



UNIVERSITY  
OF APPLIED SCIENCES  
UPPER AUSTRIA

**BACHELORSTUDIENGANG**

**Bio- und Umwelttechnik**

---

# **Methodenentwicklung zur Messung von VOC's der Fichte mittels Gaschromatographie**

**ALS BACHELORARBEIT EINGEREICHT**

**zur Erlangung des akademischen Grades**

**Bachelor of Science in Engineering (BSc)**

**von**

**Daniel Sorg**

**Juni 2023**

---

Betreuung der Arbeit durch

FH-Assistenzprof. DI. Dr. Christian Forsich

## **VORWORT/DANKSAGUNG**

An dieser Stelle möchte ich meine aufrichtige Dankbarkeit gegenüber FH-Assistenzprof. DI Dr. Christian Forsich zum Ausdruck bringen, der mir als Betreuer meiner Bachelorarbeit zur Seite gestanden hat. Die Mischung aus Zurückhaltung und gezielter Betreuung hat maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Ich bedanke mich bei FH-Prof.<sup>in</sup> Dipl.oec.troph Dr.<sup>in</sup> Claudia Probst und Georg Roman Schneider für die Chance an diesem Projekt mitzuwirken und für das Wissen, dass mir dadurch zuteilwurde.

Ein besonderer Dank gilt meiner Projektpartnerin und Kommilitonin Eva Huber, die mir mit Interesse und Hilfsbereitschaft zur Seite standen. Besonders schätze ich die die vielen anregenden Debatten und Ideen, ohne denen das Projekt nicht auf dem heutigen Stand wäre.

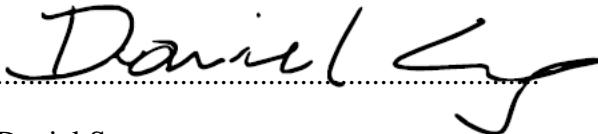
Außerdem möchte ich mich bei DI(FH) Klaus Krennhuber, für die inspirierenden Hilfestellungen und die Ausbildung am Gaschromatographen bedanken.

## EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre eidesstattlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die angegebenen Quellen nicht benutzt und die den benutzten Quellen entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Die Arbeit wurde bisher in gleicher oder ähnlicher Form keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und auch nicht veröffentlicht.

Die vorliegende Arbeit ist mit dem elektronisch übermittelten Textdokument identisch.



Daniel Sorg

Wels, Juni 2023

## KURZFASSUNG

Für die Forstwirtschaft in Nord- und Mitteleuropa entsteht durch den Borkenkäferbefall der gemeinen Fichte (*Picea abies*) jährlich ein beträchtlicher Schaden. Die steigenden Temperaturen, als Folge des Klimawandels begünstigen die Entwicklungsdauer und die Generationenfolge des Buchdruckers (*Ips typographus*), der für einen Großteil der Schäden in den heimischen Nutzwäldern verantwortlich ist. Gleichzeitig werden die Fichten durch die steigenden Temperaturen gestresst und sind dadurch anfälliger für Befall. Um einen Borkenkäferbefall im Wald frühzeitig entgegenzusteuern, soll eine Digitale Nase mit künstlicher Intelligenz (KI) die VOCs (Volatile Organic Compounds) erkennen, die einen Befall signalisieren. Durch Sensoren sollen die unterschiedlichen Konzentrationen der VOCs in der Luft von gesunden, gestressten und befallenen Fichten detektiert werden. Für eine zuverlässige Erkennung findet in kontrollierter Umgebung eine simultane Messung mit den Sensoren und der Adsorption mit anschließender Analyse mittels Gaschromatographie statt. In dieser Arbeit liegt der Fokus auf der Methodenentwicklung zur Identifizierung der charakteristischen VOCs von gesunden, gestressten oder befallenen Fichten. Um diese zu identifizieren, werden die VOCs auf ein Adsorberröhrchen geleitet und das beladene Adsorbens danach desorbiert. Die beiden Desorptionsmethoden Festphasenextraktion und thermische Desorption werden verglichen. Die geeignetste Methode soll anhand der GC-Ergebnisse und der Verfügbarkeit des Adsorbens gewählt werden. Bei der Festphasenextraktion werden für Aktivkohle und Tenax TA verschiedene Lösungsmittel betrachtet und durch den Vergleich der Peakflächen des GC-Ergebnisses ausgewählt. Damit bei der Probenahme die Umgebungsbedingungen möglichst gleich bzw. kontrollierbar bleiben, wird ein stationärer Laboraufbau entwickelt. Für die stationäre Probenahme werden die Pull-Methode und die Push/Pull-Methode evaluiert. Bei der Pull-Methode wird die Luft aus der abgeschlossenen Einhausung abgesaugt. Bei der Push/Pull-Methode wird zusätzlich noch Luft mit einer Pumpe eingebracht. Von den verfügbaren Methoden erzielte die Probenahme mit der Push/Pull-Methode mit der Adsorption auf ein ORBO32 Aktivkohleröhrchen und anschließender Festphasenextraktion mit Petrolether 40-60 die größten Peakflächen. Dabei sind keine Hilfsmittel während der Probenahme notwendig, und die Umgebungsbedingungen im Laboraufbau sind durch die Spülluft konstanter.

## **ABSTRACT**

The bark beetle infestation of the European spruce (*Picea abies*) causes considerable damage to forestry in Northern and Central Europe every year. Rising temperatures, as a result of climate change, favour the development period and generation sequence of the bark beetle (*Ips typographus*), which is responsible for a significant part of the damage in commercial timberland. Simultaneously, spruce trees are stressed by rising temperatures and are thus more susceptible to infestation. To monitor a bark beetle infestation in the forest, a digital nose with artificial intelligence (AI) is being developed to detect the VOCs (Volatile Organic Compounds) that signal an infestation. Sensors will detect the different concentrations of volatiles in the air of healthy, stressed, and infested spruce trees. For a reliable detection, a simultaneous measurement with the sensors and the adsorption with subsequent analysis by gas chromatography takes place in a controlled environment. In this work, the focus is on method development to identify the characteristic VOCs from healthy, stressed, or infested spruce trees. In order to establish comparative values and a reference system for the sensors, the VOCs are directed onto an adsorber tube and the VOCs are then desorbed. The desorption methods solid phase extraction and thermal desorption are compared. The most suitable method is to be selected based on the GC results and availability of the sorbent. For solid phase extraction, different solvents are considered for activated carbon and Tenax TA and selected by comparing the peak areas of the GC result. A stationary sampling system is developed so that the environmental conditions remain as constant or controllable as possible during sampling. For stationary sampling, the pull method and the push/pull method are evaluated. With the pull method, the air is vacuumed out of the sealed enclosure and with the push/pull method, air is additionally introduced with a pump. Of the available methods, sampling with the push/pull method with adsorption onto an ORBO32 activated charcoal tube and subsequent solid phase extraction with petroleum ether 40-60 achieved the largest peak areas. No aids are necessary during sampling and the ambient conditions in the laboratory set-up are more constant due to the purge air.

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>Vorwort/Danksagung.....</b>	<b>II</b>
<b>Kurzfassung.....</b>	<b>IV</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>V</b>
<b>1 Einleitung.....</b>	<b>1</b>
1.1    VOCs von Fichten .....	2
1.2    Desorptionsmethode .....	3
1.3    Probenahme .....	4
1.4    Materialen.....	5
<b>2 Material und Methoden .....</b>	<b>6</b>
2.1    Vorversuche Festphasenextraktion.....	6
2.2    Desorptionsmethode .....	7
2.3    Einengen mit Stickstoff .....	8
2.4    Probenahme .....	8
<b>3 Ergebnisse und Diskussion .....</b>	<b>13</b>
3.1    Charakteristische VOCs .....	13
3.2    Vorversuche Festphasenextraktion.....	14
3.3    Desorptionsmethode .....	18
3.4    Einengen mit Stickstoff .....	20
3.5    Probenahme .....	22
<b>4 Zusammenfassung .....</b>	<b>26</b>
<b>5 Literaturverzeichnis .....</b>	<b>28</b>
<b>6 Anhang.....</b>	<b>30</b>

# 1 EINLEITUNG

Die Forstwirtschaft in Nord- und Mitteleuropa leidet jedes Jahr erheblich unter dem Befall des Borkenkäfers, welcher die gemeine Fichte (*Picea abies*) befällt und dadurch große Schäden verursacht. Neben Windschäden und Waldbränden zählt der Borkenkäfer zur größten Bedrohung für die europäischen Fichtenwäldern. Im Zeitraum von 1958 bis 2001 war der Borkenkäfer durchschnittlich für Schäden im Ausmaß von  $2,88 \cdot 10^6 \text{ m}^3$  Holz pro Jahr in Europa verantwortlich. Im selben Zeitraum sind die Schäden durch den Borkenkäfer durchschnittlich um 5,31 % pro Jahr gestiegen [24]. Die steigende Oberflächentemperatur von durchschnittlich 0,13 °C pro Jahr begünstigt dabei die Entwicklungs- und Generationszeit des Buchdruckers (*Ips Typographus*), der für den Großteil der Schäden verantwortlich ist [25]. Die Entwicklungsdauer des Buchdruckers beträgt in Abhängigkeit von der Temperatur 6 bis 22 Wochen. Durch die steigenden Temperaturen in allen Höhenlagen verlängert sich einerseits das Zeitfenster, in dem sich die Käfer entwickeln können. Andererseits läuft der Generationszyklus auch in höheren Lagen schneller ab, wodurch im Laufe des Jahres mehr Buchdrucker entstehen können. In tieferen Lagen bildet der Borkenkäfer zwei Generationen aus, während in höheren Lagen nur eine Generation entsteht [29]. Zusätzlich zu dem erhöhtem Borkenkäferaufkommen werden die Fichten durch die steigenden Temperaturen und die längeren Trockenphasen physiologisch gestresst [5].

Neben Vorbeugung und Bekämpfung ist Monitoring ein wichtiges Werkzeug. Dabei wird österreichweit der Flugverlauf anhand des Fangergebnisses von Borkenkäferfallen festgestellt und mit Klimadaten verglichen [5]. Das Projekt DigiWald hat das Ziel eine mobile, digitale Nase mitsamt künstlicher Intelligenz für den lokalen Einsatz zu entwickeln. Im Wald sollen geschwächte oder befallene Fichten mit einer Kamera und Sensoren detektiert werden. Pflanzen können über Signalstoffe, sogenannte VOCs (Volatile Organic Compounds), ihren Nachbarpflanzen lauschen. Bei Stress oder Beschädigung der Pflanze stößt eine Pflanze bestimmte VOCs aus, die von ihren Nachbarn wargenommen werden können. Die lauschende Pflanze kann sich dadurch mit verschiedenen Maßnahmen, wie z.B. schnelleres Wachstum oder abwehrende Duftstoffe, auf die Gefahr vorbereiten [15]. Diese VOCs sollen mit Sensoren gemessen und von der KI interpretiert werden. Für eine zuverlässige Erkennung und Interpretation der VOCs

mit den Sensoren sollen charakteristische Zusammensetzungen von VOCs in der Gasphase von gesunden, gestressten oder befallenen Fichten ermittelt werden. In dieser Arbeit werden unterschiedliche, zur Verfügung stehende Desorptionsmethoden zur Messung von VOCs an Fichten angepasst. Die Probenahme soll so gestaltet werden, dass die Umgebungsbedingungen möglichst konstant bleiben. Ziel ist es, eine reproduzierbare Messmethode mittels Adsorption zu entwickeln, um Unterschiede bei den charakteristischen VOCs der Fichte festzustellen.

### 1.1 VOCs VON FICHTEN

Neben Alkoholen, Aldehyden, Ketonen und Aromaten stoßen Pflanzen sogenannte flüchtige Terpene aus (siehe Tabelle 1). Flüchtige Terpene locken Bestäuber an, vertreiben Fressfeinde und dienen als Signalstoffe bzw. Wachstumsregulatoren [4]. Terpene werden aus einem oder mehreren C<sub>5</sub>-Bausteinen Isopentenylpyrophosphat biosynthetisch hergestellt. Der einfachste Fall ist eine C<sub>5</sub>-Einheit (z.B. Isopren), es können auch tausende C<sub>5</sub>-Bausteine zu einem Polyisopren (z.B. Kautschuk) synthetisiert werden. Durch die Anzahl der synthetisierten C<sub>5</sub>-Einheiten lassen sich die Terpene systematisch einteilen. Substanzen mit einer C<sub>5</sub>-Einheit, zu denen auch Isopren gehört, werden Hemiterpene genannt. Monoterpene bestehen aus zwei C<sub>5</sub>-Einheiten und Sesquiterpene aus drei C<sub>5</sub>-Einheiten [4], [28]. Nur Terpene die 15 Kohlenstoffatome oder weniger besitzen, sind durch ihre geringe Größe und ihrer unpolaren Eigenschaft flüchtig [17]. Die Fichte kann VOCs über die Nadeln und die Rinde abgeben. Lt. Czajka et. al wurden bei der Analyse vom Kern- und Splintholz der Fichte die Stoffe in Tabelle 1 identifiziert [6].

*Tabelle 1: Emittierte VOCs von Fichtenholz [6].*

Trivialnamen der VOCs	Stoffgruppe	Trivialnamen der VOCs	Stoffgruppe
Hexanal	Aldehyde	Benzaldehyd	Aldehyde
Xylole	Aromaten	D-Limonen	Monoterpene
$\alpha$ -Pinen	Monoterpene	Octanal	Aldehyde
$\beta$ -Pinen	Monoterpene	2-Ethylhexanol	Alkohol
Camphen	Monoterpene	n-Undecane	Alkane

Trivialnamen der VOCs	Stoffgruppe	Trivialnamen der VOCs	Stoffgruppe
1-Decan	Alkane	Acetophenon	Ketone
3-Caren	Monoterpene	Nonanal	Aldehyde

Über die Nadeln stößt die Fichte sogenannte Green Leaf Volatiles (GLV) aus. Diese GLV's sind lt. Fischbach in Tabelle 2 aufgelistet [9].

*Tabelle 2: Emittierte VOCs von Fichtennadeln [9].*

Trivialnamen der VOCs	Stoffgruppe	Trivialnamen der VOCs	Stoffgruppe
$\alpha$ -Pinen	Monoterpene	Camphen	Monoterpene
$\beta$ -Pinen	Monoterpene	D-Limonen	Monoterpene

## 1.2 DESORPTIONSMETHODEN

Bei der Probenahme wird die Luft aus dem abgeschlossenen Laboraufbau mit einer Vakuummembranpumpe über ein Adsorbens gesaugt. Die VOCs aus der Einhausung lagern sich durch physikalische Bindung am Adsorbens an [23]. Es stehen die Möglichkeiten Festphasenextraktion, Festphasenmikroextraktion oder thermische Desorption zur Desorption der VOCs vom Adsorbens zur Verfügung.

Die geringe Reichweite der Kräfte ermöglicht bei der Festphasenextraktion ein leichteres Desorbieren mit einem Lösungsmittel [23]. Das Lösungsmittel mit den gelösten VOCs wird in ein Probenfläschchen mit Alukappe und Septum, dem sogenannten GC-Vial, überführt und mit der GC-MS (Gaschromatograph mit Massenspektrometer) gemessen [21]. Als Adsorbentien eignen sich Aktivkohle und Tenax TA [3]. Die Lösungsmittel n-Hexan [21], Ethylacetat [12], Dichlormethan [12] und Petrolether [22] haben sich in der Literatur als wirksam erwiesen. Durch Einengen bzw. Abdampfen des Lösungsmittels im Spitzkolben mit Stickstoff ist es möglich die Konzentration zu erhöhen [14] [21].

Eine weitere Möglichkeit besteht in der thermischen Desorption der VOCs. Das beladene Adsorbens wird in ein Probenfläschchen mit Schraubkappe, das sogenannte Headspace Vial, für die GC überführt. Das Headspace Vial wird im Probengeber der GC, dem

Autosampler, auf höhere Temperatur gebracht, damit sich durch das geänderte Gas-Flüssigkeits-Gleichgewicht eine höhere Konzentration von VOCs im Gasraum, dem sogenannten Headspace, des Vials ansammelt. Das Gas wird mit einem Injektor abgesaugt und in die GC überführt [1]. Anhand der Peakflächen der GC-Ergebnisse wird die Methode ausgewählt.

Die Festphasenmikroextraktion ähnelt vom Ablauf der thermischen Desorption. Das beladene Adsorbens wird wieder in ein Probenfläschchen mit Schraubkappe überführt. Das Probenfläschchen wird auf höhere Temperatur gebracht und danach ein Injektor mit einer Faser aus Adsorbentmaterial in den Gasraum eingeführt. An der Faser werden die VOCs über einige Minuten bis zu einer halben Stunde adsorbiert und dann in der GC thermisch desorbiert. Der Vorteil liegt darin, dass polare Stoffe wie Wasser nicht mit der Faser aufgenommen werden können und somit die GC-Säule geschont wird. Es können auch verunreinigte Proben direkt in das Probenfläschchen überführt und analysiert werden [27].

Eine Online-Messung der emittierten VOCs von Fichten ist mit dem PTR-MS proton-transfer-reaction mass spectrometer möglich. Es ist nicht direkt eine Desorptionsmethode, zählt aber zu den Analysemethoden für VOCs von Pflanzen. Dabei werden in der Ionenquelle des Geräts  $\text{H}_3\text{O}^+$ -Ionen erzeugt, die mit den eingesaugten VOCs reagieren. Der Verbrauch an Ionen oder die Menge an entstandenem Produkt wird gemessen. Der große Nachteil besteht darin, dass nur zwischen Atommassen unterschieden werden kann. Die unterschiedlichen Monoterpene der Fichte können damit nicht unterschieden werden [13].

### **1.3 PROBENAHMEN**

Der Probenahmeaufbau ermöglicht unter messbaren Bedingungen das gezielte Absaugen der VOCs, die von der Fichte ausgestoßen werden. Durch geeignete Messgeräte können die Temperatur, der Kohlenstoffdioxidgehalt und die Feuchtigkeit im Inneren gemessen werden. Beim Laboraufbau wird die Pull-Methode, bei der Luft angesaugt wird, mit der Push/Pull-Methode verglichen. Bei der Push/Pull-Methode wird mit einer zweiten Membranpumpe Luft durch den Aktivkohlefilter in die Einhausung gespült [27].

Die Spülluft bei der Push/Pull-Methode sorgt dabei für eine konstante Atmosphäre in der Einhausung, da der Ausstoß von VOCs von Pflanzen abhängig von Temperatur [13] und Kohlenstoffdioxidgehalt [2] ist. Temperatur und Kohlenstoffdioxidkonzentration sollen durch die Spülluft konstant gehalten werden. Die Zeit bis sich ein Gleichgewicht in der abgeschlossenen Einhausung einstellt ist dann abhängig vom Volumenstrom der Spülluft und dem Volumen der Einhausung [20].

#### **1.4 MATERIALEN**

Bei dem Aufbau wird besonders darauf geachtet, dass erstens keine chemische Verunreinigung durch die Materialien entstehen. Wichtig ist auch, dass die Materialien nicht mit den gesuchten VOCs reagieren. Als Material für die Schläuche und Dichtbänder wurde Polytetrafluorethylen (PTFE) gewählt [19] [21]. Wegen der starken Bindung zwischen den Kohlenstoffatomen und den Fluoratomen ist PTFE nicht reaktionsfreudig und unlöslich in den meisten organischen Lösungsmitteln bei Raumtemperatur. Durch die niedrige Oberflächenspannung haften nahezu keine Materialien auf Polytetrafluorethylen [7]. Zur Abdeckung von Einbauteilen aus weniger inertem Material, wie z.B. der Dichtmatte am Boden, sowie zum Abdichten bei der mobilen Probenahme wird ein Bratenschlauch aus PET-Folie verwendet. Laut Steward-Jones hat Bratenschlauch aus PET-Folie, der bei 120 °C für 2 Stunden im Trockenschrank desorbiert wurde, ein ähnlich inertes Verhalten wie Glas [26].

## 2 MATERIAL UND METHODEN

Für die Messungen wurden Fichten im Alter von 7 bis 10 Jahren an die Laborumgebung mit einem Tag-Nacht-Rhythmus von 12:12 Stunden gewöhnt. Die Fichten wurden in den ersten beiden Wochen wöchentlich zweimal mit 300 mL Wasser gegossen. Danach wurde die Wasserzufuhr auf dreimal 500 mL pro Woche erhöht. Um für optimale Lichtverhältnisse zu sorgen, wurde mit dem PAR-Messgerät (CaTEC Type 060501, PAR-Sonde LI-COR Quantum Q49404) im Fichtenwald auf Höhe der 7 bis 10 Jahre alten Fichten durchschnittliche Lichtmenge von  $27 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gemessen. Diese Lichtstärke wurde im Labor mit den Tageslichtlampen (SYLVANIA, LUXLINE PLUS, F18W, 865) eingestellt. Nach einer Dauer von 2 Wochen Eingewöhnungsphase wurde mit den Messungen begonnen.

### 2.1 VORVERSUCHE FESTPHASENEXTRAKTION

Um ein passendes Lösungsmittel für die Festphasenextraktion zu finden, wurde eine Fichte mit einer Größe von 300 mm (ohne Topf) in desorbierte PET-Bratenfolie gepackt. Unten am Stamm wurde ein Schlauch mit Aktivkohlefilter für sauberer Zuluft miteingepackt. Über einen Schlauch am oberen Ende wurde mit einer Vakuummembranpumpe die beladene Luft über das Adsorbens gesaugt. Nach 15-minütiger Wartezeit für die Einstellung des Gleichgewichts wurde 40 min mit einem Volumenstrom von  $2 \text{ L min}^{-1}$  abgesaugt. Der Vorgang wurde dreimal mit den Aktivkohleröhrchen ORBO32 (Supelco, Mesh 20-40, 150 mg) durchgeführt sowie viermal mit Tenax TA (Supelco, Mesh 60-80). Dazu wurden vier 1 mL Spritzen (Braun Omifix-F Luer Solo, 0,01 mL – 1 mL) mit jeweils ungefähr 150 mg Tenax TA und Glaswolle als Filterfritte befüllt. Je ein Aktivkohleröhrchen wurde mit 1,5 mL n-Hexan (Merck, for GC ECD u. FID), Ethylacetat (Sigma-Aldrich, HPLC Plus, 99,9 %) oder Petrolether 40-60 (ChemLab, a.r.) in 100  $\mu\text{L}$  Schritten in ein 1,5 mL Mikroreaktionsgefäß eluiert. Die Lösung mit Ethylacetat wurde mit Natriumsulfat (Roth,  $\geq 99 \%$ , p.a.) getrocknet, in der Zentrifuge (Hettich Mikro 185) bei 14000 rpm 2 min zentrifugiert, damit der klare Überstand in ein GC-Vial überführt werden kann. Je eine Spritze mit Tenax TA wurde mit 1,5 mL Hexan, Dichlormethan (VWR Chemicals,  $\geq 99 \%$ ), Ethylacetat oder Petrolether in 100  $\mu\text{L}$  Schritten in ein 1,5 mL Mikroreaktionsgefäß eluiert. Vom Mikroreaktionsgefäß wurden 0,5 mL in ein GC-Vial überführt. 1  $\mu\text{L}$  wurde

aus dem GC-Vial entnommen und bei einer Temperatur von 200 °C im PTV Splitless Mode in den Gaschromatographen (Shimadzu GC 2010 Plus) mit dem Autosampler (Thermo Scientific, TriPlus RSH) injiziert. Der Temperaturgradient der Säule (Agilent DB 5 MS 30 m \* 0,25mm \* 0,25 µm) startete bei 40 °C und wurde für 5 min gehalten. Dann wurde auf 60 °C mit 2 °C min<sup>-1</sup> erwärmt. Danach bis 130 °C mit einem Gradienten von 10 °C min<sup>-1</sup> erwärmt, ein weiteres Mal bis 240 °C mit 7,3 °C min<sup>-1</sup> und für 5 min gehalten. Die Probe wurde bei 3 mL min<sup>-1</sup> Septum Purge mit einem konstantem Volumenstrom von 1,51 mL min<sup>-1</sup> mit Helium (He 5.0) durch die Säule gedrückt. In der Transferline zum Massenspektrometer (Shimadzu, GCMS-QP2020) war eine Temperatur von 200 °C eingestellt. Die Ionenquelle arbeitete bei einer Temperatur von 240 °C und die Detektion im Scan-Mode zwischen 41 m/z und 500 m/z.

### 2.2 DESORPTIONSMETHODEN

Als Vergleich zwischen thermischer Desorption und Festphasenextraktion wurde dieselbe Fichte wie in Kapitel 2.1 vorbereitet. Über einen Schlauch am oberen Ende wurde mit einer Vakuummembranpumpe die beladene Luft über das Adsorbens gesaugt. Nach 15-minütiger Wartezeit für die Einstellung des Gleichgewichts, wurde 40 min mit einem Volumenstrom von 2 L min<sup>-1</sup> abgesaugt. Für die Adsorption wurde je Methode dreimal (n = 3) Luft über das Aktivkohleröhrchen ORBO32 gesaugt. Zum Vergleich wurde dreimal je Methode (n = 3) Luft über eine 1 mL Spritze befüllt mit 150 mg Tenax TA vorbereitet wie in Kap. 2.1 gesaugt. Für das Headspace Sampling wurde das Adsorbens in ein Headspace Vial überführt. Das Headspace Vial wurde mit dem Autosampler im Agitator bei 140 °C für 10 min inkubiert. Mit einer Nadeltemperatur von 140 °C wurden 500 µL entnommen und mit einer Verzögerung von 5 Sekunden bei einer Temperatur von 200 °C im PTV Splitless Mode in den Gaschromatographen injiziert. Der Temperaturgradient der Säule startete bei 40 °C und wurde für 5 min gehalten. Dann wurde auf 130 °C mit 15 °C min<sup>-1</sup> erwärmt. Danach bis 230 °C mit einem Gradienten von 6,6 °C min<sup>-1</sup> erwärmt und für 5 min gehalten. Die Probe wurde bei 3 mL min<sup>-1</sup> Septum Purge mit einem konstantem Volumenstrom von 1,51 mL min<sup>-1</sup> mit Helium (He 5.0) durch die Säule gedrückt. In der Transferline zum Massenspektrometer war eine Temperatur von 200 °C eingestellt. Die Ionenquelle arbeitete bei einer Temperatur von 240 °C und die Detektion im Scan-Mode zwischen 41 m/z und 400 m/z.

### 2.3 EINENGEN MIT STICKSTOFF

Das Abdampfen bzw. Einengen des Lösungsmittels dient der Erhöhung der Konzentration der VOCs nach dem Eluieren. Um einen möglichen Verlust festzustellen, wurde eine Standardlösung mit 500  $\mu\text{L}$   $\alpha$ -Pinen, und jeweils 250  $\mu\text{L}$  3-Caren bzw. D-Limonen in einen 10 mL Messkolben in Petrolether gelöst. Die Lösung wurde in mehreren Schritten 1:10000 in einem 50 mL Messkolben verdünnt. Von der Verdünnung wurden 1,5 mL in einen 10 mL Spitzkolben überführt und der Petrolether jeweils dreimal ( $n = 3$ ) mit einem Volumenstrom von 0,5  $\text{L min}^{-1}$ , 1,0  $\text{L min}^{-1}$  und 1,5  $\text{L min}^{-1}$  Stickstoff auf das Volumen von 0,5 mL eingengt. Der Standard und die insgesamt neun eingengten Volumina wurden in ein GC-Vial überführt und 200  $\mu\text{L}$  Internen Standard  $\gamma$ -Terpinen (Fluka, purum,  $\geq 97\%$ , (GC)) mit einer Konzentration von  $1,7 \cdot 10^{-6} \text{ g mL}^{-1}$  zugesetzt. Das Programm des Gaschromatographen wurde so eingestellt, dass 1  $\mu\text{L}$  aus dem GC-Vial entnommen wurde und bei einer Temperatur von 200  $^{\circ}\text{C}$  im PTV Splitless Mode injiziert wurde. Der Temperaturgradient der Säule startete bei 40  $^{\circ}\text{C}$ . Danach bis 130  $^{\circ}\text{C}$  mit einem Gradienten von 15  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  erwärmt, ein weiteres Mal bis 240  $^{\circ}\text{C}$  mit 7,3  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  und für 5 min gehalten. Die Probe wurde bei 3  $\text{mL min}^{-1}$  Septum Purge mit einem konstanten Volumenstrom von 1,51  $\text{mL min}^{-1}$  mit Helium (He 5.0) durch die Säule gedrückt. In der Transferline zum Massenspektrometer war eine Temperatur von 200  $^{\circ}\text{C}$  eingestellt. Die Ionenquelle arbeitete bei einer Temperatur von 240  $^{\circ}\text{C}$  und die Detektion im Scan-Mode zwischen 41  $m/z$  und 300  $m/z$ .

### 2.4 PROBENAHMME

Wie in Abb. 1 dargestellt, besteht der stationäre Aufbau für die Pull-Methode aus einem Aktivkohlefilter, über den Luft in die abgeschlossene Einhausung gezogen wird. Von der aus Acrylglas gefertigten Einhausung werden die Luft und die VOCs der Fichte mithilfe einer Vakuummembranpumpe (VWR, Type, PM20405-86.18) über ein Adsorbens abgesaugt (siehe Abb. 3). Mit dem Durchflussmesser (Flow Indicator, FI) und dem Ventil kann der Volumenstrom der Luft reguliert werden. Die Aktivkohlefilter wurden nach Sattler für eine Leerrohrgeschwindigkeit zwischen 0,05  $\text{m/s}$  und 4  $\text{m/s}$  ausgelegt. Dabei sollte die Kontaktzeit der Gasphase mit dem Adsorberbett zwischen 0,1 Sekunden und 4 Sekunden liegen [23]. Der Aktivkohlefilter besteht aus einem Rohr mit 17 mm Innendurchmesser, 450 mm Länge und ist mit Aktivkohle (DARCO, Mesh 4-12) gefüllt.

Die Aktivkohle wurde vor dem Befüllen bei 400 °C im Muffelofen (Carbolite) für zwei Stunden desorbiert. Die Schläuche bestehen aus Polytetrafluorethylen und haben einen Innendurchmesser von 6 mm. An der oberen Seite befinden sich drei symmetrisch angeordnete Löcher mit jeweils 20 mm Durchmesser für Zuluft, Abluft und die Zuführung für Messgeräte [19] [20].

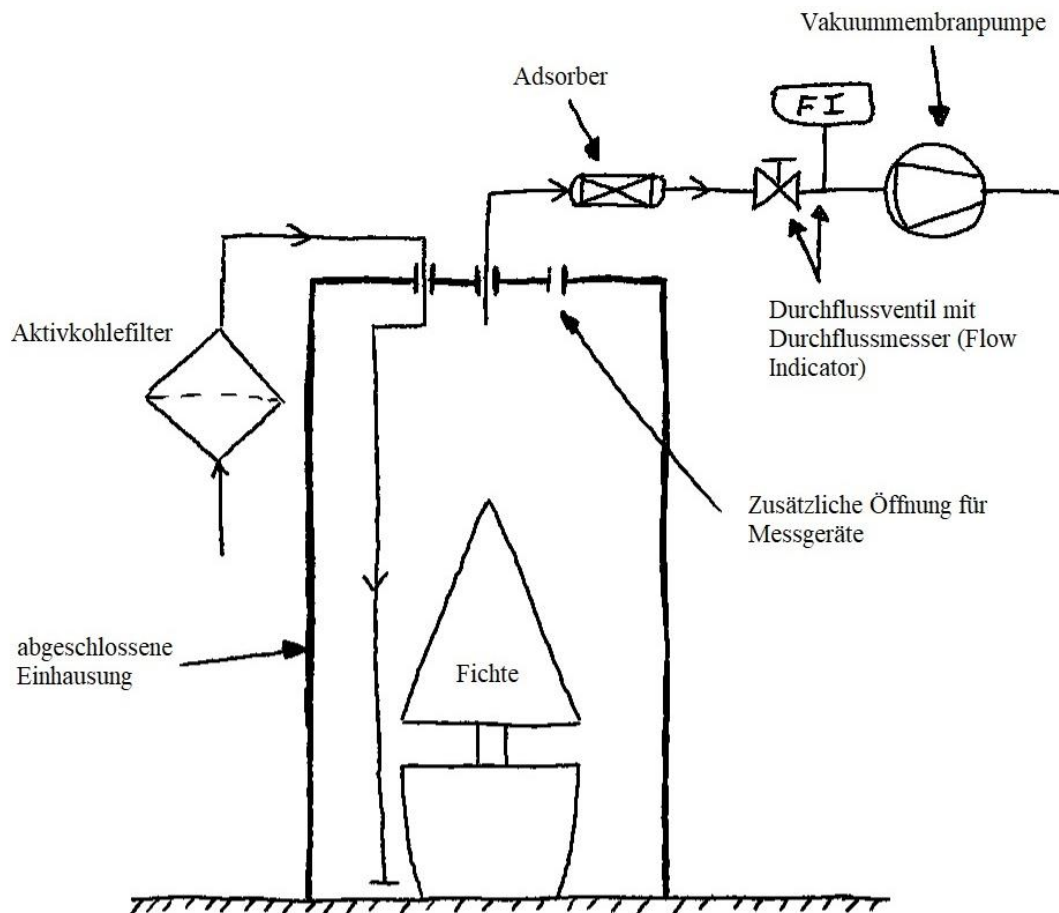


Abb. 1: Schematischer Aufbau der stationären Probenahme mit der Pull-Methode

Wie in Abb. 2 ersichtlich, wurde bei der Push/Pull-Methode eine zweite Vakuummembranpumpe desselben Typs für den Zuluftvolumenstrom installiert.

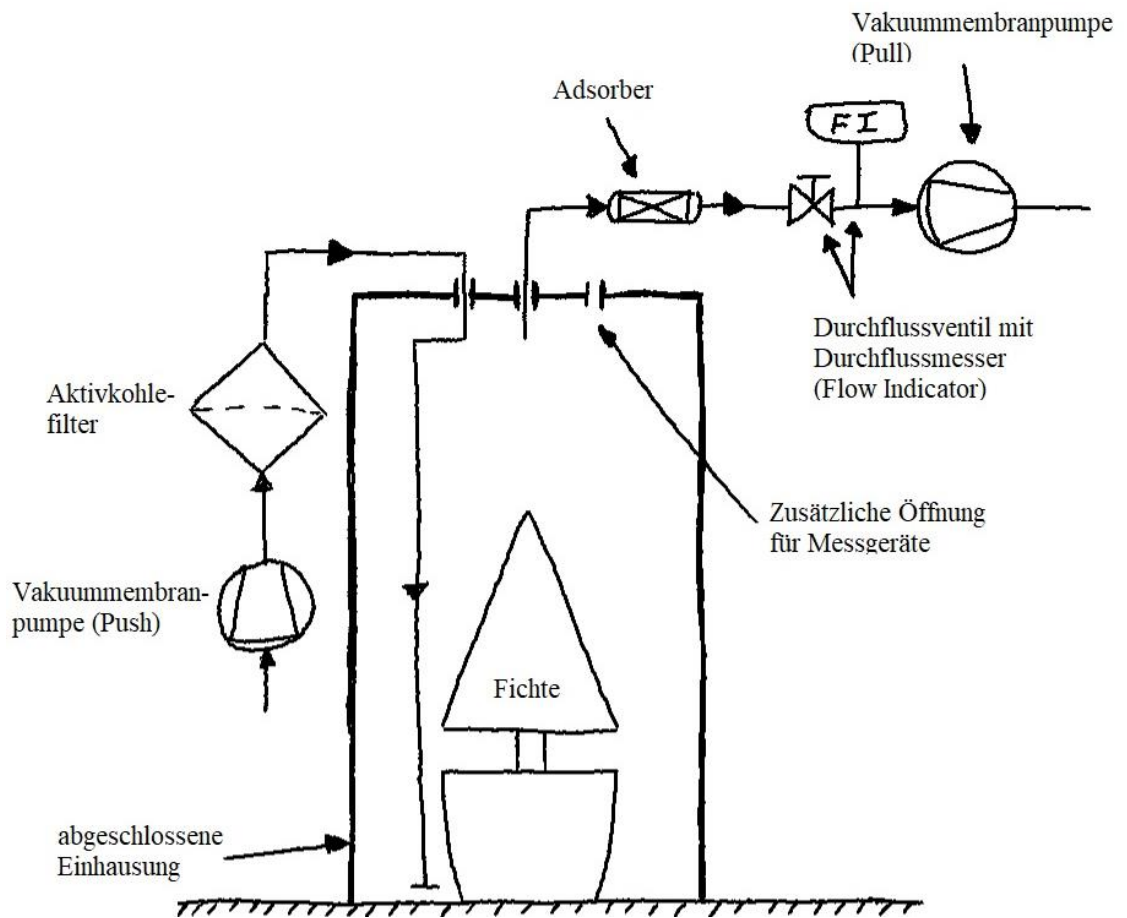


Abb. 2: Schematischer Aufbau für die stationäre Probenahme mit der Push/Pull-Methode

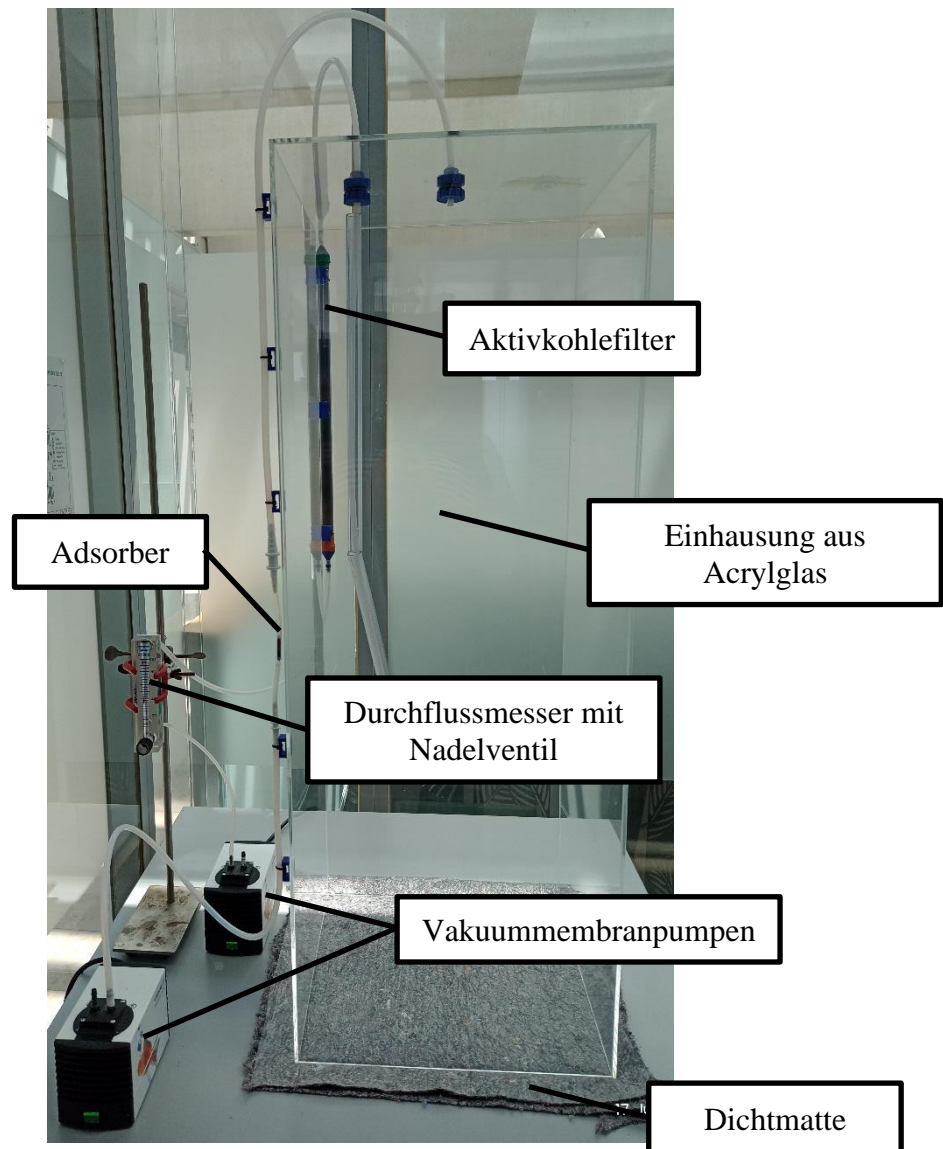


Abb. 3: Foto des Laboraufbaus ohne Fichte

Damit ein Unterschied zwischen der Push-Methode und der Push/Pull-Methode festgestellt werden kann, wurden zuerst Temperatur und Kohlenstoffdioxidkonzentration in der abgedichteten Einhausung bei zwei Bäumen mit dem Messgerät (TFA Dostmann, CO<sub>2</sub> Monitor) im Abstand von 5 Minuten in einem Zeitraum von 15 Minuten gemessen.

Der Topf einer Fichte wurde in PET-Bratenfolie gepackt und in der abgedichteten Einhausung platziert. Bei der Pull-Methode wurde der Topf zusätzlich auf einem 40 cm hohen Kübel mit 30 cm Durchmesser platziert, damit die VOCs besser abgesaugt werden konnten. Die Fichte wurde dreimal ( $n = 3$ ) mit der Pull-Methode gemessen. Nach 15-

minütiger Wartezeit für die Einstellung des Gleichgewichts wurde für 40 Minuten mit einem Volumenstrom von  $6 \text{ L min}^{-1}$  über ein Aktivkohleröhrchen ORBO32 abgesaugt. Für die Push/Pull-Methode wurde dieselbe Fichte mit verpacktem Topf in der abgeschlossenen Einhausung ohne Kübel platziert. Die Messung wurde ebenfalls dreimal durchgeführt ( $n = 3$ ). Bei der 15-minütigen Einstellung des Gleichgewichts drückte eine Vakuummembranpumpe Luft mit einem Volumenstrom von  $6 \text{ L min}^{-1}$  durch den Aktivkohlefilter in die Einhausung. Danach wurde für 40 min mit  $6 \text{ L min}^{-1}$  abgesaugt während gleichzeitig Luft zugeführt wurde. Die beladenen Aktivkohleröhrchen wurden mit 1,5 mL Petrolether eluiert. 500  $\mu\text{L}$  des Eluats wurden in ein GC-Vial überführt und 200  $\mu\text{L}$  internen Standard für eine spätere Quantifizierung hinzugefügt. Das Programm der GC wurde so eingestellt, dass 1  $\mu\text{L}$  aus dem GC-Vial entnommen wurde und bei einer Temperatur von  $200 \text{ }^\circ\text{C}$  im PTV Splitless Mode in den Gaschromatographen injiziert wurde. Der Temperaturgradient der Säule startete bei  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ . Danach bis  $130 \text{ }^\circ\text{C}$  mit einem Gradienten von  $15 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$  erwärmt, ein weiteres Mal bis  $240 \text{ }^\circ\text{C}$  mit  $7,3 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$  und für 5 min gehalten. Die Probe wurde bei  $3 \text{ mL min}^{-1}$  Septum Purge mit einem konstanten Volumenstrom von  $1,51 \text{ mL min}^{-1}$  mit Helium (He 5.0) durch die Säule gedrückt. In der Transferline zum Massenspektrometer war eine Temperatur von  $200 \text{ }^\circ\text{C}$  eingestellt. Die Ionenquelle arbeitete bei einer Temperatur von  $240 \text{ }^\circ\text{C}$  und die Detektion im Scan-Mode zwischen  $41 \text{ m/z}$  und  $300 \text{ m/z}$ .

### 3 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Damit die digitale Nase mit Sensoren zuverlässig im Wald charakteristische Signalstoffe von Bäumen misst, müssen die Unterschiede von gesunden, gestressten bzw. befallenen Fichten zuerst unter Laborbedingungen ermittelt werden. Dazu wurden die verfügbaren Desorptionsmethoden thermische Desorption und Festphasenextraktion verglichen, um reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen. Anhand der erzielten Peakfläche und dem Arbeitsaufwand wurde ein Lösungsmittel für die Adsorbentien bei der Festphasenextraktion ausgewählt. Für eine höherer Konzentration der VOCs im Lösungsmittel wurde das Einengen bzw. Abdampfen mit Stickstoff evaluiert. Beim Laboraufbau wurden die Probenahme mit der Pull-Methode und der Push/Pull-Methode verglichen.

#### 3.1 CHARAKTERISTISCHE VOCs

Anhand von charakteristischen VOCs, die durch die entwickelte Methode detektierbar sind, sollen Profile von gesunden, gestressten und befallenen Fichten erstellt werden. Von den recherchierten VOCs der Fichte wurden die charakteristischen VOCs  $\alpha$ -Pinen,  $\beta$ -Pinen, 3-Caren und D-Limonen die durchgehend bei allen GC-Messungen detektiert. Diese sind in Tabelle 3 mit den zugehörigen Retentionszeiten dargestellt. Camphen war nicht in allen Proben nachweisbar. Wie im Chromatogramm in Abb. 4 beispielhaft dargestellt, sind die Peakhöhen der charakteristischen VOCs bei allen Messungen mit dem stationären Laboraufbau über der Nachweisgrenze von  $H = 11593$  vorhanden.

*Tabelle 3: Gemessene charakteristische VOCs und deren Retentionszeiten*

VOC	Retentionszeit [min]	Peakhöhe
$\alpha$ -Pinen	9,908	6730647
$\beta$ -Pinen	11,368	4130545
3-Caren	12,365	422636
Camphen	10,447	428960
D-Limonen	13,013	403819

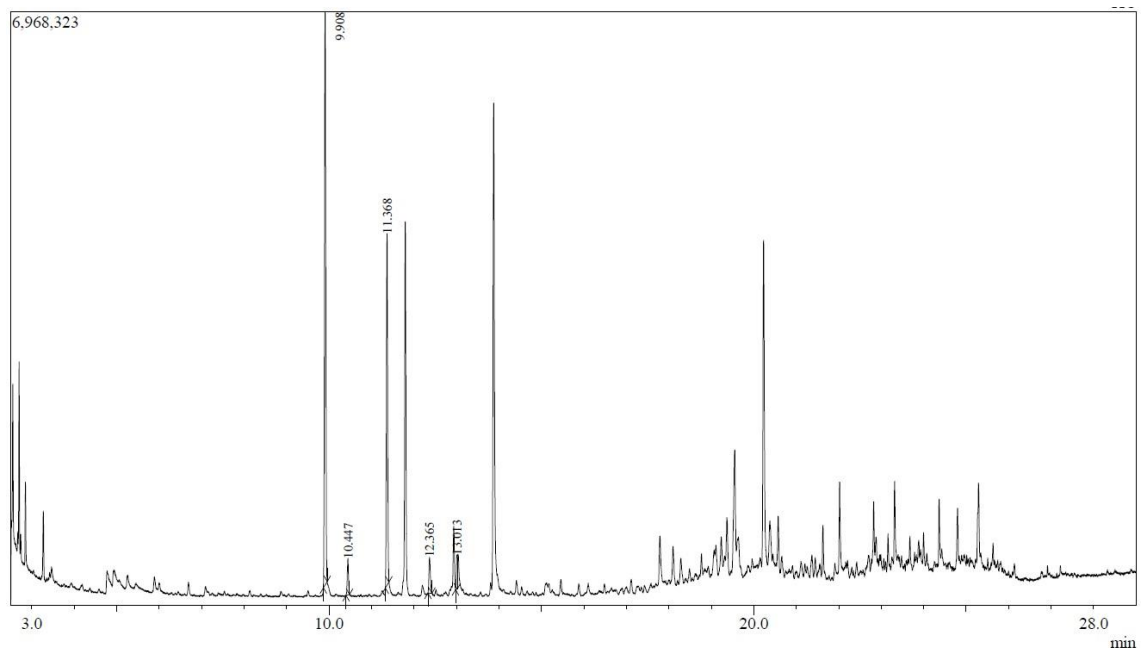


Abb. 4: Chromatogramm Fichte B11 bei stationäre Probenahme mit der Push/Pull-Methode

### 3.2 VORVERSUCHE FESTPHASENEXTRAKTION

Mit den Vorversuchen soll die optimale Kombination aus Adsorbens und Lösungsmittel für vergleichbare Ergebnisse bestimmt werden. Für die Auswahl eines geeigneten Lösungsmittels aus Hexan, Ethylacetat und Petrolether für die Aktivkohleröhrchen ORBO32 und Hexan, Ethylacetat, Dichlormethan und Petrolether für Tenax TA wurden VOCs der Fichte über die Adsorbentien abgesaugt. Die VOCs auf den Adsorbentien wurden mit den Lösungsmitteln eluiert und im Gaschromatographen analysiert. Es wurden die charakteristischen Stoffe  $\alpha$ -Pinen,  $\beta$ -Pinen, Camphen, 3-Caren und D-Limonen detektiert. Wie in Abb. 5 ersichtlich, wurde die erzielte Peakfläche pro Lösungsmittel und Stoff für die Aktivkohleröhrchen dargestellt.

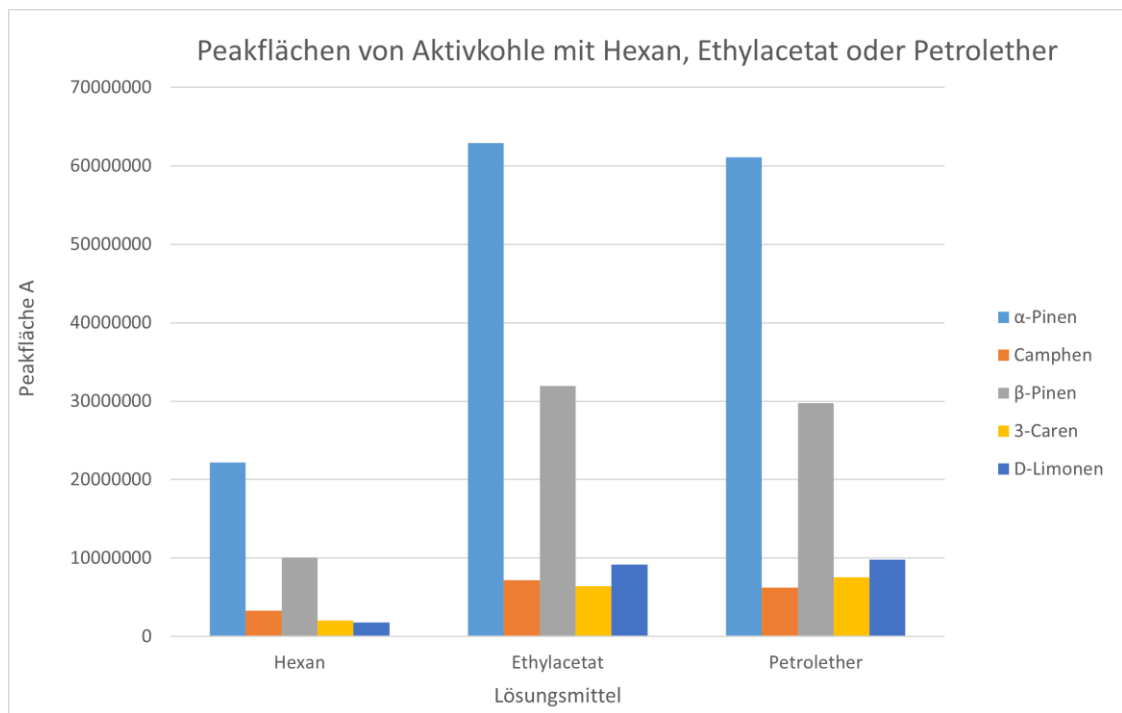


Abb. 5: Darstellung der erzielten Peakflächen der VOCs aus Aktivkohle in verschiedenen Lösungsmitteln

Damit mögliche, unterschiedliche Löslichkeiten dargestellt werden, wurden der Anteil der Peakfläche der einzelnen VOCs je Lösungsmittel für die Aktivkohleröhrchen an der gesamten Fläche in Prozent in Abb. 6 dargestellt.

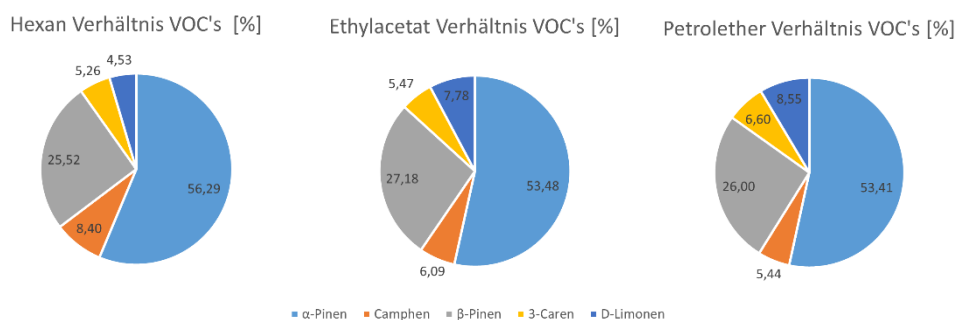


Abb. 6: Prozentueller Anteil der Peakflächen der einzelnen VOCs aus Aktivkohle an der Gesamtfläche

Für die Auswertung wurde die Standardabweichung der prozentuellen Anteile für die jeweiligen VOCs berechnet, so erhält man als geringsten Wert 0,6 % Abweichung für 3-Caren und als höchsten Wert 1,7 % für D-Limonen. Bei der Aktivkohle konnte das Ethylacetat knapp die größten Peakflächen erzielen. Da bei Ethylacetat ein weiterer

Trocknungsschritt notwendig ist, damit kein Wasser auf die GC-Säule kommt, wurde Petrolether als Lösungsmittel gewählt [8]. Die größten Nachteile von Hexan [10] und Petrolether [11] sind die Flüchtigkeit, die gute Aufnahme über die Lunge und dass Sie als CMR-Chemikalien fruchtschädigend wirken.

Wie in Abb. 7 ersichtlich wurde bei der Elution von Tenax TA mit den unterschiedlichen Lösungsmitteln kein Camphen gefunden. Ein weiterer, markanter Unterschied liegt in der Größe der Peakfläche von  $\alpha$ -Pinen bei Petrolether. Dichlormethan bildet mit Tenax TA eine hochviskose, transparente Flüssigkeit und konnte nicht ausgewertet werden.

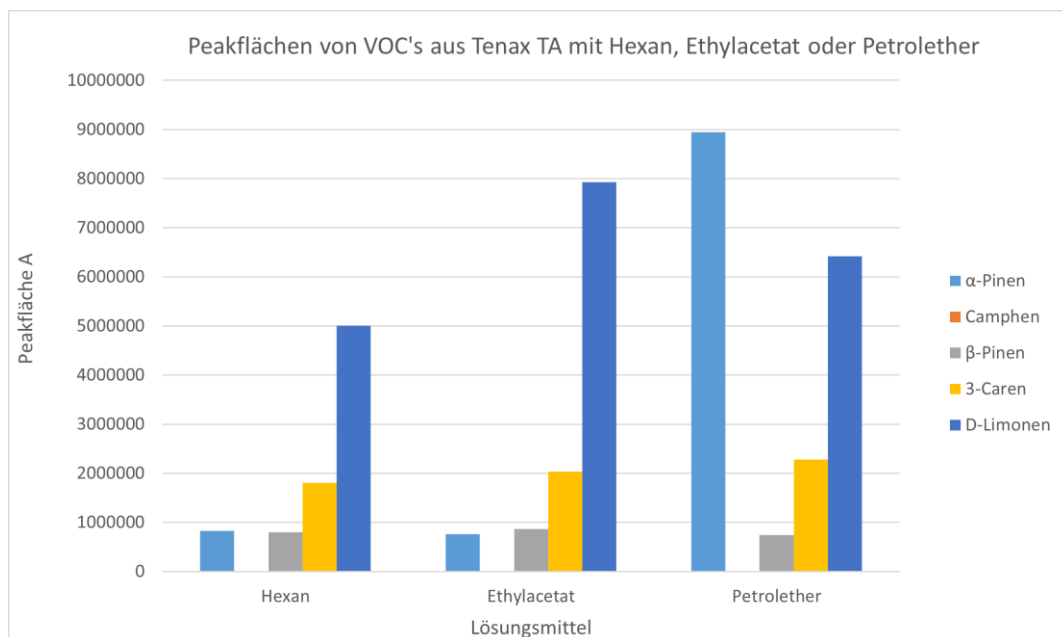


Abb. 7: Darstellung der erzielten Peakflächen der VOCs aus Tenax TA in verschiedenen Lösungsmitteln

Um den Unterschied in der Löslichkeit besser darzustellen, wurde wieder der Anteil der Peakfläche der einzelnen VOCs je Lösungsmittel für Tenax TA an der gesamten Fläche in Prozent in Abb. 8 dargestellt. Die Standardabweichungen der prozentuellen Anteile für die jeweiligen VOCs sind mit 19,1 % für  $\alpha$ -Pinen; 2,3 % für  $\beta$ -Pinen; 3,7 % für 3-Caren und 14,1 % für D-Limonen höher als bei der Aktivkohle. Für das Tenax TA löste wieder Petrolether die größte Menge an VOCs aus dem Adsorbens (siehe Abb. 7). Die prozentuelle Verteilung als Anteil der Gesamtfläche in Abb. 8 zeigt ähnliche schlechte Löslichkeit von  $\alpha$ -Pinen aus Tenax TA mit Hexan und Ethylacetat.

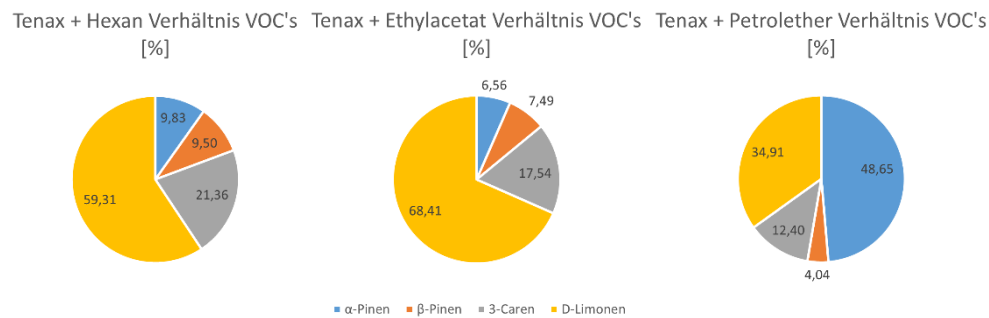


Abb. 8: Prozentueller Anteil der Peakflächen der einzelnen VOCs aus Tenax TA an der Gesamtfläche

Die beiden Adsorbentien wurden anhand von  $\alpha$ -Pinen,  $\beta$ -Pinen, 3-Caren und D-Limonen mittels Zweistichproben t-Test unter Annahme gleicher Varianzen verglichen und in Tabelle 4 dargestellt. Für  $\alpha$ -Pinen und  $\beta$ -Pinen sind die erzielten Peakflächen für die Aktivkohleröhrchen mit 95 % Wahrscheinlichkeit höher als für Tenax TA. Camphen wurde mit Tenax TA mit keinem Lösungsmittel detektiert und konnte somit nicht verglichen werden. Bei 3-Caren und D-Limonen ist, statistisch betrachtet, kein signifikanter Unterschied zwischen Tenax TA und den Aktivkohleröhrchen erkennbar.

Tabelle 4: Zweistichproben t-Test unter Annahme gleicher Varianzen für Aktivkohleröhrchen und Tenax TA

VOC	Mittelwert	Mittelwert	Varianz	Varianz	P-Wert
[-]	AK [A]	Tenax [A]	AK [A <sup>2</sup> ]	Tenax [A <sup>2</sup> ]	zweistig
$\alpha$ -Pinen	48704186	3509862	$5,30 \cdot 10^{14}$	$2,22 \cdot 10^{13}$	0,029
$\beta$ -Pinen	23914845	804031	$1,46 \cdot 10^{14}$	$3,97 \cdot 10^9$	0,029
3-Caren	5347314	2038388	$8,37 \cdot 10^{12}$	$5,68 \cdot 10^{10}$	0,119
D-Limonen	6900998	6450271	$1,98 \cdot 10^{13}$	$2,218 \cdot 10^{12}$	0,876

Aufgrund der großen Peakflächen und der ähnlichen Verteilung wurde die Aktivkohle mit dem Lösungsmittel Petrolether für die Festphasenextraktion gewählt. Hexan, das als Lösungsmittel in der Literatur verwendet wurde, lieferte die schlechtesten Ergebnisse [21]. Als weitere Schritte könnten Versuche mit Kohlenstoffdisulfid, wie in ÖNORM M

5700-1 [3] empfohlen oder mit Pentan, wie lt. Raguso und Pellmayr [21], durchgeführt werden.

Die Werte der Festphasenextraktion mit Petrolether wurden für die Auswahl des Adsorbens aus Aktivkohle und Tenax TA in Abb. 9 gegenübergestellt. Bei den charakteristischen VOCs zeigt die Festphasenextraktion mit den Aktivkohleröhrchen ORBO32 deutlich höhere Werte als mit Tenax TA. Im Durchschnitt sind die Werte mit den ORBO32 Röhren um das 13-fache größer. Geht man davon aus, dass hohe Peakflächen eine hohe Konzentration bedeuten, fällt die Wahl auf die Festphasenextraktion aus der Aktivkohle [12].

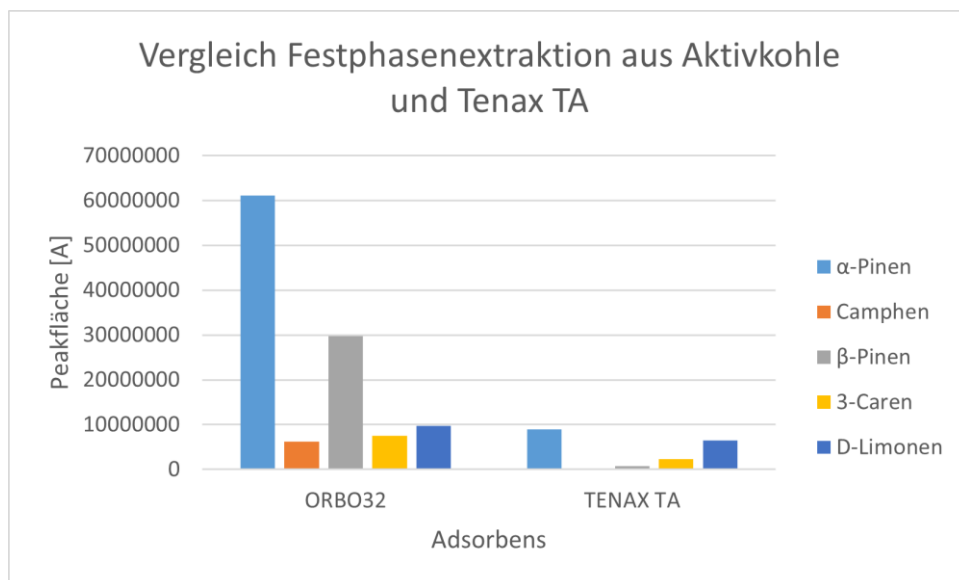


Abb. 9: Vergleich der Peakflächen der Adsorbentien Aktivkohle und Tenax TA gelöst mit Petrolether

### 3.3 DESORPTIONSMETHODEN

Um nachweisbare Ergebnisse zu erzielen, wurden die Desorptionsmethode thermische Desorption durchgeführt, um diese mit den Ergebnissen der Festphasenextraktion zu vergleichen. Bei beiden Desorptionsmethoden wird zuerst beladene Luft über ein Adsorbens gesaugt. Das Adsorbens wird bei der thermischen Desorption in einem Headspace Vial durch das geänderte Gleichgewicht bei höherer Temperatur desorbiert. Bei der Festphasenextraktion werden die VOCs zuerst mit Petrolether aus dem Adsorbens eluiert.

In Abb. 10 wurden die Peakflächen für Tenax TA bei den beiden unterschiedlichen Desorptionsmethoden verglichen. Dabei fällt auf, dass die Peakflächen bei der Festphasenextraktion durchschnittlich höher sind, dafür aber kein Camphen gelöst wurde.

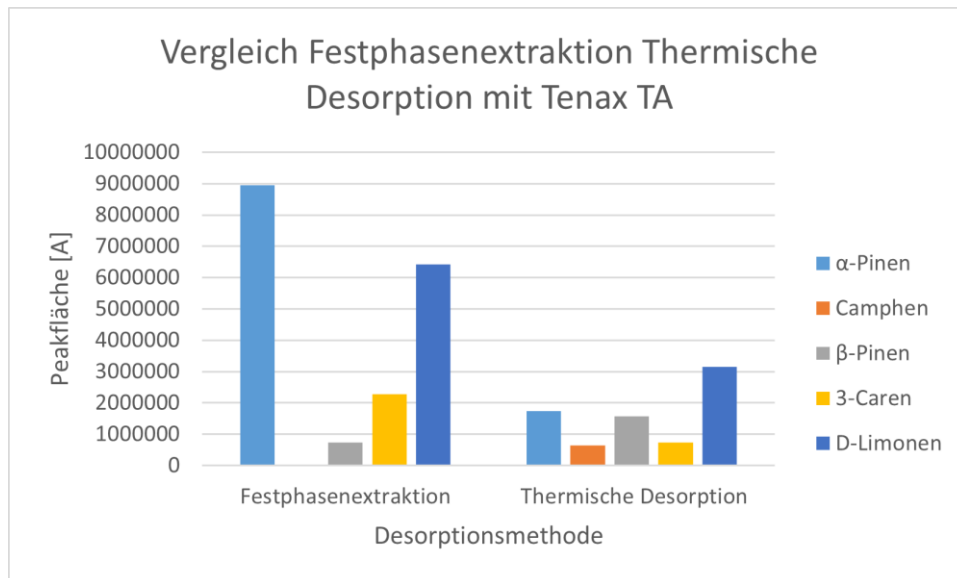


Abb. 10: Vergleich der Peakflächen von Tenax TA für die Methoden Festphasenextraktion und Thermische Desorption

Bei der thermischen Desorption der Aktivkohle aus den ORBO32 Röhrchen wurden keine der charakteristischen VOCs aus Kap. 3.1 über der Nachweisgrenze detektiert. Der Vergleich zwischen Festphasenextraktion und thermischer Desorption aus den Aktivkohleröhrchen konnte deshalb nicht ausgewertet werden.

Bei der Wahl der Desorptionsmethode wurde die Festphasenextraktion mit Petrolether 40-60 und den Aktivkohleröhrchen ORBO32 gewählt. Wie im Kap. 3.2 dargestellt, werden mit der Festphasenextraktion mit den Aktivkohleröhrchen signifikant höhere Peakflächen detektiert. Bei der thermischen Desorption im Headspace Vial wäre der Arbeitsaufwand wesentlich geringer aber die Peakflächen sind kleiner. Das Adsorbens müsste dabei nur in das Headspace Vial überführt werden und die aufwendige Elution mit dem Lösungsmittel würde wegfallen.

Signalstoffe, die nicht in Tabelle 3 beschrieben wurden und die möglicherweise von Bäumen emittiert werden, wurden bei der Auswahl der Methode und des Adsorbens nicht berücksichtigt.

### 3.4 EINENGEN MIT STICKSTOFF

Um die Konzentration im Eluat zu erhöhen, gibt es die Möglichkeit das Lösungsmittel im Stickstoffstrom abzdampfen bzw. einzuengen. Je nach Löslichkeit und Stickstoffstrom gibt es einen Verlust der gelösten Komponenten. Um den Verlust festzustellen und möglichst gering zu halten, wurde ein Standard mit definierter Menge  $\alpha$ -Pinen, 3-Caren und D-Limonen in einen Spitzkolben überführt. Der Standard wurde mit den Volumenströmen  $0,5 \text{ L min}^{-1}$ ;  $1,0 \text{ L min}^{-1}$ ;  $1,5 \text{ L min}^{-1}$  von 1,5 mL auf 0,5 mL eingeengt. Mithilfe des internen Standards wurden die Konzentrationen berechnet [22]. Daraus wurde der Mittelwert der Konzentration des eingeengten Standards, die Standardabweichung und die Wiederfindungsrate berechnet. Tabelle 5 zeigt die Werte, die mit  $0,5 \text{ L min}^{-1}$  eingeengt wurden. Die Werte für  $1,0 \text{ L min}^{-1}$  Stickstoff in Tabelle 6 und  $1,5 \text{ L min}^{-1}$  in Tabelle 7 zeigen ebenfalls eine hohe Standardabweichung und Wiederfindungsraten teils über 100 %.

Tabelle 5: Soll-, Ist-Konzentration, Standardabweichung und Wiederfindungsrate des eingeengten Standards mit  $0,5 \text{ L min}^{-1}$  Stickstoff

Trivialname VOC	Soll- konzentration	Ist- Konzentration	Standard- abweichung	Wiederfindungs- rate
[-]	[ $\mu\text{g/mL}$ ]	[ $\mu\text{g/mL}$ ]	[%]	[%]
$\alpha$ -Pinen	12,61	11,02	9,4	87,4
3-Caren	5,78	5,41	9,6	93,5
D-Limonen	5,99	5,86	10,1	97,8
Durchschnitt	-	-	9,7	92,2

Tabelle 6: Soll-, Ist-Konzentration, Standardabweichung und Wiederfindungsrate des eingeengten Standards mit  $1,0 \text{ L min}^{-1}$  Stickstoff

Trivialname VOC	Soll- konzentration	Ist- Konzentration	Standard- abweichung	Wiederfindungs- rate
[-]	[ $\mu\text{g/mL}$ ]	[ $\mu\text{g/mL}$ ]	[%]	[%]
$\alpha$ -Pinen	12,61	9,47	6,3	75,1

Trivialname VOC	Soll- konzentration	Ist- Konzentration	Standard- abweichung	Wiederfindungs- rate
[-]	[ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ]	[ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ]	[%]	[%]
3-Caren	5,78	6,67	19,2	115,3
D-Limonen	5,99	6,25	10,5	104,5
Durchschnitt	-	-	12,0	98,3

Tabelle 7: Soll-, Ist-Konzentration, Standardabweichung und Wiederfindungsrate des eingengten Standards mit  $1,5 \text{ L min}^{-1}$  Stickstoff

Trivialname VOC	Soll- konzentration	Ist- Konzentration	Standard- abweichung	Wiederfindungs- rate
[-]	[ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ]	[ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ]	[%]	[%]
$\alpha$ -Pinen	12,61	10,57	2,0	83,8
3-Caren	5,78	7,59	22,4	131,3
D-Limonen	5,99	7,19	15,4	120,1
Durchschnitt	-	-	13,2	111,7

Die Wiederfindungsrate in Tabelle 5 von durchschnittlich 92,2 % zeigt, dass wenig VOCs abgedampft wurden. Mit der hohen Standardabweichung von durchschnittlich 9,7 % beim geringsten Stickstoffvolumenstrom erweist sich die angewandte Methode als schlecht reproduzierbar. Die Ist-Konzentrationen verglichen mit den Soll-Konzentrationen deuten darauf hin, dass das Einengen mit Stickstoff funktioniert, aber die Methode aufgrund der Ungenauigkeit nicht angewendet wird. Die hohen Standardabweichungen und die Wiederfindungsraten in Tabelle 6 und Tabelle 7 über 100 % zeigen, dass das exakte Einengen bis zu einem Volumen von 0,5 mL in einem 10 mL Spitzkolben nicht reproduzierbar ist. Für weitere Versuche könnte der Spitzkolben gerade mit einer Libelle ausgerichtet werden und mit einer Skala bedruckt werden.

### 3.5 PROBENAHME

Damit Unterschiede zwischen der Pull-Methode (ohne Spülluft) und der Push/Pull-Methode (mit Spülluft) festgestellt werden können, wurden bei einer konstanten Temperatur von 27,5 °C die Kohlenstoffdioxidkonzentration in der Einhausung von zwei unterschiedlichen Fichten (Baum B1, Baum B11) gemessen. Wie in Abb. 11 und Abb. 12 dargestellt, ergibt die Messung der Kohlenstoffdioxidkonzentration über 15 Minuten bei beiden Bäumen eine Steigerung der Kohlenstoffdioxidkonzentration ohne Spülluft. In Abhängigkeit von der Startkonzentration in der Einhausung, sinkt mit der Spülluft die Kohlenstoffdioxidkonzentration. Der Vorteil bei der Push/Pull-Methode liegt in der gleichmäßigeren Kohlenstoffdioxidkonzentration. Die Methode gewährleistet somit eine konstante Atmosphäre in der Einhausung, da der Ausstoß von VOCs von Pflanzen u.a. abhängig vom Kohlenstoffdioxidgehalt in der Luft ist [2] [13].

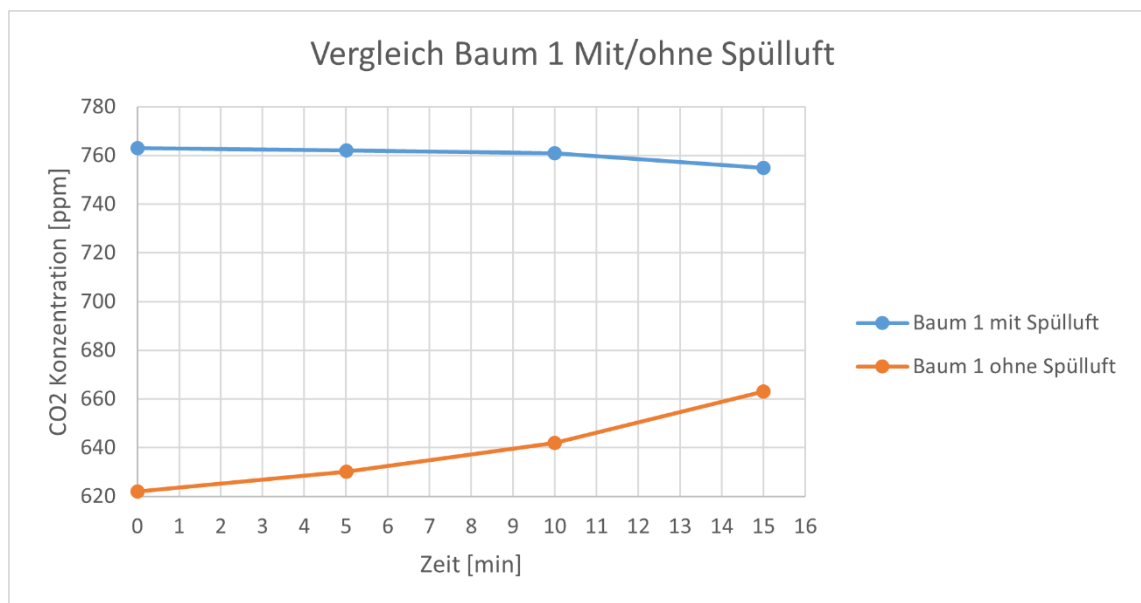


Abb. 11: CO<sub>2</sub> Konzentration vom Baum B1 in Abhängigkeit der zugeführten Luft

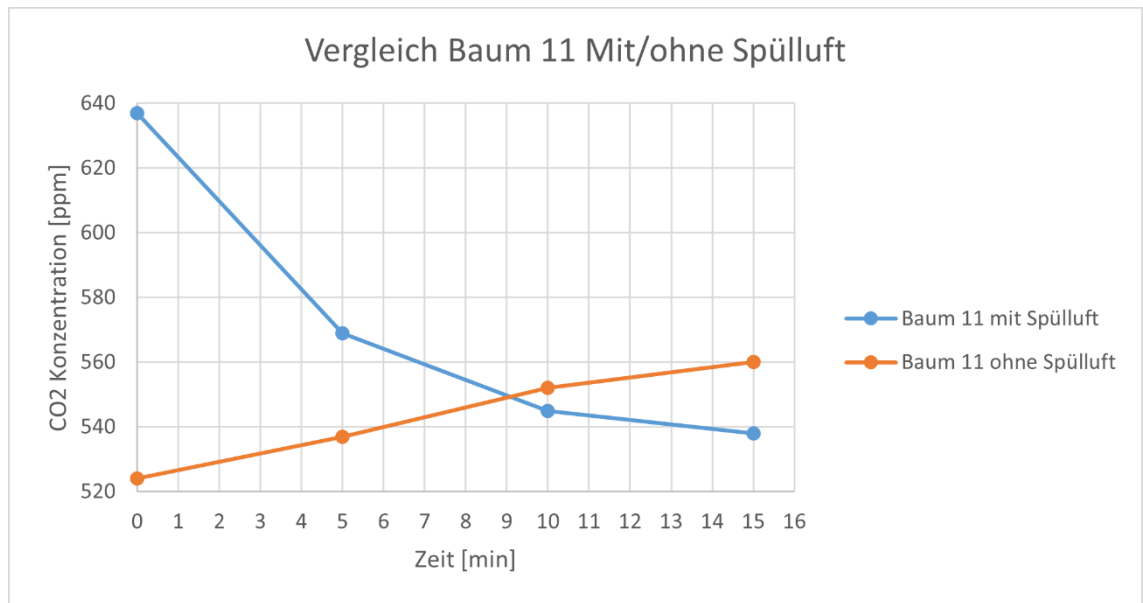


Abb. 12: CO<sub>2</sub> Konzentration vom Baum B11 in Abhängigkeit der zugeführten Luft

Die Auswirkung der Spülluft bei der Push/Pull-Methode zeigt die Abb. 13. Die durchschnittlichen Peakflächen aller charakteristischen VOCs sind höher ohne Spülluft. Die gesamte Peakfläche der Proben mit Spülluft ist um das 2,7-fache kleiner als die Peakflächen der Proben ohne Spülluft.

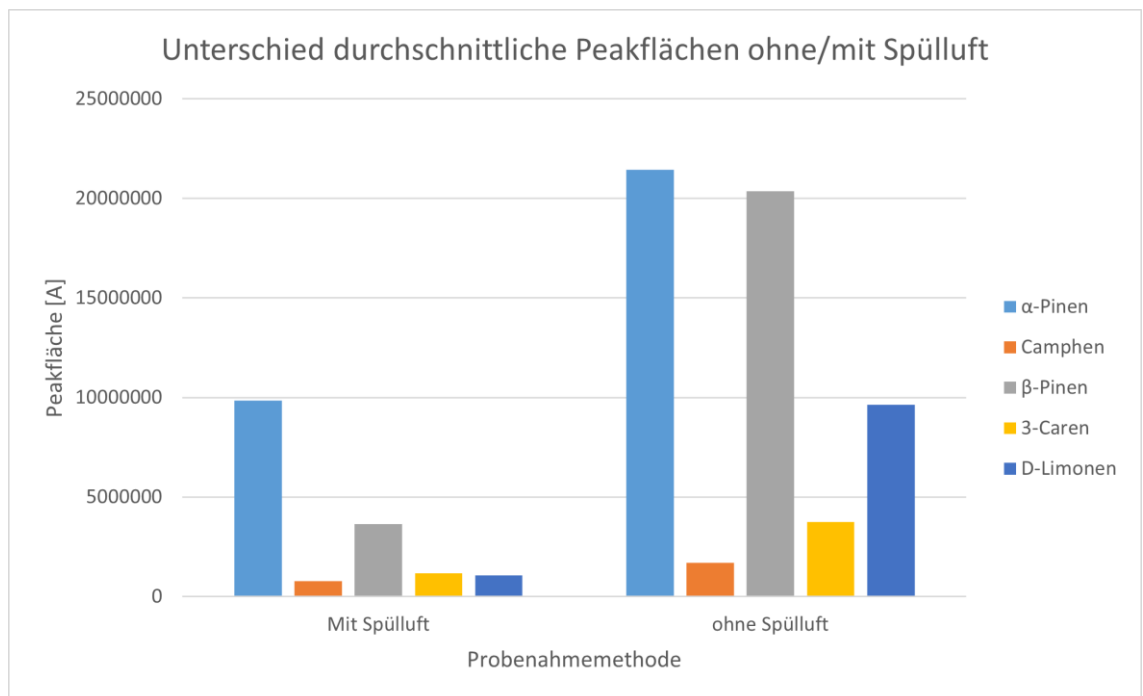


Abb. 13: Unterschied zwischen Pull-Methode (ohne Spülluft) und Push/Pull-Methode (mit Spülluft)

Die Pull- und die Push/Pull-Methode wurden anhand von  $\alpha$ -Pinen, Camphen,  $\beta$ -Pinen, 3-Caren und D-Limonen mittels Zweistichproben t-Test unter Annahme gleicher Varianzen verglichen und in Tabelle 8 dargestellt. Wie an den P-Werten ersichtlich, gibt es mit 95 % Wahrscheinlichkeit zwischen den Methoden keinen statistisch signifikanten Unterschied.

*Tabelle 8: Zweistichproben t-Test unter Annahme gleicher Varianzen für die Pull- und die Push/Pull-Methode*

VOC	Mittelwert	Mittelwert	Varianz	Varianz	P-Wert
[-]	Pull [A]	Push/Pull [A]	Pull [A <sup>2</sup> ]	Push/Pull [A <sup>2</sup> ]	zweiseitig
$\alpha$ -Pinen	10666244	21440122	9,92 10 <sup>12</sup>	1,76 10 <sup>14</sup>	0,243
Camphen	878699	1685039	3,71 10 <sup>11</sup>	4,73 10 <sup>11</sup>	0,203
$\beta$ -Pinen	5410284	20352539	6,67 10 <sup>12</sup>	1,46 10 <sup>14</sup>	0,104
3-Caren	899936	2373263	8,85 10 <sup>9</sup>	3,53 10 <sup>12</sup>	0,246
D-Limonen	977134	6285463	1,32 10 <sup>11</sup>	1,89 10 <sup>13</sup>	0,103

Bei der Push/Pull-Methode spült die Luft die VOCs vom Boden zu der Absaugöffnung am Deckel der Einhausung und es ist kein Kübel (siehe Kap. 2.4) notwendig wie bei der Pull-Methode. Betrachtet man die statistische Auswertung, ist mit 95 % Wahrscheinlichkeit kein Unterschied zwischen den beiden Proben erkennbar. Da die Varianzen (siehe Tabelle 8) bzw. in Folge die Standardabweichungen sehr hoch sind, lässt sich kein Unterschied der Grundgesamtheit feststellen. Es zeigt sich, dass sich die stark unterschiedlichen Werte mit den unterschiedlichen Umgebungsbedingungen im Labor erklären lassen [13], [18]. Zu Beginn der Probenahme mit dem stationären Laboraufbau lag die Temperatur bei 23 °C. Bei den letzten Probenahmen stieg die Temperatur bis auf 28 °C. Bei Temperaturschwankungen von 5 °C verändert sich bereits die Konzentration der ausgestoßenen VOCs der Fichten [18]. Das gleiche gilt für Schwankungen der Kohlenstoffdioxidkonzentration von 200 ppm [2]. Bei den zukünftigen Messungen könnte gereinigte Luft aus der Gasflasche oder Luft, die mit einem Null-Luft-Generator aufbereitet wurde, für konstante Umgebungsbedingungen

sorgen [20]. Auch ein anderer Aufstellort mit konstanter Temperatur könnte gewählt werden.

## 4 ZUSAMMENFASSUNG

VOCs von gesunden, gestressten und befallenen Fichten sollen mit Sensoren gemessen und von einer KI interpretiert werden. Für eine zuverlässige Erkennung und Interpretation der VOCs mit den Sensoren sollen charakteristische Zusammensetzungen von VOCs zuerst von gesunden, gestressten oder befallenen Fichten durch chemische Analyse ermittelt werden. Ziel war es, mit den unterschiedlichen zur Verfügung stehenden Desorptionsmethoden zur Messung von VOCs der Fichte eine reproduzierbare Messmethode mittels Adsorption zu entwickeln.

Für die Probenahme wird die Push/Pull-Methode mit der Adsorption auf ein ORBO32 Aktivkohleröhrchen und anschließender Festphasenextraktion mit Petrolether gewählt. Es sind keine Hilfsmittel, wie z.B. ein Kübel zur besseren Absaugung wie bei der Pull-Methode notwendig, und die Bedingungen im Laboraufbau sind durch die Spülluft konstanter (siehe Abb. 11). Obwohl höhere Peakflächen bei der Push-Methode zu sehen (siehe Abb. 13) sind, zeigt der t-Test, dass mit 95 % Wahrscheinlichkeit kein Unterschied zwischen den beiden Methoden feststellbar ist. Bei Temperaturschwankungen von 5 °C [18] und Schwankungen der Kohlenstoffdioxidkonzentration von 200 ppm [2] verändert sich bereits die Konzentration der ausgestoßenen VOCs der Fichten. Darum wird bei zukünftigen Messung versucht, die Umgebungsbedingungen konstant zu halten.

Bei den Vorversuchen zur Festphasenextraktion wurde aus verschiedenen Lösungsmitteln Petrolether für die Aktivkohleröhrchen ORBO32 gewählt, obwohl mit Ethylacetat die höchsten Peakflächen bei den charakteristischen VOCs gemessen wurde (siehe Abb. 5). Die Größe der Peakflächen von Petrolether liegt knapp unter der Größe der Peakflächen von Ethylacetat. Da bei Ethylacetat ein weitere Trocknungsschritt notwendig wäre damit kein Wasser auf die GC-Säule kommt, fiel die Wahl auf Petrolether [8]. Tenax TA würde im Vergleich zu Aktivkohle weniger Wasser adsorbieren [16], die Wahl fällt aufgrund der signifikant höheren Peakflächen und des geringeren Preises auf die Aktivkohleröhrchen. Damit unterschiedliche Löslichkeiten dargestellt werden können, wurde der Anteil der Peakfläche eines charakteristischen VOC an der gesamten Fläche der charakteristischen VOCs in Prozent dargestellt (siehe Abb. 6). Die Standardabweichung der prozentuellen Anteile von 0,6 % für 3-Caren als geringsten Wert und 1,7 % für D-Limonen als höchsten Wert zeigte keine signifikanten

Unterschiede in der Löslichkeit der charakteristischen VOCs in den unterschiedlichen Lösungsmitteln.

Die Festphasenextraktion Aktivkohleröhrchen wurden gewählt, weil für  $\alpha$ -Pinen und  $\beta$ -Pinen die erzielten Peakflächen beim Zweistichproben t-Test für die Aktivkohleröhrchen mit 95 % Wahrscheinlichkeit höher als für Tenax TA waren. Außerdem wurde bei der Festphasenextraktion von Tenax TA kein Camphen detektiert. Bei der thermischen Desorption der Aktivkohleröhrchen wurden keine charakteristischen VOCs detektiert. Die gesamten Peakflächen der Festphasenextraktion der Aktivkohleröhrchen war um das 15-fache größer als bei der thermischen Desorption von Tenax TA.

Das Einengen mit Stickstoff wird nicht angewendet. Mit der hohen Standardabweichung von durchschnittlich 9,7 % beim geringsten Stickstoffvolumenstrom und die Wiederfindungsraten in Tabelle 6 und Tabelle 7 über 100 % zeigen, dass das exakte Einengen bis zu einem Volumen von 0,5 mL in einem 10 mL Spitzkolben nicht reproduzierbar ist.

## 5 LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Andrew Tipler. „AN INTRODUCTION TO HEADSPACE SAMPLING IN GAS CHROMATOGRAPHY: FUNDAMENTALS AND THEORY.”  
[https://resources.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/gde\\_intro\\_to\\_headspace.pdf](https://resources.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/gde_intro_to_headspace.pdf) (Zugriff am: 27. Mai 2023).
- [2] A. Arneth *et al.*, „Process-based estimates of terrestrial ecosystem isoprene emissions: incorporating the effects of a direct CO<sub>2</sub>-isoprene interaction,” *Atmos. Chem. Phys.*, Jg. 7, Nr. 1, S. 31–53, 2007, doi: 10.5194/acp-7-31-2007.
- [3] *ÖNORM M 5700-1: Messen von Innenraumluft-Verunreinigungen - Gaschromatographische Bestimmung organischer Verbindungen - Teil 1: Grundlagen*, Austrian Standards International, Wien, Aug. 2002.
- [4] E. Breitmaier, *Terpene: Aromen, Düfte, Pharmaka, Pheromone*, 2. Aufl. Weinheim: Wiley-VCH, 2005.
- [5] Bundesforschungszentrum für Wald. „Borkenkäfer - Information und Monitoring.”  
<https://www.bfw.gv.at/borkenkaefer-information-monitoring/> (Zugriff am: 14. Mai 2023).
- [6] M. Czajka, B. Fabisiak und E. Fabisiak, „Emission of Volatile Organic Compounds from Heartwood and Sapwood of Selected Coniferous Species,” *Forests*, Jg. 11, Nr. 1, S. 92, 2020, doi: 10.3390/f11010092.
- [7] E. Dhanumalayan und G. M. Joshi, „Performance properties and applications of polytetrafluoroethylene (PTFE)—a review,” *Adv Compos Hybrid Mater*, Jg. 1, Nr. 2, S. 247–268, 2018, doi: 10.1007/s42114-018-0023-8.
- [8] R. J. Fessenden, J. S. Fessenden und P. Feist, *Organic laboratory techniques*, 3. Aufl. Pacific Grove, Calif.: Brooks/Cole Thomson Learning, 2001.
- [9] R. J. Fischbach, I. Zimmer, R. Steinbrecher, A. Pfichner und J. P. Schnitzler, „Monoterpene synthase activities in leaves of *Picea abies* (L.) Karst. and *Quercus ilex* L.,” *Phytochemistry*, Jg. 54, Nr. 3, S. 257–265, 2000, doi: 10.1016/S0031-9422(00)00119-9.
- [10] GESTIS-Stoffdatenbank. „Hexan: Identifikation, Charakterisierung, Phys.-Chem. Eigenschaften, Sicherer Umgang, Vorschriften, Links, Literaturverzeichnis.”  
<https://gestis.dguv.de/data?name=510789> (Zugriff am: 5. Juni 2023).
- [11] GESTIS-Stoffdatenbank. „Petrolether: Identifikation, Charakterisierung, Phys.-Chem. Eigenschaften, Sicherer Umgang, Vorschriften, Links, Literaturverzeichnis.”  
<https://gestis.dguv.de/data?name=536301> (Zugriff am: 5. Juni 2023).
- [12] M. Gey, *Instrumentelle Analytik und Bioanalytik: Biosubstanzen, Trennmethoden, Strukturanalytik, Applikationen*, 4. Aufl. (Lehrbuch). Berlin, Heidelberg: Springer Spektrum, 2021.
- [13] W. Grabmer *et al.*, „VOC emissions from Norway spruce (*Picea abies* L. [Karst]) twigs in the field—Results of a dynamic enclosure study,” *Atmospheric Environment*, Jg. 40, S. 128–137, 2006, doi: 10.1016/j.atmosenv.2006.03.043.
- [14] A. M. Gressner und T. Arndt, Hg. *Lexikon der medizinischen Laboratoriumsdiagnostik: Mit 434 Tabellen*, 2. Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer, 2013.
- [15] M. Heil und J. C. Silva Bueno, „Within-plant signaling by volatiles leads to induction and priming of an indirect plant defense in nature,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Early Access. doi: 10.1073/pnas.0610266104.
- [16] D. Helmig und L. Vierling, „Water Adsorption Capacity of the Solid Adsorbents Tenax TA, Tenax GR, Carbotrap, Carbotrap C, Carbosieve SIII, and Carboxen 569 and Water Management Techniques for the Atmospheric Sampling of Volatile Organic Trace Gases,” *Anal. Chem.*, Jg. 67, Nr. 23, S. 4380–4386, 1995, doi: 10.1021/ac00119a029.

- [17] Z. Jiang, C. Kempinski und J. Chappell, „Extraction and Analysis of Terpenes/Terpenoids,“ *Current protocols in plant biology*, Early Access. doi: 10.1002/cppb.20024.
- [18] M. Kivimäenpää, J. Riikonen, H. Valolahti, H. Elina, J. K. Holopainen und T. Holopainen, „Effects of elevated ozone and warming on terpene emissions and concentrations of Norway spruce depend on needle phenology and age,“ *Tree physiology*, Jg. 42, Nr. 8, S. 1570–1586, 2022, doi: 10.1093/treephys/tpac019.
- [19] M. Kunert, A. Biedermann, T. Koch und W. Boland, „Ultrafast sampling and analysis of plant volatiles by a hand-held miniaturised GC with pre-concentration unit: Kinetic and quantitative aspects of plant volatile production,“ *J. Sep. Science*, Jg. 25, 10-11, S. 677–684, 2002, doi: 10.1002/1615-9314(20020701)25:10/11<677::AID-JSSC677>3.0.CO;2-5.
- [20] J. Ortega und D. Helmig, „Approaches for quantifying reactive and low-volatility biogenic organic compound emissions by vegetation enclosure techniques - part A,“ *Chemosphere*, Early Access. doi: 10.1016/j.chemosphere.2007.11.020.
- [21] R. A. Raguso und O. Pellmyr, „Dynamic Headspace Analysis of Floral Volatiles: A Comparison of Methods,“ *Oikos*, Jg. 81, Nr. 2, S. 238, 1998, doi: 10.2307/3547045.
- [22] U. Ritgen, *Analytische Chemie*. Berlin, Heidelberg: Springer Spektrum, 2020.
- [23] K. Sattler, *Thermische Trennverfahren: Grundlagen, Auslegung, Apparate*, 3. Aufl. Weinheim: Wiley-VCH, 2001.
- [24] M.-J. Schelhaas, G.-J. Nabuurs und A. Schuck, „Natural disturbances in the European forests in the 19th and 20th centuries,“ *Global Change Biology*, Jg. 9, Nr. 11, S. 1620–1633, 2003, doi: 10.1046/j.1365-2486.2003.00684.x.
- [25] Solomon, S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor and H.L. Miller (eds.), *Climate change 2007: The physical science basis ; contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC)*. Cambridge, Mass.: Cambridge Univ. Pr, 2007. [Online]. Verfügbar unter: <http://www.ipcc.ch/ipccreports/ar4-wg1.htm>
- [26] A. Stewart-Jones und G. M. Poppy, „Comparison of glass vessels and plastic bags for enclosing living plant parts for headspace analysis,“ *Journal of chemical ecology*, Early Access. doi: 10.1007/s10886-006-9039-6.
- [27] D. Tholl, W. Boland, A. Hansel, F. Loreto, U. S. R. Röse und J.-P. Schnitzler, „Practical approaches to plant volatile analysis,“ *The Plant journal : for cell and molecular biology*, Jg. 45, Nr. 4, S. 540–560, 2006, doi: 10.1111/j.1365-313X.2005.02612.x.
- [28] E. W. Weiler und L. Nover, *Allgemeine und molekulare Botanik: 30 Tabellen*. Stuttgart, New York: Thieme, 2008.
- [29] B. Wermelinger und M. Seifert, „Analysis of the temperature dependent development of the spruce bark beetle *Ips typographus* (L) (Col., Scolytidae),“ *Journal of Applied Entomology*, Jg. 122, 1-5, S. 185–191, 1998, doi: 10.1111/j.1439-0418.1998.tb01482.x.

## 6 ANHANG

Der Anhang ist in digitaler Form auf einem Datenträger archiviert.

Typ	Bezeichnung	Dateityp
Berechnung/Auswertung	Auswertung_Bachelorarbeit_Sorg	Excel
Chromatogramm	Chromatogramm_CharVOC_B11	PDF
Chromatogramm	Vorversuche_AK_Ethylacetat	PDF
Chromatogramm	Vorversuche_AK_Hexan	PDF
Chromatogramm	Vorversuche_AK_Petrolether	PDF
Chromatogramm	Vorversuche_Tenax_Ethylacetat	PDF
Chromatogramm	Vorversuche_Tenax_Hexan	PDF
Chromatogramm	Vorversuche_Tenax_Petrolether	PDF
Chromatogramm	ThermDesorption_AK_P1_05	PDF
Chromatogramm	ThermDesorption_AK_P2_06	PDF
Chromatogramm	ThermDesorption_AK_P3_07	PDF
Chromatogramm	ThermDesorption_Tenax_P1_01	PDF
Chromatogramm	ThermDesorption_Tenax_P2_02	PDF
Chromatogramm	ThermDesorption_Tenax_P3_03	PDF
Chromatogramm	Einengen_0,5mlN2_P1_128	PDF
Chromatogramm	Einengen_0,5mlN2_P2_129	PDF
Chromatogramm	Einengen_0,5mlN2_P3_133	PDF
Chromatogramm	Einengen_1,0mlN2_P1_134	PDF
Chromatogramm	Einengen_1,0mlN2_P2_135	PDF
Chromatogramm	Einengen_1,0mlN2_P3_136	PDF

---

<b>Typ</b>	<b>Bezeichnung</b>	<b>Dateityp</b>
Chromatogramm	Einengen_1,5mlN2_P1_137	PDF
Chromatogramm	Einengen_1,5mlN2_P2_138	PDF
Chromatogramm	Einengen_1,5mlN2_P3_139	PDF
Chromatogramm	Probenahme_Grundrauschen_B11	PDF
Chromatogramm	Probenahme_PushP1_B11_40min_89	PDF
Chromatogramm	Probenahme_PushP2_B11_40min_170	PDF
Chromatogramm	Probenahme_PushP3_B11_40min_173	PDF
Chromatogramm	Probenahme_PushPullP1_B11_40min_126	PDF
Chromatogramm	Probenahme_PushPullP2_B11_40min_87	PDF
Chromatogramm	Probenahme_PushPullP3_B11_40min_146	PDF
Chromatogramm	Probenahme_PushPullP4_B11_40min_184	PDF