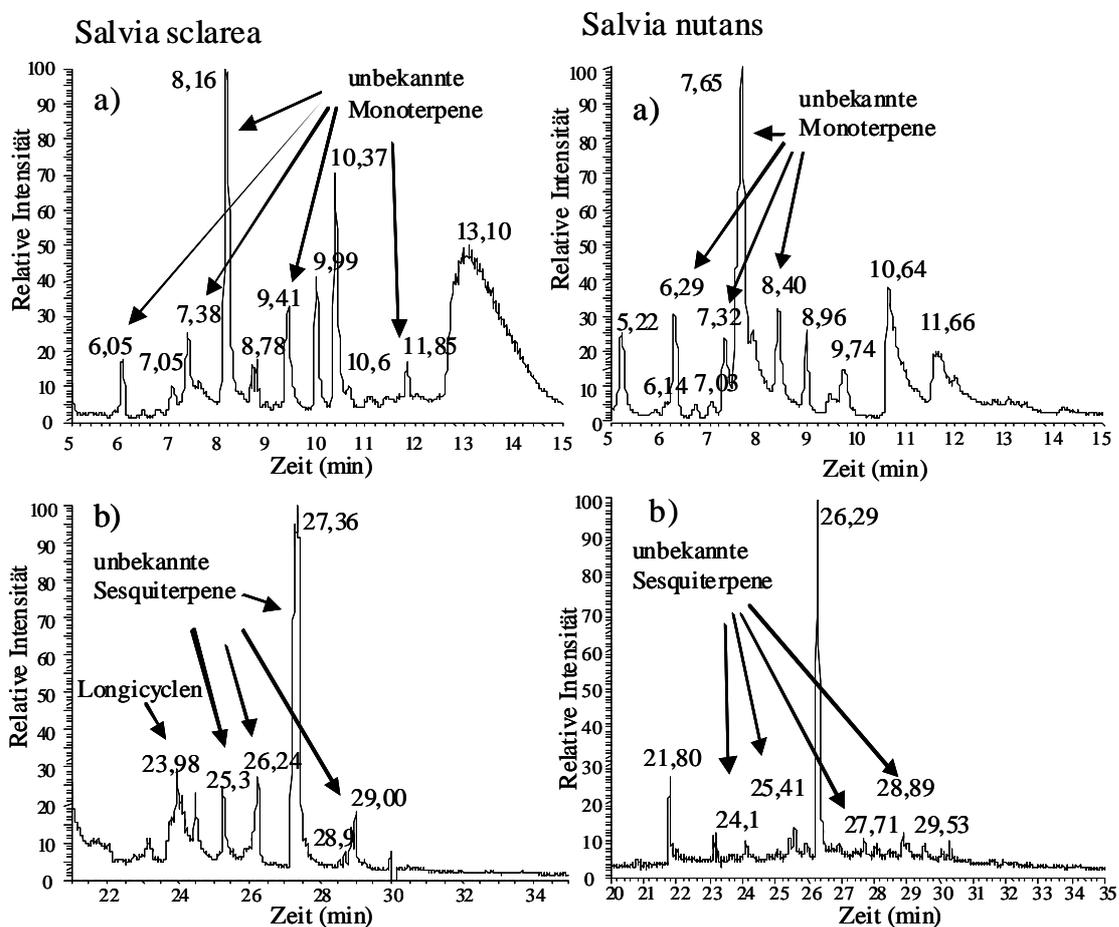


Abbildung 4.30: Ausschnitt des Chromatogramm ausgewählter m/z-Verhältnisse (Terpenmassenspur) der *Salvia sclarea* (links) und der *Salvia nutans* (rechts) a) oben im Bereich der Monoterpene b) unten im Bereich der Sesquiterpene

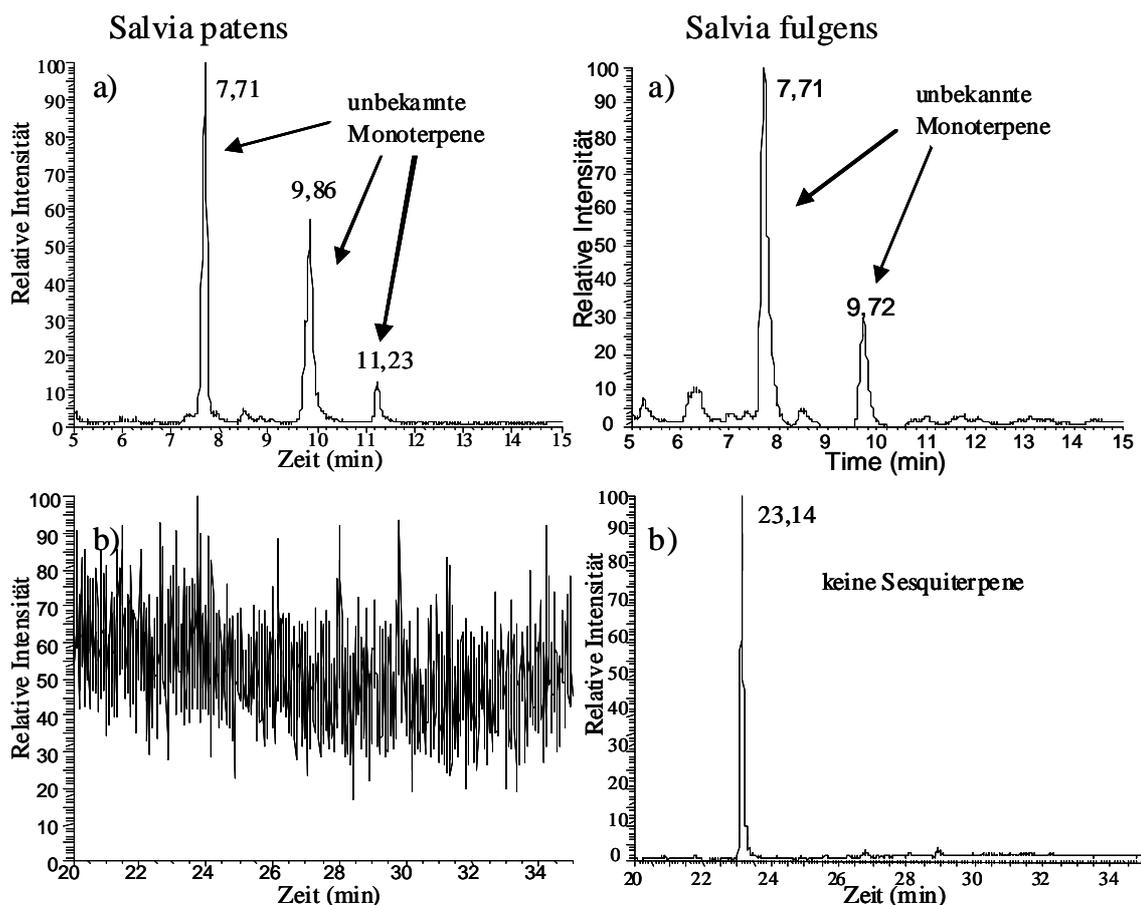


Abbildung 4.31: Ausschnitt des Chromatogramms ausgewählter m/z -Verhältnisse (Terpenmassenspur) der *Salvia patens* (links) und der *Salvia fulgens* (rechts), a) oben im Bereich der Monoterpenen, b) unten im Bereich der Sesquiterpenen

Wie bereits erwähnt, sollen bei den von Vögeln bestäubten Blüten keine oder deutlich weniger Emissionen auftreten. Die Untersuchungsergebnisse bestätigen dies nicht uneingeschränkt. Bei den ausgewählten Beispieldpflanzen trifft dies bezüglich der Monoterpenen nur in geringem Maße zu. Es konnte nur eine geringere Anzahl, nicht aber eine geringe Konzentration an Monoterpenen in den Emissionsanalysen der vogelbestäubten Arten festgestellt werden (siehe Abbildung 4.31). Im Fall der Sesquiterpenenemissionen stimmen Theorie und Untersuchungsergebnisse deutlicher überein. Es wurden keine Sesquiterpene in den Blütenemissionen der vogelbestäubten Pflanzen analysiert (siehe Abbildung 4.31).

Eine Ausnahme bildet *Salvia oxyphora*, die auch hohe Monoterpenemissionen aufwies. Hier konnte ein Sesquiterpen durch die Analysen nachgewiesen werden. Bei der rot blühenden, vogelbestäubten *Salvia splendens* wurden in den Emissionen hingegen weder Mono- noch Sesquiterpene gefunden. Daher scheint es möglich, eine erste Einschätzung des Bestäubertyps anhand der Emissionsanalysen vorzunehmen. In den vorliegenden Studien wurde der Schwerpunkt auf reine Kohlenwasserstoffe gelegt. Weitere Terpenoide wie Ketone, Aldehyde oder Säuren der Terpene sollten auch in weiterführenden Analysen einbezogen, da diese häufig den Geruch einer Pflanze

beeinflussen. Die Konzentrationen der analysierten Terpene bewegen sich den Abschätzungen zu folge bei den Monoterpenen im Bereich von 0,008 ng/L bis 6 ng/L und bei den Sesquiterpenen von etwa 0,009 ng/L bis zu 0,45 ng/L. Die gemessenen Konzentrationen sind damit im Vergleich zu Emissionsanalysen der Fichte (*Picea abies*) deutlich höher, was sich durch den Einsatz der Terpene als Lockstoffe erklärt lässt.

4.3.6 Anwendung für halogenhaltige Analyten bei gleichzeitiger Bestimmung von Terpenen in marinen Emissionsproben

Die hier angewandte Methode der Probenahme auf Adsorptionsröhrchen und der nachfolgenden Analyse mittels TD-GC/MS ist grundsätzlich nicht auf bestimmte Substanzen festgelegt. Natürlich wird durch die Wahl der Adsorbentien, des Temperaturprogramms bei der Injektion und der GC-Analyse, sowie durch die Verwendung einer bestimmten chromatographischen Säule eine gewisse Vorauswahl getroffen. Allerdings ist die Methode durch das Massenspektrometer als Detektor so vielseitig einsetzbar, dass es möglich ist völlig unterschiedliche Substanzen anhand ihrer individuellen Fragmentationen in einer Probe nachzuweisen. Dies wird im Folgenden durch einige Beispiele einer Messkampagne deutlich.

4.3.6.1 Marine Emission

Im Meerwasser bilden Makroalgen, Mikroalgen (Phytoplankton) und Bakterien aus Iodat neben Iodid auch flüchtige iodorganische Verbindungen (VOI). Diese Verbindungen, wie beispielsweise Iodmethan (CH_3I) oder Diiodmethan (CH_2I_2), können in der maritimen Grenzschicht in die Gasphase übergehen. Dort beträgt die Lebensdauer der VOIs bei Lichteinfluss einige Minuten bis hin zu wenigen Tagen. Erschwert wird die Analyse dieser Substanzen zusätzlich durch die niedrigen Konzentrationen (0,02-12 pptv). Durch Photolyse der VOIs werden in der Atmosphäre Iodatome gebildet. Diese hochreaktiven Radikale wiederum können mit Ozon und/oder OH-Radikalen reagieren. Es werden so unter anderem schwerflüchtige Iodoxide gebildet, die in die Partikelphase übergehen können. Um ein Verständnis für die Mechanismen und chemischen Reaktionen zu bekommen, die zur Bildung von iodhaltigen Aerosolpartikeln führen, müssen auch gasförmige Vorläufersubstanzen bestimmt sowie die Zusammenhänge, die zu ihrer Emission führen, erforscht werden.

Neben verschiedenen, halogenhaltigen Verbindungen konnten auch Terpene (Paul et al., 2007; Hattab et al., 2007; Kamendarska et al., 2006) sowie halogenierte Terpene (Ji et al., 2009) nach der Extraktion von Algen nachgewiesen werden. Daher besteht die Vermutung, dass sich hochreaktive (halogenhaltige) Terpene ebenfalls in der marinen Grenzschicht befinden können. Die abgebildeten Proben wurden in den Sommermonaten des Jahres 2006 und 2007 an der westirischen Küste genommen. Die

Probenahme erfolgte zu unterschiedlichen Zeiten (Tag, Nacht), Wasserständen (Ebbe, Flut) und Wetterbedingungen (Sonne, Wolken, Regen), wobei die Probenahmeorte immer in unmittelbarer Nähe des Meeres lagen.

Die hier vorliegenden Analysen der marinen Emissionsproben wurden analog zu den anderen biogenen Emissionsanalysen durchgeführt. Dabei wurden weder die Injektionstemperaturen noch die chromatographische Säule oder die Einstellungen am Massenspektrometer geändert. Die anschließende Auswertung der erhaltenen Chromatogramme erfolgte unter zwei Gesichtspunkten: a) Analyse auf Spuren iodhaltiger Verbindungen und b) routinemäßige Analyse auf Spuren von Terpenen.

Als erstes folgt eine kurze Übersicht über die analysierten Emissionsproben und deren Charakterisierung durch einen Ausschnitt aus dem Probenahme-Protokoll (Tabelle 4.18). Darin erkennt man einen deutlichen Trend, der die Ergebnisse der Literatur weiter bestätigt. In der Dunkelheit oder bei starker Bewölkung sind die Intensitäten für das photolabile Diiodmethan im Vergleich zum Iodmethan deutlich erhöht. Bei Sonne und leichter Bewölkung ist das Verhältnis umgekehrt, bzw. es werden nur sehr geringe Spuren der VOI detektiert. Daneben können in allen marinen Emissionsanalysen auch Terpene nachgewiesen werden. Hier ergibt sich die Tendenz, dass die Terpenkonzentration ebenfalls mit der Sonne (und dem vorhandenen Ozon) korreliert, d.h. bei niedriger Sonnenintensität finden sich die höchsten Terpenkonzentrationen. Die Konzentrationen für die flüchtigen iodorganischen Verbindungen konnten aufgrund der fehlenden Kalibrierung nicht angegeben werden. Für die Terpene war dies aufgrund der mangelnden Vergleichbarkeit auch nur ansatzweise möglich. Ein klarer Zusammenhang zwischen Ebbe und Flut und den analysierten Spezies bzw. deren Konzentration ließ sich aus den vorliegenden Analysen nicht ableiten.

Tabelle 4.18: Kurze Zusammenfassung der Ergebnisse der marinen Emissionsproben

2006		Auswertung				
Datum	Uhrzeit (Start)	Bemerkung	CH ₃ I (rel. Intens.)	Ch ₂ I ₂ (rel. Intens.)	MT (rel. Intens.)	SQT (rel. Intens.)
15.06.06	00:45	Nacht, Ebbe, trocken	niedrig	hoch	hoch	hoch
21.06.06	14:30	nach Flut _(max) , Sonne, Wind	hoch	n. d.	mittel	n. d.
16.06.06	12:55	Ebbe, leicht bewölkt,	hoch	niedrig	mittel	niedrig
04.07.06	17:00	sonnig, Ebbe	hoch	niedrig	mittel	mittel
19.06.06	17:35	nach Ebbe _(max) , Sonne	sehr niedrig	sehr niedrig	niedrig	n. d.

2007

06.08.07	09:30	Regen, zw. Ebbe u. Flut	niedrig	hoch	hoch	hoch
06.08.07	12:00	bewölkt, Regen, Flut	niedrig	hoch	hoch	mittel
06.08.07	17:00	Tag, leicht bewölkt	hoch	sehr niedrig	niedrig	sehr niedrig

rel. Intens. : relative Intensität des Messsignals n. d.: nicht detektierbar

Für Terpene: hoch: über 1 ng/L mittel: über 0,5 ng/L niedrig: unter 0,05 ng/L

Nachfolgend sind Beispiele der erhaltenen Chromatogramme abgebildet. Die Abbildungen zeigen die erhaltenen Chromatogramme mit speziell für die iodhaltige Verbindungen typischen Masse-zu-Ladungs-Verhältnissen (m/z : 127, 141, 142, 268). Darunter finden sich einzelne Chromatogramme, die einen vergrößerten Ausschnitt und einige Massenspektren zu ausgewählten Verbindungen zeigen. Anschließend folgen in gleicher Reihenfolge die Chromatogramme und Massenspektren der Terpene. Es wurden in allen analysierten Proben sowohl halogenierte Kohlenwasserstoffe als auch Terpene gefunden.

4.3.6.2 Beispiel „geringe Lichtintensität“

Die erste Abbildung 4.32 zeigt das gesamte Chromatogramm ausgewählter, für die Fragmentierung halogenhaltiger Verbindungen typischer Ionen im Bereich von 0 bis 45 min. Diese Emissionsprobe wurde am Mittag des 6. August 2007, bei leichtem Regen ca. 20m vom Meer entfernt in der Nähe MRI Carna genommen. Bei der Retentionszeit von 0,95 min und bei 5,71 min sind die Signale iodhaltiger, organischer Verbindungen zu sehen. Anhand der darunter abgebildeten Massenspektren (Abbildung 4.33) konnten diese zweifelsfrei als Iodmethan und Diiodmethan identifiziert werden. Deutlich erkennbar ist, dass die Konzentrationen des Diiodmethans mehr als zehnfach so hoch wie die des Iodmethans sind. Damit ähnelt sie stark einer bei Nacht genommenen Probe von 2006. Dies deutet darauf, dass die Lichtintensität zum Probenahmezeitpunkt eher gering war, so dass photolabile Analyten gut adsorbiert werden konnten.

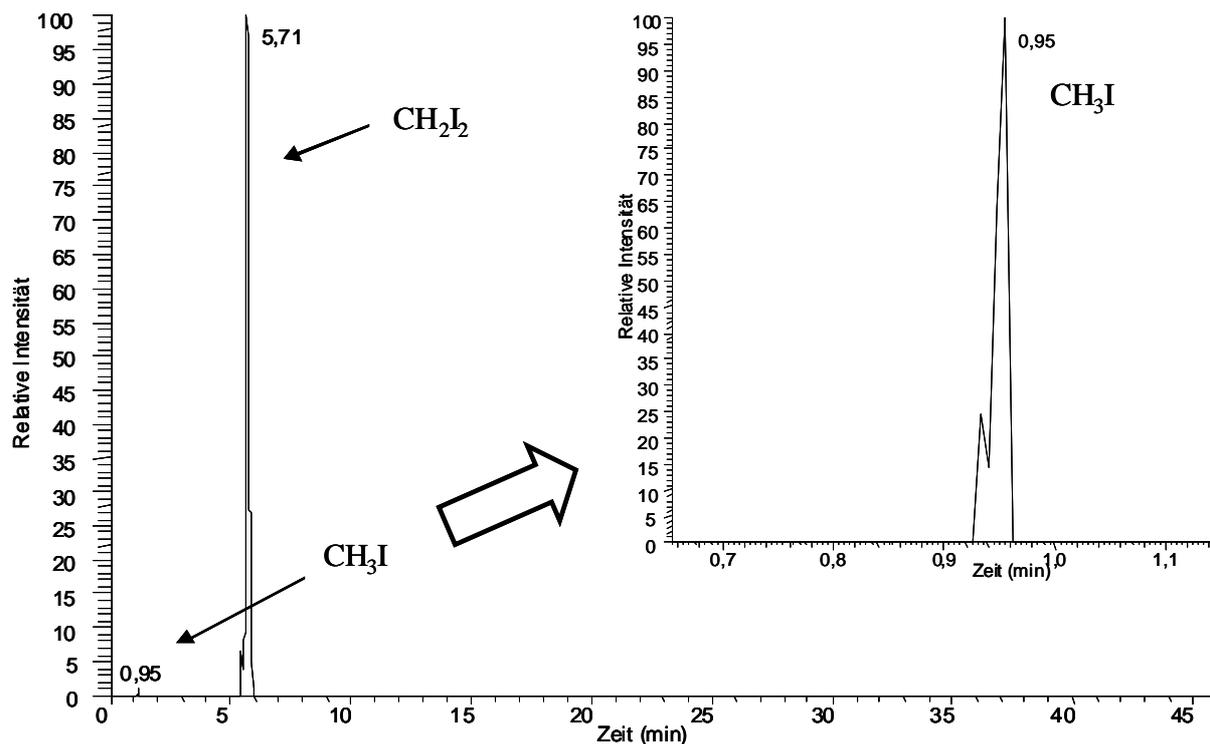


Abbildung 4.32: Chromatogramm und vergrößerter Ausschnitt ausgewählter Massenspuren Summe ausgewählter m/z-Verhältnisse: 127, 141, 142, 268), Probe vom 06.08.2007

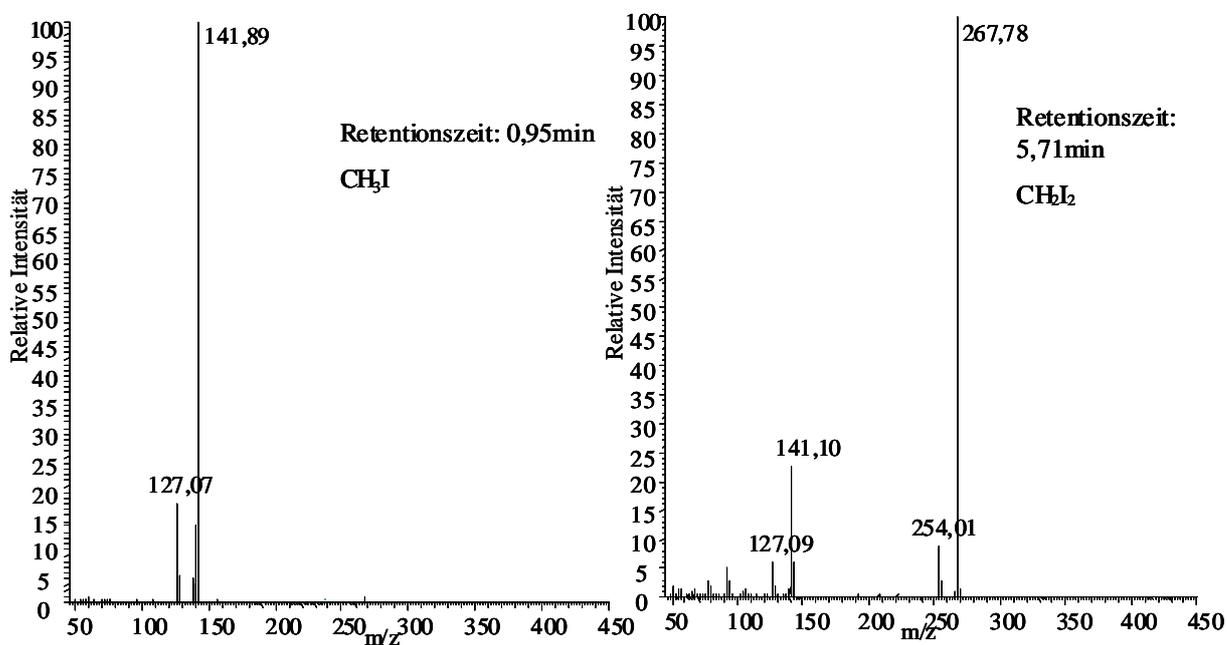


Abbildung 4.33: Massenspektren von Iodomethan und Diiodmethan, Probe vom 06.08.2007

Als nächstes schließen sich die Chromatogramme ausgewählter, für die Fragmentierung von Mono- und Sesquiterpenen typischer Ionen (Terpenmassenspur) an. Auch hier erkennt man deutlich mehrere Signale. Zur Verdeutlichung wurde der Retentionsbereiche der Monoterpene und der der Sesquiterpene farblich hinterlegt (Abbildung 4.34). Das untere Chromatogramm zeigt den Retentionszeitausschnitt der Monoterpene (Abbildung 4.35) sowie zwei Massenspektren mit den für Monoterpene charakteristischen Fragmentationen (Abbildung 4.36). Die detektierten Monoterpene konnten jedoch anhand ihrer Retentionszeit und ihres Massenspektrums nicht eindeutig den vorhandenen Terpenstandards zugeordnet werden. Es könnte sich bei der Verbindungen mit einer Retentionszeit von 5,99 min um α -Pinen und bei 9,39 min bzw. 9,53 min um Limonen handeln. Deutlich ist auch hier zu sehen, dass die Konzentration der Monoterpene die der Sesquiterpene wie im Beispiel der Fichte um mehr als den Faktor 10 übersteigt. Die analysierten Konzentrationen liegen den Abschätzungen mit den Standards zu Folge im Bereich von etwa 1,9 ng/L bis 0,005 ng/L.

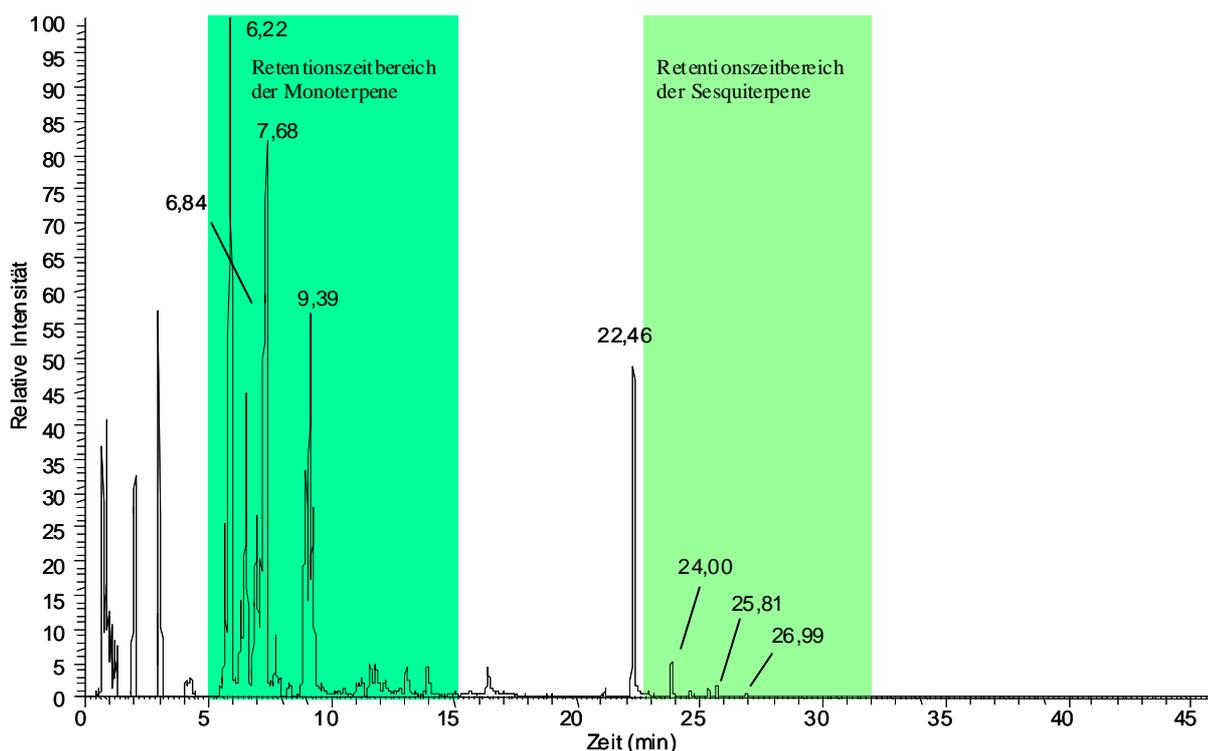


Abbildung 4.34: Chromatogramm ausgewählter m/z-Verhältnisse (Terpenmassenspur)

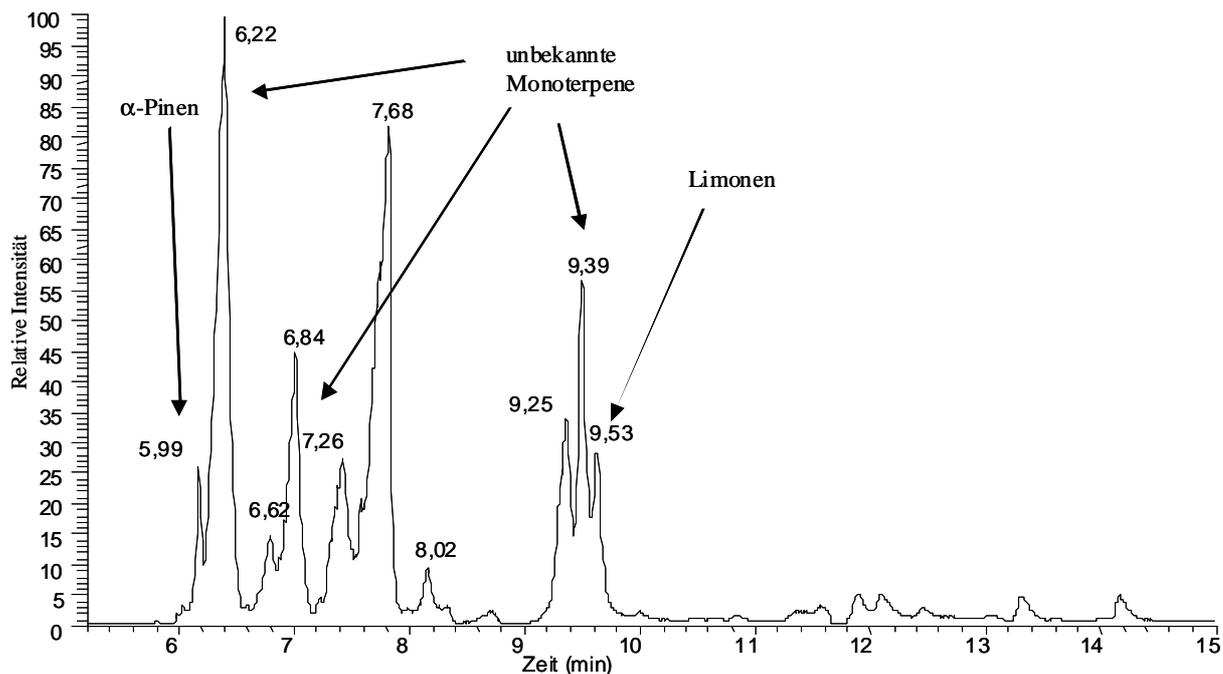


Abbildung 4.35: Ausschnitt des Chromatogramms ausgewählter m/z -Verhältnisse (Terpenmassenspur), Probe vom 06.08.2007

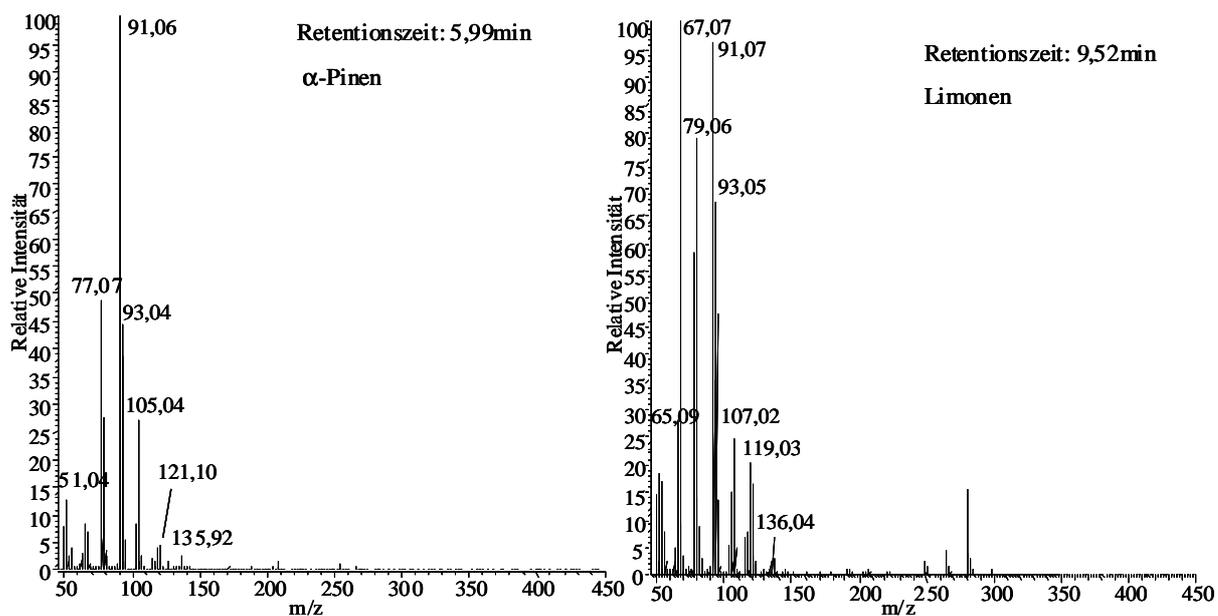


Abbildung 4.36: Massenspektrum bei Retentionszeit 5,99 min (α -Pinen) und 9,52 min (Limonen), Probe vom 06.08.2007

Der Chromatogrammausschnitt im Retentionsbereich der Sesquiterpene zeigt ebenfalls mehrere Signale (Abbildung 4.37). Eindeutig als Longicyclen identifiziert werden konnte nur das Sesquiterpen mit einer Retentionszeit von 24,00 min und Übereinstimmungen im Vergleich mit dem Referenzspektrum. Die Abbildung dieses EI-Massenspektrums und eines weiteren beispielhaft für die übrigen, unbekanntes Sesquiterpene schließen sich darunter an (Abbildung 4.38). Die Tatsache, dass Sesquiterpene mit einer Retentionszeit von 26,99 min (d.h. wahrscheinlich 2 oder

mehr Doppelbindungen, evtl. Aromadendren) analysiert werden konnten deutet darauf hin, dass der Ozongehalt recht niedrig war, wie es anhand der Wetterbeschreibung aus dem Probenahmeprotokoll zu erwarten war.

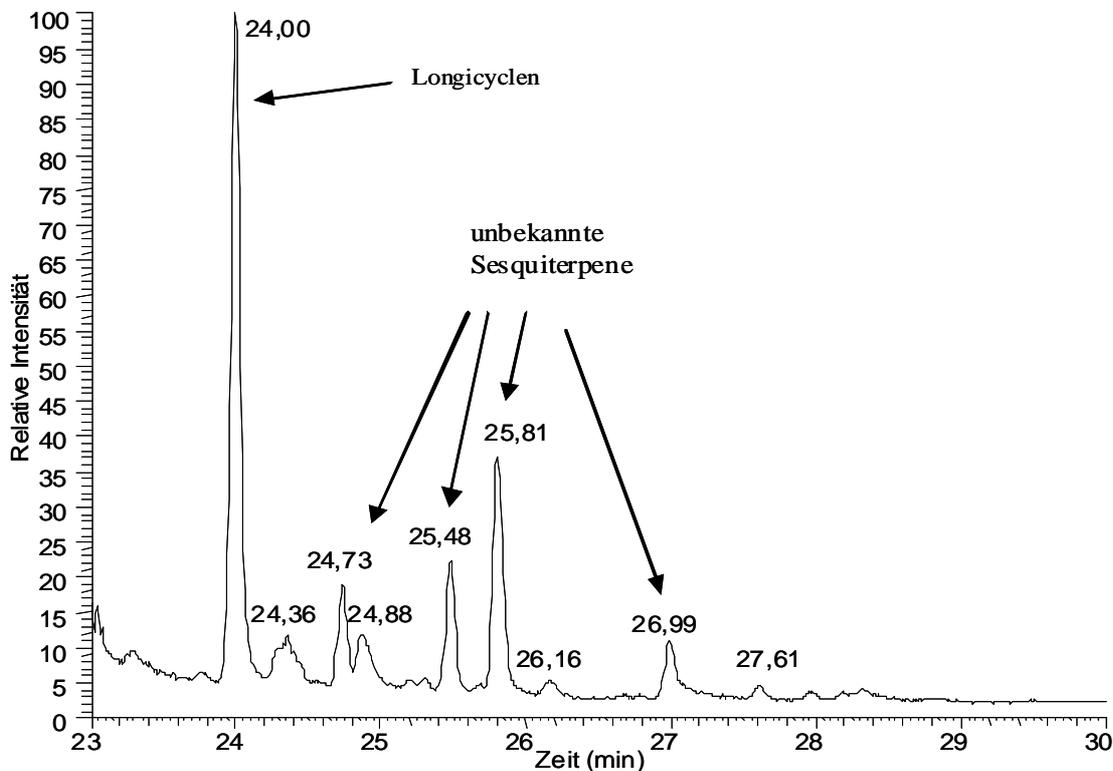


Abbildung 4.37: Ausschnitt des Chromatogramm ausgewählter m/z-Verhältnisse (Terpenmassenspur), Probe vom 06.08.2007

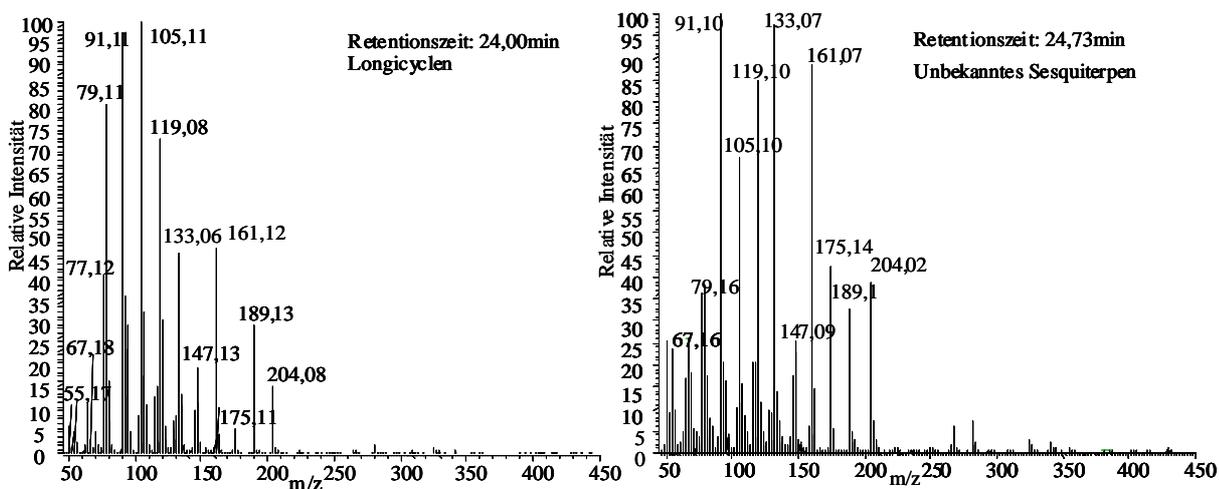


Abbildung 4.38: Massenspektrum bei Retentionszeit 24,00 min (Longicyclen) und 24,73 min (unbekanntes Sesquiterpen), Probe vom 06.08.2007

4.3.6.3 Beispiel „hohe Lichtintensität“

Das zweite Beispiel zeigt die Analyseergebnisse eine Emissionsprobe vom 4.7.2006, die nahe der Station in Mace Head, ca. 50m vom Meer entfernt genommen wurde. Im folgenden werden erneut zuerst die Chromatogramme der flüchtigen iodorganischen Verbindungen gezeigt. Auffallend sind die veränderten Konzentrationen der analysierten Iodverbindungen im Vergleich zur Analyse vom 6.8.2007. Hier ist Iodmethan (1,11 min) die dominierende Spezies. Diiodmethan (5,58 min) konnte dagegen nur in Spuren detektiert werden (Abbildung 4.39). Aus den Wetterbeobachtungen (sonnig) kann darauf geschlossen werden, dass vorhandenes Diiodmethan relativ schnell photolysiert wurde. Ebenso entspricht dieses Ergebnis der Literatur (Carpenter et al., 2000; 2003), da Iodmethan üblicherweise in höheren Konzentrationen in Küstennähe vorkommt als Diiodmethan. Daneben konnte in dieser Messung bei einer Retentionszeit von 3,32 min zusätzlich Iodbutan nachgewiesen werden (Abbildungen 3.39 und 3.40).

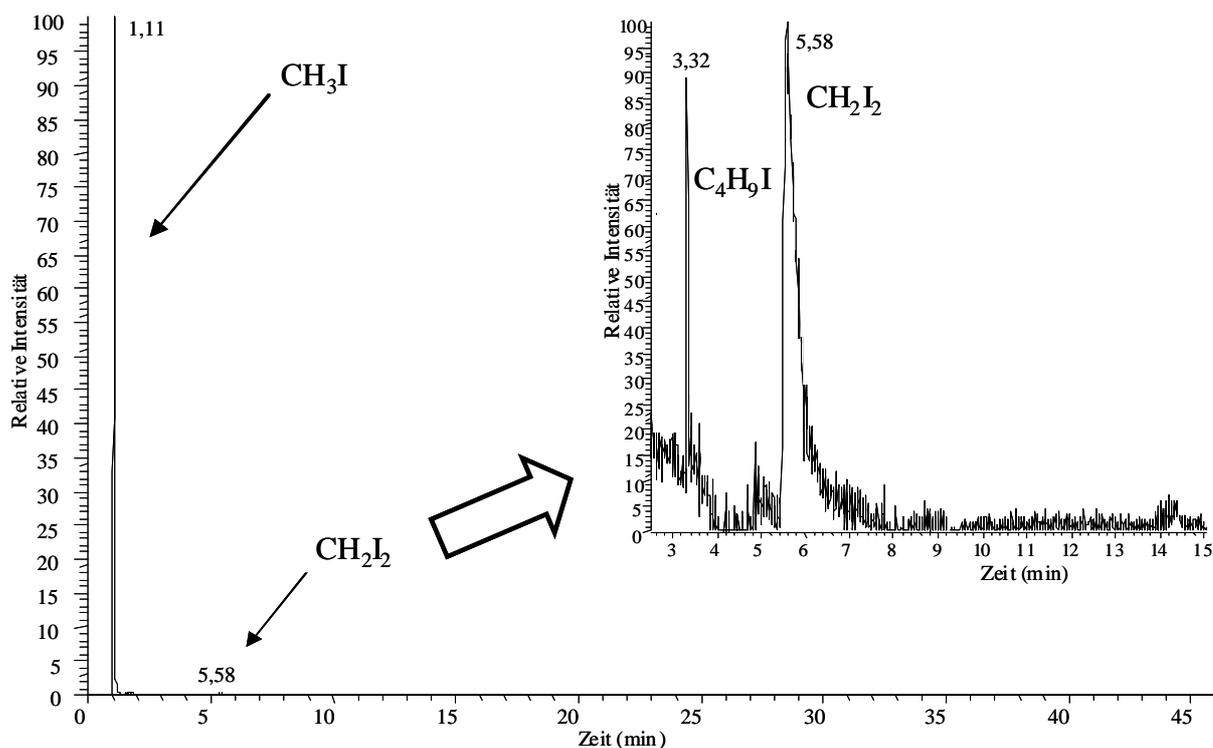


Abbildung 4.39: Chromatogramm der Emissionen am 4.7.2006 an der west-irischen Küste und Ausschnitt des Chromatogramm im Bereich von 2 min bis 15 min (Summe ausgewählter m/z-Verhältnisse: 127, 141, 142, 268)

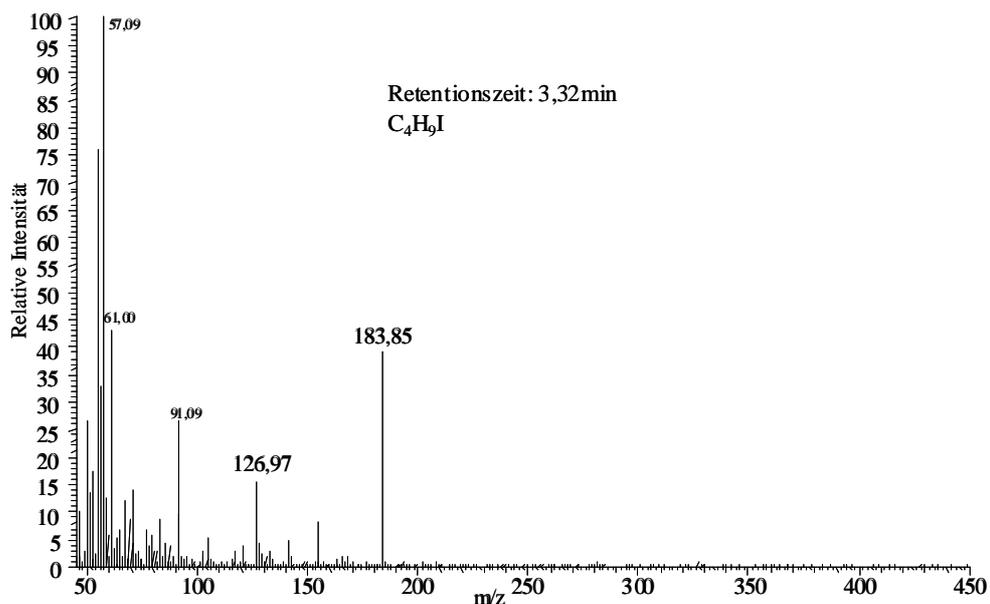


Abbildung 4.40: EI-Massenspektrum Iodbutan (Probe vom 04.07.2006)

Auch in der Emissionsprobe von 2006 finden sich verschiedene Terpene. Allerdings sind die Konzentrationen geringer als in den Proben von 2007. Neben dem Chromatogramm der Terpenmassenspur von 0-45 min sind auch hier wieder die vergrößerten Ausschnitte zu sehen (Abbildungen 4.41 bis 4.45). Im Bereich der Monoterpene konnte α -Pinen mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit anhand der Retentionszeit und des EI-Massenspektrums identifiziert werden (Abbildung 4.42). Die übrigen, deutlich niedriger konzentrierten Monoterpene bleiben unbestimmt. Beispielhaft sind zwei Massenspektren abgebildet (Abbildung 4.43).

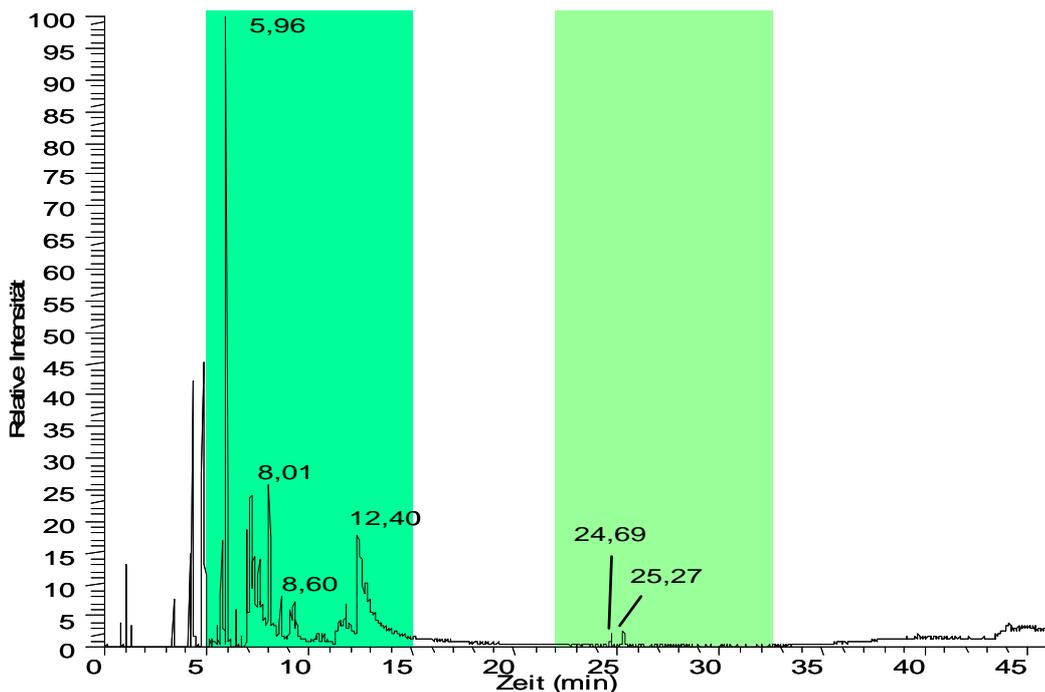


Abbildung 4.41: Chromatogramm ausgewählter m/z-Verhältnisse (Terpenmassenspur) der marinen Emissionsprobe vom 04.07.2006; grün unterlegt die Retentionsbereiche der Mono- und Sesquiterpene

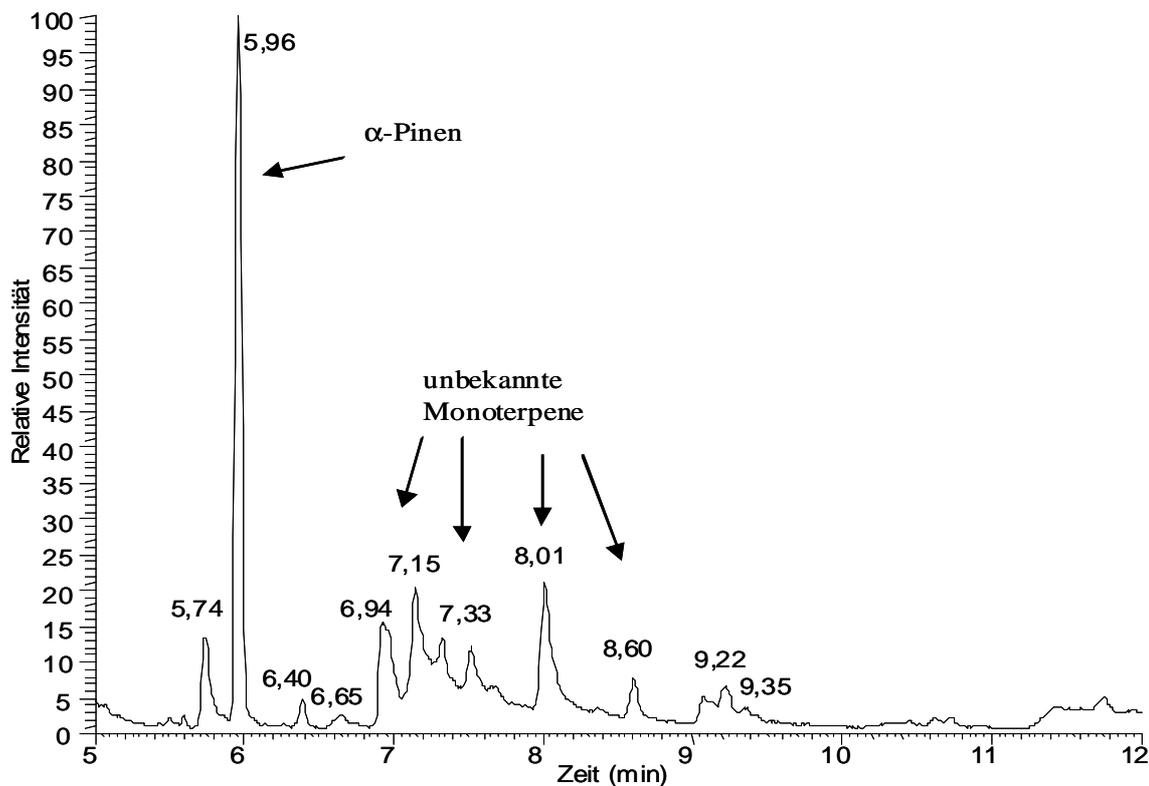


Abbildung 4.42: Ausschnitt des Chromatogramm ausgewählter m/z-Verhältnisse (Terpenmassenspur) im Bereich der Monoterpene der marinen Emissionsprobe vom 04.07.2006

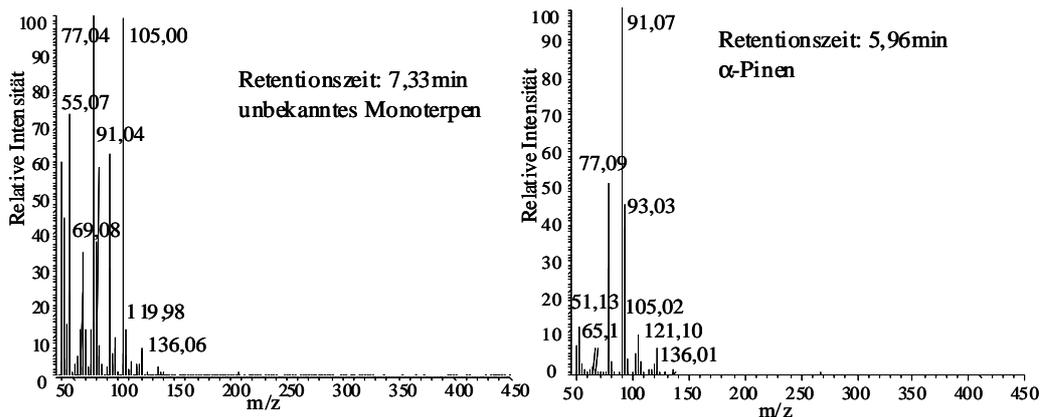


Abbildung 4.43: Massenspektrum bei Retentionszeit 5,96 min und 7,33 min (Irland 04.07.2006)

Die folgende Abbildung 4.44 stellt den vergrößerten Chromatogrammausschnitt im Bereich der Sesquiterpene dar. Hier ist neben den geringeren Konzentrationen im Vergleich zur Analyse von 2007 auch die Menge an Signalen geringer. Mit hoher Wahrscheinlichkeit handelt es sich bei dem Signal mit der Retentionszeit von 24,00 min um Longicyclen. Die beiden anderen Sesquiterpene konnten nicht eindeutig identifiziert werden. Ihre Massenspektren befinden sich unter dem Chromatogramm (Abbildung 4.45).

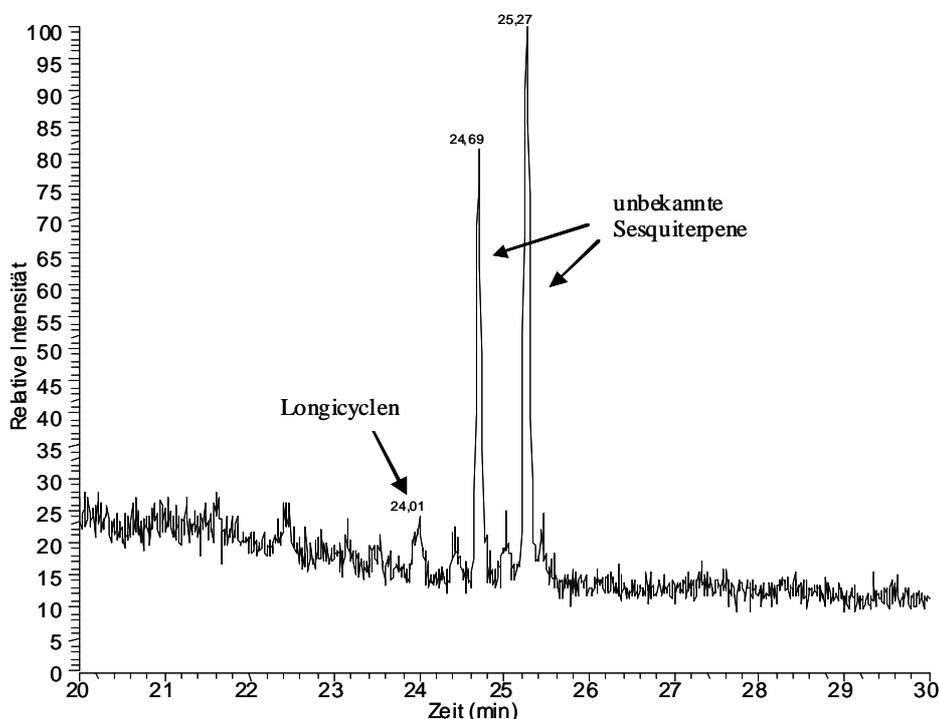


Abbildung 4.44: Ausschnitt des Chromatogramm ausgewählter m/z-Verhältnisse (Terpenmassenspur) im Bereich der Sesquiterpene der marinen Emissionsprobe vom 04.07.2006

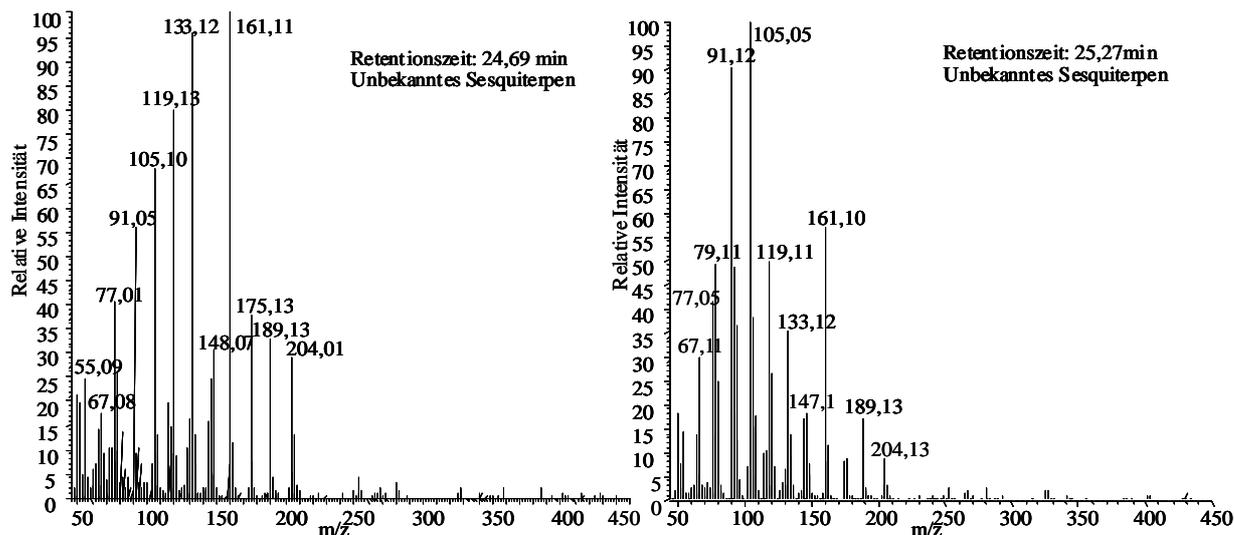


Abbildung 4.45: Massenspektrum bei Retentionszeit 24,69 min und 25,27 min (Irland 04.07.2006)

Als mögliche andere Emissionsquelle der nachgewiesenen Terpene können umgebende Pflanzen wie Gräser, Büsche etc. nicht vollständig ausgeschlossen werden. Dagegen spricht allerdings der Umstand, dass die Hauptwindrichtung zum Probenahmezeitpunkt im Westen lag. Damit kam der Wind direkt vom Meer, was auch durch die Bestimmung der halogenhaltigen Verbindungen verifiziert wurde. Die Anzahl und Konzentration der analysierten Terpene kann sowohl durch die unterschiedlichen Probenahmeorte als auch durch das Vorkommen verschiedener Algen sowie den Probenahmezeitpunkt oder den Tidenstand bedingt worden sein. Die nachgewiesenen Terpen-Konzentrationen korrelierten in einer ersten Abschätzung weitgehend mit der Sonnenintensität und damit dem Ozongehalt. Die in der Literatur beschriebenen Konzentrationen für Iodmethan liegen im Bereich von 0,12-12,03 pptv (Carpenter, 2003) und für Diiodmethan bei etwa 0,02-0,4 pptv (Carpenter, 1999). Der Nachweis dieser Verbindungen bestätigt die Empfindlichkeit des neuen TD-GCMS-Systems.

Anschaulich wird in diesen Beispielen demonstriert, welche Möglichkeiten sich nun durch den neu entwickelten Injektor für die Bestimmung von flüchtigen organischen Substanzen eröffnen. An beiden Standorten mit unterschiedlichem Algenvorkommen und zu beiden Messperioden wurden wechselnde Konzentrationen von flüchtigen organischen Iodverbindungen detektiert. Ein direkter Zusammenhang zur Tide konnten nicht gefunden werden. Die Photolyseabilität von Diiodmethan wurde allerdings durch Nachmessungen bzw. Messungen bei Bewölkung und Regen unterstrichen. Neu ist die Analyse von Mono- und Sesquiterpenen in marinen Emissionsproben. Ob diese wirklich von Algen stammen muss noch weitergehend untersucht werden. Halogenierte Terpene konnten in keiner Emissionsanalyse nachgewiesen werden.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung einer Thermodesorptionseinheit für die Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC/MS) und deren Anwendung zur Analyse hochreaktiver Verbindungen. Daher befasst sich der erste Teil mit dem Aufbau der allgemeinen Charakterisierung der Thermodesorption mit Kryofokussierung, die als Injektor für die Gaschromatographie dient. Diese ermöglicht die Aufnahme unterschiedlich langer Adsorptionsröhrchen durch handelsübliche Swagelok[®]-Verschraubungen. Ein speziell der Röhrchengometrie angepasster Messingofen erlaubt eine in der Dauer und Länge des Aufheizprozesses variablen Desorption. Ebenso flexibel in Bezug auf die Parameter Temperatur und Zeit ist die angeschlossene Kryofokussierung. Diese wurde in den beschriebenen Experimenten mit flüssigem Stickstoff betrieben. Mittels einer Injektorheizung konnte eine schnelle Injektion der fokussierten Analyten realisiert werden.

Das komplette Desorptionsprogramm und der Start der GC/MS-Analyse erfolgen vollautomatisch. Die Änderung der Parameter und die Steuerung erfolgen über eine eigens dafür geschaffene Bedienoberfläche von Labview[®] an einem PC über eine nachgeschaltete SPS (speicherprogrammierbare Steuerung). Zur Aufnahme von Serienmessungen, beispielsweise Kalibrierungsreihen, wäre ein Autosampler sicherlich noch wünschenswert.

Für die Anwendung wurde die Klasse der Terpene, insbesondere die Sesquiterpene, ausgewählt. Diese lassen sich mit handelsüblichen Thermodesorptionseinheiten meist nicht ohne Artefakte nachweisen. Dabei beruhen Verluste der Analyten häufig auf der Reaktion an aktiven Oberflächen, während positive Artefakte aus Isomerisierungen hervorgehen. In Feldmessungen konnten Sesquiterpene auch bisher kaum nachgewiesen werden, da sie nur in Spuren vorkommen und hochreaktiv in Bezug auf Ozon sind. Exemplarisch wurden als Modellverbindungen 4 Monoterpene und 6 Sesquiterpene ausgewählt, die in der Literatur schon als Pflanzeninhaltsstoffe beschrieben und deren Reaktionsratekonstante mit Ozon bekannt sind. Durch die Bildung von Oxidationsprodukten gelten diese flüchtigen Kohlenwasserstoffe als mögliche Quellen für Aerosole. Um den Einfluss auf die Partikelbildung genauer zu untersuchen, sind die Charakterisierung, Quantifizierung und Studien zur Reaktivität gasförmiger Vorläufersubstanzen wie beispielsweise Mono- und Sesquiterpene von großer Bedeutung.

Für quantitative Studien wurden Diffusionsquellen aufgebaut, deren zentrales, den Analyt beinhaltendes Gefäß speziell angefertigt wurde. Auch eine Probenahmestation aus silanisierendem Glas mit Anschlüssen für die Diffusionsquellen, angefeuchtetem Stickstoff, Ozon und Propen sowie verschiedenen Versuchskammern wurde gefertigt. Durch diese Vorrichtungen sowie die neue Thermodesorptionseinheit konnten Kalibrierungen im Bereich von 0,5 ng bis 250 ng für ausgewählte Mono- und Sesquiterpene problemlos und reproduzierbar durchgeführt werden. Die Ergebnisse

der Diffusionsquellen stimmten gut mit Vergleichsmessungen durch auf Adsorptionsröhrchen aufgebrachte Verdünnungsreihen überein. Alle Analysen erfolgten dabei durch das TD-GC-EI-IT-MS-System. Eine verbesserte Möglichkeit der Quantifizierung mittels Lösungsmittel (Cyclohexan) könnte man durch einen gasdichten Aufbau mittels Septum, Spitze und Probenahmepumpe erreichen.

Es folgte die Entwicklung einer neuen „Ozon-Scrubber“-Methode und deren Anwendung in Freilandmessungen. Bei dieser Methodenentwicklung ging es nicht, wie in der Literatur schon häufig veröffentlicht, um die Verringerung des Ozon durch aktive Oberflächen oder Aktivkohle, sondern um die Zugabe eines Reaktandgases zum Schutz der Analyte. Für diesen Zweck wurde Propen aufgrund seiner Reaktionsfähigkeit und seiner Oxidationsprodukte ausgewählt. Durch die Ozonolyse des im Überschuss vorliegenden Propens konnten die meisten Terpene vollständig vor der Reaktion mit Ozon bewahrt werden wie die quantitativen Analysen zeigen. Für hochreaktive Analyte wie α -Humulen oder β -Caryophyllen wurden Wiederfindungsraten von über 80 % erreicht. Diese Ergebnisse konnten sowohl für die Reaktionsmischungen, als auch für die bereits auf dem Adsorptionsröhrchen befindlichen Terpene gezeigt werden, so dass ein Schutz vor einer Abbaureaktion durch Propen jederzeit gewährleistet war. Vergleichsmessungen ohne Propen als Ozon-Scrubber im Labor und Feld zeigten die Ozonverminderung deutlich. Aufbauend auf diesen Laborstudien wurden Feldmessungen am kleinen Feldberg im Taunus durchgeführt. Dort existiert hauptsächlich Fichtenwald. Um die Emissionen der Fichte und die möglichen Reaktionen im Vorhinein zu klären, wurden Fichtenemissionen an einem getopften Exemplar im Labor analysiert. So war es möglich, geringe Mengen an Mono- und Sesquiterpen bei Ozonwerten um die 100 ng/m³ (semi)quantitativ nachzuweisen. Es konnten keine Probleme bezüglich störender Blindwerte und Durchbruchsvolumen durch Propen mit den verwendeten Adsorptionsröhrchen festgestellt werden.

Der quantitative Nachweis der Sesquiterpene in Feldmessungen gestaltete sich aus den obengenannten Punkten als recht schwierig, da die nachgewiesenen Konzentrationen im Bereich der Nachweisgrenze liegen. Eine weitere Verbesserung der Methode in Bezug auf die hochreaktiven Verbindungen, um verlustfrei auch bei sehr hohen Ozonkonzentrationen arbeiten zu können, wäre wünschenswert. Zudem wurden die Quantifizierungen nur mit externen Kalibrationen durchgeführt. Der Einsatz eines internen Standards, der schon vor der eigentlichen Probenahme auf die Adsorptionsröhrchen aufgegeben werden könnte, würde Vorteile mit sich bringen. Für diesen Zweck sollte eine mittelflüchtige, unreaktive Verbindung (Molmasse > 250, C17-C20, cyclisches Alkan / Alken oder halogenierte Verbindung) ausgewählt werden. Des Weiteren könnten Versuche zum Nachweis der reaktiven Sesquiterpene mittels wenig reaktiver Marker erfolgen. Als Beispiel für eine Markersubstanz sei Longicyclen genannt. Dazu müsste allerdings das Verhältnis zwischen der Longicyclen-Emission und der Analytkonzentration bekannt sein, oder Longicyclen

als internen Standard verwenden und die Quantifizierung über eine Standardaddition vornehmen.

Als weitere Resultate zur Anwendung der neuen Thermodesorptionseinheit in Bezug auf den Nachweis der Terpene wurden biogene Emissionsproben unter verschiedenen Aspekten wie Reproduzierbarkeit der Probenahme (Feldmessungen), Methodenvergleich, Temperaturabhängigkeit der Emissionen in Außenluftmessungen und Anwendungen für halogenhaltige Analyten beleuchtet. Zudem wurde die Möglichkeit der Unterscheidung verschiedener Arten der gleichen Gattung anhand der Emissionsmuster und die mögliche Unterscheidung verschiedener Bestäubertypen untersucht.

Die Reproduzierbarkeit der Feldmessungen erwies sich an neun Beispielen der *Aristolochia Salvadorensis* als ausgesprochen gut. Es gab keine signifikanten Abweichungen in der Wiederfindung der Terpene in der Intensität und der Retentionszeit. Ein weiterer qualitativer und quantitativer Methodenvergleich erfolgte zwischen biogenen Emissionsmessungen mit anschließender TD-GC/MS-Analyse und Extraktionen der jeweiligen Blüten mit anschließender GC/MS-Messung. Auch diese Ergebnisse waren sehr gut. Zwar konnten nicht alle Substanzen, die durch die Extraktion nachgewiesen wurden auch in den Emissionen gefunden werden. Allerdings liegt dies auch in den Motiven der biogenen Emissionen von Terpenen begründet. Sekundärmetaboliten wie Terpene dienen z.B. der Attraktion von Insekten oder der Abwehr von Fraßfeinden und werden nur zu diesem Zweck freigesetzt. An diesem Punkt können sich weitere Studien anschließen, um Zusammenhänge bezüglich dem Stress von Pflanzen und der Emission von Terpenen zu klären. Ebenso ist die Attraktion von Bestäubern auf dem Gebiet der Emission in weiten Teilen trotz des Verfahrens der Antennographie noch vielfach unbekannt.

Ein bisher wenig beachteter Faktor der biogenen Emissionen ist die Temperaturabhängigkeit. Hier konnte eindrucksvoll am Beispiel der Feldmessung unter Einsatz des neuen Ozon-Scrubbers gezeigt werden, wie groß der Zusammenhang ist und dass zur Vergleichbarkeit unterschiedlicher Messungen Angaben zur Temperatur nicht fehlen dürfen.

Auch die Zuordnung von Pflanzenspezies innerhalb einer Gattung anhand des Emissionsmusters wurde an Beispielen durchgeführt. Hier fanden sich überraschende Ergebnisse. Bei Blüten der Gattung *Aristolochia* wurden Sesquiterpenen in großer Menge festgestellt, auch wenn diese teilweise für ihren unangenehmen Geruch bekannt sind. Zudem gibt es starke Parallelen zwischen den Emissionen aller untersuchten Arten. Daher ist durch die Emissionsanalysen zusätzlich zu anderen Vergleichen eine Zuordnung der Verwandtschaftsverhältnisse möglich.

Viele Analysen wurden zur Überprüfung der Bestäubertheorie angefertigt. Dabei ging es um den Nachweis der Verringerung von nicht mehr benötigten Sekundärmetaboliten wie Terpenen beim Bestäuberwechsel z.B. von Insekten zu

Vögeln. Es wurde eine neue Probenahmevorrichtung aufgebaut, die es ermöglicht direkt im Inneren bzw. unmittelbarer Umgebung der Blüte mit sehr niedrigen Flussraten Emissionsproben zu nehmen. Als Ergebnis lässt sich sagen, dass die Bestäubertheorie für die Monoterpene nur in der Ausprägung bzw. der Menge der Emissionen zu trifft. Für die Sesquiterpene allerdings konnte die These durchaus untermauert werden. Es wurden keine Sesquiterpenen in den Blütenemissionen der vogelbestäubten Pflanzen analysiert (Ausnahme *Salvia Oxyphora*). Über das unterschiedliche Verhalten dieser *Salvia*-Arten lässt sich hier nur spekulieren. Aufbauend auf den Ergebnissen und der Bestäubertheorie wäre es interessant eine umfangreiche Messreihe an weiteren *Salvia*-Arten durchzuführen, deren Verwandtschaftsbeziehungen bereits bekannt sind.

Ein weiteres Beispiel für den Einsatz des TD-GCMS-Systems ist die Bestimmung von halogenhaltigen Analyten und von Terpenen in Realproben der westirischen Küste. So konnten problemlos reaktive Spurenkomponenten wie Iodmethan und Diiodmethan neben Mono- und Sesquiterpenen zweifelsfrei identifiziert werden. Bestehende Erkenntnisse wie die Licht- und Ozonolyse-Empfindlichkeit der Analyten wurden durch die Untersuchungen bestätigt. Dies verdeutlicht den breiten Anwendungsbereich und die Empfindlichkeit des Systems. Um die Herkunft der beobachteten Terpene genauer zu klären, sollte weitere Studien erfolgen. Terpene, besonders Mono- und Sesquiterpene gelten neben den flüchtigen halogenhaltigen Verbindungen als Vorläufer des sekundären organischen Aerosols (*secondary organic aerosol*, SOA) und wurden bisher in der marinen Umgebung kaum beachtet.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass im Zuge dieser Arbeit ein neues Thermodesorptionssystem als Injektor für die GC/MS entwickelt wurde, mit dem es möglich ist flüchtige, hochreaktive Analyten im Spurenbereich in Realproben quantitativ zu bestimmen. Des Weiteren erfolgte die Entwicklung und Anwendung eines neuen Ozon-Scrubbers auf Basis von Propen, der es ermöglicht reaktive Verbindungen auch bei hohen Ozonkonzentrationen in Feldmessungen nachzuweisen. Dargestellt werden konnten auch die gute Reproduzierbarkeit der Probennahme und der Vergleich mit anderen Methoden (Kalibration in Cyclohexan, Extraktion mit Flüssiginjektion). Anhand von verschiedenen Beispielen (u.a. Fichte (*Picea abies*), Salbei (*Salvia*), *Aristolochia*, maritime Emissionsproben) wurde das weit gefächerte Anwendungspotential des Systems zur Analyse hochreaktiver Verbindungen wie Sesquiterpene und halogenhaltigen Kohlenwasserstoffen demonstriert und bestehende Theorien wie z.B. die Temperaturabhängigkeit der Emission weiter gefestigt. Mit interdisziplinären Projekten wie beispielsweise der Bestäubertypen-Analyse bei *Salvia*-Arten sind neue Möglichkeiten zur Anwendung des TD-GCMS-Systems eröffnet worden. Um die Zusammenhänge, die zur Emission flüchtiger organischer Substanzen führen, zu verstehen, müssen jedoch noch weitere Anstrengungen unternommen werden. Dabei sollten jedoch stets abiotische und biotische Faktoren wie Temperatur und Fertilitätslevel der Pflanzen ausreichend Beachtung finden.

Literaturverzeichnis

- Arimura, G. Köpke, S., Kunert, M., Volpe, V., David, A., Brand, P., Dabrowska, P., Maffei, M.E., Boland, W. Effects of feeding *Spodoptera littoralis* on lima bean leaves: IV. Diurnal and nocturnal damage differentially initiate plant volatile emission. *Plant. Physiol.* 2008 Mar;146(3):965-73.
- Arimura, G., Kost, C., Bohland, W. Herbivore-induced, indirect plant defences. *Biochim Biophys Acta.* 2005 May 15;1734(2):91-111. Epub 2005 Mar 17.
- Arnts, R. Reduction of biogenic VOC sampling losses from ozone via trans-2-buten addition *Environ. Sci. Technol.* 2008, 42, 7663-7669
- Atkinson, R. and Arey, J. Gas-phase tropospheric chemistry of volatile organic compounds: a review, *Atmospheric Environ.* , 37, 197-219, 2003
- Atkinson, R. Gas-phase tropospheric chemistry of volatile organic compounds 1. Alkanes and alkenes, *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 26, 215-290, 1997
- Atkinson, R., Arey, J., *Atmospheric Chemistry of Biogenic Organic Compounds*, *Accounts of Chemical Research* 31, 574-583. 1998
- Atkinson, R., Aschmann, S.M., Arey, J. and Shorees, B. Formation of OH Radicals in the Gas Phase Reactions of O₃ with a Series of Terpenes, *J. Geophys. Res.*, 97, 6065-6073, 1992
- Baker, A. R. Inorganic iodine speciation in tropical Atlantic aerosol. *Geophysical Research Letters* 31, L23S02 (2004).
- Baker, A. R., Thompson, D., Campos, M. L. A. M., Parry, S. J. & Jickells, T. D. Iodine concentration and availability in atmospheric aerosol. *Atmospheric Environment* 34, 4331-4336 (2000).
- Baker, A. R., Tunnicliffe, C. & Jickells, T. D. Iodine speciation and deposition fluxes from the marine atmosphere. *Journal of Geophysical Research* 106, 28743-28749 (2001).
- Baker, A.R. Marine Aerosol Iodine Chemistry: The importance of soluble organic iodine; *Environ. Chem.* 2, 295-298 (2005)
- Bonn, B., Moortgat, G.K., 2003: Sesquiterpene ozonolysis: Origin of atmospheric new particle formation from biogenic hydrocarbons, *Geophysical Research Letters* 30 (11), Art.Nr. 1585.
- Breitmaier, Terpene – Aromen, Düfte, Pharmaka, Pheromone, 2. Auflage, 2005
- Bricchini, I., Leitner, M., Foti, M., Mithöfer, A., Bohland, W., Maffei, M.E. Robotic mechanical wounding (MecWorm) versus herbivore-induced responses: early signaling and volatile emission in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) *Planta.* 2010 Aug;232(3):719-29
- Calogirou, A., Larsen, B. R. and Kotzias, D.: Gas-phase terpene oxidation products: a review, *Atmos. Environ.*, 33, 1423-1439, 1999.

- Calogirou, A., Larsen, B.R., Brussol, C., Duane, M., Kotzias, D. Decomposition of Terpenes by Ozone during Sampling on Tenax Anal. Chem. 1996, 68, 1499-1506
- Cammann, K. (2000). Instrumentelle Analytische Chemie, Spektrum Verlag.
- Carpenter, L. J. & Lewis, A. C. Ocean-atmosphere exchange of reactive halocarbons and hydrocarbons. Recent Research Developments in Geophysics 4, 45-56 (2002).
- Carpenter, L. J. et al. Short-lived alkyl iodides and bromides at Mace Head, Ireland: links to biogenic sources and halogen oxide production. Journal of Geophysical Research (Atmospheres) 104, 1679-1689 (1999).
- Carpenter, L. J. Iodine in the Marine Boundary Layer. Chemical Reviews 103, 4953-4962 (2003).
- Carpenter, L. J., Liss, P. S. & Penkett, S. A. Marine organohalogen in the atmosphere over the Atlantic and Southern oceans. Journal of Geophysical Research (Atmospheres) 108, ACH 1/1 - ACH 1/13 (2003).
- Carpenter, L. J., Malin, G., Kuepper, F. & Liss, P. S. Novel biogenic iodine-containing trihalomethanes and other short-lived halocarbons in the coastal East Atlantic. Global Biogeochem. Cycles 14, 1191-1204 (2000).
- Carpenter, L.J. et al.; Abiotic source of reactive organic halogens in the sub-arctic atmosphere?; Environ. Sci. Technol. 39, 8812 (2005)
- Chen, F., Al-Ahmad, H., Joyce, B., Zhao, N., Köllner, T. G., Degenhardt, J., Stewart, N. Jr.: Within-plant distribution and emission of sesquiterpenes from *Copaifera officinalis*, Plant Physiology and Biochemistry 47, 1017–1023, 2009
- Cheng, A.-X., Lou, Y.-G., Mao, Y.-B., Lu, S., Wang, L.-J und Chen, X.-Y., Plant Terpenoids: Biosynthesis and Ecological Functions, Journal of Integrative Plant Biology, 49 (2): 179–186, 2007
- Claßen-Bockhoff, R., Wester, P., Tweraser, E., The staminal lever mechanism in *Salvia L. (Lamiaceae)*- a review, Plant biologie 5 (2003), 33-41
- Degenhardt, J. Gershenzon, J., Ian T Baldwin, I. T. und Kessler, A., Attracting friends to feast on foes: engineering terpene emission to make crop plants more attractive to herbivore enemies, Current Opinion in Biotechnology, 14:169–176, 2003
- Dement, W., Tyson, B., und Mooney, H. Mechanism of monoterpene volatilization in *salvia mellifera*, Physiochemistry, 1975, Vol 14, 2555-2557
- Dudareva, N., Andersson, S., Orlova, I., Gatto, N., Reichelt, M., Rhodes, D., Bohalnd, W., Gershenzon, J. The nonmevalonate pathway supports both monoterpene and sesquiterpene formation in snapdragon flowers. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005 Jan 18;102(3):933-8.
- Duhl, T. R., Helmig, D., und Guenther, A.: Sesquiterpene emissions from vegetation: a review, Biogeosciences, 5, 761–777, 2008
- Gershenzon, J. und Dudareva, N.: The function of terpene natural products in the natural world, Nature chemical Biology, Vol. 3, No.. 7, 408-414, 2007

- Griffin, R. J. Cocker, D.R., Seinfeld, J. H. and Dabdub, D. Estimation of global atmospheric organic aerosol from oxidation of biogenic hydrocarbons *Geophys. Res. Lett.*, 26, 2721-2724, 1999
- Gross, J. H.: *Mass Spectrometry*, Springer Verlag, Berlin, 2004.
- Hakola, H., Tarvainen, V., Back, J., Ranta, H., Bonn, B., Rinne, J. and Kulmala, M.: Seasonal variation of mono- and sesquiterpene emission rates of Scots pine, *Biogeosciences*, 3, 93-101, 2006.
- Hakola, H., Tarvainen, V., Bäck, J., Ranta, H., Bonn, B., Rinne, J., Kulmala, M., 2006: Sea-seasonal variation of mono- and sesquiterpene emission rates of Scots pine, *Biogeosciences* 3, 93-101.
- Hänsel, R. u. Sticher, O., *Pharmakognosie- Phytopharmacie*, 9. Auflage, Springer Medizin Verlag, 2010
- Hartmann, T.: From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolites. *Phytochemistry* 68, 2831–2846, 2007
- Hattab et al., Comparison of various extraction methods for identification and determination of volatile metabolites from the brown alga *Dictyopteris membranacea* *Journal of Chromatography A*, 1143 (2007) 1–7
- Heiden, A. C. Einfluß verschiedener Stressoren auf die Emission pflanzlicher flüchtiger organischer Verbindungen, 1997
- Heil, M., Greiner, S., Meinberg, H., Krüger, R., Noyer, J.L., Heubl, G., Linsenmair, K.E., Bohland, W. Evolutionary change from induced to constitutive expression of an indirect plant resistance. *Nature*, 2004 Jul 8;430(6996):205-8.
- Heil, M., Lion, U., Bohland, W. Defense-inducing volatiles: in search of the active motif. *J. Chem. Ecol.* 008 May;34(5):601-4.
- Heldt, Hans-Walter, *Pflanzenbiochemie*, - 3. Aufl. - Heidelberg [u.a.] : Spektrum, Akad. Verl., 2003
- Helmig, D., Revermann, T. Pollmann, J. , et al. Calibration system and analytical considerations for quantitative sesquiterpene measurements in air, *Journ. Of Chrom. A*, 1002 (2003), 193-211
- Helmig, D., Bocquet, F., Pollmann, J., Revermann, T. Analytical techniques for sesquiterpene emission rate studies in vegetation enclosure experiments, *Atmospheric Environment* 38 (2004) 557–572
- Helmig, D. Ozone Removal Techniques in the sampling of atmospheric volatile organic trace gases , *Atmos. Envir.* Vol 31, No 21, 1997, 3635-3651
- Helmig, D., Klinger, L. F., Guenther, A., Vierling, L., Geron, C. and Zimmerman, P.: Biogenic volatile organic compound emissions (BVOCs) I. Identifications from three continental sites in the US, *Chemosphere*, 38, 2163-2187, 1999a.
- Helmig, D., Klinger, L. F., Guenther, A., Vierling, L., Geron, C. and Zimmerman, P.: Biogenic volatile organic compound emissions (BVOCs) II. Landscape flux potentials from three continental sites in the US, *Chemosphere*, 38, 2189-2204, 1999b.

- Helmig, D., Ortega, J., Duhl, T., Tanner, D., Guenther, A., Harley, P., Wiedinmyer, C., Milford, J. and Sakulyanontvittaya, T.: Sesquiterpene emissions from pine trees - Identifications, emission rates and flux estimates for the contiguous United States, *Environmental Science & Technology*, 41, 1545-1553, 2007.
- Hoffmann, E. de, Stroobant, V., 2007: *Mass Spectrometry: Principles and Applications*, Wiley & Sons, West Sussex.
- Hoffmann, T.: *Entwicklung eines Verfahrens zur Messung luftgetragener biogener Kohlenwasserstoffe und seiner Anwendung zur Untersuchung von Emissionen und Abbau von Terpenen in Waldbeständen*, 1992
- Hoffmann, T., Bandur, R., Marggraf, U., Linscheid, M.: Molecular composition of organic aerosols formed in the alpha-pinene/O₃ reaction: Implications for new particle formation processes, *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* 103 (D19), 25569-25578. 1998
- Hoffmann, T., Odum, J.R., Bowman, F., Collins, D., Klockow, D., Flagan, R.C., Seinfeld, J.H., Formation of Organic Aerosols from the Oxidation of Biogenic Hydrocarbons, *Journal of Atmospheric Chemistry* 26, 189-222. 1997
- Hoffmann T., J.H. Seinfeld and C. O'Dowd Iodine oxide homogeneous nucleation: An explanation for coastal new particle production *Geophys. Res. Lett.*, 28, (10), 1949-1952 (2001)
- Hoffmann, T. Adsorptive Preconcentration Technique Including Oxidant Scavenging for the Measurement of reactive Natural Hydrocarbons in Ambient Air, *Fres. Journ. Of Anal. Chem*, 351, 1995, 41-47
- Holopainen, J. K.: Multiple functions of inducible plant volatiles *Trends in Plant Science*, Vol.9 No.11, 2004
- Holzke, C., Hoffmann, T. Jaeger, L., Koppmann, R., Zimmer, W. Diurnal and seasonal variation of monoterpene and sesquiterpene emissions from Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) *Atmospheric Environment* 40 (2006) 3174–3185
- Ji, N.-Y. et al, Halogenated Sesquiterpenes from the Marine Red Alga *Laurencia saitoi* (Rhodomelaceae) *Helvetica Chimica Acta – Vol. 92*, 1873pp, (2009)
- Kamenarska, Z. et al., Volatile compounds from some Black Sea red algae and their chemotaxonomic application, *Botanica Marina* 49 (2006): 47–56
- Kesselmeier, J. und Staudt, M.: Biogenic Volatile Organic Compounds (VOC): An Overview on Emission, Physiology and Ecology, *Journal of Atmospheric Chemistry* 33: 23–88, 1999.
- Kesselmeier, J., Staudt, M., 2000: Kapitel 2.8.2: Biogene flüchtige Kohlenwasserstoffe, In: *Handbuch der Umweltveränderungen und Ökotoxikologie: Band 1A: Atmosphäre: Anthropogene und biogene Emissionen – Photochemie der Troposphäre – Chemie der Stratosphäre und Ozonabbau*, Hrsg. Robert Guderian, Springer Verlag, Berlin – Heidelberg.
- Kolb, B. *Gaschromatographie in Bildern*, Weinheim [u.a.] : Wiley-VCH, 1999
- Komenda, M., Parusel, E., Wedel, A. & Koppmann, R. Measurements of biogenic VOC emissions: sampling, analysis and calibration. *Atmospheric Environment* 35, 2069-2080 (2001).

- Lappalainen, H. K., Sevanto, S., Bäck, J., Ruuskanen, T. M., Kolari, P., Taipale, R., Rinne, J., Kulmala, M., and Hari, P. Day-time concentrations of biogenic volatile organic compounds in a boreal forest canopy and their relation to environmental and biological factors, *Atmos. Chem. Phys.*, 9, 5447–5459, 2009
- Laternus, F. Marine Macroalgae in Polar Regions as Natural Sources for Volatile Organohalogenes. *Environ Sci & Pollut Res* 8, 103-108 (2001).
- Laternus, F., Giese, B., Wiencke, C. & Adams, F. C. Low-molecular-weight organoiodine and organobromine compounds released by polar macroalgae – The influence of abiotic factors. *Fresenius J Anal Chem* 368 (2000).
- Lovelock, J. E. Natural halocarbons in the air and in the sea. *Nature* 256, 193-194 (1975).
- Lovelock, J.E.; Natural halocarbons in the air and in the sea; *Nature* 256, 193-194 (1974)
- Maffei, M.E., Mithöfer, A., Bohland, W. Before gene expression: early events in plant-insect interaction *Trends Plant Sci.* 2007 Jul;12(7):310-6. Epub 2007 Jun 26.
- McFiggans, G. Atmospheric science: Marine aerosols and iodine emissions (Arising from: O'Dowd C. et al. *Nature* 417, 632-636, 2002). *Nature* 433, E13 (2005)
- McFiggans, G. et al. A modeling study of iodine chemistry in the marine boundary layer. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* 105, 14371-14385 (2000)
- McFiggans, G. et al. Direct evidence for coastal iodine particles from *Laminaria* macroalgae linkage to emissions of molecular iodine. *Atmospheric Chemistry and Physics Discussions* 4, 939-967 (2004).
- McFiggans, G., Coe, H., Burgess, R., Allan, J., Cubison, M., Alfarra, M. R., Saunders, R., Saiz-Lopez, A., Plane, J. M. C., Wevill, D. J., Carpenter, L. J., Rickard, A. R. and Monks, P. S.: Direct evidence for coastal iodine particles from *Laminaria* macroalgae - linkage to emissions of molecular iodine, *Atmospheric Chemistry and Physics*, 4, 701-713, 2004.
- Mössinger, J. et al.; UV-vis absorption cross-sections and atmospheric lifetimes of CH₂Br₂, CH₂I₂ and CH₂IBr; *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 94/10, 1391-1396 (1998)
- O'Dowd, C. D. et al. Atmospheric science: Marine aerosols and iodine emissions (Reply). *Nature* 433, E13-E14 (2005).
- O'Dowd, C. D. et al. On the photochemical production of new particles in the coastal boundary layer. *Geophysical Research Letters* 26, 1707-1710 (1999)
- O'Dowd, C.D. u. Hoffmann, T. *Environ. Chem.* 2, 245-255 (2005)
- Pollmann, J., Ortega, J. Helmig, D. Analysis of Atmospheric Sesquiterpenes: Sampling Losses and Mitigation of Ozone Interferences, *Environ. Sci. Technol.* 2005, 39, 9620-9629
- Prüfer, D., Schulze Gronover, C., Müller, K. ; Terpene – Vorkommen, Bedeutung und Anwendung in der Biotechnologie, *Chemie Ingenieur Technik*, Volume 79, Issue 9, page 1360, September 2007

- Radulescu, V., Chiliment, S., Oprea, E. Capillary gaschromatography-mass spectrometrie of volatile and semi-volatile compounds of *Salvia officinalis*, *Journal of Chromatography A*, 1027 (2004), 121-126
- Reinnig, M.-C., Müller, L., Warnke, J., Hoffmann, T. Characterization of selected organic compound classes in secondary organic aerosol from biogenic VOCs by HPLC/MSn Anal. *Bioanal. Chem.* (2008)
- Schall, C. & Heumann, K.G.; GC determination of volatile organoiodine and organobromine compounds in Arctic seawater and air samples; *Fresenius J. Anal. Chem.* 346, 717-722 (1993)
- Schnelle-Kreis et al., 41, 220-230, *Chem. Unserer Zeit*, 2007
- Schuh, G., Heiden, A. C., Hoffmann, Th, Kahl, J., Rockel, P., Rudolph, J. and Wildt, J. Emissions of Volatile Organic Compounds from Sunflower and Beech: Dependence on Temperature and Light Intensity *Journal of Atmospheric Chemistry* 27: 291–318, 1997
- Seinfeld, J.H., Pandis, S.N. *Atmospheric chemistry and physics*, John Wiley & Sons, Inc.; ISBN 0471-17815-2, 1998
- Shu, Y. and Atkinson, R. Atmospheric lifetimes and fates of a series of sesquiterpenes, *J. Geophys. Res.*, 100, 7275-7281, 1995
- Shu, Y. and Atkinson, R. Rate constants for the gas-phase reaction of O₃ with a series of terpenes and OH radical formation from the O₃ reaction with sesquiterpenes at 296 +2K, *Intern. J. Chem. Kinet.*, 28, 1193-1205, 1994
- Skoog, D. A. and Leary, J. J.: *Instrumentelle Analytik*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1996.
- Takekawa, H., Minoura, H. et al., Temperatur dependence of secondary organic aerosol formation by photo-oxidation of hydrocarbons, *Atmospheric Environment*, 37, 24, 3413-3424, 2003
- Tholl, D., Bohland, W., Hansel, A., Loreto, F., Röse, U.S., Schnitzler, J.P. Practical approaches to plant volatile analysis, *Plant J.* 2006 Feb;45(4):540-60..
- Tholl, D., Boland, W., Hansel, A., Loreto, F., Röse, U. S. R. , und Schnitzler, J.-P.: Practical approaches to plant volatile analysis, *The Plant Journal* 45, 540–560, 2006
- Waterman, P.G.: The current status of chemical systematics, *Phytochemistry* 68, 2896–2903, 2007
- Wink, M.: Evolution of Secondary Plant Metabolism, *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*, December 2008
- Wu, T.-S., Damu, A. G., Su, C.-R., Kuo, P.-C. Terpenoids of *Aristolochia* and their biological activities, *Nat. Prod. Rep.*, 2004, 21, 594-624
- Yu, F. und Utsumi, R., Diversity, regulation, and genetic manipulation of plant mono- and sesquiterpenoid biosynthesis, *Cell. Mol. Life Sci.*, 66:3043–3052, 2009

Danksagung

Anhang

A-1 Zu Kapitel 2

A-2 Zu Kapitel 3

A-3 Zu Kapitel 4

A-1 Zu Kapitel 2



Abb. A-1.1: Foto der Mitsubishi SPS und des PIDG

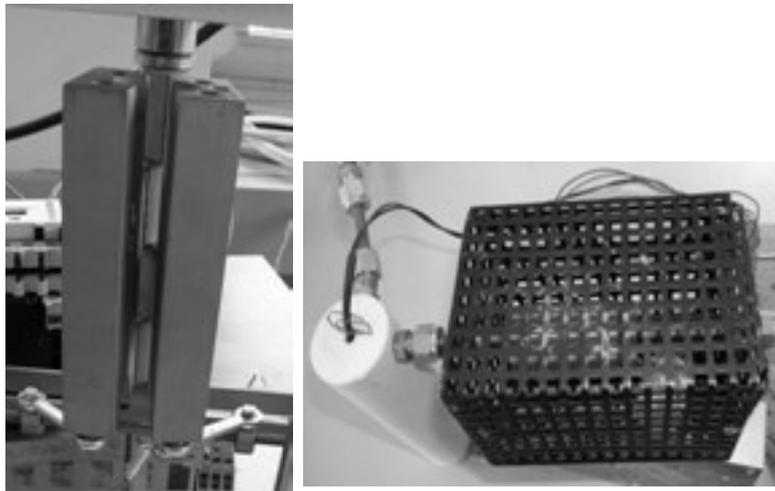


Abb. A-1.2: Foto des Ofens und des Teflon-Blocks der Kühlfalle mit Injektorheizung

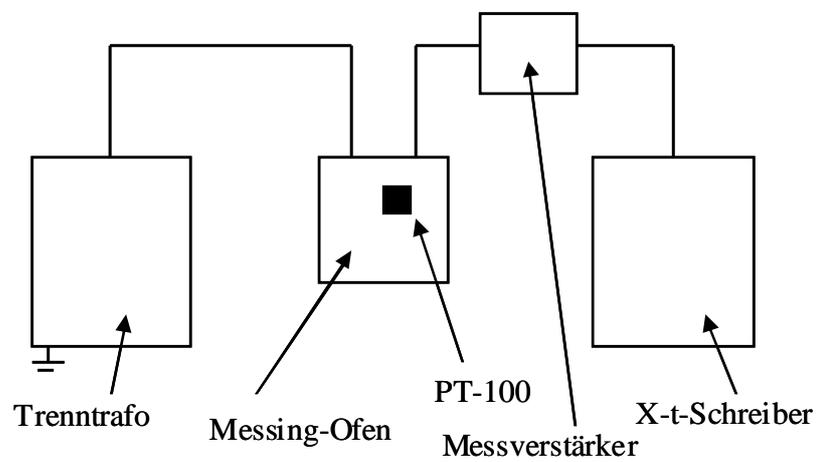


Abb. A-1.3: Versuchsaufbau zur Regestrecke „Ofen“



Abb. A-1.4: Foto des Versuchsaufbaus zur Regelstrecke Ofen

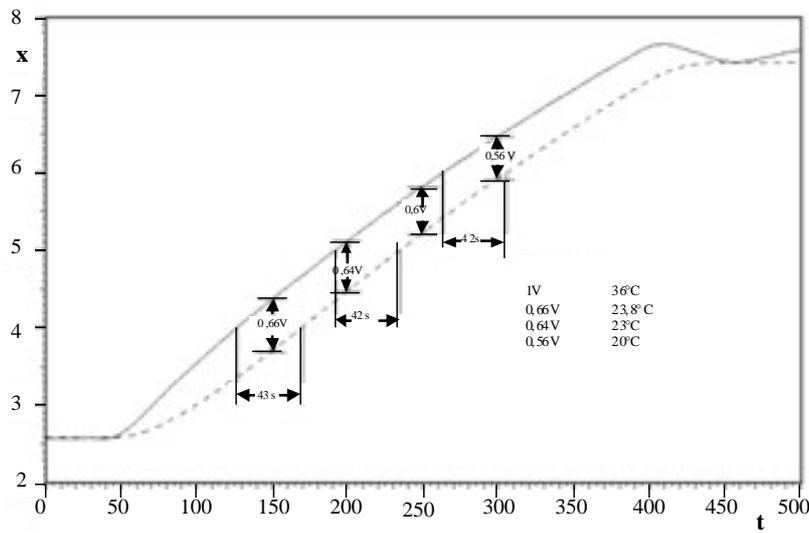


Abb. A-1.5: Betrachtungen zur Regelstrecke „Ofen“ (aufgenommen mit einem X-t-Schreiber)

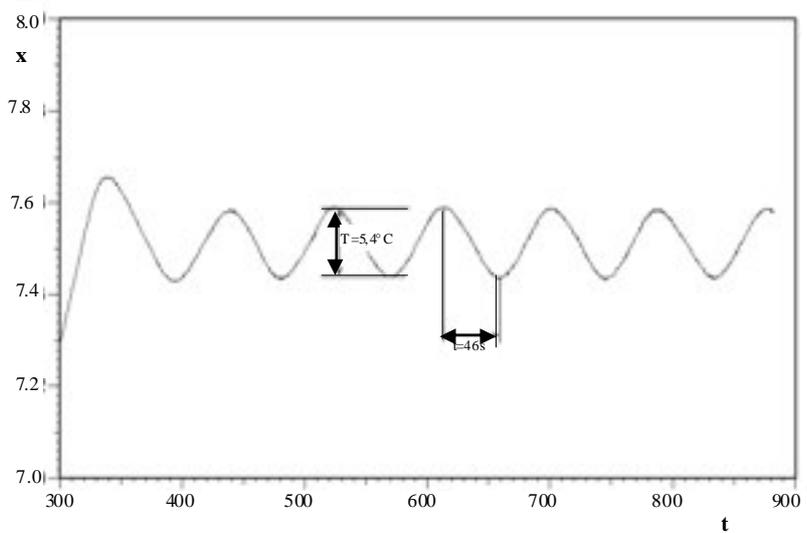


Abb. A-1.6: Regelung des „Ofens“ (aufgenommen mit einem X-t-Schreiber)

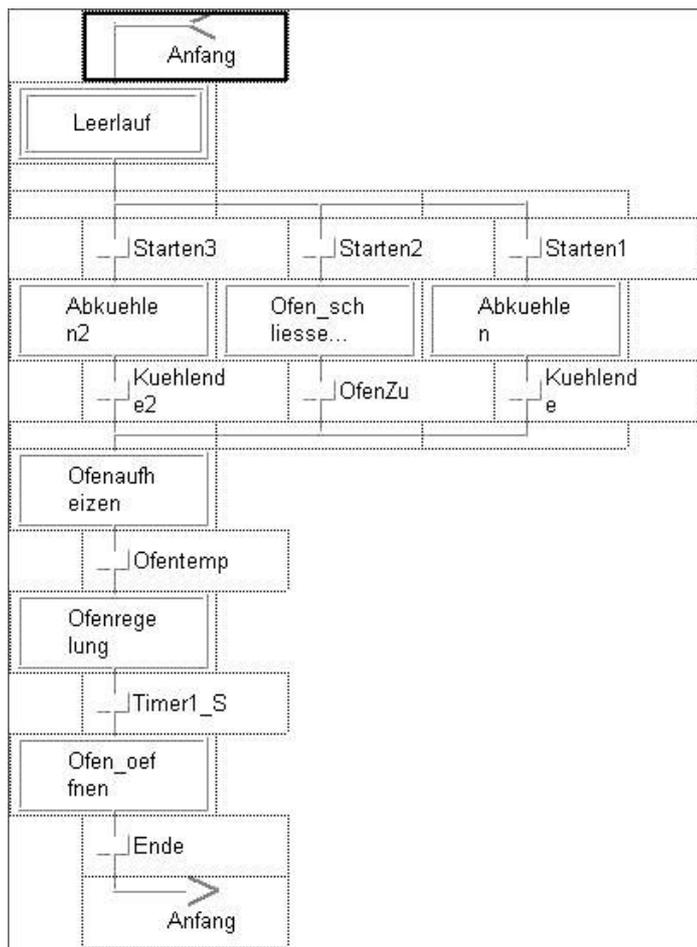


Abb. A-1.7: Ablaufstruktur des SPS-Programms

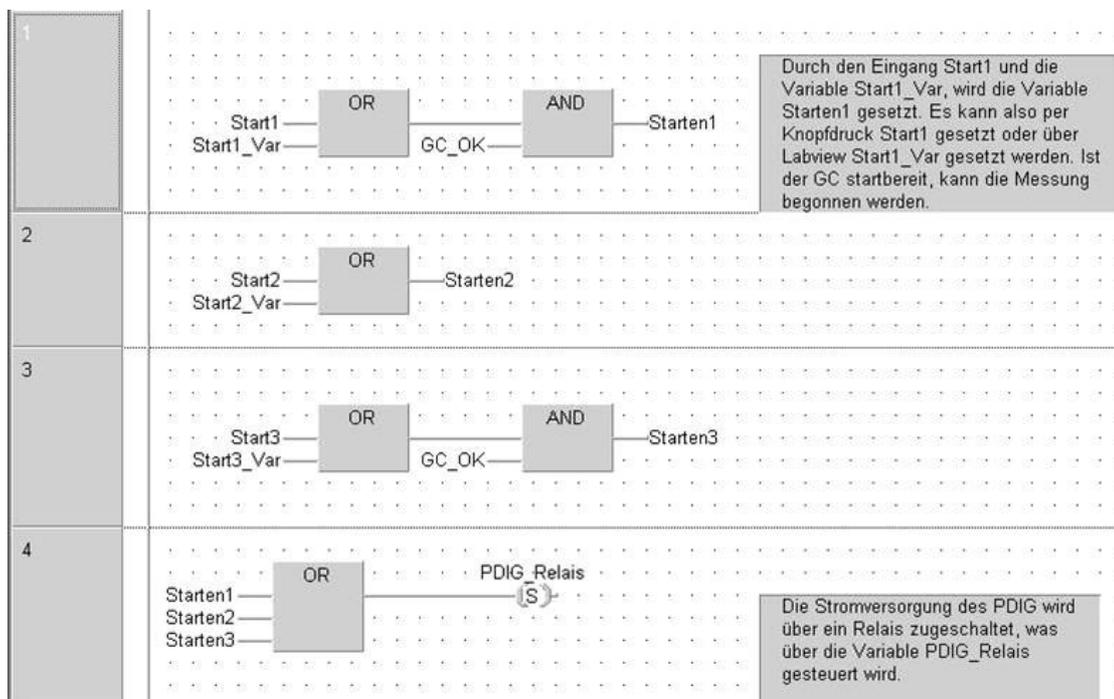


Abb. A-1.8: Beispiel aus der Programmstruktur der SPS „START“

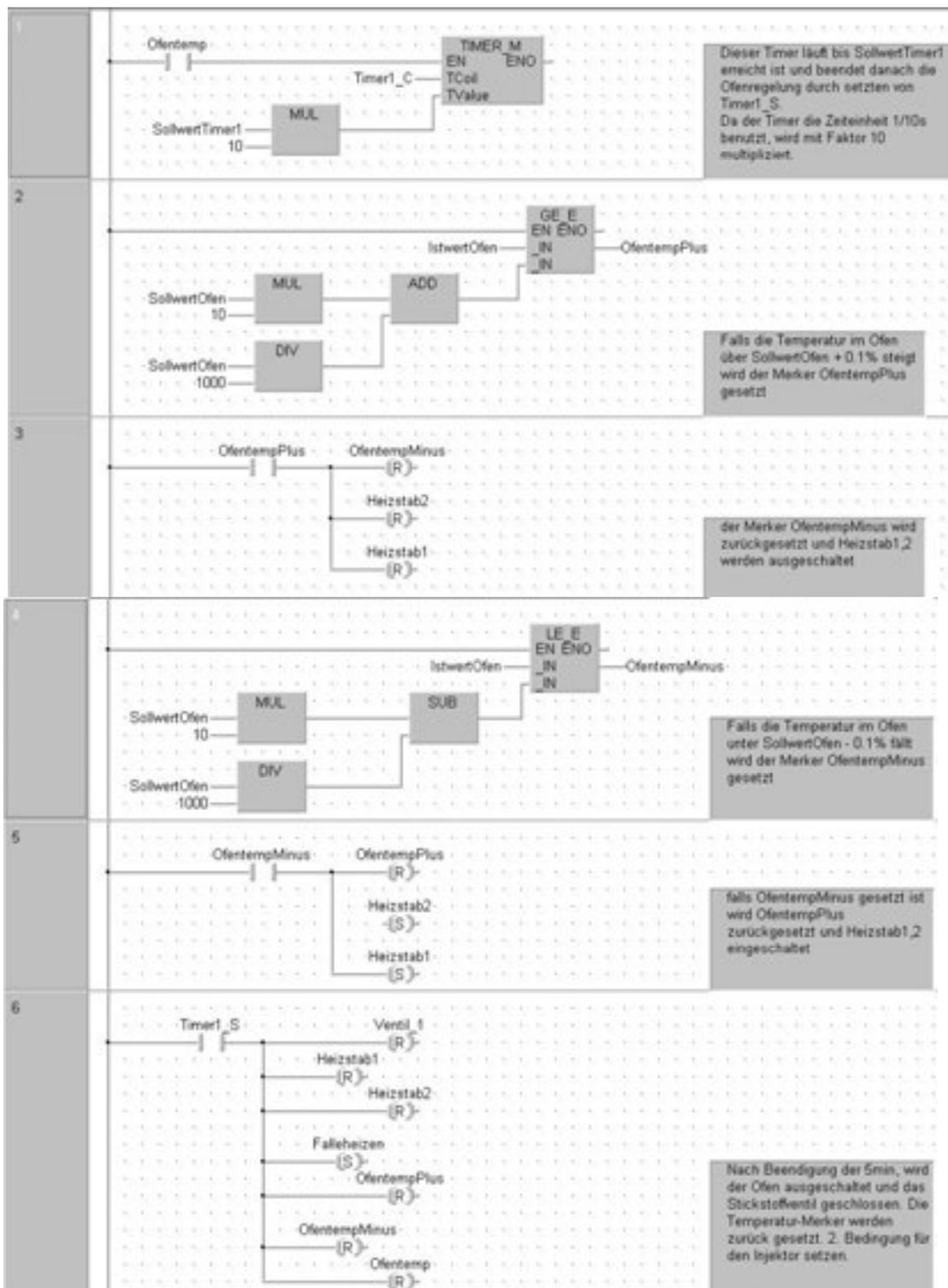


Abb. A-1.9: Beispiel aus der Programmstruktur der SPS „Ofenregelung“

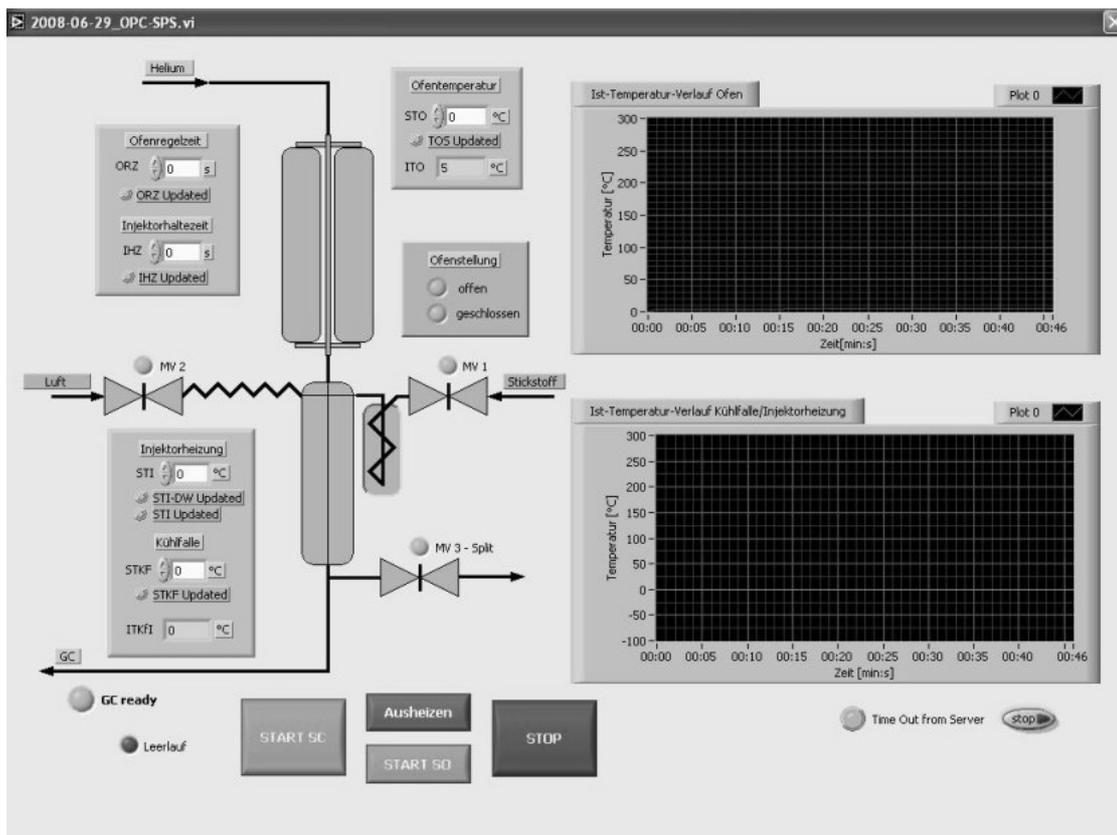


Abb. A-1.10: Bedienoberfläche von Labview® (Bildschirmansicht)

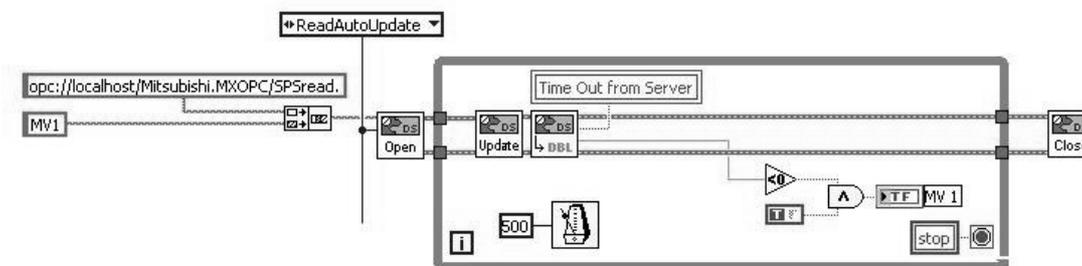


Abb. A-1.11: Ausschnitt aus dem Leseabschnitt von LabView®-Programms

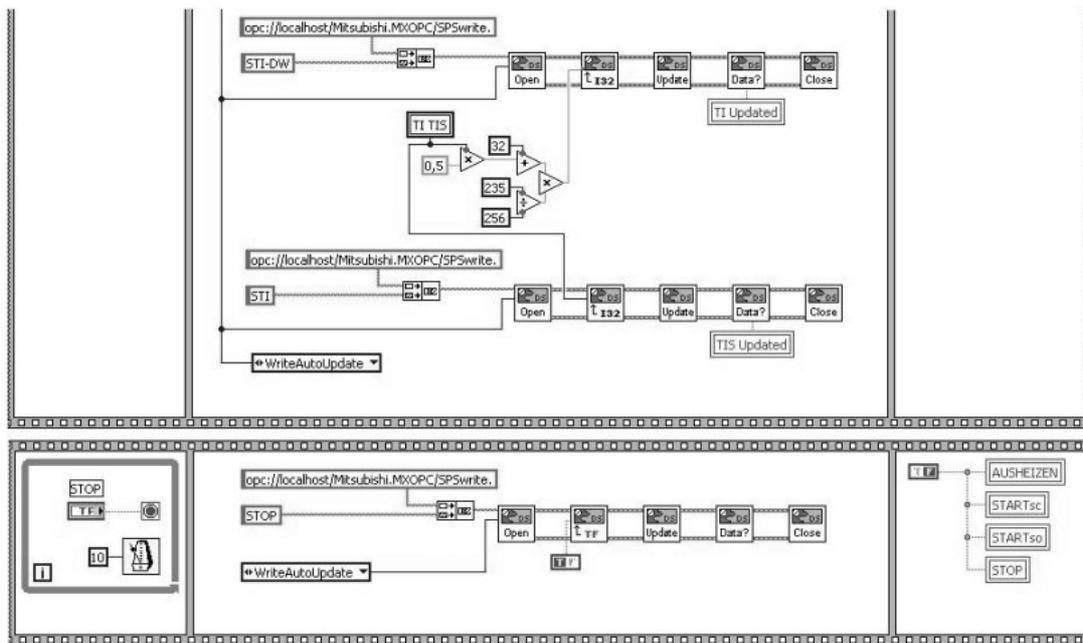


Abb. A-1.12: Ausschnitt aus dem Schreibabschnitt des LabView®-Programms

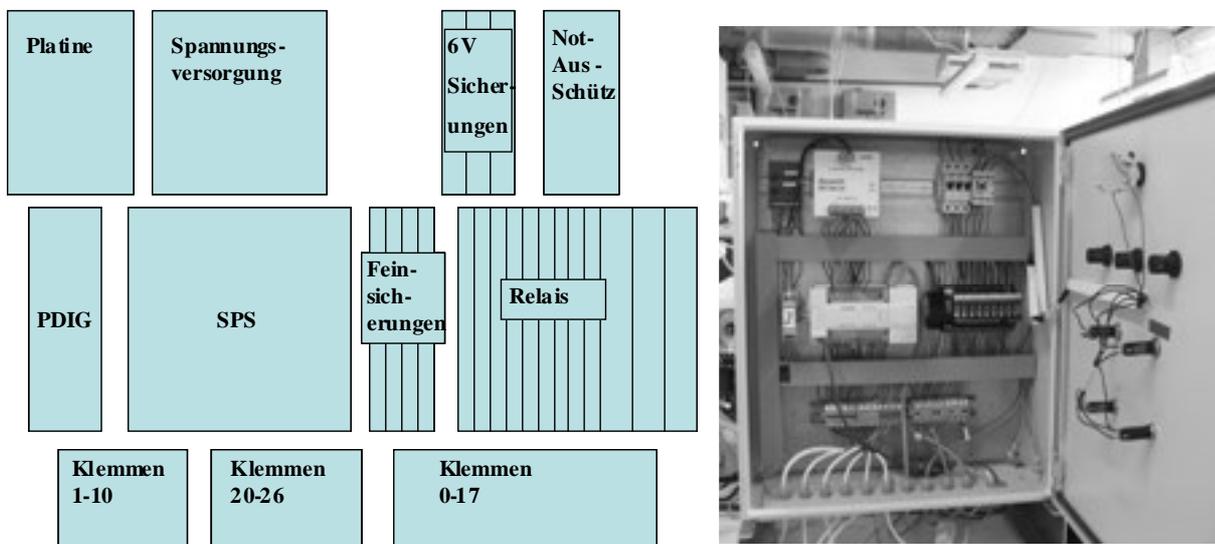


Abb. A-1.13: Schema und Foto des Schaltschranks

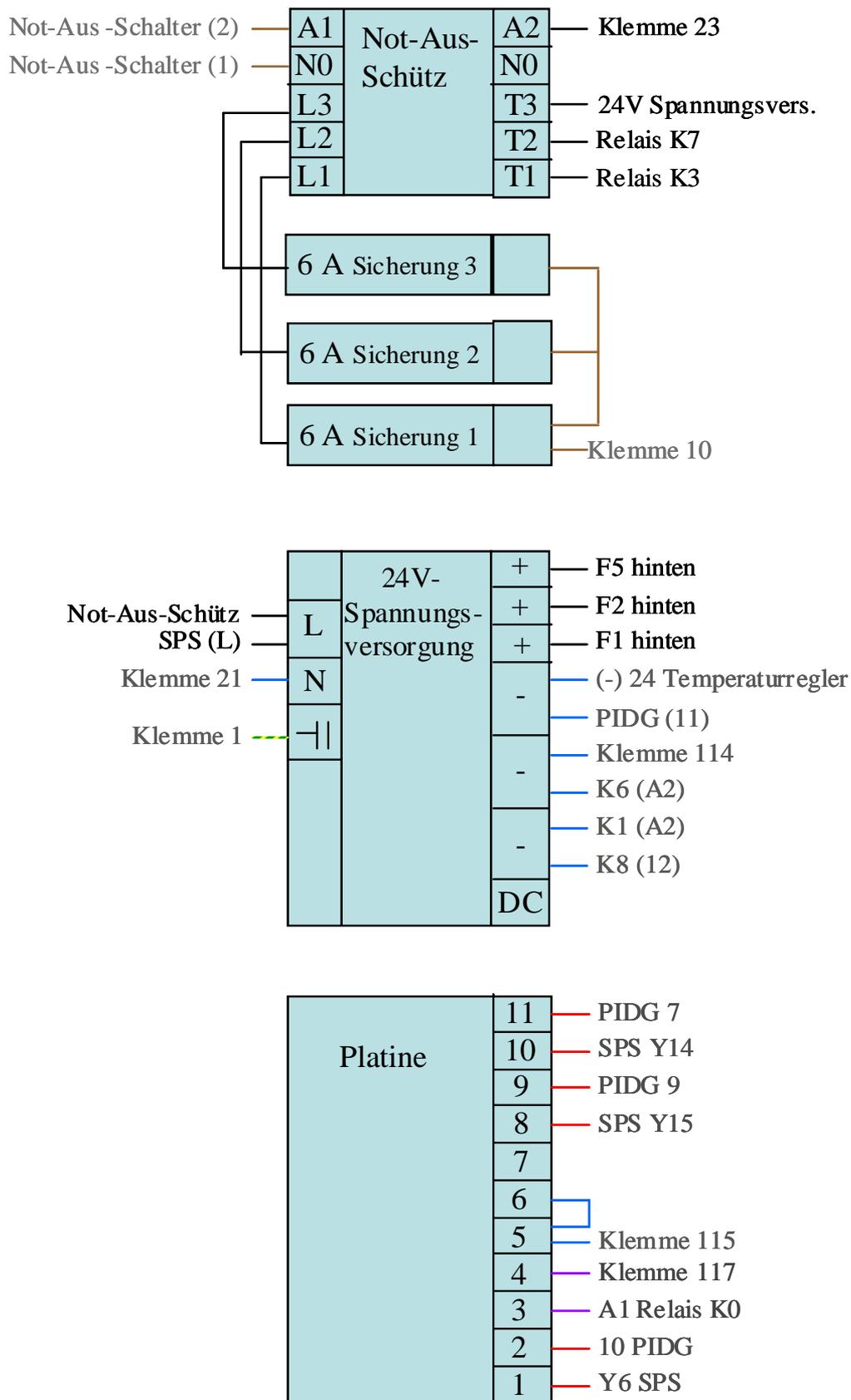


Abb. A-1.14: Verkabelung im Schaltschrank 1 (die Farben entsprechen)

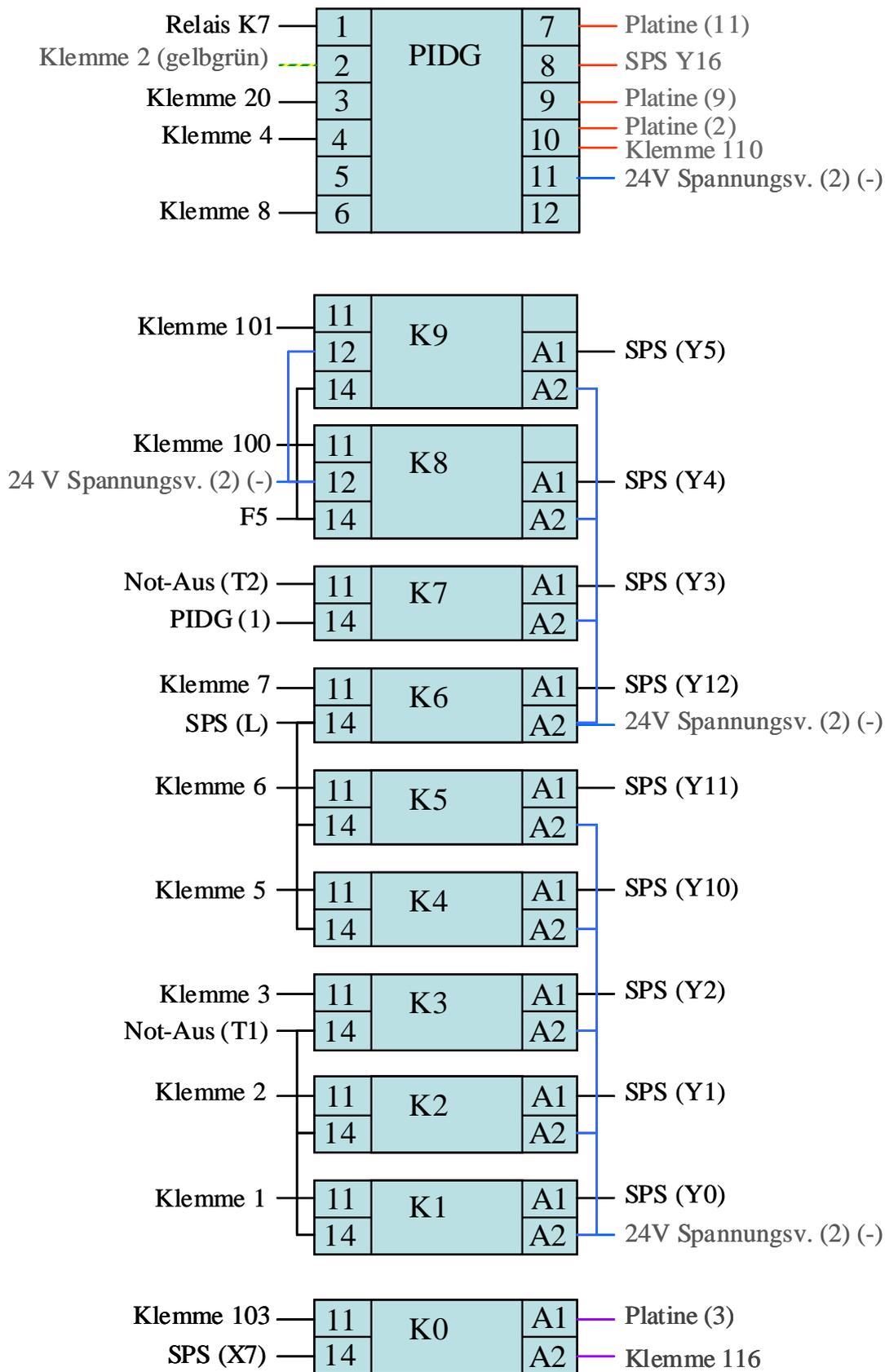


Abb. A-1.15: Verkabelung im Schaltschrank 2 (die Farben entsprechen)

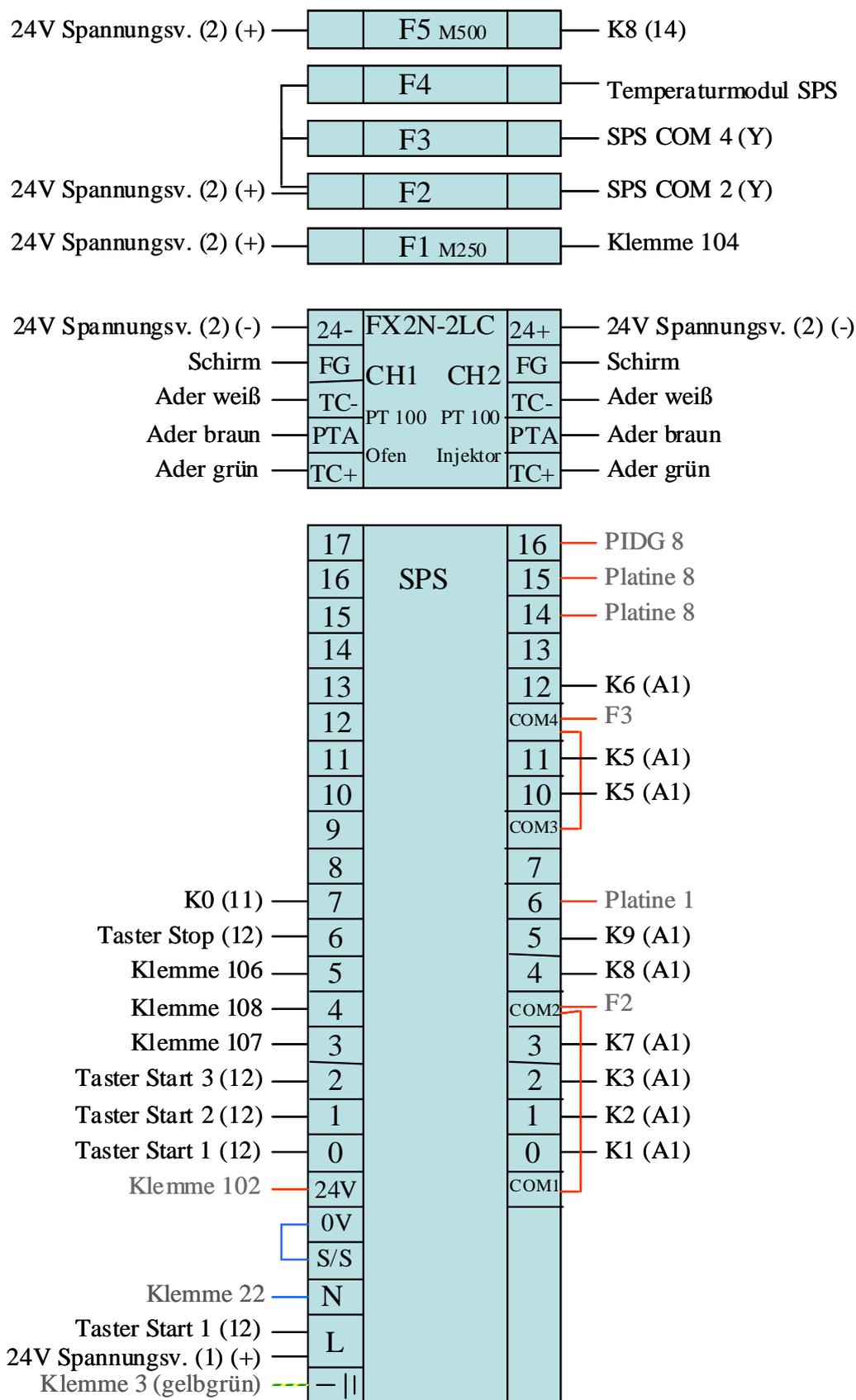


Abb. A-1.16: Verkabelung im Schaltschrank 3 (die Farben entsprechen)

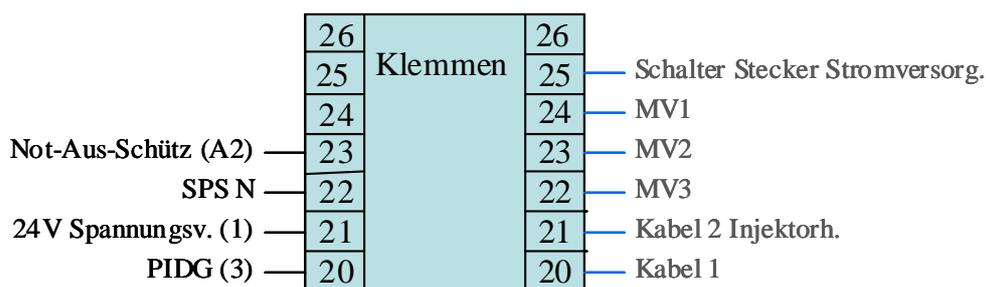
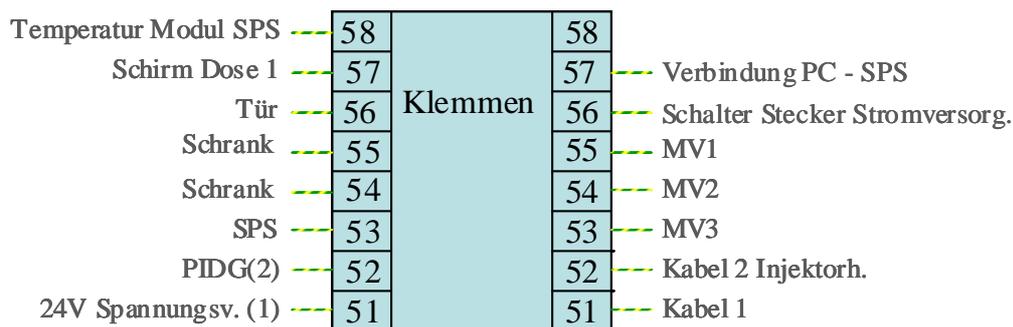
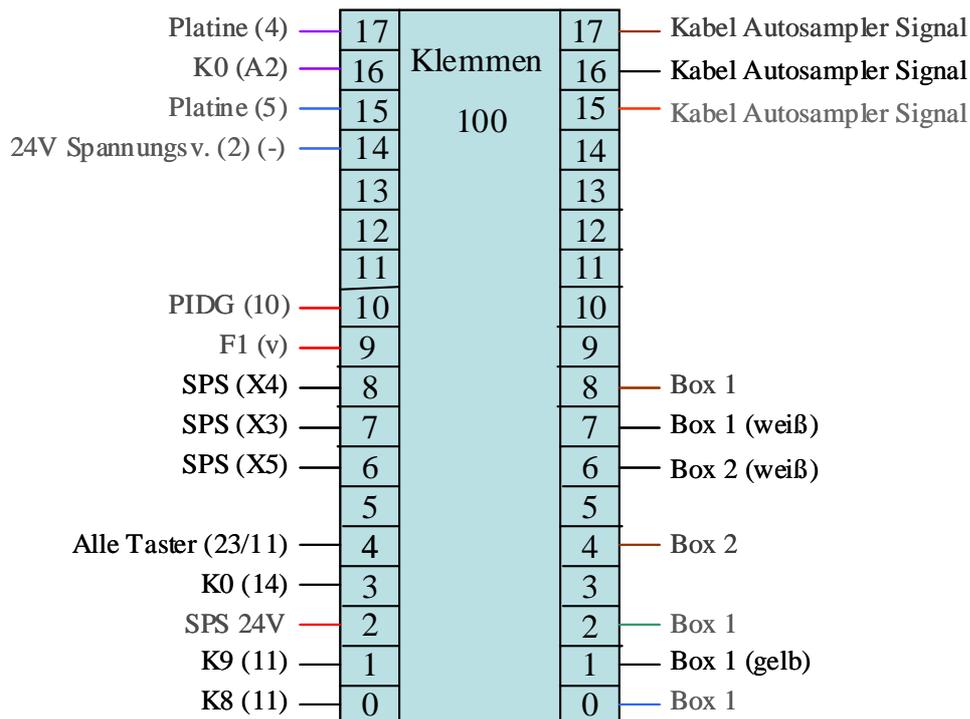


Abb. A-1.17: Verkabelung im Schaltschrank 4 (die Farben entsprechen)

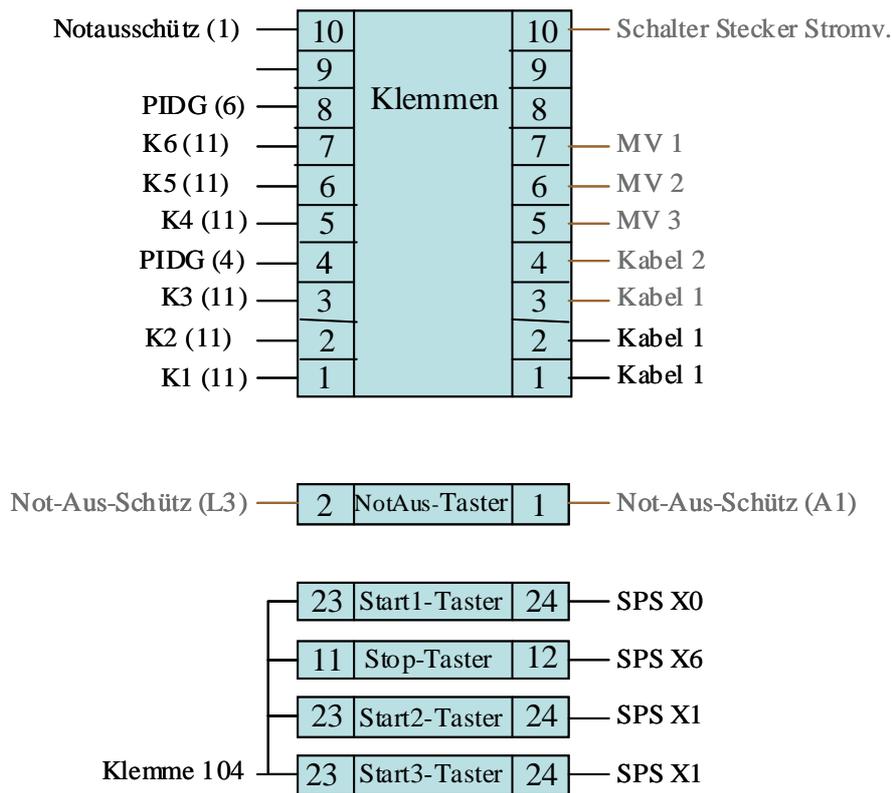


Abb. A-1.18: Verkabelung im Schaltschrank 5 (die Farben entsprechen)

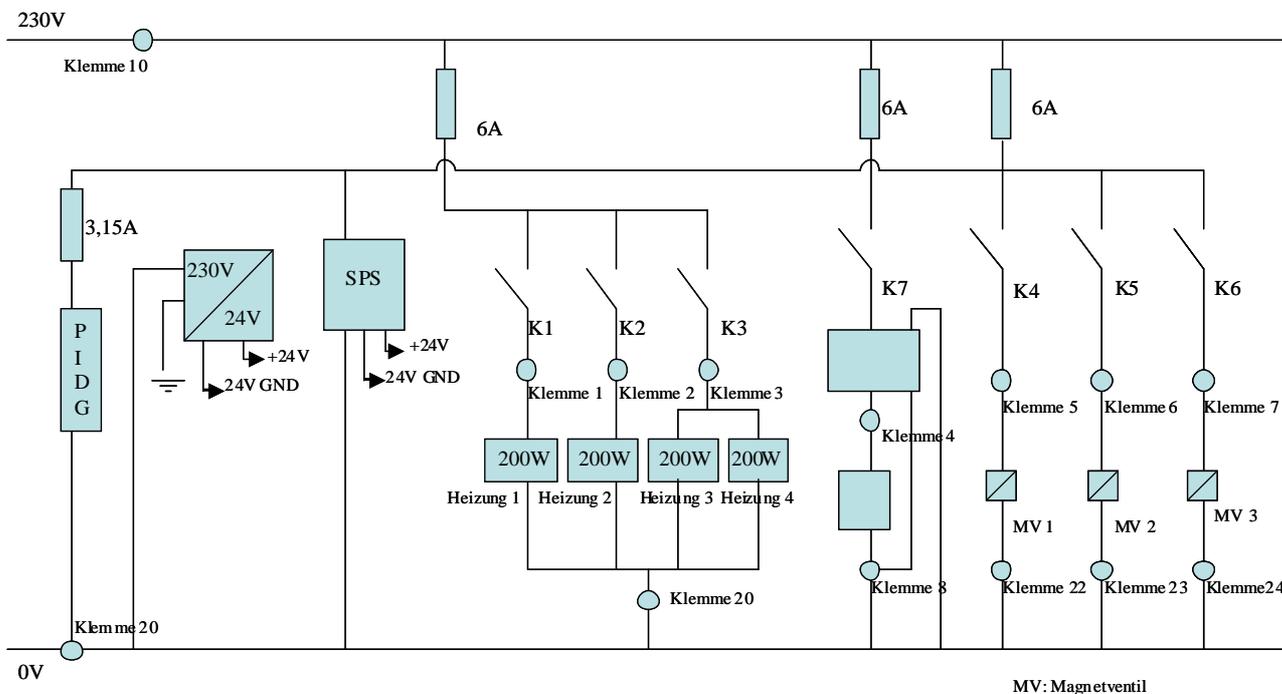


Abb. A-1.19: 230V-Spannungsversorgung

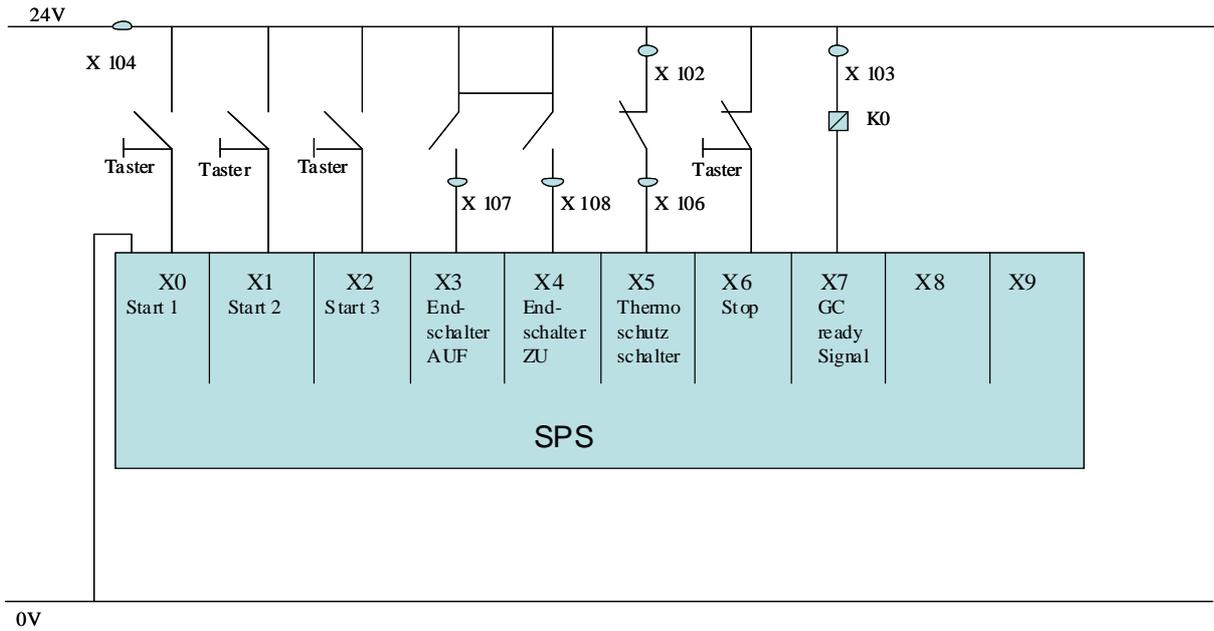
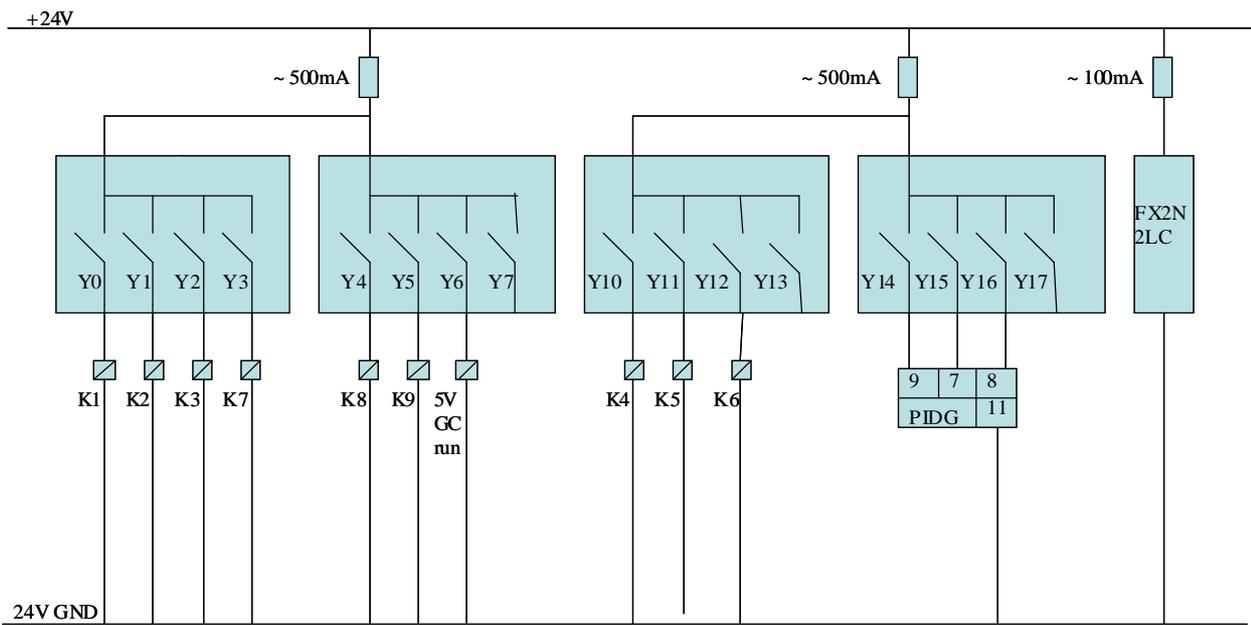


Abb. A-1.20: Eingänge der SPS



- Relais: K1: Heizstab 1
 K2: Heizstab 2
 K3: Heizstab 3+4
 K7: Injektorheizung
- K8: Wechsler Motor
 K9: Wechsler Motor
- K4: Magnetventil 1
 K5: Magnetventil 2
 K6: Magnetventil 3

Abb. A-1.21: Ausgänge der SPS

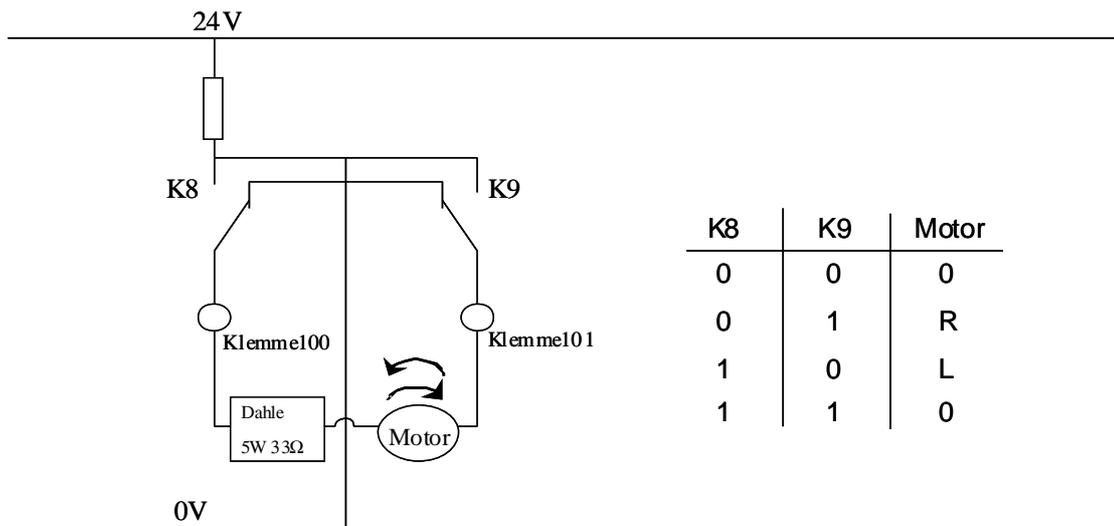


Abb. A-1.22: Schema des Motors zum Öffnen des Ofens

A-2 Zu Kapitel 3

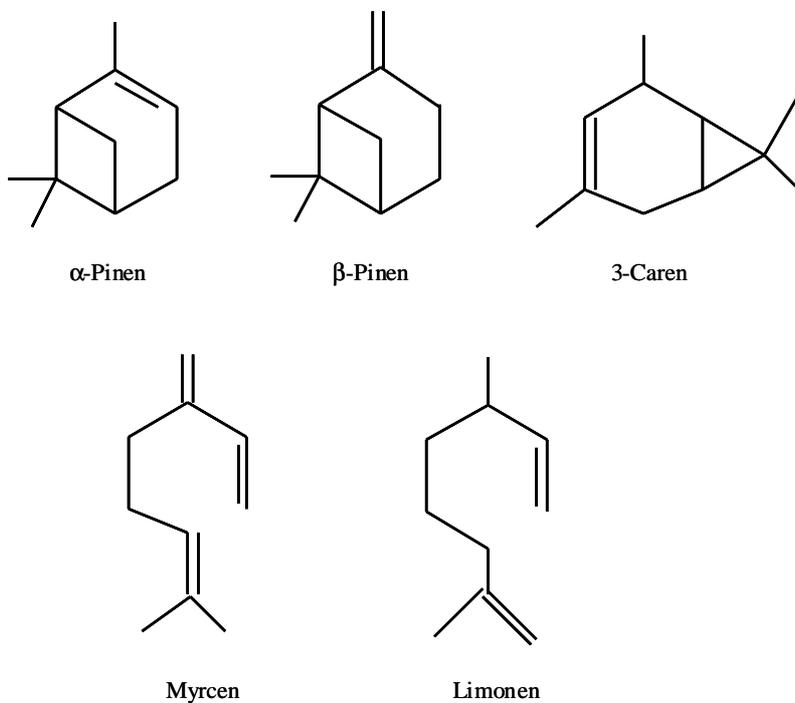


Abb. A-2.1: Strukturen der verwendeten Monoterpene

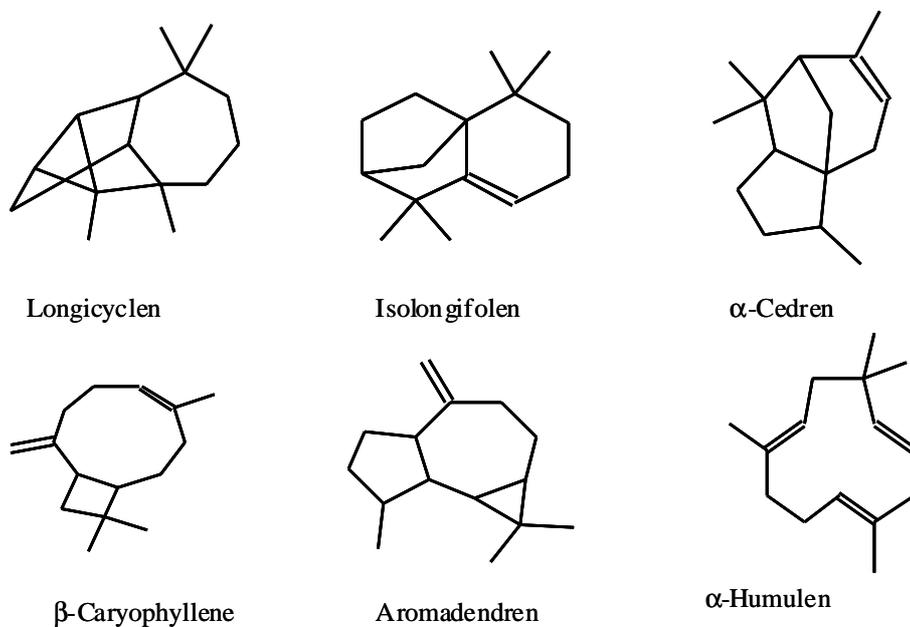


Abb. A-2.2: Strukturen der verwendeten Sesquiterpene

Tabelle A-2.1: Beispiel der Präparation der Adsorptionsröhrchen

laufende Nummer	Einwaage (mg)		Betrag der	Abweichung (mg)
	Tenax	Carbotrap	Tenax	Carbotrap
1	0,1013	0,1009	0,0004	0,0002
2	0,1005	0,1011	0,0004	0,0000
3	0,1012	0,1011	0,0003	0,0000
4	0,1004	0,1008	0,0005	0,0003
5	0,1012	0,1012	0,0003	0,0001
6	0,1004	0,1005	0,0005	0,0006
7	0,1012	0,1012	0,0003	0,0001
8	0,1012	0,1011	0,0003	0,0000
9	0,1003	0,1015	0,0006	0,0004
10	0,1006	0,1008	0,0003	0,0003
11	0,1008	0,1006	0,0001	0,0005
12	0,1015	0,1009	0,0006	0,0002
13	0,1004	0,1019	0,0005	0,0008
14	0,1010	0,1016	0,0001	0,0005
15	0,1012	0,1013	0,0003	0,0002
16	0,1011	0,1011	0,0002	0,0000
17	0,1013	0,1010	0,0004	0,0001
18	0,1006	0,1016	0,0003	0,0005
19	0,1007	0,1011	0,0002	0,0000
20	0,1013	0,1016	0,0004	0,0005
21	0,1014	0,1013	0,0005	0,0002
22	0,1011	0,1008	0,0002	0,0003
23	0,1004	0,1013	0,0005	0,0002
24	0,1013	0,1013	0,0004	0,0002
25	0,1008	0,1010	0,0001	0,0001
26	0,1010	0,1012	0,0001	0,0001
Mittelwert	0,1009	0,1011	0,0003	0,0002
Fehler in %			0,3353	0,2434

Tabelle A-2.2: Auszug aus den Probenahmen-Protokollen Irland 2006, Adsorptionsröhrchen

Proben IB	Datum	Uhrzeit (Start)	Dauer /min	Fluss /(mL/min)	Bemerkung
28	13.06.06	23:40	30	206	Nacht, trocken, klar, Ebbe
290	14.06.06	12:50	30	202	Mittag, bedeckt, windstill
3	15.06.06	0:45	30	201	Nacht, Ebbe, trocken
056	15.06.06	13:20	30	200	Tag, Ebbe, leichter Sprühregen
39	16.06.06	2:10	30	204	Nacht, Ebbe, bewölkt, leicht windig
125	16.06.06	12:55	30	202	Ebbe, leicht bewölkt,
64	16.06.06	18:35	60	206	Tag, beginnende Flut, bewölkt, leicht windig
4	17.06.06	13:45	60	250	Tag, leichter Regen
042	18.06.06	16:15	60	250	Tag, Ebbe, leichter Regen
5	19.06.06	7:55	60	252	Tag, späte Ebbe, Sprühregen
6	19.06.06	17:35	60	256	nach Ebbe _(max) , Sonne
7	20.06.06	17:00	60	250	Tag, Ebbe, Sonne
088	21.06.06	14:30	60	252	nach Flut _(max) , Sonne, Wind
8	21.06.06	15:45	60	252	nach Flut _(max) , Sonne, Wind
038	21.06.06	21:05	60	252	Abend, Ebbe, leicbewölkt, starker Wind
9	22.06.06	1:20	60	256	Nacht, Flut, leichter Regen, starker Wind
10	22.06.06	21:15	60	250	Sonne, Ebbe, leichter Wind
11	23.06.06	9:05	60	254	Ebb, bewölk, windstill
12	23.06.06	21:40	60	251	Ebbe, bewölk, wenig Wind, Sonnenwendfeuer
128	24.06.06	19:50	60	250	Sonne, Ebbe, leichter Wind
13	27.06.06	12:15	60	252	Ebbe, bewölkt, mitten im Algenfeld
14	28.06.06	12:25	60	253	Ebbe, bewölkt, mitten im Algenfeld
15	30.06.06	1:50	60	255	Nacht, Ebbe, kaum Wind
16	28.06.06	14:40	60	253	Tag, Ebbe, bewölkt, Regen, ???
17	30.06.2006	15:05	60	253	Tag, Sonne, Ebbe, Algenfeld
18	30.06.06	16:07	60	253	Tag, Sonne, Ebbe, Algenfeld
19	02.07.06	15:35	60	252	Tag, Sonne, Ebbe, Algenfeld
20	02.07.06	16:55	60	254	Tag, Sonne, leicht bewölkt, Algenfeld, oberhalb
21	02.07.06	21:35	60	250	Nacht, Flut, Macehead, aus Bucht
22	03.07.06	14:50	60	253	Sonne, Wind, Ebbe, Meenish Island (alte Brücke)
23	03.07.06	1:36	60	253	Sonne, Wind, Ebbe
035	04.07.06	17:00	60	270	sonnig, Ebbe
096	05.07.06	19:10	120	250	Wolken, Ebbe
24	06.07.06	13:00	60	251	Wolken, Flut, leichter Regen

A-3 Zu Kapitel 4

Tabelle A-3.1: Liste der Fragmentionen

Monoterpene		Sesquiterpene	
m/z	Summenformel	m/z	Summenformel
136	$C_{10}H_{16}$	204	$C_{15}H_{24}$
121	C_9H_{13}	189	$C_{14}H_{21}$
119	C_9H_{11}	175	$C_{13}H_{19}$
115	C_8H_9	161	$C_{12}H_{17}$
107	C_8H_{11}	148	$C_{11}H_{16}$
105	C_8H_9	147	$C_{11}H_{15}$
93	C_7H_9	133	$C_{10}H_{13}$
91	C_7H_7	119	C_9H_{11}
84	C_6H_{12}	105	C_8H_9
79	C_6H_7	93	C_7H_9
71	C_5H_{11}	91	C_7H_7
69	C_5H_9	79	C_6H_7
56	C_4H_8	69	C_5H_9

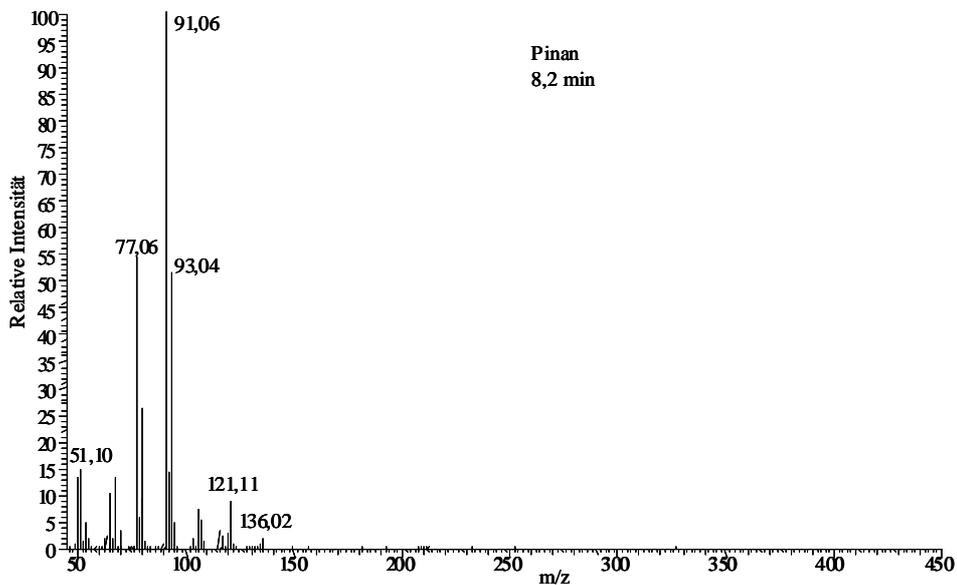
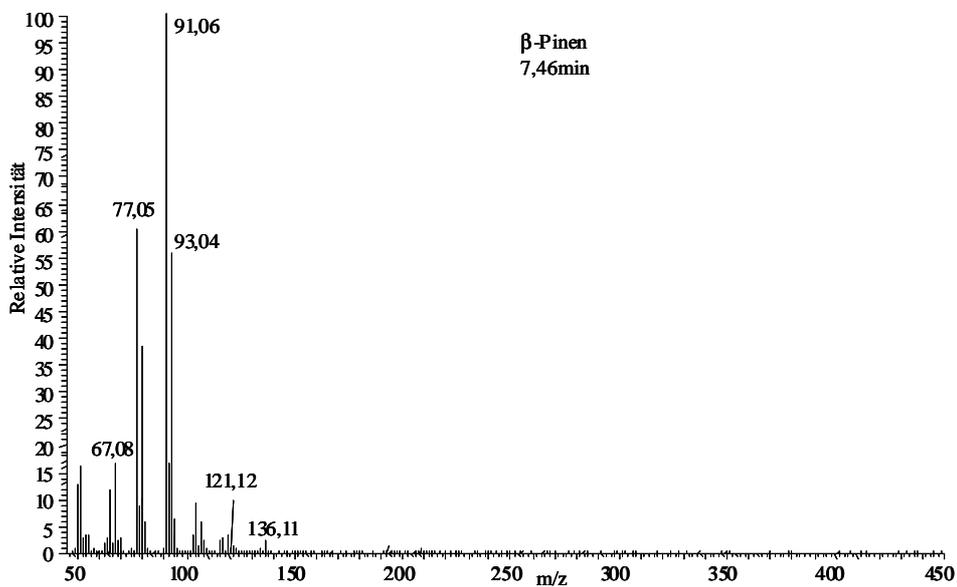
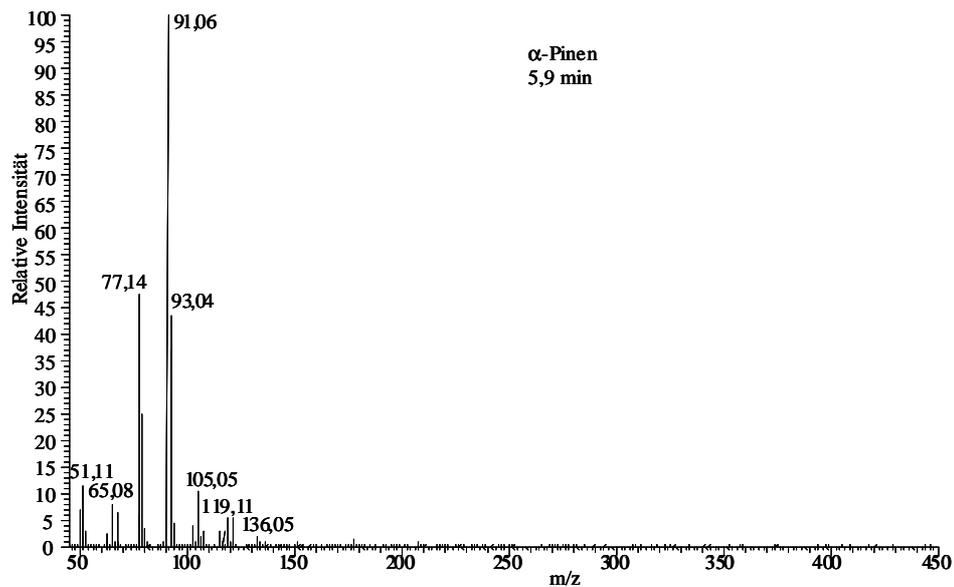


Abb. A-3.1: EI-Massenspektren von α -Pinen, β -Pinen und Pinan

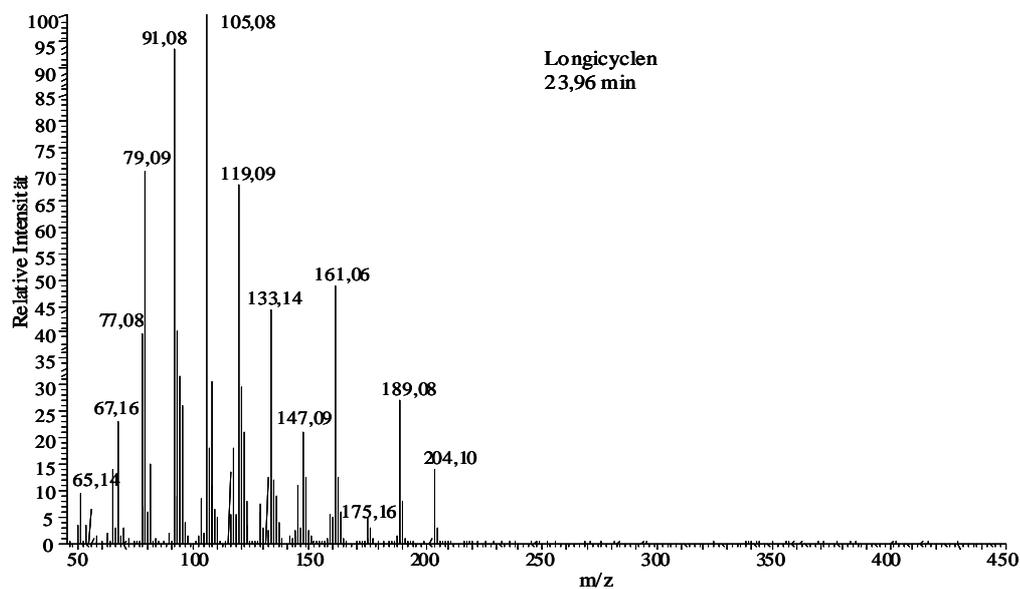
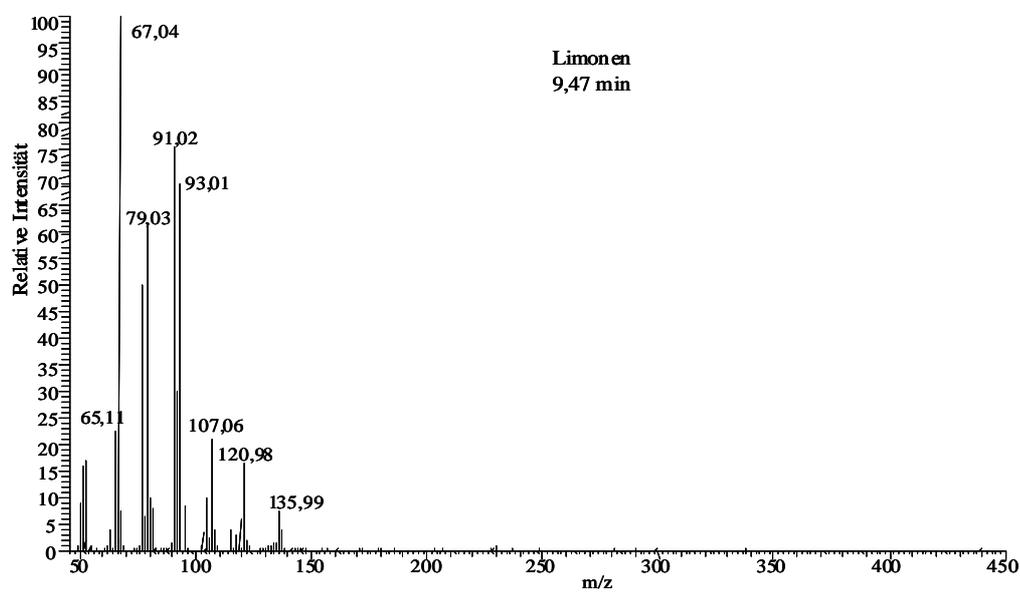
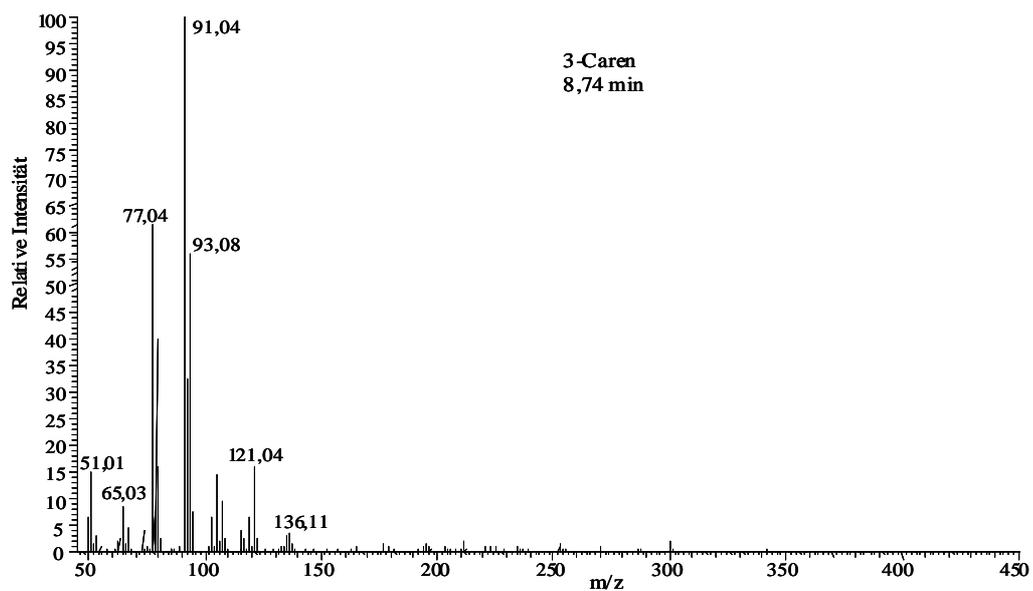


Abb. A-3.2: EI-Massenspektren von 3-Caren, Limonen und Longicyclen

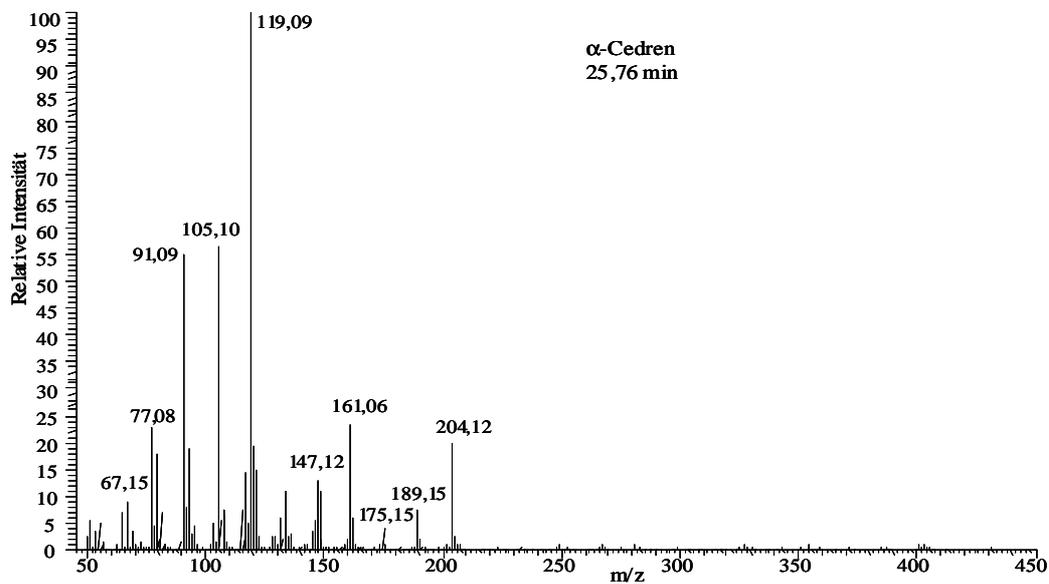
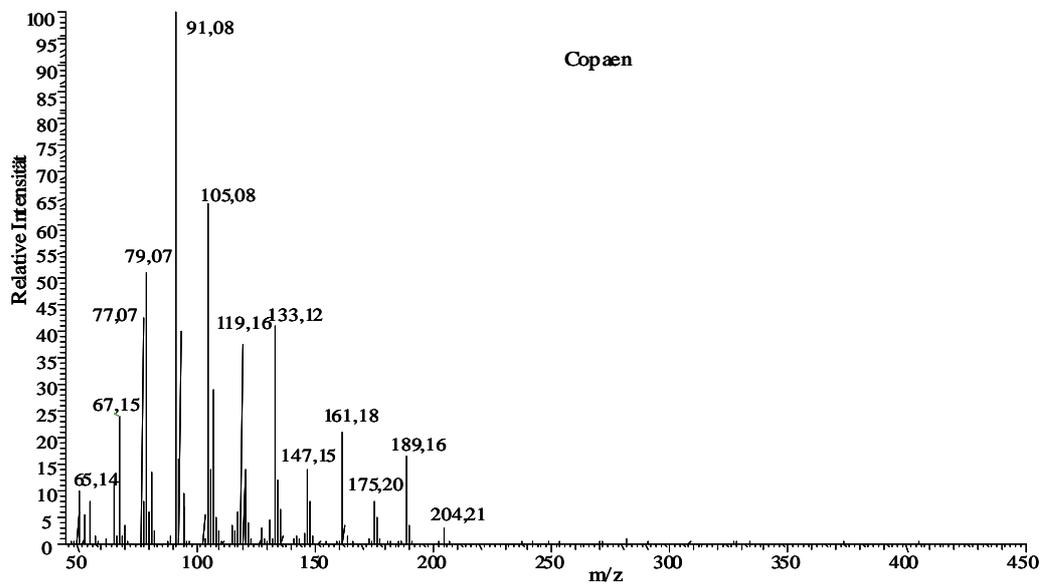
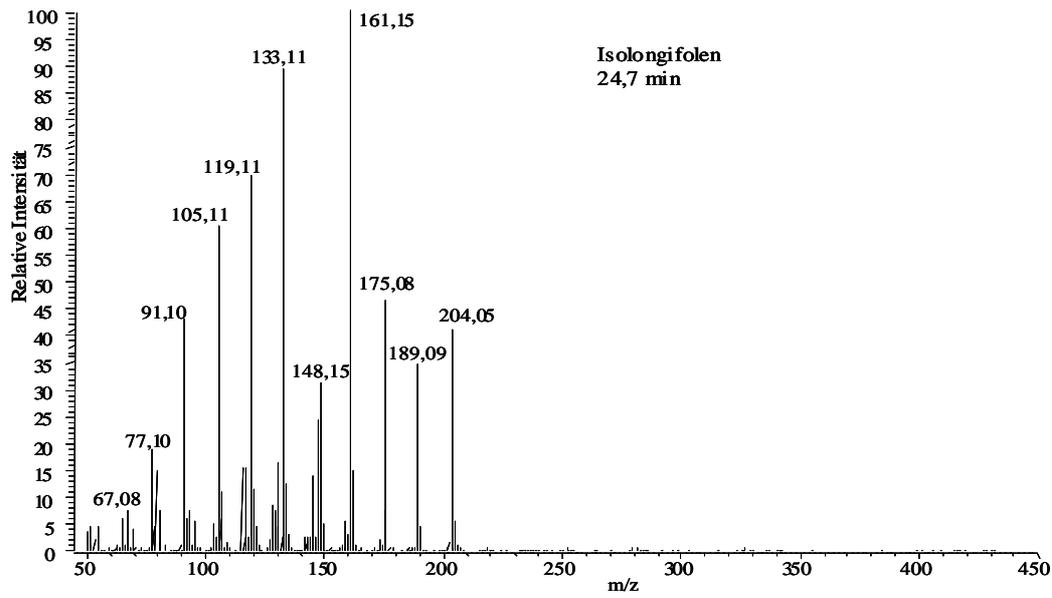
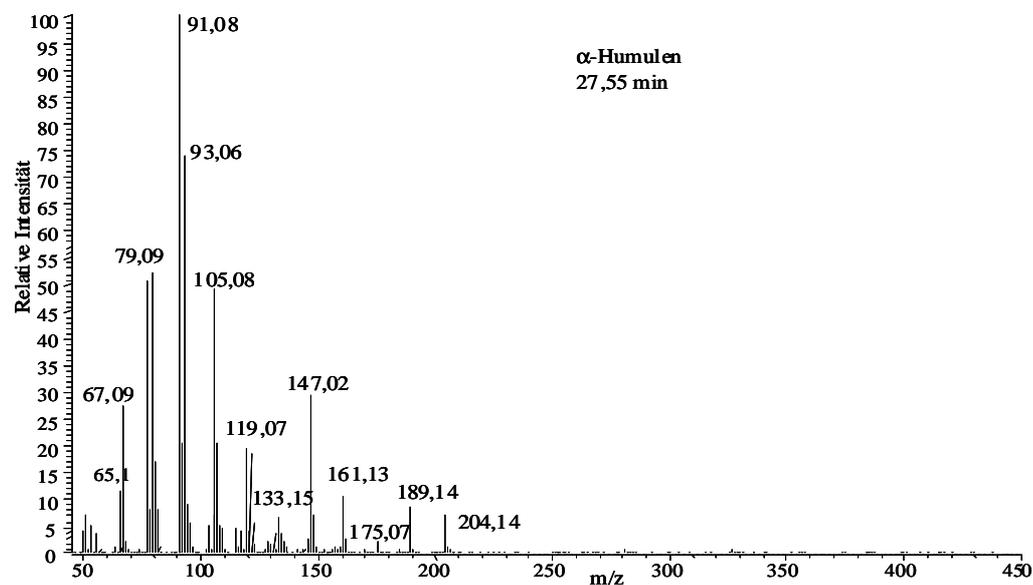
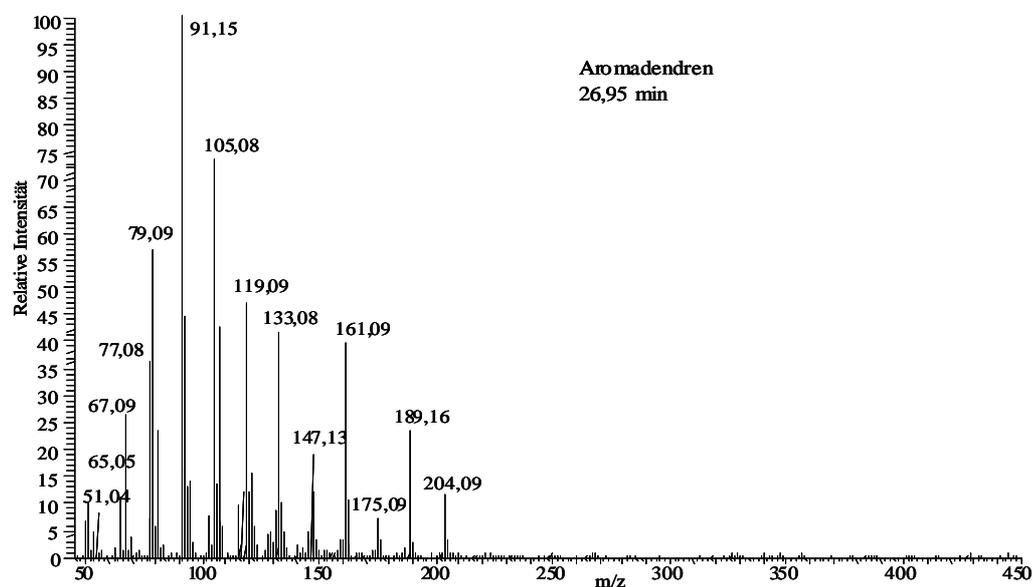
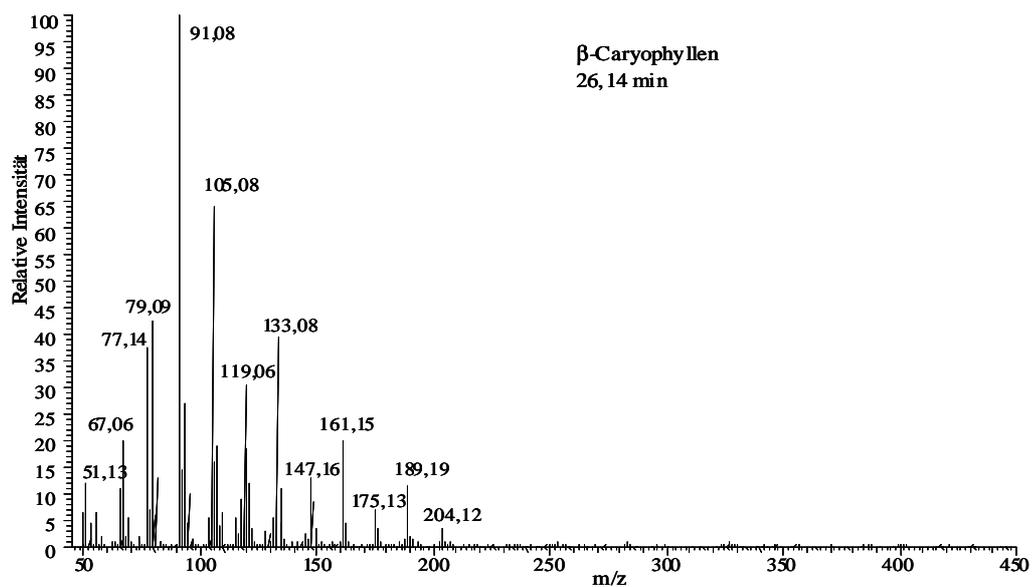


Abb. A-3.3: EI-Massenspektren von Isolongifolen, Copaen und α -Cedren

Abb. A-3.4: EI-Massenspektren von β -Caryophyllen, Aromadendren und α -Humulon

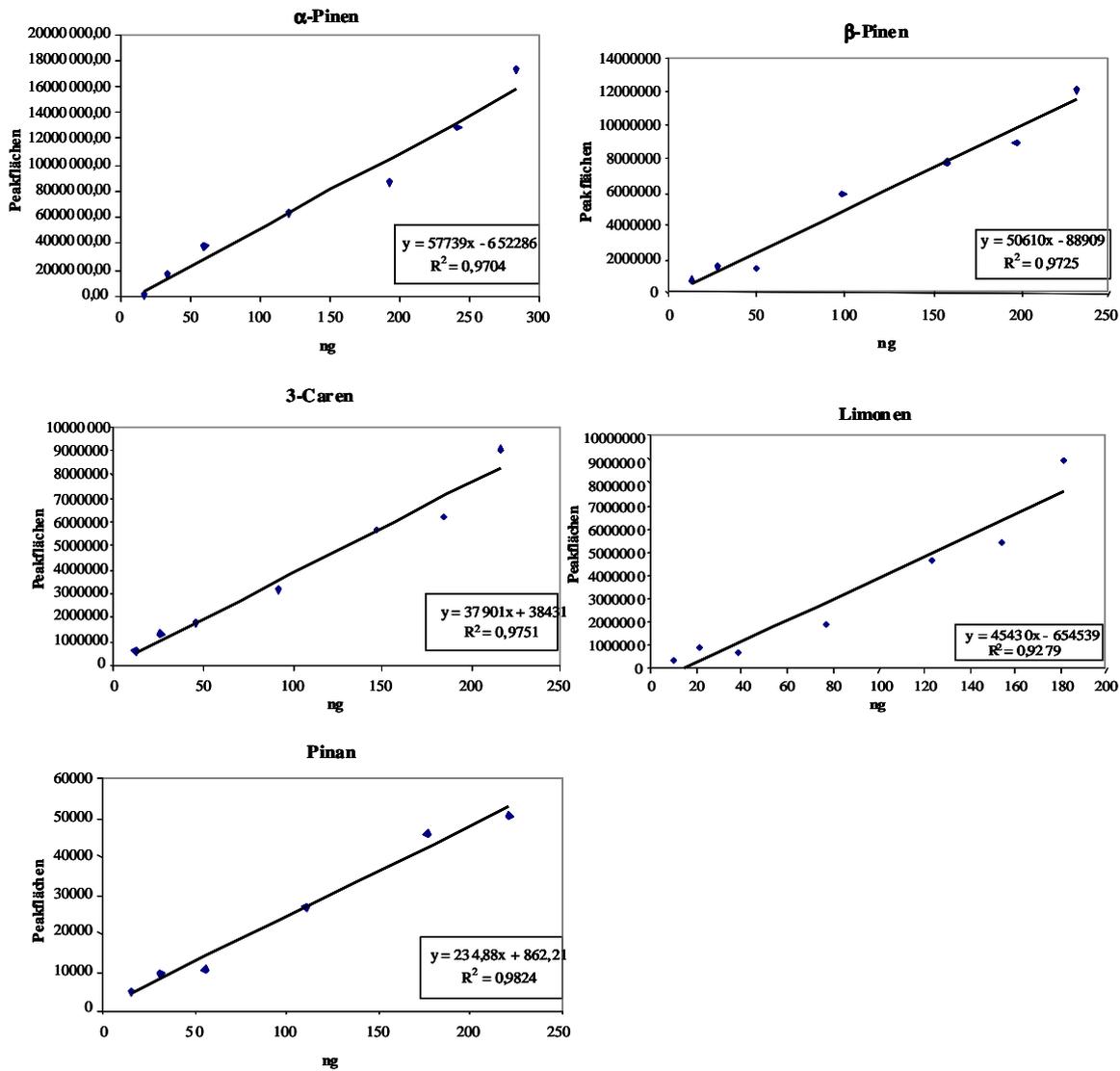


Abb. A-3.5: Beispiel-Kalibrierungen der Monoterpene in den Diffusionsquellen

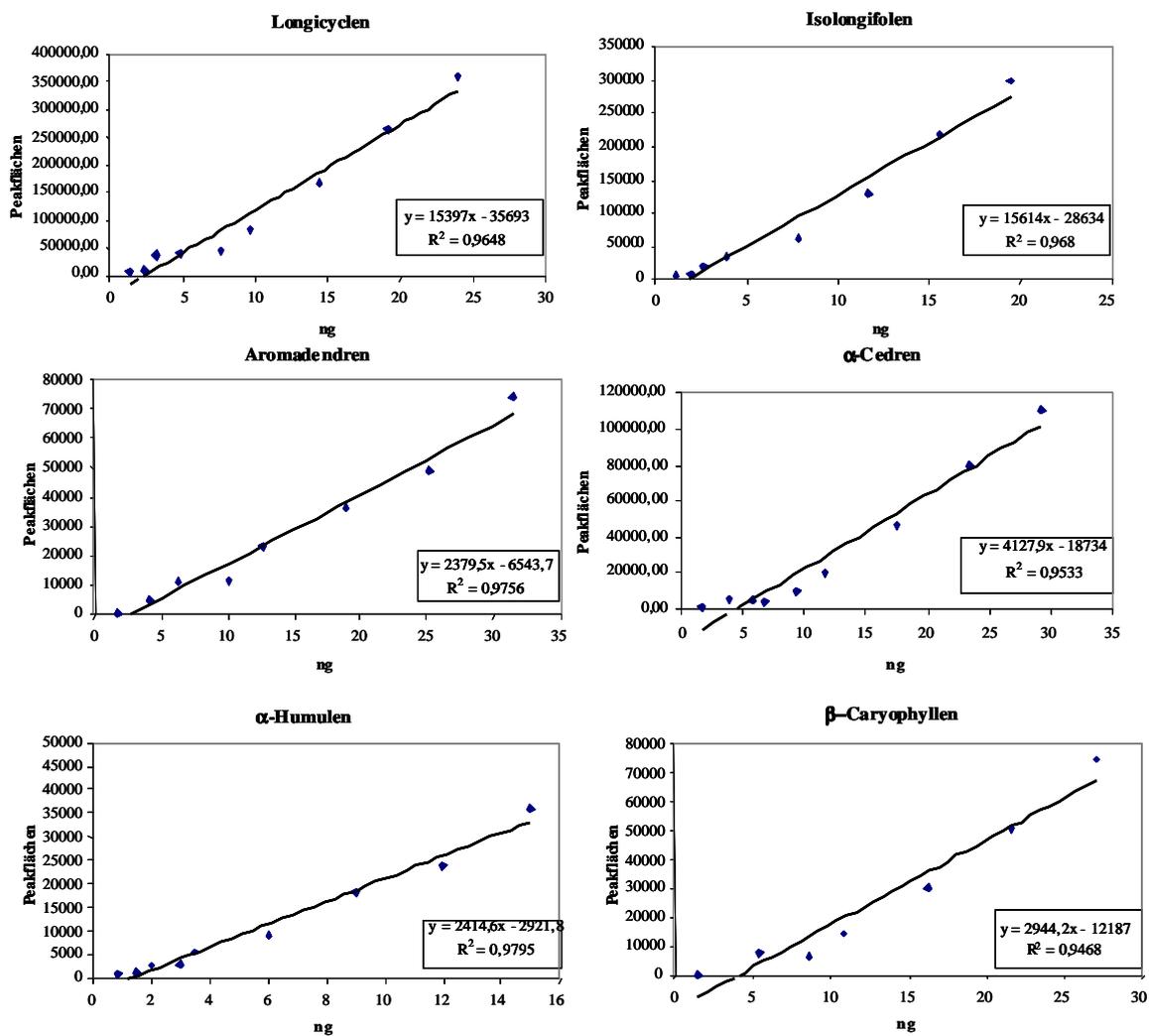


Abb. A-3.6: Beispiel-Kalibrierungen der Sesquiterpene in den Diffusionsquellen

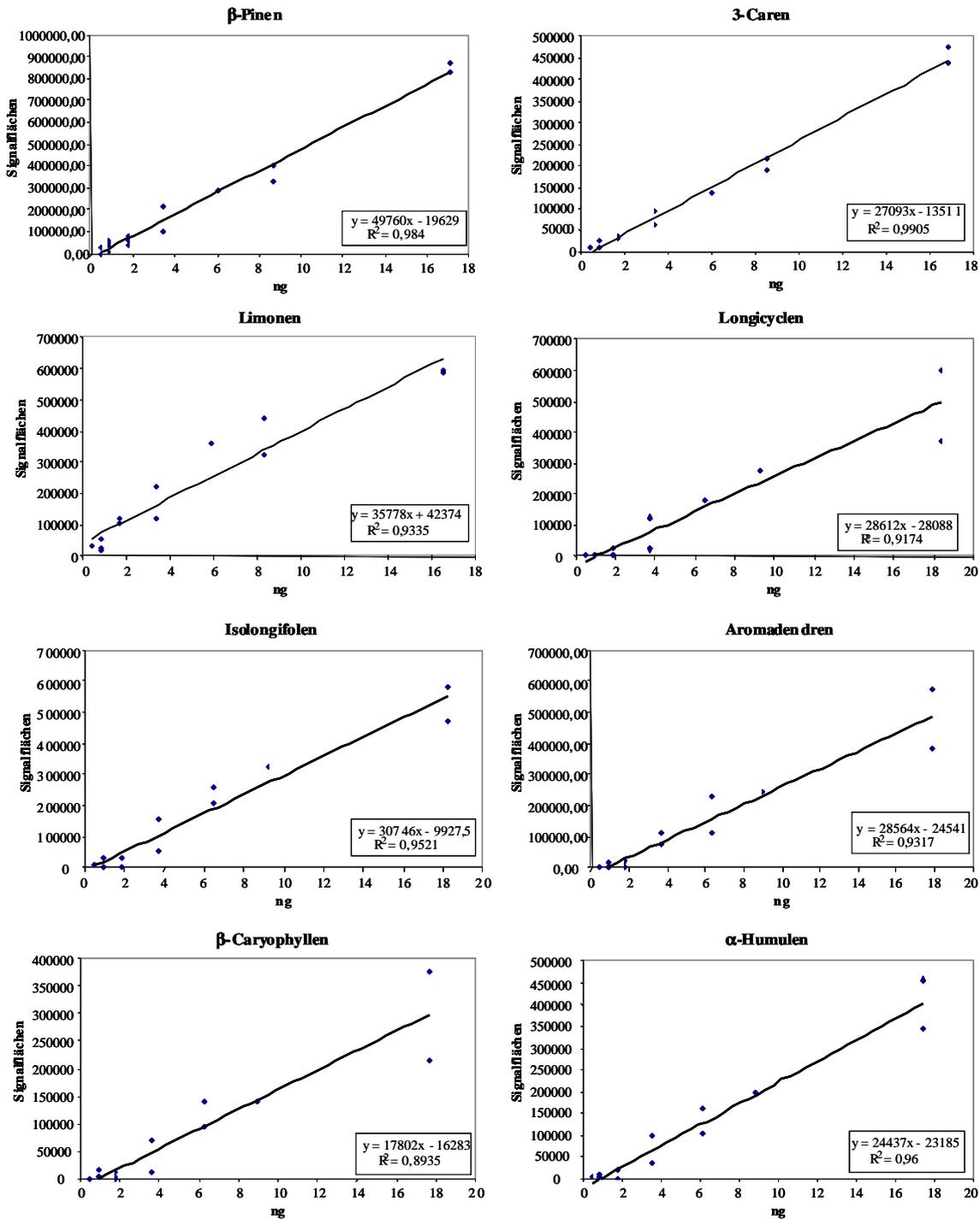


Abb. A-3.7: Kalibrierungen aus Verdünnungsreihen in Cyclohexan auf Adsorptionsröhrchen

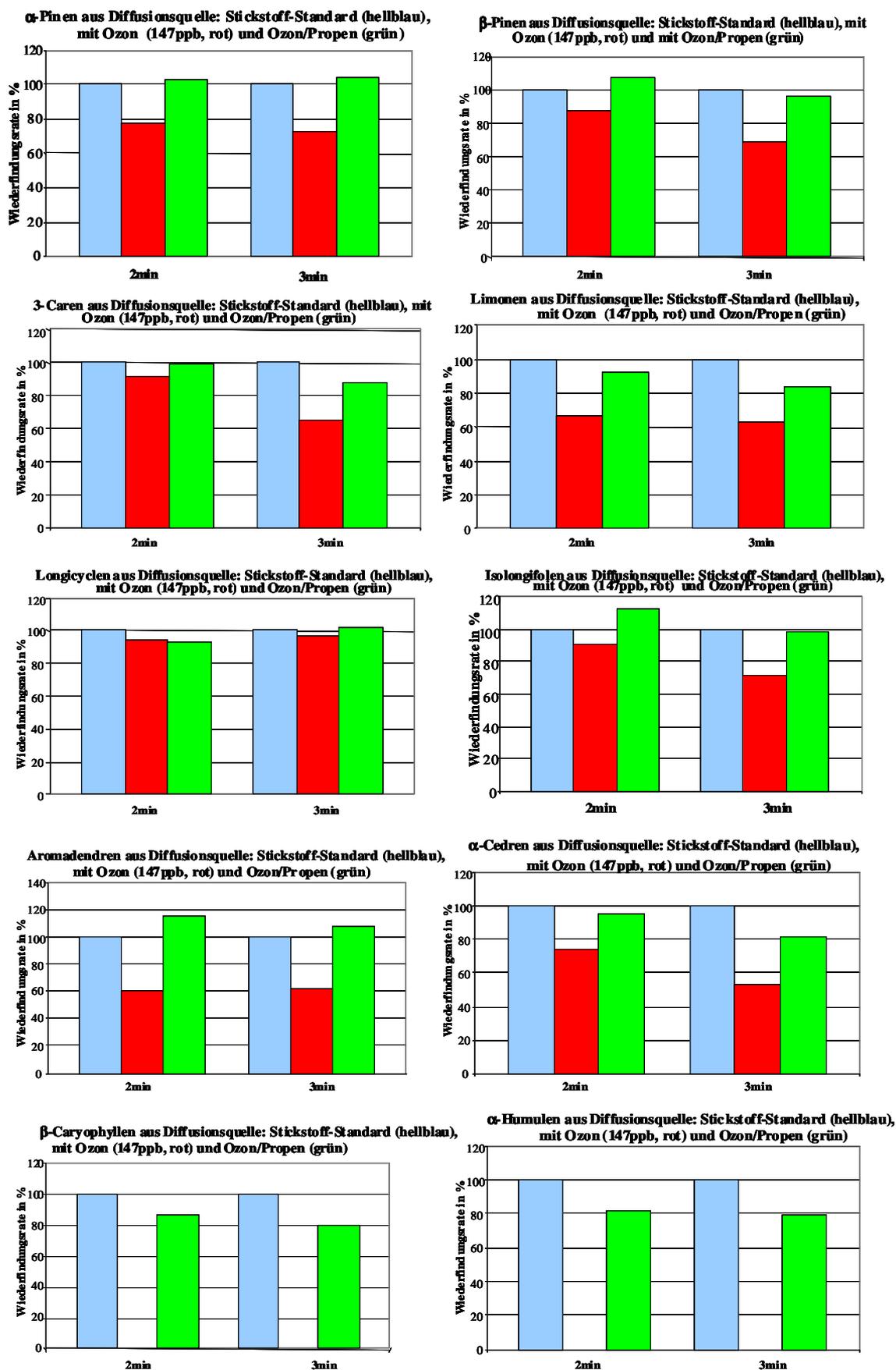


Abb. A-3.8: Wiederfindungsraten in Prozent der Mono- und Sesquiterpene nach Reaktion mit Ozon (147 ppb) in der Reaktionskammer

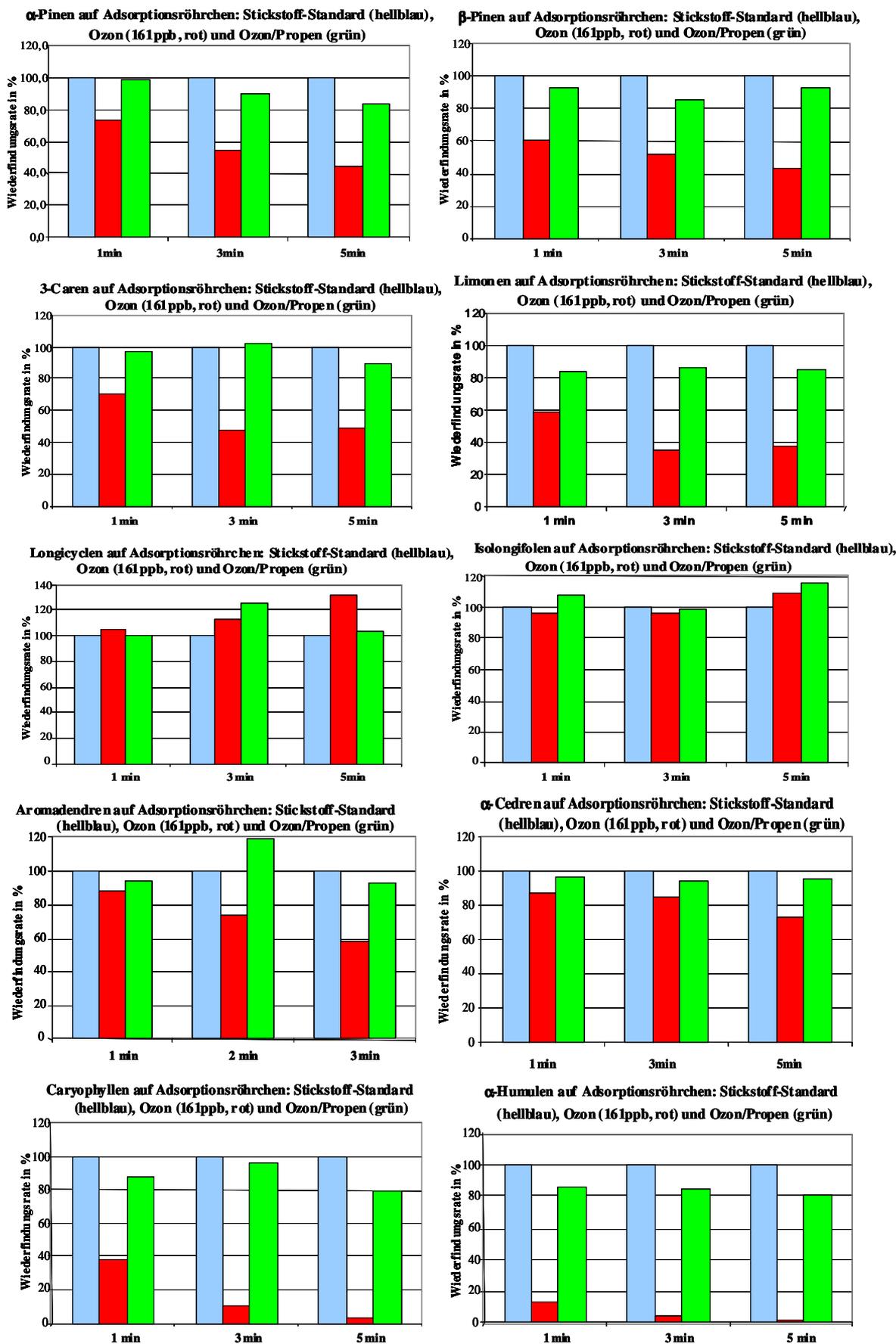


Abb. A-3.9: Wiederfindungsraten in Prozent der Mono- und Sesquiterpene auf dem Adsorptionsröhrchen nach Reaktion mit Ozon (161 ppb)

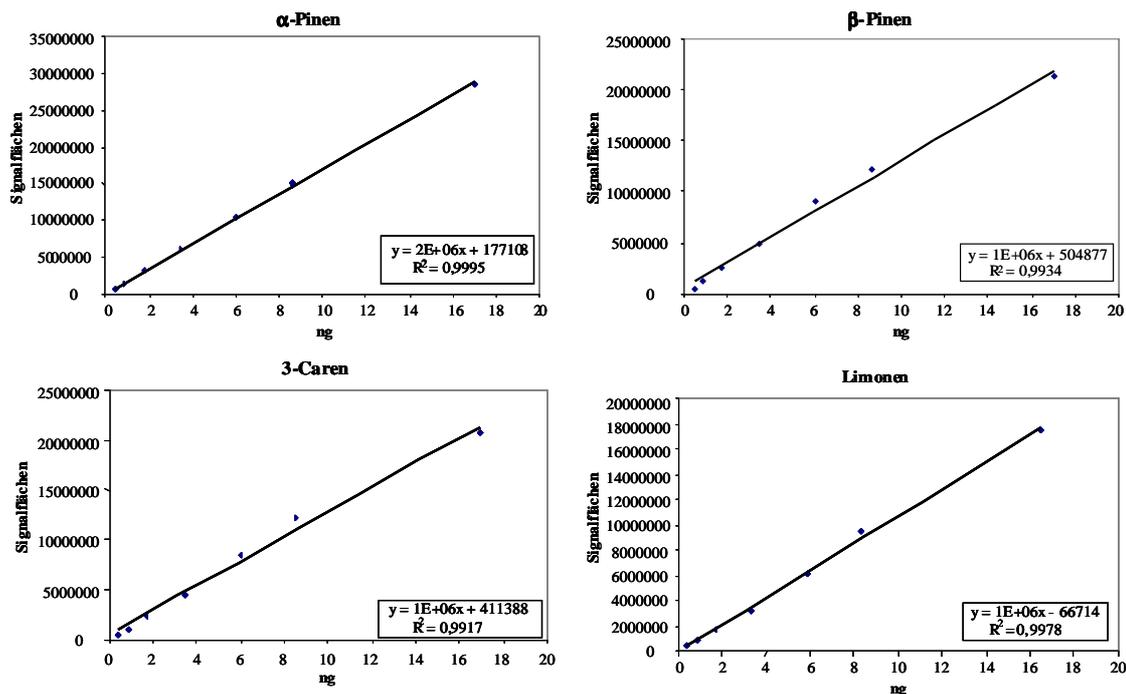


Abb A-3.10: Kalibrierungen der Monoterpene in Cyclohexan (Flüssiginjektion)

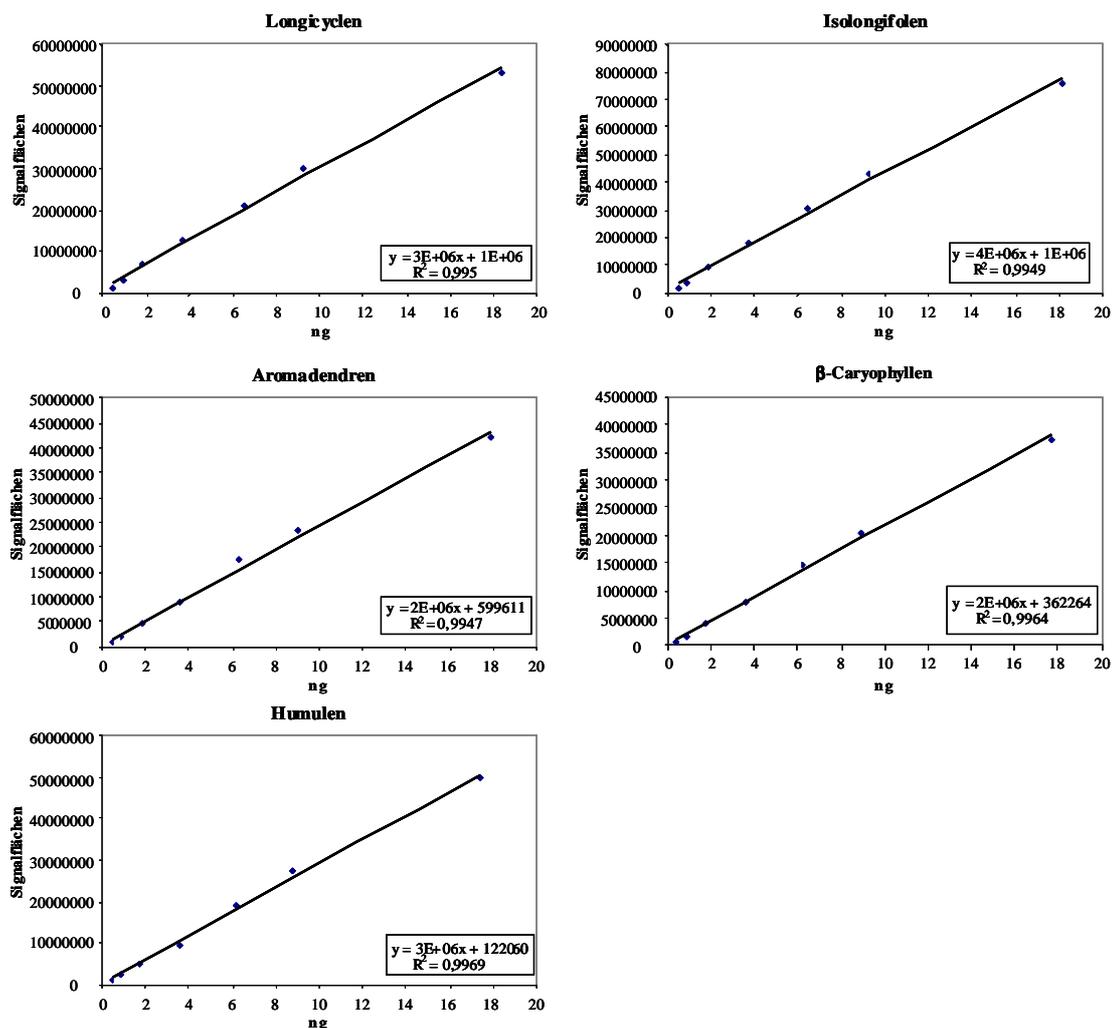


Abb. A-3.11: Kalibrierungen der Sesquiterpene in Cyclohexan (Flüssiginjektion)

Tabelle A-3.1: Gegenüberstellung der Extraktionsexperimente

Name	Gewicht fr. Pflanze	Volumen Cyclohexan	Ver- dünnung	Anzahl		Retentions- zeit (min)	Bestimmung Terpen	Gehalt der analys. Probe
				MT	SQT			
Salvia Oxyphora Blüten	0,9128 g	5,5 mL	-	10	6	8,228	α -Pinen	30,63 ppm
						9,866	β -Pinen	12,32 ppm
						10,535	Myrcen	
						11,114	3-Caren	0,14 ppm
						12,136	Limonen	3,04 ppm
						8,01		
						11,566		
						12, 545		
						12, 964		
						29,035	β -Caryophyllen	0,51 ppm
						25,617		
						30,033		
						30,316		
32, 194								
36, 121								
Salvia Fulgens Blüten	1,0466 g	5,5 mL	-	6	3	8,015		
						8,213	α -Pinen	0,33 ppm
						9,875	β -Pinen	1,44 ppm
						10,525	Myrcen	
						11,128	3-Caren	
						12,126	Limonen	9,04 ppm
						29,016	β -Caryophyllen	0,93 ppm
						30,801		
31,606								
Salvia Uliginosa Blüten	1,2480 g	5 mL	-	4	1	8,204	α -Pinen	0,43 ppm
						9,861	β -Pinen	
						10,554	Myrcen	
						12,089	Limonen	0,58 ppm
						25,588		
Salvia splendens Blüten	1,5651 g	6 mL	-	1	3	12,064	Limonen	
						29,011	β -Caryophyllen	0,32 ppm
						30,518	α -Humulen	
						32,166		

Salvia	1,5430 g	5 mL	-	-	6	29,039	β -Caryophyllen	0,29 ppm
Oxyphora						30,801		
Blätter						32,948		
						33,819		
						36,63		
						37,388		
Salvia	1,3142 g	5 mL	-	4	14	8,015		
Fulgens						8,233	α -Pinen	0,22 ppm
Blätter						9,866	β -Pinen	0,32 ppm
						12,145	Limonen	0,28 ppm
						27,245	Copaen	
						29,021	β -Caryophyllen	5,98 ppm
						30,505	α -Humulen	1,01 ppm
						27,811	Isolongifolen??	
						27,566		
						29,506		
						30,042		
						30,24		
						30,763		
						31,596		
						32,948		
						33,838		
						35,523		
						37,416		
Salvia	1,3836 g	5 mL	-	4	5	8,237	α -Pinen	0,71 ppm
Uliginosa						9,871	β -Pinen	
Blätter						10,535	Myrcen	
						12,093	Limonen	0,49 ppm
						29,002	β -Caryophyllen	0,6 ppm
						30,513	α -Humulen	0,29 ppm
						29,374		
						31,528		
						32,166		

Salvia	1,4452 g	5 mL	-	4	10	8,237	α -Pinen	
Splendens						8,816		
Blätter						9,866	β -Pinen	
						12,07	Limonen	
						27,264	Copaen	
						27,834	Isolongifolen	
						28,503	Isocaryphyllen	
						26,073		
						31,917		
						32,19		
						32,345		
						33,164		
						33,729		
						35,434		
Salvia	1,4893 g	5 mL	10fach	13	15	8,237	α -Pinen	41,21 ppm
Officinalis						9,866	β -Pinen	0,14 ppm
Blätter						10,525	Myrcen	
						11,114	3-Caren	0,05 ppm
						12,181	Limonen	96,46 ppm
						7,804		
						8,0166		
						8,811		
						11,566		
						13,374		
						13,948		
						14,556		
						15,342		
						27,556		
						27,839	Isolongifolen	
						29,016	β -Caryophyllen	10,83 ppm
						30,528	α -Humulen	20,01 ppm
						29,506		
						29,868		
						31,959		
						33,183		
						33,866		
						35,514		
						35,952		
						36,399		
						37,082		

						38,608		
						39,714		
Aristolochia	2,4802 g	5 mL	-	4	2	8,232	α -Pinen	
Salvadorensis						9,786	β -Pinen	
Blüte						11,133	3-Caren	
						12,089	Limonen	1,07 ppm
						25,4		
						32,138		
Fichten- nadeln	1,2644 g	5 mL	100fach	7	9	8,227	α -Pinen	1,77 ppm
						9,866	β -Pinen	0,83 ppm
						10,525	Myrcen	
						11,114	3-Caren	0,2 ppm
						12,065	Limonen	18,88 ppm
						7,841		
						8,821		
						27,053	Longicyclen	
						27,872	Isolongicyclen	
						28,856	α -Cedren	0,11 ppm
						29,025	β -Caryophyllen	0,24 ppm
						30,523	α -Humulen	0,3 ppm
						28,526		
						32,929		
						33,136		
						35,42		

