



# Zur Erlangung des Grades eines Master of Engineering (M. Eng.)

von Frau Xiaotong Ding

geboren am: 21.09.1990

in: Jiangsu, China

vorgelegte Abschlussarbeit:

Thema: Vergleich verschiedener Methoden zur Stabilisierung arsenkontaminierter Proben und Auswirkungen auf die Detektion mit dem Arsenbiosensor ARSOLux und HPLC-ICP-MS

Erstprüfer: Frau Prof. Dr. rer. nat. Regina Walter

Zweitprüfer: Herr Dr. Konrad Siegfried

Leipzig, 9. Dezember 2015

**Aufgabenstellung**  
**für die Masterarbeit (M. Eng.)**  
**von Frau Xiaotong Ding**  
**(Matrikel 18402)**

**Thema:** **Vergleich verschiedener Methoden zur Stabilisierung arsenkontaminierter Proben und Auswirkungen auf die Detektion mit dem Arsenbiosensor ARSOLux und HPLC-ICP-MS**

**Betreuer:** Prof. Dr. rer. nat. Regina Walter  
Dr. agr. Konrad Siegfried

**Aufgabenstellung**

Es sollen verschiedene Methoden zur Stabilisierung arsenkontaminierter Proben recherchiert und experimentell getestet werden. Die Kandidatin wird eine umfangreiche Literaturrecherche durchführen und sich in die Arsenmessung mit den Methoden ARSOLux Biosensor und HPLC-ICP-MS einarbeiten bzw. diese selbst durchführen. Es werden potenziell mögliche Stabilisierungsmethoden für Proben ausgewählt und Ihre Anwendbarkeit hinsichtlich Auswirkungen auf Präzision und Genauigkeit der Arsenmessmethoden experimentell untersucht und bewertet. Probenahmen an arsenkontaminierten Standorten und Analysen werden durchgeführt und Analysenergebnisse statistisch ausgewertet. Ziel der Masterarbeit ist es, eine abschließende Empfehlung für die Anwendung der besten Stabilisierungsmethode unter Berücksichtigung verschiedener Probenzusammensetzung für die jeweiligen Analysemethoden zu geben.

**Schwerpunkte**

1. Recherche zu Stabilisierungsmethoden, Einarbeitung in die Messmethoden, Vorbereitung der Probenahmen
2. Probenahme an noch zu spezifizierenden Standorten Industrie/Altbergbau Sachsen und Analyse
3. Analyse verschiedener Arsenverbindungen und möglicher Störelemente unter Anwendung verschiedener Proben-Stabilisierungsmethoden (Säuren, Temperaturen, Lagerungszeiträume)
4. Statistische Auswertung
5. Bewertung der Stabilisierungsmethoden und Anwendbarkeit unter verschiedenen Bedingungen für die verschiedenen Messmethoden (Präzision, Genauigkeit)
6. Anfertigung Literaturdatenbank

abzugebende Exemplare: 2 schriftliche Arbeiten + PDF-Datei



Prof. Dr. rer. nat. Regina Walter  
Vorsitzender des Prüfungsausschusses



Prof. Dr. rer. nat. Regina Walter  
Themenstellender Hochschullehrer

## **Danksagung**

Zuerst möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. Regina Walter, Herrn Dr. Konrad Siegfried und Herrn Dr. habil. Jürgen Mattusch dafür bedanken, meine Masterarbeit zu diesem interessanten Thema erstellen zu können, außerdem auch für die gute wissenschaftliche Betreuung.

Ein großes Dankeschön geht an Andreas Kölsch für seine Hilfsbereitschaft.

Ebenfalls danke ich allen anderen Kollegen des Departments Umweltmikrobiologie und Analytik für die gute Arbeitsatmosphäre und ihre Hilfe bei großen und kleinen Aufgaben.

Außerdem seien Frau Verena Jaschik und Frau Bärbel Kiesel gedankt für ihre Unterstützung bei allen Laborangelegenheiten im UFZ.

Abschließend danke ich meiner Familie und Freunden für die Unterstützung und Abwechslung während des gesamten Studiums.

## **Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel und Literaturstellen angefertigt habe. Die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Die Arbeit wurde bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Xiaotong Ding

Xiaotong Ding

Leipzig, 9.12.15

Ort, Datum

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>III</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>IV</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>V</b>
<b>1. Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1 Arsenproblematik weltweit.....	1
1.2 Chronische Arsenvergiftung .....	2
1.3 Nachweismethoden zur Bestimmung der Arsenkonzentrationen.....	3
1.4 Bakterien als Detektoren zur Arsenbestimmung im Wasser .....	4
1.5 Aufgabenstellung .....	5
<b>2. Material und Methoden</b> .....	<b>7</b>
2.1 Vorstellung Probenahme-Standorte .....	7
2.1.1 Pöhla .....	7
2.1.2 Hartenstein .....	8
2.2 Verwendete Chemikalien und Geräte.....	9
2.3 Labormaßstab – HPLC-ICP-MS .....	10
2.3.1 Funktionsprinzip von HPLC .....	10
2.3.2 Trennsäule .....	11
2.3.3 Element Detektor – ICP-MS.....	11
2.3.4 Kalibrierung und Bedienung des Gerätes .....	12
2.4 ARSOLux-Biosensor .....	13
2.4.1 Produktion Biosensoren.....	13
2.4.2 Anwendungsprinzip und Kalibrierung der Biosensoren.....	13
2.5 Voruntersuchung von Wasserproben aus dem Erzgebirge in Sachsen .....	15
2.6 Arsenmessung von Wasserproben .....	17
2.7 Statistische Auswertung.....	18
<b>3. Ergebnisse</b> .....	<b>19</b>
3.1 Kalibrierung der Biosensoren .....	19
3.2 Kalibrierung der HPLC-ICP-MS.....	20
3.3 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Messung niedriger As-Konzentrationen – Standort Hartenstein .....	22
3.3.1 Zusammensetzung der Wasserproben.....	23
3.3.2 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Arsenmessung mit ARSOLux Biosensoren .....	23
3.3.3 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Arsenmessung mit HPLC-ICP-MS.....	24
3.4 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Messung höherer As-Konzentrationen – Standort Pöhla.....	24
3.4.1 Zusammensetzung der Wasserproben.....	24
3.4.2 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Arsenmessung mit ARSOLux Biosensoren .....	25
3.4.3 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Arsenmessung mit HPLC-ICP-MS.....	27

3.5 Übereinstimmung der Ergebnisse ARSOLux Biosensor und HPLC-ICP-MS .....	29
3.6 Statistische Auswertung mit Origin .....	32
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>38</b>
4.1 Optimierung der Kalibrierung .....	38
4.2 Bewertung von Stabilisierungsmethoden bei Analyse von Wasserproben niedriger Arsenkonzentration .....	39
4.2.1 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Arsenmessung mit ARSOLux Biosensoren .....	39
4.2.2 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Arsenmessung mit HPLC-ICP-MS .....	40
4.3 Untersuchung von Stabilisierungsmethoden bei Analyse von Wasserproben hoher Arsenkonzentration .....	41
4.3.1 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Arsenmessung mit ARSOLux Biosensoren .....	41
4.3.2 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Arsenmessung mit HPLC-ICP-MS .....	42
4.4 Wiederfindung der mit ARSOLux Biosensoren gemessenen Arsenkonzentrationen im Wasser im Vergleich zu Messwerten der HPLC-ICP-MS .....	43
4.5 Statistische Bewertung aller Stabilisierungsmethoden .....	44
<b>5. Zusammenfassung und Ausblick.....</b>	<b>47</b>
<b>6. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>49</b>
<b>Anhang .....</b>	<b>52</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AAS	-	Atomabsorptionspektrometrie
AFS	-	Atomfluoreszenzspektroskopie
As	-	Arsen
DMA	-	Dimethylarsinsäure
EU	-	Europäische Union
HPLC	-	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
ICP-MS	-	Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma
ICP-AES	-	Induktiv gekoppelte Atomemissionsspektrometrie
MMA	-	Monomethylarsonsäure
MW	-	Mittelwert
m/z	-	Masse-zu-Ladungsverhältnis
NP	-	Normale Phase
RP	-	Umkehrphase (Reversed Phase)
SD	-	Standardabweichung
SDAG	-	Sowjetisch Deutsche Aktiengesellschaft
SEC	-	Größenausschluss-Chromatographie (Size Exclusion Chromatography)
WBA	-	Wasserbehandlungsanlage
WHO	-	World Health Organisation
UHPLC	-	Ultrahochleistungsflüssigkeitschromatographie

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Herstellung Kalibrierlösungen (Volumen 10 ml) .....	14
Tabelle 2: As-Konzentrationen bei Vorbehandlung mit verschiedenen Stabilisierungsmethoden und Analyse mit HPLC-ICP-MS .....	15
Tabelle 3: in der Arbeit verwendete Stabilisierungsmethoden.....	18
Tabelle 4: Zusammensetzung der Wasserprobe aus Hartenstein, gemessen mit ICP-MS und ICP-AES am 11.08.2015.....	23
Tabelle 5: Zusammensetzung der Wasserprobe aus Pöhla, gemessen mit ICP-MS und ICP- OES am 11.08.2015.....	24
Tabelle 6: Statistische Werte aus Hartenstein nach Sortierung von Stabilisierungsmethoden .....	32
Tabelle 7: Statistische Werte aus Hartenstein nach Sortierung von Messmethode.....	32
Tabelle 8: Statistische Werte aus Pöhla nach Sortierung von Stabilisierungsmethoden .....	32
Tabelle 9: Statistische Werte aus Pöhla nach Sortierung von Messmethoden.....	32
Tabelle 10: Statistische Auswertung für alle Daten mit ANOVA.....	33
Tabelle 11: Statistische Auswertung mit ANOVA (Vergleich Stabilisierungsmethoden Proben aus Hartenstein).....	33
Tabelle 12: Statistische Auswertung mit ANOVA (Vergleich Stabilisierungsmethoden Proben aus Pöhla).....	33
Tabelle 13: Statistische Auswertung mit ANOVA (Vergleich Messmethoden Proben aus Hartenstein).....	34
Tabelle 14: Statistische Auswertung mit ANOVA (Vergleich Messmethoden Proben aus Pöhla).....	35
Tabelle 15: Pearson (2-seitig) und Spearman (2-seitig) Korrelationskoeffizienten für Gesamtarsen und die weitere analysierte Parameter am 11.08.2015.....	36
Tabelle 16: Pearson (2-seitig) und Spearman (2-seitig) Korrelationskoeffizienten für Gesamtarsen und die weitere analysierte Parameter am 31.08.2015.....	36
Tabelle 17: Zusammenfassung für ARSOLux Biosensoren .....	48
Tabelle 18: Arsenkonzentrationen (As gesamt, µg/l) gemessen mit ARSOLux .....	53
Tabelle 19: Arsenkonzentrationen (As gesamt, µg/l) gemessen mit ARSOLux .....	54
Tabelle 20: Arsenitkonzentrationen (As(III), µg/l) gemessen mit HPLC-ICP-MS .....	55
Tabelle 21: Arsenatkonzentrationen (As(V), µg/l) gemessen mit HPLC-ICP-MS .....	56
Tabelle 22: Arsenkonzentrationen (As gesamt) gemessen mit HPLC-ICP-MS .....	57
Tabelle 23: Kalibrierung ARSOLux Biosensoren.....	58
Tabelle 24: Kalibrierung Arsenitkonzentration mit HPLC-ICP-MS.....	59
Tabelle 25: Kalibrierung Arsenatkonzentration mit HPLC-ICP-MS.....	60

## Abbildungsverzeichnis

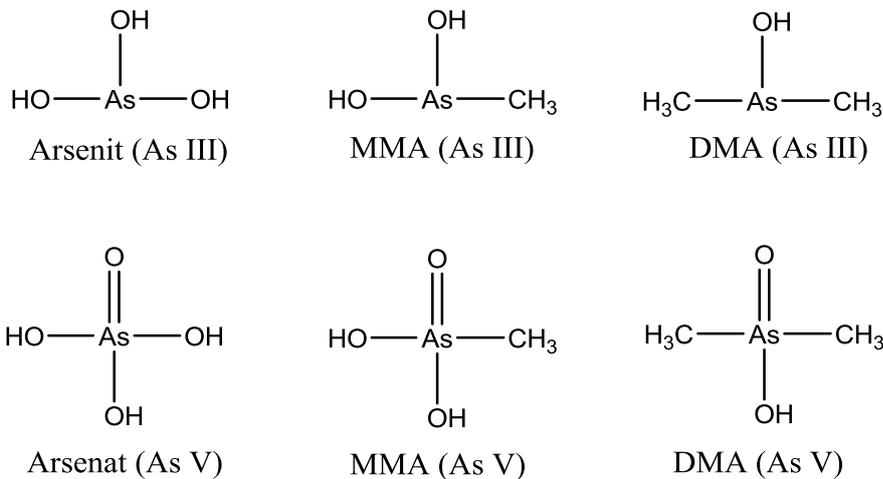
Abbildung 1: Im Wasser generell detektierte Arsenverbindungen [6].....	1
Abbildung 2: Standorte mit Arsenkontamination des Grundwassers ( $As > 50 \mu\text{g/l}$ ) [6].....	2
Abbildung 3: Prinzip des Arsenbiosensors [3].....	4
Abbildung 4: Standort Pöhla (Wasserbehandlungsanlage), das aufbereitete Wasser wird in den Vorfluter Luchsbach eingeleitet.....	8
Abbildung 5: Standort Hartenstein, Messpunkt 555, das Wasser wird nach der Aufbereitungsanlage direkt in den Fluss Zwickauer Mulde eingeleitet .....	9
Abbildung 6: Aufbau eines HPLC-Gerätes [1].....	10
Abbildung 7: Ansicht HPLC-ICP-MS [2].....	11
Abbildung 8: Änderung der Arsenkonzentration in %.....	16
Abbildung 9: Kalibrierkurven zur Bestimmung der As-Konzentration in Wasserproben.....	19
Abbildung 10: Chromatogramm Wasserprobe aus Pöhla, gemessen am 11.08.2015, gelagert bei $4^\circ\text{C}$ , ohne Zugabe von Säure.....	20
Abbildung 11: Kalibrierkurven zur Bestimmung der Arsenitkonzentration in Wasserproben .....	21
Abbildung 12: Kalibrierkurven zur Bestimmung der Arsenatkonzentration in Wasserproben .....	22
Abbildung 13: Arsenkonzentrationen ( $As_{\text{ges}}$ ) der Wasserprobe aus Hartenstein gemessen mit dem ARSOLux Biosensor .....	23
Abbildung 14: Arsenkonzentrationen ( $As_{\text{ges}}$ ) der Wasserprobe aus Hartenstein gemessen mit HPLC-ICP-MS .....	24
Abbildung 15: Arsenkonzentrationen ( $As_{\text{ges}}$ ) der Wasserprobe aus Pöhla gemessen mit dem ARSOLux Biosensor .....	25
Abbildung 16: 1/20 Arsenkonzentrationen ( $As_{\text{ges}}$ ) der Wasserprobe aus Pöhla gemessen mit dem ARSOLux Biosensor .....	26
Abbildung 17: Arsenkonzentrationen ( $As_{\text{ges}}$ ) der Wasserprobe aus Pöhla gemessen mit HPLC-ICP-MS .....	27
Abbildung 18: 1/20 Arsenkonzentrationen ( $As_{\text{ges}}$ ) der Wasserprobe aus Pöhla gemessen mit HPLC-ICP-MS .....	27
Abbildung 19: 1/20 Arsenitkonzentrationen ( $As(\text{III})$ ) der Wasserprobe aus Pöhla gemessen mit HPLC-ICP-MS .....	28
Abbildung 20: 1/20 Arsenatkonzentrationen ( $As(\text{V})$ ) der Wasserprobe aus Pöhla gemessen mit HPLC-ICP-MS .....	28
Abbildung 21: Arsenkonzentrationen ( $As_{\text{ges}}$ ) mit ARSOLux Biosensor und HPLC-ICP-MS gemessen am 11.08.2015 .....	29
Abbildung 22: Arsenkonzentrationen ( $As_{\text{ges}}$ ) mit ARSOLux Biosensor und HPLC-ICP-MS gemessen am 17.08.2015 .....	29

Abbildung 23: Arsenkonzentrationen (Asges) mit ARSOLux Biosensor und HPLC-ICP-MS gemessen am 24.08.2015 .....	30
Abbildung 24: Arsenkonzentrationen (Asges) mit ARSOLux Biosensor und HPLC-ICP-MS gemessen am 31.08.2015 .....	30
Abbildung 25: Relative Abweichung der Wasserproben aus Hartenstein an den einzelnen Messtag.....	31
Abbildung 26: Relative Abweichung der Wasserproben aus Pöhla an den einzelnen Messtag .....	31
Abbildung 27: Chromatogramm Probe Hartenstein gemessen am 11.08.2015.....	61
Abbildung 28: Chromatogramm Probe Pöhla gemessen am 24.08.2015.....	61
Abbildung 29: Standort der Probe aus Hartenstein (Messpunkt 555).....	62
Abbildung 30: Standort der Probe aus Pöhla.....	62

## 1. Einleitung

### 1.1 Arsenproblematik weltweit

Arsen ist ein typisches Halbmetall, das im Periodensystem im Grenzbereich zwischen den metallischen und den nichtmetallischen Elementen steht [4]. Als anorganische Verbindung treten vor allem Arsenat und Arsenit auf. Organische Arsenverbindungen enthalten oft Methyl- oder Phenylgruppen. Arsen tritt hauptsächlich mit vier Oxidationszahlen auf: -3, 0, +3 und +5, wovon das anorganische Arsenit (As(III)) und Arsenat (As(V)) am toxischsten sind [5].



**Abbildung 1: Im Wasser generell detektierte Arsenverbindungen [6]**

Arsen ist ein relativ häufig vorkommendes Element. Organisches Arsen kann im alltäglichen Essen, wie z.B. in Obst, Gemüse, Algen und Fisch vorkommen. Das anorganische Arsen ist wegen seiner Bioverfügbarkeit toxischer für den menschlichen Körper. Anorganisches Arsen kann mit Wasser und Essen in den Körper aufgenommen und freigesetzt werden, was dann seinen toxischen Effekt im Kreislauf auslöst [5]. Da heutzutage immer mehr Bergbau betrieben wird, kann anorganisches Arsen unter bestimmten geochemischen Bedingungen und durch mikrobielle Aktivität aus arsenhaltigem Sediment im Grundwasser gelöst werden, wo es hauptsächlich in Form von Arsenat vorliegt. Unter anaeroben Bedingungen kann es auch als Arsenit vorkommen [6]. Außerdem werden Arsenverbindungen auch als Pestizide oder Holzschutzmittel eingesetzt [7]. Der Grenzwert in Trinkwasser liegt in EU-Ländern und den USA bei 10 µg/l, in zahlreichen anderen Ländern bei 50 µg/l [3].

Insgesamt sind mehr als 70 Länder und 137 Millionen Menschen weltweit von der Arsenproblematik betroffen. 35 – 50 Millionen Menschen in West-Bengalen und Bangladesch, über 10 Millionen in Vietnam und über 2 Millionen in China nehmen langfristig zu viel Arsen aus Grund- und Trinkwasser auf, was zu Erkrankungen wie Hautkrebs, Lungenkrebs oder dem sogenannten Blackfoot Disease führt. Die WHO (World Health Organization) zählt Arsen zusammen mit Fluorid zu den schädlichsten anorganischen Schadstoffen im Trinkwasser [3,

8, 9]. Aus diesem Grund ist es wichtig, die genaue Konzentration von Arsen in Wasserproben nachzuweisen.



**Abbildung 2: Standorte mit Arsenkontamination des Grundwassers ( $As > 50 \mu\text{g/l}$ ) [6]**

In China ist das Wasser besonders in den Provinzen Shanxi, Xinjiang und der Inneren Mongolei hoch mit Arsen kontaminiert [10]. Zurzeit sind über 2 Millionen Menschen in 8 Provinzen arsenhaltigem Grundwasser ausgesetzt. In manchen Provinzen, wie z.B. der Inneren Mongolei, wird geplant und von der Regierung finanziert, trinkbares Wasser mit niedrigen oder ohne Arsenkontamination anzubieten. In einer Untersuchung mit 20 Freiwilligen wurde nach einem Jahr der Einnahme geringer arsenkontaminiertem Wasser ( $0,037 \text{ mg/l}$ ) schon eine signifikante Reduzierung von Erkrankungen sowie Hyperpigmentierung beobachtet [11]. Um weitere Maßnahmen durchzuführen und die Verbreitung der Arsenerkrankungen zu verringern, ist ein günstiges und zuverlässiges Schnelltestverfahren zur Vor-Ort-Messung des Arsengehaltes im Wasser in Entwicklungsländern notwendig.

## 1.2 Chronische Arsenvergiftung

Die Einnahme von arsenhaltigem Wasser über einen längeren Zeitraum kann zur Akkumulation von Arsen im Körper und zu Symptomen einer chronischen Arsenvergiftung führen, die unter dem Begriff „Arsenicosis“ zusammengefasst werden. Diese ist erst äußerlich erkennbar, wenn Veränderung der Hautpigmentierung in Form von Melanosen und Arsenkeratosen, besonders an Hand- und Fußflächen auftreten [12]. Wegen unterschiedlicher Aufnahmemengen können diese Symptome unterschiedlich stark ausgeprägt sein [13] und treten nach 6 Monaten oder erst nach Jahren auf [14]. Weiterhin können Haarausfall,

Polyneuropathie, Depressionen, Schlafstörungen und Kopfschmerzen auftreten. In manchen Fällen führt eine Arsenvergiftung zu Gastroenteritis, Hypertrophie der Leber, Bronchitis oder Herzinfarkt [11]. In mehrere Studien wird beschrieben, dass lang andauernder Konsum von arsenkontaminiertem Wasser zu karzinogener (besonders betroffen sind Blase, Leber, Lunge und Niere) oder teratogener Wirkung führt [15-17].

### **1.3 Nachweismethoden zur Bestimmung der Arsenkonzentrationen**

Das anorganische Arsen liegt als Arsenit ( $\text{AsO}_3^{3-}$ ) und Arsenat ( $\text{AsO}_4^{3-}$ ) vor. Wegen der hohen Giftigkeit von Arsen ist es notwendig, die Arsenkonzentration im Wasser zu bestimmen. Eine optimale Nachweismethode dafür sollte möglichst bioverfügbares Arsen nachweisen, günstig, umweltfreundlich und leicht anwendbar sein. Unterschiedliche Messmethoden werden unter verschiedenen Bedingungen und bei verschiedenen Zielstellungen benutzt, dafür stehen die Laboranalytik und Feldmessmethoden zur Verfügung.

In mehrere Studien werden Labormessmethoden verwendet, wie z.B. die Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) [18], die Atomfluoreszenzspektroskopie (AFS) [19, 20], die induktiv gekoppelte Atomemissionsspektrometrie (ICP-AES) [21] und die Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) [21]. Die genannten analytischen Verfahren sind bekannt für ihre hohe Empfindlichkeit, genaue Quantifizierung und die gute Identifikation unbekannter Molekularverbindungen [22]. Die beschriebenen Laborverfahren sind aber auch sehr kompliziert, zeit- und kostenintensiv. In vielen Ländern mit Arsenproblematik, wie Indien und manchen Regionen wie z.B. der Inneren Mongolei, die wirtschaftlich schwach sind, ist eine Anwendung solcher Nachweismethoden ohne umfangreiche finanzielle Hilfe nicht möglich. Außerdem ist es mit einem längeren Transport der zu analysierenden Wasserproben zu rechnen. Vor dem Transport wäre eine Konservierung bzw. Vorbehandlung (Filtrierung, Stabilisierung) der Wasserproben notwendig, um später eine exakte Arsendetektion durchführen zu können, die dem Originalzustand bei der Probenentnahme entspricht [6].

Feldmessmethoden, als eine Alternative zu den Labormessmethoden, können ohne zeitliche Begrenzung direkt vor Ort zur Arsengehaltbestimmung angewandt werden. In den letzten Jahren wurden kolorimetrische Test-Kits, basierend auf der „Gutzeit“ Methode, entwickelt [6]. Die Methode ist schnell, leicht durchführbar und kostengünstig. Es sollte aber eine höhere Messgenauigkeit erreicht werden, da diese bisher in vielen Fällen vor allem im Grenzwertbereich von 10  $\mu\text{g/l}$  bzw. 50  $\mu\text{g/l}$  nicht ausreichend ist. Beispielweise wurde in Bangladesch, wo zurzeit ein Arsengrenzwert von 50  $\mu\text{g/l}$  gilt, der Arsengehalt der Proben aus Trinkwasserbrunnen in zahlreichen Fällen falsch gemessen. Außerdem entsteht das

gesundheitsschädliche Arsin-Gas, die Quecksilberbromid enthaltenden Teststreifen und andere toxische Reagenzien, welche sachgerecht entsorgt werden müssen [23].

### 1.4 Bakterien als Detektoren zur Arsenbestimmung im Wasser

Als Alternative zu chemischen Tests wurde in den letzten Jahren eine biologische Methode zur Bestimmung der Arsenkonzentration im Wasser entwickelt, die eine einfache Bedienbarkeit und relativ hohe Genauigkeit aufweist, umweltfreundlich und kostengünstig ist [3]. Die sogenannten Biosensoren funktionieren mit Bakterien, die einfach kultiviert werden können. Die Bakterien können mittels biologischer Systeme bestimmte Substanzen detektieren. Statt der gesamten ungelösten und gelösten Arsenkonzentration in einer Wasserprobe wird mit Biosensoren nur das bioverfügbare, gelöste Arsen gemessen, was besonders schädlich für den menschlichen Körper ist [22]. In mehreren Studien wurde *Escherichia coli* (*E. coli* K12) wegen seiner natürlichen Abwehrstrategie gegen Arsenit und Arsenat als Bioreporterbakterium genutzt und genetisch modifiziert [3, 8, 24]. Auch die ARSOLux Biosensoren enthalten als Bioreporterbakterium ein Derivat von *E. coli* K12. Die Bioreporter sind genetisch veränderte Bakterien, die Reporterproteine sowie bakterielle Luciferase erzeugen [8].

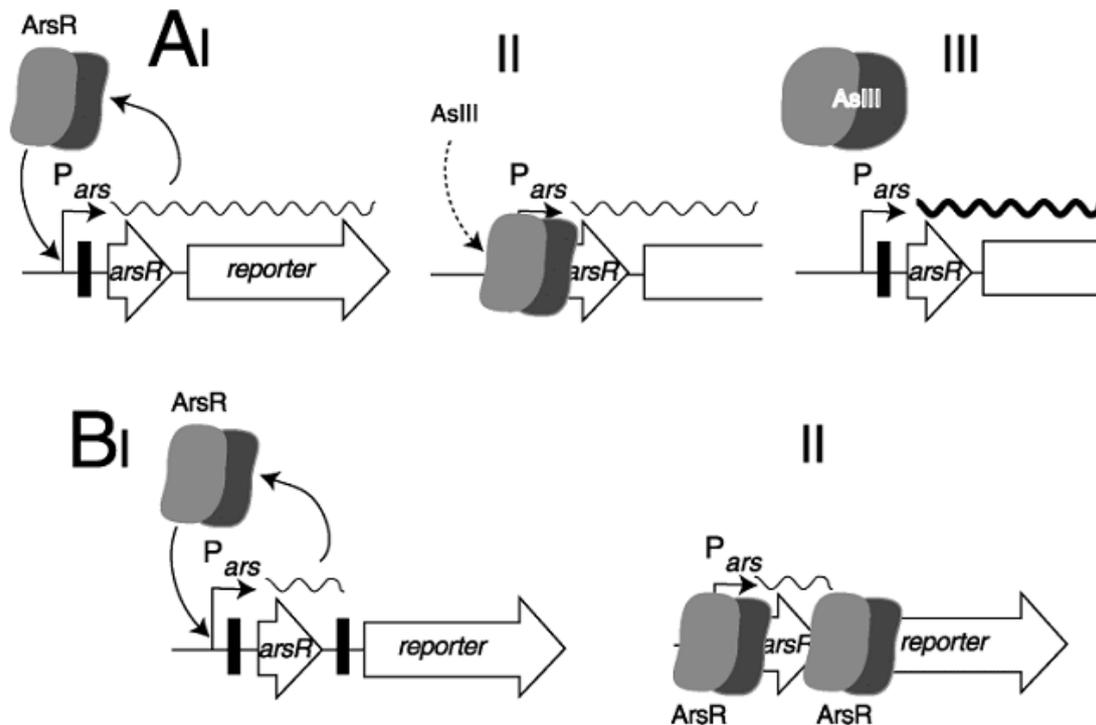


Abbildung 3: Prinzip des Arsenbiosensors [3]

Abbildung 3 erklärt das Prinzip der Arsenbiosensoren. Die Reportergene werden von den *ars*-Genen kontrolliert. Durch die konstitutive Expression des ArsR-Proteins findet eine Hintergrundaktivität der Luciferase statt. Die Anwesenheit von Arsenit löst eine Konformitätsänderung von ArsR aus, wodurch ArsR von der DNA-Bindestelle abfällt und es

zur verstärkten Expression der Reportergene kommt. ArsR bindet an der DNA-Bindestelle und verhindert eine Expression der Reportergene bei Abwesenheit von Arsen. Bei Anwesenheit von Arsenit verliert ArsR die Affinität zu den DNA-Bindestellen und die Reportergene werden exprimiert (AIII in Abbildung 3).

Durch die Kopplung der Promoterregion für die Arsenresistenz an die Luciferase kodierenden lux-Gene (Signalgene) können mit Hilfe von E. coli-Zellen Arsenionen, durch die Luciferaseexpression (Lichtemission) quantifiziert werden. Das dimere Repressorprotein ArsR kann aber noch teilweise exprimiert werden. Um eine dadurch bewirkte Hintergrundaktivität der Luciferase zu unterdrücken, wurde zwischen das arsR-Gen und die Luciferase-Gene eine zweite ArsR-Bindestelle eingebaut [3]. Durch diese doppelte Sicherung wurde die Signalhintergrundstörung der Luciferaseaktivität in Abwesenheit von Arsenit stark reduziert, sodass nur bei Anwesenheit von Arsenit eine Expression der Reportergene erfolgt. Das Arsenat (V) wird in der Bioreporterzelle durch die Arsenatreduktase zum Arsenit (III) reduziert und kann so ebenfalls detektiert werden [25]. Der Arsenbiosensor kann somit das gesamte im Wasser gelöste Arsen ( $\text{As(III)} + \text{As(V)}$ ) bestimmen.

### **1.5 Aufgabenstellung**

Der ARSOlux Biosensor ist eine biologische Methode zur Messung von Arsenkonzentrationen in Wasserproben. Wegen der hohen Schnelligkeit und niedriger Kosten könnte die Methode in betroffenen Entwicklungsländern ein regelmäßiges Monitoring der Arsenkontamination ohne hohe Kosten und Materialaufwand ermöglichen. Vor allem zeigt sich dieser Vorteil bei der Analyse einer großen Anzahl von Proben (Screening). Es ist vorteilhaft, wenn viele Proben gesammelt und auf einmal gemessen werden, da dies Kosten- und Materialaufwand reduziert. Da unter bestimmten Bedingungen eine Probenahme die Lagerung von Proben für einige Tage erfordert, ist es notwendig, die Wasserproben so zu behandeln, zu lagern bzw. zu stabilisieren, dass nur geringe Veränderungen der Zusammensetzung der Probe auftreten können und diese so lange wie möglich dem Originalzustand bei der Probenahme entspricht. Um optimale Ergebnisse der ARSOlux Messung auch bei Transport und Lagerung der Proben für einige Tage bzw. Wochen zu erhalten, sollte die Stabilisierungsmethode für arsenkontaminierte Proben optimiert werden. Reale arsenkontaminierte Proben aus Altbergbaustandorten im Erzgebirgen in Sachsen wurden dazu mit unterschiedlichen Methoden gelagert und stabilisiert, bevor sie mit dem ARSOlux Biosensor analysiert wurden. Als Referenzmessung wurden die gleichen Proben, auch mit HPLC-ICP-MS (Gold Standard) vermessen, um die Biosensorergebnisse zu validieren. In dieser Arbeit wird die Anwendbarkeit der Probenstabilisierungsmethoden hinsichtlich Auswirkungen auf Präzision und Genauigkeit der verwendeten Arsenmessmethoden experimentell untersucht und bewertet. Dafür wurde eine statistische Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Probenahmen an unterschiedlich

stark arsenkontaminierten Standorten und Analysen werden durchgeführt und Analyseergebnisse ausgewertet. Ziel der Masterarbeit ist es, eine abschließende Empfehlung für die Anwendung der besten Stabilisierungsmethode unter Berücksichtigung verschiedener Probenzusammensetzung für die jeweiligen Analysemethoden zu geben.

Die eigenen experimentellen Untersuchungen wurden im UFZ in Leipzig im Versuchszeitraum vom 10.08.2015 bis zum 31.08.2015 durchgeführt.

## **2. Material und Methoden**

In dieser Arbeit wurden arsenhaltige Wasserproben mit ICP-MS, HPLC-ICP-MS und ARSOlux Biosensoren selbst gemessen, die Kationen und Anionen im Wasser wurden mit ICP-AES und ICP-MS von Mitarbeitern des UFZ, Department Anorganische Analytik, gemessen.

### **2.1 Vorstellung Probenahme-Standorte**

Am 10.08.2015 wurde an den zwei Standorten Pöhla und Hartenstein Wasserproben entnommen. Die beiden Standorte wurden aufgrund der unterschiedlichen Arsengehalte und Probenmatrix ausgesucht.

#### **2.1.1 Pöhla**

Der Standort Pöhla liegt im oberen Westerzgebirge, in unmittelbarer Nähe der Staatsgrenze zur Tschechischen Republik, wo durch die SDAG (Sowjetisch Deutsche Aktiengesellschaft) von 1967 bis 1990 Bergbau betrieben wurde. Schadstoffe wie z.B. Radium, Eisen und Arsen im Flutungswasser der bereits vollständig gefluteten Grube Pöhla, das sich ab 1991 angesammelt hatte, mussten entfernt werden. Die Behandlung des anfallenden Wassers erfolgt in der Wasserbehandlungsanlage (WBA) Pöhla, nachdem es durch einen natürlichen Überlauf in der Grube und über eine Rohrleitung der WBA zugeführt wird (siehe Abbildung 4, rechts unten). Im Anschluss wird das aufbereitete Wasser in den Vorfluter Luchsbach eingeleitet. Seit 2014 wird eine passiv-biologische Wasserbehandlungsanlage vor Ort eingesetzt. Die neue WBA wird möglichst personalfrei per Fernüberwachung von der WBA Schlema-Alberoda aus betrieben. Dadurch können die Kosten der Wasserbehandlung deutlich gesenkt werden. Mit dieser WBA lassen sich kontaminierte Wässer der Grube Pöhla im Bereich von 10 bis 60 m<sup>3</sup>/h behandeln. Aus dem Belebungsbecken (siehe Abbildung 4, links) wurde die Probe genommen.



**Abbildung 4: Standort Pöhla (Wasserbehandlungsanlage), das aufbereitete Wasser wird in den Vorfluter Luchsbach eingeleitet**

### 2.1.2 Hartenstein

Seit Beginn der Sanierung der Hinterlassenschaften des ehemaligen Uranerzbergbaus ist die Wasserbehandlung eine der Hauptaufgaben der Wismut GmbH. Sowohl während als auch nach Abschluss der gesteuerten Flutung der Bergwerke fallen kontaminierte Wässer an. Das Wasser aus der Grube Schlema-Alberoda muss so behandelt werden, dass es nach der Aufbereitung nur noch geringe Konzentrationen der Schadstoffe Uran, Radium, Arsen, Eisen und Mangan enthält, so dass es schließlich in den Vorfluter Zwickauer Mulde eingeleitet werden darf. Die Behandlung des anfallenden Wassers erfolgt in dieser Wasserbehandlungsanlage (WBA), nachdem es über ein Pumpensystem der Grube entnommen und der WBA zugeführt wurde (siehe Abbildung 5).



**Abbildung 5: Standort Hartenstein, Messpunkt 555, das Wasser wird nach der Aufbereitungsanlage direkt in den Fluss Zwickauer Mulde eingeleitet**

### **2.2 Verwendete Chemikalien und Geräte**

Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit wurden mit *E. coli* DH5 $\alpha$ -2697 (pSB401-arsR) aus der UFZ-Stammsammlung durchgeführt [26].

Für die Kalibrierung der ARSOlux Biosensoren wurde ein 0,05 mol/l As(III)-Standard (NaAsO<sub>2</sub>) verwendet. Mit dem Luminometer Junior LB 9509 (Berthold Technologies, Bad Wildbad, Deutschland) wurden die Wasserproben gemessen.

Bei der Kalibrierung des ICP-MS wurden 1000 mg/l As(III)- und 1001 mg/l As(V)-Standards verwendet. Mit dem UHPLC 1290 Series (Agilent, Santa Clara, CA, USA) gekoppelt mit ICP-MS 7500s (Agilent) wurden die Arsenmessungen durchgeführt.

## 2.3 Labormaßstab – HPLC-ICP-MS

### 2.3.1 Funktionsprinzip von HPLC

Die Chromatographie ist die am meisten eingesetzte Methode zur analytischen Trennung in der Wissenschaft. Für die Detektion von Arsenspezies wird die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) oft eingesetzt [27]. In der Arbeit wurde eine Ultrahochleistungsflüssigkeitschromatographie (engl. Ultra High Performance Liquid Chromatography, UHPLC) benutzt. Diese unterscheidet sich von der HPLC dadurch, dass ein höherer Druck bis 1400 bar angewendet werden kann, wodurch die Detektionszeiten verringert werden [28]. Es ist ein Verfahren der Flüssigchromatographie zur Quantifizierung sowie Identifizierung, das in seiner Grundfunktionsweise der HPLC ähnlich ist.

Der Unterschied eines HPLCs zur normalen Flüssigchromatographie ist die hohe Trennleistung, die durch sehr kleine, druckstabile Packungsteilchen (<10 µm), pulsationsarme Pumpen, hohe Drücke (bis 400 bar), entsprechende Injektionssysteme und miniaturisierte Detektoren erreicht wird [28]. In Abbildung 6 wird die Funktionsweise der HPLC beschrieben.

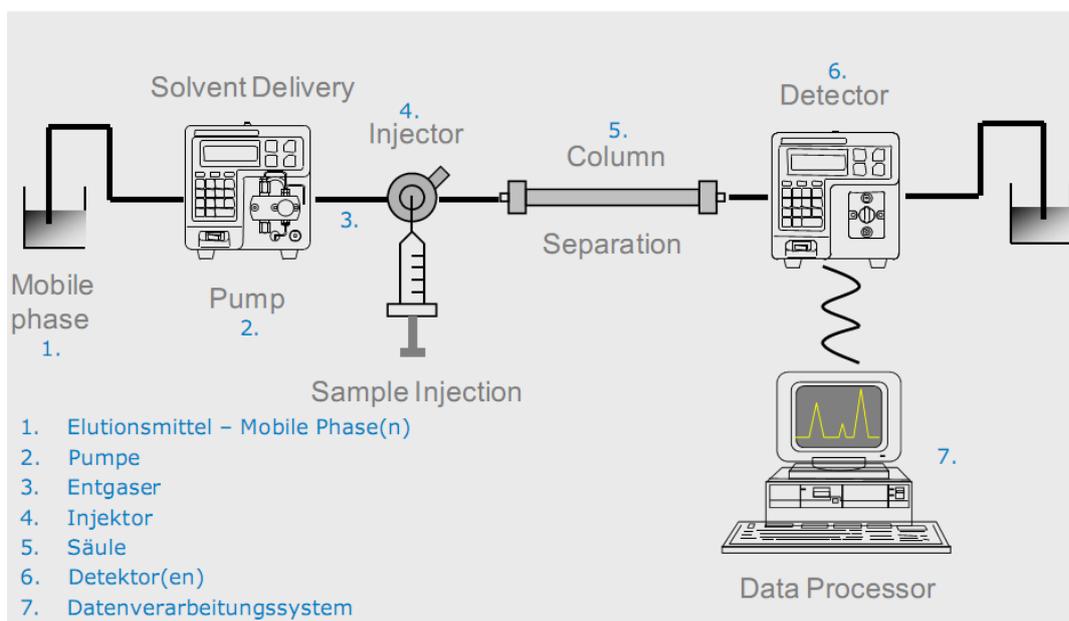


Abbildung 6: Aufbau eines HPLC-Gerätes [1]

Als eine schnelle Trenntechnik wird HPLC verwendet, um die Analyten aufgrund des Kontakts mit der stationären Phase in einer Säule wegen unterschiedlicher Polarität aus der mobilen Phase zu trennen. Unterschiedliche stationärer Lösungsmittelgemische und Temperaturen können die Trennung beeinflussen.

### 2.3.2 Trennsäule

Die Trennsäule ist das Kernstück eines Chromatographiesystems [29]. Es gibt eine große Auswahl an Trennsäulen für die Nutzung von HPLC, z.B. umgekehrte Phase (RP, reversed Phase) und normale Phase (NP, normal Phase), Größenausschluss-Chromatographie (SEC, size exclusion chromatography) und Ionenaustausch-Chromatographie. Die stationäre und mobile Phase kann flexibel ausgewählt werden, z.B. ändert sich bei der Gradiententechnik die Zusammensetzung der mobilen Phase während des chromatographischen Laufs, was zu einer beschleunigten und effektiveren Trennung führt. Bei der normalen Phase (polare stationäre Phase und unpolare mobile Phase) werden weniger polare Analyte zuerst eluiert. Dadurch können Arsenit und Arsenat wegen ihrer unterschiedlichen Polaritäten getrennt werden.

### 2.3.3 Element Detektor – ICP-MS

Als ein Detektor für HPLC ist ICP-MS wegen seiner Vielseitigkeit und hohen Empfindlichkeit sehr beliebt [30]. ICP-MS ist die Abkürzung von Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (engl. inductively coupled plasma mass spectrometry). Diese Analysenmethode ermöglicht die Bestimmung mehreren Elementen in relativ kurzer Zeit und wird aufgrund ihrer hohen Messgenauigkeit inzwischen in der Spurenelementanalytik am meisten genutzt [31].

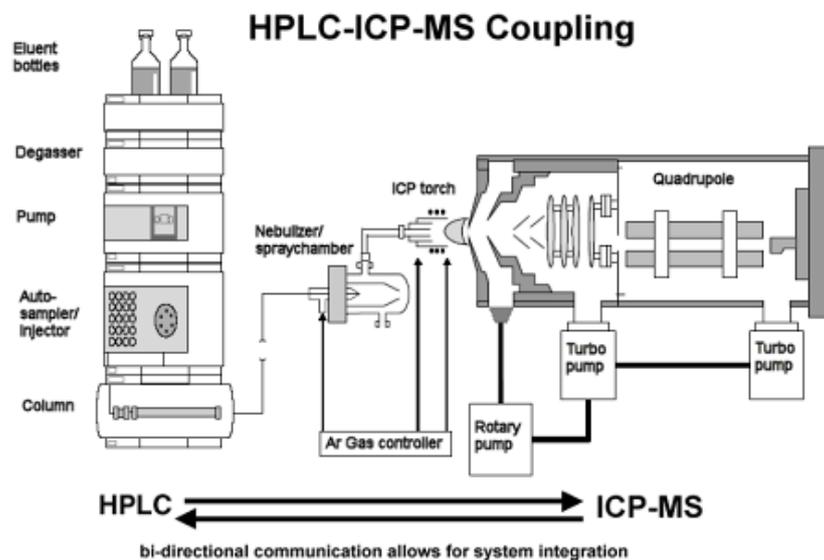


Abbildung 7: Ansicht HPLC-ICP-MS [2]

Bei ICP-MS wird die injizierte Probe zuerst in der Spraykammer zerstäubt, anschließend werden die Analyte zusammen mit Argon durch den ICP Brenner auf 5.000-10.000°C erhitzt. Die Probe wird in dieser Zeit ionisiert. Die Skimmer leiten das Ionengemisch in das Massenspektrometer. Arsen, mit der Isotopenmasse von  $m/z$  75, kann z.B. durch Chlorid

gestört werden, weil Chlor sich mit Argon verbindet, und dann ebenfalls die Masse 75 mol/l hat [31].

Der Quadrupol dient als ein Filter, um nur bestimmte Ionen, die nach ihrer Masse ausgewählt werden, durchzulassen. Dort werden die Analytionen durch ein elektrisches Feld beschleunigt. Anschließend wird der ausgewählte Analyt am Detektor quantifiziert [32].

Im ICP-MS Chromatogramm werden die detektierten Elementmengen graphisch dargestellt. Ein Peak zeigt an, dass das jeweilige Element in der Verbindung enthalten ist. Die Peakfläche entspricht der Menge der Ionen, Peakfläche und Ionenmenge sind direkt proportional. Im Chromatogramm von ICP-MS wird ein Peak bei einer bestimmten Retentionszeit dargestellt.

### 2.3.4 Kalibrierung und Bedienung des Gerätes

Die Zuordnung des Messsignals (Peakfläche) zu einer bestimmten Messgröße (definierte Arsenit- bzw. Arsenatkonzentration in einer wässrigen Lösung) diente zur Erstellung der Kalibrierkurve. Die dafür benötigten Kalibrierslösungen wurden aus Arsenit- und Arsenat-Standardlösungen hergestellt.

Folgende Analyseparameter wurden gewählt:

- UHPLC: 1290 Series (Agilent Technologies)
- Säule: IonPac AS7 (250 × 4 mm) kombiniert mit IonPac AG7 (50 × 4 mm) (Dionex, Sunnyvale, CA, USA)
- Säulentemperatur: 25°C
- Eluenten: A: 0,04 mM HNO<sub>3</sub>  
B: 50 mM HNO<sub>3</sub>
- Elutionsprogramm:

Zeit [min]	Eluent A	Eluent B
0	100%	0%
4,8	100%	0%
5,2	90%	10%
8	80%	20%
8,2	20%	80%
10	0%	100%
12	0%	100%
12,2	100%	0%
18	100%	0%

- Flussrate: 1 ml/min
- Injektionsvolumen: 20 µl
- ICP-MS: 7500CE (Agilent Technologies)

### 2.4 ARSOLux-Biosensor

#### 2.4.1 Produktion Biosensoren

Eine gleich bleibende hohe Qualität der Biosensoren ist eine zwingende Voraussetzung für den Feldtest zur genauen Bestimmung der Arsenkonzentration in Wasserproben. Im Labormaßstab können momentan pro Charge ca. 700 Biosensoren hergestellt werden. Nach industriellem Upscaling und Automatisierung könnten zukünftig ohne weiteres mehrere Tausend Sensoren pro Charge mit wesentlich verbesserter homogenerer Qualität innerhalb und zwischen verschiedenen Chargen produziert werden. Der biolumineszente Bioreporterstamm *E. coli* DH5a-2697 (pSB401-arsR), in dem sich die luxCDABE-Reportergene von *Photobacterium luminescens* befinden [26], wurde in der vorliegenden Arbeit verwendet.

Der Reporterstamm *E. coli* DH5a-2697 wird auf einem LB (Luria Bertani)-Agar über Nacht angezogen und dann in 50 ml LB-Medium in einem 100-ml-Erlenmeyerkolben überimpft. Bei 30°C und 230 rpm wird auf einem Rundschtüttler inkubiert. Nach weiteren etwa 4 - 5 Stunden wird die Kultur bei 8000facher Erdbeschleunigung für 6 Minuten unter Raumtemperatur zentrifugiert und in 120 ml Kälteschutzlösung resuspendiert. Ein Volumen von 1 ml Bioreportersuspension wird dann in 4 ml 2R Injektionsflaschen (Christ, Osterode, Deutschland) gefüllt, und ein Gummi-septumstopfen auf die Oberseite jeder Flasche gelegt. Nach Gefrieren bei -80°C für 1 h werden die Flaschen zuerst bei 12°C und 0,52 mbar für 16 h und dann bei 8°C und 0,1 mbar in einer „Alpha 1-4 LSC“ (Christ, Osterode, Deutschland) Gefriertrockner lyophilisiert, d.h. gefriergetrocknet. Im Anschluss an den Gefriertrocknungsprozess wurden die Glasgefäße unter Vakuumbedingungen mit Gummistopfen luftdicht verschlossen und später zusätzlich mit Aluminiumbördelkappen gesichert. Die fertigen Biosensoren werden in Styroporkisten bei 4°C gelagert. Die Biosensoren sind dann bis zum Gebrauch etwa sechs Wochen mit minimalem Verlust der Arsen-Sensitivität lagerungsfähig [26, 33].

#### 2.4.2 Anwendungsprinzip und Kalibrierung der Biosensoren

Die Biosensoren, die in dieser Arbeit verwendet wurden, dienen als Sensor für Arsen in Wasserproben. Nach Zugabe einer arsenhaltigen Lösung in die Biosensorgläschen wird die bakterielle Luciferase (siehe Abschnitt 1.4 auf Seite 4) von den biologischen Detektoren durch Arsen-Erkennungsmechanismen produziert. Bei der Oxidation eines langkettigen Aldehyds durch die Luciferase erfolgt eine Lichtemission im sichtbaren Bereich. Aufgrund der Korrelation zwischen der Intensität dieses Biolumineszenzsignals und der Arsenkonzentration im Zellinneren bzw. in der Probe können Biosensoren als quantitatives Messsystem zur Bestimmung des bioverfügbaren Arsengehalts in Wasserproben verwendet werden.

Zur Bestimmung der Lumineszenzintensität der Biosensoren nach Inkubation mit arsenhaltigen Proben wurde das tragbare Luminometer LB 9509 von Berthold (Berthold Technologies, Bad Wildbad, Deutschland) verwendet. Dafür wurde den Biosensoren ein Volumen von 1 ml der zu untersuchende Wasserprobe oder 1ml der entsprechenden Kalibrierungslösung mit bestimmtem Zeitabstand zugegeben. Am ersten Messtag wurden die Biosensoren nach einer 2-stündigen Inkubation bei 30°C kurz geschüttelt und in den Küvettenschacht des Gerätes eingeführt. Für bessere Kalibrierungsergebnisse wurden die Biosensoren an weiteren Messtagen bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde die lichtdichte Verschlusskappe verschlossen und die Messung gestartet. In einem Spektralbereich von 380 – 630 nm wurde für 10 s die Lumineszenz detektiert und gespeichert.

Für die Quantifizierung der Arsenkonzentration ist die Erstellung einer Kalibrierkurve nötig. Die Zuordnung des Messsignals (Lumineszenz) zu einer bestimmten Messgröße (definierte Arsenitkonzentration in einer wässrigen Lösung) diente zur Erstellung der Kalibrierkurve. Die dafür benötigten Kalibrierstandards wurden aus der Natriumarsenitlösung (NaAsO<sub>2</sub>, 0,05 M) stets frisch hergestellt, wobei diese zuerst zu einer 1000 mg/l und danach weiter zu einer 1000 µg/l Gebrauchslösung mit bidest. Wasser verdünnt wurde. Für eine bessere Stabilität der Lösungen wurde 1 µl 65%ige HNO<sub>3</sub>-Lösungen auf 10 ml 1000 mg/l Lösung zugegeben. Die Kalibrierungslösungen wurden stets frisch angesetzt. In Tabelle 1 ist das Pipettierschema der Verdünnungsreihe dargestellt. Im Feldtest können 1 ml-Spritzen von BD Plastipak zur Herstellung der Standardlösungen eingesetzt werden. Bei der Herstellung der Kalibrierlösung mit einer As-Konzentration von 200 µg/l wurde zuerst 0,98 ml bidest. Wasser in die Spritze gezogen, anschließend wird mit einer 1000 µg/l As-Lösung auf 1 ml aufgefüllt. Allein bei einer Kalibrierlösung mit 5 µg/l As ist dies nicht möglich, da die kleinste Einheit der Spritze 0,01 ml ist. Hier wird zuerst eine 50 µg/l Lösung hergestellt (Entnahme zuerst 0,95 ml bidest. Wasser dann Auffüllen mit 0,05 ml 1000 µg/l As-Lösung), nach dem Ausspritzen von 0,95 ml kann die Zielkonzentration mit Wiederfüllung mit bidest. Wasser bis zu 1 ml erreicht werden.

**Tabelle 1: Herstellung Kalibrierlösungen (Volumen 10 ml)**

Arsenitkonzentration [µg/l]	5	20	50	100	150	200
V <sub>Gebrauchslösung 1000µg/l As</sub> [34]	0,05	0,2	0,5	1,0	1,5	2,0
V <sub>bidest. Wasser</sub> [34]	9,95	9,8	9,5	9,0	8,5	8,0

Die Biosensoren wurden nach Zugabe der entsprechenden Kalibrierungslösung für 2 h bei 30°C inkubiert. Danach erfolgte die luminometrische Messung. Die erhaltenen Messsignale wurden zur Erstellung der Kalibrierungskurve verwendet. Es wurden von jeder Konzentration Triplikate gemessen, der Mittelwert wurde für die Auswertung genutzt. Abweichungen bei der Herstellung der Kalibrierstandards sollten dann berechnet werden, wenn verschiedene

Stabilisierungsmethoden bei den zu untersuchenden Wasserproben eingesetzt wurden. Diese geringfügigen Konzentrationsänderungen wurden bei der Auswertung beachtet.

## 2.5 Voruntersuchung von Wasserproben aus dem Erzgebirge in Sachsen

Wasserproben aus dem Erzgebirge in Deutschland wurden im Februar 2015 entnommen und direkt vor Ort mit einem 8 µm Cellulose-Acetat-Filter filtriert. Anschließend wurden sie bei (A) 4°C, (B) -20°C, (C) -80°C und (D) 4°C und 10 mM HNO<sub>3</sub> stabilisiert. Der Arsengehalt sollte mittels ARSOLux Biosensoren und HPLC-ICP-MS ermittelt werden. Durch eine Zugabe von 65 µl 50 mM Natriumhydroxid wurden die 50 ml der angesäuerten Wasserprobe bei Raumtemperatur wieder auf pH 5 eingestellt. Daraufhin wurde jeweils 1 ml Probe in die Biosensoren injiziert und nach 2 h die Lichtemission mit dem Luminometer gemessen.

Zur Arsenbestimmung wurde ebenfalls die Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) verwendet. Bei dieser Analysemethode wird durch hochfrequenten Strom ionisiertes Argon induziert und die Probe stark erhitzt. Die dadurch ionisierten Atome werden im entstandenen Plasma in einem elektrischen Feld beschleunigt und messtechnisch durch einen Analysator erfasst.

**Tabelle 2: As-Konzentrationen bei Vorbehandlung mit verschiedenen Stabilisierungsmethoden und Analyse mit HPLC-ICP-MS**

Stabilisierungsmethode	Probe-name	25.02.2015			23.04.2015		
		As(III) [µg/l]	As(V) [µg/l]	As <sub>ges.</sub> [µg/l]	As(III) [µg/l]	As(V) [µg/l]	As <sub>ges.</sub> [µg/l]
4°C	1	1001,2	26,3	1027,5	1,3	471,8	473,2
	1a	1007,8	32,1	1040,0	1,4	505,5	506,7
	2	729,1	35,1	764,2	1,6	423,8	425,4
	3	313,8	28,9	342,7	1,1	185,4	186,5
	4	269,6	23,6	293,2	0,8	180,5	181,3
	5	198,3	33,7	231,9	0,5	138,7	139,2
-20°C	1	1072,3	100,9	1173,1	865,4	32,2	897,6
	2	731,4	88,6	820,1	621,3	29,8	651,2
	3	325,1	53,5	378,6	280,6	31,2	311,8
	4	291,0	40,4	331,4	235,5	29,9	265,5
	5	207,2	46,7	253,9	177,9	38,3	216,3
-80°C	1	1830,0	27,8	1857,8	950,0	40,2	990,2
	2	979,0	23,5	1002,5	711,9	38,3	750,1
	3	358,9	30,5	389,4	279,6	27,5	307,1
	4	290,1	52,3	342,3	263,3	24,4	287,7
	5	203,9	78,4	282,3	189,9	29,5	219,4
4°C, HNO <sub>3</sub>	1	2383,4	484,4	2867,9	1997,5	406,5	2404,0
	2	1315,8	565,7	1881,5	1143,6	308,9	1452,5
	3	400,8	159,5	560,2	351,5	123,8	475,3
	4	320,0	162,8	482,8	283,0	50,9	333,9
	5	235,8	185,4	421,2	195,9	179,2	375,1

Die Daten in Tabelle 2 lassen erkennen, dass sich die Proben bei verschiedenen Stabilisierungsmethoden nach zwei Monaten unterschiedlich verhalten haben. Die

prozentuellen Änderungen der detektierten Arsenkonzentration zwischen den Messungen vom 25.02.2015 und vom 23.04.2015 sind in Abbildung 8 dargestellt. Die Zusammensetzungen der Proben, die bei 4°C gelagert wurden, änderten sich stark. Eine Ansäuerung mit HNO<sub>3</sub> hatte einen positiven Einfluss auf die Stabilisierung der Arsenverbindungen, da sich Arsenit- bzw. Arsenatkonzentration wenig verändert hatten. Die Lagerung bei Temperaturen von -20°C und -80°C hat ebenfalls dazu beigetragen, die Proben zu stabilisieren, da nur eine geringfügige Änderung der Gesamtkonzentration zu beobachten war. Da das Gefrieren bei -80°C in Entwicklungsländer nur in sehr wenigen Labors möglich ist und potenziell hohe Kosten verursacht, wird darauf verzichtet, die Probenlagerung unter -80°C als praktisch anwendbare Methode zu empfehlen.

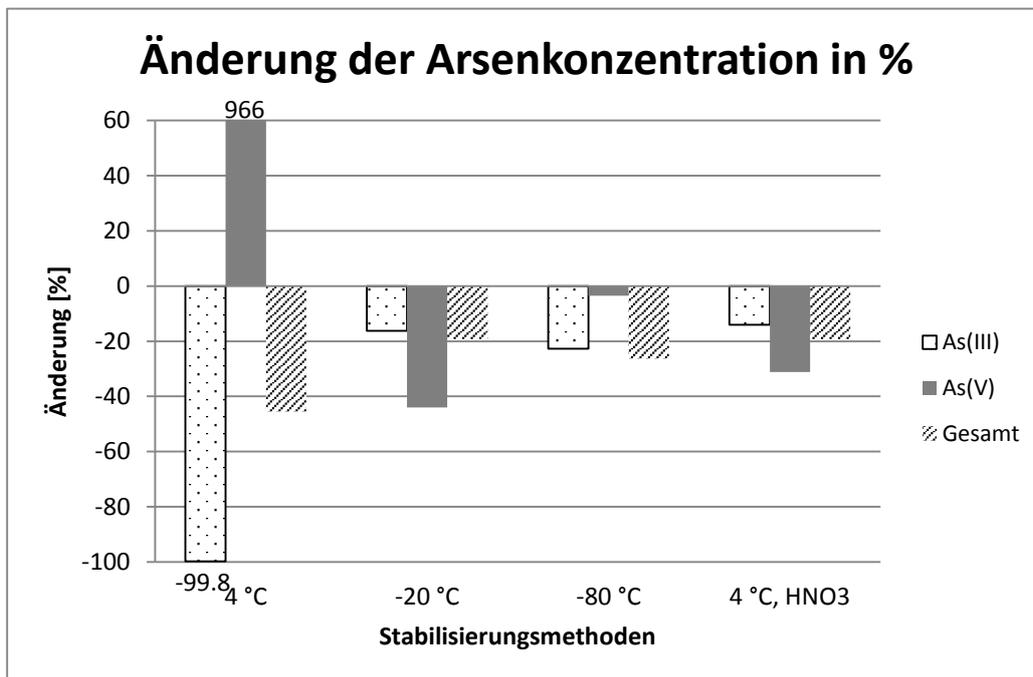


Abbildung 8: Änderung der Arsenkonzentration in %

### 2.6 Arsenmessung von Wasserproben

Nach der Probenahme durchlaufen die Proben zuerst einem 8 µm Cellulose-Acetat-Filter. Vor der Analyse wurden die Proben unter verschiedenen Bedingungen stabilisiert. Nach den Lagerungszeiten von 1 Tag, 1 Woche, 2 Wochen und 3 Wochen (am 11.08.2015, 17.08.2015, 24.08.2015 und 31.08.2015) wurden die Konzentration von Arsenit- und Arsenat mittels UHPLC-ICP-MS gemessen. Die gesamte Arsenkonzentration wurde als Summe von Arsenat und Arsenit ermittelt. An den gleichen Tagen wurde die Konzentration des gesamten Arsengehalts in den gleichen Proben mit dem ARSOLux Biosensor gemessen. Die ARSOLux Biosensor Messung ermöglicht keine Unterscheidung von Arsenit und Arsenat. Zusätzlich wurden Anionen wie Chlorid, Sulfat, Phosphat und Nitrat am ersten Messtag mit ICP-MS gemessen, Kationen sowie Kalzium, Eisen, Magnesium und Natrium mit ICP-AES für jede Messtage gemessen. Die Proben müssen vor der Messung mit dem ARSOLux Biosensor noch mit NaOH neutralisiert werden, da die Bioreporterbakterien E. coli K12 unter stark sauren Bedingungen nicht überleben können. Am ersten Tag wurde die Arsenkonzentration sofort gemessen.

Die Stabilisierung des Arsens im Wasser ist zum Teil problematisch, da sich die Arsenverbindungen bei Anwesenheit von Sauerstoff schnell verändern. In mehreren Studien wurden Stabilisierungsmethoden für anorganisches im Wasser gelöstes Arsen, wie Kühlung und Ansäuern untersucht, wobei HCl, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> am meisten verwendet wurden [21, 27, 34-36]. Aufgrund unterschiedlicher Zusammensetzung der Wasserproben sind die Ergebnisse allerdings zum Teil widersprüchlich. Beispielweise könnte eine geringere Arsenkonzentration in mit Eisen hochkontaminiertem Wasser gemessen werden, da durch eisenhaltige Komplexbildner im Wasser gelöstes Arsen absorbiert werden könnte. Daher wurden für die Untersuchung der Stabilisierungsmethoden für die ARSOLux Biosensormethode mehrere Säuren getestet. Die Stabilisierungsmethoden sollten so ausgewählt werden, dass die Biosensoren möglichst wenig beeinträchtigt werden, da die in den Sensoren enthaltenen Bakterien sensibel auf die Zugabe von Säure reagieren können. Deswegen wurde zuerst daran gedacht, Proben durch Kühlung oder Gefrieren zu stabilisieren. Auf Basis der Ergebnisse der Voruntersuchung wurden drei Stabilisierungsmethoden (4°C, -20°C, 4°C und HNO<sub>3</sub>) ausgewählt. In einer Studie von Daus (2005) wird beschrieben, dass arsenhaltige Proben mit hohen Eisenkonzentrationen am besten mit Phosphorsäure stabilisiert werden konnten. Bei einer Lagerungszeit von bis zu drei Monaten blieb der Arsengehalt im Wasser relativ stabil. Es bildeten sich keine Niederschläge. Essigsäure wurde ebenfalls in einer Studie untersucht, da damit die Sedimentation des Arsens in eisenreichen Wasserproben verhindert werden kann [36]. In einem weiteren Versuch wurde gezeigt, dass bei Ansäuern mit 0,2%iger Schwefelsäure Arsenit in Regenwasser für 125 Tage unter Raumtemperatur stabil

blieb [27]. Aus oben erwähnten Gründen wurden somit folgende Stabilisierungsmethoden für die Hauptuntersuchung ausgewählt:

**Tabelle 3: in der Arbeit verwendete Stabilisierungsmethoden**

Lagertemperatur	Aufgefüllt mit Säure auf
4°C	ohne
4°C	5 mM HNO <sub>3</sub>
4°C	5 mM H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
4°C	5 mM H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>
4°C	500 mM HAc
-20°C	ohne

In der Voruntersuchung wurde eine 10 mM Salpetersäure eingesetzt. Um die lebenden Bakterien in den Biosensoren nicht zu hemmen, sollte möglichst wenig Säure zugegeben werden. Deshalb wurde in dieser Arbeit nur eine halb so hohe Säurekonzentration zugegeben (5 mM). Für einen besseren Vergleich der Auswirkung von Säure wurde dieselbe Säurekonzentration in allen Proben (außer Essigsäure) eingestellt. In der Arbeit von Daus (2006) wird erwähnt, dass ein pH <2 die Oxidation von Arsenit verhindern kann. Da Essigsäure eine schwache Säure ist, wurde in der Arbeit eine Zugabe bis zu einer Konzentration von 500 mmol/l erforderlich. Die optimale Konzentration der Säuren für den ARSOLux Biosensor kann in den zukünftigen Versuchen untersucht werden.

Bei den selbst durchgeführten Messungen mit dem ARSOLux Biosensor und HPLC-ICP-MS wurden die für die vorliegende Studie untersuchten Proben vor der Messung geschüttelt, um bereits ausgefallene Arsenbindungen wieder im Wasser zu lösen. Bei den Messungen mit ICP-MS und ICP-AES, die von anderen Mitarbeitern durchgeführt wurden, sind nur die Überstände gemessen worden ohne vorher die Probe zu schütteln.

## 2.7 Statistische Auswertung

Die Messergebnisse wurden mit der Software Origin 9.1 statistisch ausgewertet. Um die Effekte der verschiedenen Stabilisierungsmethoden zu bewerten, wurde eine Varianzanalyse (ANOVA) der Ergebnisse mit einer Nullhypothese durchgeführt. Die Unterschiede der Messergebnisse wurden mit einem Tukey-Test überprüft. Außerdem wurden die Korrelationen zwischen dem gemessenen gesamten Arsengehalt und dem Verhältnis Arsenit zu Arsenat, der Konzentration von Arsenit, Arsenat, Kalzium, Natrium, Eisen und Magnesium untersucht.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Kalibrierung der Biosensoren

Die Erstellung einer Kalibrierkurve ist notwendig, um die Quantifizierung von Arsenkonzentrationen auf Basis der Lumineszenzsignale der Biosensoren bzw. der Bioreporterbakterien zu ermöglichen. Die Abbildung 9 stellt die verwendeten Kalibrierkurven dar, die an vier Messstagen mit Biosensoren aus zwei unterschiedlichen Produktionschargen (Charge 1: 11.08.2015; Charge 2: 17.08.2015, 24.08.2015 und 31.08.2015) durchgeführt wurden. Die Kurven beschreiben den Zusammenhang zwischen dem detektierten Lumineszenzsignal (Relative Light Units, RLU) und der As(III)-konzentration ( $\mu\text{g/l}$ ) der benutzten Kalibrierlösungen. Arsenit kann zur Kalibrierung der Biosensoren verwendet werden, um die gesamte gelöste anorganische Arsenkonzentration zu bestimmen, da durch Arsenreduktase in den Bioreporterzellen Arsenat ebenfalls zu Arsenit umgesetzt wird. Die Messdaten sind im Anhang F zu finden.

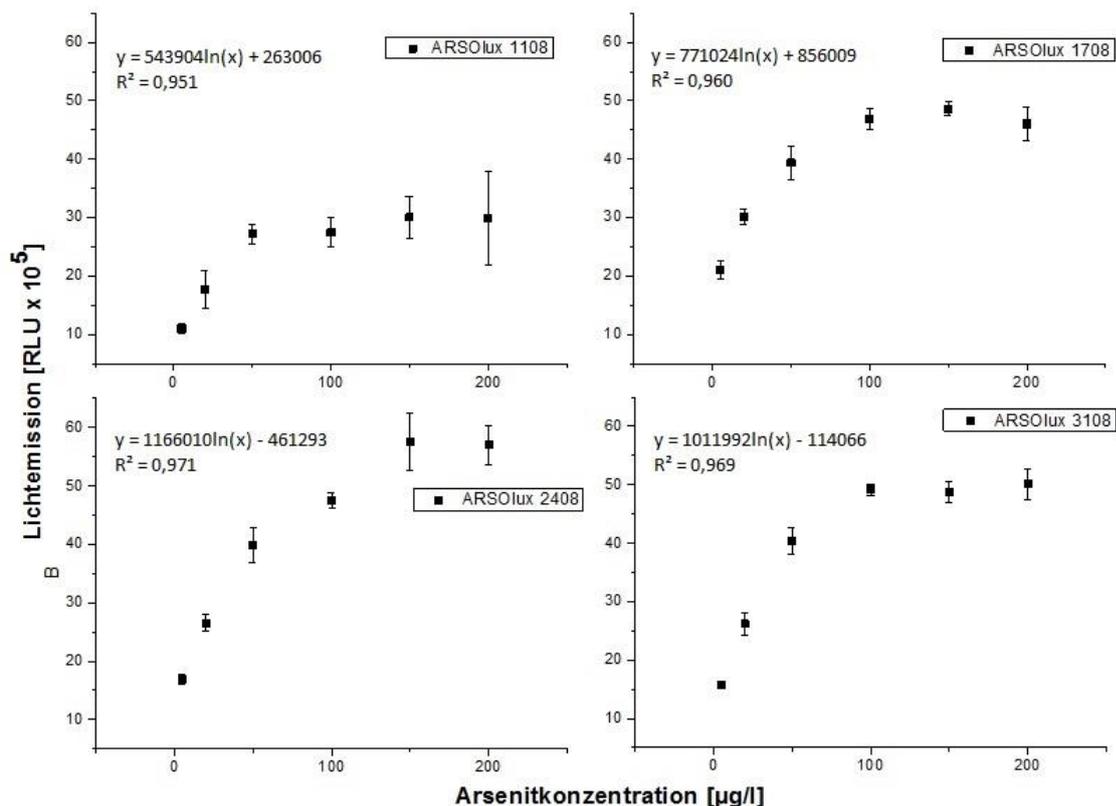


Abbildung 9: Kalibrierkurven zur Bestimmung der As-Konzentration in Wasserproben, ermittelt über das Lumineszenzsignal von *E. coli* DH5 $\alpha$  - 2697 (pSB401-arsR), exemplarisch an vier Messungstagen. Die Messungen erfolgten nach 2 h Inkubation mittels Junior LB 9509-Luminometer. Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung (n=3)

Der Signalmechanismus wird also nur durch Arsenit ausgelöst. An allen vier Messtagen wurden unterschiedliche Signalintensitäten bei gleichen Arsenitkonzentrationen detektiert, wobei der Unterschied zwischen den beiden Produktionschargen größer ist. Deswegen musste für jeden Messtag eine neue Kalibrierung für die Arsenkalkulation auf Basis der Biosensorsignale erstellt werden.

In den vier Kalibrierkurven ist im Bereich von 0 bis 50 µg/l ein linearer Zusammenhang zwischen der Arsenitkonzentration und dem Lumineszenzsignal zu erkennen. Bei höheren As(III)-Konzentrationen von 50 bis 200 µg/l erfolgt eine Abflachung der Kurve, die durch eine nichtlineare Funktion beschrieben wird. Aus diesem Grund wird im gesamten Bereich von 0 bis 200 µg/l in den ARSOLux Kalibrierkurven eine logarithmische Funktion zur Berechnung der Arsenkonzentrationen verwendet (Abbildung 9). Für eine Messung von Proben mit höheren Konzentrationen ist eine Verdünnung notwendig.

### 3.2 Kalibrierung der HPLC-ICP-MS

Für eine quantitative Auswertung der Arsenmessung mit HPLC-ICP-MS ist ebenfalls die Erstellung einer Kalibrierkurve erforderlich. Abbildung 10 zeigt, dass Arsenat und Arsenit bei HPLC-ICP-MS unterschiedlichen Retentionszeiten haben. Für eine genauere Auswertung wurden verschiedene Kalibrierkurven mit As(III)- und As(V)-Standardlösungen angefertigt. Die Messdaten sind im Anhang G und H zu finden.

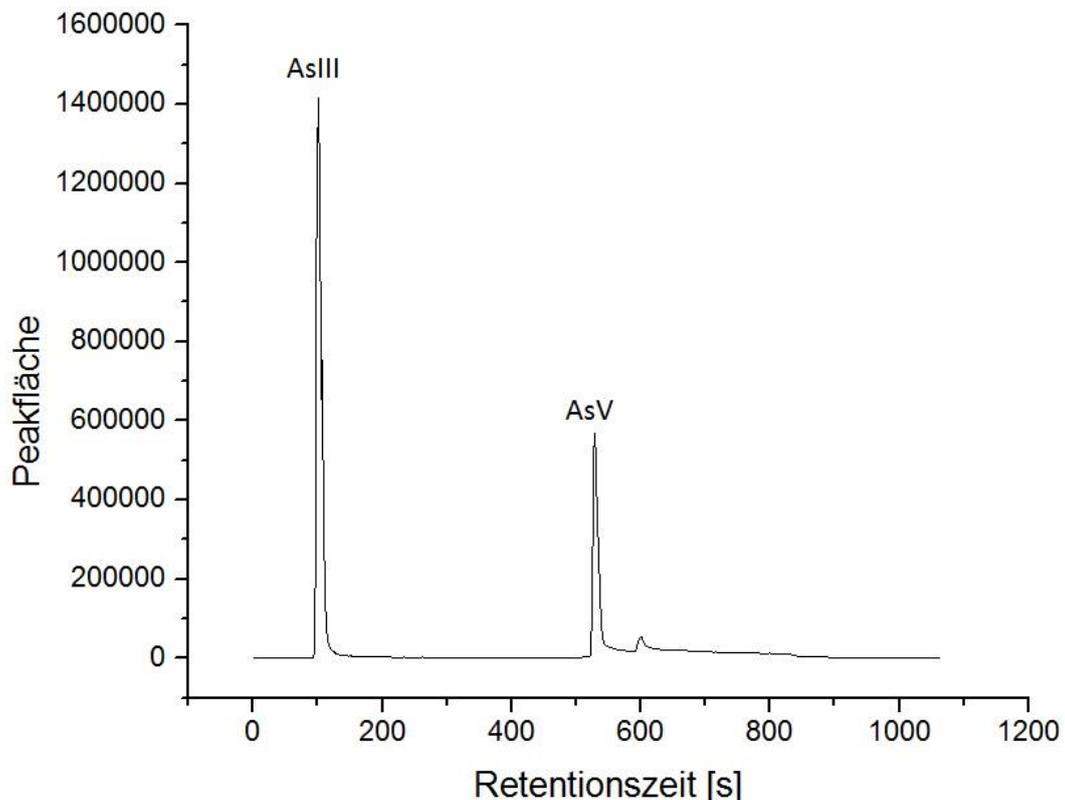


Abbildung 10: Chromatogramm Wasserprobe aus Pöhla, gemessen am 11.08.2015, gelagert bei 4°C, ohne Zugabe von Säure

### 3 ERGEBNISSE

Die Abbildung 11 und 12 zeigen die verwendeten Kalibrierkurven, die an vier Messtagen mit zwei Standardlösungen (As(III) und As(V)) erstellt wurden. Die Kurven beschreiben den Zusammenhang zwischen den detektierten Peakflächen und der As(III)- bzw. As(V)-Konzentration der benutzten Kalibrierlösungen. Im Vergleich zur Kalibrierung der ARSOlux Biosensoren sind nur kleine Schwankungen zwischen den Messwiederholungen erkennbar. Bei der Messung von Arsenatkonzentration ist eine relativ hohe Hintergrundstörung zu beobachten, weswegen es notwendig ist, eine Kalibrierung vor jeder Messung durchzuführen.

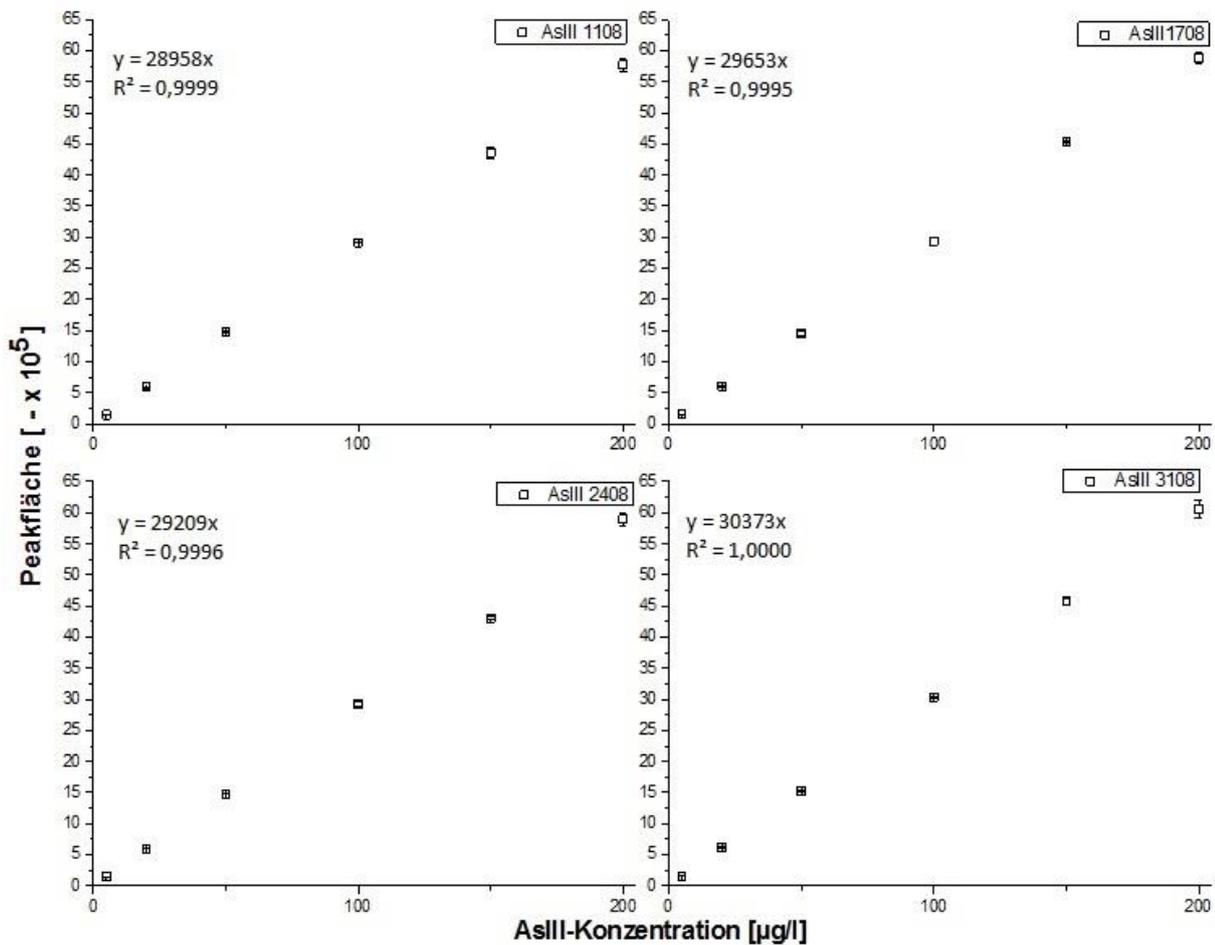
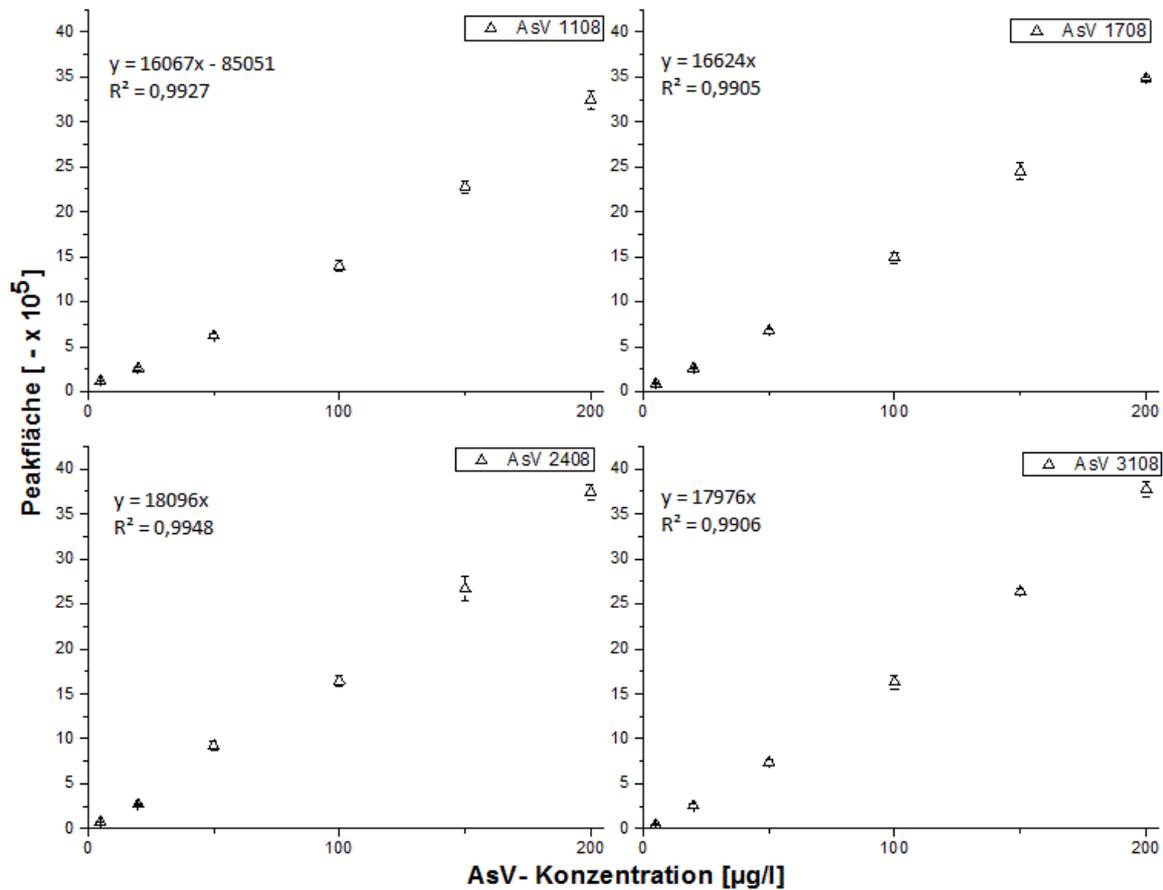


Abbildung 11: Kalibrierkurven zur Bestimmung der Arsenitkonzentration in Wasserproben, ermittelt mit AS7 Trennsäule, exemplarisch an vier Messtagen. Die Messung erfolgte nach 18 min Laufzeit mittels HPLC-ICP-MS Agilent 7500s. Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung (n=3)

### 3 ERGEBNISSE



**Abbildung 12: Kalibrierkurven zur Bestimmung der Arsenatkonzentration in Wasserproben, ermittelt mit AS7 Trennsäule, exemplarisch an vier Messtagen. Die Messung erfolgte nach 18 min Laufzeit mittels HPLC-ICP-MS Agilent 7500s. Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung (n=3)**

In den vier Kalibrierkurven findet sich im Bereich von 0 bis 200 µg/l eine lineare Beziehung zwischen der Arsenit- bzw. Arsenatkonzentration und den detektierten Peakflächen. Zur Quantifizierung der Arsenkonzentrationen >200 µg/l müssen Proben verdünnt werden.

### 3.3 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Messung niedriger Arsenkonzentrationen – Standort Hartenstein

In einer Wasserprobe aus Hartenstein wurden relativ niedrige Arsenkonzentrationen, bei 11 µg/l, gemessen, da das Wasser vor der Einleitung in die Zwickauer Mulde in einer Aufbereitungsanlage der Wismut GmbH gereinigt wurde. Arsenkonzentrationen in den Wasserproben wurden mit dem ARSOLux Biosensor und mit HPLC-ICP-MS detektiert. Die Proben wurden vor der Messung mit sechs verschiedenen Stabilisierungsmethoden (4°C, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, HAc und -20°C) fixiert. Das Ziel war, die für Wasserproben mit niedriger Arsenkonzentration beste Stabilisierungsmethode zu finden.

### 3.3.1 Zusammensetzung der Wasserproben

Tabelle 4: Zusammensetzung der Wasserprobe aus Hartenstein, gemessen mit ICP-MS und ICP-AES am 11.08.2015

	ICP-MS				ICP-AES			
	Cl <sup>-</sup> [mg/l]	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> [mg/l]	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> [mg/l]	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [mg/l]	Ca [mg/l]	Fe [mg/l]	Mg [mg/l]	Na [mg/l]
4°C	26	37,3	0,41	7,32	18,5	0,075	4,38	30,7
4°C, HNO <sub>3</sub>	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	18,2	0,076	4,33	30,1
4°C, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	17,9	0,083	4,25	29,7
4°C, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	18,2	0,118	4,32	30,4
4°C, HAc	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	18,5	0,071	4,4	30,8
-20°C	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	18,3	0,033	4,29	30,4

### 3.3.2 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Arsenmessung mit ARSOLux Biosensoren

Die Abbildung 13 zeigt die Darstellung der gemessenen gesamten Arsenkonzentrationen der Probe aus Hartenstein über den gesamten Untersuchungszeitraum. Nach einer Inkubationszeit von 2 h wurde die Lichtemission der mit den verschiedenen Aliquoten der Probe inkubierten Biosensoren innerhalb von einem Tag vermessen. Die gemessenen Lumineszenzdaten (Relative Light Units) wurden mit den Gleichungen aus Abbildung 9 in Arsenkonzentrationen umgerechnet.

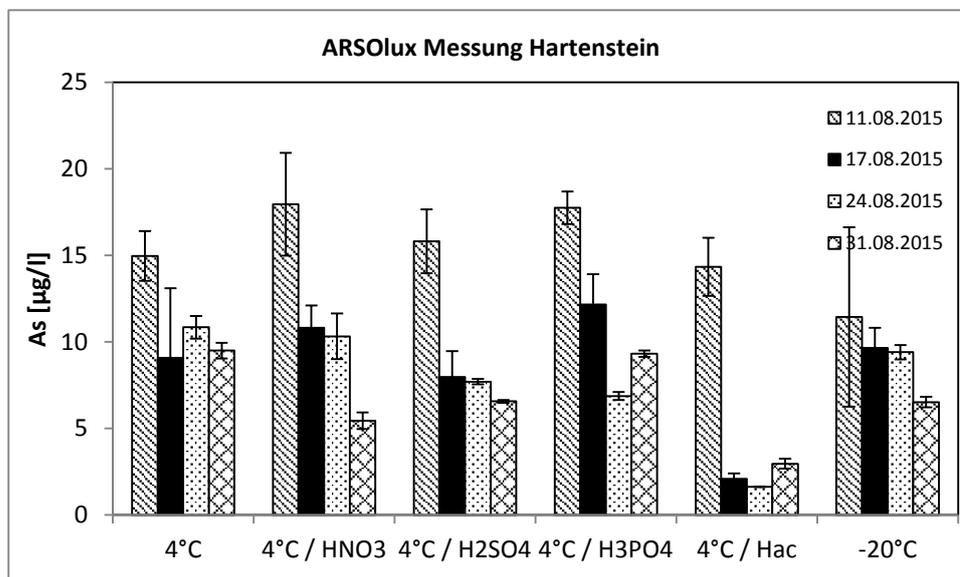


Abbildung 13: Arsenkonzentrationen (As<sub>ges</sub>) der Wasserprobe aus Hartenstein gemessen mit dem ARSOLux Biosensor nach Probenstabilisierung bei 4°C, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, HAc und -20°C. Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung (n=3)

### 3.3.3 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Arsenmessung mit HPLC-ICP-MS

An den gleichen Messtagen der ARSOLux Messung wurde die Probe auch mit HPLC-ICP-MS gemessen. Als Messdaten wurden unterschiedliche Peakflächen ermittelt, die mit Hilfe der Kalibrierdaten aus Abbildung 10 und 11 in Arsenkonzentration umgerechnet wurden.

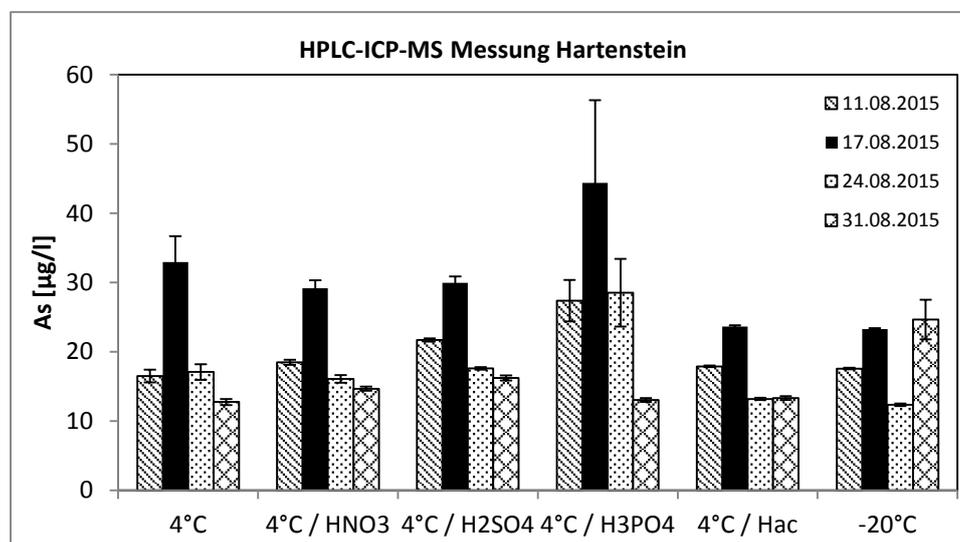


Abbildung 14: Arsenkonzentrationen (As<sub>ges</sub>) der Wasserprobe aus Hartenstein gemessen mit HPLC-ICP-MS nach Probenstabilisierung bei 4°C, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, HAC und -20°C. Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung (n=3)

### 3.4 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Messung höherer Arsenkonzentrationen – Standort Pöhla

In der Wasserprobe aus Pöhla liegt eine relativ hohe Konzentration von Arsen vor (siehe Abbildung 15, über 1000 µg/l). Es wurde untersucht, ob die Messergebnisse von Wasserproben unterschiedlicher Zusammensetzungen durch die verschiedenen Stabilisierungsmethoden beeinflusst werden. Die Wasserproben aus Pöhla wurden in gleicher Weise wie die Proben aus Hartenstein behandelt und analysiert.

#### 3.4.1 Zusammensetzung der Wasserproben

Tabelle 5: Zusammensetzung der Wasserprobe aus Pöhla, gemessen mit ICP-MS und ICP-OES am 11.08.2015

	ICP-MS				ICP-OES				Bemerkungen (ICP-OES)
	Cl <sup>-</sup> [mg/l]	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> [mg/l]	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> [mg/l]	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> [mg/l]	Ca [mg/l]	Fe [mg/l]	Mg [mg/l]	Na [mg/l]	
4°C	2,55	0,13	0,11	<0,5	52,0	0,154	16,5	35,8	brauner Niederschlag
4°C, HNO <sub>3</sub>	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	51,9	0,575	16,5	35,4	brauner Niederschlag
4°C, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	52,5	5,36	16,6	36,1	
4°C, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	52,3	0,273	16,7	36,0	brauner Niederschlag
4°C, HAC	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	51,5	0,344	16,5	34,9	brauner Niederschlag
-20°C	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	49,9	0,047	16,6	35,7	brauner Niederschlag

Die Gehalte von Fremdionen wie Chlorid, Sulfat, Phosphat und Nitrat und mögliche arsenstörenden Elemente wie Kalzium, Eisen, Magnesium und Natrium im Wasser wurden mit ICP-MS und ICP-OES analysiert. Die Konzentrationen sind in Tabelle 5 dargestellt. In den meisten Proben bildeten sich braune Niederschläge (außer bei 4°C, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), deshalb wurden nur die Überstände gemessen.

### 3.4.2 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Arsenmessung mit ARSOLux Biosensoren

Abbildung 15 zeigt die Darstellung der in der Probe aus Pöhla gemessenen gesamten Arsenkonzentrationen über den ganzen Messzeitraum. Aufgrund der hohen Arsenkonzentration wurde die Probe vor der Messung zuerst mit einem Verdünnungsfaktor von 1:20 verdünnt. Die gesamte Arsenkonzentration wurde dann mit 20 multipliziert, was bei einigen der Messwerte zu erhöhten Standardabweichungen führte. Die Ergebnisse der verdünnten Proben sind in Abbildung 16 dargestellt.

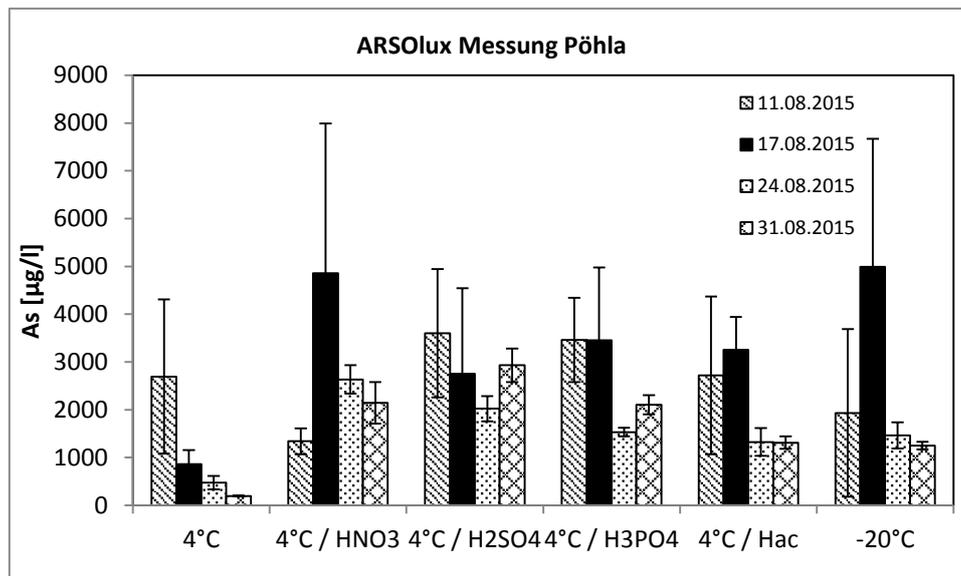


Abbildung 15: Arsenkonzentrationen (As<sub>ges</sub>) der Wasserprobe aus Pöhla gemessen mit dem ARSOLux Biosensor nach Probenstabilisierung bei 4°C, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, HAc und -20°C. Fehlerbalken präsentieren die Standardabweichung (n=3)

### 3 ERGEBNISSE

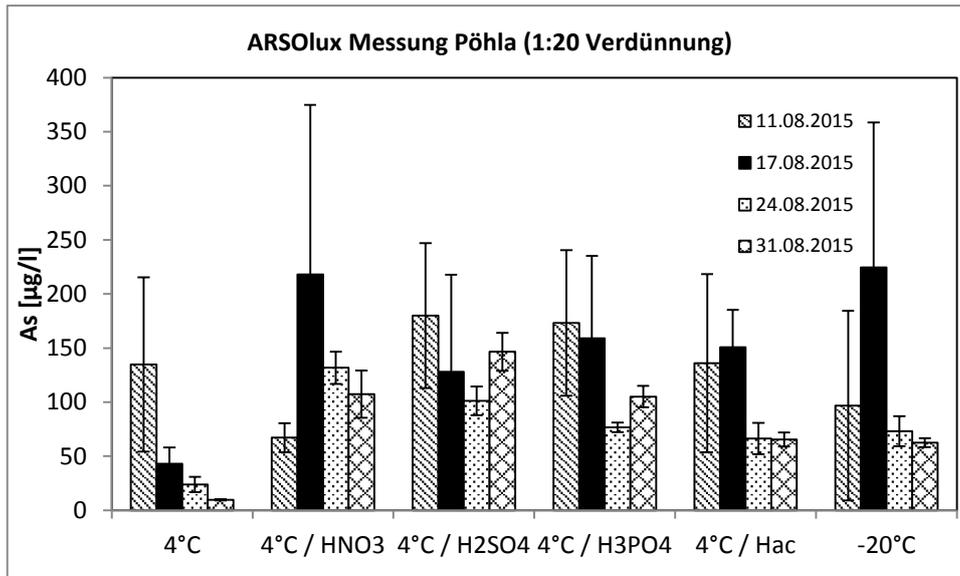


Abbildung 16: 1/20 Arsenkonzentrationen ( $As_{ges}$ ) der Wasserprobe aus Pöhla gemessen mit dem ARSOLux Biosensor nach Probenstabilisierung bei 4°C, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, HAC und -20°C. Fehlerbalken präsentieren die Standardabweichung (n=3)

### 3.4.3 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Arsenmessung mit HPLC-ICP-MS

Die gesamten Arsenkonzentrationen über den kompletten Messzeitraum sind in Abbildung 17 aufgeführt. Die Daten der 1:20 verdünnt gemessenen Probenaliquote sind in Abbildung 18 dargestellt. Die Abbildungen 19 und 20 zeigen die verdünnten (1:20) sich ändernden Konzentrationen von Arsenit und Arsenat über den gesamten Messzeitraum, die bei der Beurteilung der besten Stabilisierungsmethode berücksichtigt wurden.

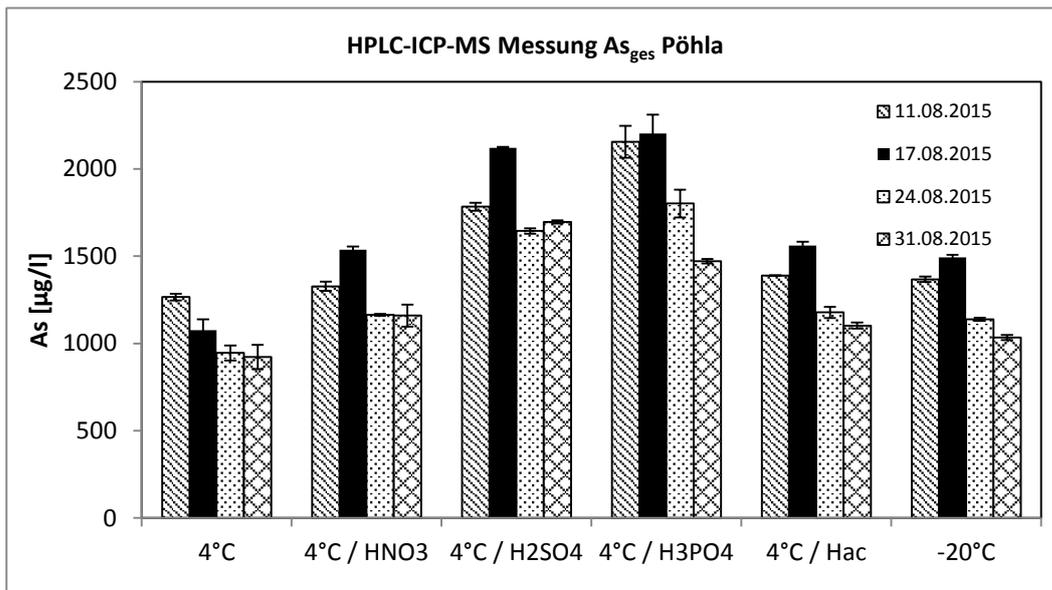


Abbildung 17: Arsenkonzentrationen ( $As_{ges}$ ) der Wasserprobe aus Pöhla gemessen mit HPLC-ICP-MS nach Probenstabilisierung bei 4°C, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, HAc und -20°C. Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung (n=3)

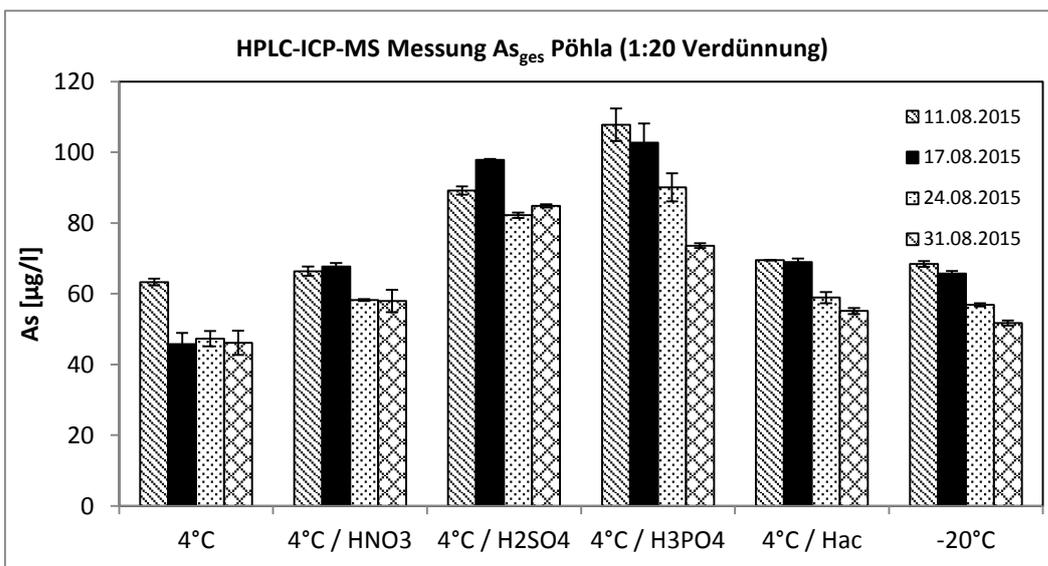


Abbildung 18: 1/20 Arsenkonzentrationen ( $As_{ges}$ ) der Wasserprobe aus Pöhla gemessen mit HPLC-ICP-MS nach Probenstabilisierung bei 4°C, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, HAc und -20°C. Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung (n=3)

### 3 ERGEBNISSE

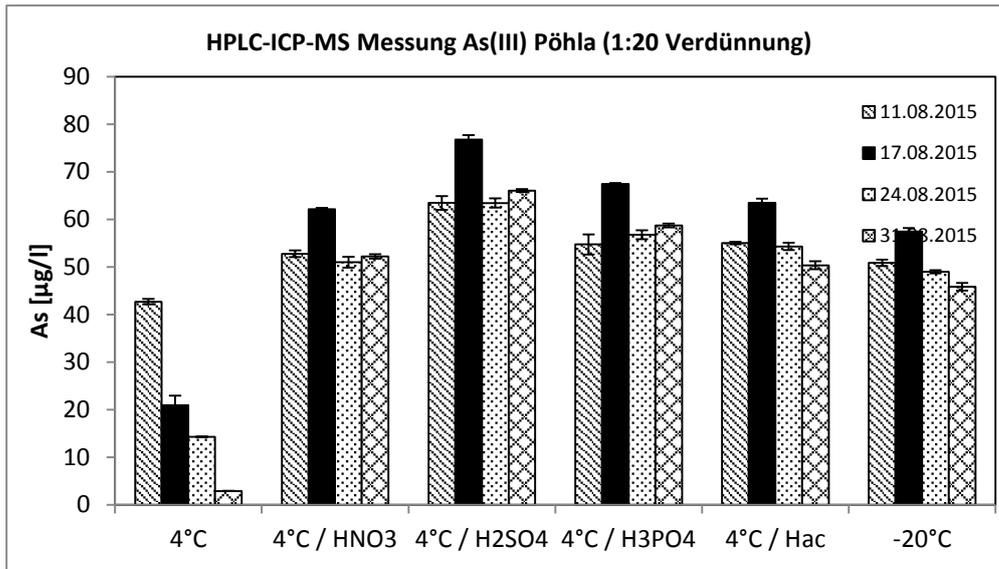


Abbildung 19: 1/20 Arsenitkonzentrationen (As(III)) der Wasserprobe aus Pöhla gemessen mit HPLC-ICP-MS nach Probenstabilisierung bei 4°C, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, HAc und -20°C. Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung (n=3)

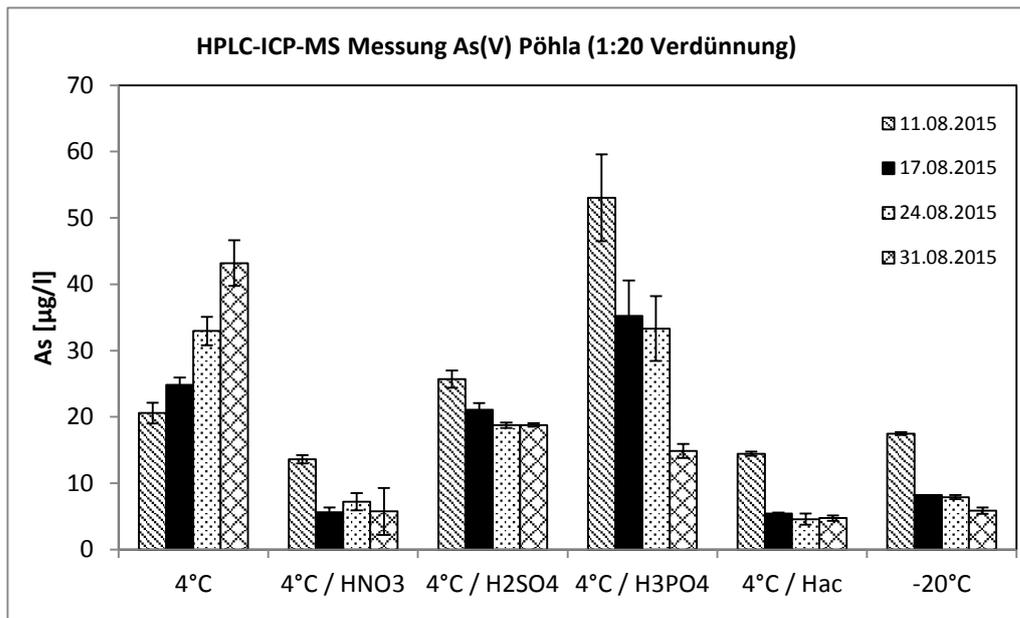


Abbildung 20: 1/20 Arsenatkonzentrationen (As(V)) der Wasserprobe aus Pöhla gemessen mit HPLC-ICP-MS nach Probenstabilisierung bei 4°C, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, HAc und -20°C. Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung (n=3)

### 3.5 Übereinstimmung der Ergebnisse ARSOLux Biosensor und HPLC-ICP-MS

Um die Ergebnisse hinsichtlich ihrer Genauigkeit zu bewerten, wurde die Übereinstimmung der Ergebnisse ARSOLux Biosensor und HPLC-ICP-MS näher betrachtet. In Abbildung 21 bis 24 sind die Ergebnisse der beiden Methoden nebeneinander dargestellt. Die Proben aus Pöhla und Hartenstein wurden nach vier verschiedenen Lagerungszeitpunkten gemessen: nach einem Tag, einer Woche, zwei Wochen und drei Wochen. Die Messergebnisse der beiden Messmethoden an diesen Zeitpunkten wurden direkt verglichen.

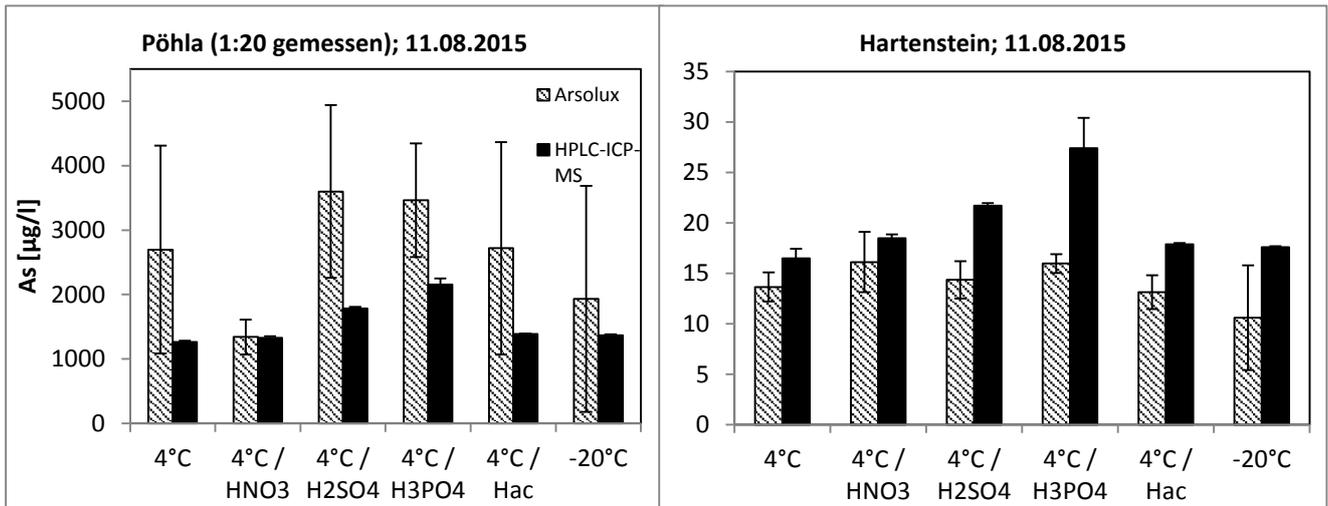


Abbildung 21: Arsenkonzentrationen (Asges) mit ARSOLux Biosensor und HPLC-ICP-MS gemessen am 11.08.2015

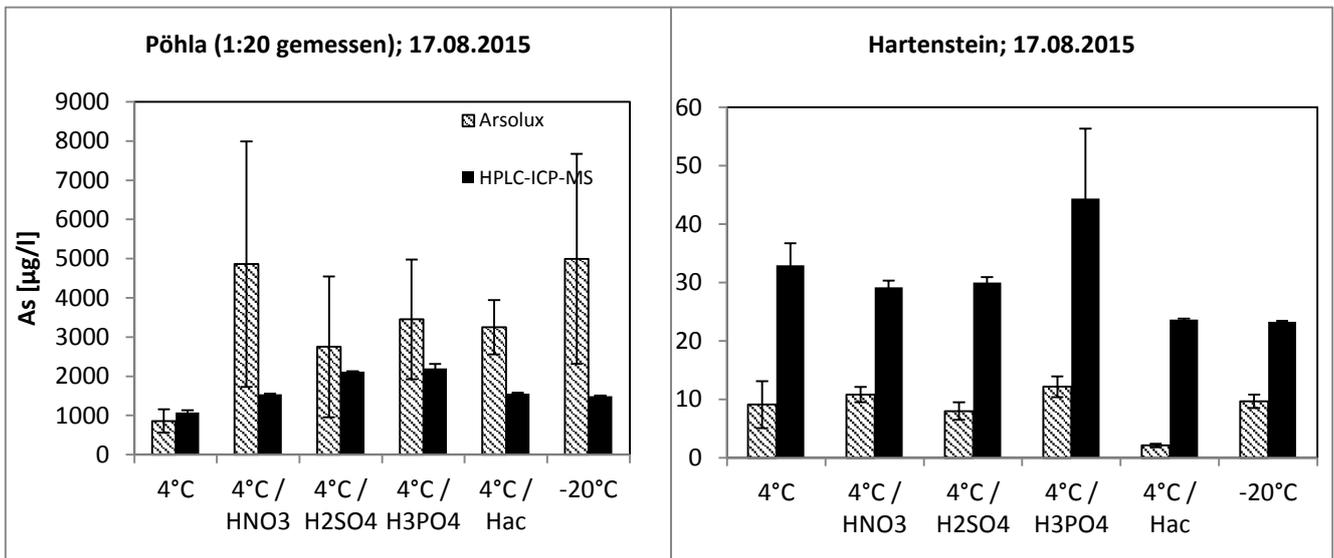


Abbildung 22: Arsenkonzentrationen (Asges) mit ARSOLux Biosensor und HPLC-ICP-MS gemessen am 17.08.2015

### 3 ERGEBNISSE

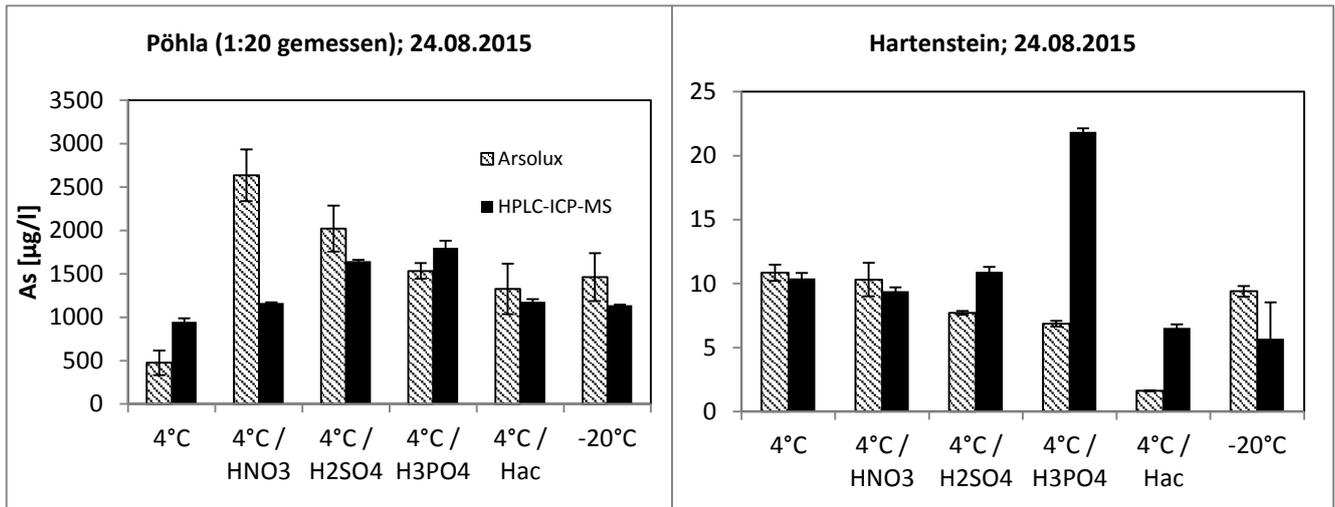


Abbildung 23: Arsenkonzentrationen (Asges) mit ARSOLux Biosensor und HPLC-ICP-MS gemessen am 24.08.2015

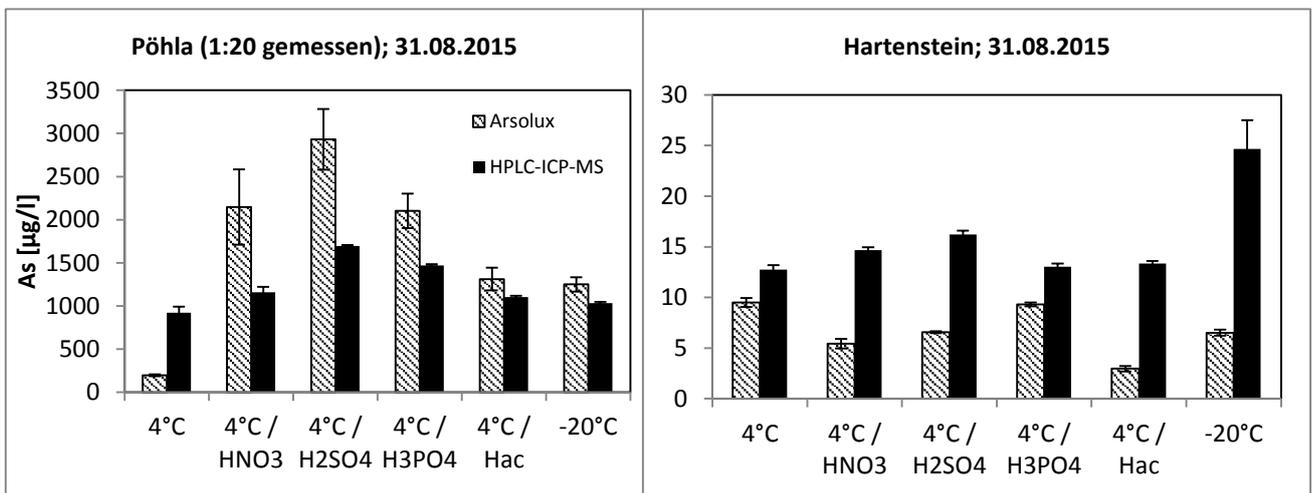


Abbildung 24: Arsenkonzentrationen (Asges) mit ARSOLux Biosensor und HPLC-ICP-MS gemessen am 31.08.2015

Für einen besseren Vergleich wurde in Abbildung 25 und 26 die relative Abweichung dargestellt. Auf der x-Achse sind die verschiedenen Messzeitpunkte dargestellt. Die y-Achse steht für die relative Abweichung im Prozent. Die relative Abweichung wurde mit folgender Gleichung berechnet:

$$relative\ Abweichung = \frac{c(ARSOLux\ Biosensor) - c(HPLC - ICP - MS)}{c(HPLC - ICP - MS)} \times 100\%$$

$c(ARSOLux\ Biosensor)$  – Arsenkonzentration, gemessen mit ARSOLux Biosensor

$c(HPLC - ICP - MS)$  – Arsenkonzentration, gemessen mit HPLC-ICP-MS

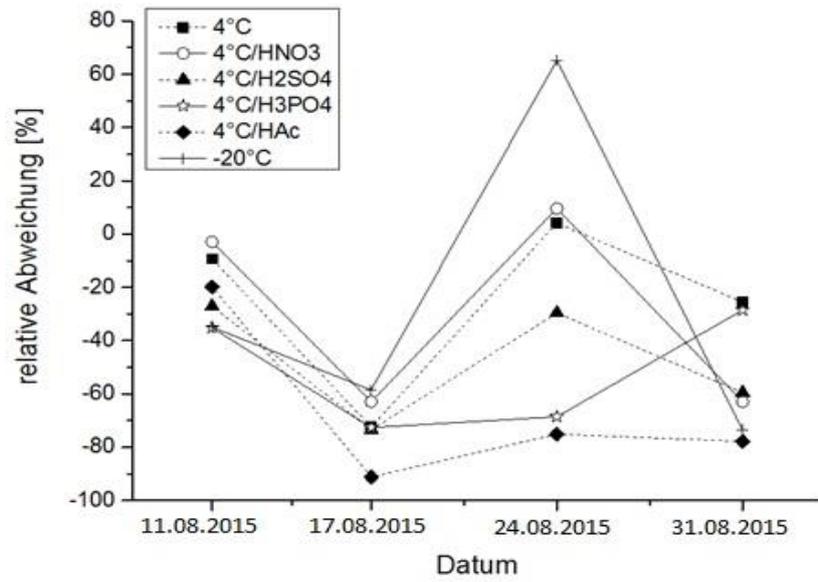


Abbildung 25: Relative Abweichung der Wasserproben aus Hartenstein an den einzelnen Messtag

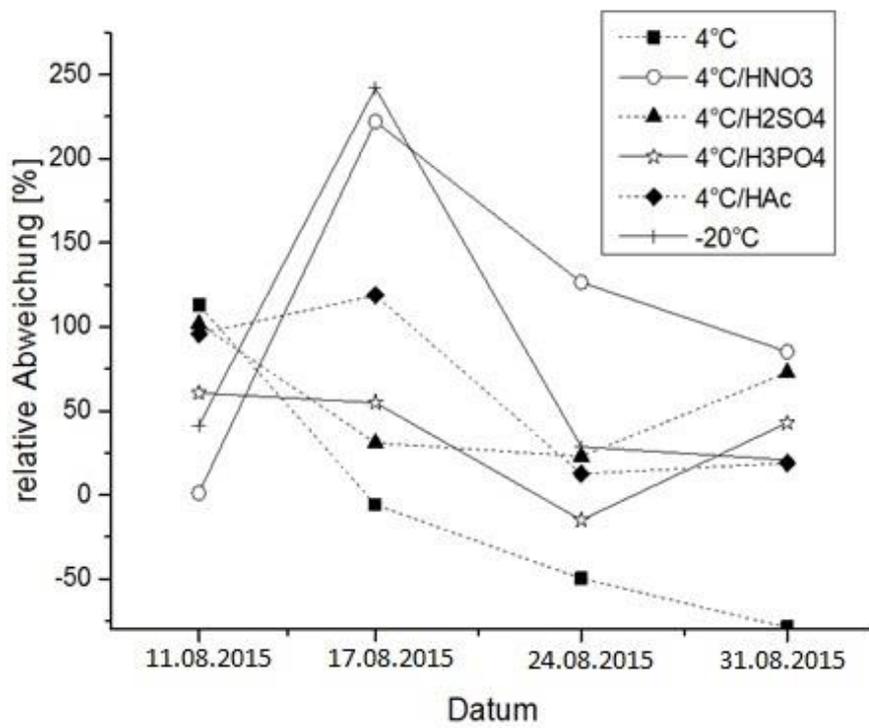


Abbildung 26: Relative Abweichung der Wasserproben aus Pöhla an den einzelnen Messtag

### 3.6 Statistische Auswertung mit Origin

Auswirkungen der Stabilisierungsmethoden und Messmethoden der Proben aus Hartenstein und Pöhla wurden mit der einfaktoriellen ANOVA (engl. *analysis of variance*) ausgewertet. Hierbei wurde die Nullhypothese verwendet. Mit einem Tukey-Test bei einem p-Niveau von 0,05 wurde es geprüft, ob es signifikante Unterschiede zwischen den Ergebnissen der verschiedenen angewandten Messmethoden und zwischen den Ergebnissen an den verschiedenen Messtagen (verschiedene Zeiträume der Probenlagerung) gab. Die Residuen der detektierten Arsenkonzentration sind nicht normal verteilt, trotzdem wurden sie verglichen, um die Unterschiede der Konzentrationen zu zeigen. Eine logarithmische Transformation wurde nicht durchgeführt, da die Werte nicht auswertbar sind.

**Tabelle 6: Statistische Werte aus Hartenstein nach Sortierung von Stabilisierungsmethoden**

	n	MW	SD	Varianz
4°C	24	14,3	5,2	27,2
4°C, HNO <sub>3</sub>	24	14,3	5,0	24,8
4°C, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	24	14,5	5,0	25,4
4°C, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	24	18,9	10,6	111,6
4°C, HAc	24	10,7	5,2	26,8
-20°C	24	12,7	5,8	33,4

**Tabelle 7: Statistische Werte aus Hartenstein nach Sortierung von Messmethode**

	n	MW	SD	Varianz
ARSOLux	72	11,0	4,8	23,3
HPLC	72	17,5	6,9	48,1

**Tabelle 8: Statistische Werte aus Pöhla nach Sortierung von Stabilisierungsmethoden**

	n	MW	SD	Varianz
4°C	24	51,7	43,2	1862,0
4°C, HNO <sub>3</sub>	24	100,0	76,8	5901,3
4°C, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	24	137,4	130,0	16892,2
4°C, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	24	112,7	48,2	2320,8
4°C, HAc	24	85,4	47,0	2205,3
-20°C	24	90,6	78,6	6182,1

**Tabelle 9: Statistische Werte aus Pöhla nach Sortierung von Messmethoden**

	n	MW	SD	Varianz
ARSOLux	72	122,7	105,4	11114,3
HPLC	72	69,8	17,7	312,6

### 3 ERGEBNISSE

**Tabelle 10: Statistische Auswertung für alle Daten mit ANOVA (p<0,01 zeigt signifikante Unterschiede zwischen den Messmethoden und Stabilisierungsmethoden)**

	p-Wert	
	Hartenstein	Pöhla
Messmethoden	<0,01	<0,01
Stabilisierungsmethoden	<0,01	<0,01

Ein p-Wert von <0,01 in Tabelle 10 sagt aus, dass es einen signifikanten Unterschied zwischen den zwei Messmethoden und allen sechs Stabilisierungsmethoden bei beiden Untersuchungsstandorten über den ganzen Messzeitraum gibt.

**Tabelle 11: Statistische Auswertung mit ANOVA (Vergleich Stabilisierungsmethoden Proben aus Hartenstein, p<0,05 zeigt signifikante Unterschiede zwischen den Stabilisierungsmethoden bei verschiedenen Messmethoden)**

	ARSOLux				HPLC-ICP-MS			
	1	2	3	4	1	2	3	4
4°C	15,0 ± 1,7	13,6 ± 1,4	10,8 ± 0,6	9,5 ± 0,4	16,5 ± 0,9	25,6 ± 3,7	17,1 ± 1,1	12,8 ± 0,4
4°C, HNO <sub>3</sub>	18,0 ± 3,6	16,1 ± 3,0	10,3 ± 1,3	5,4 ± 0,5	18,5 ± 0,4	21,6 ± 1,2	16,1 ± 0,5	14,7 ± 0,3
4°C, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	15,8 ± 2,2	14,4 ± 1,8	7,7 ± 0,2	6,6 ± 0,1	21,7 ± 0,3	22,5 ± 0,9	17,6 ± 0,2	16,1 ± 0,4
4°C, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	17,8 ± 1,1	16,0 ± 0,9	6,9 ± 0,2	9,3 ± 0,2	27,4 ± 3,0	37,7 ± 12,0	28,5 ± 4,9	13,0 ± 0,3
4°C, HAc	14,3 ± 2,0	13,1 ± 1,7	1,6 ± 0,0	3,0 ± 0,3	17,9 ± 0,1	15,7 ± 0,2	13,2 ± 0,2	13,3 ± 0,3
-20°C	11,4 ± 6,1	10,6 ± 5,2	9,4 ± 0,4	6,5 ± 0,3	17,6 ± 0,1	15,3 ± 0,1	12,4 ± 0,2	24,7 ± 2,8
p-Wert	0,21	0,21	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

**Tabelle 12: Statistische Auswertung mit ANOVA (Vergleich Stabilisierungsmethoden Proben aus Pöhla, p<0,05 zeigt signifikante Unterschiede zwischen den Stabilisierungsmethoden bei verschiedenen Messmethoden)**

	ARSOLux				HPLC-ICP-MS			
	1	2	3	4	1	2	3	4
4°C	134,8 ± 80,6	43,1 ± 14,1	23,8 ± 7,1	9,8 ± 0,6	54,1 ± 1,1	45,8 ± 3,1	47,3 ± 2,2	46,1 ± 3,4
4°C, HNO <sub>3</sub>	67,1 ± 13,5	218,1 ± 135,0	131,8 ± 14,9	107,4 ± 21,8	56,7 ± 1,4	67,7 ± 0,9	58,2 ± 0,3	58,0 ± 3,2
4°C, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	360,0 ± 315,4	123,4 ± 56,6	110,0 ± 18,0	143,3 ± 13,6	80,4 ± 1,2	97,9 ± 0,2	82,2 ± 0,8	84,9 ± 0,5
4°C, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	173,2 ± 67,3	159,0 ± 67,0	76,6 ± 4,5	105,2 ± 10,0	101,0 ± 5,1	102,7 ± 5,5	90,1 ± 4,0	73,6 ± 0,7
4°C, HAc	136,0 ± 82,4	150,7 ± 30,1	66,3 ± 14,5	65,6 ± 6,5	59,8 ± 0,1	68,9 ± 1,1	58,9 ± 1,6	55,1 ± 0,8
-20°C	96,7 ± 87,6	224,6 ± 113,3	73,2 ± 13,8	62,5 ± 4,1	59,0 ± 0,8	65,7 ± 0,7	56,9 ± 0,5	51,7 ± 0,8
p-Wert	0,25	0,15	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

Der Vergleich der Stabilisierungsmethoden ist in den Tabellen 11 und 12 dargestellt. Die Messwerte aller Stabilisierungsmethoden sind in unterschiedliche Messmethoden und Standorten unterteilt. Am jeden Messtag wurden alle Ergebnisse danach verglichen. Ein p-Wert von <0,05 zeigt einen signifikanten Unterschied zwischen den Stabilisierungsmethoden.

### 3 ERGEBNISSE

**Tabelle 13: Statistische Auswertung mit ANOVA (Vergleich Messmethoden Proben aus Hartenstein,  $p < 0,05$  zeigt signifikante Unterschiede zwischen den Messmethoden bei verschiedenen Stabilisierungsmethoden, Sterne zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Ergebnissen nach Messtagen)**

		11.08.2015		17.08.2015		24.08.2015		31.08.2015	
		As-Konz. $\pm$ SD	p-Wert						
4°C	ARSOLux	13,6 $\pm$ 1,4	0,01	9,1 $\pm$ 4,0	<0,01	10,8 $\pm$ 0,4*	<0,01	9,5 $\pm$ 0,4**	<0,01
	HPLC	16,5 $\pm$ 1,0		25,6 $\pm$ 3,8*		17,1 $\pm$ 1,1**		12,8 $\pm$ 0,4**	
4°C, HNO <sub>3</sub>	ARSOLux	16,1 $\pm$ 3,0	0,25	10,8 $\pm$ 1,3	<0,01	10,3 $\pm$ 1,3*	<0,01	5,5 $\pm$ 0,5**	0,02
	HPLC	18,5 $\pm$ 0,4		21,6 $\pm$ 1,2*		16,1 $\pm$ 0,6**		14,7 $\pm$ 0,3**	
4°C, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	ARSOLux	14,4 $\pm$ 1,8	<0,01	8,0 $\pm$ 1,5	<0,01	7,7 $\pm$ 0,2**	<0,01	6,6 $\pm$ 0,1**	<0,01
	HPLC	21,7 $\pm$ 0,3		22,5 $\pm$ 0,9		17,6 $\pm$ 0,2**		16,2 $\pm$ 0,4**	
4°C, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	ARSOLux	16,0 $\pm$ 1,0	<0,01	12,2 $\pm$ 1,8	0,02	6,9 $\pm$ 0,2*	<0,01	9,3 $\pm$ 0,2**	<0,01
	HPLC	27,4 $\pm$ 3,0		37,7 $\pm$ 12,0**		28,5 $\pm$ 4,9		13,0 $\pm$ 0,3*	
4°C, HAc	ARSOLux	13,1 $\pm$ 1,7	<0,01	2,1 $\pm$ 0,3	<0,01	1,6 $\pm$ 0,0**	<0,01	3,0 $\pm$ 0,3**	<0,01
	HPLC	17,9 $\pm$ 0,1		15,7 $\pm$ 0,2**		13,2 $\pm$ 0,2**		13,3 $\pm$ 0,3**	
-20°C	ARSOLux	10,6 $\pm$ 5,2	0,08	9,7 $\pm$ 1,1	<0,01	9,4 $\pm$ 0,4	<0,01	6,5 $\pm$ 0,3**	<0,01
	HPLC	17,6 $\pm$ 0,1		15,3 $\pm$ 0,1**		12,4 $\pm$ 0,2**		24,7 $\pm$ 2,8**	

\*:  $p < 0,05$ ; \*\*:  $p < 0,01$ . Sterne zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Ergebnissen nach Messtagen

### 3 ERGEBNISSE

**Tabelle 14: Statistische Auswertung mit ANOVA (Vergleich Messmethoden Proben aus Pöhla,  $p < 0,05$  zeigt signifikante Unterschiede zwischen den Messmethoden bei verschiedenen Stabilisierungsmethoden, Sterne zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Ergebnissen nach Messtagen)**

		11.08.2015		17.08.2015		24.08.2015		31.08.2015	
		As-Konz. $\pm$ SD	p-Wert						
4°C	ARSOLux	134,8 $\pm$ 80,6	0,2	43,1 $\pm$ 14,1	0,8	23,8 $\pm$ 7,1	<0,01	9,8 $\pm$ 0,6*	<0,01
	HPLC	54,1 $\pm$ 1,1		45,8 $\pm$ 3,1*		47,3 $\pm$ 2,2*		46,1 $\pm$ 3,4*	
4°C, HNO <sub>3</sub>	ARSOLux	67,1 $\pm$ 13,5	0,3	218,1 $\pm$ 135,0	0,1	131,8 $\pm$ 14,9	<0,01	107,4 $\pm$ 21,8	0,02
	HPLC	56,7 $\pm$ 1,4		67,7 $\pm$ 0,9**		58,2 $\pm$ 0,3**		58,0 $\pm$ 3,2**	
4°C, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	ARSOLux	360,3 $\pm$ 315,4	0,2	123,4 $\pm$ 56,6	0,5	110,0 $\pm$ 18,0	0,06	143,3 $\pm$ 13,6	<0,01
	HPLC	80,4 $\pm$ 1,2		97,9 $\pm$ 0,2**		82,2 $\pm$ 0,8**		84,9 $\pm$ 0,5**	
4°C, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	ARSOLux	173,2 $\pm$ 67,3	0,1	159,0 $\pm$ 67,0	0,2	76,7 $\pm$ 4,5	0,01	105,2 $\pm$ 10,0	<0,01
	HPLC	101,0 $\pm$ 5,1		102,7 $\pm$ 5,5		90,1 $\pm$ 4,0*		73,6 $\pm$ 0,7**	
4°C, HAc	ARSOLux	136,0 $\pm$ 82,4	0,2	150,7 $\pm$ 34,7	<0,01	66,3 $\pm$ 14,5	0,4	65,6 $\pm$ 6,5	0,05
	HPLC	60,0 $\pm$ 0,1		68,9 $\pm$ 1,1**		58,9 $\pm$ 1,6**		55,1 $\pm$ 0,8**	
-20°C	ARSOLux	96,7 $\pm$ 87,7	0,5	224,6 $\pm$ 133,3	0,1	73,2 $\pm$ 13,8	0,1	62,5 $\pm$ 4,1	0,01
	HPLC	60,1 $\pm$ 0,8		65,7 $\pm$ 0,7**		56,9 $\pm$ 0,5**		51,7 $\pm$ 0,8**	

\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ , Sterne zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Ergebnisse nach Messtagen

In den Tabellen 13 und 14 werden die Messmethoden verglichen. Die Messwerte sind nach Messtag, Stabilisierungsmethode und Messmethode sortiert, die angegebenen p-Werte sagen aus, dass mit einem p-Wert  $< 0,05$  ein signifikanter Unterschied zwischen den Messmethoden beobachtet wurde. Gleichzeitig wurden die Messwerte an jedem Messtag nach unterschiedlicher Messmethoden verglichen. Die Sterne zeigen, dass es signifikante Unterschiede zwischen den Ergebnissen gibt. Zum Beispiel wurden die Messwerte aus allen vier Messtagen verglichen. Kein Stern wurde angegeben, wenn kein signifikanter Unterschied dazwischen vorliegt.

### 3 ERGEBNISSE

**Tabelle 15: Pearson (2-seitig) und Spearman (2-seitig) Korrelationskoeffizienten für Gesamtarsen und die weitere analysierte Parameter am 11.08.2015**

Parameter	Pöhla				Hartenstein			
	Person Korrelations- koeffizient	Signifikanz	Spearman Korrelations- koeffizient	Signifikanz	Person Korrelations- koeffizient	Signifikanz	Spearman Korrelations- koeffizient	Signifikanz
As(III)	0,44	0,38	0,71	0,11	-	-	-	-
As(V)	0,66	0,15	0,77	0,07	-	-	-	-
As(III)/As(V)	-0,68	0,14	-0,6	0,21	-	-	-	-
Ca	0,56	0,25	0,71	0,11	-0,35	0,50	-0,62	0,19
Fe	0,52	0,29	0,37	0,47	0,85*	0,03	0,83*	0,04
Na	0,50	0,31	0,66	0,16	-0,33	0,53	-0,55	0,26
Mg	0,55	0,26	0,52	0,29	0,01	0,98	-0,09	0,87

\*Korrelation ist signifikant bei 0,05

**Tabelle 16: Pearson (2-seitig) und Spearman (2-seitig) Korrelationskoeffizienten für Gesamtarsen und die weitere analysierte Parameter am 31.08.2015**

Parameter	Pöhla				Hartenstein			
	Pearson Korrelations- koeffizient	Signifikanz	Spearman Korrelations- koeffizient	Signifikanz	Pearson Korrelations- koeffizient	Signifikanz	Spearman Korrelations- koeffizient	Signifikanz
As(III)	0,90*	0,01	0,94*	0,00	-	-	-	-
As(V)	-0,48	0,33	-0,14	0,79	-	-	-	-
As(III)/As(V)	0,20	0,71	0,14	0,79	-	-	-	-
Ca	0,90*	0,02	0,99*	0,00	-0,43	0,40	-0,38	0,46
Fe	0,73	0,10	0,94*	0,00	-0,44	0,38	-0,23	0,66
Na	0,77	0,08	0,49	0,32	-0,50	0,31	-0,43	0,40
Mg	0,86	0,03	0,71	0,11	-0,54	0,27	-0,54	0,27

\*Korrelation ist signifikant bei 0,05

In der Arbeit wurde geprüft, ob die Arsenkonzentration in den Wasserproben mit anderen Parametern, z.B. das Verhältnis von Arsenit und Arsenat, der Gehalt von Arsenit, Arsenat, Kalzium, Eisen, Natrium und Magnesium korreliert. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 15 und 16 angegeben. Für Pöhla wurde die Korrelation mit den verdünnten Proben erstellt. Ein Signifikanz bei  $<0,05$  hat die Bedeutung, dass die Arsenkonzentration mit diesem Parameter eine Korrelation hat. Eine negative Korrelation heißt, dass je höher die Konzentration eines Stoffes ist, desto niedriger ist die Arsenkonzentration.

### 4. Diskussion

Um eine geeignete Stabilisierungsmethode für die Lagerung und nachfolgende Analyse arsenhaltiger Wasserproben mit dem ARSOLux Biosensor zu finden, wurden unterschiedliche Säuren und Lagerungstemperaturen getestet. Durch Säurezugabe wird z.B. die Wasserstoffionenkonzentration erhöht, um die Oxidation der gelösten Arsenverbindungen zu verringern. Weiterhin kann z.B. durch Zugabe von Phosphorsäure die Bindung und Mitfällung des gelösten Arsens an Eisenverbindungen durch Komplexbildung verhindert werden, um es für die Detektion im gelösten Zustand für die Bioreporterbakterien verfügbar zu halten. Mit allen ausgewählten Säuren:  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$  und  $\text{HAc}$  konnte eine Remobilisierung des Arsens in eisenhaltigem Wasser erreicht werden. Die Zusammensetzung von natürlichen Grund- und Oberflächenwasserproben kann komplex und an verschiedenen Untersuchungsstandorten sehr unterschiedlich sein. Aus diesem Grund sollten verschiedene Stabilisierungsmethoden an Proben von verschiedenen Standorten getestet werden. Dies erfolgte mit einer statistischen Varianzanalyse (ANOVA). Ein Tukey-Test wurde durchgeführt, um die Auswirkungen der Stabilisierungsmethoden mit p-Werte zu vergleichen. Es werden weitere Untersuchungen erforderlich sein, um eine für die Mehrheit aller unterschiedlichen Wasserproben optimierte Stabilisierungsmethode zu entwickeln. Falls bestimmte Eigenschaften der Wässer an potenziellen Untersuchungsstandorten (z.B. sehr hoher Eisengehalt) bekannt sind, sollten die Lagerungs- und Stabilisierungsmethoden darauf abgestimmt werden.

#### 4.1 Optimierung der Kalibrierung

In der vorliegenden Studie wurde zu jeder Messreihe eine Kalibrierung durchgeführt. Abbildung 9 zeigt, dass die Kalibrierung der Lichtemissionswerte (Relative Light Units) der ARSOLux Biosensoren im Bereich des Arsenstandards von 0 bis 200  $\mu\text{g/l}$  durch eine logarithmische (ln) Funktion zu den genauesten Ergebnissen führt. Die Kalibrierung mit HPLC-ICP-MS zeigt einen linearen Zusammenhang zwischen Peakflächenwerten und Arsenkonzentrationen über den Konzentrationsbereich 0 bis 200  $\mu\text{g/l}$  (siehe Abbildung 11 und 12). Nach Verdünnung von höher konzentrierten Wasserproben kann es eine Überschätzung von Messwerten beim ARSOLux Biosensor auftreten, da die realen Konzentration durch einfache Multiplikation mit dem Verdünnungsfaktor errechnet werden, obwohl bei höheren Arsenkonzentrationen ein nichtlinearer Zusammenhang besteht. Die vereinfachte Vorgehensweise beim ARSOLux Biosensor ist dadurch begründet, dass es sich bei der Methode um ein Feldtestkit bzw. eine Methode zum einfachen Screening von Trinkwasserproben handelt. Hierbei geht es in erster Linie darum, zu bestimmen, ob für Trinkwassernutzung bestimmte Rohwässer über oder unter dem Grenzwert für Arsen (10  $\mu\text{g/l}$ )

bzw. 50 µg/l) liegen. Es sollten deshalb keine genauen Werte im sehr hohen Bereich bei der Messung mit ARSOLux Biosensoren in der Zukunft angegeben werden. Es ist im Grunde hier uninteressant, ob die Konzentration einer Probe im höheren Bereich bei 1200 oder 1500 µg/l bestimmt wurde, sie wäre in jedem Fall für die Trinkwassernutzung nicht geeignet. Eine Kalibrierung im Konzentrationsbereich von 0 bis 200 µg/l ist ausreichend. Zukünftig wird angestrebt, die Genauigkeit der Biosensoren durch industrielle Produktion zu verbessern. Dies wird kleinere Schwankung der Biosensoren und höhere qualitative Homogenität der Biosensoren zu Folge haben. Möglichweise wäre es sinnvoll, die Ergebnisse in sehr hohe Konzentrationsbereichen nicht als quantitative Werte auszugeben, sondern als semiquantitative Konzentrationsbereiche. Überschätzungen bei den ARSOLux Ergebnisse könnten auch durch Ungenauigkeit bei der Zubereitung des 200 µg/l Standards, Pipettierfehler oder Mängeln bei der Sensorherstellung zustande gekommen sein. Wenn der 200 µg/l Standard real tiefer als diese Konzentration lag, ergeben sich daraus bei der Berechnung automatisch zu hohe Arsenergebnisse.

Bei der Messung mit HPLC-ICP-MS wurde Arsenit und Arsenat detektiert, die eine Atommasse von 75 g/mol haben. In Abbildungen 10, 27 und 28 wird eine Hintergrundstörung bei der Detektion von Arsenat dargestellt. Das ist dadurch zu erklären, dass das Schutzgas Argon mit im Wasser gelöstem Chlorid zu  $\text{ArCl}^+$  reagieren kann, was auch ein Masse-zu-Ladungsverhältnis von 75,4 hat. Außerdem hat das oft im Wasser enthaltende Calciumchlorid ein m/z von 75,5. Das kann dazu führen, dass die Standardlösung mit einer zu großen Peakfläche kalibriert wird. Dies führt dann zu einer zu niedrig berechneten Arsenkonzentration in der untersuchten Wasserprobe. In weiteren Untersuchungen soll geprüft werden, ob eine Zugabe von Sauerstoff bei der Messung Hintergrundstörungen vermeiden könnte. Die Reaktion von Arsen und Sauerstoff zu  $\text{AsO}^+$ , dass mit einem m/z von 91 detektiert wird, würde Hintergrundstörungen vermeiden.

### **4.2 Bewertung von Stabilisierungsmethoden bei Analyse von Wasserproben niedriger Arsenkonzentration**

#### **4.2.1 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Arsenmessung mit ARSOLux Biosensoren**

Tabelle 4 zeigt die chemische Zusammensetzung der Wasserprobe aus Hartenstein. Das Wasser weist eine relativ hohe Zinnkonzentration auf. Nach Zugabe unterschiedlicher Säuren wurden keine großen Veränderungen der Probe hinsichtlich der nach verschiedenen Lagerungszeiträumen gemessenen Arsenkonzentrationen festgestellt.

Nach einer Inkubationszeit von 2 h bei 37°C wurde von allen mit den verschiedenen Proben aliquoten inkubierten Biosensoren die Lumineszenz gemessen und mit Hilfe der vorher

erstellten Kalibrierkurve die Arsenkonzentration bestimmt. Laut Abbildung 13 wird die Stabilisierung der Proben mit Essigsäure am unvorteilhaftesten bewertet. Obwohl der Wasserprobe Essigsäure bis 0,5 mol/l zugegeben wurde, war der messbare Arsengehalt nach einer Woche stark gesunken. Über den ganzen Untersuchungszeitraum ist die Probe, die bei 4°C gelagert wurde, am besten stabilisiert. Bis zu einem Lagerungszeitraum von zwei Wochen ist die Probe mit Salpetersäure auch noch stabil und die Stabilisierung mit HNO<sub>3</sub> kann für diesen Zeitraum empfohlen werden. Die Probe, die mit Phosphorsäure angesäuert wurde, zeigte eine gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Referenzmethode HPLC-ICP-MS. Die unter -20°C gelagerte Probe ist ebenfalls relativ gut stabilisiert. Am ersten Tag wurde hier aber der niedrigste mittlere Wert gemessen, der zudem noch eine relativ große Standardabweichung aufweist. Es kann sein, dass das Gefrieren und Wiederauftauen der Probe zur Ausfällung relativ großer Arsenanteile vor der Messung führte, die dann für die Detektion nicht mehr verfügbar waren. Messfehler und Schwankungen könnten auch durch das nicht optimale Vorgehen zur Neutralisation der vorher angesäuerten Proben verursacht worden sein. Die einzelnen Proben wurden vor jeder Messung zum Teil mit unterschiedlichen Volumen von 2 M NaOH bis etwa pH 5 neutralisiert. Es wurde unterschiedliche Volumen an NaOH zugegeben, was zu erheblichen Veränderungen der ursprünglichen Arsenkonzentrationen in den Proben am ersten Messtag führte und sich auch in der Messungenauigkeiten widerspiegelt. Bessere Ergebnisse können erzielt werden, indem alle Proben mit derselben zur Neutralisierung notwendigen Menge NaOH, die vorher ermittelt wurde, versetzt werden. Die Werte am 11.08.2015 wurden zudem noch mit einer anderen Charge von Biosensoren und einer anderen Inkubationstemperatur (30°C) gemessen, was hinsichtlich der Vergleichbarkeit der Messwerte an den verschiedenen Tagen beachtet werden muss.

### **4.2.2 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Arsenmessung mit HPLC-ICP-MS**

Die Ergebnisse der Messungen mit HPLC-ICP-MS wurden in Abbildung 14 dargestellt. Hier wurden die Proben ohne Neutralisation gemessen. Bei der unter -20°C gelagerter Probe ist eine relativ stabile Arsenkonzentration über den gesamten Lagerungszeitraum zu beobachten. Bei den anderen untersuchten Stabilisierungsmethoden sind die Tendenzen ähnlich. Innerhalb von zwei Wochen bleiben die Werten noch stabil, wenn die Probe mit Phosphorsäure fixiert wurde. Bei der Messung nach einer Woche sind bei allen Stabilisierungsmethoden die Messwerte am höchsten. Fehler könnten durch Hintergrundstörungen verursacht worden sein, da der Hauptteil des Gesamtarsens im Wasser aus Hartenstein durch Arsenat repräsentiert wird.

### **4.3 Untersuchung von Stabilisierungsmethoden bei Analyse von Wasserproben hoher Arsenkonzentration**

#### **4.3.1 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Arsenmessung mit ARSOLux Biosensoren**

Die Zusammensetzung der Wasserprobe aus Pöhla ist in Tabelle 5 dargestellt. In der mit Schwefelsäure fixierten Probe wurde noch eine relativ hohe Eisenkonzentration gemessen. Das heißt, dass mit Hilfe von Schwefelsäure Eisen in Lösung gehalten wurde. Dies wurde dadurch deutlich, dass im Gegensatz zu den anders stabilisierten Proben kein brauner Niederschlag zu erkennen war. Der Niederschlag hat wahrscheinlich in den nicht mit Schwefelsäure stabilisierten Proben zur Mitfällung von Arsenanteilen geführt, was sich in den gemessenen meistens niedrigeren Arsenkonzentrationen widerspiegelt.

Die Probe wurde in gleicher Weise, wie die Probe aus Hartenstein behandelt. Die Lumineszenz der mit den Proben inkubierten Biosensoren wurde mit einem Luminometer gemessen. Wegen der sehr hohen Arsenkonzentration wurde die Probe zuerst mit dem Faktor 20 verdünnt und danach vermessen, was möglicherweise zu fehlerhaften, überhöhten gemessenen Arsenkonzentrationen geführt hat, wenn durch Multiplikation mit dem Verdünnungsfaktor die realen Konzentrationen in der Probe ermittelt wurden. Aus den beschriebenen Gründen wurden bestimmte Aspekte nur im Hinblick auf die verdünnt gemessenen Ergebnisse diskutiert.

In Abbildung 16 ist der Konzentrationsverlauf der verdünnt gemessenen Werte über einen Zeitraum von drei Wochen dargestellt. Es ist offensichtlich, dass die Probe nicht bei 4°C gelagert werden sollte, da nach einer Woche die Konzentration schon stark abgesunken war. Unter -20°C wurde die Probe auch nicht besonders gut stabilisiert. Bei Zugabe von Essigsäure konnte die Arsenkonzentration in der Probe für eine Woche stabilisiert werden. Über den ganzen Untersuchungszeitraum ist die Probe, die mit Schwefelsäure versetzt und bei 4°C gelagert wurde, am besten stabilisiert. Dies stimmt gut mit den Daten aus Tabelle 4 überein, die zeigen, dass nur in der mit Schwefelsäure behandelten Probe kein brauner Niederschlag gebildet wurde. Schwefelsäure kann als ein Komplexbildner im Wasser verhindern, dass Arsen zusammen mit Eisen(oxy)hydroxiden im Wasser ausfällt. Durch die übrigen Stabilisierungsmethoden wurden die Proben auch relativ gut konserviert. Fehler kamen auch hier vor allem durch nicht optimales Vorgehen bei der Neutralisation mit Natriumhydroxid zustande.

### 4.3.2 Einfluss von Stabilisierungsmethoden auf die Arsenmessung mit HPLC-ICP-MS

Abbildung 17 zeigt die gesamte in Wasserproben aus Pöhla gemessene Arsenkonzentration, In Abbildung 18 sind die Werte der Analyse verdünnter Proben dargestellt. Alle Stabilisierungsmethoden resultierten in einer guten Konservierung der Probe, wobei die mit Schwefelsäure versetzten Proben die geringsten Veränderungen der gemessenen Arsenkonzentrationen von 89 µg/l auf 85 µg/l zeigten. Die mit Essigsäure versetzten Proben zeigten im Gegensatz dazu eine größere Änderung der Arsenkonzentration von 69 µg/l auf 55 µg/l über den Untersuchungszeitraum. Auch bei der mit Salpetersäure stabilisierten Probe war nur eine geringe Arsenkonzentrationsänderung von 8 µg/l zu beobachten. Die bei 4°C gelagerte Probe zeigte schon in der ersten Woche eine Absenkung der Arsenkonzentration um 18 µg/l. In der mit Phosphorsäure versetzten Probe wurde bei den ersten zwei Messungen mit einer mittleren Konzentration von 105 µg/l der höchste Wert detektiert. Nach Lagerungszeiten von mehr als zwei Wochen ist eine schnelle Verringerung der gemessenen Werte zu beobachten. Bei anderen Stabilisierungsmethoden sind ähnliche Tendenzen erkennbar. Fehler können auch bei der Arsenatmessung aufgetreten sein.

Abbildung 19 und 20 zeigen die Arsenit- und Arsenatkonzentration im Wasser, die mit HPLC-ICP-MS detektiert wurden. Es ist offensichtlich, dass Arsenit mit einem mittleren Anteil von 80% den größeren Anteil in der Probe aus Pöhla einnimmt. Abgesehen von der Probe, die bei 4°C gelagert wurde, konnte das Arsenit im Wasser durch die getesteten Stabilisierungsmethoden gut konserviert werden. Bei Betrachtung der beiden Abbildungen 19 und 20 wird ersichtlich, dass in der bei 4°C gelagerten Probe Arsenit größtenteils zu Arsenat oxidiert wurde. In den Proben mit Schwefelsäure und Phosphorsäure wurde ein relativ hoher Anteil von Arsenat detektiert. Bei der mit Phosphorsäure versetzten Probe nahm der Arsenatgehalt jedoch mit zunehmender Lagerungsdauer der Probe um ca. 40 µg/l ab, was bedeutet, dass mit dieser Stabilisierungsmethode Arsenat nicht optimal fixiert werden konnte. Derselbe Effekt ist bei den anderen drei Methoden (Salpetersäure, Essigsäure, Einfrieren bei -20°C) ebenfalls zu beobachten. Die Proben, die mit Salpetersäure und Essigsäure angesäuert wurden sowie die Probe, die bei -20°C gefroren gelagert wurde, zeigten Verluste von über 50% Arsenat schon nach einer Woche. Um Arsenat am besten zu stabilisieren wird aufgrund der erhaltenen Ergebnisse die Methode der Stabilisierung mit Schwefelsäure und Lagerung bei 4°C empfohlen.

#### **4.4 Wiederfindung der mit ARSOLux Biosensoren gemessenen Arsenkonzentrationen im Wasser im Vergleich zu Messwerten der HPLC-ICP-MS**

In Kapitel 3.5 zeigt den Vergleich der Messmethoden an den einzelnen Messtagen. Die Messwerte sind in Abbildung 21 - 24 dargestellt. Die Unterschiede zwischen beiden Messmethoden am ersten Tag sind bei der Probe aus Pöhla relativ groß. Die Messwerte der ARSOLux Biosensoren sind fast doppelt so hoch wie die Ergebnisse des HPLC-ICP-MS. Die Überschätzung kommt möglicherweise durch die Umrechnung von Lichtemissionswerte in Arsenkonzentration zustande, die beim ARSOLux Biosensor durch eine nichtlineare, logarithmische Berechnung erfolgt (siehe Kap. 4.1). Bei Kalkulation der realen Arsenkonzentration aus verdünnt (1:20) gemessenen Werten, wird einfach mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert, was eigentlich einen linearen Zusammenhang voraussetzt. Es wird dann auch verständlich, dass bei geringeren Arsenkonzentrationen der Unterschied zwischen den Messwerten bei beiden Messmethoden kleiner wird, da die gemessene Konzentration in linearen Bereich (unter 50 µg/l) liegt. Aus den genannten Gründen ist es möglicherweise sinnvoller, die Effekte der Stabilisierungsmethoden anhand der verdünnt gemessenen Ergebnisse zu diskutieren. Die mit Salpetersäure stabilisierten Proben von beiden Standorten, zeigen die größte Übereinstimmung zwischen den mit den zwei verschiedenen Methoden ARSOLux und HPLC-ICP-MS gemessenen Arsenkonzentrationen für einen Lagerungszeitraum von drei Wochen. Das heißt, unter diesen Bedingungen korrelieren die beiden Messmethoden am besten ( $r = 0,67$ ,  $n = 12$  nach Spearman-Korrelation). Die ARSOLux Messwerte der Probe aus Hartenstein liegen im Mittel um 44% niedriger als die Ergebnisse des HPLC-ICP-MS. Es wurde bereits beschrieben (siehe Kap. 2.3.1 und Tabelle 3), dass in der Probe aus Hartenstein eine relativ hohe Chloridkonzentration vorlag, weswegen möglicherweise eine zu hohe Arsenkonzentration mit HPLC-ICP-MS detektiert wurde. Besonders bei der Probe mit niedriger Arsenkonzentration wirkt sich der Effekt des Störungselements aus. In den Zellen der Bioreporter der ARSOLux Biosensoren wird Arsenat durch Arsenatreduktase erst zu Arsenit reduziert und als Arsenit im Licht erzeugenden Signalmechanismus detektiert. Möglicherweise kann bei limitierter Inkubationszeit ein bestimmter Anteil des Arsenats nicht reduziert werden und fällt vorher aus, was zu weniger Lichtemission und dadurch geringeren detektierten gesamten Arsenkonzentrationen führt (siehe auch 1.4). In Abbildungen 23 und 24 ist zu erkennen, dass bei Lagerung der Probe aus Hartenstein bei 4°C die Messwerte beider Messmethoden am besten übereinstimmen.

In den Abbildungen 25 und 26 ist die Übereinstimmung zwischen den Messmethoden höher, je näher die Werte bei 0% liegen. In Abbildung 25 ist die relative Abweichung für die

verschiedenen Stabilisierungsmethoden der Probe aus Hartenstein dargestellt. Am ersten Tag wurden bei allen Proben mit verschiedenen Messmethoden relativ ähnliche Werte gemessen. Ab der zweiten Woche hat Essigsäure die Arsenkonzentration nicht mehr stabilisiert, was an der großen Abweichung zu erkennen ist. Wenn die Probe bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagert wurde, war der Übereinstimmung zwischen beiden Messmethoden relativ gut ( $\text{MW} = -25,4\%$ ). Die relativen Abweichungen von der bei  $4^{\circ}\text{C}$  gelagerten Probe ( $\text{MW} = -25,8\%$ ) und der mit Salpetersäure stabilisierten Probe ( $\text{MW} = -29,8\%$ ) sind ebenfalls relativ niedrig. Deswegen kann für eine gering konzentrierte arsenhaltige Wasserprobe empfohlen werden, die Probe einfach bei  $4^{\circ}\text{C}$  zu lagern. Wenn die Probe unter  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagert wird, oder zuerst Salpetersäure zugegeben und bei  $4^{\circ}\text{C}$  gelagert wird, kann eine Probe bis zu zwei Wochen optimal konserviert werden.

Abbildung 26 zeigt die relative Abweichung von Wasserproben aus Pöhla. Die bei  $4^{\circ}\text{C}$  gelagerte Probe wies eine gute Wiederfindung am zweiten Messtag auf und die Abweichungen zwischen beiden Messmethoden war am geringsten ( $\text{MW} = -5,3\%$ ). Die Schwankung der Arsenkonzentration in der Probe mit Phosphorsäure war ebenfalls relativ gering. In der mit Schwefelsäure stabilisierten Probe wurden am ersten Messtag von beiden Messmethoden verschiedene Konzentrationen gemessen. Ab der zweiten Woche ist die Abweichung der Messwerte relativ gering. Laut Abbildung 26 wird die Stabilisierungsmethode mit Phosphorsäure und Schwefelsäure empfohlen, jedoch sind die relativen Abweichungen der ARSOLux Messung bei allen Stabilisierungsmethoden relativ klein.

Vermutlich traten die großen Schwankungen der relativen Abweichung auf, da die Arsenkonzentration durch Zugabe unterschiedlicher Volumen von NaOH geändert wurde. Für die Messungen allgemeiner Wasserproben mit ARSOLux Biosensoren wird empfohlen, die Probe bei  $-20^{\circ}\text{C}$  zu lagern, da ohne Säure keine Beeinträchtigung der Bakterien durch einen zu niedrigen pH Wert auftritt.

### **4.5 Statistische Bewertung aller Stabilisierungsmethoden**

Die Messwerte für Arsenkonzentrationen in allen gemessenen Proben bei unterschiedlichen Stabilisierungsmethoden und Messmethoden sollten verglichen werden. Die p-Werte in Tabelle 10 zeigen, dass es signifikante Unterschiede zwischen den Ergebnissen der verschiedenen Stabilisierungsmethoden und den Messmethoden über den Lagerungszeitraum gibt. Weiterhin sind die Ergebnisse der Vergleiche zwischen beiden Messmethoden und Messtagen bei alle Stabilisierungsmethoden in Tabelle 13 und 14 dargestellt.

Die Stabilisierungsmethode, die über einen möglichst langen Lagerungszeitraum zu den besten Übereinstimmungen der ARSOLux Messwerte und den Ergebnissen der Referenzmethode führt, sollte ermittelt werden. Höhere Standardabweichungen wurden bei

der Messung mit ARSOLux Biosensoren errechnet. Im Vergleich mit Labormessmethoden ist es aber als normal anzusehen, dass eine Feldmessmethode mit größerer Ungenauigkeit misst. Die wesentlich geringeren Kosten einer Messung mit ARSOLux sind unter bestimmten Bedingungen von Vorteil. Eine Messung mit dem ARSOLux Biosensor kostet nur etwa einen Euro, wobei sich die Kosten einer HPLC Analyse auf etwa 17,5 € belaufen [37]. Zuerst wurden die Ergebnisse der Messmethoden an jedem Messtag verglichen. Die Ergebnisse aus Hartenstein zeigten relativ große Unterschiede zwischen den Messmethoden. Mit dem höchsten p-Wert wurde der kleinste Unterschied bei mit Salpetersäure stabilisierten Proben beobachtet ( $p = 0,25$ ,  $n = 3$ ). Die Messwerte der bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagerten Proben unterscheiden sich auch nicht viel am ersten Messtag ( $p = 0,08$ ,  $n = 3$ ). Die Messergebnisse von ARSOLux Biosensoren zeigten eine relativ gute Stabilisierung der Proben bis zu zwei Wochen, am letzten Messtag gab es aber bei allen Stabilisierungsmethoden signifikante Unterschiede zwischen den Messwerten. Da mit einer mittleren Arsenkonzentration von  $13 \mu\text{g/l}$  die höchste Standardabweichung nur bei  $1,8 \mu\text{g/l}$  liegt, ist die ARSOLux Messung als Feldtestkit für die Proben mit niedriger Arsenkonzentration schon zuverlässig.

Die Werte der Proben aus Pöhla zeigten bei beiden Messmethoden signifikante Unterschiede erst nach zwei Wochen ( $p < 0,05$ ,  $n = 3$ ). Die Arsenwerte gemessen mit HPLC-ICP-MS wiesen relativ kleine Standardabweichungen auf. Das heißt, dass die Messgenauigkeit der ARSOLux Biosensoren nicht so hoch ist wie die des HPLC-ICP-MS. Ein Grund dafür könnte sein, dass die Bakterien sensibel auf Änderung der Zusammensetzung der Wasserprobe reagieren, beispielweise konnten sie unter sauren Bedingungen gehemmt sein. Die Überschreitung des Messbereiches für den ARSOLux Biosensoren könnte auch zu Erhöhung der Arsenkonzentration führen. Die kleinsten Unterschiede der Varianzen wurden in der bei  $4^{\circ}\text{C}$  gelagerte Probe beobachtet ( $p\text{-MW} > 0,25$ ). Mit der Stabilisierungsmethode mit Schwefelsäure sind die Messwerte der ARSOLux Biosensoren noch zuverlässig ( $p\text{-MW} = \text{ca. } 0,19$ ). Von daher wird empfohlen, die Proben bei  $4^{\circ}\text{C}$  oder mit Schwefelsäure zu stabilisieren. Im Vergleich der nach Messtag sortierte Stabilisierungsmethoden wurden bis zum letzten Messtag keine signifikanten Unterschiede beobachtet, außer die bei  $4^{\circ}\text{C}$  gelagerte Probe ( $p < 0,05$ ,  $n = 12$ ). Andererseits sind die Ergebnisse von ARSOLux und HPLC-ICP-MS bei allen Stabilisierungsmethoden signifikant unterschiedlich, was auf die unterschiedlichen Fehlervarianzen der Daten für die verschiedenen Faktoren Probenahmestandort, Messtag und innerhalb der Messmethoden selbst zurückzuführen ist. Zielführender ist es, die Ergebnisse für die unterschiedlichen Probenahmestandorte (hohe und niedrige Arsenkonzentration) und Messtage separat auszuwerten.

Mit einer Korrelationsanalyse wurde untersucht, ob eine Abhängigkeit zwischen den Arsenkonzentration und den anderen gemessenen Wasserqualitätsparametern vorliegt. Der

Korrelationskoeffizient ist ein dimensionsloses Maß für den Grad des linearen Zusammenhangs zwischen zwei mindestens intervallskalierten Merkmalen, die Werte liegen zwischen -1 und +1.

Die gesamte Arsenkonzentration der ARSOLux-Messung und die Arsenit- sowie Arsenatkonzentration der HPLC-ICP-MS-Messung und die Konzentrationen der Fremdionen aus ICP-MS wurden hier verglichen. Die Analyse der Ergebnisse von 11.08.2015 bei der Wasserprobe aus Pöhla zeigte eine negative Korrelation zwischen der Arsenkonzentration und dem Verhältnis von Arsenit und Arsenat ( $r = -0,68$ ,  $n = 6$ ). Am selben Tag zeigten die Messwerte der Probe aus Hartenstein eine positive Korrelation der Arsenkonzentration mit dem Eisengehalt ( $r = 0,85$ ) und Magnesiumgehalt ( $r = 0,01$ ). Tabelle 13 zeigt, dass eine signifikante Pearson-Korrelation ( $p < 0,05$ ) zwischen der Arsenkonzentration und dem Eisengehalt in der Probe aus Hartenstein vorliegt. Das gleiche Ergebnis wurde auch mit der Spearman-Korrelation errechnet.

Am Ende des Untersuchungszeitraums hatte sich die Zusammensetzung der Wasserproben stark geändert (siehe Tabelle 14). Bei der Probe Pöhla ist eine einzige negative Korrelation zwischen Gesamtarsen- und Arsenatkonzentration vorhanden ( $r = -0,48$ ). Außerdem ist die Arsenkonzentration jetzt mit der Arsenitkonzentration ( $r = 0,91$ ) und der Kalziumgehalt ( $r = 0,90$ ) signifikant korreliert. Bei der Probe Hartenstein ist eine negative Korrelation zwischen der Gesamtarsengehalt und allen gemessenen Parametern beobachtet. Bei der Spearman-Korrelation weist die gleiche Aussage.

### 5. Zusammenfassung und Ausblick

Täglich konsumieren weltweit Millionen Menschen arsenkontaminiertes Trinkwasser, was zu lebensbedrohlichen Erkrankungen führen kann. Die Entwicklung zuverlässiger, umweltfreundlicher und kostengünstiger Schnelltests ist daher notwendig, um in Entwicklungsländern die Möglichkeit zur Identifizierung arsenkontaminierter Wasserstellen zu verbreiten. Der ARSOLux Biosensor kann als innovatives Messverfahren mit Hilfe der gentechnisch modifizierten Bakterien *E. coli* DH5a-2697 (pSB401-arsR), das im Wasser gelöste bioverfügbare Arsen nachweisen. Unter bestimmten Bedingungen ist eine sofortige Messung vor Ort nicht durchführbar und wenig effizient. Aus diesem Grund wäre es vorteilhaft, eine standardisierte Stabilisierungsmethode für mit ARSOLux zu analysierende Proben zu finden, wie sie für chemische Messverfahren bereits existiert.

Das Ziel dieser Arbeit war daher, die Proben mit verschiedenen Stabilisierungsmethoden, die zum Teil bereits für andere Arsenmessverfahren (HPLC-ICP-MS, ICP-AES) untersucht wurden, auch für die Anwendung bei ARSOLux Biosensormessungen zu testen und möglicherweise anzupassen. Es wurde neben verschiedenen Stabilisierungsmethoden auch untersucht, ob nach verschiedenen Transport- und Lagerungszeiten eine hinreichend genaue Arsenbestimmung über das Lumineszenzsignal der Biosensoren noch möglich ist. Sich verändernde Redoxbedingungen in der Probe können zum Zerfall oder zur Neubildung von Arsenverbindungen im Wasser führen, die dann nicht mehr den Originalzustand des Wassers widerspiegeln und zu falsch positiven oder negativen Ergebnissen führen. Beispielsweise vermindern hohe Eisenkonzentrationen die Bioverfügbarkeit von Arsen in Wasserproben. Um die Sorption von Arsen an Eisen zu unterbinden, kann z.B. Schwefelsäure zugegeben werden. Der Einfluss von verschiedenen Stabilisierungsmethoden mittels Temperaturänderung und Säurezugaben auf die Arsenkonzentration und die Lumineszenz der Bioreporterbakterien wurde in der vorliegenden Arbeit untersucht. Ebenfalls wurde versucht, den optimalen Lagerungszeitraum für mit ARSOLux zu untersuchende Proben bei den jeweiligen Stabilisierungsmethoden zu finden. Dazu wurden Wasserproben aus unterschiedlichen Standorten mit verschiedenen Methoden stabilisiert und mit den ARSOLux Biosensoren vermessen, als Referenz wurde eine Messung gleichzeitig mittels HPLC-ICP-MS durchgeführt.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass sich die Bioreporterbakterien anders verhielten, wenn die Wasserproben unterschiedlich stabilisiert wurden. Bei der Probe mit niedriger Arsenkonzentration (unter 20 µg/l) blieb das im Wasser gelöste Arsen bei Lagerung bei 4°C bzw. -20°C und Zugabe von Salpetersäure, für einen längeren Zeitraum bis zu zwei Wochen stabil. Als beste Stabilisierungsmethode konnte für ARSOLux die Lagerung bei 4°C und zwei

Wochen ermittelt werden, da auf diese Weise die optimale Übereinstimmung mit HPLC-ICP-MS Werten und geringste Verluste der gemessenen Arsenkonzentration erreicht wurden. Mit einer Lagerung bei -20°C konnte dieselbe Arsenkonzentration noch nach zwei Wochen mit HPLC-ICP-MS gemessen werden. Das Gefrieren bei -20°C führte im Gegensatz dazu bei der Messung mit ARSOLux Biosensoren zu relativ niedrigen Wiederfindungswerten und großen Standardabweichungen. Möglicherweise hat hier das Gefrieren und Wiederauftauen zur Oxidation und Ausfällung von Arsenverbindungen geführt. Bei der Probe mit hoher Arsenkonzentration (über 1000 µg/l) war es am besten, mit Schwefelsäure zu stabilisieren. Durch Verhinderung der Bildung von Eisen(oxy)hydroxidbildung und Adsorption von Arsen konnte Arsen in Lösung gehalten werden. Wenn wenige Informationen zur Wasserprobenzusammensetzung vorliegen, könnte sie auch mit Salpetersäure bis zu zwei Wochen stabilisiert werden, da die Messergebnisse beider Standorte bei dieser Stabilisierungsmethode auch relativ gut waren. Kurz vor der ARSOLux Messung müssen die durch Ansäuerung stabilisierten Proben mit NaOH neutralisiert werden.

**Tabelle 17: Zusammenfassung für ARSOLux Biosensoren**

	Vergleich ARSOLux/HPLC	Vergleich ANOVA
niedrige As-Konz.	4°C: am besten -20°C, HNO <sub>3</sub> : bis zu zwei Wochen	HNO <sub>3</sub> : am besten -20°C: bis zu zwei Wochen 4°C: bis zu einer Woche
hohe As-Konz.	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> : am besten -20°C, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> : auch gut	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> : bis zu zwei Wochen -20°C, 4°C, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> : bis zu einer Woche

Zukünftig sollten noch weitere Untersuchungen mit Proben mittlerer Arsenkonzentration (bis 200 µg/l) durchgeführt werden, um eine noch umfassendere Aussage treffen zu können. Noch weitere unterschiedliche Probenmatrizes sollten getestet werden, um Einflüsse von Störelementen auszuschließen. Unterschiedliche Mengen des zur Neutralisation verwendeten NaOH können zu Schwankungen der Messergebnisse führen. Es sollte daher vorher bestimmt werden, welches Volumen mindestens notwendig ist, um den pH Wert anzuheben (>5). Dann sollte dieselbe Menge allen Proben zugegeben werden. Bei industrieller Produktion der Biosensoren könnte die Standardabweichung der Biosensoren wesentlich verringert und eine homogenere Qualität erreicht werden. Die Messung mit HPLC-ICP-MS könnte durch Nutzung einer Octopole Reaktionszelle verbessert werden, da in der Zelle Arsen in Anwesenheit von Sauerstoff zu AsO<sup>+</sup> mit einem m/z von 91 umgewandelt werden kann, womit die Hintergrundstörung bestimmter anderer Ionen beseitigt wird.

## 6. Literaturverzeichnis

1. **Cepus, V.** *Skript Kurzfassung*. Analytische Chemie II, Hochschule Merseburg
2. **Evisa,** *Ansicht HPLC-ICP-MS.* Available from: <http://www.speciation.net/Public/Document/2007/06/21/2914.html>, aufgerufen am 30.08.2015
3. **Stocker, J., et al.,** *Development of a set of simple bacterial biosensors for quantitative and rapid measurements of arsenite and arsenate in potable water.* Environmental science & technology, 2003. 37(20): S. 4743-4750.
4. **Süss-Fink, G.,** *Arsenvergiftungen.* Chemie in unserer Zeit, 2012. 46(2): S. 100-109.
5. **Caussy, D.,** *Case studies of the impact of understanding bioavailability: arsenic.* Ecotoxicology and Environmental Safety, 2003. 56(1): S. 164-173.
6. **Smedley, P.L. and D.G. Kinniburgh,** *A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters.* Applied Geochemistry, 2002. 17(5): S. 517-568.
7. **Soentgen, J.,** *Arsen—ein Stoff aus dem Untergrund.* GAIA—Ecological Perspectives for Science and Society, 2011. 20(3): S. 199-200.
8. **Trang, P.T.K., et al.,** *Bacterial bioassay for rapid and accurate analysis of arsenic in highly variable groundwater samples.* Environmental Science & Technology, 2005. 39(19): S. 7625-7630.
9. **Hahn-Tomer, S., et al.** *ARSOlux—arsenic biosensor based on bioreporter bacteria. in One Century of the Discovery of Arsenicosis in Latin America (1914-2014) As2014: Proceedings of the 5th International Congress on Arsenic in the Environment, May 11-16, 2014, Buenos Aires, Argentina.* 2014. CRC Press.
10. **Mukherjee, A., et al.,** *Arsenic contamination in groundwater: a global perspective with emphasis on the Asian scenario.* Journal of Health, Population and Nutrition, 2006. 24(2): S. 142-163.
11. **Sun, G., et al.,** *Current research problems of chronic arsenicosis in China.* Journal of Health, Population and Nutrition, 2006: S. 176-181.
12. **Saha, J., et al.,** *A review of arsenic poisoning and its effects on human health.* Critical reviews in environmental science and technology, 1999. 29(3): S. 281-313.
13. **Ahsan, H., et al.,** *Arsenic exposure from drinking water and risk of premalignant skin lesions in Bangladesh: baseline results from the Health Effects of Arsenic Longitudinal Study.* American Journal of Epidemiology, 2006. 163(12): S. 1138-1148.
14. **Rahman, M.M., et al.,** *Chronic arsenic toxicity in Bangladesh and West Bengal, India—a review and commentary.* Journal of Toxicology: Clinical Toxicology, 2001. 39(7): S. 683-700.
15. **Leonard, A. and R. Lauwerys,** *Carcinogenicity, teratogenicity and mutagenicity of arsenic.* Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology, 1980. 75(1): S. 49-62.
16. **Golub, M.S., M.S. Macintosh, and N. Baumrind,** *Developmental and reproductive toxicity of inorganic arsenic: animal studies and human concerns.* Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B Critical Reviews, 1998. 1(3): S. 199-237.

17. **Rossman, T.G.**, *Mechanism of arsenic carcinogenesis: an integrated approach*. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 2003. 533(1): S. 37-65.
18. **Hung, D.Q., O. Nekrassova, and R.G. Compton**, *Analytical methods for inorganic arsenic in water: a review*. Talanta, 2004. 64(2): S. 269-277.
19. **Wei, X., C.A. Brockhoff-Schwegel, and J.T. Creed**, *A comparison of urinary arsenic speciation via direct nebulization and on-line photo-oxidation–hydride generation with IC separation and ICP-MS detection*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2001. 16(1): S. 12-19.
20. **Huang, C.-W., C.-C. Wei, and V.H.-C. Liao**, *A low cost color-based bacterial biosensor for measuring arsenic in groundwater*. Chemosphere, 2015. 141(0): S. 44-49.
21. **Daus, B., et al.**, *Investigation on stability and preservation of arsenic species in iron rich water samples*. Talanta, 2002. 58(1): S. 57-65.
22. **Harms, H., M.C. Wells, and J.R. van der Meer**, *Whole-cell living biosensors—are they ready for environmental application?* Applied microbiology and biotechnology, 2006. 70(3): S. 273-280.
23. **Melamed, D.**, *Monitoring arsenic in the environment: a review of science and technologies with the potential for field measurements*. Analytica Chimica Acta, 2005. 532(1): S. 1-13.
24. **Hynninen, A. and M. Virta**, *Whole-cell bioreporters for the detection of bioavailable metals*, in *Whole Cell Sensing System II*. 2010, Springer. S. 31-63.
25. **Rosen, B.P.**, *Bacterial resistance to heavy metals and metalloids*. JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry, 1996. 1(4): S. 273-277.
26. **Siegfried, K., et al.**, *Field testing of arsenic in groundwater samples of Bangladesh using a test kit based on lyophilized bioreporter bacteria*. Environmental science & technology, 2012. 46(6): S. 3281-3287.
27. **Kumar, A.R. and P. Riyazuddin**, *Preservation of inorganic arsenic species in environmental water samples for reliable speciation analysis*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2010. 29(10): S. 1212-1223.
28. **Chesnut, S.M. and J.J. Salisbury**, *The role of UHPLC in pharmaceutical development*. Journal of separation science, 2007. 30(8): S. 1183-1190.
29. **Holland, S.**, *Untersuchungen zur Herstellung von agglomerierten Anionenaustauschern auf Styrol-und Methacrylat-Basis*. 2005, Philipps-Universität Marburg.
30. **Gorny, J., et al.**, *Development and application of a HPIC-ICP-MS method for the redox arsenic speciation in river sediment pore waters*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2015.
31. *Was ist ICP-MS*. Available from: <http://www.icp-ms.de/wasist.html>.
32. **Ruiz, M.J., et al.**, *A method for screening arsenal lipids in fish oils by HPLC-ICPMS*. 2012. 27: S. 502-504.
33. **Kuppardt, A., et al.**, *Optimization of preservation conditions of As (III) bioreporter bacteria*. Applied microbiology and biotechnology, 2009. 82(4): S. 785-792.

34. **Wolf, R.E., et al.**, *Simultaneous speciation of arsenic, selenium, and chromium: species stability, sample preservation, and analysis of ash and soil leachates*. Analytical and bioanalytical chemistry, 2011. 401(9): S. 2733-2745.
35. **Daus, B., et al.**, *Preservation of arsenic species in water samples using phosphoric acid—Limitations and long-term stability*. Talanta, 2006. 69(2): S. 430-434.
36. **Oliveira, V., et al.**, *New preservation method for inorganic arsenic speciation in acid mine drainage samples*. Talanta, 2006. 69(5): S. 1182-1189.
37. **Landeslabor Berlin-Brandenburg**, *Preisliste*. 2015. [http://www.landeslabor.berlin-brandenburg.de/sixcms/media.php/5589/LLBB\\_Preisliste\\_2013.pdf](http://www.landeslabor.berlin-brandenburg.de/sixcms/media.php/5589/LLBB_Preisliste_2013.pdf), aufgerufen am 05.09.2015

## **Anhang**

Anhang A	-----	53
Anhang B	-----	54
Anhang C	-----	55
Anhang D	-----	56
Anhang E	-----	57
Anhang F	-----	58
Anhang G	-----	59
Anhang H	-----	60
Anhang I	-----	61
Anhang J	-----	61
Anhang K	-----	62
Anhang L	-----	62

Tabelle 18: Arsenkonzentrationen (As gesamt, µg/l) gemessen mit ARSOLux

Stabilisierungsmethoden	Standorte	Datum			
		11.08.15	17.08.15	24.08.15	31.08.15
4°C	Hartenstein	15,13	13,79	10,18	9,91
		13,17	12,13	11,48	9,02
		16,59	15,01	10,87	9,56
	Pöhla	92,49	28,86	18,06	10,36
		84,13	43,43	21,58	9,80
		227,81	57,04	31,71	9,23
4°C, HNO <sub>3</sub>	Hartenstein	18,92	16,93	11,78	5,01
		13,98	12,82	9,95	5,38
		20,96	18,60	9,22	5,95
	Pöhla	79,53	70,91	134,15	89,80
		69,08	335,96	115,88	100,59
		52,72	247,56	145,39	131,72
4°C, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Hartenstein	14,34	13,12	7,84	6,48
		14,76	13,47	7,74	6,64
		18,36	16,47	7,53	6,59
	Pöhla	720,14	113,83	127,65	136,81
		132,54	72,10	110,48	134,18
		227,43	184,13	91,73	159,03
4°C, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Hartenstein	17,66	15,90	6,63	9,21
		16,67	15,07	7,06	9,54
		18,93	16,94	6,93	9,22
	Pöhla	242,00	207,10	73,69	94,62
		107,52	187,30	81,85	114,56
		169,97	82,56	74,42	106,28
4°C, HAc	Hartenstein	16,53	14,96	1,62	2,84
		13,88	12,74	1,62	3,28
		12,62	11,67	1,63	2,77
	Pöhla	217,44	135,45	62,19	63,77
		52,75	185,44	82,35	60,14
		137,76	131,29	54,26	72,82
-20°C	Hartenstein	8,27	7,91	9,29	6,23
		7,58	7,31	9,06	6,83
		18,47	16,56	9,86	6,51
	Pöhla	56,17	135,60	72,62	61,39
		36,55	352,11	87,20	59,02
		197,24	186,13	59,64	67,05

\* Wasserprobe aus Pöhla wurde 20 Fach verdünnt gemessen

Tabelle 19: Arsenkonzentrationen (As gesamt, µg/l) gemessen mit ARSOLux

Stabilisierungsmethoden	Standorte	Datum			
		11.08.15	17.08.15	24.08.15	31.08.15
4°C	Hartenstein	15,13	13,79	10,18	9,91
		13,17	12,13	11,48	9,02
		16,59	15,01	10,87	9,56
	Pöhla	1849,86	577,21	361,26	207,21
		1682,65	868,59	431,61	196,04
		4556,21	1140,75	634,20	184,50
4°C, HNO <sub>3</sub>	Hartenstein	18,92	16,93	11,78	5,01
		13,98	12,82	9,95	5,38
		20,96	18,60	9,22	5,95
	Pöhla	1590,70	1418,13	2682,92	1795,95
		1381,59	6719,29	2317,52	2011,77
		1054,33	4951,25	2907,90	2634,35
4°C, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Hartenstein	14,34	13,12	7,84	6,48
		14,76	13,47	7,74	6,64
		18,36	16,47	7,53	6,59
	Pöhla	14402,78	2276,56	2552,95	2736,10
		2650,90	1442,00	2209,54	2683,64
		4548,55	3682,56	1834,56	3180,53
4°C, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Hartenstein	17,66	15,90	6,63	9,21
		16,67	15,07	7,06	9,54
		18,93	16,94	6,93	9,22
	Pöhla	4840,01	4142,06	1473,82	1892,47
		2150,36	3745,96	1637,06	2291,27
		3399,31	1651,25	1488,36	2125,62
4°C, HAc	Hartenstein	16,53	14,96	1,62	2,84
		13,88	12,74	1,62	3,28
		12,62	11,67	1,63	2,77
	Pöhla	4348,76	2709,08	1243,75	1275,32
		1054,91	3708,80	1647,04	1202,86
		2755,22	2625,80	1085,22	1456,43
-20°C	Hartenstein	8,27	7,91	9,29	6,23
		7,58	7,31	9,06	6,83
		18,47	16,56	9,86	6,51
	Pöhla	1123,42	2712,08	1452,48	1227,85
		731,10	7042,19	1743,93	1180,47
		3944,77	3722,57	1192,77	1341,10

Tabelle 20: Arsenitkonzentrationen (As(III), µg/l) gemessen mit HPLC-ICP-MS

Stabilisierungsmethoden	Standorte	Datum			
		11.08.15	17.08.15	24.08.15	31.08.15
4°C	Hartenstein	0,28	0,22	0,13	0,11
		0,30	0,21	0,22	0,08
		0,37	0,22	0,19	0,09
	Pöhla	42,06	18,60	14,27	2,95
		42,95	22,09	14,38	2,90
		43,18	22,13	14,33	2,94
4°C, HNO <sub>3</sub>	Hartenstein	0,30	0,30	0,31	0,28
		0,29	0,28	0,33	0,27
		0,27	0,28	0,31	0,26
	Pöhla	53,58	62,33	49,85	51,75
		52,25	62,29	51,08	52,66
		52,49	61,80	52,12	52,24
4°C, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Hartenstein	0,28	0,07	0,09	0,10
		0,28	0,02	0,11	0,08
		0,26	0,08	0,09	0,06
	Pöhla	64,84	77,77	64,51	65,73
		63,64	76,62	63,30	66,12
		61,98	75,95	62,59	66,36
4°C, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Hartenstein	0,05	0,02	0,11	0,18
		0,07	0,06	0,11	0,18
		0,01	0,05	0,14	0,15
	Pöhla	52,33	67,56	55,80	58,26
		56,22	67,58	56,89	58,97
		55,72	67,28	57,67	58,94
4°C, HAc	Hartenstein	0,26	0,27	0,28	0,27
		0,28	0,31	0,28	0,28
		0,26	0,31	0,29	0,29
	Pöhla	55,14	64,40	53,54	50,14
		55,20	62,60	55,06	51,33
		54,71	63,50	54,36	49,67
-20°C	Hartenstein	0,26	0,19	0,18	0,07
		0,31	0,20	0,17	0,07
		0,31	0,19	0,15	0,10
	Pöhla	50,23	56,86	49,23	45,74
		50,95	57,30	48,64	45,11
		51,57	58,29	49,12	46,73

\* Wasserprobe aus Pöhla wurde 20 Fach verdünnt gemessen

Tabelle 21: Arsenatkonzentrationen (As(V), µg/l) gemessen mit HPLC-ICP-MS

Stabilisierungsmethoden	Standorte	Datum			
		11.08.15	17.08.15	24.08.15	31.08.15
4°C	Hartenstein	8,54	29,56	18,15	12,16
		9,74	24,41	16,66	12,99
		10,41	22,27	15,89	12,83
	Pöhla	13,33	23,54	30,48	39,42
		10,47	25,48	34,30	43,94
		10,42	25,42	34,06	46,21
4°C, HNO <sub>3</sub>	Hartenstein	11,28	22,58	16,33	14,57
		11,94	20,99	15,76	14,57
		11,99	20,37	15,24	14,08
	Pöhla	4,67	6,46	8,63	9,81
		3,60	5,21	6,85	4,14
		3,46	5,14	6,13	3,32
4°C, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Hartenstein	15,49	23,40	17,75	16,51
		14,96	22,25	17,38	16,13
		15,21	21,59	17,44	15,82
	Pöhla	15,35	19,91	18,33	18,61
		18,03	21,51	19,12	19,09
		17,32	21,80	18,79	18,65
4°C, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Hartenstein	25,26	50,52	33,96	12,58
		20,08	35,79	26,71	12,87
		19,34	26,79	24,58	13,19
	Pöhla	54,24	41,30	38,86	16,05
		43,69	33,26	31,59	14,45
		40,89	31,14	29,53	14,07
4°C, HAc	Hartenstein	11,01	15,26	12,95	12,86
		11,06	15,61	12,75	12,96
		11,26	15,44	13,06	13,37
	Pöhla	4,77	5,56	3,64	5,21
		4,51	5,22	5,24	4,51
		5,19	5,48	4,86	4,53
-20°C	Hartenstein	10,77	15,30	12,33	27,85
		10,65	15,08	11,98	23,41
		10,85	15,03	12,30	22,51
	Pöhla	7,84	8,20	8,19	6,38
		8,33	8,24	7,95	5,73
		8,06	8,20	7,56	5,47

\* Wasserprobe aus Pöhla wurde 20 Fach verdünnt gemessen

Tabelle 22: Arsenkonzentrationen (As gesamt = As(III) + As(V), µg/l) gemessen mit HPLC-ICP-MS

Stabilisierungsmethoden	Standorte	Datum			
		11.08.15	17.08.15	24.08.15	31.08.15
4°C	Hartenstein	8,82	29,77	18,29	12,27
		10,04	24,63	16,88	13,07
		10,79	22,48	16,08	12,92
	Pöhla	1107,76	842,72	895,02	847,40
		1068,42	951,52	973,62	936,68
		1071,95	951,12	967,85	983,13
4°C, HNO <sub>3</sub>	Hartenstein	11,57	22,88	16,64	14,85
		12,23	21,26	16,10	14,84
		12,26	20,65	15,54	14,34
	Pöhla	1165,11	1375,70	1169,62	1231,29
		1117,12	1349,94	1158,60	1136,06
		1119,06	1338,86	1165,09	1111,20
4°C, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Hartenstein	15,77	23,47	17,84	16,61
		15,23	22,28	17,49	16,21
		15,46	21,66	17,53	15,88
	Pöhla	1603,90	1953,66	1656,73	1686,78
		1633,25	1962,62	1648,49	1704,17
		1585,98	1954,90	1627,61	1700,18
4°C, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Hartenstein	25,31	50,54	34,07	12,76
		20,14	35,85	26,81	13,04
		19,35	26,84	24,72	13,34
	Pöhla	2131,41	2177,31	1893,20	1486,19
		1998,09	2016,71	1769,62	1468,44
		1932,22	1968,47	1744,01	1460,32
4°C, HAc	Hartenstein	11,28	15,53	13,23	13,13
		11,34	15,92	13,04	13,24
		11,52	15,74	13,35	13,65
	Pöhla	1198,25	1399,21	1143,75	1107,02
		1194,16	1356,27	1205,97	1116,73
		1198,13	1379,62	1184,45	1084,00
-20°C	Hartenstein	11,03	15,49	12,51	27,92
		10,95	15,27	12,15	23,47
		11,17	15,23	12,45	22,61
	Pöhla	1161,41	1301,16	1148,37	1042,32
		1185,69	1310,73	1131,86	1016,79
		1192,60	1329,80	1133,61	1044,01

**Tabelle 23: Kalibrierung ARSOlux Biosensoren**

Konzentration [µg/l]	11.08.2015		17.08.2015		24.08.2015		31.08.2015	
	Signal [RLU]	MW	Signal [RLU]	MW	Signal [RLU]	MW	Signal [RLU]	MW
5	1353894	1213984,67	2178139	2107274,67	1645804	1691477,67	1542376	1565583,33
	1349957		2224192		1653615		1613725	
	938103		1919493		1775014		1540649	
20	1885890	1688043,33	2959132	3008069,33	2514971	2652848,33	2688846	2620917,33
	1607549		3157611		2638592		2764770	
	1570691		2907465		2804982		2409136	
50	2413574	2309916,33	4077138	3937954,33	4337786	3991955,67	4065972	4035870,00
	2305307		4134624		3786220		3796807	
	2210868		3602101		3851861		4244831	
100	2942432	2711738,67	4767691	4685021,33	4668002	4757823,00	4908608	4911967,00
	2233498		4472926		4705438		4827439	
	2959286		4814447		4900029		4999854	
150	3106893	2682006,33	4729367	4861902,00	5520238	5757143,33	4872293	4877004,67
	2059186		4906444		5441955		4704456	
	2879940		4949895		6309237		5054265	
200	3617307	3100468,00	4830831	4601937,00	5893073	5702143,67	4726123	5016561,67
	2242191		4272584		5315900		5244985	
	3441906		4702396		5897458		5078577	

**Tabelle 24: Kalibrierung Arsenitkonzentration mit HPLC-ICP-MS**

Konzentration [µg/l]	11.08.2015		17.08.2015		24.08.2015		31.08.2015	
	Peakfläche	MW	Peakfläche	MW	Peakfläche	MW	Peakfläche	MW
5	115627	111576,67	151034	150256,67	148725	148905,67	156768	157049,33
	113654		150188		148992		156413	
	105449		149548		149000		157967	
20	460116	455593,67	601574	601713,67	605939	602024,67	613832	613861
	441332		610110		602434		608024	
	465333		593457		597701		619727	
50	1144711	1162032	1482618	1450345,67	1479755	1477176	1507967	1526330,33
	1165572		1447683		1479507		1524044	
	1175813		1420736		1472266		1546980	
100	2420670	2438717,67	2865483	2935840,33	2963022	2925074	3015350	3030537
	2423701		2937219		2895073		3036749	
	2471782		3004819		2917127		3039512	
150	3732673	3760387	4539108	4539114,67	4333003	4300694	4515245	4570291,33
	3744792		4546324		4281602		4613358	
	3803696		4531912		4287477		4582271	
200	5055156	5040884,67	5935620	5883960,67	5836397	5894009	5938520	6064382,33
	5004094		5945879		6014074		6218171	
	5063404		5770383		5831556		6036456	

**Tabelle 25: Kalibrierung Arsenatkonzentration mit HPLC-ICP-MS**

Konzentration [µg/l]	11.08.2015		17.08.2015		24.08.2015		31.08.2015	
	Peakfläche	MW	Peakfläche	MW	Peakfläche	MW	Peakfläche	MW
5	122452	120139,33	80616	90029,67	78363	81053,67	44389	48282,33
	126147		93452		82655		49573	
	111819		96021		82143		50885	
20	244216	261897,67	248453	265398,33	258166	271978,67	259133	254917
	271680		272813		270501		226052	
	269797		274929		287269		279566	
50	595540	623921,00	646085	676043,67	859138	923626,00	709039	739366,67
	633334		685257		969715		745493	
	642889		696789		942025		763568	
100	1330757	1396238,00	1436065	1494079,67	1613405	1645043,67	1571934	1631085
	1451362		1490603		1610847		1611725	
	1406595		1555571		1710879		1709596	
150	2226995	2279654,33	2349861	2449704,00	2524418	2666509,00	2655722	2638756,33
	2258074		2472858		2681273		2666231	
	2353894		2526393		2793836		2594316	
200	3204723	3242862,33	3506412	3487019,67	3730975	3741840,00	3696236	3773157,67
	3161996		3470627		3829625		3753418	
	3361868		3484020		3664920		3869819	

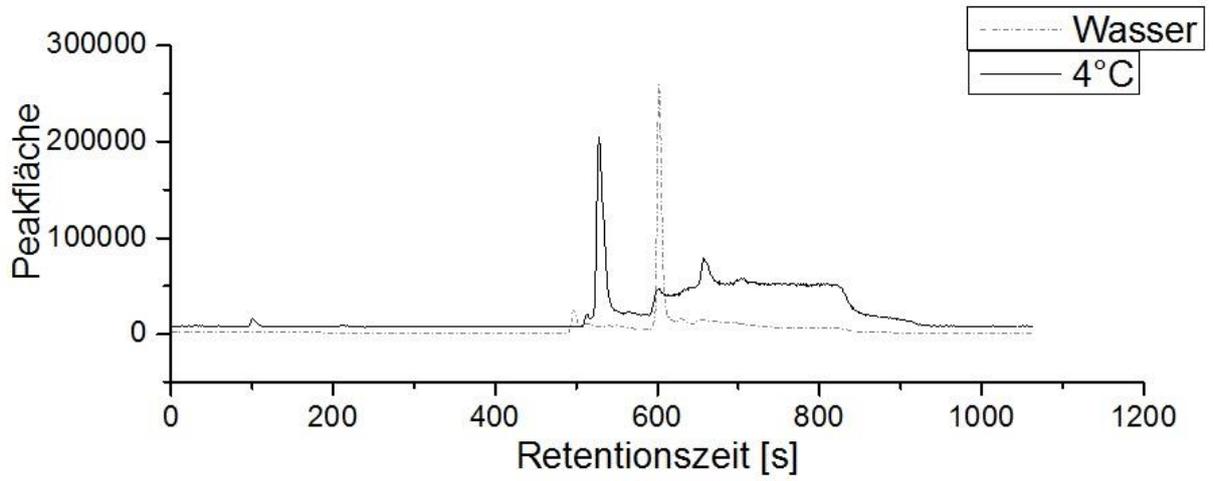


Abbildung 27: Chromatogramm Probe Hartenstein gemessen am 11.08.2015

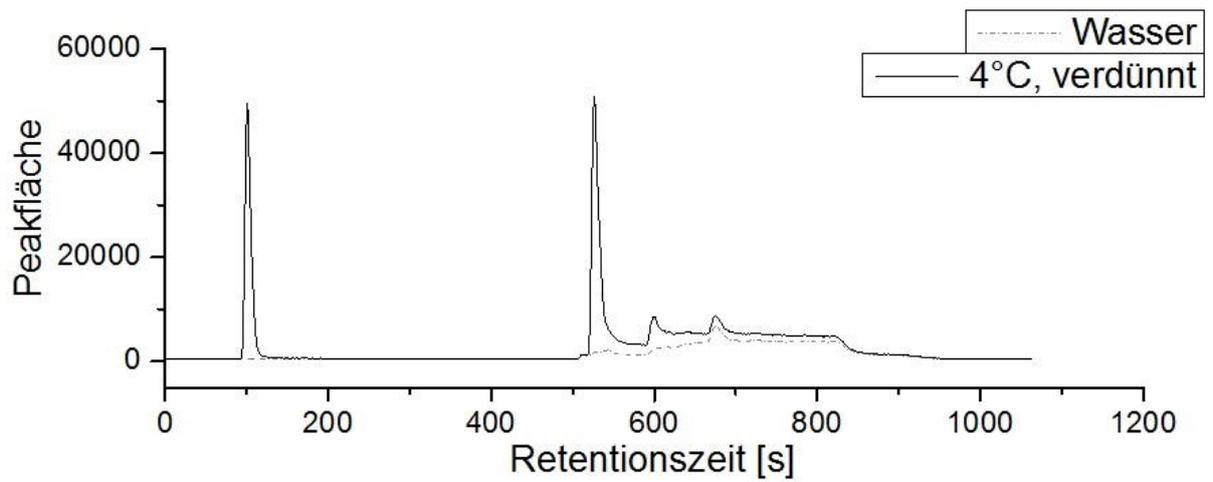


Abbildung 28: Chromatogramm Probe Pöhla gemessen am 24.08.2015



Abbildung 29: Standort der Probe aus Hartenstein (Messpunkt 555)

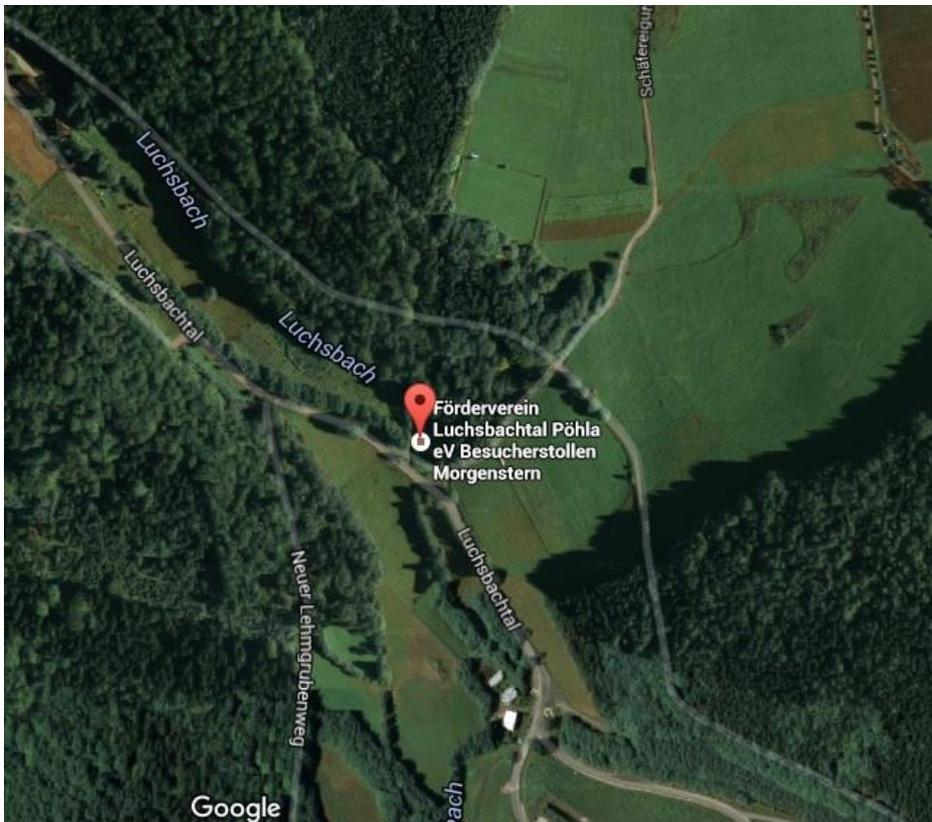


Abbildung 30: Standort der Probe aus Pöhla