

Analytische Chemie

**Online-Aufreinigungssysteme für Hochdruckextraktionen  
zur Analytik von Dioxinen**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften  
im Fachbereich Chemie und Pharmazie  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

Ralph Deuster

aus Hagen

- 2001 -

---

Dekan: Prof. Dr. W. Lange  
Erster Gutachter: Prof. Dr. K. Cammann  
Zweiter Gutachter: HD Dr. U Karst  
Tag der mündlichen Prüfung  
Hauptfach: 24.07.2001  
1. Nebenfach: 03.08.2001  
2. Nebenfach: 01.08.2001  
Tag der Promotion: 03.08.2001

*Nichts ist schwerer, als bedeutende Gedanken  
so auszudrücken, daß jeder sie verstehen kann.*

*A. Schopenhauer (1788-1860)*

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Ziel der Arbeit</b>	<b>3</b>
	<b>THEORETISCHER TEIL</b>	<b>4</b>
<b>3</b>	<b>Dioxine und Furane</b>	<b>5</b>
3.1	Struktur und Nomenklatur	5
3.2	Eigenschaften der Dioxine und Furane	6
3.2.1	Physikalische und chemische Eigenschaften	6
3.2.2	Bildung und Quellen	7
3.2.3	Toxikologische Eigenschaften	8
3.2.4	Umweltrelevanz	10
<b>4</b>	<b>Analytische Extraktionsverfahren</b>	<b>11</b>
4.1	Soxhlet-Extraktion	11
4.2	Extraktionen unter erhöhtem Druck	11
4.2.1	Überkritische Fluidextraktion	11
4.2.2	Überkritische Fluidextraktion mit Wasser	12
4.2.3	Lösungsmittelzusatz in der überkritischen Fluidextraktion	12
4.2.4	Beschleunigte Lösungsmittlextraktion	13
4.2.5	Subkritische Wassereextraktion	14
4.2.6	Allgemeiner Aufbau von Anlagen zur Hochdruckextraktion	16
<b>5</b>	<b>Aufreinigung von Extrakten aus Hochdruckextraktionen</b>	<b>18</b>
5.1	Allgemeines	18
5.2	Konventionelle Verfahren	18
5.3	Automatisierte Verfahren	20
5.4	Kopplung von Aufreinigungssystemen	22
5.4.1	„inline“-Aufreinigungssysteme	23
5.4.2	„online“-Aufreinigungssysteme	26
<b>6</b>	<b>Bestimmung von Dioxinen</b>	<b>28</b>
6.1	Kapillargaschromatographische Trennung	28
6.2	Detektoren	29
6.2.1	Massenspektrometrischer Detektor (MSD)	29
6.2.2	Elektroneneinfang-Detektor ( <i>electron capture detector</i> , ECD)	30
6.3	Isotopenverdünnungsanalyse	30

<b>EXPERIMENTELLER TEIL</b>	<b>32</b>
<b>7 Untersuchungen zur „inline“-Aufreinigung mit einem Modellsystem</b>	<b>33</b>
7.1 Allgemeines	33
7.2 Apparativer Aufbau	34
7.2.1 Aufbau des Systems zur Überkritischen Fluidchromatographie	34
7.2.2 Verwendete kommerzielle Gepacktsäulen	34
7.2.3 Herstellung eigener Gepacktsäulen	34
7.2.4 Verwendete Modellösung	36
7.3 Untersuchungen	36
<b>8 Entwicklung eines „online“-Aufreinigungssystems zum Einsatz in der schnellen Dioxin-Analytik</b>	<b>38</b>
8.1 Allgemeines	38
8.1.1 Verwendetes Extraktionssystem	38
8.1.2 Automatisches Aufreinigungssystem	39
8.1.3 Kopplung beider Teilbereiche	39
8.2 Untersuchungen von verschiedenen Festphasen	40
8.2.1 Modellösung	40
8.2.2 Kriterien zur Auswahl der Festphasen	41
8.2.3 Analyt-retardierende Festphase	41
8.2.4 Matrix-retardierende Festphasen	43
8.3 Aufreinigung eines realen Extraktes mit Matrix-retardierenden Festphasen	46
8.3.1 Herstellung des Extraktes	46
8.3.2 Ausführung der Untersuchungen	47
8.3.3 Massenspektrometrische Untersuchung und Vergleich der erhaltenen Lösungen	48
8.3.4 Voruntersuchung zum Einsatz der „online“-Aufreinigung unter realen Bedingungen	51
8.3.5 Erhöhung des Festphasenvolumens in der Sammeleinrichtung	52
8.3.6 Extraktion eines Standardreferenzmaterials	54
8.4 Fazit	56
<b>9 Entwicklung einer Methode zur Extraktion von Dioxinen mit der Heißwasserextraktion</b>	<b>58</b>
9.1 Allgemeines	58
9.2 Kalibration der Dioxine mit Hilfe des Elektroneneinfang-Detektors	58
9.2.1 Dioxin-Standard Lösung	59
9.3 Methodenentwicklung	60

9.3.1	Flüssig/Flüssig-Extraktion	61
9.3.2	Befüllung der Extraktionszellen und Extraktionsvorbereitung	61
9.3.3	Aufarbeitung der Extrakte	62
9.3.4	Voruntersuchung	63
9.4	Untersuchung der Extraktionsparameter	64
9.4.1	Isobare Extraktionen bei Veränderung der Temperatur	64
9.4.2	Änderung des Flusses bei der Gasphasenextraktion	68
9.4.3	Volumenerhöhung des Extraktionsmittels	69
9.4.4	Zusammenfassung der Extraktionsparameter	71
9.5	Verwendung anderer Matrices als Zellfüllmittel	71
9.6	Vergleich mit der Soxhlet-Extraktion von Seesand	72
9.7	Fazit	73
<b>10</b>	<b>Entwicklung einer Methode zur „online“-Aufreinigung von Dioxinen bei der Heißwasserextraktion</b>	<b>74</b>
10.1	Allgemeines	74
10.2	Voruntersuchungen	74
10.2.1	Charakterisierung der verwendeten Festphasen	74
10.2.2	Bestimmung der Wiederfindungsrate von mit Dioxin-Standard versetzten Festphasen	75
10.3	Extraktion eines Standards und Sammlung/Aufreinigung auf C <sub>18</sub> -Material	77
10.4	Erhöhung des Festphasenvolumens	78
10.5	Einführung eines weiteren Aufreinigungsschrittes	80
10.6	Extraktion und Aufreinigung einer Realprobe	83
10.7	Fazit	86
<b>11</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>88</b>
<b>12</b>	<b>Anhang</b>	<b>90</b>
12.1	Verwendete Materialien und Geräte	90
12.2	Physikochemische Daten	91
12.3	Funktion des verwendeten automatischen Aufreinigungssystems	93
12.4	Kalibrationsdaten	95
12.4.1	Kalibration am GC/MSD	95
12.4.2	Kalibration am GC/ECD	100
12.5	Herstellung und Behandlung der verwendeten Festphasen	110
<b>13</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>111</b>

## 1 Einleitung

Die moderne Umweltanalytik hat die Aufgabe, eine mögliche Gefährdung des Menschen durch Umweltschadstoffe abschätzen zu helfen. Diese Schadstoffe können in verschiedensten Probenmaterialien vorliegen und bedürfen daher unterschiedlicher Verfahren zu ihrer Quantifizierung. Den Hauptteil der in der Umweltanalytik wichtigen Proben stellen die Feststoffe wie Böden, Stäube und Schlämme dar.

Die Analytik fester Proben benötigt effiziente Extraktionsverfahren, um die Schadstoffe, d.h. die Analyten, von der festen Matrix der Probe abzutrennen. Diese Trennung ist notwendig, damit eine Analyse überhaupt erst möglich wird. Hierzu werden für die notwendige Probenvorbehandlung jedoch in der Regel Extraktionsverfahren eingesetzt, die, wie die Soxhlet-Extraktion und artverwandte Verfahren, große Mengen an organischen Lösungsmitteln einsetzen. Hierdurch wird die schützenswerte Umwelt durch die verwendete Menge an Lösungsmitteln und die damit einhergehende Ressourcenverschwendung womöglich stärker belastet als durch die zu untersuchende Probe selber.

Eine Möglichkeit, die einzusetzende Menge an organischen Lösungsmitteln gering zu halten, ist die Durchführung von Übersichtsanalysen. Werden bei diesen Verfahren nur geringe Lösungsmittelmengen verwendet, führt dies zu einer deutlich niedrigeren Belastung der Umwelt. Des Weiteren ist der Einsatz moderner Extraktionsverfahren möglich, welche von sich aus nur noch wenig Lösungsmittel benötigen. Dies sind vorwiegend Verfahren, welche geringe Mengen an Lösungsmittel unter erhöhter Temperatur und Druck auf die Probe einwirken lassen. Oder auch, wie bei der Überkritischen Fluidextraktion, durch die Verwendung von Kohlendioxid vollständig auf herkömmliche Lösungsmittel verzichten.

Ein weiteres modernes aber noch relativ unerforschtes Extraktionsverfahren, welches gänzlich auf organische Lösungsmittel verzichtet, ist die Extraktion mit heißem Wasser unter erhöhtem Druck: die Heißwasserextraktion. Allerdings ist gerade ein solch polares Medium wie Wasser nicht unbedingt in der Lage, die oftmals sehr unpolaren organischen Analyten genügend zu solubilisieren und von der Probe zu trennen. Jedoch zeigt die Polarität von Wasser eine besondere Abhängigkeit von der Temperatur. Wasser wird bei Erhöhung seiner Temperatur über den eigenen Siedepunkt wesentlich unpolarer und eignet sich daher auch für die Extraktion unpolarer Analyten.

Die Extraktion der Analyten ist allerdings nur ein Teil der gesamten Analyse. Von besonderem Interesse ist auch die anschließende Aufarbeitung und Reinigung des Extraktes. Diese kann sehr effektiv über flüssigchromatographische Methoden erfolgen. Allerdings benötigen diese mitunter ebenfalls große Mengen an hochreinen Lösungsmitteln. Weiterhin ist das Arbeiten mit dieser Art Säulenchromatographie meist der arbeitsintensivste

Schritt in der Schadstoffanalytik. Während andere Prozeduren vollkommen automatisiert ablaufen können, ist hier oft Handarbeit gefragt.

Die fortschreitende Miniaturisierung in vielen Arbeitsgebieten der Analytik findet sich auch im Bereich der Säulenchromatographie wieder. Für diese an kleinere Dimensionen angepaßte Säulenchromatographie hat sich der englische Begriff *solid phase extraction* (SPE) durchgesetzt, was übersetzt nichts anderes als Festphasenextraktion heißt und damit die zugrundeliegenden Vorgänge beschreibt. Die miniaturisierte Festphasenextraktion verwendet Kartuschensysteme mit erheblich weniger Festphasenmaterial. Mit Hilfe der Festphasenextraktion kann somit bei kleinen Proben- oder Analytmengen der Arbeitsaufwand reduziert werden. Auch der Einsatz an Lösungsmitteln wird verringert. Darüber hinaus kann, durch Abstimmung auf das Extraktionsverfahren, sogar eine Kopplung mit der Extraktion erzielt werden. Auf diese Weise sind dann kompakte, schnelle und lösungsmittelsparende Methoden zur Übersichtsanalytik in der Umweltchemie realisierbar. Einige Möglichkeiten zur Ausnutzung dieser Verfahren sollen in dieser Arbeit entwickelt werden.



## 2 Ziel der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung von Aufreinigungssystemen für die Kopplung an verschiedene Hochdruckextraktionsverfahren. Auf diese Weise soll nicht nur der gesamte Arbeitsablauf vereinfacht und beschleunigt werden, sondern insbesondere der Einsatz von organischen Lösungsmitteln verringert werden. Als Modellanalyten dienen hierbei die Gruppe der Dioxine als Vertreter für toxikologisch relevante Umweltschadstoffe.

Der erste Teil dieser Arbeit verfolgt das Ziel, ein bestehendes Extraktionsverfahren, welches ein organisches Lösungsmittel unter erhöhtem Druck und Temperatur zur Extraktion verwendet, zu verbessern. In dieses Verfahren gilt es, durch Einsatz unterschiedlicher Materialien für die Festphasenextraktion einen Aufreinigungsschritt für die erhaltenen Extrakte zu integrieren. Die hierdurch erzielte Aufreinigung soll eine Vereinfachung des Gesamtverfahrens ermöglichen.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wird angestrebt, den Gebrauch von organischen Lösungsmitteln noch weiter einzuschränken. Hierfür soll zunächst eine Methode zur Extraktion von Dioxinen mit der Heißwasserextraktion entwickelt werden. Die Heißwasserextraktion ermöglicht, schon während des Extraktionsschrittes auf organische Lösungsmittel zu verzichten. Außerdem wird die Fragestellung bearbeitet, ob hierdurch eine verbesserte Aufreinigung der Extrakte möglich wird.

Im Anschluß an die Heißwasserextraktion kann der große Polaritätsunterschied zwischen Analyt und dem Extraktionsmittel Wasser direkt ausgenutzt werden, um eine Abtrennung der unpolaren Dioxine von mitextrahierten Verunreinigungen zu erreichen. Dabei soll durch den Einsatz gebräuchlicher Festphasenmaterialien aus der Wasseranalytik ein einfaches und schnelles Aufreinigungssystem entwickelt werden. Dieses soll schließlich so weit optimiert werden, daß es eine gute Aufreinigungsleistung für ein schnelles und effizientes Verfahren zur Übersichtsanalytik von Dioxinen aus Bodenproben bietet.

## **THEORETISCHER TEIL**

### 3 Dioxine und Furane

#### 3.1 Struktur und Nomenklatur

Im allgemeinen Sprachgebrauch, wie auch in dieser Arbeit, wird der Begriff „Dioxine“ als Bezeichnung für eine sehr große Stoffklasse verwendet. Diese beinhaltet die polyhalogenierten Dibenzop-dioxine (PXDD) ebenso wie die polyhalogenierten Dibenzofurane (PXDF). Diese Verbindungen leiten sich von den planaren, aromatischen, trizyklischen Grundgerüsten des Dibenzop-dioxins und des Dibenzofurans ab, bei welchem zwei Benzolringe über eine bzw. zwei Etherfunktionen verknüpft sind (Oxaarene). Die Wasserstoffatome der Grundgerüste können hierbei unterschiedlich häufig durch Halogene substituiert sein, so daß bis zu acht Halogenatome pro Molekül vorkommen können (s. Abb. 3.1). Zur systematischen Bezeichnung der möglichen Substitutionspositionen werden die Ringatome nach IUPAC-Empfehlung numeriert.

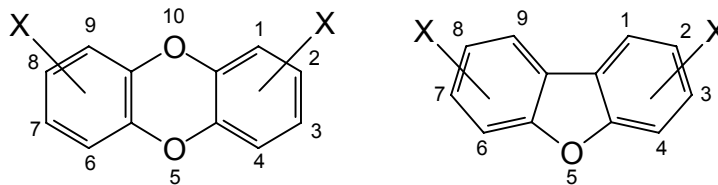


Abb. 3.1: Struktur der polyhalogenierten Dibenzop-dioxine und Dibenzofurane  
(Legende: X=F,Cl,Br,I)

Zur Einteilung der Dioxine in bestimmte Gruppen wird die Anzahl der Halogensubstituenten herangezogen und die einzelnen Verbindungen in die so genannten Homologengruppen mit gleicher Art und Anzahl von Halogenatomen eingeteilt. Lassen sich einzelne Vertreter dieser Substanzklasse von einem bestimmten Grundgerüst ableiten, so spricht man von Kongeneren (lat.: *con genus*: mit gleichem Stamm). Eine weitere Unterteilungsmöglichkeit bilden die unterschiedlichen Stellungsisomere der einzelnen Homologen. Berücksichtigt man nun alle chlorierten Isomere, so erhält man insgesamt 210 unterschiedliche polychlorierte Dibenzop-dioxine und Dibenzofurane, kurz: PCDD/-F.

Zur eindeutigen Bezeichnung der einzelnen Vertreter dieser großen Substanzklasse gibt es verschiedene Methoden [1,2,3]. Im weiteren wird jedoch nur die gebräuchlichste Methode, welche die Einteilung in Homologengruppen zu Grunde legt, verwendet. Hierzu wird die Anzahl der Chloratome und deren Position (nach Abb. 3.1) vor das Grundgerüst geschrieben. Es werden dazu folgende Kurzschreibweisen verwendet: TeC=Tetrachlor-, PeC=Pentachlor-, HxC=Hexachlor-, HpC=Heptachlor- und OC=Octachlor-. Die Endungen -DD (Dibenzop-dioxin) und -DF (Dibenzofuran) stehen für das Grundgerüst. Der durch den Chemieunfall in Seveso bekannteste Vertreter der Substanzklasse,

2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-p-dioxin, schreibt sich dementsprechend 2378-TeCDD (die Kommata entfallen). Weiterhin wird für die octachlorierten PCDD/-F auf eine Numerierung verzichtet (OCDD, OCDF). Da diese Arbeit ausschließlich die wichtigsten 17 Vertreter dieser Substanzklasse betrachtet, wird auf die Bezeichnung niedrig substituierter PCDD/-F ebenfalls verzichtet.

Diese wichtigen 17 Kongenere besitzen als gemeinsames und toxikologisch besonders relevantes Strukturelement eine Chlorsubstitution an den Positionen 2,3,7 und 8. Diese Vertreter der Dioxine werden als 2,3,7,8-Klasse bezeichnet und besitzen auf Grund ihrer hohen Toxizität eine besondere Beachtung in der Umweltanalytik. Sie werden als Leitkomponenten in der Routineanalytik herangezogen und ihr Gehalt in unterschiedlichsten Proben als Maß für die Dioxin-Belastung verwendet [4,5,6].

## **3.2 Eigenschaften der Dioxine und Furane**

### **3.2.1 Physikalische und chemische Eigenschaften**

Aus den physikochemischen Daten von Verbindungen lassen sich weitreichende Aussagen über ihr Verhalten treffen. Auch der Vergleich innerhalb ihrer Stoffgruppe und ihr Verhalten bezüglich anderer Stoffgruppen läßt sich einschätzen. So kann man aus ihnen auf die Verteilung und das Transportverhalten in den unterschiedlichsten Umweltkompartimenten schließen. Auch das chemisch-analytische Verhalten der Dioxine ist durch Kenntnis dieser Daten abschätzbar. Leider ist es auf Grund der zum Teil hohen toxischen Potenz einzelner Kongenere schwierig, Experimente zur Bestimmung dieser Parameter durchzuführen. Auch spielt der hohe Preis einzelner Verbindungen für die vorwiegend universitären Forschungseinrichtungen eine nicht unbedeutende Rolle.

In der Vergangenheit wurden daher immer wieder indirekte Verfahren oder Modellrechnungen zur Bestimmung der physikochemischen Eigenschaften herangezogen. Eine ausgewählte Auflistung dieser physikochemischen Daten befindet sich im Anhang (s. Kap. 12.2). Eine umfassendere Aufstellung findet sich in der Monographie „Dioxine“ von Ballschmiter und Bacher [7]. An dieser Stelle wird nur auf einige für diese Arbeit relevante Daten eingegangen.

Bei Raumtemperatur liegen die PCDD/-F als farblose, kristalline Festkörper vor. Ihre Schmelzpunkte liegen zwischen 103°C und 330°C [8,9] und die Siedepunkte zwischen 315°C und 537°C [9,10]. Die Dioxine zählen zu den schwerflüchtigen organischen Verbindungen. Als Maß für die Flüchtigkeit wird ihr Dampfdruck herangezogen. Dieser nimmt mit zunehmendem Chlorierungsgrad ab und liegt bei Raumtemperatur für tetra- und

höherchlorierte Dioxine bei Werten von  $10^{-6}$ - $10^{-10}$  Pa [11,12,13]. Da der Dampfdruck sehr stark von der Temperatur abhängt, muß dieser auch bei höheren Temperaturen, wie es zum Beispiel bei der gaschromatographischen Bestimmung der Fall ist, betrachtet werden. Als Regel kann man anführen, daß eine Temperaturerhöhung um  $10^{\circ}\text{C}$  zu einem um den Faktor 3-4 höheren Dampfdruck führt [14]. Der Dampfdruck der bromierten Dioxine ist niedriger als jener der chlorierten Verbindungen. In der Regel nimmt der Dampfdruck für jedes durch Brom substituierte Chloratom um ein Drittel des Wertes ab [15].

Für den im Umweltbereich und in der analytischen Probenaufarbeitung wichtigen Parameter der Wasserlöslichkeit bzw. der Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln, sind zuverlässige experimentelle Bestimmungen schwierig. Viele dieser Experimente erfordern sehr große Mengen an reinen Einzelsubstanzen, welche aus den oben genannten Gründen nur schlecht zu erhalten sind. Deshalb wird in der Regel der leichter zugängliche Wert des Octanol/Wasser-Koeffizienten ( $K_{\text{OW}}$ ), welcher umgekehrt proportional zur Wasserlöslichkeit der Dioxine ist, verwendet. Generell läßt sich sagen, daß die Wasserlöslichkeit der Dioxine sehr gering ist. So lösen sich bei Raumtemperatur nur 8-200 ng 2378-TeCDD in einem Liter Wasser [16] und sogar nur 74 pg OCDD [17]. Die  $K_{\text{OW}}$ -Werte belegen weiterhin, daß die Dioxine stark lipophile Substanzen sind. So ist die Löslichkeit besonders in aromatischen Lösungsmitteln wesentlich höher, z.B. 3575 mg OCDD pro Liter Xylol [18]. Daraus folgt, daß Dioxine in der Natur nur sehr schwer in wäßrigen Systemen transportiert oder durch Aufnahme in aquatische Organismen abgebaut werden können. Hinzu kommen ihre sehr ausgeprägte Reaktionsträgheit und thermische Stabilität [19], welche die wesentlichen Gründe für ihre Persistenz und ihr ubiquitäres Vorkommen sind. Lediglich durch photochemische [20,21] oder enzymatische [22,23] Reaktionen ist ein Abbau unter Normalbedingung möglich. So werden z.B. die Chlorsubstituenten durch UV-Licht abgespalten und dies bevorzugt in 2,3,7,8-Position, wodurch das Toxizitätspotential der Dioxine deutlich sinkt (s. Kap. 3.2.3).

### 3.2.2 Bildung und Quellen

Dioxine besitzen keine praktische Verwendung und werden aus diesem Grunde auch nicht gezielt in der chemischen Industrie hergestellt. Jedoch sind sie auf Grund ihrer hohen Bildungstendenz und Stabilität als Verunreinigungen oder unerwünschte Nebenprodukte in vielen chlor- und bromhaltigen organischen Chemikalien enthalten. Des weiteren können sie in thermischen Prozessen bei Einsatz von Chlor und Kohlenstoff oder chlororganischen Verbindungen allgemein als pyrosynthetisches Produkt entstehen. Auch die unvollständige Verbrennung bei Anwesenheit von Halogenen (de-novo-Synthese) ist Teil der komplexen Bildungschemie der Dioxine [24,25,26,27,28,29,30,31,32,33].

Hieran läßt sich auch die besondere Problematik des Dioxin-Eintrags in die Umwelt erkennen. Bei nahezu jedem Verbrennungsprozess an dem Halogene und organische Bestandteile beteiligt sind, können Dioxine entstehen. Die Müllverbrennung und industrielle Prozesse unterliegen daher in Europa strikten Verordnungen und haben damit kaum mehr einen Beitrag am Dioxin-Eintrag in die Umwelt [4,34]. Insbesondere der Einsatz von aktiven Filteranlagen und besserer Temperatursteuerung der Verbrennungsprozesse führte dabei zur Vermeidung von Dioxin-Emissionen. Allerdings darf auf der anderen Seite der private Hausbrand und vor allem die Entstehung von Dioxinen in Krematorien nicht außer Acht gelassen werden [35,36,37]. Gerade der letzte Fall gewinnt z.Zt. in Japan besonders an Bedeutung [38]. Ein weiterer großer Eintrag an Dioxinen in die Umwelt geschieht bei Brandunfällen, vorwiegend bei Großbränden [39]. Insbesondere bei Unglücken in Chemiefirmen, wie z.B. das bekannteste in Seveso, können lokal sehr hohe Dioxin-Konzentrationen auftreten.

### 3.2.3 Toxikologische Eigenschaften

Legt man die akute Toxizität zu Grunde, so ist das 2378-TeCDD die bislang toxischste synthetisch hergestellte Verbindung. Lediglich drei Naturstoffe, das Diphtherie-, das Tetanus- und das Botulismustoxin sind in ihrer Giftwirkung stärker [40,41]. Diese Daten beziehen sich jedoch auf Tierversuche und es konnte gezeigt werden, daß zum einen die direkte Übertragbarkeit auf den Menschen nicht gewährleistet ist und zudem die Wirkung von Organismus zu Organismus sehr verschieden sein kann [42].

Weiterhin ist eine chronische Schädigung durch Dioxine möglich. Jedoch ist hier eine genauere Bewertung schwierig, da die Halbwertszeit im menschlichen Organismus zwischen 6 und 16,5 Jahren angegeben wird [43]. Insofern ist durch das ubiquitäre Vorkommen der Dioxine jeder Mensch in gewissem Maße als belastet anzusehen. Ab welcher Belastung nun eine Schädigung eintritt konnte bisher keine Studie zeigen. So ist z.B. die als klinisch gesichert betrachtete Schädigung der Haut („Chlorakne“ [44]) durch akute Dioxin-Exposition bei schlankeren Menschen stärker ausgeprägt als bei Fettleibigen. Hieraus folgerte Zober, daß im Fettgewebe gespeicherte Dioxine toxikologisch weniger bedeutsam sind [45].

Schädigungen, die durch akute und chronische Belastung mit Dioxinen eintreten können, sind Chlorakne, Leberschäden, „Wasting-Syndrom“ (Form der Hypoglykämie), Herz-Muskel-Schädigung, Irritation der Atemwege und Schädigung des Zentralnervensystems. Des Weiteren ist im Tierversuch erwiesen, daß Dioxine karzinogen, mutagen, teratogen und immunsuppressiv wirken [43]. Gerade die Übertragbarkeit dieser im Tierversuch erwiesenen Schädigungen auf den Menschen wird zum Teil intensiv diskutiert. Bedenklich bleibt jedoch die Anreicherung der Dioxine im Fettgewebe auf Grund ihrer langen Halbwertszeit. Dies

spielt eine besondere Rolle bei belasteten Müttern in der Stillzeit. Durch Abgabe der Muttermilch, welche auf Grund ihres hohen Fettanteils ein Speicherort für Dioxine ist, kann daher dem Säugling eine sehr hohe Dosis an Dioxinen zukommen. Hierdurch kann die tägliche Belastung in dieser Lebensphase des Säuglings die der Normalbevölkerung übersteigen [46].

### **Toxizitätsäquivalente**

Die einzelnen Verbindungen, welche unter die Substanzklasse Dioxine fallen, weisen je nach Struktur unterschiedliche Toxizitätspotentiale auf. Um eine einheitlichere Behandlung zu gewährleisten und eine Vergleichbarkeit der Substanzen untereinander bzw. von mit verschiedenen Dioxinen belasteten Proben zu erzielen, wurden die Toxizitätsäquivalente (TEQ), bzw. Toxizitätsäquivalentfaktoren (TEF) definiert [47,48]:

$$TEQ = \sum(PCDD_i \times TEF_i) + \sum(PCDF_i \times TEF_i) \quad (1)$$

$PCDD_i$ ,  $PCDF_i$ : Konzentration der Dioxine und Furane

$TEF_i$ : zugehöriger Toxizitätsäquivalentfaktor

Die Toxizitätsäquivalentfaktoren wurden hierbei auf das 2378-TeCDD als Verbindung mit der höchsten Toxizität in dieser Klasse bezogen, welche dadurch den Wert „1“ erhält. Somit gibt eine Angabe von „µg TEQ/kg“ die Belastung einer Probe durch alle in der Probe enthaltenen Dioxine in Relation zur Toxizität des 2378-TeCDD an.

Tab. 3.1: Toxizitätsäquivalentfaktoren nach [49]

Dioxine	TEF	Furane	TEF
2378-TeCDD	1,0	2378-TeCDF	0,1
12378-PeCDD	1,0	12378-PeCDF	0,05
		23478-PeCDF	0,5
123478-HxCDD	0,1	123478-HxCDF	0,1
123678-HxCDD	0,1	123678-HxCDF	0,1
		234678-HxCDF	0,1
123789-HxCDD	0,1	123789-HxCDF	0,1
1234678-HpCDD	0,01	1234678-HpCDF	0,01
		1234789-HpCDF	0,01
OCDD	0,0001	OCDF	0,0001

Besondere Aufmerksamkeit muß hierbei dem 12378-PeCDD und den beiden octachlorierten Verbindungen gelten. Diese Werte wurden, in Folge einer Konferenz der Weltgesundheitsorganisation (*world health organization*, WHO) im Jahr 1997 in Stockholm, Anfang 1998 neu angepaßt [49,50]. Im Gegensatz zu den bisherigen Werten der NATO (*north atlantic treaty organization*) von 1988 [47,48] wurde der Faktor für 12378-PeCDD von

0,5 auf 1 verdoppelt und die octachlorierten Verbindungen wurden um den Faktor 10 auf 0,0001 niedriger eingeschätzt. Durch die höhere Bewertung des 12378-PeCDD welches in den meisten Dioxin-Proben in höherem Anteil als die octachlorierten Verbindungen vorkommt, kommt es zu einem Anstieg des TEQ-Wertes von ungefähr 10% im Vergleich zu älteren Berechnungen [50].

### 3.2.4 Umweltrelevanz

Auf Grund der hohen Persistenz und des stark schädigenden Potentials besitzen einige Stoffe oder Stoffgruppen eine besondere Relevanz für die Umwelt. Hier gilt es, die aktuellen Emissionen und Immissionen dieser Schadstoffe zum Schutz der Umwelt und auch des Menschen zu überwachen und einzudämmen. Hierdurch erhält die Kontrolle der Dioxin-Belastung in der Umwelt einen hohen Stellenwert. Es gelten daher verschiedene Gesetze und Regelungen zur Reinhaltung von Boden, Wasser und Luft. Für eine genauere Betrachtung sei jedoch auf die entsprechenden Gesetzestexte [4,51,52,53,54,55] oder allgemeine Literatur verwiesen [7,26,56]. Hier wird im folgenden nur auf einen für das Maß der Umweltbelastung wichtigen Wert eingegangen.

#### **TDI-Wert**

Dieser Wert steht für die Abkürzung des englischen Begriffes *tolerable daily intake* (tolerierbare tägliche Aufnahme). Hiermit ist die Menge an Substanz gemeint, bei welcher gerade noch kein negativer gesundheitlicher Effekt zu beobachten ist (engl.: *no observed adverse effect level*, NOAEL). Die Ausgangsbasis dieser Daten ist jedoch ein wissenschaftlich anerkanntes Tierexperiment, da epidemiologische Daten zu Dioxinen, wie bereits erwähnt, nicht vorliegen [57]. Aus Gründen der Unsicherheit in der Übertragbarkeit auf den Menschen wurde in Deutschland zum Schutz der Bevölkerung ein weiterer Sicherheitsfaktor in diesen Wert mit eingerechnet. So liegt der TDI-Wert des Bundesgesundheitsamtes seit dem Jahre 1994 bei  $1 \text{ pg/kg}_{\text{Körpergewicht}}/\text{d}$  [58]. Wie allerdings zu den TEQ-Faktoren bemerkt, wurden Ende des letzten Jahres die Werte von der WHO neu festgelegt. So wurde der TDI-Wert der WHO von  $10 \text{ pg/kg}_{\text{Körpergewicht}}/\text{d}$  auf  $1\text{-}4 \text{ pg/kg}_{\text{Körpergewicht}}/\text{d}$  verringert und erreicht somit den deutschen Wert. Die Höhe des TDI-Wertes entspricht jedoch nach Beck bereits der beobachteten Hintergrundbelastung der deutschen Bevölkerung [59].

Im weiteren Verlauf dieser Arbeit werden nun ausgewählte analytische Verfahren zur Bestimmung der Dioxin-Belastung von festen Proben vorgestellt.



## 4 Analytische Extraktionsverfahren

### 4.1 Soxhlet-Extraktion

Die seit über 100 Jahren bekannte Soxhlet-Extraktion ist auch heutzutage noch das Routineverfahren zur Fest/Flüssig-Extraktion. Da die Funktionsweise hinlänglich bekannt ist, soll hier nur auf die für diese Arbeit wichtigen Parameter eingegangen werden. Eine ausführlichere Zusammenstellung gibt Stieglitz [60]. Zur Dioxin-Extraktion wird in der Regel Toluol als Extraktionsmittel eingesetzt, wobei der Lösungsmittelverbrauch für eine typische Extraktion bei etwa 300-500 mL liegt. Die Extraktionszeit beträgt im allgemeinen 18-24 h.

Aus diesen Daten wird die besondere Problematik des Soxhlet-Extraktionsverfahrens in der Umweltanalytik deutlich. Diese Extraktionsmethode zeichnet sich durch einen hohen Verbrauch an organischen Lösungsmitteln aus und ist sehr zeitaufwendig. Andererseits gilt sie immer noch als eine der besten Fest/Flüssig-Extraktionsmethoden.

### 4.2 Extraktionen unter erhöhtem Druck

#### 4.2.1 Überkritische Fluidextraktion

Anfang der achtziger Jahre hielt die Extraktion mit überkritischen Fluiden (*supercritical fluid extraction*, SFE) Einzug in die analytischen Forschungslaboratorien. Die überkritischen Fluide besitzen ideale physikalische Eigenschaften für Extraktionen. Sie haben eine ähnlich niedrige Viskosität wie Gase, bei einer mit den Flüssigkeiten vergleichbaren Dichte. Hinzu kommt die große Vielfalt an einstellbaren Extraktionsparametern, z.B. Druck, Temperatur, Flußrate und die unterschiedlichen Möglichkeiten bei der Sammlung der Extrakte. Durch eine exakte Anpassung dieser Parameter konnten in der Vergangenheit die Ausbeuten bei verringertem Zeitaufwand und hoher Selektivität deutlich verbessert werden. Vor allem auf dem Sektor der Nahrungsmittel- und Fettanalytik wurden mit dieser Methodik gute bis sehr gute Ergebnisse erzielt [61,62]. Die daraufhin einsetzende Kommerzialisierung führte in den neunziger Jahren zu einem großen Angebot an Extraktionsgeräten.

Die aus praktischen Gründen vollzogene Festlegung auf CO<sub>2</sub> als Fluid schränkte die Anwendungsgebiete jedoch ein. Dieses Gas besitzt kein permanentes Dipolmoment und hat im überkritischen Zustand eine ähnliche Polarität wie n-Pentan [63]. Die Extraktion mancher Substanzen konnte erst durch die Zugabe von sogenannten Modifikatoren (Lösungsmittelzusätze zur Beeinflussung der Polarität) ermöglicht werden.

Trotz des zum Teil enormen Zeitgewinns und der Einsparung von großen Mengen an organischen Lösungsmitteln überwiegen jedoch für den kommerziellen Routinebetrieb die Nachteile. Systeme für die Überkritische Fluidextraktion lassen sich nur schwer automatisieren und sind sehr wartungsintensiv. Sie bieten eine große Anzahl an einstellbaren Parametern, so daß zu viele Faktoren Einfluß auf das Ergebnis nehmen. Diese Gründe tragen dazu bei, daß sich die Überkritische Fluidextraktion bisher nicht in der Umweltanalytik im Routinelabor durchsetzen konnte.

Der Aufbau von Geräten zur Überkritischen Fluidextraktion ist demjenigen der anderen Verfahren zur Extraktion unter erhöhtem Druck analog (s. Kap. 4.2.6). Im folgenden wird hier nur kurz auf die wichtigsten Unterscheidungskriterien und Verfahren bei der Extraktion mit überkritischen Fluiden eingegangen.

#### **4.2.2 Überkritische Fluidextraktion mit Wasser**

Die Extraktion mit überkritischem Wasser ist aus zweierlei Gründen nicht sehr verbreitet. Zum einen sind die Anforderungen an die Gerätschaften auf Grund der kritischen Parameter von Wasser ( $T_c$ : 374°C und  $p_c$ : 22,1 MPa) sehr hoch. Zum anderen ist Wasser im überkritischen Zustand kein inertes Lösungsmittel sondern ein exzellentes Reaktionsmedium [64,65].

Mehrere Arbeiten zeigen, daß Wasser im überkritischen Zustand im Vergleich zu flüssigem Wasser bei Raumtemperatur nur noch ein Sechstel der Wasserstoffbrückenbindungen ausbildet [66,67,68,69]. Vielmehr werden kleine Cluster von etwa fünf oder weniger Wassermolekülen beschrieben. Überkritisches Wasser verliert daher die Fähigkeit, Salze zu hydratisieren. Dafür ist es nunmehr in der Lage, Protonenaustauschreaktionen einzugehen oder Substanzen zu hydrolisieren [65,70]. Ist im Wasser gelöster Sauerstoff vorhanden oder Substanzen, die Sauerstoff freisetzen können, kann es zu starken Oxidationsreaktionen kommen.

Da Wasser in seinem überkritischen Zustand kein inertes Extraktionsmittel ist, kann es zur Verwendung in der analytischen Probenvorbereitung nur bedingt eingesetzt werden.

#### **4.2.3 Lösungsmittelzusatz in der überkritischen Fluidextraktion**

Wie bereits erwähnt, wird zur Beeinflussung des Lösevermögens und der Polarität von überkritischem CO<sub>2</sub> ein Zusatz an organischem Lösungsmittel, der sogenannte Modifikator, verwendet. Diese Zumischung kann prinzipiell auf zwei unterschiedliche Arten erfolgen:

- ♦ direkte Zumischung zum Fluid in einem bestimmten Prozentsatz
- ♦ vorherige Zugabe zur Probe und Extraktion mit „reinem“ Fluid

Der wesentliche Unterschied bei dem Zumischverfahren besteht im physikalischen Zustand des Modifikators. Wird er direkt zugemischt, befindet er sich in gelöster Form im überkritischen Fluid. Dagegen wirkt er bei einer vorherigen Zugabe in flüssigem Zustand ein. Erst im Verlaufe der Extraktion wird er, nachdem er zunächst einfach herausgespült wurde, im überkritischem Fluid gelöst. Bei Toluol ist dies z.B. erst ab einem Anteil von unter 30% möglich [71]. Es ist verständlich, daß beide Verfahren zu unterschiedlichen Ergebnissen führen. Verschiedene Forschergruppen haben jedoch im Laufe der Zeit herausgefunden, daß die direkte flüssige Aufgabe in der Regel von Vorteil ist (z.B. [72,73]). Für eine detailliertere Betrachtung sei allerdings auf ausführliche Zusammenfassungen verwiesen [74,75].

Der erhöhte Zusatz an Lösungsmitteln in der Überkritischen Fluidextraktion und auch die ausschließliche Verwendung organischer Lösungsmittel oder Wasser führte zu neuen Extraktionstechniken, für die zum Teil sehr ungewöhnliche oder verwirrende Namen gewählt wurden, Beispiele hierfür sind: *modifier assisted supercritical extraction*, *supercritical CO<sub>2</sub> assisted liquid extraction*, *enhanced fluidity extraction*, *accelerated solvent extraction*, *near-critical fluid extraction*, *superheated water extraction* und *subcritical water extraction*. Allen Verfahren ist jedoch eines gemeinsam: es werden Fluide unter erhöhtem Druck und bei Temperaturen über ihrem Siedepunkt verwendet. Eine konsequente Weiterentwicklung dieser Methodik ist die im folgenden beschriebene beschleunigte Lösungsmittelextraktion.

#### 4.2.4 Beschleunigte Lösungsmittelextraktion

Die beschleunigte Lösungsmittelextraktion (*accelerated solvent extraction*, ASE<sup>®</sup>) verwendet keinerlei überkritisches Fluid mehr. Vielmehr wird hierbei die Extraktionszelle mit dem Lösungsmittel komplett gefüllt. Diese wird dann auf eine Temperatur oberhalb dessen Siedepunktes gebracht. Damit das Lösungsmittel nicht verdampft wird auch hier ein Druck, in der Regel 10-20 MPa ausgeübt. Das Spülen der Zelle erfolgt im Anschluß mit „normalem“ gasförmigen Stickstoff [76].

Hierbei wird deutlich, daß nicht unbedingt der überkritische Zustand zur Extraktion notwendig ist. Die Verbesserung der Extraktionsausbeute und die Verringerung der Extraktionszeit beruhen in der Hauptsache darauf, daß das Lösungsmittel bei sehr viel höherer Temperatur auf das Extraktionsgut einwirkt. Richter konnte zeigen, daß der Einfluß des Druckes bei der beschleunigten Lösungsmittelextraktion äußerst gering ist [77]. Durch Wahl von Lösungsmitteln, welche auch bei der Soxhlet-Extraktion Verwendung finden, konnten viele Methoden direkt übertragen werden. Lediglich eine Verkürzung der Extraktionszeit reicht in der Vielzahl der Anwendungen. Auch die einfache Handhabbarkeit hatte entscheidenden Einfluß auf die Standardisierung dieser Methoden und ihren Einzug in Normen.

#### 4.2.5 Subkritische Wasserextraktion

Die subkritische Wasserextraktion (*subcritical water extraction*, SWE), auch als Heißwasserextraktion unter Druck (*pressurized (hot) water extraction*, P(H)WE) bezeichnet, verwendet Wasser als „nichtorganisches“ Lösungsmittel.

Um zu verstehen, warum Wasser als sehr polare Flüssigkeit geeignet ist, eher unpolare Moleküle wie organische Umweltschadstoffe und sogar Dioxine zu extrahieren, bedarf es einer kurzen Erklärung der Eigenschaften von Wasser oberhalb seines Siedepunktes.

Verwendet man als Maß für die Polarität des Wassers seine Dielektrizitätskonstante, so stellt man fest, daß diese mit zunehmender Temperatur abnimmt. Bei Raumtemperatur liegt sie bei  $\epsilon_{\text{H}_2\text{O}} \approx 80$ . Messungen haben ergeben, daß die Dielektrizitätskonstante folgender Gleichung gehorcht [78]:

$$\epsilon_{\text{H}_2\text{O}}(T) = \frac{5321}{T} + 233,76 - 0,9297 T + 0,001417 T^2 - 0,0000008292 T^3 \quad (2)$$

mit  $T$  als absolute Temperatur in Kelvin

Diese Gleichung gilt für Wasser im Gleichgewicht mit seinem Dampf. Dazu ist es selbstverständlich bei Temperaturen über 100°C den Druck des Systems derart zu erhöhen, daß das Wasser nicht siedet. Untersuchungen bei unterschiedlichem Druck zeigten erwartungsgemäß keinen Druckeinfluß auf die Dielektrizitätskonstante [79]. Somit ergibt sich folgende Abnahme der Dielektrizitätskonstante mit der Temperatur (s. Abb. 4.1):

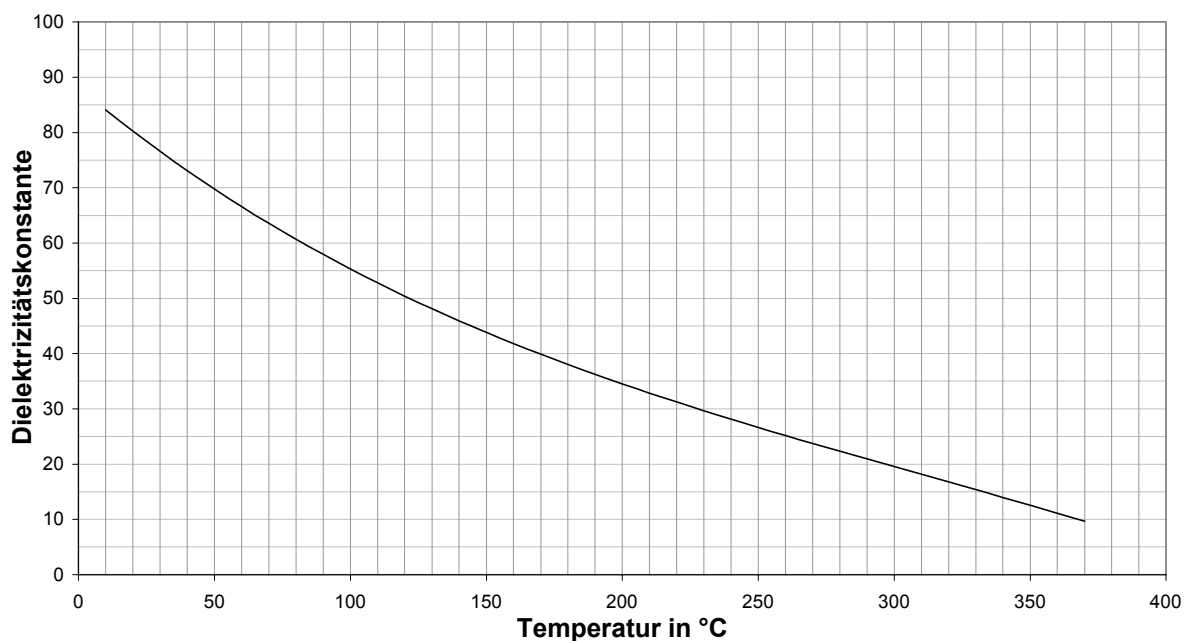


Abb. 4.1: Dielektrizitätskonstante von Wasser in Abhängigkeit von der Temperatur  
Daten aus obiger Gleichung

Hiermit ist es möglich, die Polarität des Wassers mit Hilfe der Temperatur zu steuern. So erreicht der Wert der Dielektrizitätskonstante bei ungefähr 200°C den von Methanol bei Raumtemperatur.

Aus der Graphik ist ebenfalls gut zu erkennen, daß die Dielektrizitätskonstante mit Werten von 80-20 im Temperaturbereich bis 300°C einen sehr großen Bereich abdeckt. Dies macht man sich vor allem in der Chromatographie mit subkritischem Wasser zu Nutze [80,81]. So ist es möglich, durch Steuerung über die Temperatur unterschiedlich polare Substanzen zu trennen.

Die Abnahme der Polarität und damit auch die Zunahme der Löslichkeit unpolarer Substanzen wurde bereits an einigen Modellsubstanzen untersucht. So konnte für Benzo[a]pyren, ein polyzyklischer aromatischer Kohlenwasserstoff, dessen  $k_{ow}$ -Wert von 6,27 im unpolaren Bereich liegt, eine deutliche Zunahme der Löslichkeit bei höheren Wassertemperaturen ermittelt werden (s. Tab. 4.1). Auch für einige relativ unpolare Pestizide wurden, alleine durch eine Temperaturerhöhung von 25° auf 200°C, zum Teil über 4000-fach bessere Löslichkeiten beobachtet.

Tab. 4.1: *Löslichkeit von Benzo[a]pyren, Propazin, Chlorthalonil, Endosulfan II in Wasser bei verschiedenen Temperaturen [82]:*

T in °C	Löslichkeit in µg/g			
	Benzo[a]pyren	Propazin	Chlorthalonil	Endosulfan II
25		6,3	0,18	0,27
50		13,7	0,8	1,1
100	0,04	106	28	30
150	6,5	2560	950	720
200	63,1	26800	23400	4500
250	1095			

Die bisher genannten Zusammenhänge zeigen auf, daß Wasser unter erhöhter Temperatur durchaus in der Lage ist, unpolare Substanzen zu extrahieren. Ein wesentlicher Vorteil dieser Methodik besteht hier, wie auch bei der überkritischen Fluidextraktion mit CO<sub>2</sub>, in der Verwendung eines sehr umweltverträglichen Extraktionsmittels und in der großen Zeitersparnis. Diese liegt in der Regel um den Faktor 10 oder höher. Darüber hinaus ist durch den großen Unterschied zwischen der Polarität des Wassers bei der Extraktionstemperatur und der Polarität während der anschließenden Aufreinigung des Extraktes bei Raumtemperatur ein leichteres Abtrennen der Analyten möglich.

#### 4.2.6 Allgemeiner Aufbau von Anlagen zur Hochdruckextraktion

Die einfachste Art, eine Vorrichtung zur Extraktion unter erhöhtem Druck aufzubauen, besteht in der Verwendung von Autoklaven oder einfachen Stahlzylindern. Diese können mit Substanz und Lösungsmittel befüllt, abgeschlossen und erhitzt werden. Der durch das erwärmte Lösungsmittel aufgebaute Druck kann durch die Menge an Lösungsmittel gesteuert werden. Hiermit sind allerdings nur sogenannte statische Extraktionen möglich.

Dynamische Extraktionen werden mit Anlagen möglich, die den Druck extern über eine Pumpe erzeugen können. In Abb. 4.2 soll beispielhaft gezeigt werden, wie solche Systeme prinzipiell aufgebaut sind.

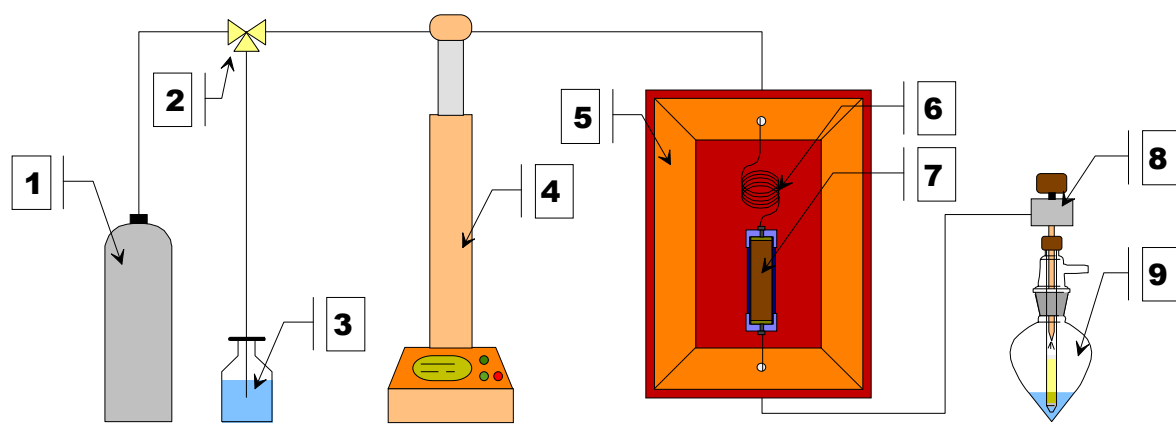


Abb. 4.2: Vereinfachtes Hochdruckextraktionssystem

1: Gaszylinder, 2: Ventil, 3: Lösungsmittelvorrat (flüssig), 4: Spritzenpumpe, 5: Ofen, 6: Heizschleife, 7: Hochdruckzelle (s. Abb. 5.5), 8: Restriktor (Nadelventil, heizbar), 9: Auffangeinrichtung (s. Abb. 5.6)

Aus dem Vorrat oder Gaszylinder wird das zur Extraktion verwendete Fluid in die Pumpe überführt, die den notwendigen Druck erzeugt. Hierbei können Kolben- oder Rotorpumpen zum Einsatz kommen, aber auch die weitverbreiteten Spritzenpumpen. Letztere erlauben einen höheren Enddruck, jedoch können nur mindestens zwei einen kontinuierlichen Betrieb ermöglichen. In der Vielzahl der Anwendungsfälle reicht jedoch das Lösungsmittelvolumen einer Pumpe (ca. 100 mL) für eine Extraktion aus. Die Verbindung zur Hochdruckzelle stellt eine Stahlkapillare dar, welche gleichzeitig als Heizschleife dient. Diese ist notwendig, um das Lösungsmittel während des dynamischen Betriebs auf die Extraktionstemperatur zu erwärmen. In der sich anschließenden Hochdruckzelle aus Edelstahl befindet sich das zu extrahierende Material. Das Analysengut wird durch geeignete Maßnahmen wie z.B. Edelstahlfritten oder Filter in der Zelle zurückgehalten. Heizschleife und Hochdruckzelle befinden sich gemeinsam in einem Ofen über den die Temperatur geregelt werden kann. Am Ausgang der Extraktionszelle schließt sich ein Regler an, welcher das unter hohem Druck stehende Fluid auf Normaldruck entspannt. Dieser sogenannte Restriktor besteht heutzutage

vorwiegend aus einem Nadelventil. Andere Ausführungen können z.B. sich periodisch öffnende Schaltventile sein oder Kapillaren über denen der Druckabfall erfolgt. Das entspannte Fluid, welches die extrahierten Bestandteile enthält, wird in einer Vorlage aufgefangen und gesammelt.

Andere Ausführungen dieser schematisch dargestellten Anlage unterscheiden sich meistens in der Art der Sammeleinrichtung. Diese kann beispielsweise temperiert sein, oder es werden Auffangmaterialien wie feste Adsorbentien oder Flüssigkeiten eingesetzt. Werden, wie in der beschleunigten Lösungsmittelextraktion üblich, Lösungsmittel verwendet, ist es evtl. nötig, diese vor der Restriktion zu kühlen, damit sie beim Austritt in die Sammeleinrichtung nicht verdampfen. Hierfür eignen sich Kühlschleifen und Thermostate. Gelegentlich wird dieser Effekt jedoch dazu benutzt, um das leichter siedende Lösungsmittel von den Analyten zu trennen. Da die Trennung der Analyten von dem Lösungsmittel nicht immer so einfach ist, müssen oft aufwendige Trennverfahren angewendet werden. Hiermit beschäftigt sich das nachfolgende Kapitel.

## **5 Aufreinigung von Extrakten aus Hochdruckextraktionen**

### **5.1 Allgemeines**

Bei jeder Extraktion wird neben den Analyten auch viel unerwünschtes Material extrahiert, die sogenannte Matrix. Dies läßt sich in der Regel, von wenigen besonders selektiven Extraktionsverfahren abgesehen, nicht vermeiden.

Im Bereich der Umweltanalytik stößt man jedoch häufig auf Substanzen, die nur sehr schwierig zu extrahieren sind. Hierfür müssen dann Verfahren angewendet werden, welche besonders hohe Extraktionsleistungen erzielen. Dadurch nimmt man jedoch billiger in Kauf, auch besonders viel Matrix zu extrahieren. Ebenfalls extrahierte Matrix belastet den weiteren Analysengang jedoch erheblich. So können darin enthaltene Substanzen bei der Bestimmung der Analyten interferieren oder diese überdecken und deren Bestimmung unmöglich machen oder zu falschen Ergebnissen führen. Hinzu kommt noch, daß die Analyten oft in sehr geringer Menge vorhanden sind und eine Anreicherung um einen Faktor von  $10^6$  oder mehr nötig machen. Daher kommt guten Aufreinigungs- und Anreicherungsverfahren eine besondere Bedeutung in der Spurenanalytik zu.

Hochdruckextraktionen mit flüssigen Lösungsmitteln sind im allgemeinen nicht sehr selektiv. Man erhält häufig Extrakte, welche im Vergleich zur Soxhlet-Extraktion einen höheren Gehalt an Matrix aufweisen. Um anschließend die Analyten der Bestimmung zuführen zu können, werden mitunter aufwendige Reinigungs- und Anreicherungsschritte vollzogen. Üblicherweise geschieht dies völlig unabhängig von der Extraktion. Ein wünschenswertes Ziel wäre es jedoch, diese Schritte bereits bei der Extraktion zu berücksichtigen und die beiden Teilverfahren Extraktion und Aufreinigung aufeinander abzustimmen. Dies würde eine Verkürzung der Analysengesamtdauer und eine einfachere Automatisierbarkeit oder Handhabung des Verfahrens bewirken. Einige Lösungsmöglichkeiten für die Aufreinigung von Extrakten aus Hochdruckextraktionen werden im folgenden aufgeführt.

### **5.2 Konventionelle Verfahren**

Im Bereich der Dioxin-Analytik gehört die Aufreinigung der Extrakte zu den wichtigsten Schritten. Auf Grund der sehr niedrigen Konzentrationen der Dioxine, oft in Bereichen von wenigen  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , stellt die Isolierung der Dioxine von unerwünschten Begleitverbindungen hohe Ansprüche an die verwendeten Verfahren zur Matrixabtrennung. Hier werden vor allem flüssigchromatographische Verfahren mit unterschiedlichen stationären Phasen eingesetzt (s. Tab. 5.1). Die zur Verwendung kommenden Lösungsmittel müssen hochrein sein, um Blindwerte durch die Aufkonzentrierung auszuschließen. Um über das gesamte



Aufreinigungsverfahren Verluste festzustellen und die Wiederfindungsrate der Dioxine zu gewährleisten, wird in der Regel mit der Isotopenverdünnungsanalyse (s. Kap. 6.3) gearbeitet.

Tab. 5.1: Flüssigchromatographische Trennphasen in der Dioxin-Analytik

Stationäre Phase	abzutrennende Störkomponenten*	Lit.
Aluminiumoxid	Unpolare halogenierte Aromaten: z.B. PCB, PCBz, PCN, höherchlorierte PCDE, DDE Schwefel, PAK Polare Verunreinigungen (z.B. Nitro-, Ketoaromaten)	[83,84]
Kieselgel (SiO <sub>2</sub> )	Polare Verunreinigungen, Lipide	[85,86]
Florisil (Mg-Silikat)	PAK, PCB, PCN, PCDE, PCSt, DDE	[85,87]
Kaliumsilikat, Calciumsilikat	Hydroxy-PCB, Hydroxy-PCDE, Lipide, saure Verbindungen	[88]
SiO <sub>2</sub> / H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	PAK (2-4 Ringe), Lipide, oxidierbare und sulfonierbare Verbindungen	[85]
SiO <sub>2</sub> / NaOH	Alkalisch-verseifbare Verbindungen	[87]
SiO <sub>2</sub> / AgNO <sub>3</sub>	Schwefelhaltige Verbindungen, polyhalogenierte Aliphaten	[87]
Aktivkohle	Nichtplanare Verbindungen	[85]
Gelpermeation	Höhermolekulare Verbindungen, Lipide	[89]

Aus obiger Tabelle ist ersichtlich, daß nicht alle störenden Substanzen mit nur einer Methode abgetrennt werden können. Man bedient sich hier aufeinanderfolgender Schritte, welche sich aus den Kombinationen der unterschiedlichen Phasen ergeben. Diese können nacheinander in getrennten Chromatographiesäulen oder auch in Mehrschichtsäulen durchgeführt werden. Daraus folgt ein sehr personal-, zeit- und lösungsmittelintensiver Arbeitsschritt. So werden z.B. in einem verkürztem Verfahren zur Dioxin-Bestimmung des TÜV Nord vier große Schwerkraftsäulen, eine Mehrschichtsäule und ein Flüssig/Flüssig-Verfahren für Proben die nur gering mit Matrix belastet sind angewendet. Der Zeitaufwand wird hierfür mit fast zwei Arbeitstagen angegeben [90]. Die Bestrebungen dies zu vereinfachen führten zu den automatisierten Verfahren mit Hilfe der Hochleistungsflüssigchromatographie (*high performance liquid chromatography*, HPLC).

\* Verwendete Abkürzungen der angegebenen Substanzklassen:

PCB: polychlorierte Biphenyle; PCBz: polychlorierte Benzole; PCN: polychlorierte Naphthaline;  
PCDE: polychlorierte Diphenylether; PCSt: polychlorierte Styrole; PAK: polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, DDE: Dichlordiphenyldichlorethen

### 5.3 Automatisierte Verfahren

Mit Hilfe der semipräparativen HPLC wurden bereits Dioxin-haltige Proben aufgearbeitet [91,92,93]. Hierbei konnten jedoch nicht alle Störkomponenten zufriedenstellend abgetrennt werden. Wie im vorherigen Kapitel bereits angesprochen, kann eine ausreichende Abtrennung der Matrix von den Analyten nicht mit nur einer Trennsäule erfolgen. Durch Kopplung mehrerer HPLC-Säulen unterschiedlicher Trenncharakteristik und der sogenannten *heart-cut*-Technik [94] ist die erwünschte Gruppentrennung der Dioxine jedoch möglich (s. Abb. 5.1).

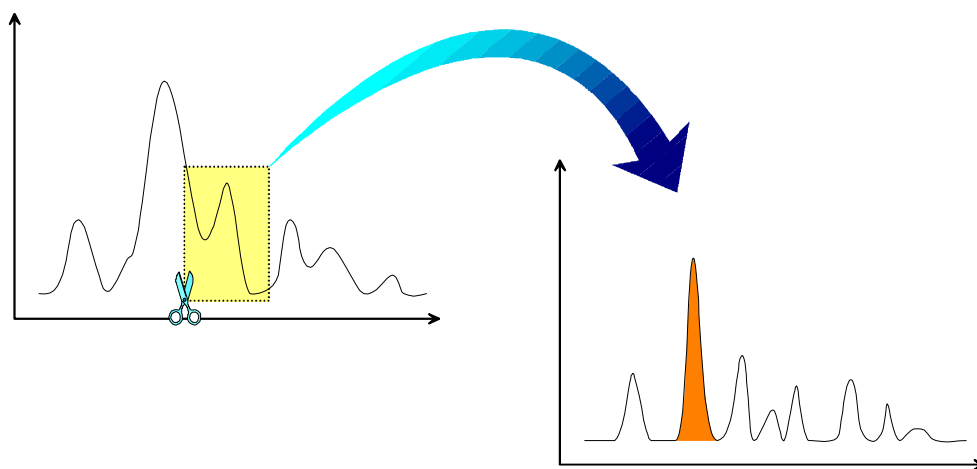


Abb. 5.1: Skizzierung der *heart-cut*-Technik

*Ein Teil des Eluates der ersten Trennung wird aufgefangen und in einem zweiten Schritt weiter aufgetrennt.*

Dabei wird auf der ersten chromatographischen Säule zunächst die Abtrennung von einigen Begleitstoffen erreicht. Die Dioxine werden hierbei jedoch noch nicht von sehr ähnlichen Komponenten getrennt, welche die analytische Bestimmung weiterhin behindern. Ein bestimmter Teil, das sogenannte Elutionsfenster in dem die Dioxine (und möglicherweise weitere Störkomponenten) zu finden sind, wird dann durch eine geeignete Schaltungstechnik (z.B. Mehrwegeventile) auf eine Trennsäule anderen Typs geleitet (*heart-cut*). Auf dieser zweiten Trennsäule wird dann unter anderen Retentionsbedingungen die Stoffgruppe der Dioxine abgetrennt.

In der Dioxin-Analytik wurde dieses Verfahren erstmals 1993 von Zebühr [95] eingesetzt. Weitere Verbesserungen konnten 1998 von Schrickel [96] im Rahmen eines Verbund-Forschungsprojektes des BMBF erzielt werden. Darüber hinaus konnte er das Verfahren erfolgreich bei der Analyse von Realproben einsetzen und zeigen, daß es prinzipiell geeignet ist, die konventionelle Aufreinigung zu ersetzen.

Bei diesem Verfahren wurde die Kopplung einer Aminopropylphase mit einer stabilisierten Kohlenstoffphase eingesetzt. Der Trennmechanismus der Aminopropylsäule beruht hauptsächlich auf  $\pi$ -Wechselwirkungen zwischen den freien Elektronen der Aminogruppen und den aromatischen Ringelektronen der Analyten. Als wesentliches Merkmal sei hier nur angesprochen, daß die aliphatischen Komponenten und kleinere Ringsysteme nur sehr gering retardiert werden. Weiterhin kann man eine Abschirmung des aromatischen Systems durch zunehmende Chlorsubstituenten beobachten, so daß z.B. Hexachlorbenzol bei Verwendung von Hexan als Eluens schneller als Benzol eluiert wird. Eine ausführliche Diskussion der Retentionsmechanismen findet sich bei Snyder [97] und anderen [91,98].

Beim Einsatz zur Aufreinigung von Extrakten muß besonders die geringe Stabilität der Aminopropylphase berücksichtigt werden. Durch die Aminofunktionen dieser Phase muß hierbei auf reaktive Komponenten in den Extrakten geachtet werden. Zu diesen zählen vor allem Säuren und Carbonylverbindungen (s. Abb. 5.2). Gerade letztgenannte Verbindungen können unter den zur Aufreinigung gewählten Parametern bereits mit der Festphase reagieren und diese deaktivieren.

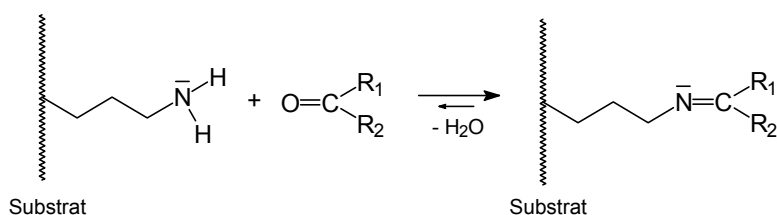


Abb. 5.2: mögliche Reaktionen mit der Aminopropylphase  
(Substratanbindung hier vereinfacht dargestellt)

Hierdurch wird die Lebensdauer der HPLC-Säule drastisch reduziert und es kommt bei zunehmender Belegung der Phase mit Addukten zu einer Verringerung der Trenneffizienz und Selektivität, welche sich in einer Verschiebung der Retentionszeiten bemerkbar macht. Dadurch können eventuell einige Analyten nicht mehr erfaßt werden. Durch die Verwendung einer kurzen Vorsäule mit z.B. Kieselgel [96], lassen sich einige die Säule schädigende Stoffe abtrennen. Besser ist es jedoch, bereits leicht vorgereinigte Extrakte einzusetzen, welche gerade von diesen Störstoffen befreit sind.

Der Trennmechanismus der Säule mit stabilisiertem Kohlenstoff als Festphase beruht ebenfalls auf aromatischen Wechselwirkungen. Hier sind durch die  $sp^2$ -Hybridisierung der Kohlenstoffatome in den Graphitschichten Wechselwirkungen mit den delokalisierten  $\pi$ -Elektronen für die Retention verantwortlich. Durch die Schichtstruktur kommt der Geometrie der Analyten eine besondere Bedeutung zu [99]. So werden zum Beispiel planare Aromaten, wie die Dioxine, besser retardiert als nichtplanare, wie z.B. einige Vertreter der polychlorierten Biphenyle [93]. Für planare Analyten ist allerdings die retardierende Kraft so

groß, daß anschließend große Mengen eines sehr starken Eluens, in diesem Fall Toluol, eingesetzt werden müssen, um eine Abtrennung von den PCB zu erreichen. Ein weiterer Weg, eine Trennung zu erreichen, besteht in der Technik des *backflushing*. Hierbei werden die Störkomponenten mit Hilfe eines oder mehrerer Eluenten „normal“ von der Säule gespült, wobei die Elutionskraft für die Analyten nicht ausreicht und diese am Säulenanfang verbleiben. Anschließend wird der Fluß über die Säule umgekehrt und mit einer geringeren Menge an starkem Eluens die Analyten von der Festphase gespült. Diese müssen bei dieser Technik nun nicht mehr die komplette für sie stark retardierende Säule passieren.

Durch Verwendung solcher Systeme ist es möglich, die Lösungsmittelmengen, die zur Aufreinigung benötigt werden, entscheidend zu verringern. Die Automatisierbarkeit trägt weiterhin dazu bei, die sehr arbeits- und vor allem zeitintensive konventionelle Aufreinigung zu verkürzen. Weiterhin kommt es zu Vorteilen im Arbeitsschutz, da das Hantieren mit großen Lösungsmittelmengen wegfällt und die automatische Anlage weit weniger unfallträchtig ist, als die zur Verwendung kommenden großen chromatographischen Schwerkraftsäulen aus Glas.

Das von Schrickel entwickelte Aufreinigungssystem wurde teilweise auch für diese Arbeit verwendet. Mit Hilfe dieses Systems ist es möglich einen Dioxin-haltigen Extrakt innerhalb von vier Stunden aufzureinigen. Dies entspricht gegenüber einer Aufreinigung nach einem konventionellen Verfahren (s.o.) einer Zeitersparnis von mehr als einem Arbeitstag. Eine detailliertere Funktionsbeschreibung des im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Aufreinigungssystems ist im Anhang in Kapitel 12.3 gegeben.

#### **5.4 Kopplung von Aufreinigungssystemen**

Die oben beschriebenen Extraktionssysteme verwenden alle Flüssigkeiten bzw. überkritische Fluide unter hohem Druck als Extraktionsmittel. Wie vorstehend beschrieben, werden auch bei automatisierten Verfahren auf Basis der HPLC unter Druck stehende Flüssigkeiten eingesetzt. Insofern liegt der Schluß nahe, das Extraktionssystem mit dem Aufreinigungssystem zu koppeln. Hierdurch erhält man ein Gerät, welches beide Schritte Extraktion und Aufreinigung ermöglicht.

Ein bereits oft in der Praxis anzutreffender Ansatz für eine solche Kopplung ist in Kapitel 4.2.6 kurz erwähnt. Es besteht bei den meisten Extraktionssystemen die Möglichkeit, die Sammeleinrichtung für die anfallenden Extrakte zur Aufreinigung zu verwenden. Die Sammeleinrichtung kann z.B. mit einem Adsorbens gefüllt werden, welches nicht nur die Analyten adsorbiert, sondern auch zur Aufreinigung derselben verwendet werden kann. Dies ist eine sehr einfach zu bewerkstellende Kopplung. Um nun weitere Möglichkeiten zu besprechen, ist es notwendig einige Begriffe und Unterscheidungsmerkmale zu definieren.

Betrachtet man ein Hochdruckextraktionssystem (s. Abb. 4.2) so läßt sich dies in zwei Bereiche aufteilen: den Hochdruckbereich vor dem Restriktor und den Niederdruckbereich danach. Befindet sich das Aufreinigungssystem im Hochdruckbereich, spricht man von „inline“-Aufreinigung. Bei der „online“-Aufreinigung erfolgt die Anbindung des Aufreinigungssystems im Anschluß an den Restriktor und somit im Niederdruckbereich. Zu guter Letzt bilden die „offline“-Aufreinigungssysteme den Normalfall bei Hochdruckextraktionen. Hier wird der Extrakt apparativ vollkommen unabhängig vom Extraktionssystem bearbeitet. Beispiele hierfür sind in vorstehenden Kapiteln (s. Kap. 5.2 und 5.3) gegeben.

Im folgenden wird nun auf einige Kopplungen von Aufreinigungssystemen mit Extraktionssystemen eingegangen.

#### 5.4.1 „inline“-Aufreinigungssysteme

Eine einfache Ausführung dieses Systems ist zum Beispiel ein 1993 von Foster praktiziertes Verfahren zur „inline“-Aufreinigung bei der Überkritischen Fluidextraktion [100]. Die Extraktionszelle wird hierbei mit einem Adsorbens (hier Florisil) zu einem Gutteil gefüllt und über einem Glaswollestopfen als Separator mit dem Extraktionsgut befüllt (s. Abb. 5.3).

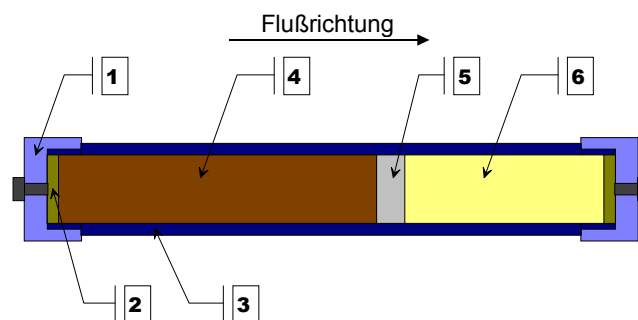


Abb. 5.3: einfachstes „inline“-Aufreinigungssystem

1: Verschlusskappe, 2: Verschlussfritte, 3: Edelstahlrohr, 4: Extraktionsgut,  
5: Glaswolle, 6: Adsorbens

Hierbei dient das Adsorbens als Auffangmaterial für extrahierte bzw. eluierte Matrixbestandteile. Somit kann durch Anpassung des Adsorbens an die jeweilige Matrix die Aufreinigung einer großen Zahl von Extrakten von verschiedenen Matrices erreicht werden. In der Arbeit von Foster besteht die Matrix beispielsweise aus pflanzlichen Lipiden. Andere Arbeiten auf diesem Gebiet beschäftigen sich ebenfalls mit biologischen Materialien insbesondere Gewebe, da gerade hier die Abtrennung des hohen Fettanteils wünschenswert ist. So auch in den Arbeiten von Maxwell, welcher mit einem ähnlichen Aufbau den Anteil der Sulfonamide in Hühnermuskel bestimmte [101]. Allerdings verwendete er dafür den

umgekehrten Weg und Aluminiumoxid diente hierbei als Adsorbens für die Analyten, nicht für die Matrix. Die Analyten mußten im Anschluß an die Extraktion extern von dem Adsorbens eluiert werden, nachdem es mühsam aus der Extraktionszelle entfernt worden war. In weiteren Arbeiten konnte dieses Verfahren vereinfacht werden und an Stelle von losen Adsorbentien wurden kommerzielle Festphasenextraktions-Kartuschen (*solid phase extraction, SPE*) verwendet [102].

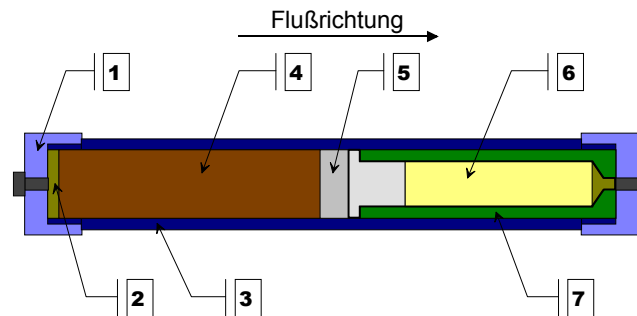


Abb. 5.4: SPE-Halterung nach Maxwell [102]

1: Verschlusskappe, 2: Verschlussfritte, 3: Edelstahlrohr, 4: Extraktionsgut,  
5: Glaswolle, 6: Adsorbens in SPE-Kartusche, 7: Teflon-Halterung

Eine weitere Möglichkeit Adsorbentien zur Aufreinigung in das Hochdrucksystem zu integrieren, besteht in der Verwendung mehrerer Extraktionszellen in Reihe. Hierbei wird nur die erste Zelle mit dem Extraktionsgut befüllt und in die weiteren Zellen das Adsorbens gegeben. Die einfachste Anordnung ist eine „Zwei-Zellen“-Ausführung wie in Abb. 5.5 dargestellt.

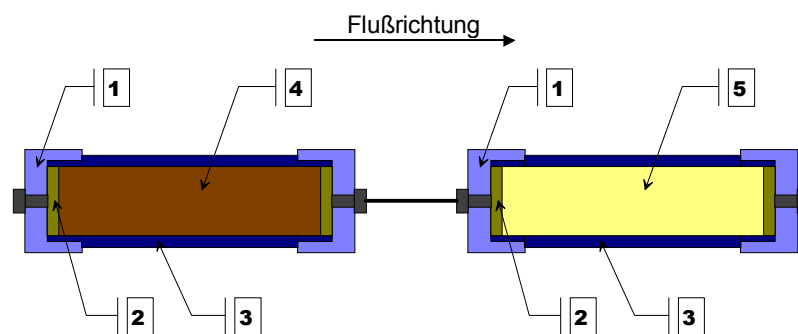


Abb. 5.5: „Zwei-Zellen“-Extraktionssystem

1: Verschlusskappe, 2: Verschlussfritte, 3: Edelstahlrohr, 4: Extraktionsgut,  
5: Adsorbens

Für Untersuchungen zur Extraktion und Aufreinigung von polychlorierten Biphenylen in Stäuben haben Yang und Baumann zehn solcher „Aufreinigungszellen“ in Reihe geschaltet und einzeln untersucht [103]. Als Adsorbens wurde hierbei ein C<sub>18</sub>-Material verwendet. Die Untersuchungen zeigten, daß die Analyten zwar sehr gut von der Matrix getrennt werden konnten, allerdings nur in den jeweils letzten zwei bis drei Aufreinigungszellen

zurückgehalten wurden. Das Adsorbens besaß also bei den gewählten Extraktionsbedingungen keine ausreichende Retentionskraft für die Analyten. Oder die zur Extraktion gewählten Bedingungen waren so stark, daß die Analyten auch vom Adsorbens extrahiert bzw. direkt wieder eluiert wurden.

Dies ist allgemein ein Problem der „inline“-Aufreinigung. Die Adsorbentien und die Extraktionsbedingungen müssen konsequent aufeinander abgestimmt werden. Verschärft wird diese Problematik weiterhin durch den Einsatz von Modifikatoren in der Überkritischen Fluidextraktion. Diese wirken in der Regel als ideales Eluens. Dies konnte auch von Yang und Baumann beobachtet werden. Bei Verwendung von Methanol als Modifikator (bei nur 2 Vol.%) wurden deutliche Minderbefunde der niedrig chlorierten PCB bei dieser Methode festgestellt [103].

Im Bereich der Umweltanalytik ist oft die Anbindung der Analyten an die Matrixbestandteile sehr stark. Dies macht verständlicherweise drastische Extraktionsbedingungen notwendig (vgl. Kap. 4.2). In der „inline“-Aufreinigung müssen also Adsorbentien verwendet werden, welche eine ausgeprägte Affinität für entweder unerwünschte Matrix oder die Analyten besitzen. Hierbei muß allerdings auch die Praktikabilität berücksichtigt werden. Wird das Adsorbens so gewählt, daß die Analyten besonders stark retardiert werden, um den Extraktionsbedingungen zu widerstehen, müssen im Anschluß auch besonders drastische Bedingungen gewählt werden, um die Analyten wieder vom Adsorbens zu eluieren.

Die „inline“-Aufreinigung stellt jedoch bei matrixbelasteten Proben die einzige Möglichkeit dar, Gerätekopplungen durchzuführen. Hierbei ist gemeint, daß die zu untersuchenden Analyten direkt einem Analysengerät zugeführt werden. Daher muß innerhalb des Gerätes, welches die Extraktion und die Aufreinigung erledigen soll, schon eine Trennung zwischen Matrix und Analyt erfolgen, damit die empfindlichen Meßinstrumente durch die Matrix nicht belastet werden oder das durch die Matrix hervorgerufene Signal nicht das der Analyten überdeckt.

Gebäuchlich ist diese Anwendung bei der Überkritischen Fluid Chromatographie (*supercritical fluid chromatography*, SFC). Hier wird der Extrakt oder ein Teil davon mit Hilfe geeigneter Ventilschaltungen auf eine gepackte SFC-Säule geleitet und dort chromatographisch getrennt. Daneben sind auch Anwendungen/Kopplungen mit der Gaschromatographie und der HPLC möglich. Da dies jedoch nicht der Gegenstand dieser Arbeit ist, sei hier auf die ausführliche Zusammenstellung von Greibrokk verwiesen [104].

### 5.4.2 „online“-Aufreinigungssysteme

Diese recht einfach durchzuführende Kopplungsvariante wurde eingangs schon erwähnt. Im Prinzip schließen sich hier die Verfahren an, welche direkt an den Restriktorausgang gekoppelt sind. Der durch das System erzeugte Fluß wird genutzt, um das sich in der Sammeleinrichtung befindliche Adsorbens zu durchspülen. Dieses Verfahren wurde in der Arbeitsgruppe von Kleiböhmer schon recht früh erfolgreich eingesetzt [105,106]. Kontinuierliche Weiterentwicklungen führten zu dem in Abb. 5.6 dargestellten einfach zu handhabenden modularen Aufbau.

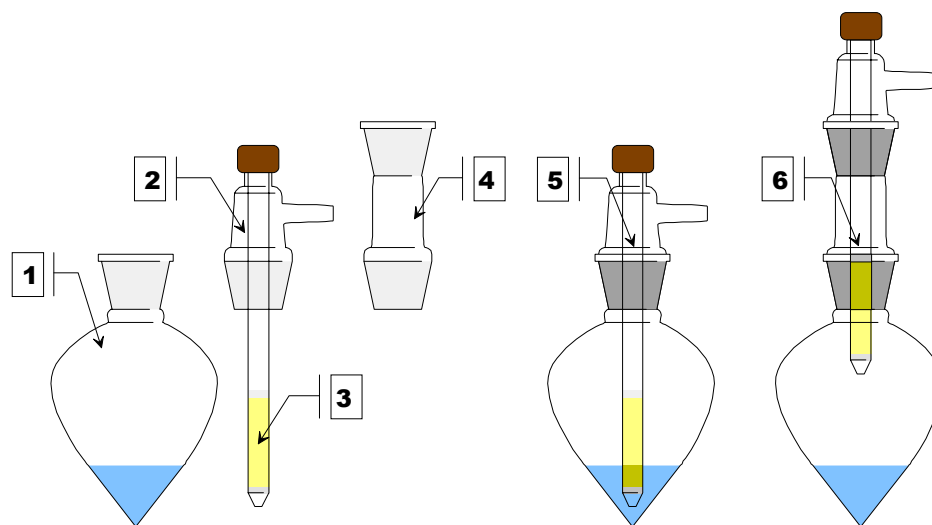


Abb. 5.6: Fest/Flüssig-Sammeleinrichtung

- 1: Spitzkolben mit Lösungsmittel, 2: Einleitungsrohr, 3: Adsorbens,,  
4: Verlängerungsstück - rechte Seite: Kombination zum 5: Sammeln und zur 6: Elution

Bei diesem Aufbau kann die Festphase nach Sammlung des Extraktes unter Einsatz des Verlängerungsstückes mit geeigneten Lösungsmitteln eluiert werden. Dieser Vorgang kann in die bereits zur Sammlung verwendete Vorlage erfolgen oder auch in andere Gefäße. Hierdurch lassen sich dann Fraktionierungen durch Wechsel der Vorlage durchführen.

Bei Ausführungen wie dieser bestehen ebenfalls zwei Möglichkeiten die Analyten von den störenden Matrixbestandteilen abzutrennen. Einerseits kann interferierende Matrix auf dem Adsorbens zurückgehalten werden. Hierbei sollten die Analyten so gut wie gar nicht mit dem Adsorbens in Wechselwirkung treten. Die Analyten können so direkt im Extrakt bestimmt werden. Aus eigenen Arbeiten konnte diese Art der Aufreinigung bereits erfolgreich bei der Bestimmung von Explosivstoffen aus Boden eingesetzt werden [107,108].

Auf der anderen Seite bietet der Weg, die Analyten selektiv auf dem Adsorbens zurückzuhalten, mehr Möglichkeiten für die spätere Weiterverarbeitung. So lassen sich



hierbei durch geeignete Wahl des Eluens bereits klassenselektive Vortrennungen durchführen [109].

Bei Rückhalt der Matrix kann es auf Grund ihres hohen Anteils zu Durchbrüchen oder auch zur Elution der Matrix durch Zusätze an Modifikator oder Lösungsmitteln die bei Hochdruckextraktionen verwendet werden kommen. Auch bei der Analyt-Sammlung besteht diese Gefahr. So können die Analyten schon während der eigentlichen Sammlung von der Festphase eluiert werden. Dieser Effekt wurde unter anderem durch Hartonen et al. bei Extraktionen von diversen chlorierten und bromierten Schadstoffen beobachtet [110]. Dabei zeigte sich, daß die zur Verwendung kommenden Festphasen insbesondere auf die Analyten abgestimmt werden müssen und außerdem der verwendete Modifikator nur gering mit der Festphase wechselwirken darf. Dieses Prinzip ist auf nahezu alle „online“-Aufreinigungssysteme übertragbar, sei es um die Matrix zurückzuhalten oder die Analyten zu adsorbieren.

Sehr selektive Festphasen, die bei der „online“-Aufreinigung zum Einsatz kommen können, stammen aus dem Bereich der Immunoaffinitätschromatographie [111,112,113]. Die Oberfläche dieser Phasen besteht aus immobilisierten Antikörpern, die eine sehr hohe Selektivität für eine bestimmte Substanz oder Substanzgruppe aufweisen. Dadurch können gezielt einzelne Analyten und auch Analytgruppen retardiert werden. Ein großes Manko dieser Festphasen ist die sehr aufwendige Herstellung und die Anfälligkeit der Antikörper gegenüber organischen Lösungsmitteln. Hier wäre für die bisher wenig erforschte Heißwasserextraktion ein ideales Einsatzgebiet.

Ein weiterer Punkt macht die Heißwasserextraktion für die „online“-Aufreinigung attraktiv (s. Kap. 4.2.5). Die große Differenz der Polarität des Wasser im Hochtemperaturbereich der Extraktionsanlage, für die in dieser Arbeit verwendete Definition entsprechend dem Bereich hohen Druckes, im Vergleich zu der Polarität bei niedriger Temperatur, ist zum Zwecke der Aufreinigung ideal. Hier lassen sich die eher unpolaren Analyten leichter von dem polaren Lösungsmittel oder auch von den Matrixbestandteilen trennen. Zudem liegt der Schluß nahe, die bereits in der Wasseranalytik zum Einsatz kommenden Festphasen, welche hier bereits sehr gut auf ihre Eigenschaften untersucht worden sind, auch für „online“-Aufreinigungssysteme zu verwenden.

Gerade dieses Gebiet ist zur Zeit noch recht wenig erforscht. Es liegen zwar einige Arbeiten vor, welche bei der Heißwasserextraktion Festphasen zur Sammlung der Analyten verwenden (z.B. [114,115,116,117]) jedoch ist bei keiner dieser Arbeiten der Effekt oder die Möglichkeit zur Aufreinigung untersucht worden. Daher liegt das Hauptaugenmerk dieser Arbeit neben der effizienten Sammlung der Analyten bei Hochdruckextraktionen auf der erfolgreichen Vorreinigung der Extrakte.

## 6 Bestimmung von Dioxinen

Dioxine liegen auch nach erfolgreicher Aufreinigung noch in komplexen Gemischen und weiterhin im Ultraspurenbereich vor. Dies stellt bei der Bestimmung dieser Substanzen eine große Herausforderung an die moderne Analysetechnik dar. Als Methode der Wahl hat sich hierfür die Kapillargaschromatographie mit anschließender massenspektrometrischer Detektion herausgestellt. Daneben haben allerdings andere Detektoren und Bestimmungsverfahren gerade in der Anwendung zur Übersichtsanalyse (*screening*) durchaus ihre Bedeutung.

### 6.1 Kapillargaschromatographische Trennung

Die Basis einer erfolgreichen Bestimmung der Dioxine liegt in ihrer isomerenspezifischen Trennung durch die hochauflösende Kapillargaschromatographie. Insbesondere die toxisch relevanten Kongenere der 2,3,7,8-Klasse können nur so erfolgreich getrennt erfaßt werden [118,119].

Eine zentrale Bedeutung kommt dabei der verwendeten Trennphase zu. So können bisher nicht alle Dioxine auf nur einer stationären Phase getrennt werden [120]. In der Regel werden zur sicheren Quantifizierung zwei unterschiedlich belegte Kapillaren verwendet. Hier wählt man vorwiegend eine unpolare Phase und eine mittelpolare bis polare Phase. Anschließend werden diejenigen Signale im Chromatogramm ausgewertet, welche überlagerungsfrei auf einer Säule eluieren. Auf Grund dieses hohen Aufwandes zur Bestimmung der Dioxine beschränkt man sich in der Regel auf die Klasse der 2,3,7,8-substituierten Dioxine (vgl. Kap. 3.2.3f). Diese Substanzen lassen sich schon auf den meisten der im letzten Jahrzehnt entwickelten, unpolaren Hochtemperaturphasen gut trennen [121]. Hierzu zählen Phasen mit einem Anteil von 5% Phenyl-, 95% Methylgruppen auf polymerem Siloxanträger (DB-5(ms), BPX-5, SE-54, Ultra-2, usw.). Hierbei wird die Trennphase chemisch an die Kapillarwand gebunden. Dadurch nimmt die Robustheit und Handhabbarkeit gegenüber den polaren Phasen, welche nur adhäsiv gebunden sind, stark zu. Auch die Temperaturbelastbarkeit ist mit weit über 300°C wesentlich höher, so daß eine Elution bei guter Trennung der zu bestimmenden Dioxine im temperaturprogrammierten Bereich möglich ist. Eine gute Anbindung an die Säulenoberfläche führt auch zu einem geringeren „Säulenbluten“ und damit zu einem geringeren Untergrund im Detektorsystem.

Es soll hier nicht verschwiegen werden, daß die Phasen höherer Polarität eine wesentlich höhere chromatographische Auflösung der einzelnen Kongenere bieten. Gut geeignet ist hierbei der Einsatz Cyanopropyl-modifizierter Siliconphasen [122]. Nachteilig für diese Phasen ist jedoch ihre geringe Temperaturstabilität und ein höheres „Säulenbluten“.

## 6.2 Detektoren

Wie eingangs erwähnt, müssen die Detektoren den hohen Anforderungen an die Ultrapurenanalytik genügen. Hier ist vor allem die Nachweisstärke für diese Gruppe der halogenorganischen Verbindungen gefragt. Diesen Forderungen kommen im wesentlichen zwei Detektoren nach: der massenspektrometrische und der Elektroneneinfang-Detektor.

### 6.2.1 Massenspektrometrischer Detektor (MSD)

Die Fähigkeit eines massenspektrometrischen Detektors zwischen Massen zu differenzieren wird gewöhnlich als seine Auflösung  $R$  angegeben, die wie folgt definiert ist:

$$R = \frac{m_1}{m_2 - m_1} \quad (3)$$

$m_1$ : Masse des ersten Signals

$m_2$ : Masse des zweiten gerade noch aufgelösten Signals

Bei den massenspektrometrischen Detektoren wird zwischen hochauflösenden (*high resolution mass spectrometry*, HRMS) mit einer Auflösung von etwa 10 000 bis 20 000 und niedrig auflösenden (*low resolution mass spectrometry*, LRMS) Detektoren mit typischen Auflösungen von 800 bis 1 000 unterschieden. In der routinemäßigen Dioxin-Analytik, in der es vor allem auf die Überprüfung von Grenzwerten ankommt, werden HRMS-Detektoren verwendet. Diese weisen eine wesentlich höhere Empfindlichkeit auf und sind wegen ihrer hohen Auflösung in der Lage, die Dioxine von Störkomponenten gleichen Molekulargewichts\* zu unterscheiden.

Im Forschungsbereich werden vorwiegend Massenspektrometer mit Quadrupolen als LRMS-Detektoren, welche als einfache Tischgeräte wenig Platz beanspruchen, verwendet. In jüngerer Zeit finden aber auch zunehmend nachweisstarke Ionenfallen (*ion trap*) Einzug in die Labore. Vorteilhaft gegenüber konventionellen niedrig auflösenden Massenspektrometern ist die Steigerung der Empfindlichkeit im sogenannten *full scan*. Hierbei sind diese Detektoren nahezu genauso empfindlich wie andere Detektoren (Quadrupol-Geräte) im *single ion monitoring* (SIM). Man behält jedoch weiterhin ein komplettes Massenspektrum als zusätzliches Qualitätskriterium. Eine ausführliche

---

\* mit „gleich“ ist hier eine Abweichung des Molekulargewichts in der zweiten bis vierten Nachkommastelle gemeint. So kann bei der Einzelionenbetrachtung (*single ion monitoring*, SIM) z.B. 2,3,7,8-TeCDD(<sup>35</sup>Cl<sub>4</sub>) mit einer Masse von 319,8966 amu erst bei einer Auflösung von 18 000 von dem verwandten 2,3,7,8-Tetrachlordibenzothiophen(<sup>35</sup>Cl<sub>4</sub>) (Masse: 319,8788 amu) unterschieden werden. Eine Übersicht welche Stoffe bei der Quantifizierung noch interferieren können findet sich bei Buser [118].

Zusammenfassung und Diskussion über den verwendeten *ion trap*-MSD findet sich bei Friedrich [123].

### 6.2.2 Elektroneneinfang-Detektor (*electron capture detector, ECD*)

Für Übersichtsanalysen (*screening analysis*) ist auch dieser Detektor hervorragend geeignet. Seine Anzeigeempfindlichkeit (*detector response*) gegenüber elektronenaffinen Verbindungen macht ihn zu einer günstigen Alternative gegenüber den doch recht teuren Massenspektrometern. Sowohl die molare als auch die massenbezogene Empfindlichkeit des ECD steigt mit zunehmendem Chlorierungsgrad an. Außerdem wird für entsprechende PCDF generell ein höheres Signal gegenüber den PCDD gemessen. Ein Vergleich des molaren *response* für die 2,3,7,8-Klasse in Tab. 6.1 macht die Leistungsfähigkeit dieses Detektors für die einfache Dioxin-Analytik deutlich.

Tab. 6.1: *Relativer molarer response für die 2,3,7,8-substituierten Kongenere der PCDD und PCDF normiert auf OCDD [124]:*

Dioxine	MSD	ECD	Furane	MSD	ECD
2378-TeCDD	0,88	0,17	2378-TeCDF	0,75	0,30
12378-PeCDD	0,92	0,43	12378-PeCDF	0,92	0,59
			23478-PeCDF	0,95	0,66
123478-HxCDD	0,83	0,93	123478-HxCDF	0,85	0,97
123678-HxCDD	0,95	1,09	123678-HxCDF	1,00	1,16
			234678-HxCDF	0,84	0,86
123789-HxCDD	0,93	1,00	123789-HxCDF	0,86	1,14
1234678-HpCDD	0,75	1,17	1234678-HpCDF	0,82	1,35
			1234789-HpCDF	0,69	1,23
OCDD	1,00	1,00	OCDF	0,78	1,16

Lediglich die niedrig substituierten Dioxine lassen sich mit dem ECD schwerer nachweisen. Da sie jedoch auf Grund ihres hohen toxischen Potentials von Bedeutung sind, ist dies sicherlich ein Nachteil. Allerdings spielt es z.B. bei der Entwicklung neuer Analysemethoden oder anderer experimenteller Parameter nur eine untergeordnete Rolle, da hier vorwiegend mit Standardlösungen der Dioxine gearbeitet wird. Diese können dann in ihrer Konzentration dem Meßbereich angepaßt werden.

### 6.3 Isotopenverdünnungsanalyse

Bei der Verwendung massenspektrometrischer Detektion hat man die Möglichkeit, die Isotopenverdünnungsanalyse (*isotope dilution analysis, IDA*) als Quantifizierungsmethode einzusetzen (siehe hierzu [125]). Diese Methode ist neben der Neutronenaktivierungs-

analyse das genaueste existierende Verfahren zur Quantifizierung in der Analytischen Chemie.

Hierzu werden die Analyten als isotopenmarkierte Standardsubstanzen der zu untersuchenden Probe zugesetzt. Analyt und Standard durchlaufen gemeinsam die Probenaufarbeitung, d.h. Extraktion, Sammlung, Aufreinigung, Verdünnung, usw. Auf Grund ihrer identischen chemischen Eigenschaften werden Analyt und Standard dabei gleichermaßen behandelt. Dadurch können Verluste, die Analyt und Standard gleich stark betreffen und z.B. bei der Aufarbeitung entstehen, durch Kenntnis der eingesetzten Menge an Standard erkannt werden. Weiterhin wird durch diesen Schritt der Verlust von Analyt (und Standard) durch Verhältnisbildung kompensiert.

In der Dioxin-Analytik werden vorwiegend  $^{13}\text{C}$ -markierte Standards verwendet, seltener  $^{37}\text{Cl}$ -markierte. Im Grunde ist für jeden Analyten ein entsprechend markierter Standard notwendig. Jedoch ist wegen des vergleichbaren *response*-Verhaltens innerhalb einer Chlorhomologengruppe schon ein isotopenmarkierter Standard für jede Homologengruppe ausreichend. Somit kann über Kalibrierlösungen der relative *response* für Analyt zu isotopenmarkiertem Standard nach folgender Gleichung ermittelt werden:

$$RF_A = \frac{A_A \cdot c_{IS}}{A_{IS} \cdot c_A} \quad (4)$$

$RF_A$ : *relativer response-Faktor des Analyten*

$A_A$ : *Signalfläche Analyt*

$A_{IS}$ : *Signalfläche isotopenmarkierter Standard*

$c_A$ : *Konzentration Analyt*

$c_{IS}$ : *Konzentration isotopenmarkierter Standard*

Da der relative *response*-Faktor idealerweise von der Konzentration unabhängig ist, läßt sich für eine Analysenlösung die Konzentration des Analyten durch einfaches Umstellen der Gleichung wie folgt berechnen:

$$c_A = \frac{A_A \cdot c_{IS}}{A_{IS} \cdot RF_A} \quad (5)$$

Man erkennt daraus, daß lediglich eine einmalige Kalibrierung notwendig ist. Sinnvoll ist jedoch auch hier der Einsatz von sogenannten Injektionsstandards zur Kontrolle der Wiederfindungsraten sowie der Qualitätskontrolle der Messung und des verwendeten Gerätes.

## **EXPERIMENTELLER TEIL**

## 7 Untersuchungen zur „inline“-Aufreinigung mit einem Modellsystem

### 7.1 Allgemeines

In diesem und den folgenden Kapiteln sollen verschiedene Verfahren zur Aufreinigung von Dioxin-haltigen Extrakten aus Hochdruckextraktionen untersucht werden. Diese Verfahren sollen alle direkt an das Extraktionssystem gekoppelt oder, wie in diesem Kapitel beschrieben, darin integriert werden. Wie in Kapitel 5.4 beschrieben, bestehen bereits einige Lösungen zur Kopplung von Extraktionsverfahren mit verschiedenen Aufreinigungssystemen. Diese sind jedoch nicht direkt auf die Extraktion von Dioxinen übertragbar. Im folgenden soll daher zunächst die „inline“-Aufreinigung zur Verwendung bei der Überkritischen Fluid Extraktion untersucht werden.

Zur Aufreinigung der Extrakte werden chromatographisch aktive Festphasen verwendet. Die Anforderung an derartige Festphasen ist im wesentlichen eine unterschiedlich starke Affinität zu den Komponenten des Extraktes. So sollen die Analyten stark retardiert werden, während die nicht erwünschte Matrix nicht zurück gehalten wird. Natürlich kann auch gerade der umgekehrte Fall vorliegen, Adsorption der Matrix auf der Festphase und Erhalt der Analyten im Extrakt, was ebenfalls zu einer Aufreinigung führt. Weiterhin müssen die Festphasen angepaßt an die Extraktionsbedingungen gewählt werden, um das gewünschte Ergebnis zu erzielen. Um nun unterschiedliche Festphasen, welche bei der Aufreinigung von Dioxin-haltigen Extrakten Verwendung finden können, zu charakterisieren, bedarf es eines geeigneten Verfahrens.

Betrachtet man die Definition zur „inline“-Aufreinigung bei Hochdruckextraktionen, so stellt die Überkritische Fluidchromatographie (*supercritical fluid chromatography*, SFC) im Prinzip eine Sonderstellung dieses Verfahrens da. So wird auch hier auf der chromatographischen Phase der Analyt von anderen Komponenten getrennt und analysiert. Weiterhin zeichnet sich die SFC bei der Verwendung von Säulen aus so genannten gepackten Materialien durch eine hohe Kapazität aus. Hier liegt also der Schluß nahe, die Überkritische Fluidchromatographie zur Charakterisierung gebräuchlicher Festphasen in Bezug auf die Eignung zur „inline“-Aufreinigung bei Hochdruckextraktion zu verwenden.

## 7.2 Apparativer Aufbau

### 7.2.1 Aufbau des Systems zur Überkritischen Fluidchromatographie

Die hier verwendete Anlage wurde aus Einzelkomponenten unterschiedlicher Hersteller zusammengestellt und zunächst mit kommerziell erhältlichen Gepacktsäulen zur Überkritischen Fluidchromatographie bestückt. Die Anlage ist in Abb. 7.1 dargestellt.

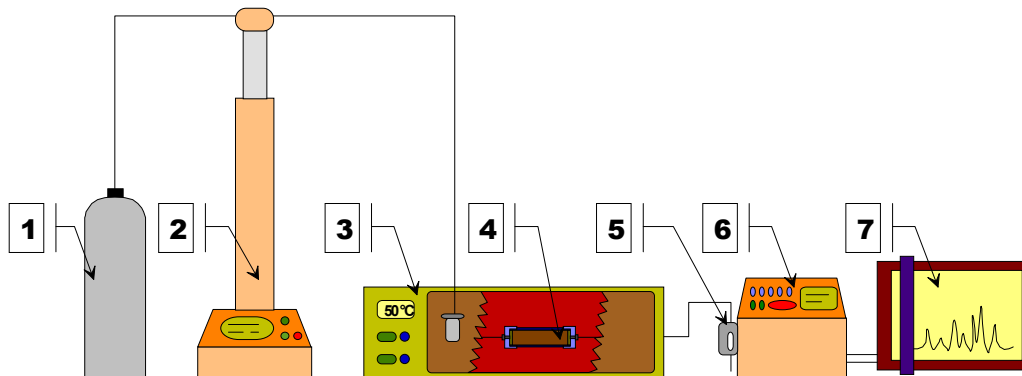


Abb. 7.1: Testsystem zur Überkritischen Fluidchromatographie mit selbstgepackten Säulen

- 1: CO<sub>2</sub>-Gasflasche mit Tauchrohr, 2: Spritzenpumpe mit Steuerung, 3: Säulenofen mit Injektionsventil, 4: Edelstahlzelle oder kommerzielle Chromatographiesäule, 5: UV-Detektionszelle mit anschließendem Restriktor (Kapillare), 6: UV-Detektor, 7: Schreiber

In der Überkritischen Fluidchromatographie werden, wie bei der Extraktion mit überkritischen Fluiden, Restriktoren verwendet, welche für den Druckabbau verantwortlich sind. Hier wurde eine Quarzkapillare verwendet, über welcher der Druck gemäß dem Gesetz von Hagen und Poiseuille abfällt.

### 7.2.2 Verwendete kommerzielle Gepacktsäulen

Wie bereits erwähnt, wurden zunächst kommerziell erhältliche Säulen verwendet. Hierbei handelte es sich um gepackte Säulen mit einem Grundkörper aus Kieselgel und angebondenen C<sub>18</sub>-Seitenketten (Nucleosil C<sub>18</sub>-PAH, Macherey-Nagel; Ultrasphere ODS, Beckmann). Beide Säulen besitzen sehr ähnliche Eigenschaften und unterscheiden sich vorwiegend im unterschiedlichen Herstellungsprozess.

### 7.2.3 Herstellung eigener Gepacktsäulen

Zur Untersuchung von Materialien welche in der „offline“-Aufreinigung verwendet werden, mußten chromatographische Säulen aus diesen Festphasen selbst hergestellt werden. Für



einen Vergleich zu den kommerziellen Chromatographiesäulen wurde auch hier zuerst ein C<sub>18</sub>-Material verwendet. Es handelt sich hierbei jedoch um ein hauptsächlich im Bereich der Festphasenextraktion gebräuchliches. Dieses Material, Chromabond C<sub>18</sub> fec (Macherey-Nagel), zeichnet sich in der Festphasenextraktion (*solid phase extraction*, SPE) durch ein besonders schnelles Elutionsverhalten aus. Die Abkürzung „fec“ steht hierbei für *fast eluting, endcapped*. Dieses schnellere Elutionsverhalten wird durch eine höhere Teilchengröße erreicht. Durch das Herstellungsverfahren soll laut Hersteller aber das Retentionsverhalten sowie die Kapazität gegenüber „normalen“ C<sub>18</sub>-Materialien gleich bleiben. Durch den Einsatz dieses Materials sollen die bei der Extraktion zum Teil üblichen hohen Flußraten ermöglicht werden.

Bei der Herstellung wurden zwei unterschiedliche Verfahren nach Meyer [126] eingesetzt. Das einfachere Verfahren ist die Trockenfüllung. Hierbei wird die Festphase unter sanftem Klopfen gegen die Edelstahlzelle in diese eingefüllt und die Zelle anschließend unter Vermeidung von Totvolumina verschlossen. Die Naßbefüllung wurde mangels Säulenfüllanlage auf anderem Wege durchgeführt. Hierzu ist eine SFE-Anlage derart modifiziert worden, daß ein Säulenfüllrohr für HPLC-Säulen verwendet werden konnte. Dieses ließ sich mit CO<sub>2</sub> unter Druck setzen, wodurch letztlich eine Packung der Festphase in einer Edelstahlzelle unter nassen Bedingungen erreicht wurde (s. Abb. 7.2).

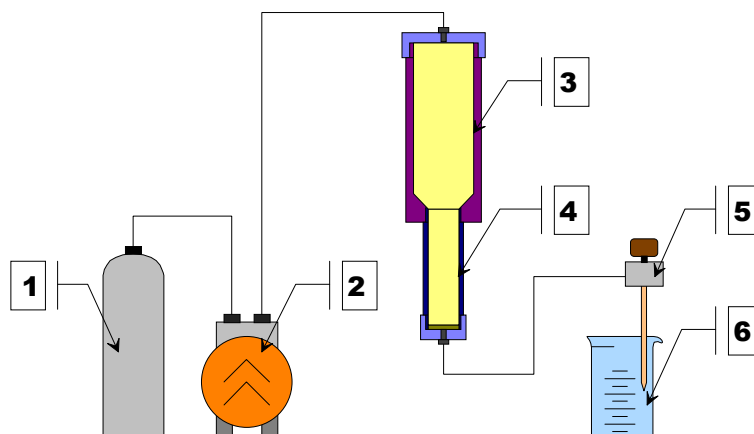


Abb. 7.2: Naßbefüllung der Gepacktsäulen

1: CO<sub>2</sub>-Gasflasche 2: SFE-Pumpe, 3: Säulenfüllrohr, 4: Edelstahlzelle (3 und 4 enthalten die Aufschlämmung der Festphase im Lösungsmittel), 5: Restriktor, 6: Auffangbehälter

Die als Säule dienende Edelstahlzelle und das Füllrohr wurden mit einer Aufschlämmung aus Festphase in 2-Methoxyethanol (Promochem) gefüllt. Dieses Lösungsmittel weist eine geeignete Viskosität auf, welche ein rasches Absinken der Partikel entsprechend ihrer Partikelgröße und damit eine ungleichmäßige Größenverteilung in der Säule vermindert. Nach Verschließen der Apparatur wurde zuerst mit 10 mL Methanol gewaschen und dann

mit CO<sub>2</sub> bei 40 MPa und etwa 40-50°C die Lösungsmittel herausgespült. Hieraus ergab sich für die weitere Verwendung folgender Vorteil. In der Endphase des Spülvorgangs war das nunmehr überkritische CO<sub>2</sub> in der Lage, das 2-Methoxyethanol respektive das Methanol quantitativ aus der Zelle zu transportieren und gleichzeitig die Festphase für den weiteren Gebrauch zu konditionieren. Um eine Expansion der Packung durch enthaltenes unter Druck stehendes CO<sub>2</sub> zu vermeiden, wurde der Druck langsam über den Restriktor abgelassen und die Zelle erst dann geöffnet. Die erhaltene chromatographische Säule wurde bis zur Verwendung unter CO<sub>2</sub> aufbewahrt.

#### 7.2.4 Verwendete Modellösung

Wie in Kapitel 5 beschrieben, sind die zu untersuchenden Extrakte bei der Dioxin-Analytik in der Regel stark durch Matrix belastet. Hier sollte jedoch im Vorfeld zunächst geklärt werden, ob mit der oben skizzierten Anlage eine Gruppentrennung von bekannten ebenfalls auftretenden Komponenten erreicht werden kann. Hierbei boten sich strukturell sehr ähnliche Verbindungsklassen an, welche ebenfalls eine große Umweltrelevanz besitzen: Polyzyklische Aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) und Polychlorierte Biphenyle (PCB). Aus diesen beiden Stoffgruppen und der Stoffgruppe der Dioxine wurden jeweils zwei Vertreter herausgegriffen. Da die gewählten Substanzen (s. Tab. 7.1) innerhalb ihrer Gruppe recht unterschiedliche physikalisch-chemische Eigenschaften besitzen, kann so eine gewisse Abschätzung über das Gruppenverhalten getroffen werden.

Tab. 7.1: Verwendete Modellösung in Cyclohexan

in Klammern: Angabe der Ballschmimer-Nummer für PCB

PAK	PCB	PCDD
Fluoranthen	2,2'-Dichlorobiphenyl (4)	12478-PeCDD
Benzo[e]pyren	3,3',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl (127)	OCDD

### 7.3 Untersuchungen

Wegen der geringen Empfindlichkeit des UV-Detektors mußten Lösungen mit hohen Analyt-Konzentrationen verwendet werden. Bei den Untersuchungen mit den kommerziell erhältlichen Gepacktsäulen konnte eine Auftrennung des Gemisches in drei Bereiche, entsprechend der Zusammensetzung der Modellösung, festgestellt werden. Allerdings machte sich schon hier ein chromatographisches Problem bemerkbar. Druckschwankungen am Restriktorausgang infolge von kurzzeitigen Verstopfungen führen ebenfalls zu Schwankungen des Drucks in der Detektorzelle. Hierdurch wird die Dichte und damit der Brechungsindex des überkritischen Fluids in der Detektorzelle beeinflusst. Daraus resultiert

dann ein Rauschen des Detektorsignals. Trotz Heizung des Restriktors und Einsatz eines anderen Restriktortyps (Vari-Flow, Suprex) konnte dieses Rauschen nicht vollständig unterdrückt werden.

Bei Verwendung der kommerziellen Säulen führte das in diesem Fall leichte Rauschen lediglich zu einer Einbuße in der Empfindlichkeit. Wurden jedoch die selbstgepackten Säulen verwendet, konnte kein verwertbares Chromatogramm mehr erhalten werden. Prinzipiell konnte somit die Möglichkeit der Charakterisierung von Festphasen für die „inline“-Aufreinigung mit Hilfe der kommerziellen Festphasen im Ansatz gezeigt werden. Die Anforderungen an eine praktikable „inline“-Aufreinigung bei Verwendung von mit SPE-Material selbstgepackten Säulen konnten mit Hilfe dieser Untersuchungen jedoch nicht überprüft werden.

Da die apparativen Probleme trotz intensiver Bemühungen im Rahmen der zur Verfügung stehenden Möglichkeiten nicht behoben werden konnten, wurden weitere Untersuchungen zur „inline“-Aufreinigung ergebnislos eingestellt.

Vielversprechender erschien die Verwendung der Sammeleinrichtung zur „online“-Aufreinigung, mit welcher schon in früheren Arbeiten [107,108] gute Ergebnisse erzielt wurden. Auch ist hier der Aufwand in der Herstellung und Befüllung der zur Aufreinigung verwendeten Apparatur geringer.

## 8 Entwicklung eines „online“-Aufreinigungssystems zum Einsatz in der schnellen Dioxin-Analytik

### 8.1 Allgemeines

Ein Aspekt mit dem sich diese Arbeit beschäftigt, war Teil eines Forschungsvorhabens des Bundesministeriums für Wissenschaft, Bildung, Forschung und Technologie (BMBF+T) mit dem Titel „Entwicklung eines Dioxin-Screening-Verfahrens für den vor Ort-Einsatz bei Großbränden“ [127]. Im Rahmen dieses Forschungsprojektes sollte ein Screening Verfahren für die schnelle und einfache Bestimmung von Dioxinen erarbeitet werden. Zwei wesentliche Bereiche dieses Projektes waren die Entwicklung eines schnellen Extraktionssystems und einer automatisierten Aufreinigungsanlage. Beide Teile sollen im folgenden kurz vorgestellt werden.

#### 8.1.1 Verwendetes Extraktionssystem

Das von Friedrich [123,127] entwickelte Extraktionsverfahren kombiniert verschiedene moderne Extraktionstechniken. Es enthält Elemente der Überkritischen Fluidextraktion, der beschleunigten Lösemittelextraktion, sowie der Ultraschallextraktion (vgl. Kap. 4.2).

Grundlage des zum Einsatz kommenden Systems ist eine modifizierte SFE-Anlage (s. Abb. 8.1), deren Kernstück eine spezielle Extraktionszelle ist. Durch diese Konstruktion ist es möglich, während der Lösemittelextraktion zusätzlich Ultraschall einzukoppeln, um den zur Extraktion benötigten Energieeintrag zu erhöhen.

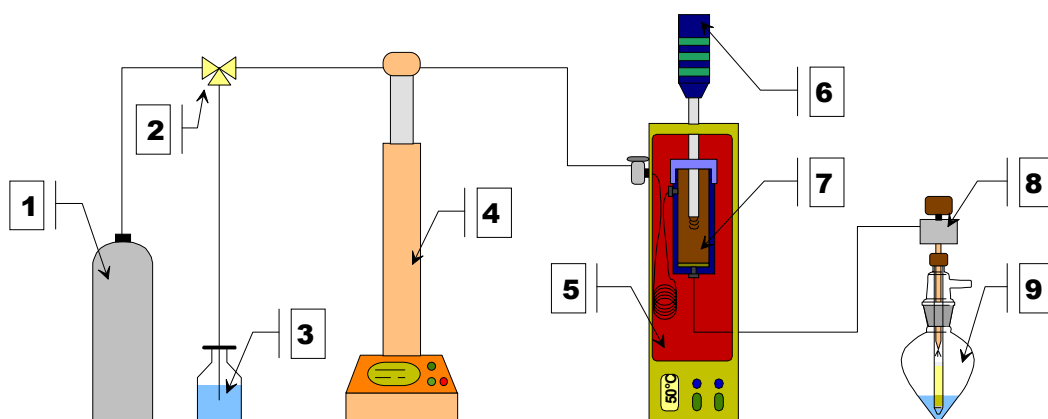


Abb. 8.1: *Ultraschallunterstützte Hochdruckextraktion (UHE)*

- 1: Gaszylinder, 2: Schaltventil 3: Lösungsmittelvorrat (flüssig), 4: Spritzenpumpe,  
 5: Ofen mit Ventilanschluß und Heizschleife, 6: Ultraschallerzeuger,  
 7: Extraktionszelle mit eingebautem Resonator, 8: Restriktor (Nadelventil, heizbar),  
 9: Auffangeinrichtung (s. Abb. 5.6)

In einem ersten Schritt wird die Extraktionszelle komplett mit Lösungsmittel gefüllt. Für die Extraktion der Dioxine von verschiedenen Materialien wird dazu ein Gemisch aus Toluol mit 2 Vol.% Trifluoressigsäure (*trifluoroacetic acid*, TFA) verwendet. Die Zelle wird auf 150°C erhitzt und bei 15 MPa statisch extrahiert. Während dieser Phase wird Ultraschall (250 W, 0,5 s Pulse) eingekoppelt. Anschließend wird mit CO<sub>2</sub> (fl.) das Lösungsmittel aus der Zelle gespült. Dieser erste Extraktionsschritt wird einmal wiederholt und durch eine dynamischen Extraktion mit 50 mL CO<sub>2</sub> (fl.) bei 150°C und 40 MPa bei einer Flußrate von ~1,5 mL/min abgeschlossen. Während dieses Extraktionsschrittes wird das unter Druck stehende flüssige CO<sub>2</sub>, bei einem Lösungsmittelanteil von unter 30%, überkritisch und trägt damit auch zur Extraktion bei. Die resultierende Gesamtzeit für dieses Verfahren beläuft sich auf ca. 90 min. Der Lösungsmittelverbrauch liegt bei nur 20-25 mL des Gemisches.

Der erhaltene Extrakt sollte im folgenden durch ein automatisiertes System aufgereinigt werden.

### 8.1.2 Automatisches Aufreinigungssystem

Dieser Teilbereich des Forschungsprojektes wurde von Schrickel [96] erarbeitet. Die Aufreinigungsanlage funktioniert nach dem in Kapitel 5.3 vorgestellten Prinzip der *heart-cut*-Technik und ist im Anhang in Abb. 12.1 dargestellt. Für die hier durchgeführten Arbeiten ist lediglich wichtig, daß dieses System in der Lage ist, eine Gruppenabtrennung der Dioxine von unerwünschten Begleitstoffen zu erreichen. Hierfür ist es auf Grund der Empfindlichkeit der ersten chromatographischen Säule jedoch notwendig, nicht nur das Injektionsvolumen gering zu halten, sondern auch den Extrakt vorzureinigen.

### 8.1.3 Kopplung beider Teilbereiche

In Kapitel 8.1.1 wurde das Extraktionssystem beschrieben. Ein wesentlicher Teil, welcher bei Hochdruckextraktionen eine große Bedeutung hat, wurde dort nicht berücksichtigt: die Sammeleinrichtung (vergl. Abb. 5.6). Diese bietet im Rahmen des Projektes bzw. dieser Arbeit die Möglichkeit, die anfallenden Extrakte nicht nur quantitativ zu sammeln, sondern gleichzeitig für eine genügende Vorreinigung zu sorgen.

Ein Hauptproblem bei der Zusammenführung der beiden Teilbereiche stellt jedoch das zur Extraktion verwendete Lösungsmittel dar. Wie oben erwähnt, fand ein Gemisch aus Toluol und 2 Vol.% Trifluoressigsäure Verwendung. Hierbei handelt es sich bei Toluol um ein in der elutropen Reihe weit oben stehendes Lösungsmittel. Trifluoressigsäure (TFA) ist hingegen eine starke organische Säure mit einem pK<sub>s</sub>-Wert von 0,23, welche als Additiv zur Steigerung der Extraktionsausbeute zugesetzt wird. Die Wirkungsweise dieses Additivs wird

dem Blockieren der aktiven Stellen der Matrix zugeschrieben [128,129]. So können die Analyten während der Extraktion nicht reabsorbieren und das Gleichgewicht wird zugunsten der Desorption der Analyten verschoben.

In den Arbeiten von Friedrich [123] wurde zunächst als Festphase 1 g Kieselgel mit einem Gewichtsanteil von 5% Wasser und als Lösungsmittel n-Hexan in der Vorlage verwendet. Hierdurch war eine effiziente Sammlung der Dioxine möglich. Durch den Einsatz von Kieselgel konnte bereits der störende Anteil an organischer Säure effektiv adsorbiert werden. Die Festphase wurde mit 15 mL n-Hexan direkt in die Vorlage gespült. Die erhaltenen Extrakte zeigten eine starke Färbung mit teilweiser Trübung. Nach dem zur Injektion in die automatische Aufreinigungsanlage notwendigen Einengen auf etwa 100 µL waren die Extrakte schmutziggelblichbraun gefärbt und wiesen einen stark aromatischen Geruch auf. Derart belastete Extrakte stellen eine starke Beanspruchung der von Schrickel [96] entwickelten HPLC-Aufreinigung dar. Dies führt im weiteren zu einer wesentlichen Verkürzung der Standzeit des Systems. Im folgenden sollte daher untersucht werden, welche Modifizierungen an dem verwendeten „online“-Aufreinigungssystem, insbesondere der darin zu verwendenden Festphase, zu einem wesentlich geringer mit Störkomponenten belasteten Extrakt führen.

## 8.2 Untersuchungen von verschiedenen Festphasen

### 8.2.1 Modelllösung

Bei den Untersuchungen zu den Elutionseigenschaften von verschiedenen Festphasen wurde die schon in Kapitel 7.2.4 verwendete Modelllösung (s. Tab. 7.1) um zwei Stoffe erweitert. Da bei den PCB die Rotation um die Phenylbindung durch Substitution an den Positionen 2 und 2' gehindert sein kann, unterscheidet man planare PCB von den so genannten koplanaren PCB. Wegen dieses Unterschiedes treten andere Sorptions- und Elutionseigenschaften auf. Da es mit Hilfe der hier verwendeten Methodik und des verwendeten Analysensystems möglich ist, planare PCB von koplanaren PCB gleichen Chlorierungsgrades zu unterscheiden, wurde für die weiteren Untersuchungen die in Tab. 8.1 aufgeführte Lösung verwendet.

Tab. 8.1: *Erweiterte Modelllösung*

*Angabe der Ballschmitter-Nummer für PCB in Klammern.*

PAK	PCB, koplanar	PCB, planar	PCDD
Fluoranthen	2,2'-Dichlorobiphenyl (4)	3,3'-Dichlorobiphenyl (11)	12478-PeCDD
Benzo[e]pyren	2,2',4,4',6-Pentachlorobiphenyl (100)	3,3',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl (127)	OCDD

Zur Quantifizierung der Untersuchungsergebnisse wurde zunächst eine Kalibration mit Hilfe von Gaschromatographie und massenspektrometrischer Detektion durchgeführt.

### ***Kalibration der Modellösung mit Hilfe des GC/MSD***

Die Kalibration wurde im Bereich von 12,5 - 200 pg/ $\mu$ L an einem Ionenfallen-Massenspektrometer (Finnigan GC-Q) durchgeführt. Zur Erstellung der Kalibrierfunktion wurden die einzelnen Analyten im *full scan* vermessen und die Integration auf den charakteristischen Einzelionenmassen des jeweiligen Analyten durchgeführt. Als Injektionsstandard wurde Methoxychlor (2,2-Bis-(4-methoxyphenyl)-1,1,1-trichlorethan) verwendet. Die GC/MSD-Parameter und die so erhaltenen Daten sind im Anhang in Kapitel 12.4.1 aufgeführt.

## **8.2.2 Kriterien zur Auswahl der Festphasen**

Wie in Kapitel 5.4.2 ausführlich beschrieben, stehen bei der „online“-Aufreinigung zwei Möglichkeiten zur Aufreinigung zur Verfügung. Zum einen lassen sich die Analyten auf der Festphase zurückhalten zum anderen die Matrix. Ein weiteres und entscheidendes Kriterium zur Auswahl der Festphasen ist jedoch das bei der Extraktion verwendete Lösungsmittel. Da das hier verwendete Toluol eine sehr starke Elutionskraft besitzt und auch mit einem Anteil von etwa 10 mL eingesetzt wird, bedarf dies besonderer Berücksichtigung. So mußten bei den nachfolgenden Untersuchungen Bedingungen gewählt werden, die der eigentlichen Extraktion sehr ähnlich sind.

Zunächst sollten Festphasen untersucht werden, welche die Analyten in genügendem Maße retardieren, um auf diesem Wege die Störkomponenten abzutrennen. Unter den oben genannten Bedingungen kommt für diese Aufgabenstellung nur die im folgenden vorgestellte Kohlenstoffphase in Frage.

## **8.2.3 Analyt-retardierende Festphase**

In den Arbeiten von Trost [130] wurden zur Abtrennung der koplanaren PCB von den planaren PCB verschiedene Kohlenstoffphasen untersucht. Eine wichtige Rolle für die Anwendung in der Festphasenextraktion spielen die spezifische Oberfläche und die Oberflächenstruktur. Für die gedachte Anwendung kommen daher besonders graphitische Oberflächen in Frage. Durch die planare Verteilung des  $\pi$ -Systems in der Graphit-Modifikation kommt es hier zu starken Wechselwirkungen mit dem ebenfalls planaren  $\pi$ -System der untersuchten Dioxine [131]. So könnte diese Gruppe von Festphasen alleinig

der ausgeprägten Elutionskraft des eingesetzten Toluols widerstehen und die Analyten ausreichend stark adsorbieren und dadurch eine Anreicherung der Analyten auf der Festphase ermöglichen. Diese Funktion erfüllt z.B. auch die von Schrickel [96] in der automatischen Aufreinigungsanlage eingesetzte Kohlenstoffphase (s. Kap. 5.3).

Als Fazit der Arbeiten von Trost konnte besonders eine der verwendeten Kohlenstoffphasen überzeugen. Diese wurde daher auch für die nachfolgenden Untersuchungen verwendet. Bei dieser zu untersuchenden Festphase handelt es sich um ein Gemisch aus Celite<sup>®</sup> und Aktivkohle im Massenverhältnis 98:2. Zur Herstellung sei auf Kapitel 12.5.1 verwiesen. Das verwendete Celite<sup>®</sup> dient hierbei hauptsächlich als Füllstoff bzw. Träger. Als erstes mußte zunächst die Wiederfindungsrate der Analyten von der verwendeten Aktivkohle-Phase bestimmt werden. Hierzu wurde in die bereits vorgestellte Sammeleinrichtung (s. Abb. 5.6) jeweils 500 mg Adsorbens eingefüllt (entsprechend einer Höhe von ca. 4 cm im Einleitungsrohr). Da man in der SPE-Analytik von ungefähr der vierfachen Menge an Lösungsmittel zur Konditionierung von Festphasen ausgeht, wurde das Adsorbens mit 2 mL Toluol konditioniert.

Die den Standard (4 ng/mL) enthaltende toluolische Modellösung von 10 mL wurde auf die Festphase gegeben und die Elution erfolgte hydrostatisch. Im Anschluß wurde mit 2 mL reinem Toluol nachgespült. Dies wurde als erste Fraktion aufgefangen. Die Menge an Lösungsmittel wurde bewußt so hoch gewählt, damit sie, wie bereits erwähnt, ungefähr der Menge an erwartetem Extrakt entspricht.

Als zweite Fraktion wurde das Eluat, welches mit 10 mL n-Hexan erhalten wurde, aufgefangen. Zum Schluß wurde noch eine Fraktion aufgefangen, welche mit einem Gemisch aus n-Hexan und Dichlormethan (1:1 V:V) eluiert wurde. Alle drei Fraktionen wurden am Rotationsverdampfer auf 1-2 mL eingeengt. Anschließend wurden 100 µL eines hochsiedenden Lösungsmittels (*keeper*) zugegeben und unter einem Stickstoffstrom auf dieses Volumen reduziert. Zur Analyse wurde noch der Injektionsstandard zugefügt. Diese Versuche wurden dreimal durchgeführt und die resultierenden Ergebnisse in Tab. 8.2 dargestellt.



Tab. 8.2: Wiederfindungsraten von der Aktivkohle-Festphase

*n.n.: nicht nachweisbar; n.b.: nicht bestimmbar*

Analyt	Wiederfindungsrate in %	Fehler in %
2,2'-Dichlorobiphenyl (4)	49,2	25,0
3,3'-Dichlorobiphenyl (11)	78,1	24,2
2,2',4,4',6-Pentachlorobiphenyl (100)	110,7	19,1
3,3',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl (127)	123,8	14,5
Fluoranthren	89,1	26,4
Benzo[e]pyren	n.b.	
12478-PeCDD	57,2	14,1
OCDD	n.n.	

Die Untersuchungen der Aktivkohle-Phase zeigten in der ersten Fraktion lediglich einen Anteil von ca. 57% des PeCDD, wohingegen das OCDD nicht nachgewiesen werden konnte. Allerdings konnte auch in den weiteren Fraktionen kein Dioxin mehr nachgewiesen werden. Wie die Tabelle zeigt, war auf diesem Wege keine Abtrennung von den PCB zu erreichen. Diese wurden bis auf PCB 4 recht gut wiedergefunden. Um den Verlust der Dioxine zu klären wurde das Festphasenvolumen probenhalber auf 2 g erhöht. Die anschließende Analyse zeigte dann, daß nun auch in der ersten Fraktion keine Dioxine mehr nachzuweisen waren. Dies ließ den Schluß zu, daß es sich in den vorhergehenden Untersuchungen lediglich um Durchbrüche gehandelt hat. Das Problem, welches sich nunmehr stellte, war, die sehr stark adsorbierten Analyten wieder von der Festphase zu eluieren. Dies konnte auch durch Erhöhung des Elutionsvolumens der eingesetzten Lösungsmittel nicht erreicht werden. Eine Alternative stellt Schwefelkohlenstoff als stärkstes Elutionsmittel für solche Analyt-Festphasen Kombinationen dar. Im Hinblick auf das Projektziel und das Ziel dieser Arbeit, möglichst einfache Verfahren unter geringem Einsatz an organischen und umweltschädlichen Lösungsmitteln einzusetzen, wurde auf Versuche mit Schwefelkohlenstoff, welcher hochgiftig und stark umweltschädigend ist, verzichtet.

Weitere Untersuchungen zu dieser Gruppe der Festphasen wurden nicht durchgeführt, da aus analytischen Gesichtspunkten nicht zu erwarten war, daß weitere Aktivkohlen-Phasen zu besseren Ergebnissen führen würden. Vielmehr stellte sich nun die Frage, in wie weit andere Festphasen dazu in der Lage sind, die Störkomponenten von den Analyten zu retardieren und somit zu trennen. Dies sollte im folgenden untersucht werden.

#### 8.2.4 Matrix-retardierende Festphasen

Zur Aufreinigung der zu erwartenden Extrakte sollten nun Festphasen verwendet werden, welche die mitextrahierten Matrixbestandteile zurückhalten und die Dioxine möglichst

ungehindert passieren lassen. Die im Bereich der konventionellen Aufreinigung mit Hilfe von Schwerkraftsäulen verwendeten „Mischphasen“ sollten ebenso Berücksichtigung finden. Dies sind durch Säuren oder Laugen behandelte Kieselgele, welche in Folge der Behandlung andere Trenneigenschaften aufweisen und bereits erfolgreich bei der Aufreinigung von Dioxin-haltigen Extrakten eingesetzt werden [132,133,134,135]. Da im Anschluß an die Extraktion der Extrakt in einer großen Menge an Toluol vorliegt, sollten Festphasen auf mineralischer Basis untersucht werden. Diese sind gegenüber Toluol als starkem organischen Lösungsmittel, im Gegensatz zu manchen organischen Polymerphasen, inert. Aus dem umfangreichen Sortiment der in Frage kommenden Festphasen wurden daher die in Tab. 8.3 aufgeführten Festphasen ausgewählt.

Tab. 8.3: *Verwendete Festphasen*

*Die Herstellung, bzw. Behandlung der verwendeten Festphasen ist im Anhang (Kap. 12.5) zu finden.*

<b>Festphase</b>	<b>Hersteller - Herstellung/Behandlung</b>
Kieselgel	Riedel-de-Häen - Kap. 12.5.2
Aluminiumoxid, basisch	Alox B; ICN
Florisil®	Riedel-de-Häen - Kap. 12.5.5
Kieselgel S (sauer)	Kap. 12.5.3
Kieselgel B (basisch)	Kap. 12.5.4
C <sub>18</sub> -modifiziertes Kieselgel	Bakerbond C <sub>18</sub> spe; Mallinckrodt-Baker

Für die anstehenden Untersuchungen mußte eine praktikable Menge an Festphasenmaterial ausgewählt werden. Da jedoch eine Abschätzung der Festphasenmenge über deren physikalische Größen, wie Kapazität oder Durchbruchvolumen, auf Grund der stark schwankenden und unbekanntem Matrixbestandteile nicht möglich ist, mußten andere Kriterien angewendet werden. Als maximal mögliche Menge in der verwendeten Sammeleinrichtung kommen etwa 1,5 g Festphase in Frage. Weiterhin lagen für den Betrieb der Sammeleinrichtung Beobachtungen an Extraktionen vor, welche von Friedrich [123] durchgeführt wurden. Dieser verwendete im Anschluß an die Extraktion die Sammeleinrichtung mit einer Füllung von 500 mg Festphase. Dabei konnte über der verwendeten Festphase ein farblicher Verlauf der stark gefärbten Matrixbestandteile festgestellt werden, welcher im oberen Bereich der Säule sichtbar war, während der untere Teil nicht erkennbar gefärbt wurde. Daher wurden die Untersuchungen mit 500 mg Einwaage begonnen.

Die Untersuchungen wurden analog den Bedingungen des vorhergehenden Kapitels 8.2.3 durchgeführt. Die einzelnen Festphasen wurden zu je 500 mg in eine Säule gegeben und ebenfalls mit Toluol konditioniert. Da Voruntersuchungen gezeigt haben, daß die verwendeten Festphasen für diese Anforderungen nicht rein genug waren, wurden sie mit je

10 mL Toluol gewaschen aber nicht getrocknet, so daß dies gleichzeitig der erwähnte Konditionierungsschritt war. Anschließend wurde der Standard in 10 mL Toluol aufgegeben und als erste Fraktion aufgefangen. Die beiden folgenden Fraktionen wurden wiederum mit je 10 mL n-Hexan sowie 10 mL n-Hexan/Dichlormethan eluiert und alle Fraktionen wurden getrennt analysiert.

Es fiel bei der Analyse sofort auf, daß in der zweiten und dritten Fraktion keine Dioxine mehr nachgewiesen werden konnten. Lediglich geringste, nicht zu quantifizierende Anteile an Benzo[e]pyren konnten nachgewiesen werden. Dagegen zeigte sich der größte Anteil der Analyten in der ersten Fraktion. Die Wiederfindungsrate von den einzelnen Festphasen in der ersten Fraktion ist in Tab. 8.4 angegeben.

*Tab. 8.4: Wiederfindungsraten der Modellösung in der ersten Fraktion der untersuchten Festphasen*

*Angaben in Prozent. Durchschnittlicher Fehler: ca. 15%.*

*S: sauer, B: basisch, n.b.: nicht bestimmbar*

<b>Analyt</b>	<b>Kieselgel</b>	<b>Alox B</b>	<b>Florisil</b>	<b>Kieselgel S</b>	<b>Kieselgel B</b>	<b>C<sub>18</sub></b>
PCB 4	37,0	59,0	57,8	n.b.	39,3	29,5
PCB 11	66,4	73,3	72,2	n.b.	60,7	54,5
PCB 100	82,6	84,7	83,8	78,2	73,8	72,2
PCB 127	99,0	96,5	102,8	101,0	91,9	90,2
Fluoranthen	98,7	121,5	102,6	126,5	110,4	89,6
Benzo[e]pyren	118,1	85,0	80,8	89,0	93,4	99,5
PeCDD	105,6	94,8	96,6	91,4	90,6	85,7
OCDD	116,1	132,5	95,9	125,9	129,1	105,3

Betrachtet man bei diesen Ergebnissen zunächst nur die für diese Arbeit relevanten Dioxine, so kann man bei allen untersuchten Festphasen in dieser ersten Fraktion sehr gute Wiederfindungsraten erkennen. Dies heißt, daß alle Festphasen die Dioxine unter den gewählten Bedingungen nicht retardieren und somit prinzipiell für den gedachten Anwendungszweck geeignet scheinen. Jedoch sind die zugesetzten PCB und PAK ebenfalls in großer Menge zu finden. Man kann also nicht davon ausgehen, daß diese Festphasen dazu in der Lage sind, zu Dioxinen strukturähnliche und begleitend auftretende Komponenten zurückzuhalten.

Auffällig an den obigen Ergebnissen sind lediglich die geringen Wiederfindungsraten der Dichlorobiphenyle. Diese bei nahezu allen Festphasen gleichermaßen geringen Ergebnisse konnten in weiteren Untersuchungen auf Verluste bei der Aufarbeitung zurückgeführt werden. Durch die gewählten drastischen Bedingungen während des Einengens am Rotationsverdampfer kam es hier zu Verlusten bei den gegenüber den anderen Komponenten leichter flüchtigen Dichlorobiphenylen. Einzig bei der Verwendung von

„saurem“ Kieselgel sind die Dichlorobiphenyle nicht bestimmbar gewesen. Hier ist es daher noch zu einer Überlagerung von weiteren Effekten gekommen. Dies hängt vermutlich mit der oxidativen Wirkung der verwendeten Schwefelsäure zusammen, welche möglicherweise die weniger stabilen niedrigchlorierten Biphenyle angreift.

Zusammenfassend kann man zu diesen Untersuchungen sagen, daß bei allen untersuchten Festphasen die Dioxine fast quantitativ in der ersten Fraktion nachgewiesen werden konnten. Dies bedeutet, daß der Einsatz einer der obigen Festphasen für die gedachte „online“-Anbindung an die Extraktionsanlage möglich ist. Jedoch kann auf diesem Wege noch keine Vorentscheidung zu Gunsten einer bestimmten Festphase getroffen werden. Dies macht weitere Untersuchungen zur Quantifizierung der Aufreinigungsleistung in Bezug auf eventuell mitextrahierte Matrix notwendig.

### **8.3 Aufreinigung eines realen Extraktes mit Matrix-retardierenden Festphasen**

Um die Wirkung der Aufreinigung zu untersuchen, gibt es eigentlich nur eine Möglichkeit: man muß einen unter reproduzierbaren Bedingungen hergestellten Extrakt einer realen Probe verwenden, oder es sollte für verschiedene Untersuchungen eine ausreichende Menge eines Extraktes vorliegen. Mit diesem Extrakt kann dann die Wirkung der einzelnen Arbeitsschritte an Hand von GC/MSD-Chromatogrammen beurteilt werden.

Für diese Versuche muß ein Probenmaterial gefunden werden, welches zum einen hinreichend saubere Extrakte liefert, die als Referenz ohne weitere Probenvorbereitung mit GC/MSD vermessen werden können. Zum anderen sollten aber auch Matrixkomponenten in ausreichender Menge vorhanden sein, so daß die Reinigungswirkung der unterschiedlichen Festphasen deutlich wird. Die Wahl des Probenmaterials fiel nach einigen Untersuchungen auf eine niedrig belastete Flugasche. Das zur Verfügung stehende Standardreferenzmaterial, welches als Vergleich sicherlich von Vorteil wäre, wies eine für diese Zwecke zu hohe Matrixbelastung auf.

#### **8.3.1 Herstellung des Extraktes**

Die Extraktion der verwendeten Flugasche wurde in Anlehnung an eine Hausmethode des TÜV Nord durchgeführt [136]. Es wurden hierfür 15 g Flugasche eingewogen und mit halbkonzentrierter Salzsäure gewaschen, bis die Gasbildung beendet war. Die überstehende Lösung wurde abdekantiert und verworfen. Der Rückstand wurde mit 60 mL Methoxyethanol (Promochem) und 140 mL Toluol versetzt und unter Rückfluß 24 h gekocht. Die überstehende Lösung wurde in einen Schütteltrichter dekantiert und der Rückstand mit

10 mL Toluol und zweimal mit 10 mL Wasser gewaschen. Alle Waschlösungen wurden in den Schütteltrichter überführt und die wäßrige Phase abgetrennt. Danach wurde die organische Phase noch zweimal mit Wasser ausgeschüttelt und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Der Extrakt wurde über eine kurze Säule mit Natriumsulfat gegeben und am Rotationsverdampfer auf 10 mL eingengt. Für die weiteren Untersuchungen wurde eine 1:100 Verdünnung dieses Extraktes in Toluol angefertigt.

### 8.3.2 Ausführung der Untersuchungen

Trotz der Verdünnung des Extraktes kann nicht davon ausgegangen werden, daß sich in dieser Lösung noch Stoffe in so hohen Konzentrationen befinden, welche das Analysensystem schädigen können. Daher mußte diese Lösung, um das Analysensystem durch evtl. vorhandene organische Säuren oder reaktive Substanzen nicht zu gefährden, noch in geringem Maße vorgereinigt werden. Hierzu wurde analog dem in Kapitel 8.2.2f beschriebenen Verfahren eine Säule mit 500 mg Kieselgel vorbereitet. Über diese Säule wurden 10 mL des selbst hergestellten Extraktes (s. Kap. 8.3.1) gegeben und das direkt erhaltene Eluat analysiert. Das daraus resultierende Chromatogramm dient im folgenden als Referenz, um die Aufreinigungsleistung der unterschiedlichen Festphasen zu beurteilen.

Durch die Festlegung der oben genannten Referenz war es nun notwendig, auch die weiteren Untersuchungen anzupassen. Aus diesem Grund wurde jeweils bei allen untersuchten Festphasen zunächst 500 mg Kieselgel in das Einleitungsrohr einer Auffangeinrichtung gegeben und darüber je 500 mg der zu untersuchenden Festphase (s. Tab. 8.3). Dies hat z.B. bei der Untersuchung von Kieselgel selbst als Festphase die Folge, daß nun insgesamt 1 g eingesetzt wurde. Die verwendeten Festphasen wurden auch hier zur Vermeidung von Blindwerten mit 10 mL Toluol gewaschen und somit gleichzeitig konditioniert (s. Kap 8.2.4). Anschließend wurden 10 mL des 1:100 verdünnten Extraktes (s. Kap. 8.3.1) aufgegeben. Im Anschluß wurde mit 5 mL Toluol nachgespült und das komplette Eluat in einer mit 100 µL Nonan versetzten Vorlage aufgefangen. Das Lösungsmittel wurde erst am Rotationsverdampfer entfernt und die Lösung unter Aufblasen von Stickstoff auf 100 µL eingengt. Nach Zugabe von mit Chlor<sup>37</sup>-Isotopen markiertem 2378-TeC<sup>37</sup>DD als internem Standard (bzw. Injektionsstandard) wurde die erhaltene Lösung mit Hilfe des GC/MSD-Systems analysiert.

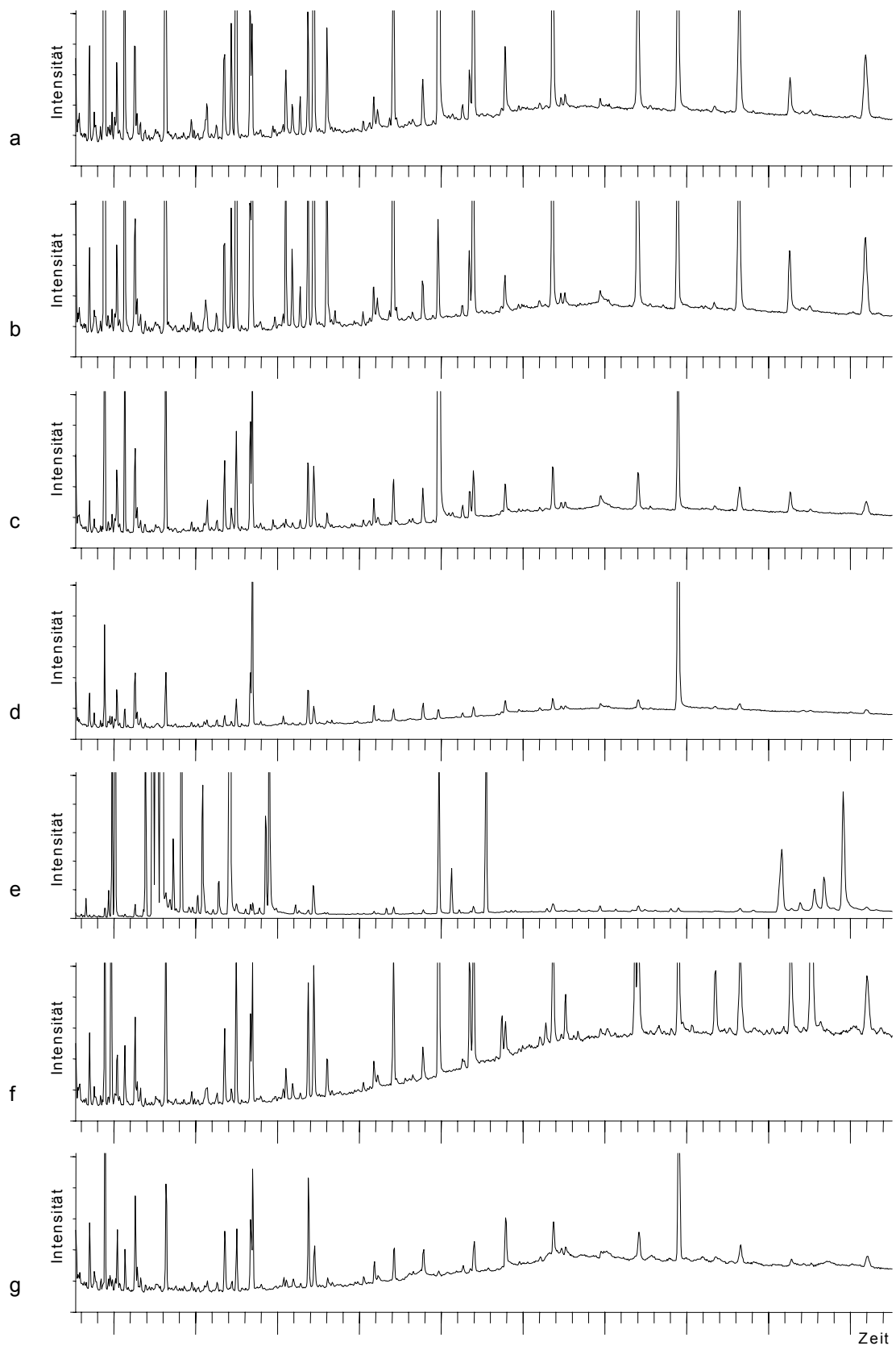
Die Bedingungen zur Untersuchung des oben hergestellten Extraktes wurden in Annäherung an den aus der Hochdruckextraktion zu erwartenden Extrakt gewählt. Auch hier liegt das Volumen des Extraktes bei etwa 10 mL. Bei den von Friedrich [123] gewählten Bedingungen werden allerdings etwa 1,5-2 g Feststoff als Probe eingesetzt. Nach der sich anschließenden Aufreinigung und Aufkonzentrierung resultiert dann als Probenvolumen ebenfalls wie oben

beschrieben 100 µL. Allerdings erhält man bei dem von mir verwendeten Extrakt durch den oben eingesetzten Verdünnungsschritt rechnerisch eine 1:10 verdünnte Lösung. Diese Verdünnung wurde zum weiteren Schutz des empfindlichen Analysensystems vorgenommen.

### **8.3.3 Massenspektrometrische Untersuchung und Vergleich der erhaltenen Lösungen**

Ein Vergleich der Aufreinigungsleistung auf der Basis der massenspektrometrischen Daten einer chromatographischen Auftrennung ist in der Praxis nicht einfach. Zum einen kann das Chromatogramm zum rein rechnerischen Vergleich über den gesamten Aufnahmezeitraum integriert werden. Dieser Wert enthält jedoch keine Aussage über möglicherweise enthaltene Substanzen, welche die Analyten im Chromatogramm überlagern oder durch ihren zu hohen Gehalt das Analysensystem beeinträchtigen. Auch die zeitliche Abfolge, also die Elutionsreihenfolge, und damit der „Ort“ der Störsubstanzen im Chromatogramm ist so nicht ersichtlich. Die andere Möglichkeit ist der rein optische Vergleich der Chromatogramme zueinander. Ein erfahrener Anwender in der Chromatographie kann hier zwischen den für die analytische Chemie recht undefinierten Begriffen „sauber“ und „weniger sauber“ unterscheiden.

Hier wurde die zweite Variante gewählt und alle Chromatogramme in gleicher Skalierung zueinander verglichen. Auf der folgenden Seite sind daher in Abb. 8.2 die Chromatogramme der Extrakte, welche mit den 6 untersuchten Festphasenkombinationen aufgereinigt wurden, im Vergleich abgebildet.



**Abb. 8.2:** Vergleich der Chromatogramme bei Verwendung unterschiedlicher Festphasen zur Aufreinigung des Referenzextraktes (alle in gleicher Skalierung)

a: Referenz (Kieselgel, 500 mg), b: Kieselgel (1 g), c: Aluminiumoxid, d: Florisil, e: Kieselgel S, f: C<sub>18</sub>, g: Kieselgel B; c-g: 500 mg Festphase zzgl. Kieselgel (500 mg)

Vergleicht man die beiden ersten Chromatogramme (Abb. 8.2: a,b), so zeigt sich direkt, daß die Verdopplung des Festphasenvolumens für Kieselgel, von 500 mg (Referenz) auf 1000 mg, keine deutlich sichtbaren Unterschiede zeigt. Es ist an diesem Chromatogramm (Abb. 8.2: b) sehr gut zu erkennen, daß hier noch ein großer Anteil an anderen Substanzen vorliegt. Der Aufreinigungseffekt ist somit gering. Dies bestätigt die Vermutung, daß der alleinige Einsatz von Kieselgel zum Schutze bzw. zur Entlastung der nachgeschalteten automatischen Aufreinigungsanlage nicht ausreichend ist. Eine Verbesserung der Ergebnisse kann hier eventuell nur über eine starke Erhöhung der Festphasenmenge erreicht werden. Da, wie im weiteren gezeigt, andere Materialien jedoch schon bei geringeren Mengen eine bessere Aufreinigungsleistung zeigen, wurde darauf jedoch verzichtet.

Als weiteres Material, dessen Aufreinigungskraft nicht ausreicht, kann man die C<sub>18</sub>-Festphase, an Hand des dazugehörigen Chromatogramms (Abb. 8.2: f), für diesen Gebrauch ausschließen. Auch dieses Chromatogramm weist noch eine sehr große Anzahl an Verbindungen auf und man erkennt einen starken Anstieg der Basislinie in der letzten Hälfte des Chromatogramms, welcher auf eine hohe Belastung durch Matrix hindeutet.

Demgegenüber tritt bei Verwendung von Kieselgel S (Abb. 8.2: e) ein ganz anderer Effekt auf. Gerade im Anfangsbereich dieses Chromatogramms sind erhebliche Signale zu beobachten, welche bei den anderen Materialien nicht auftreten. Dies ist insofern verwunderlich, als daß auch hier das getestete Material eine kombinierte Säule aus Kieselgel S und unbehandeltem Kieselgel war (s. Kap. 8.3.2). Da diese Signale jedoch nicht bei der Verwendung von unbehandeltem Kieselgel alleine (Abb. 8.2: a) zu beobachten sind muß man davon ausgehen, daß es zu Reaktionen zwischen der Matrix und der Festphase gekommen ist. Die neu gebildeten Produkte wurden nun von der Kieselgel-Phase nicht mehr retardiert. Dies bedeutet aber auch, daß eine Neubildung von Substanzen zu einer unbekanntem Veränderung der Matrix führt. Aus diesem Grund kam diese Festphase für die weiteren Untersuchungen nicht mehr in Frage, obwohl sie im späteren Verlauf des Chromatogramms eine niedrige Basislinie mit nur wenigen Signalen aufweist.

Schwieriger fällt die Beurteilung der restlichen Festphasen. Sehr ähnlich erscheinen Aluminiumoxid und das selbst hergestellte „basische“ Kieselgel B (Abb. 8.2: c,g). Hier lassen sich zwar schon gegenüber den bisher besprochenen Chromatogrammen bessere Aufreinigungsleistungen beobachten, dennoch sind auch hier noch eine Reihe von Signalen und ein deutlicher Anstieg der Basislinie zu erkennen. Auf Grund des geringen Unterschiedes zwischen diesen beiden Chromatogrammen, kann man davon ausgehen, daß in diesem Fall sehr ähnliche Komponenten der Matrix retardiert werden.



Das Chromatogramm welches bei der Verwendung von Florisil (Abb. 8.2: d) erhalten wird, zeigt sogar noch einen leicht besseren Aufreinigungseffekt. So können hier die, von 2 Ausnahmen abgesehen, niedrigsten Signale beobachtet werden. Da sich in diesen Versuchen jedoch herausgestellt hat, daß nicht eine Festphase klar bessere Aufreinigungseigenschaften gegenüber den anderen aufweist, sind daher weitere Untersuchungen notwendig.

Wegen der sehr ähnlichen Aufreinigungseigenschaften zwischen Aluminiumoxid und Kieselgel B wurde allerdings nach genauem Vergleich der Chromatogramme und wegen des geringeren Preises zu Gunsten des Kieselgels B entschieden. Daher sollten nun nur noch Florisil und Kieselgel B im weiteren Verlauf auf ihre Eignung in der „online“-Aufreinigung untersucht werden. Auch eine mögliche Kombination dieser beiden Festphasen sollte untersucht werden. Hierdurch lassen sich eventuell synergistische Effekte der beiden Festphasen erzielen.

#### **8.3.4 Voruntersuchung zum Einsatz der „online“-Aufreinigung unter realen Bedingungen**

Um sich den Anforderungen an die „online“-Aufreinigung weiter anzunähern wurde zunächst eine reale Brandschuttprobe mit der Ultraschallunterstützten Hochdruckextraktion extrahiert und Florisil in der Auffangeinrichtung eingesetzt. Die Probenmenge belief sich auf 2 g und in der Auffangeinrichtung wurden 500 mg Kieselgel (5% Wasser) und 500 mg Florisil eingesetzt (s. Kap. 8.3.2). Die Festphasen wurden vorher mit 10 mL Toluol gereinigt und dabei konditioniert. Im Anschluß an die Extraktion, welche entsprechend der Arbeit von Friedrich [123] erfolgte, wurde von der Festphase mit 5 mL Toluol in die verwendete Vorlage eluiert.

Die Belastung des Probenmaterials war sehr hoch, was sich direkt in der stark dunkelbraunen Färbung des Eluates widerspiegelte. Die aufkonzentrierte Lösung war dem äußeren Anschein nach sehr stark mit Matrix belastet, so daß eine Injektion in das Analysensystem nicht in Betracht gezogen werden konnte. Vielmehr wurde der erhaltene Extrakt zur weiteren Aufreinigung sequentiell über drei weitere Festphasen-Extraktionssäulen gleicher Art gegeben. Nach diesen vier durchgeführten Schritten zeigte sich optisch ein guter Reinigungseffekt. Auf Grund der vielen Zwischenschritte wurde jedoch auf eine abschließende GC-Analyse verzichtet, weswegen im folgenden nun die Sammeleinrichtung mit der vierfachen Menge an Festphasenmaterial genauer untersucht werden soll. Dies macht jedoch zunächst eine erneute Feststellung der Wiederfindungsraten von dieser größeren Materialmenge notwendig.

### 8.3.5 Erhöhung des Festphasenvolumens in der Sammeleinrichtung

Durch die Vorversuche angeregt wurde die Menge an Festphasenmaterial in den verwendeten Sammeleinrichtungen vervierfacht. Zusätzlich wurde ebenfalls eine Kombination aus Florisil und Kieselgel B verwendet. Auch in diesem Schritt soll das Analysensystem durch die zusätzliche Verwendung von Kieselgel geschützt werden. Damit ergeben sich folgende Mengen an Festphase in der „online“-Aufreinigungseinrichtung (s Tab. 8.5).

Tab. 8.5: *Untersuchte Festphasenkombinationen nach Erhöhung des Volumens*

*Adsorbens 1 und 2 jeweils in Elutionsreihenfolge*

Bezeichnung	Adsorbens 1	Menge	Adsorbens 2	Menge
A	Florisil	2 g	Kieselgel	1 g
B	Kieselgel B	2 g	Kieselgel	1 g
C	Florisil	2 g	Kieselgel B	2 g

Für die Verwendung solch großer Mengen an Festphase mußte weiterhin die verwendete Sammeleinrichtung (vergl. Abb. 5.6) angepaßt werden. Hierzu wurde ein Einleitungsrohr mit größerem Durchmesser angefertigt und im folgenden verwendet.

#### **Bestimmung des Blindwertes und der Wiederfindungsrate**

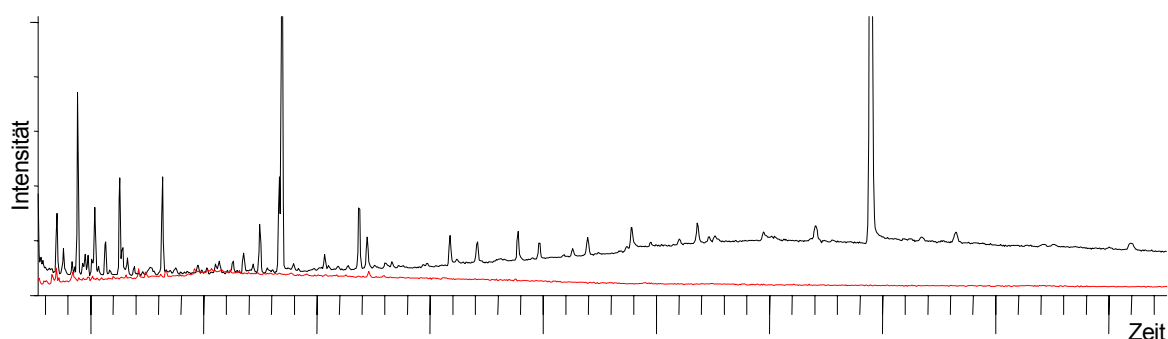
Zunächst wurden auch hier eventuelle Blindwerte der Festphasen festgestellt. Dabei stellte sich heraus, daß die Vorreinigung und Konditionierung mit 10 mL Toluol ausreicht, um Blindwerte, welche von den Festphasenmaterialien ausgehen, auszuschließen (vgl. Kap. 8.2.4).

Zur Bestimmung der Wiederfindungsraten von der erhöhten Festphasenmenge wurde anschließend die bereits in Kapitel 8.2.1 vorgestellte Modelllösung verwendet. Über die wie oben beschrieben behandelte Festphase wurden 10 mL der die Analyten enthaltende Modelllösung gegeben und anschließend in die gleiche Vorlage mit nun 10 mL Toluol eluiert. Eine Nachelution mit 10 mL Toluol sollte sicherstellen, daß die Elution vollständig ist, was sich bestätigte. Die so erhaltenen Extrakte wurden nach Einengen und Zusatz des Injektionsstandards mit Hilfe des GC/MSD-Systems vermessen. Man erhielt für alle untersuchten Festphasen ein ähnliches Profil der Wiederfindungsrate wie bereits in Kapitel 8.2.4 (Tab. 8.4) dargestellt. Innerhalb der Fehlergrenzen konnte demnach auch hier von einer vollständigen Wiederfindungsrate der Dioxine ausgegangen werden.

### **Untersuchung der Aufreinigungsleistung**

Im Anschluß an die vorhergehenden Untersuchungen wurde zur Abschätzung der Aufreinigungsleistung erneut der in Kapitel 8.3.1 bereits vorgestellte Extrakt einer Flugasche verwendet. Hiervon wurden 10 mL des Flugaschenextraktes über die mit 10 mL Toluol konditionierten Festphasen gegeben und anschließend in die gleiche Vorlage mit 10 mL Toluol eluiert. Nach Einengen des Eluates auf 100 µL wurde die so erhaltenen Lösung mit Hilfe des GC/MSD-Systems vermessen.

Um nun einen direkten Vergleich zu den in Kapitel 8.3.3 erhaltenen Ergebnissen zu bekommen, sind in Abb. 8.3 die mit der einfachen und vierfachen Menge an Florisil erzielten Chromatogramme verglichen.



**Abb. 8.3:** Vergleich der Aufreinigungsleistung von Florisil bei unterschiedlicher Festphasenmenge

*schwarz:* 500 mg Florisil / 500 mg Kieselgel (vgl. Kap. 8.3.3 Abb. 8.2d)

*rot:* 2 g Florisil / 1 g Kieselgel

Gegenüber den bisher erhaltenen Ergebnissen ist hier eine starke Verbesserung zu erkennen. Lediglich wenige Signale werden bei der Verwendung der höheren Festphasenmenge noch erhalten. Auch sieht man gerade im hinteren Teil des Chromatogramms eine deutliche Absenkung der Basislinie. Ebenso spricht die deutlich niedrigere Grundlinie und deren vermindertes Rauschen für ein gut aufgereinigtes Extrakt. Hier konnte also eine wesentlich bessere Aufreinigungsleistung durch die Erhöhung des Festphasenvolumens erzielt werden.

Zur genaueren Betrachtung der Ergebnisse, welche mit den anderen Festphasenkombinationen erzielt wurden, sind diese in Abb. 8.4 verglichen. Zum besseren Vergleich wurden die Signale gegenüber der obigen Abbildung (Abb. 8.3) allerdings etwa vierfach vergrößert dargestellt. Als Vergleich soll das bereits oben abgebildete Chromatogramm von Florisil dienen.

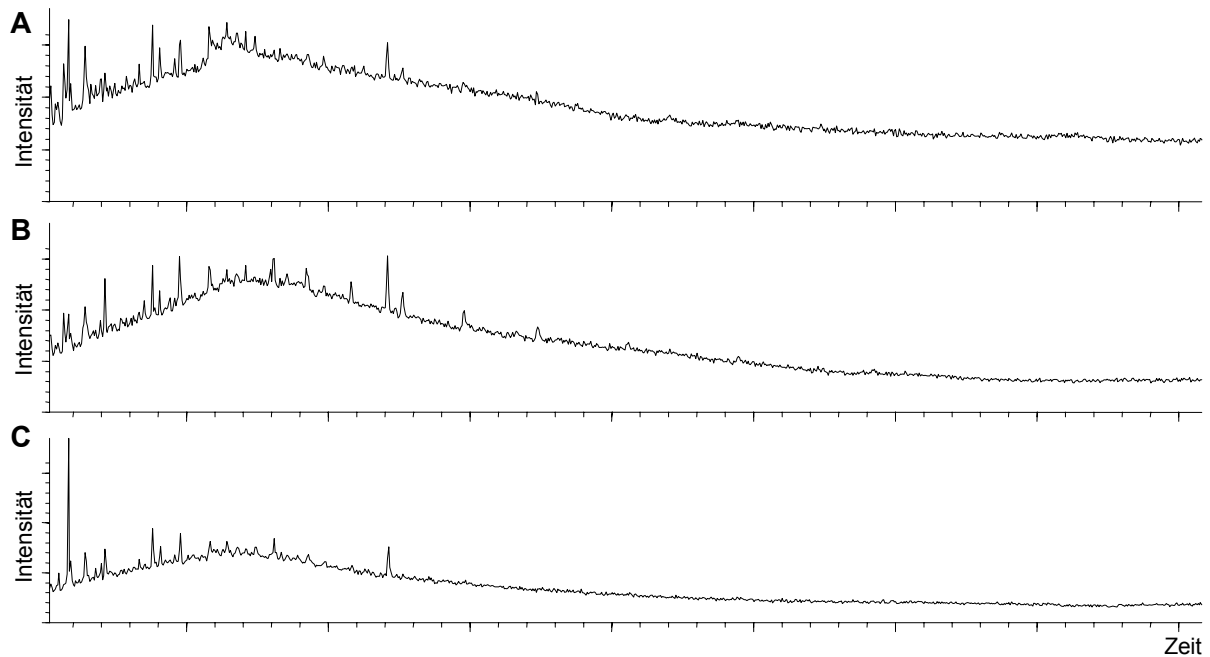


Abb. 8.4: Vergleich der drei verwendeten Festphasenkombinationen mit erhöhtem Volumen  
Auf gleiche Signalhöhe normiert. Bezeichnung: siehe Tab. 8.5 (S. 52).

Die hier abgebildeten Chromatogramme zeigen alle eine sehr gute Aufreinigungsleistung. Dies wird besonders deutlich, wenn man die Ergebnisse mit den vorhergehenden vergleicht, wie bereits in Abb. 8.3 für Florisil geschehen. Lediglich der auftretende Anstieg der Grundlinie zu Beginn des Chromatogramms zeigt noch Charakteristika von so genanntem „un aufgelöstem komplexen Gemisch“ (*unresolved complex mixture*, UCM), ein nicht durch chromatographische Prozesse getrenntes Gemisch unterschiedlichster Substanzen. Das durch dieses Gemisch erzeugte Signal ist bei der Kombination der Festphasen Florisil und Kieselgel B am geringsten. Ebenso ist hier das Rauschen der Basislinie und das Auftreten von Störsignalen geringer. Man erhält also mit dieser Kombination die beste Aufreinigungsleistung. Daher wird für die „online“-Aufreinigung folgende Sammeleinrichtung verwendet:

Als Adsorbens in der Sammeleinrichtung dient 2 g Florisil über 2 g Kieselgel B. Dieses wird mit 10 mL Toluol gereinigt und konditioniert. Anschließend erfolgt auf die derart vorbereitete Festphase die Extraktion. Der durchgelaufene Extrakt wird zusammen mit dem durch 10 mL Toluol erhaltenem Eluat aufgefangen. Die gesamte Menge wird zum Schluß zuerst am Rotationsverdampfer und anschließend unter aufblasen von Stickstoff auf 100  $\mu$ L eingengt.

### 8.3.6 Extraktion eines Standardreferenzmaterials

Wie bereits die in Kapitel 8.3.4 dargestellten Versuche zeigten, mußte dieses „online“-Aufreinigungssystem seine Leistungsfähigkeit erst noch in der Praxis zeigen. Hierzu wurde

ein Standardreferenzmaterial (*certified reference material* 490, CRM 490) mit der Ultraschallunterstützten Hochdruckextraktion (UHE) extrahiert und die Sammeleinrichtung mit der oben vorgestellten „online“-Aufreinigung verwendet. Es handelt sich auch hierbei um eine Flugasche. Die von Friedrich [123] für dieses Material mit der UHE und anschließender Aufreinigung bestimmten Gehalte an Dioxin stimmten hierbei gut mit den zertifizierten Werten überein. Das durch diese Methodik erhaltene Extrakt wurde von Friedrich bislang lediglich durch 1 g Kieselgel gegeben, um anschließend mit dem automatischen Verfahren nach Schrickel [96] weiter aufgereinigt und anschließend analysiert zu werden. Bisher war es nicht möglich dieses nur durch Kieselgel geleitetes Extrakt (s. Kap. 8.1.3), ohne Schaden am Analysensystem in Kauf zu nehmen, direkt zu analysieren. Dies sollte jedoch im folgenden nur durch die Verwendung der „online“-Aufreinigung ermöglicht werden.

Eine nach Kapitel 8.3.5 vorbereitete Sammeleinrichtung zur „online“-Aufreinigung wurde dazu im Anschluß an die UHE betrieben und der erhaltene Extrakt auf diesem Wege aufgefangen. In dem Extrakt eventuell enthaltene Partikel wurden mit Hilfe eines Sterilfilters für organische Lösungsmittel (Macherey-Nagel) entfernt. Eine anschließende Aufreinigung, sei sie mit dem automatischen Verfahren oder auf dem konventionellem Wege, wurde nicht zusätzlich durchgeführt. Dies würde natürlich die Beurteilung der Aufreinigungsleistung verfälschen. Der komplette Extrakt wurde dann aufkonzentriert, mit Injektionsstandard versetzt und ohne weitere Nachbehandlung mit dem GC/MSD-System vermessen. Das hierdurch erhaltene Chromatogramm ist in folgender Abbildung (Abb. 8.5) dargestellt.

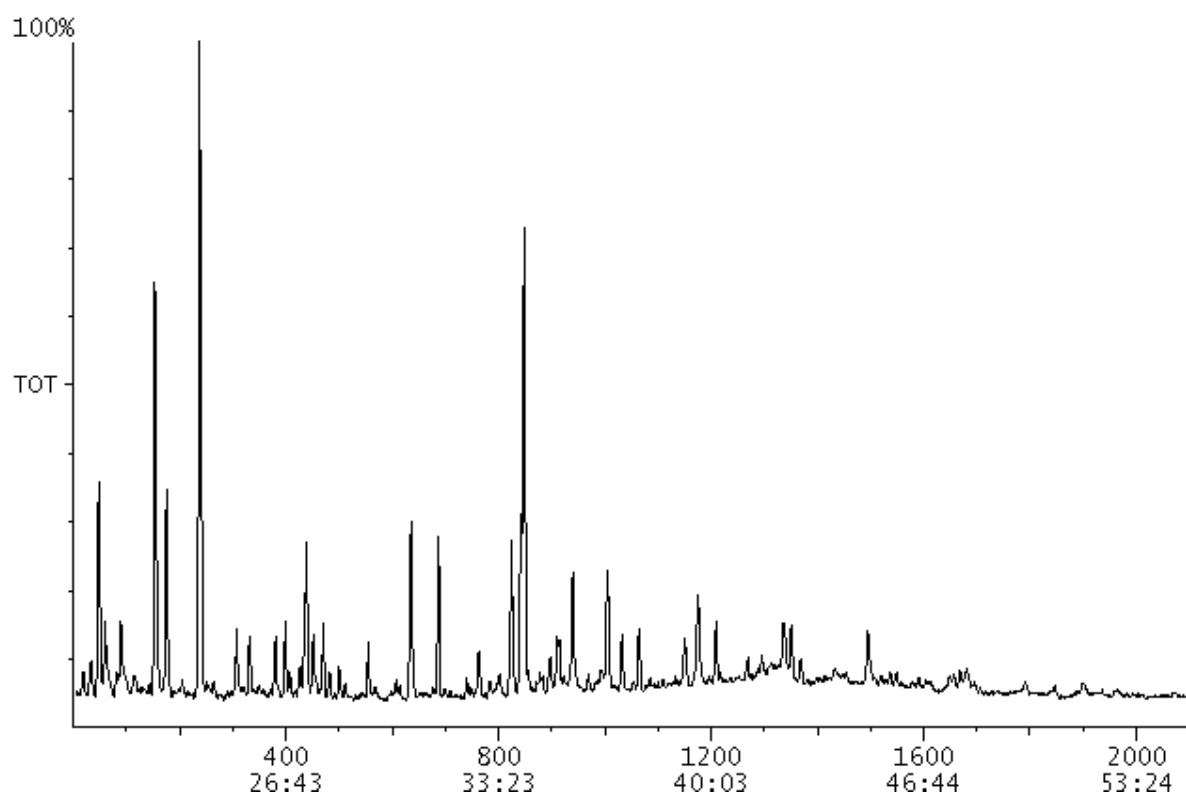


Abb. 8.5: Chromatogramm des Standardreferenzmaterials 490 nach der „online“-Aufreinigung  
Gesamtionenchromatogramm im Massenbereich 150-450 amu

Auf den ersten Blick scheint die Leistungsfähigkeit der entwickelten „online“-Aufreinigung an Hand des Chromatogramms nicht deutlich zu werden. Hier lassen sich definierte Signale und ein hoher Untergrund durch Belastung mit Matrix ausmachen. Entscheidend ist jedoch, daß die Intensität dieser Signale für den Extrakt eines solchen Materials erstaunlich gering ist. Da bisher ein solcher Extrakt nicht direkt analysiert werden konnte, zeigt dieses Chromatogramm doch eine entscheidende Verbesserung des Analyseverfahrens. Weiterhin konnten trotz des hohen Untergrundes in diesem lediglich vorgereinigten Extrakt bereits einige Dioxine und Furane nachgewiesen werden. Die Signalstärke erwies sich jedoch als zu gering, um quantitative Aussagen zu treffen. Wie jedoch in Kapitel 8.3.5 gezeigt werden konnte, wird die Gesamtwiederfindungsrate der Dioxine durch das „online“-Aufreinigungssystem nur unwesentlich beeinflusst. Dies stellt sicher, daß alle extrahierten Analyten einer nachfolgenden Aufreinigung, die im Anschluß noch erfolgen muß, zur Verfügung stehen.

#### 8.4 Fazit

Im Rahmen dieser Arbeit und als Teil des vom BMBF+T geförderten Forschungsprojektes ist es gelungen, einen Anteil zur Zusammenführung der Bereiche Extraktion und automatische Aufreinigung in der modernen Dioxin-Analytik zu leisten. Durch die Verwendung der hier

entwickelten „online“-Aufreinigung kommt es zu einer entscheidenden Entlastung der sich anschließenden automatisierten Aufreinigung. Zwar konnten bereits im lediglich durch die „online“-Aufreinigung vorgereinigtem Extrakt verschiedene Dioxine und Furane nachgewiesen werden, jedoch war es nicht möglich eine weitere Aufreinigung überflüssig zu machen. Die weitere Aufreinigung durch automatische Systeme wird jedoch stark entlastet, wodurch es zu einer Verlängerung der Standzeit solcher Systeme und somit auch zur Kosteneinsparung kommt. Durch die Verbindung von „online“- und automatischer Aufreinigung kann der zeitkritische und vor allem sehr lösungsmittelintensive Schritt der sachgerechten und effizienten Nachbehandlung von Extrakten aus Dioxin-haltigen Proben verkürzt und die verwendete Lösungsmittelmenge verringert werden.

Auf dieser Arbeit basierende Untersuchungen von Krismann [137] zur Aufreinigung von Soxhlet-Extrakten von Filterschäumen für die Dioxin-Bestimmung in Luft konnten ein weiteres Einsatzgebiet des entwickelten Aufreinigungssystems zeigen. So ist die Verwendung der hier dargestellten Methode bzw. der verwendeten Festphasenkombination als SPE-Verfahren ohne weiteres möglich. Dies stellt eine effiziente Methode dar, die durch eine Soxhlet-Extraktion erhaltenen Extrakte soweit aufzureinigen, daß eine nachfolgende Bestimmung des Dioxin-Summenparameters durch ein Enzymimmunoassay (*enzymatic linked immuno sorbent assay*, ELISA) ermöglicht wird.

Wie gezeigt wurde, war es nicht möglich die Analyten mit Hilfe der „online“-Aufreinigung direkt zurückzuhalten und gleichzeitig in ausreichendem Maße von der Matrix zu trennen. Dies liegt vor allem daran, daß das verwendete Extraktionsmittel eine zu hohe Elutionskraft besitzt.

Ein weiteres überaus vielversprechendes Extraktionsverfahren ist die Heißwasserextraktion. In den folgenden Teilen dieser Arbeit sollte nun versucht werden, mit Hilfe der Heißwasserextraktion ein Verfahren zur Extraktion der Dioxine zu entwickeln. Einen sehr interessanten Gesichtspunkt bietet hierbei das Extraktionsmittel, welches auf Grund seiner unter Normalbedingungen hohen Polarität den Einsatz anderer Festphasenmaterialien zur Sammlung und Reinigung der Analyten erlaubt. Hierbei kann es möglich sein, die Matrix schon während der Sammlung abzutrennen. Allerdings mußten zunächst die geeigneten Parameter für die Heißwasserextraktion von Dioxinen ermittelt werden.

## **9 Entwicklung einer Methode zur Extraktion von Dioxinen mit der Heißwasserextraktion**

### **9.1 Allgemeines**

In Kapitel 4.2.5 ist beschrieben worden, wie die Polarität von Wasser mit Zunahme der Temperatur stark abnimmt. Bei der Verwendung von Wasser als Extraktionsmittel für die im Vergleich unpolaren Dioxine ist es daher notwendig die Temperatur stark zu erhöhen. Gleichzeitig muß ein hoher Druck aufgewendet werden, um ein Sieden des Wassers zu unterbinden. Extraktionssysteme, welche eine Einstellung dieser Parameter bieten können, sind in Kapitel 4.2.6 (Abb. 4.2) beschrieben worden.

In diesem Kapitel werden nun die notwendigen Schritte zur Entwicklung einer Extraktionsmethode mit Hilfe der Heißwasserextraktion aufgezeigt. Gleichmaßen soll auch auf die Besonderheiten des verwendeten Extraktionssystems eingegangen werden. Da zur Methodenentwicklung in dieser Arbeit mit Lösungen von Standardsubstanzen gearbeitet wurde, mußte zunächst eine Kalibration für diese Lösungen angefertigt werden.

### **9.2 Kalibration der Dioxine mit Hilfe des Elektroneneinfang-Detektors**

Der Elektroneneinfang-Detektor (*electron capture detector*, ECD) ist ein leistungsfähiger und besonders für elektronenaffine Verbindungen sehr empfindlicher Detektor. Er ist daher in nahezu jedem Analysenlabor anzutreffen. In dieser Arbeit wurde ein Gaschromatograph mit angeschlossenem ECD verwendet. Zur späteren Kontrolle diente Hexachlorbenzen (HCB) als so genannter Volumenstandard; hiermit wird das Endvolumen bei der Aufkonzentrierung der anfallenden Versuchslösungen festgestellt. Deshalb wurde zunächst eine Kalibration von HCB im Konzentrationsbereich von 3,04 pg/ $\mu$ L-30,4 pg/ $\mu$ L bei Verwendung von Nonan als Lösungsmittel erstellt. Die erhaltenen Kalibrationsdaten sind im Anhang in Kapitel 12.4.2 dargestellt. Die anschließende Kalibration aller 17 an Position 2,3,7,8-chlorsubstituierten Dioxine und Furane wurde ebenfalls mit Nonan als Lösungsmittel durchgeführt und eine Kalibrationsreihe über drei Dekaden mit folgender Abstufung (s. Tab. 9.1) erstellt.



Tab. 9.1: Kalibrationsreihe der Dioxine zur Quantifizierung mit Hilfe des ECD

Nr.	Konzentration der Dioxine in pg/ $\mu$ L		
	TeCDD/-F	Pe-,Hx-,Hp-CDD/-F	OCDD/-F
1	0,02	0,1	0,2
2	0,1	0,5	1
3	0,2	1	2
4	1	5	10
5	2	10	20
6	10	50	100
7	20	100	200

Zur Kontrolle enthielten die eingesetzten Lösungen noch jeweils 15,2 pg/ $\mu$ L Hexachlorbenzen, diesmal als Injektionsstandard. Für die Dioxine ergaben sich sehr gute Übereinstimmungen mit ihren linearen Kalibrierfunktionen, die im Anhang in Kapitel 12.4.2 dargestellt sind. Die Konzentrationen von 0,02 pg/ $\mu$ L für 2378-TeCDD/-F lagen bei dem verwendeten Gerät zwar gerade über der gerätespezifischen Nachweisgrenze, die Signale lagen aber unterhalb des dreifachen Rauschens, welches hier als Bestimmungsgrenze gewählt wurde. Für alle anderen Konzentrationen und Stoffe lagen die Signale jedoch oberhalb dieser Bestimmungsgrenze. Aus diesem Grund wurde auf eine genaue Bestimmung der Nachweisgrenze bzw. Bestimmungsgrenze des Gerätes verzichtet und die Bestimmungsgrenze daher für alle Te-HpCDD/-F auf 0,1 pg/ $\mu$ L und für OCDD/-F auf 0,2 pg/ $\mu$ L festgelegt.

### 9.2.1 Dioxin-Standard Lösung

Für die nachfolgenden Untersuchungen wurde eine Lösung der 17 Dioxine als Standard angesetzt. Dazu wurde eine Standardlösung der *Cambridge Laboratories (standard stock solution, native mix)* verwendet, welche die Dioxine in einer Konzentration von 0,4 ng/ $\mu$ L-4 ng/ $\mu$ L Te-OCDD/-F enthält. Hiervon wurde für alle Untersuchungen eine 1:100 (V:V) Verdünnung hergestellt.

Tab. 9.2: Konzentration des verwendeten Dioxin-Standards

Standard	Konzentration der Dioxine in pg/ $\mu$ L		
	TeCDD/-F	Pe-,Hx-,Hp-CDD/-F	OCDD/-F
<i>native mix</i>	400	2000	4000
1:100 Verd.	4	20	40
1:200 Verd.	2	10	20

Durch Zugabe des Volumenstandards (HCB in Nonan), welche immer im Volumenverhältnis 1:1 erfolgte, ergibt sich die meßfertige Lösung mit der in Tab.9.2 angegebenen Konzentration. Die so erhaltene 1:200 Verdünnung entspricht somit der in Tab. 9.1 unter

Nr. 5 angegebenen Lösung. Zur Kontrolle und zur Rekalibration des GC/ECD-Systems wurde bei jeder Analysenreihe eine Lösung dieses Standards zusätzlich analysiert.

### 9.3 Methodenentwicklung

Im Hinblick auf die durchzuführenden Arbeiten waren einige vorhergehende Untersuchungen notwendig. Zu deren besserem Verständnis wird in folgender Abb. 9.1 die verwendete Extraktionsanlage kurz skizziert.

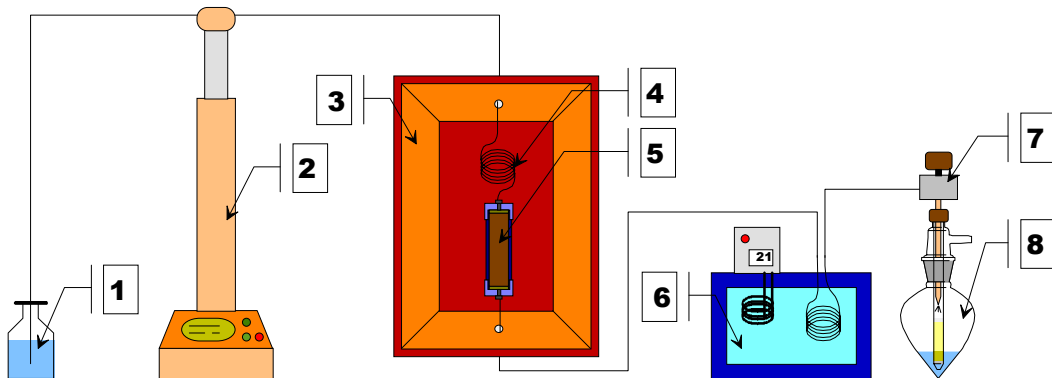


Abb. 9.1: Heißwasserextraktionsanlage

1: Lösungsmittelvorrat (flüssig), 2: Spritzenpumpe, 3: Ofen, 4: Heizschleife, 5: Hochdruckzelle (s. Abb. 5.5), 6: Kryostat inkl. Kühlschleife, 7: Restriktor (Nadelventil, heizbar), 8: Auffangeinrichtung (s. Abb. 5.6)

Der wesentliche Unterschied zu der in Abb. 4.2 dargestellten Anlage besteht in der vor dem Restriktor liegenden Kühlung. Diese ist notwendig, um ein Verdampfen des Wassers während des Entspannens zu verhindern. Die wässrigen Extrakte, welche die Analyten gelöst enthalten, werden anschließend in der bereits in Abb. 5.6 dargestellten Sammeleinrichtung aufgefangen. Es wurde jedoch hier ein Spitzkolben mit 250 mL Volumen verwendet. Für die Voruntersuchungen wurde die Sammeleinrichtung zunächst ohne den Einsatz von Festphasen im Einleitungsrohr betrieben. Um eine quantitative Sammlung zu erzielen, wurde Chloroform als organisches Lösungsmittel in die Vorlage gegeben. Dies hat den Vorteil, auf Grund seiner gegenüber Wasser höheren Dichte am Grund der Vorlage zu verbleiben. Hierdurch ist es mit Hilfe des Einleitungsrohres möglich den wässrigen Extrakt durch diese Phase hindurch zu leiten. Die unpolaren Analyten werden bei diesem Schritt durch eine Art Flüssig/Flüssig-Extraktion in der Chloroformphase angereichert. Anschließend sind in weiteren Schritten die Abtrennung der organischen Phase sowie zusätzliche Flüssig/Flüssig-Extraktionsschritte mit einem Schütteltrichter leicht möglich. Um eine Aussage über die Leistungsfähigkeit der Flüssig/Flüssig-Extraktion zu treffen, wurde diese zunächst gesondert untersucht.

### 9.3.1 Flüssig/Flüssig-Extraktion

Das für eine Extraktion erwartete Volumen sollte 200 mL nicht übersteigen. Demnach wurden zunächst 180 mL Wasser (reinst, Seralpur®) in einem Schüttelkolben vorgelegt. Diese Menge Wasser wurde mit 2,5 µL Dioxin-Standard (s. Kap. 9.2.1) in Nonan versetzt. Um trotz des nicht mit Wasser mischbaren Nonans und der geringen Löslichkeit der Dioxine realistische Werte zu erhalten, ist es wichtig alle folgenden Schritte in einem Gefäß durchzuführen und eine gut durchmischte Lösung vorliegen zu haben. Dazu wurde das Gemisch zur Einstellung eines Gleichgewichtes eine halbe Stunde auf einem automatischen Rüttler geschüttelt. Anschließend wurde je dreimal mit 20 mL Chloroform versetzt, 20 min ausgeschüttelt und die organischen Phasen abgetrennt und gesammelt. Nach Trocknung über Natriumsulfat (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) und Zugabe von 50 µL Nonan wurde das Chloroform am Rotationsverdampfer bis auf etwa 2 mL entfernt und die verbleibende Lösung unter einem Stickstoffstrom auf 50 µL eingengt. Die Lösung wurde nach Zugabe von Hexachlorbenzen als Volumenstandard mit dem GC/ECD quantifiziert. Es resultierten die in Tab. 9.3 dargestellten nahezu quantitativen Wiederfindungsraten des Standards von im Mittel 98,6% (± 2,5%).

Tab. 9.3: Wiederfindungsraten des Dioxin-Standards nach Ausschütteln

Wdf: Wiederfindungsrate in Prozent; SD%: Standardabweichung in Prozent (N=3)

n.b.: auf Grund einer Überlagerung nicht bestimmbar

Dioxine	Wdf	SD%	Furane	Wdf	SD%
2378-TeCDD	74,1	2,6	2378-TeCDF	n.b.	
12378-PeCDD	107,5	1,6	12378-PeCDF	96,0	1,8
			23478-PeCDF	126,1	2,5
123478-HxCDD	100,6	2,3	123478-HxCDF	113,4	2,4
123678-HxCDD	96,7	1,7	123678-HxCDF	104,5	2,0
			234678-HxCDF	98,3	1,9
123789-HxCDD	102,5	2,4	123789-HxCDF	94,9	2,1
1234678-HpCDD	93,2	2,4	1234678-HpCDF	92,9	1,6
			1234789-HpCDF	94,4	2,5
OCDD	96,3	3,1	OCDF	86,9	2,5

Auf Grund dieser guten Ergebnisse, konnte also Chloroform als dichteres organisches Medium in der Sammeleinrichtung ohne weiteres verwendet werden.

### 9.3.2 Befüllung der Extraktionszellen und Extraktionsvorbereitung

Für die Extraktion mit heißem Wasser müssen hochtemperatur- und druckfeste Zellen verwendet werden. In dieser Arbeit wurden Edelstahlzellen der Firma Keystone Scientific mit einem Volumen von 5 mL verwendet (250x5 mm i.D.). Die Zellabschlüsse sind ebenfalls aus

Edelstahl gefertigt und es wurden Fritten mit 10 µm Porenweite zum Rückhalt der Füllung eingesetzt. Weiterhin mußte, um einer Verstopfung der feinen Fritten vorzubeugen, an beiden Enden der Zelle Glasfaserfiltermaterial (Schleicher-Schüll) und Glaswolle (Macherey-Nagel) eingesetzt werden. Die Zelle wurde zwischen der Glaswolle und dem Glasfaserfiltermaterial mit gereinigtem Seesand (Merck) gefüllt. Hierdurch wird zum Einen das für das Wasser verfügbare Zellvolumen verringert. Zum Anderen sollte der Seesand für die Extraktionen als inertes Material dienen, auf welche eine Lösung des Standards aufgebracht werden konnte. Weiterhin sollte damit eine Extraktion nativer Proben (z.B. Boden) möglichst gut simuliert werden. Der Seesand wurde vor der Verwendung durch Soxhlet-Extraktion mit Toluol 24 h aufgereinigt.

Als Standard wurde eine Lösung von 50 µL der Dioxine in Nonan verwendet (s. Kap. 9.2.1). Die Konzentration dieses Standards war folgende: TeCDD/-F 4 pg/µL, Pe-HpCDD/-F 20 pg/µL, OCDD/-F 40 pg/µL. Die Aufgabe erfolgte in die bereits mit Seesand gefüllte Zelle an deren in Flußrichtung gesehen liegendem Anfang. Anschließend wurde dieses Ende mit Glaswolle und Filtermaterial, sowie der Abschlußkappe verschlossen. Durch die Aufgabe des Standards an dieser Position sollte gewährleistet werden, daß die Dioxine auf der maximal möglichen Wegstrecke genügend Möglichkeiten haben mit den aktiven Oberflächen des Sandes zu interagieren. Zu Anfang jeder Extraktion wurde unter Extraktionsdruck mit etwa 30 mL kaltem entgasten Wasser die verbleibende Luft aus der Zelle gespült. Hierzu ist es notwendig, daß die Extraktionszelle derart in den Ofen eingebracht wird, daß ein nach oben gerichteter Fluß resultiert. Anschließend wurde unter dem auch bei den unterschiedlichen Extraktionen verwendeten Druck mit der maximalen Heizleistung des Ofens auf die jeweilige Temperatur geheizt; dies dauerte ungefähr 10 min. Die dynamische Extraktion erfolgte dann unter den in den einzelnen Kapiteln beschriebenen Bedingungen, wobei der gewählte Fluß über die Öffnung des Restriktors manuell geregelt wurde.

### **9.3.3 Aufarbeitung der Extrakte**

Im vorhergehenden Kapitel 9.3.2 wurde erläutert, warum die Extraktionszelle neben dem Standard mit gereinigtem Seesand gefüllt wurde. Allerdings wird auch von dem gereinigten Seesand immer noch Matrix mit extrahiert. Für die nachfolgende Bestimmung ist es daher notwendig, einen Aufreinigungsschritt zwischen zu schalten. Hier bietet sich verständlicherweise die Methode aus dem ersten Teil der Arbeit an (s. Kap. 8.3). Wegen der zwar vorhandenen jedoch vergleichsweise geringen Belastung durch Matrix konnte allerdings die Menge an Festphase für dieses Aufreinigungssystem auf je 500 mg beschränkt werden.

Die Aufarbeitung der Extrakte erfolgte im Anschluß an die Extraktion auf Basis der Ergebnisse aus Kapitel 9.3.1. Nach dem mehrmalig erfolgten Ausschütteln der wäßrigen Phase mit Chloroform wurde das Lösungsmittel bis auf etwa 1-2 mL entfernt und die Lösung auf eine Festphasenextraktionssäule aus 500 mg Florisil über 500 mg Kieselgel B gegeben, wobei die sich anschließende Elution auch hier mit Toluol erfolgte (vgl. Kap. 8.3.2 und 8.3.5). Der so gereinigte Extrakt auf ein Volumen von 50 µL bei Verwendung von Nonan als *keeper* reduziert und mit 50 µL des Volumenstandards (HCB 15,2 pg/µL) versetzt. Die so erhaltene Lösung wurde mit Hilfe des GC/ECD-Systems analysiert.

#### 9.3.4 Voruntersuchung

In unserer Arbeitsgruppe lagen zu dem Zeitpunkt der hier durchgeführten Untersuchungen mit der Heißwasserextraktion bereits erste Ergebnisse von Kipp vor [138]. Diese untersuchte die Extraktion von Polyzyklischen Aromatischen Kohlenwasserstoffen aus Böden mit Hilfe der Heißwasserextraktion. So lag es nahe, die von ihr erzielten Ergebnisse auf die Extraktion der Dioxine zu übertragen. Die mit Hilfe dieser Voruntersuchung gewonnenen Erkenntnisse sollten dann Anhaltspunkte für die Verbesserung der Extraktionsparameter für die Analyse der Dioxine ergeben. Die Füllung der Extraktionszelle und die sich anschließende Aufarbeitung wurde bereits in den vorhergehenden Kapiteln beschrieben (s. Kap. 9.3.2f). Die Parameter für die Heißwasserextraktion wurden in Anlehnung an die Arbeiten von Kipp, wie im nächsten Absatz aufgeführt, gewählt.

Zunächst wurde eine 30 minütige statische Extraktion bei 250°C und 15 MPa durchgeführt, an die sich eine dynamische Extraktion unter gleichen Bedingungen anschloß. Der bei der dynamischen Extraktion eingestellte Fluß betrug 8 mL/min und es wurde ein Gesamtvolumen von 100 mL Wasser (entspricht einer Pumpenfüllung) verbraucht. Der in der Zelle verbleibende Restdruck wurde über den Restriktor abgelassen, wobei das Wasser in der Extraktionszelle verdampft. Nach der abschließenden Aufarbeitung (s. Kap. 9.3.3) wurde der Extrakt analysiert und das erhaltene Ergebnis in Abb. 9.2 graphisch dargestellt.

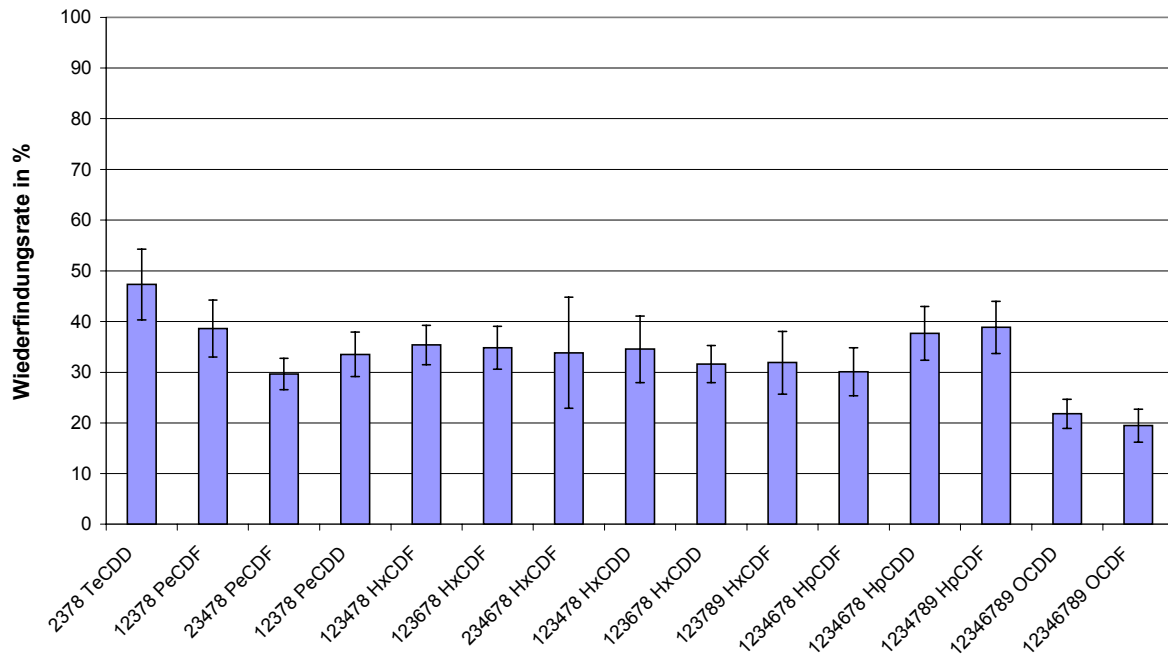


Abb. 9.2: Wiederfindungsraten der Dioxine (250°C und 15 MPa)

Extraktionsparameter: 250°C, 15 MPa, 8 mL/min Fluß, 100 mL Wasser

Dieses Ergebnis einer mittleren Wiederfindungsrate von unter 40% ist ein guter Ausgangspunkt für weitere Untersuchungen aber noch nicht zufriedenstellend. Die Extraktion mußte demnach weiter untersucht und verbessert werden.

## 9.4 Untersuchung der Extraktionsparameter

### 9.4.1 Isobare Extraktionen bei Veränderung der Temperatur

Untersuchungen von Bavel zeigten in Übereinstimmung mit der Theorie eine Zunahme der Extraktionsausbeuten mit der Temperatur [139]. Er verwendete für seine Untersuchungen ebenfalls Sand, welchem er die Dioxine zusetzte. Allerdings benutzte er für seine Arbeiten eine nur halb so große Extraktionszelle bei gleichem Durchmesser, wodurch die Wegstrecke, welche die Dioxine während der Extraktion durch den Sand zurücklegen müssen, geringer ist. Des weiteren konnte er eine Erhöhung der Ausbeuten beobachten, wenn das Wasser bei gleicher Temperatur gasförmig auf die Probe einwirkt.

Die eigenen apparativen Voraussetzungen boten jedoch keine Möglichkeit, eine Temperatur über 300°C einzusetzen. Außerdem konnte keine Extraktionszelle gleicher Dimensionierung beschafft werden. Deshalb ließen sich die Ergebnisse von Bavel nicht direkt reproduzieren und es mußten daher andere Untersuchungsbedingungen gewählt werden. Für die eigenen Versuche sollten die Extraktionen bei unterschiedlichen Temperaturen aber isobaren

Bedingungen durchgeführt werden. Es wurde ein adäquater Bereich aus dem Siedediagramm für Wasser (Abb. 9.3) gewählt, um auch die Einflüsse des Wassers in der Gasphase untersuchen zu können.

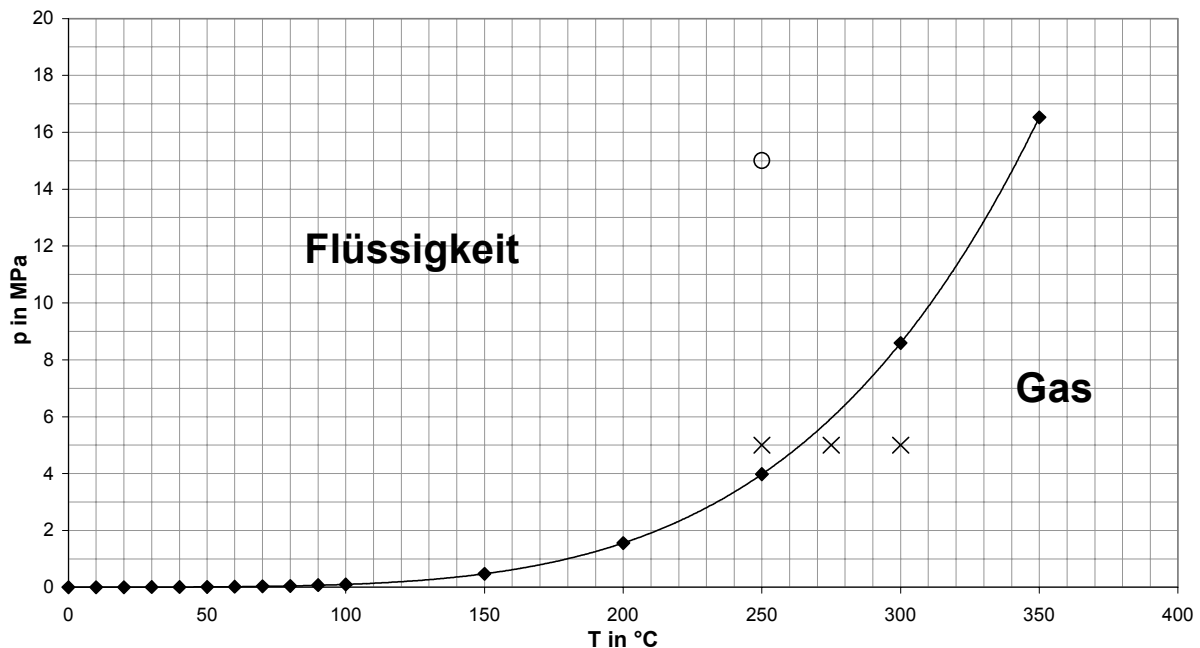


Abb. 9.3: Siedediagramm für Wasser in Abhängigkeit vom Druck (Daten aus [140])

o: 15 MPa, 250°C - Bedingungen aus Kapitel 9.3.4

x: für folgende Untersuchungen gewählte Bedingungen

Wegen der Einschränkung durch den zur Verfügung stehenden Ofen konnten nur Temperaturen bis zu 300°C gewählt werden. Um nun unter isobaren Bedingungen sowohl flüssiges Wasser, als auch gasförmiges Wasser bei diesen Temperaturen zu untersuchen, sollten der Druck und die Temperatur nahe der Siedekurve liegen. Als geeigneter Druck wurden daher 5 MPa eingestellt (vgl. Abb. 9.3) und die Versuche bei 250°C (flüssig) sowie bei 275°C und 300°C (gasförmig) durchgeführt. Das Ergebnis dieser Untersuchungen ist in Abb. 9.4 dargestellt. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden nur einige der untersuchten Verbindungen als exemplarische Beispiele ausgewählt. Es handelt sich hier vornehmend um Vertreter der höhersiedenden Dioxine, welche im allgemeinen schwerer zu extrahieren sind und daher einen guten Eindruck über die Extraktionsleistung liefern.

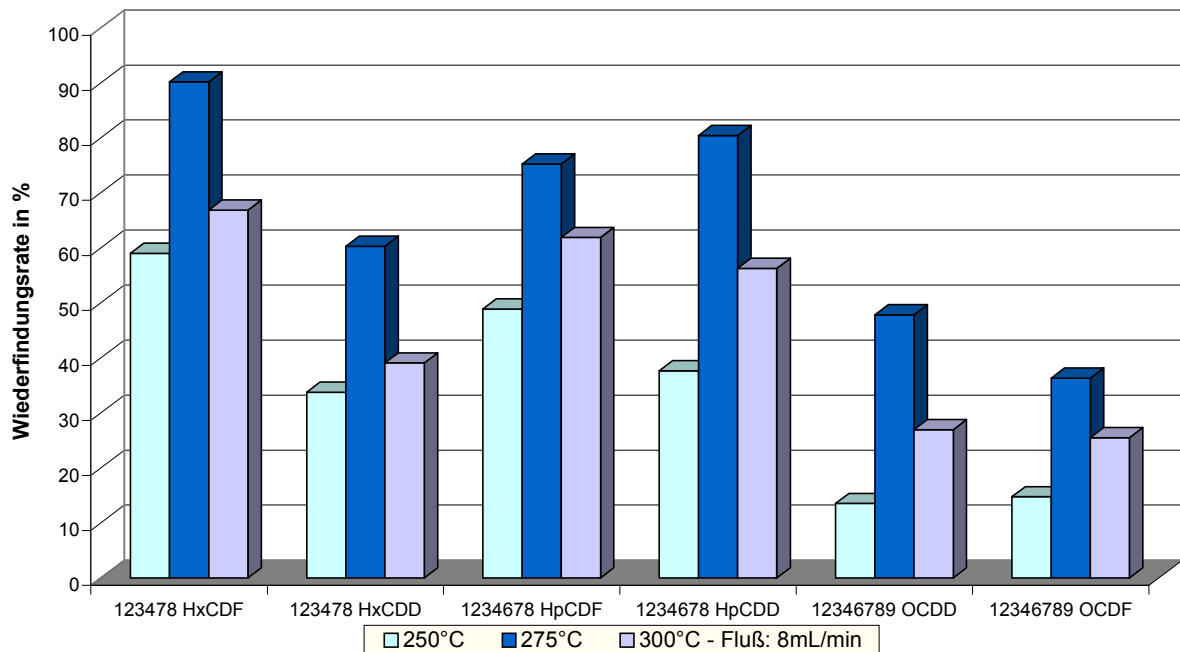


Abb. 9.4: Wiederfindungsraten bei unterschiedlichen Temperaturen  
Extraktion bei 5 MPa, Fluß 8 mL/min

Aus Sicht der thermodynamischen Grundregeln sollte in obiger Abbildung (Abb. 9.4) eine kontinuierliche Steigerung der Wiederfindungsrate mit der Temperatur zu beobachten sein, bzw. zu höheren Temperaturen eine Sättigung bei maximal erzielbarer Extraktionsausbeute zu beobachten sein. Hier jedoch steigt bei einer Temperaturerhöhung von 250°C auf 275°C die Wiederfindungsrate an und fällt bei Erhöhung auf 300°C wieder auf fast den Wert bei 250°C. Führt man sich vor Augen, daß der Zustand des Wassers bei 275°C und 300°C unter diesen Bedingungen gasförmig und somit gleich sein sollte, so erscheint dieser Abfall nicht logisch. Eventuell eintretende Reaktionen der Dioxine in der Gasphase, welche zu einem solchen Minderbefund führen können, konnten von Bavel erst bei weit höheren Temperaturen (bei 400°C als überkritisches Wasser) und auch nur in geringem Maße beobachtet werden [139].

Die Ursache für die Abnahme der Wiederfindungsrate war vielmehr in der Versuchsanordnung zu suchen. Bei diesen Versuchen wurde eine Pumpe verwendet, die den Druck nicht ausreichend nachregeln konnte. Aber gerade bei diesen Versuchen ist der Einfluß der Regelungsfähigkeit der Pumpe bedeutend.

Bei einem Druck von 5 MPa und der Temperatur von 275°C sollte alles Wasser gasförmig vorliegen. Da jedoch die Pumpe nicht in der Lage war schnell genug den Druck nachzuregulieren, stieg durch die Verdampfung des Wassers der Druck in der Zelle an und verhinderte somit ein weiteres Verdampfen des nun unter seinem eigenen Druck stehenden flüssigen Wassers. Betrachtet man das Siedediagramm von Wasser (s. Abb. 9.3) bei der



Temperatur von 275°C so erkennt man, daß ein Druckanstieg von lediglich 1 MPa ausreicht, um wieder in den Bereich der Flüssigkeit zu gelangen. Unter den gewählten Bedingungen kann ein solcher Anstieg schon durch kleine Verstopfungen, welche bei solchen Systemen häufig auftreten können, hervorgerufen werden. Auf Grund der nicht ausreichenden Regelungsleistung der Pumpe, kann also davon ausgegangen werden, daß der Druck bei diesen Untersuchungen in der Zelle mehr als 6 MPa betrug und das Wasser somit bei 275°C flüssig einwirkte. Damit erklärt sich die bessere Wiederfindungsrate bei 275°C im Vergleich zu 250°C durch die Temperaturerhöhung des im flüssigen Zustand auf die Analyten einwirkenden Wassers.

Diese Annahme konnte zu einem späteren Zeitpunkt, auch unter Verwendung einer anderen Pumpe, durch weitere Versuch bestätigt werden. So wurden unter ansonsten gleichen Bedingungen die Untersuchungen bei 275°C mit einem höheren Druck von 10 MPa durchgeführt. Unter diesen Bedingungen ist das Wasser in der Extraktionszelle auf jeden Fall flüssig (vgl. Abb. 9.3). Die unter diesen Bedingungen resultierenden Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung (Abb. 9.5) dargestellt.

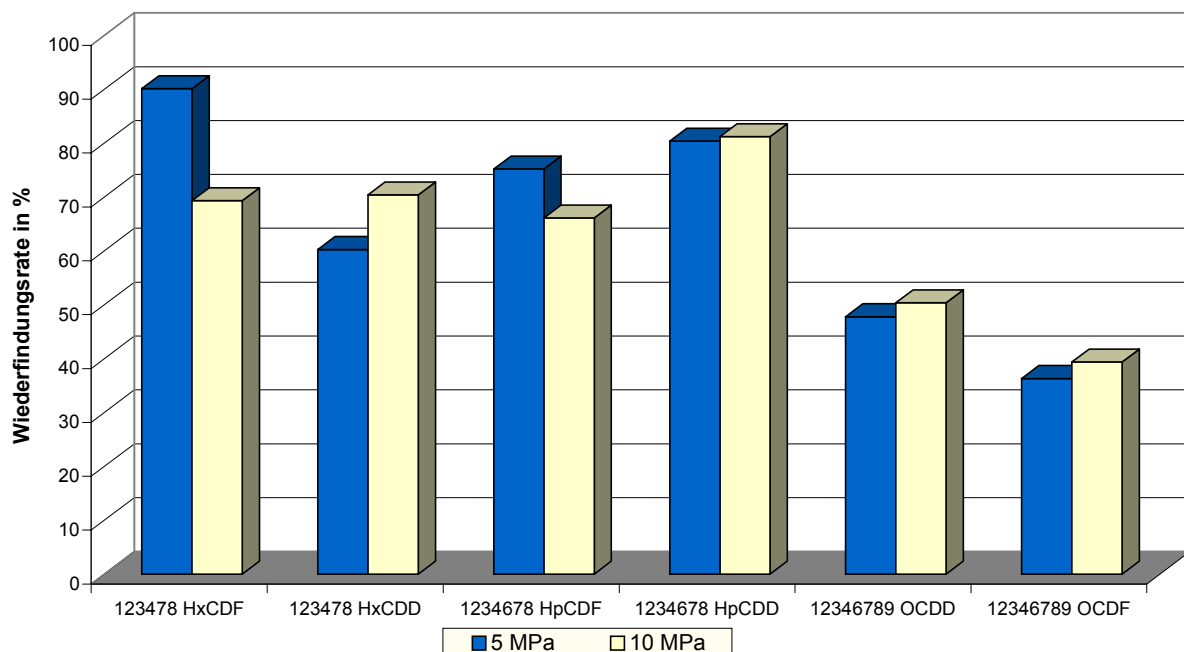


Abb. 9.5: Vergleich der Wiederfindungsrate bei unterschiedlichem Druck

Extraktion bei 275°C, Fluß 8 mL/min

Betrachtet man die guten Übereinstimmung bei der Wiederfindungsrate, kann man die oben angestellte Vermutung bestätigen. Bei den Untersuchungen bei 275°C und 5 MPa muß demnach durch einen Druckanstieg in der Extraktionszelle das Wasser flüssig eingewirkt haben und nicht, wie gewünscht, gasförmig.

Betrachtet man nun erneut die Extraktionen bei unterschiedlicher Temperatur (Abb. 9.4), so konnte festgestellt werden, daß bei 250°C und 275°C das Wasser flüssig vorliegt und nur bei 300°C als Extraktionstemperatur kann davon ausgegangen werden, daß das Wasser hier wirklich gasförmig vorliegt. Zur Erreichung des flüssigen Zustands müßte hier der Druckanstieg über 3 MPa betragen. Dieser hohe Anstieg konnte jedoch ausgeschlossen werden. Somit kann hier nur festgestellt werden, daß ein Einwirken des Wassers in der Gasphase, im Vergleich zu einer Extraktion mit flüssigem Wasser bei 275°C, nicht zu einer Steigerung der Wiederfindungsrate führt. Dieses Experiment steht damit im Gegensatz zu den Untersuchungen von Bavel [139]. Dazu ist jedoch anzumerken, daß die Apparaturen und Bedingungen, welche für die Untersuchungen gewählt wurden doch unterschiedlich genug sind, um solche Diskrepanzen hervorzurufen. Im folgenden sollten zunächst noch eventuelle Effekte durch Änderung des Flusses bei einer Extraktion mit gasförmigen Wasser untersucht werden.

#### **9.4.2 Änderung des Flusses bei der Gasphasenextraktion**

Bei der Extraktion der PAK aus Böden durch Kipp in unserer Arbeitsgruppe wurde bereits der Einfluß unterschiedlicher Flußraten auf die Extraktionsausbeuten untersucht [138]. So konnte sie feststellen, daß eine Erhöhung des Flusses unter gleichen Bedingungen zu einer Steigerung der Wiederfindungsrate führt. Als Optimum hat sich dabei der auch hier verwendete Fluß von 8 mL/min herausgestellt, welcher auch gleichzeitig nahe am Gerätemaximum liegt.

Auf Grund der Untersuchungen zur Extraktion mit Wasser in der Gasphase mußte dieser Punkt jedoch überprüft werden, denn zu Extraktionen mit gasförmigen Wasser lagen in unserer Arbeitsgruppe noch keine Ergebnisse vor. So wurden die nachfolgenden Extraktionen bei 300°C und 5 MPa durchgeführt. Untersucht wurden zunächst die beiden möglichen regelbaren Extremwerte von 8 mL/min und 1 mL/min Fluß, bezogen auf flüssiges Wasser. In der folgenden Graphik (Abb. 9.6) sind die unterschiedlichen Werte für einige ausgewählte Verbindungen aufgeführt.

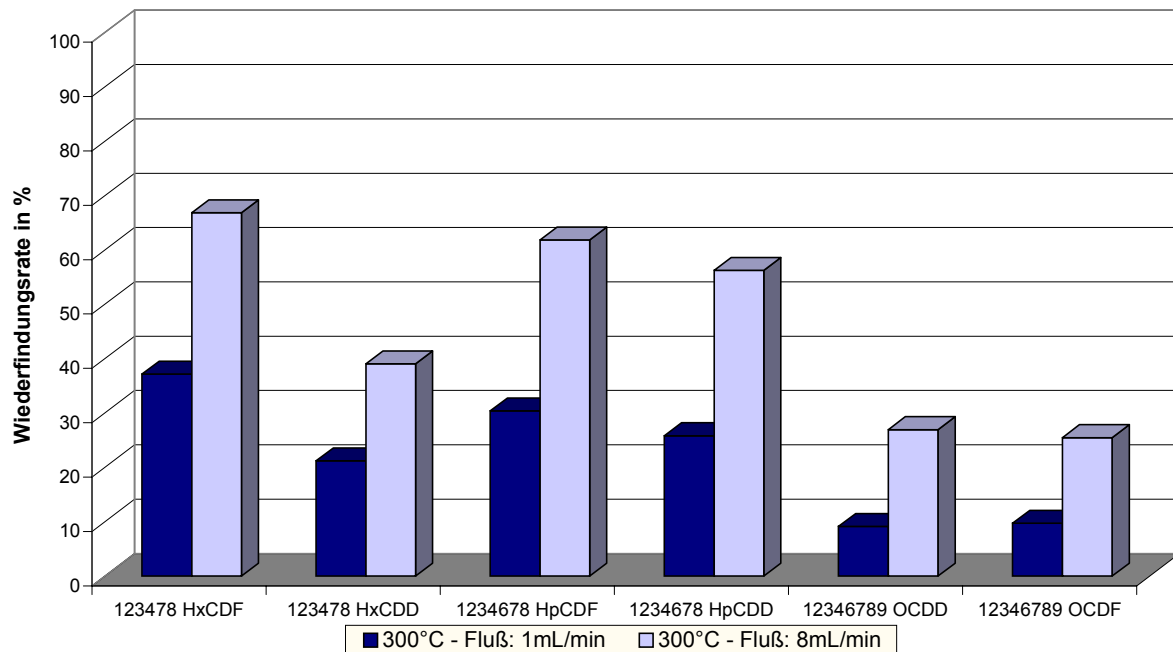


Abb. 9.6: *Wiederfindungsrate bei unterschiedlichen Flüssen*  
*Extraktion bei 300°C und 5 MPa*

Es ist deutlich zu sehen, daß auch in diesem Fall eine höhere Flußrate bessere Ausbeuten liefert. Hier liegt also ein ähnliches Verhalten wie bei der Extraktion mit flüssigem Wasser vor. Da jedoch schon in Kapitel 9.4.1 gezeigt wurde, daß eine Extraktion bei 300°C und 5 MPa bei einem Fluß von 8 mL/min geringere Ausbeuten zeigt, als eine Extraktion bei 275°C, bei der das Wasser flüssig auf die Probe einwirkt, wurden keine weiteren Untersuchungen zur Extraktion mit gasförmigen Wasser durchgeführt. In den weiteren Versuchen sollte nun die Extraktion mit flüssigem Wasser weiter untersucht werden. Hier stehen noch Untersuchungen zum Einfluß der Menge an Extraktionsmittel aus.

### 9.4.3 Volumenerhöhung des Extraktionsmittels

Ausgehend von den obigen Ergebnissen konnte der Schluß gezogen werden, daß das Wasser zunächst flüssig auf die Probe einwirken soll und die Temperatur möglichst hoch gewählt werden soll. Durch die Beschränkung, welche die Geräte vorgaben, wurde daher zur Extraktion eine Temperatur von 275°C als Höchsttemperatur gewählt und ein im Vergleich zu den vorhergehenden Untersuchungen erhöhter Extraktionsdruck von 10 MPa. Dieser höhere Druck sollte gewährleisten, daß das Wasser auf jeden Fall flüssig auf die Probe einwirkt (vgl. Abb. 9.3). Der Fluß wurde nicht geändert und blieb bei 8 mL/min, was für die verwendete Anlage nahezu maximaler Fluß bedeutet. Für alle folgenden Untersuchungen konnte eine neue Pumpe verwendet werden, welche weitaus besser den Druck nachregelt

als die bisher verwendete Pumpe (s. Kap. 9.4.1). Hieraus resultieren auch besser regelbare Flüsse, wodurch die manuell zu bedienende Flußkontrolle erleichtert wird.

Die in Kapitel 9.4.1 bei 275°C erhaltenen Ergebnisse und die dazu geäußerten Vermutungen, daß es sich hierbei um eine Flüssig-Extraktion handelte, konnten unter anderem durch den Einsatz der neuen Pumpe bestätigt werden. Dazu wurde diese Extraktion bei dem hier verwendeten Druck von 10 MPa wiederholt (s. Abb. 9.5). Weiterhin sollte der Einfluß des verwendeten Wasservolumens untersucht werden. Wurde bisher eine Pumpenfällung, entsprechend 100 mL verwendet, sollte nun auch die doppelte Menge an Wasser zum Einsatz kommen. Die aus diesen Versuchen resultierenden Ergebnisse sind in Abb. 9.7 dargestellt.

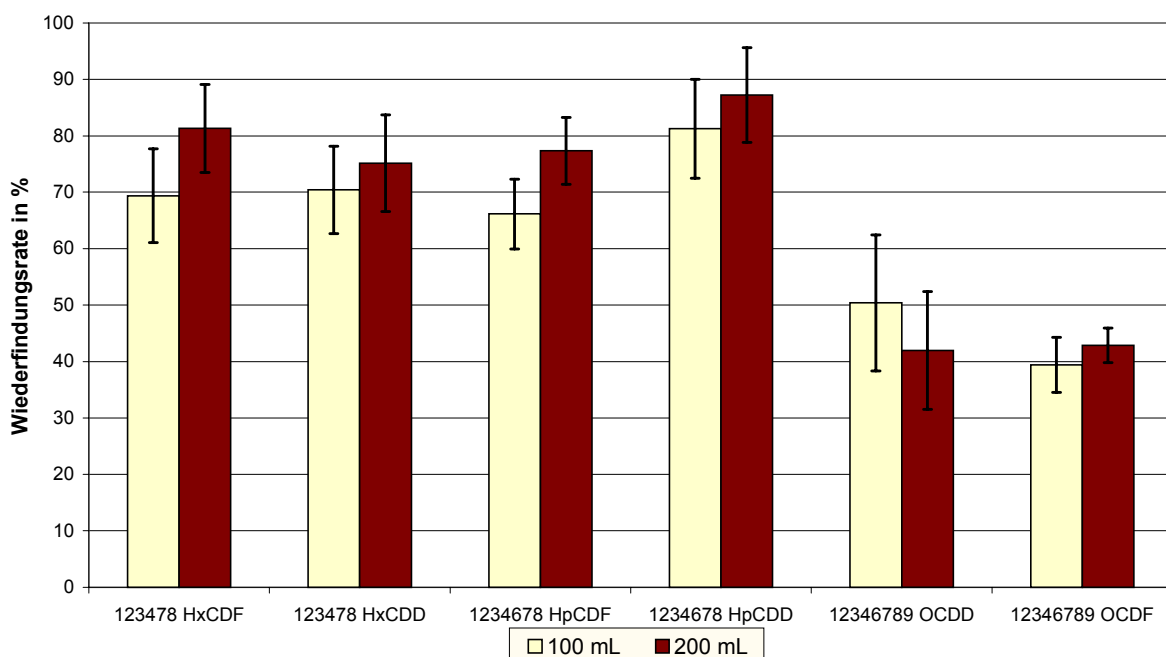


Abb. 9.7: *Einfluß des Volumens an Extraktionsmittel*

*Extraktion bei 275°C und 10 MPa, Fluß: 8 mL/min*

In der obigen Abbildung (Abb. 9.7) ist dargestellt, wie sich eine Erhöhung des Extraktionsmittels auf das Doppelte auswirkt (2fach-Extraktion). Man erkennt, daß innerhalb der Fehler nahezu gleiche Wiederfindungsraten resultieren. Man erzielt hier mit einer einfach durchgeführten Extraktion eine Gesamtwiederfindungsrate von 74% ( $\pm 10\%$ ) und bei zweifacher Extraktion lediglich 79% ( $\pm 10\%$ ). Daher kann im folgenden auf einen zeitintensiven zweiten Extraktionsschritt verzichtet werden.

An dieser Stelle sollen die Ergebnisse mit den in Kapitel 9.4.1 erzielten verglichen werden. Dort wurde bei einer um nur 25°C niedriger liegenden Extraktionstemperatur von 250°C lediglich eine Gesamtwiederfindungsrate von 45% ( $\pm 13\%$ ) erhalten. Dies zeigt, daß die oben erhaltenen Ergebnisse von fast 80% für diese Extraktion sehr zufriedenstellend sind. An

dieser Stelle sollen daher die wichtigsten Extraktionsparameter noch einmal zusammengefaßt werden.

#### **9.4.4 Zusammenfassung der Extraktionsparameter**

Die Vorbereitung der Extraktionszelle entspricht der in Kapitel 9.3.2 beschriebenen und bedurfte keiner Veränderung. Ebenso konnte die Aufarbeitung durch die Flüssig/Flüssig-Extraktion und die sich anschließende Analyse (s. Kap. 9.3.3) unverändert durchgeführt werden. Durch verschiedene Untersuchungen konnten die Parameter für die Heißwasserextraktion festgelegt werden. Zuerst wurde die befüllte Extraktionszelle auf 275°C aufgeheizt. Der Druck wurde während dieses Zeitraumes durch die Pumpe auf 10 MPa konstant gehalten. Im Anschluß erfolgte die dynamische Extraktion ebenfalls bei einem Druck von 10 MPa und 275°C. Der Fluß des Wassers wurde durch den Restriktor manuell auf etwa 8 mL/min geregelt. Nach Durchfluß einer Pumpenfällung von 100 mL Wasser wurde der verbleibende Druck über den Restriktor abgelassen. Danach wurde das in Chloroform/Wasser aufgefangene Extrakt, wie oben beschrieben, aufgereinigt und analysiert.

#### **9.5 Verwendung anderer Matrices als Zellfüllmittel**

In den bisher durchgeführten Untersuchungen wurde Seesand als Matrix verwendet. Seesand besteht zum Hauptteil aus kristallinem Quarz mit Einschlüssen von anderen Mineralien und Metallsalzen. Dadurch ist der Quarz nicht völlig rein und enthält durchaus aktive Oberflächenstrukturen, mit denen die Analyten wechselwirken können. Seesand wird hier dennoch als inerte Matrix beschrieben, da er in Bezug auf die untersuchten Stoffe rein ist und nur in geringem Maße die Untersuchungsergebnisse beeinflusst.

Gerade weil der verwendete Sand sehr fein ist, führte dies des öfteren zu temporären Verstopfungen der Zelle. Da auch andere Materialien als inerte Grundlage für solche Untersuchungen verwendet werden können, wurden deshalb auch Untersuchungen mit Glaskugeln, ebenfalls ein Siliziumdioxid-Grundgerüst, mit 2 mm Durchmesser durchgeführt. Entgegen der Erwartungen traten auch hier Verstopfungen auf. Es zeigte sich, daß unter den Bedingungen der Heißwasserextraktion die Oberfläche des Glases angegriffen und „aufgeweicht“ wurde. Hierdurch buken die Glaskugeln zu einer kompakten Masse zusammen, die Zelle konnte nicht mehr durchspült und die Glasmasse nur sehr schwer wieder aus der Extraktionszelle entfernt werden.

Um die Ursachen hierfür herauszufinden, wurden auch größere massive Glaskörper (Glasrohr) in die Zelle eingebracht und unter gleichen Bedingungen dem Extraktionsmittel

Wasser ausgesetzt. Hier konnte eine Trübung der äußeren Schicht beobachtet werden, welche nach einigen Tagen in feinen spitzen Fasern abplatzte und durch leichten Druck zerrieben werden konnte. Diese Eigenschaften lassen darauf schließen, daß das Glas durch Einwirken des Wassers bei Temperaturen von 275°C bereits von seinem metastabilen Zustand in den energieärmeren kristallinen Zustand übergeht. Man spricht in diesem Zusammenhang von „entglasen“ [141]. Der Vorgang des Entglasens wird in der Glasherstellung durch Zusätze von Bor- und Aluminiumoxiden unterdrückt. Man erhält dann die so genannten „Boro-Silikat-Gläser“, welche stabil und widerstandsfähig sind. Ein solches Glas ist unter dem Namen „Duran<sup>®</sup>“ (Schott) im Laborbereich weit verbreitet und wurde auch hier verwendet. Daraus läßt sich schließen, daß der Vorgang des Entglasens durch die Bedingungen, welche bei der Heißwasserextraktion herrschen, stark beschleunigt werden kann.

Die beobachteten Trübungen des Glases waren zudem verstärkt an der Auflagefläche, also im Kontakt mit der Edelstahloberfläche der Zelle, zu beobachten. Da der Mechanismus des Entglasens für diesen Fall jedoch nicht klar ist, kann hier nur vermutet werden. So kommt einerseits der direkte Temperaturübergang, auf Grund der besseren Wärmeleitfähigkeit des Metalls, in Frage. Andererseits ist es auch möglich, daß an der Edelstahloberfläche Gase, in diesem Fall Luftsauerstoff, besser adsorbieren und durch Reaktion die Entglasung begünstigen.

Die bisher erzielten Ergebnisse genügten für die Anforderungen an das Extraktionsverfahren vollauf. Lediglich die Wechselwirkung der Analyten mit der Matrix Sand sollte noch durch eine Referenzextraktion überprüft werden. Hierbei bietet sich die bewährte Soxhlet-Extraktion an.

## 9.6 Vergleich mit der Soxhlet-Extraktion von Seesand

Für einen Vergleich der Heißwasserextraktion mit konventionellen Extraktionsmethoden wurde Seesand (7 g) mit einer Lösung der Dioxine versetzt und 24 h eine Soxhlet-Extraktion mit Toluol durchgeführt. Anschließend wurde das Toluol bis auf etwa 2 mL am Rotationsverdampfer abdestilliert und die Lösung mit Hilfe der in Kapitel 9.3.3 verwendeten Methode über eine Festphasenextraktionssäule aus 500 mg Florisil über 500 mg Kieselgel B aufgereinigt. Das erhaltene Eluat wurde auf etwa 100µL eingengt. Da sich dieses direkt erhaltene Eluat nach einer Probeinjektion als für die Analyse nicht genügend rein erwies, mußte noch eine kleine Nachreinigung eingebracht werden. Hierzu wurden 1 g Aluminiumoxid B zwischen etwas Natriumsulfat in eine kleine Glassäule gefüllt und das eingengte Eluat auf diese Säule gegeben. Dann wurde zunächst mit 2 mL Toluol und anschließend mit 10 mL Hexan gespült und die erhaltene Lösung verworfen. Die Analyten

wurden danach mit 10 mL Hexan/Dichlormethan (1:1 V:V) in eine neue Vorlage eluiert. Das Eluat wurde nach Zusatz von 50 µL Nonan auf dieses Volumen eingeeengt. Anschließend wurden 50 µL HCB-Lösung in Nonan als Volumenstandard zugegeben und die Lösung am GC/ECD analysiert. Man erhielt eine Gesamtwiederfindungsrate von 85,5% ( $\pm 11\%$ ). Dieses Ergebnis ist nur unwesentlich besser als das der Heißwasserextraktion mit einer Gesamtwiederfindungsrate von 79% ( $\pm 10\%$ ). Daraus läßt sich schließen, daß der Verlust an Analyten vorwiegend bei der Aufarbeitung eintritt. Allerdings läßt sich auf Grund der oben aufgezählten Eigenschaften des Sandes auch die irreversible Adsorption von Analyten nicht grundsätzlich ausschließen. Da jedoch aus den bisher genannten Gründen keine anderen Matrices als Füllmittel verwendet werden konnten (s. Kap. 9.5), stellt Seesand als Material für die Simulation von nativen festen Proben die beste Alternative dar.

## 9.7 Fazit

Bei den Untersuchungen zur Extraktion mit heißem Wasser stellte sich in den durchgeführten Versuchen heraus, daß der entscheidende Einfluß auf die Wiederfindungsraten durch die Temperatur des Wassers gegeben ist. Eine Erhöhung der Temperatur um 25°C, von 250°C auf 275°C, ruft in diesem Bereich eine Senkung der Dielektrizitätskonstanten von lediglich 3,6 Einheiten hervor, etwa 15%. Der Einfluß auf die Extraktionsleistung ist jedoch mit einer um mehr als das Doppelte höheren Wiederfindungsrate ungleich größer. Eine Extraktion der Dioxine mit Hilfe der Heißwasserextraktion ist bei einer Gesamtwiederfindungsrate von 79% ( $\pm 10\%$ ) bestens für schnelle Übersichtsanalysen (*screening*) geeignet. Weiterhin konnte, trotz des Einsatzes von 60 mL chloriertem Lösungsmittel, der Gesamtverbrauch an organischen Lösungsmitteln auf unter 150 mL pro Extraktion reduziert werden. Der Zeitverbrauch, die interessante Größe für schnelle Analytik, lag mit ungefähr einer Stunde im unteren Bereich der für die meisten Hochdruckextraktionen von Dioxinen üblichen Werte. So werden bei Verwendung der Ultraschallunterstützten Hochdruckextraktion von Friedrich etwa 75 min benötigt [123]. Lediglich die sich anschließende Aufarbeitung ist durch das Ausschütteln und die erforderliche Aufreinigung mit etwa 5 Stunden noch recht lang. Obwohl man auch hier sagen kann, daß eine automatisierte Aufreinigung z.B. nach Schrickel [96] etwa die gleiche Zeit benötigt, aber eine wesentlich aufwendigere und teurere Ausstattung benötigt.

Im weiteren Verlauf dieser Arbeit soll daher die Aufreinigung der Extrakte und das einfachere Sammeln der Analyten untersucht werden. Es soll gezeigt werden, daß es möglich ist, auf toxische, umweltschädigende, chlorierte organische Lösungsmittel zu verzichten. Durch „online“-Aufreinigung der Analyten sollen diese auch gleich in einem Schritt für eine schnelle Analyse zur Verfügung stehen.

## 10 Entwicklung einer Methode zur „online“-Aufreinigung von Dioxinen bei der Heißwasserextraktion

### 10.1 Allgemeines

Im vorhergehenden Kapitel 9 wurde gezeigt, daß es mit Hilfe der Heißwasserextraktion möglich ist, Dioxine von der Matrix Sand zu extrahieren. Das dargestellte Verfahren verwendete jedoch zur Sammlung Chloroform, ein chloriertes und erwiesenermaßen toxisches und kanzerogenes organisches Lösungsmittel. Ebenso ist die anschließende Aufreinigung der Extrakte aufwendig und zeitintensiv.

Wie in Kapitel 4.2.5 bereits erläutert, ist die Polarität des Wassers auf Grund der hohen Temperaturen während der Extraktion sehr viel niedriger als bei der Sammlung der Analyten im Anschluß, bei der es wiederum sehr polar ist. Die Analyten besitzen selber eine niedrige Polarität und unterscheiden sich somit stark von der Polarität des Wassers unter Normalbedingungen. An dieser Stelle sollen nun diese für eine Aufreinigung wichtigen Vorteile der Heißwasserextraktion weiter ausgenutzt werden.

Den oben beschriebenen Polaritätsunterschied zwischen dem wäßrigen Extrakt und den Analyten kann man sich, wie folgt, zu Nutze machen. Verwendet man unpolare Festphasenmaterialien, welche eine hohe Affinität zu den Analyten aufweisen, können die Analyten von dem sehr polaren Lösungsmittel Wasser nicht wieder desorbiert werden. In der Umweltanalytik wird dieses Verfahren bereits bei der Anreicherung von Dioxinen aus Wasser eingesetzt. Daher sollen im folgenden Festphasen, welche in der Wasseranalytik bereits Verwendung finden, untersucht werden.

### 10.2 Voruntersuchungen

#### 10.2.1 Charakterisierung der verwendeten Festphasen

In der Wasseranalytik wurden in der Vergangenheit überwiegend die auch in der Flüssigchromatographie eingesetzten Umkehrphasen (*reversed phase*, RP) verwendet. Dies sind die auch schon in Kapitel 8.2.4 erwähnten Kohlenstoff-modifizierten Kieselgelphasen. Als bekannteste Vertreterin dieser Klasse gilt die mit 18-gliedrigen Kohlenstoffseitenketten versehene C<sub>18</sub>-Phase. Durch die C<sub>18</sub>-Ketten erhält diese Phase auf ihrer Oberfläche stark unpolaren Charakter. Dies ermöglicht, unpolare Moleküle dort zu adsorbieren, indem sie sich größtenteils zwischen diese Seitenketten einlagern. Man spricht in diesem Zusammenhang auch von einer Kammstruktur der C<sub>18</sub>-Ketten.



Neben den Umkehrphasen spielen in der Wasseranalytik auch zunehmend Polymer-Festphasen eine bedeutende Rolle. Bei Festphasen auf Polymerbasis kommen andere Retentionsmechanismen als bei den Umkehrphasen zum Tragen. Die wichtigsten Polymer-Festphasen, welche in der Wasseranalytik verwendet werden, sind Harze auf Basis von Styren-Vinyl-Kunststoffen. Durch Steuerung des Produktionsprozesses lassen sich solche Harze gezielt mit bestimmten Eigenschaften herstellen. Die Adsorptionscharakteristik dieser Materialien wird hauptsächlich durch ihre Porengröße und das Porenvolumen bestimmt. Weitere Faktoren sind die Korngröße und Oberflächenbeschaffenheit. Bei diesen Polymerharzen können die Analyten bei passender Größe, zusätzlich zu einer Adsorption an der aktiven Oberfläche, in Poren eingelagert werden. Durch die unpolare Polymeroberfläche sind die Poren vor eindringendem Wasser, welches die Analyten wieder eluieren könnte, geschützt. Hierdurch kann es zu Unterschieden zwischen Materialien auf Basis gleicher Polymerharze kommen. Durch unterschiedliche Porengröße und -volumen, können unterschiedliche Analyten bevorzugt retardiert werden. Zusätzlich zu solchen Größenausschlussmechanismen können an der Polymeroberfläche und ebenso in den Poren die Styren-Gruppen über  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen mit den Analyten interagieren und diese adsorbieren.

Für die Untersuchungen zum Aufreinigungsverhalten verschiedener Festphasen mußten zunächst diejenigen Festphasen ausgewählt werden, welche eine genügende Retention der Analyten unter den zu erwartenden Bedingungen gewährleisten. Als Vertreter der oben genannten Festphasen wurden daher folgende Materialien, welche bereits ein breites Spektrum der auf dem Markt befindlichen Materialien darstellen, ausgewählt: XAD-2 (Amberlite), Lichrolut<sup>®</sup> EN (LEN, Merck), Oasis<sup>®</sup> (Waters) und C<sub>18</sub> fec (Macherey-Nagel, s. Kap. 12.5.6).

### **10.2.2 Bestimmung der Wiederfindungsrate von mit Dioxin-Standard versetzten Festphasen**

Die Bestimmung der Wiederfindungsrate bei Verwendung der einzelnen Festphasen sollte ihre Eignung als Sammelmedium für die Heißwasserextraktion feststellen. Hierzu wurden 500 mg der jeweiligen Festphasen in die bereits bekannte Sammeleinrichtung gegeben (Abb. 5.6). Die Festphasen wurden als erstes mit je 5 mL Hexan/Dichlormethan (1:1 V:V) gewaschen und für 10 min mit Hilfe einer Vakuumpumpe trocken gesaugt. Danach wurden 50  $\mu$ L des Dioxin-Standards in Nonan (s. Kap. 9.2.1) auf die Festphase gegeben und mit 2 mL Methanol hydrostatisch eingespült. Nach einer kurzen Einwirkzeit von etwa 2 min wurde das Methanol abgesaugt. In diesem Fall nicht bis zur Trockene, da das Methanol in den weiteren Untersuchungen zur so genannten Konditionierung dienen sollte. Hierdurch

wird die Festphase auf die anstehende Untersuchung „vorbereitet“. Das Methanol ist als organisches Lösungsmittel in der Lage, zwischen der unpolaren Struktur der Festphasen und dem polaren Wasser als Vermittler zu fungieren. Da die Elutionskraft von Methanol auf die Dioxine recht gering ist, sind hier nur äußerst geringe bis keine Einflüsse durch vorhergehende Elution zu erwarten.

Über die so vorbereiteten Festphasen wurden nun bei einem Fluß von 8 mL/min jeweils eine Pumpenfüllung Wasser (~100 mL) gedrückt. Dieser über die Pumpe erzeugte Druck war notwendig, um den hohen Fluß, welcher auch bei einer Heißwasserextraktion verwendet wird (s. Kap. 9.4.4), zu erzielen. Da die verwendeten Materialien gegenüber Wasser einen hohen Gegendruck ausüben, verbleibt nach Abstellen der Pumpe noch Wasser über der Festphase. Dies über der Festphase verbliebene Wasser wurde abgesaugt und zur Trocknung, die in diesem Fall nicht vollständig ist, wurde weitere 10 min Luft durch Festphase gesaugt. Danach wurden zur Elutionsvorbereitung erneut 2 mL Methanol aufgegeben und nach kurzer Einwirkzeit abgesaugt. Die anschließende Elution erfolgte in eine leere Vorlage. Hierzu wurden 10 mL Toluol verwendet. Auch hier wurde die Festphase im Anschluß trocken gesaugt. Das Lösungsmittel wurde, nach Zusatz von 50 µL Nonan als *keeper*, unter Aufblasen von Stickstoff auf ein Volumen von 50 µL reduziert. Die so erhaltene Lösung wurde mit 50 µL des Injektionsstandards versetzt und analysiert. Das erhaltene Ergebnis ist als Vergleich in Abb. 10.1 graphisch dargestellt.

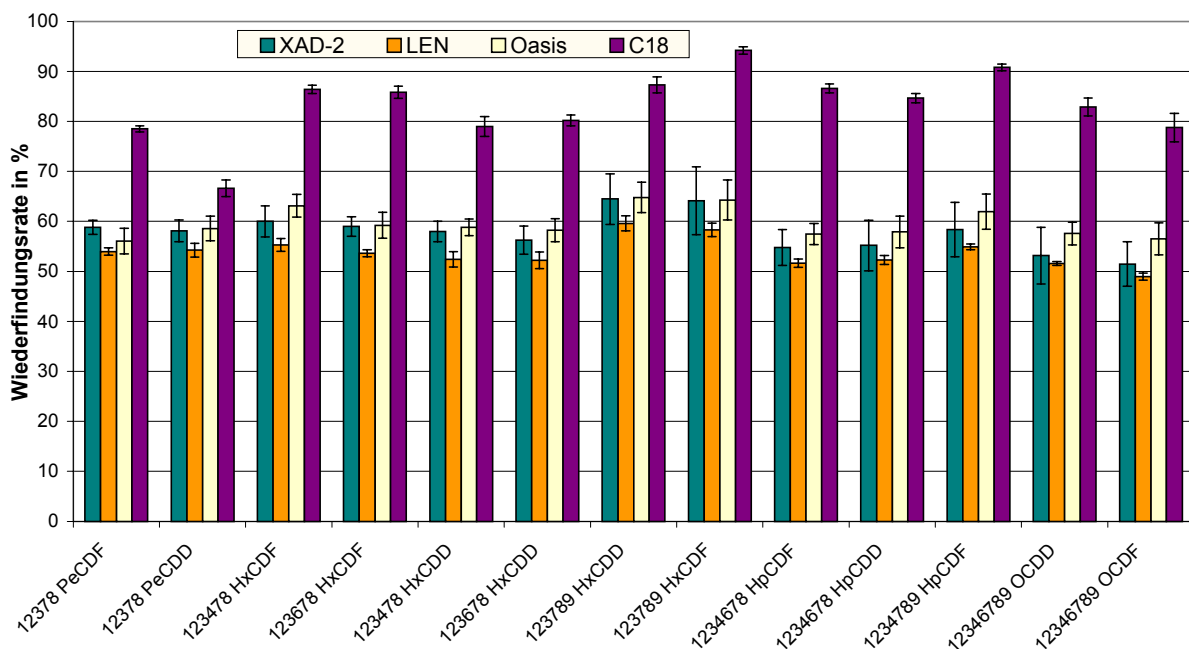


Abb. 10.1: Wiederfindungsrate nach Waschen der Festphasen

Abkürzungen der verwendeten Materialien, siehe Seite 75

In obiger Abbildung ist deutlich zu erkennen, daß das C<sub>18</sub>-Material die beste Wiederfindungsrate aufweist. Die Polymerharze weisen dagegen eine geringe Retention für die Dioxine auf und sind in der Wiederfindungsrate einander sehr ähnlich. Dieses Ergebnis überrascht ein wenig, da die modernen Polymerharze sich in der Wasseranalytik bisher als höchst effizient herausgestellt haben (z.B. [142,143]). Bei einer durchschnittlichen Wiederfindungsrate von unter 60% wird im folgenden allerdings auf weitere Untersuchungen mit diesen Materialien verzichtet. Die durchschnittliche Wiederfindungsrate von 83% ( $\pm 1,5\%$ ) für das C<sub>18</sub>-Material ist jedoch sehr gut. So können nun mit diesem Material Untersuchungen zur Sammlung im Anschluß an eine Extraktion erfolgen.

### **10.3 Extraktion eines Standards und Sammlung/Aufreinigung auf C<sub>18</sub>-Material**

Für die Extraktion eines Standards wurde auf die in Kapitel 9 entwickelte Methode zurückgegriffen. Es kam auch hier zunächst der mit Dioxin-Standard versetzte Seesand zum Einsatz. Die Extraktion selber wurde unter den gleichen Bedingungen, wie bereits in Kapitel 9.4.4 zusammengefaßt, durchgeführt. Die Sammeleinrichtung wurde bei den folgenden Versuchen mit jeweils 500 mg C<sub>18</sub>-Material befüllt und vor der Extraktion mit 10 mL Hexan/Dichlormethan (1:1 V:V) gereinigt. Anschließend erfolgte, wie in Kapitel 10.2.2 beschrieben, die Konditionierung mit 2 mL Methanol. Die so vorbereitete Sammeleinrichtung wurde an die Anlage angeschlossen und die Extraktion durchgeführt. Zu beachten war lediglich der erhöhte Gegendruck, der durch das Packungsmaterial ausgeübt wird, da der Volumenfluß von 8 mL/min recht hoch ist. Mit Hilfe des sich während der Extraktion aufbauenden Druckes im Anschluß an den Restriktor konnte dieser hohe Fluß jedoch erreicht werden.

Nach der Extraktion wurde das Einleitungsrohr mit dem darin befindlichem C<sub>18</sub>-Material entnommen, das Distanzstück eingesetzt und zunächst das überstehende Wasser abgesaugt (s. Abb. 5.6). Es wurden 2 mL Methanol aufgegeben und durch die Festphase geleitet und im Anschluß kurz abgesaugt. Danach erfolgte der Wechsel der Vorlage, in welche mit 10 mL Toluol eluiert wurde. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer bis auf etwa 1 mL entfernt und nach Zusatz von 50 µL Nonan auf dieses Volumen eingeeengt. Anschließend erfolgte die Messung am GC/ECD-System. Die erhaltene Wiederfindungsrate ist in Abb. 10.2 den Werten, welche nach alleiniger Extraktion resultieren (s. Kap. 9.4.3), gegenüber gestellt.

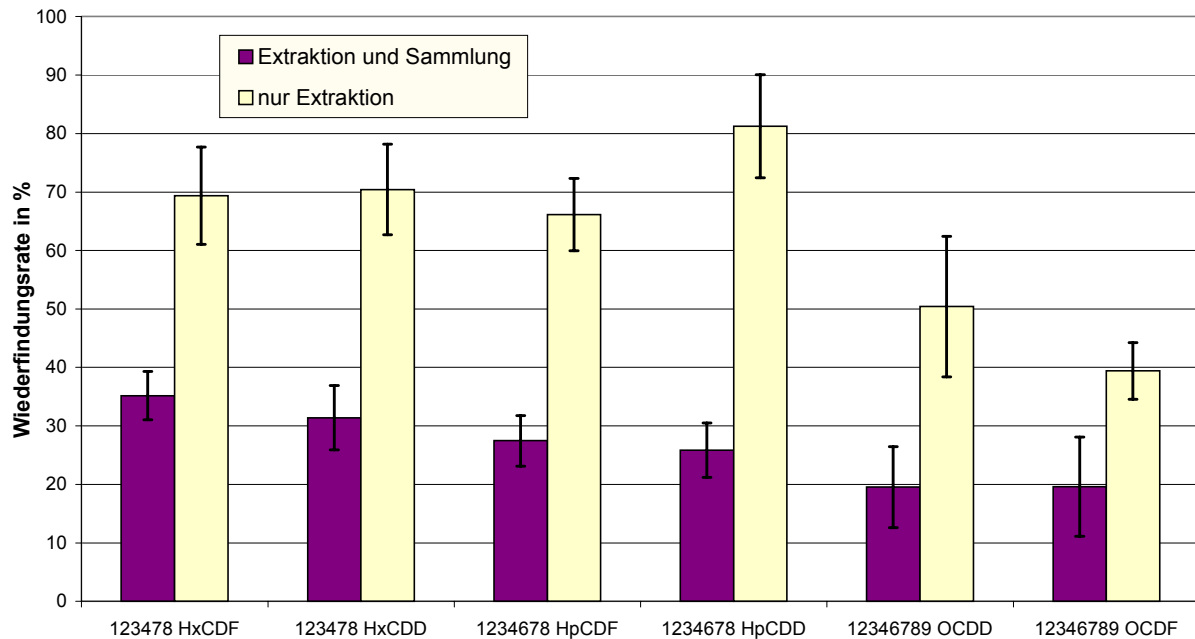


Abb. 10.2: Wiederfindungsrate nach Extraktion und Sammlung auf C<sub>18</sub>-Material

Durchschnittliche Wiederfindungsrate aller bestimmten Dioxine von 29% ( $\pm 14\%$ )

Ergebnisse der Extraktion aus Kap. 9.4.3 (Abb. 9.7)

Wie man in Abb. 10.2 erkennen kann, ist die Wiederfindungsrate sehr gering. Die Untersuchungen in Kapitel 10.2.2 zeigten jedoch, daß die Analyten auf der hier verwendeten Festphase sehr gut retardiert werden. Der bedeutende Unterschied ist jedoch, daß hier die Analyten nicht direkt auf die Festphase aufgegeben wurden, sondern nach und nach im Wasser gelöst über die Festphase strömen.

Weiterhin zeigten die Ergebnisse bei den Untersuchungen zur Extraktion in Kapitel 9.7, daß auch die Extraktion selber nicht zu 100 Prozent erfolgt. Insofern war eine geringere Wiederfindungsrate, als die aus der Extraktion resultierende von 79%, zu erwarten. Da diese aber derart gering ausfällt, müssen weitere Untersuchungen durchgeführt werden, um die Ursachen herauszufinden. Ausschlaggebend kann hier zunächst die eventuell zu niedrig gewählte Festphasenmenge sein. Daher sollen im folgenden die gleichen Untersuchungen mit einer größeren Menge des C<sub>18</sub>-Materials erfolgen.

#### 10.4 Erhöhung des Festphasenvolumens

Durch die Erhöhung des Festphasenvolumens in der Sammeleinrichtung sollen mögliche Durchbrüche der Analyten vermieden werden. Weiterhin kann auf diesem Wege eine längere Kontaktzeit der Analyten mit der Festphase ermöglicht werden. Die Vorbereitungen der Sammeleinrichtung erfolgen analog der in Kapitel 10.3 beschriebenen Methodik, nur die Menge des Adsorbens wurde, wie auch schon in Kapitel 8.3.5 durchgeführt, von 500 mg auf

2 g erhöht. Die zur Reinigung und Elution verwendeten Lösungsmittelmengen waren auch für die erhöhte Festphasenmenge ausreichend und bedurften daher keiner Änderung. Lediglich die zur Konditionierung benötigte Menge an Methanol wurde auf 5 mL erhöht. Die Extraktion wurde unter den bekannten Bedingungen bei 10 MPa und 275°C durchgeführt, ebenso blieb der Fluß von 8 mL/min unverändert. Die erhaltenen Extrakte wurden im Anschluß analysiert. Die Ergebnisse sind im Vergleich mit den aus Kapitel 10.3 erhaltenen in Abb. 10.3 dargestellt.

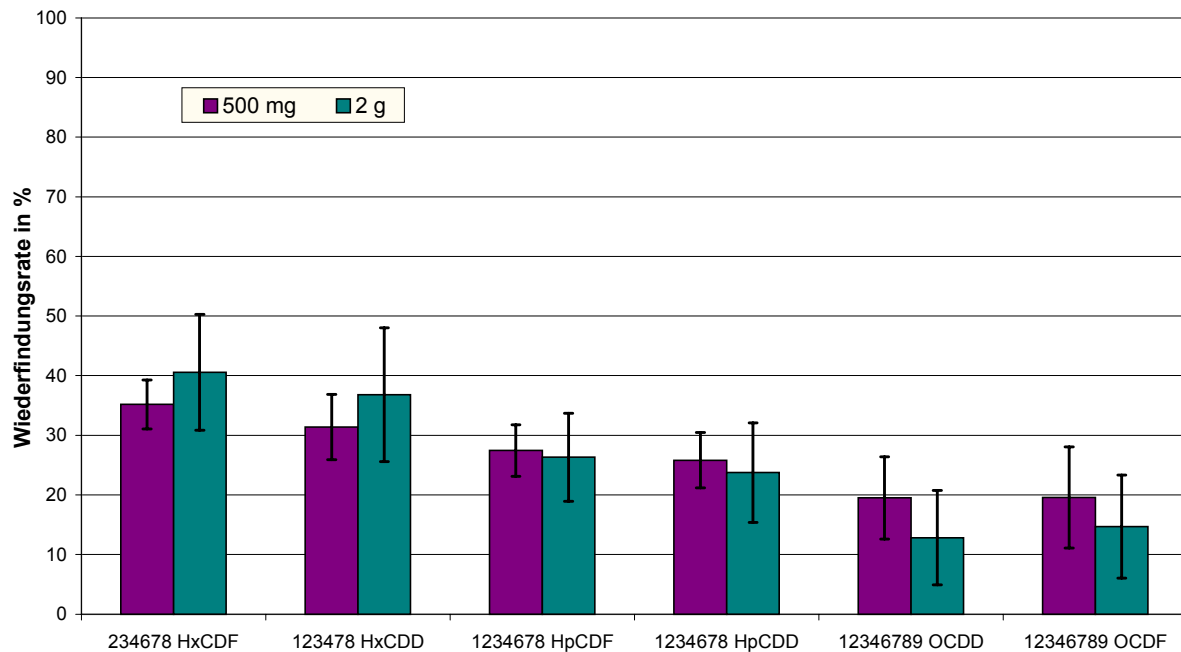


Abb. 10.3: *Extraktion bei unterschiedlichen Festphasenvolumina in der Sammeleinrichtung*  
*Durchschnittliche Wiederfindungsrate aller bestimmten Dioxine bei Einsatz von 2 g*  
*Adsorbens: 30% ( $\pm 21\%$ )*

Wie deutlich zu erkennen ist, ist der Unterschied der Wiederfindungsrate nicht signifikant. Betrachtet man die mittlere Wiederfindungsrate, so erhält man 30% ( $\pm 21\%$ ) Wiederfindungsrate bei Erhöhung des Adsorbensvolumens. Diese Wiederfindungsrate ist nahezu gleich mit der bereits in Kapitel 10.3 gefundenen von 29% ( $\pm 14\%$ ). Es zeigt sich, daß der klassische Fall des Durchbruchs von Analyten nicht gegeben ist. Denn dies sollte bei einem erhöhten Adsorbensvolumen zu besseren Wiederfindungsraten führen. Allerdings kann hier noch ein weiterer Effekt eingetreten sein. Durch den hohen Fluß von 8 mL/min, welchen die Extraktionsanlage liefert, können sich in dem Packungsmaterial eventuell Kanäle bilden. Durch diese Kanäle kann das Wasser besser strömen. Entlang dieser Strecken ist die Kontaktzeit zwischen Analyt und Festphase gering. Der Effekt wird noch dadurch verstärkt, daß die aktiven Stellen der Adsorbensoberfläche in diesen Kanälen schnell abgesättigt werden. Um diesen Sachverhalt zu überprüfen wurde die bei den obigen Versuchen erhaltene wäßrige Phase, wie in Kapitel 9.3.1 beschrieben, dreimal mit je 20 mL

Chloroform ausgeschüttelt und der erhaltene Extrakt analysiert. Da im „durchgelaufenen“ Wasser jedoch keine Dioxine zweifelsfrei nachgewiesen werden konnten, kann die Kanalbildung im Packungsmaterial nicht ursächlich für die geringen Werte verantwortlich gemacht werden.

## **10.5 Einführung eines weiteren Aufreinigungsschrittes**

Beobachtungen an der Sammeleinrichtung zeigten ein interessantes Phänomen. So war zu beobachten, daß in geringem Maße auch feste Bestandteile mit aus der Extraktionszelle gespült wurden. In den Untersuchungen, bei welchen das Wasser anschließend mit Chloroform ausgeschüttelt wurde (s. Kap. 9.3.3), verblieb dieses Material in der wäßrigen Phase. Es handelte sich vermutlich um feinste Fasern aus den verwendeten Glasfaserfiltermaterialien. Interessant war allerdings, daß diese Fasern eine Art zweite Phase oder Gel in dem Wasser bildeten, welches an der Grenzfläche zur organischen Phase im Wasser verblieb. Auch feine Bestandteile des Sandes konnten auf Grund ihrer dunklen Färbung als Partikel beobachtet werden. Diese verblieben allerdings in der gelartigen Struktur des Faserverbundes in der wäßrigen Phase. Der Faserverbund wirkt demnach als eine Art Filter. Wird jedoch die Sammeleinrichtung, respektive das Einleitungsrohr, mit einem Adsorbens gefüllt, so bietet dieses genügend Rückhalt für die ausgespülten Partikel. Und zwar um so mehr, je mehr Adsorbens vorhanden ist. Dies konnte an dem Verlauf der Braunfärbung sehr gut beobachtet werden.

Bei der Verwendung von mit Standard versetztem Seesand war nach der Elution das erhaltene Eluat nicht erkennbar gefärbt und konnte ohne weiteres analysiert werden. Die Festphase wies allerdings nach der Elution immer noch eine hellbraune Farbe auf, was darauf schließen läßt, daß hier in genügender Weise Matrixbestandteile zurückgehalten werden. Jedoch zeigten Versuche mit realem Probenmaterial eine Verfärbung des Eluates. Auch war hier die Festphase deutlich dunkler gefärbt, was dafür spricht, daß erhebliche Mengen an Matrix zurückgehalten werden. Im folgenden mußte daher ein weiterer kurzer Aufreinigungsschritt eingeführt werden.

Bei der Analytik der Soxhlet-Extrakte (s. Kap. 9.6) wurde bereits auf eine kurze Aufreinigung mit Aluminiumoxid B zurückgegriffen. Diese zeigte sich dazu in der Lage, ein bereits gut vorgereinigtes Extrakt zur Bestimmung aufzubereiten. Die mit einer Aufreinigung oder einzelnen Analysenschritten einhergehenden Verluste waren bei dieser Methodik vernachlässigbar gering. So kann in einem weiteren Aufreinigungsschritt dieses Verfahren ohne weiteres verwendet werden.

Aus der Heißwasserextraktion erhält man ein in Toluol vorliegendes Extrakt mit einem Volumen von etwa 100-200 µL. Dieser Extrakt wird auf eine trockene Säule mit 1 g

Aluminiumoxid B (s. Kap. 12.5.6) übertragen, welches gegenüber der Luftfeuchtigkeit oben und unten durch wasserfreies Natriumsulfat geschützt ist. Der Extrakt wird mit 2 mL Toluol eingespült und mit 10 mL Hexan eine erste Fraktion eluiert, welche verworfen wird. Die Elution erfolgt dann mit 10 mL Hexan/Dichlormethan (1:1 V:V). Das erhaltene Eluat wird nach Zugabe von 50 µL Nonan am Stickstoffstrom auf dieses Volumen eingeeengt. Es erfolgt die Zugabe von 50 µL des Injektionsstandards und man erhält eine meßfertige Lösung.

Bei der Auswertung der Meßergebnisse konnte man bereits eine deutliche Verringerung des störenden Untergrundes bemerken. Ebenso war gerade in dem Bereich der spät eluierenden Substanzen eine Glättung der Basislinie festzustellen, was zu einer Verbesserung bei der Integration und somit zu einer besseren Reproduzierbarkeit führte. Für einige Analyten sind die Ergebnisse in Abb. 10.4 dargestellt.

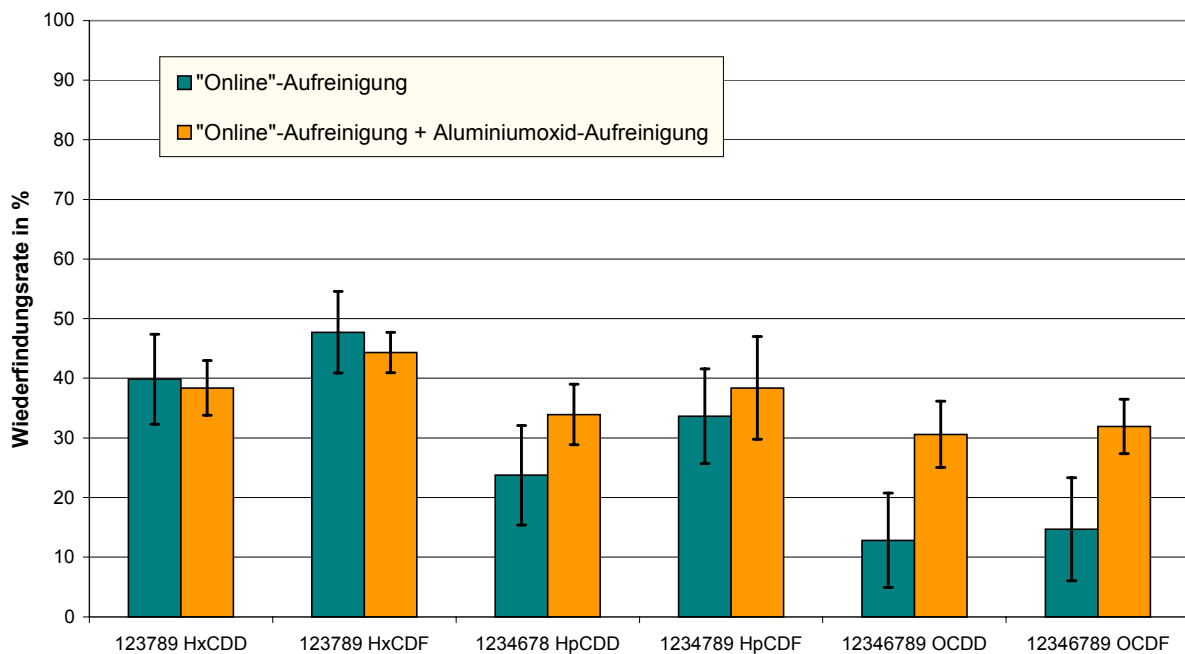


Abb. 10.4: Wiederfindungsrate nach ein- und zweifacher Aufreinigung

Durchschnittliche Wiederfindungsrate der bestimmten Dioxine nach zweifacher Aufreinigung: 34% ( $\pm 13\%$ )

Man sieht sehr deutlich, daß gerade die octachlorierten Analyten hier eine wesentlich bessere Wiederfindungsrate aufweisen. Diese weisen bei der Detektion auf Grund des Einsatzes unpolarer Kapillarsäulen prinzipbedingt eine recht hohe Peakverbreiterung auf und können deswegen bei geringen Konzentrationen eher schlecht integriert werden. Die hier aufgetretene Verbesserung liegt zum Großteil daran, daß auf Grund der Verringerung der Matrixbelastung in der Analysenlösung die Integrationsgrenzen, nicht nur für die octachlorierten Komponenten, besser erkannt werden können. Zusätzlich führt die Absenkung der Basislinie zu einer Verstärkung der Analyt-Signale. Um diesen nicht

einfachen Zusammenhang besser darzustellen, sind in Abb. 10.5 zwei Ausschnitte aus eigenen Chromatogrammen gegenübergestellt.

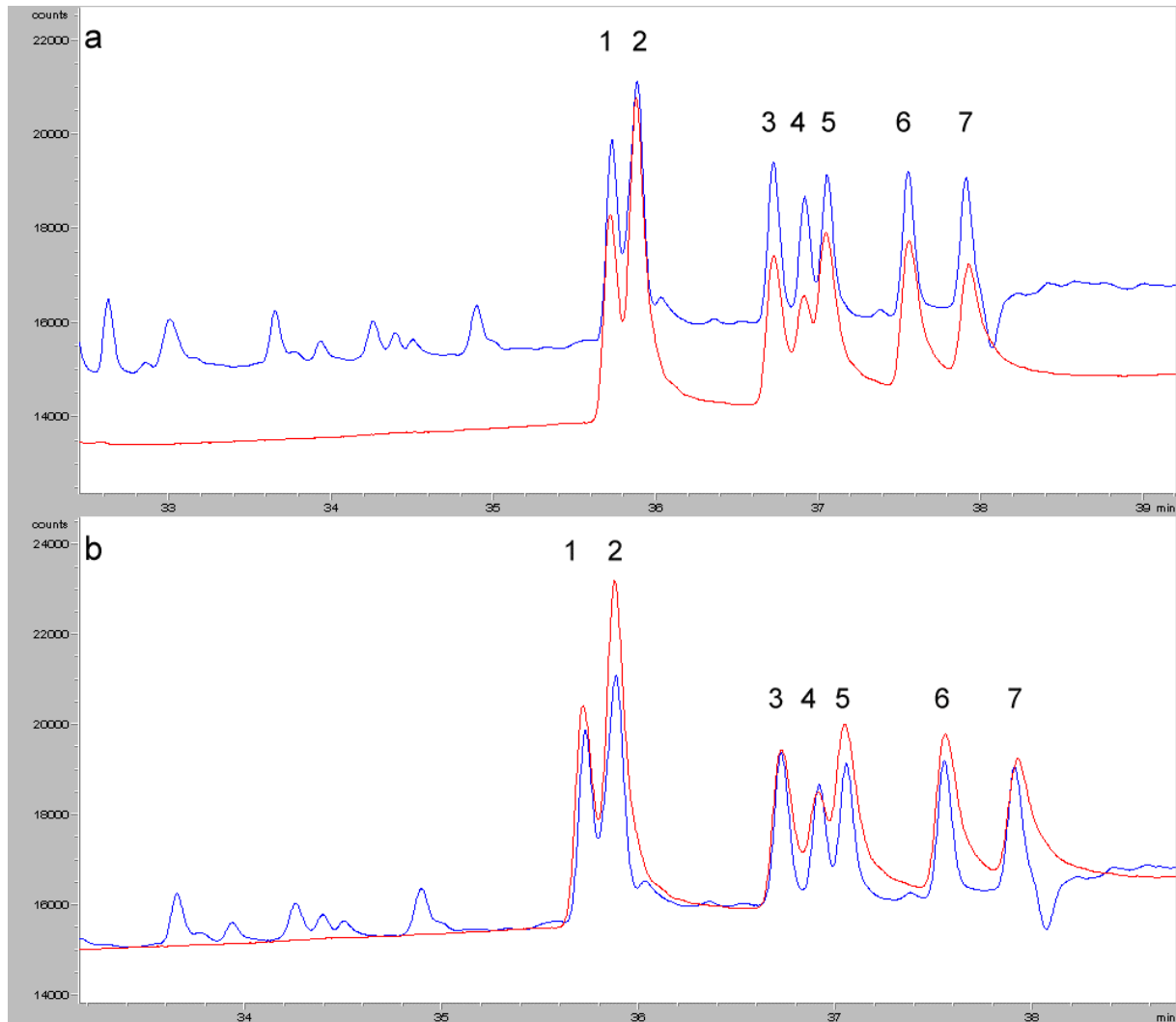


Abb. 10.5: *Einfluß von Untergrund und Störkomponenten auf die Integration des Analyt-Signals*

*a: Abbildung in gleicher Signalthöhe; b: Abbildung nach Angleich der Basislinie*

*blau: Signal nach einfacher Aufreinigung; rot: Signal nach zweifacher Aufreinigung*

*1: 123478-HxCDF, 2: 123678-HxCDF, 3: 234678-HxCDF, 4: 123478-HxCDD,*

*5: 123678-HxCDD, 6: 123789-HxCDD, 7: 123789-HxCDF*

Zunächst einmal läßt sich an Hand der beiden Chromatogramme schon die gute Leistung der zweistufigen Aufreinigung erkennen. Gerade im linken Bereich des Chromatogramms sind vor der zweiten Aufreinigung noch deutliche und diskrete Signale zu erkennen. Die sieben gut zu erkennenden Signale im rechten Teil des Chromatogramms sind von den Analyten hervorgerufene Signale. In Abb. 10.5a sind beide Chromatogramme in gleicher Signalstärke abgebildet. Hier tritt die Anhebung der Basislinie auf Grund nicht aufgelöster Signale der Matrix stark hervor. Die Signale der Analyten addieren sich in diesem Fall nicht vollständig zu diesen Untergrundsignalen und sind dadurch leicht abgeschwächt. Deutlich



wird dies in Abb. 10.5b, wo die Basislinie beider Signale angeglichen wurde. Hier sind die intensiveren Signale nach der zweiten Aufreinigung gut an ihrer größeren Signalhöhe zu erkennen. Durch die glattere Basislinie kann auch eine bessere Integration der Signale erfolgen, was sich in geringeren Fehlerbreiten bemerkbar macht. All dies führt zu einer Verbesserung der Bestimmung der Dioxine.

Das Gesamtergebnis der Wiederfindungsrate aller bestimmten Dioxine ist bei diesen Versuchen sogar geringfügig besser. Betrachtet man die Streuung der Meßwerte, ist auch nach der zusätzlichen Aufreinigung eine wesentlich bessere Reproduzierbarkeit zu beobachten. Auch dies ist auf die geringere Matrixbelastung bei der Bestimmung zurückzuführen.

Daher soll im folgenden die hier entwickelte Heißwasserextraktion mit der dazugehörigen „online“-Aufreinigung um diese kurze Festphasenextraktion erweitert werden und seine Leistungsfähigkeit unter Verwendung von realem Probenmaterial unter Beweis stellen.

## **10.6 Extraktion und Aufreinigung einer Realprobe**

Die Extraktion von zu einer Matrix addierten Standardlösung kann eine reale Probe immer nur unzureichend simulieren. Aus diesem Grunde sollte die Eignung der Heißwasserextraktion mit den oben beschriebenen Aufreinigungstechniken auch für reales Probenmaterial untersucht werden. Für diese Untersuchung stand ein bereits gut untersuchtes Betonmehl zur Verfügung [96,123].

Dieses Betonmehl war allerdings ein sehr fein gemahlenes Pulver. Dies konnte nicht ohne weiteres in die Zelle gefüllt werden, da es zum einen die Fritten an den Zellenenden passieren könnte und es zum anderen, wegen der schlechten Benetzbarkeit des Pulvers, zur sofortigen Verstopfung der Zelle käme. Es mußte daher ein so genannter Träger eingesetzt werden, welcher dieses Pulver „verdünnt“ und zugleich einen gewissen mechanischen Rückhalt verschafft. Hier bot sich verständlicherweise wiederum Seesand an. Durch den Einsatz des Seesandes und wegen des geringen Zellenvolumens, ist die Menge an Probenmaterial jedoch sehr begrenzt. Hier könnte nur die Verwendung einer größeren Extraktionszelle helfen, welche aber leider nicht zur Verfügung stand. Daher konnten nur Extraktionen mit 1 g Betonmehl durchgeführt werden. Diese Probenmenge ist für eine valide Untersuchung jedoch sehr gering, da sich hier schon Probeninhomogenitäten stärker bemerkbar machen. Weiterhin können Analyten, die nur in geringen Anteilen in der Probe enthalten sind, nicht oder schlechter bestimmt werden, weil ihr Gehalt in der resultierenden Meßlösung unter die Nachweisgrenze sinkt. Jedoch sollten die in der Probe vorkommenden Hauptkomponenten unter den Dioxinen noch zu detektieren sein.

Die genaue Einwaage von etwa 1 g Betonmehl wurde mit Seesand auf etwa drei Viertel des Zellenvolumens aufgefüllt und gut durchmischt. Diese Mischung wurde in die Extraktionszelle gegeben, welche bereits mit etwas Seesand befüllt wurde. Zum Schluß wurde mit Seesand aufgefüllt. Diese Extraktionszelle wurde wie bereits beschrieben mit der Methode der Heißwasserextraktion extrahiert und das Extrakt mit Hilfe der „online“-Aufreinigung aufgefangen und vorgereinigt. Anschließend wurde das erhaltene, nun eingengte Extrakt mit der Aluminiumoxid-Behandlung gereinigt und danach analysiert.

Die Hauptkomponenten des Betonmehls waren 1234789-HpCDF und OCDD/-F, welche in ausreichender Menge vorhanden waren, um auch bei einer geringen Wiederfindungsrate noch zu aussagefähigen Ergebnissen zu führen. Diese mit der oben beschriebenen Methode erhaltenen Ergebnisse wurden mit den bekannten Daten des Betonmehls verglichen. Dies ist in Abb. 10.6 dargestellt. Neben den mit Standardverfahren erhaltenen Daten sind zusätzlich die Ergebnisse aus zwei Verfahren dargestellt, welche ebenfalls mit Lösungsmitteln unter erhöhtem Druck arbeiten (s. Kap. 4.2). Bei der Verwendung des UHE-Verfahrens kam außerdem die „online“-Sammlung und Vorreinigung, welche in Kapitel 8 vorgestellt wurde zum Einsatz.

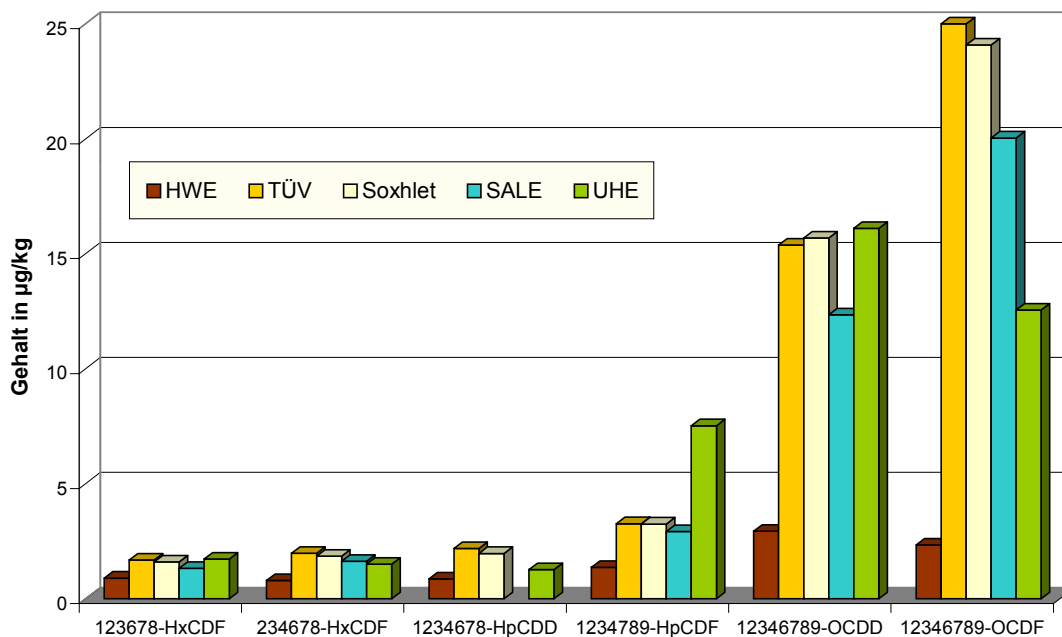


Abb. 10.6: Vergleich der absoluten Gehalte an Dioxinen in Betonmehl bei Verwendung unterschiedlichen Extraktionsverfahren

HWE: Heißwasserextraktion [diese Arbeit], TÜV: Hausverfahren des TÜV Nord (Schrickel [96]), Soxhlet: Soxhlet-Extraktion, SALE: Supercritical CO<sub>2</sub>-Assisted Liquid Extraction, UHE: Ultraschallunterstützte Hochdruckextraktion (Friedrich [123])

Wie bereits durch die Voruntersuchungen zu erwarten war, sind die hier dargestellten absoluten Werte, welche man mit der Heißwasserextraktion erhält, gering im Vergleich zu

den anderen Verfahren. Dies liegt aber ausschließlich an dem verwendeten Bestimmungsverfahren. Die anderen Verfahren zur Bestimmung des Dioxin-Gehaltes in der Probe setzen die Isotopenverdünnungsanalyse (*isotope dilution analysis*, IDA) ein. Wie in Kapitel 6.3 erläutert, werden bei dieser Bestimmungsmethode auftretende Verluste auf analytischem Wege kompensiert. Dies kann bei dem hier entwickelten Verfahren, welches einen Elektroneneinfang-Detektor verwendet, verständlicherweise nicht geschehen.

Die obige Graphik soll daher zunächst nur verdeutlichen, daß die Bestimmung von Analyten mit unterschiedlichen Verfahren durchaus zu einigen Schwankungen im Endergebnis führen kann. Um daher nun einen besseren Vergleich zu ermöglichen, wurden die Werte des TÜV Nord und die im eigenen Haus erhaltenen Werte aus der Soxhlet-Bestimmung gemittelt und als Referenzwerte festgelegt. Von diesen Werten ausgehend, wurde die Wiederfindungsrate für die Heißwasserextraktion von Betonmehl bestimmt (Abb. 10.7; „Betonmehl“). Verglichen wurden diese Werte mit den in Kapitel 10.5 erhaltenen Wiederfindungsraten des Standards auf Seesand (Abb. 10.7; „Standard“). Die auf diesem Wege errechneten Werte sind in der folgenden Graphik (Abb. 10.7) dargestellt.

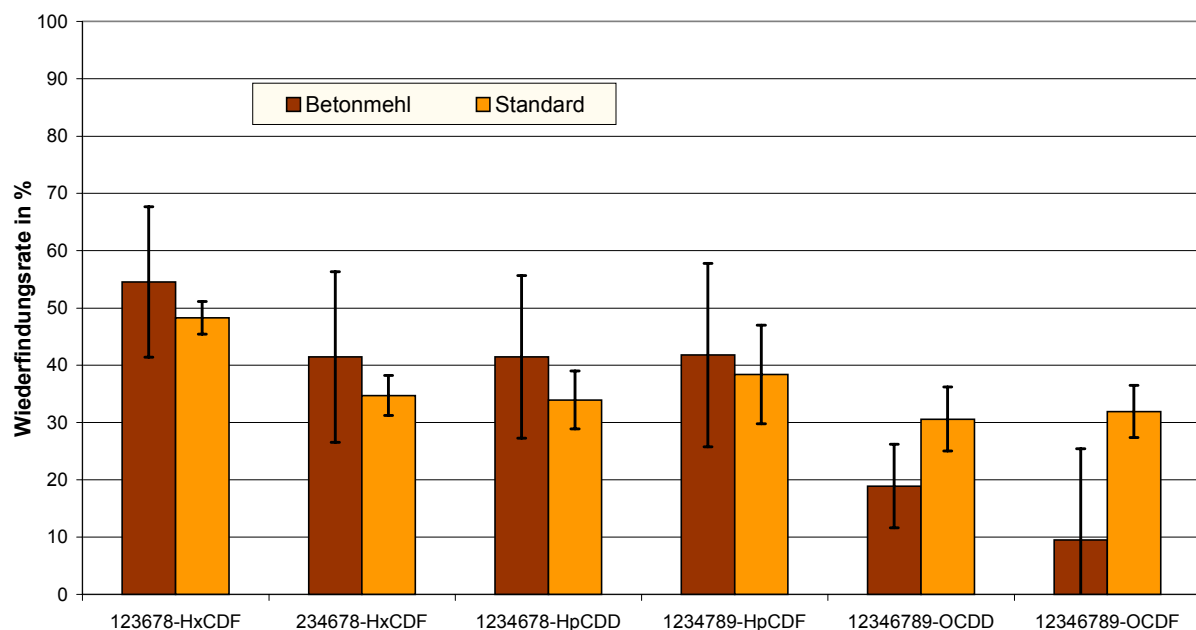


Abb. 10.7: Wiederfindungsrate bei der Extraktion des Betonmehls

Erläuterung: siehe Text

Im Gegensatz zu den octachlorierten Verbindungen sieht man bei den anderen Dioxinen eine sehr gute Übereinstimmung mit den bisher erhaltenen Werten. Dies zeigt also, daß hier, ebenso wie bei einem Einsatz der Isotopenverdünnungsanalyse (IVA), Standard und Realprobe gleichen Verlusten unterliegen. Würde man also bei dieser Methode die IVA einsetzen, was hier auf Grund apparativer Beschränkungen nicht möglich war, so erhält man

innerhalb der hier recht hohen Fehlerbereiche trotz einer geringen Gesamtwiederfindungsrate ähnlich gute Werte wie bei bereits etablierten Verfahren zur Dioxin-Bestimmung.

Die hier dargestellten hohen Fehler resultieren aus drei dieser Berechnung zu Grunde liegenden Punkten. Zum einen ist die gaschromatographische Bestimmung zu nennen, welche gerade in diesen niedrigen Konzentrationsbereichen größeren Schwankungen unterliegt. Zum anderen kommen hier auch vor allem Probeninhomogenitäten zum tragen, da die Einwaage mit nur 1 g sehr gering ist. Abhilfe kann hier nur, wie bereits erwähnt, eine größere Extraktionszelle schaffen, wodurch die Extraktion einer größeren Probenmenge möglich wird. Als dritter Punkt muß noch der Rechenweg berücksichtigt werden, welcher durch die Fehlerfortpflanzungsgesetze die Fehler zweier Bestimmungen beinhaltet.

Die sehr geringen Wiederfindungsraten bei den octachlorierten Verbindungen zeigen, daß die Extraktion dieser Verbindungen nur sehr erschwert stattfindet. Die Ursache ist hier in der starken Bindung der octachlorierten Dioxine und Furane an die Probenmatrix zu finden. In Anbetracht der Entwicklung eines Verfahrens zur Übersichtsanalyse für die Gefährdungsabschätzung sind diese beiden Verbindungen jedoch als nicht so bedeutend einzustufen. Bei einem Toxizitätsäquivalent-Faktor von nur 0,0001 (s. Kap. 3.2.3) müßten diese Verbindungen in einer Probe in sehr viel größerer Menge vorliegen, um das Gesamtergebnis als Angabe in TE-Werten stark zu beeinflussen.

Trotz der geringen Wiederfindungsrate können die hier erhaltenen Ergebnisse als gut gelten. Dies zeigt der direkte Vergleich mit den aus der Realprobe erhaltenen Werten (Abb. 10.7). Verwendete man zur Bestimmung die Isotopenverdünnungsanalyse, so werden die bei dieser Methode auftretenden Verluste kompensiert. Lediglich die Nachweisgrenze als besonderes Kriterium einer chemischen Analyse liegt höher, so daß geringe Analyt-Mengen nur sehr schlecht detektiert werden können. Dies kann, wenn eine Verbesserung der Extraktionsleistung nicht möglich ist, nur durch einen höheren Einsatz an Probenmaterial aufgefangen werden, was sich auf Grund der apparativen Bedingungen als schwierig erweist. Dennoch ist die hier vorgestellte Methode zur schnellen Übersichtsanalytik geeignet.

## 10.7 Fazit

In diesem Kapitel konnte erfolgreich gezeigt werden, daß die direkte Sammlung von Dioxinen auf einer Festphase im Anschluß an die Heißwasserextraktion möglich ist. Die hier zur Verwendung kommende C<sub>18</sub>-Festphase zeigte gute Sammlungs- und Elutionseigenschaften. So mußte nach der Heißwasserextraktion kein aufwendiger Trocknungsschritt ausgeführt werden. Lediglich ein Absaugen des Wassers und Spülen mit nur 2 mL Methanol genügen, um die anschließende Elution durchführen zu können. Die so

erhaltenen Extrakte können bei geringer Matrixbelastung direkt analysiert werden. Mit nur durchschnittlich 34% ( $\pm 13\%$ ) Wiederfindungsrate erhält man gegenüber z.B. einer Soxhlet-Extraktion mit Wiederfindungsraten von etwa 60-70% nur einen geringen Wert, jedoch ist dieser für die Übersichtsanalytik durchaus noch ausreichend. Eine Verbesserung bei der Aussagefähigkeit der Ergebnisse läßt sich leicht durch den Einsatz der Isotopenverdünnungsanalyse erreichen.

Auch die für die Heißwasserextraktion angestrebte Aufreinigung der Extrakte gelang sehr gut. So können mit diesem Verfahren bereits nur gering belastete Proben direkt analysiert werden. Werden stärker verunreinigte Proben extrahiert, so ist ein weiterer Aufreinigungsschritt notwendig. Dieser kann jedoch in sehr kurzer Zeit durchgeführt werden. So ergeben sich Analysenzeiten von nur 4 Stunden bei äußerst geringem Verbrauch an organischen Lösungsmitteln. Dieser geringe Lösungsmittelverbrauch ist zudem noch äußerst umweltschonend. Durch den Einsatz einfacher Gerätschaften ist die Analyse nicht nur kostengünstig, sondern auch für den „vor Ort“-Einsatz geeignet.

## 11 Zusammenfassung

Mit den in dieser Arbeit entwickelten „online“-Aufreinigungssystemen konnte ein wesentlicher Beitrag zur Probenvorbereitung in der schnellen Dioxin-Analytik geleistet werden. Hierbei kamen verschiedene Ansätze zur Anwendung. Zum einen wurde ein Verfahren entwickelt, welches die störenden Matrixkomponenten retardiert und die Analyten passieren läßt. Zum anderen konnte auch der umgekehrte Fall realisiert werden. So wurden die Analyten selektiv auf einer Festphase zurückgehalten, so daß die Analyten durch einen folgenden Elutionsschritt von der Matrix befreit vorlagen.

Im einzelnen wurde gezeigt, daß im Anschluß an ein modernes Hochdruckextraktionsverfahren ein Großteil der mitextrahierten und störenden Matrixbestandteile direkt abgetrennt werden kann. Dies wurde durch die Verwendung von zwei aufeinander abgestimmten Festphasen erzielt. Mit Hilfe dieser „online“ durchgeführten Aufreinigung wurden dabei relativ saubere Extrakte erhalten. Hierdurch wird das sich anschließende automatisierte Verfahren zur abschließenden Reinigung wesentlich entlastet. Ein weiteres Einsatzgebiet dieser Methodik kann in der konventionelle SPE-Analytik gesehen werden. So konnte die hier entwickelte Methode als SPE-Verfahren im zweiten Teil dieser Arbeit ebenfalls zur Aufreinigung von Dioxin-Extrakten in organischer Lösung angewendet werden.

Zusätzlich wurde eine Methode zur Extraktion von Dioxinen mit der Heißwasserextraktion entwickelt. Dadurch ist es möglich, die ansonsten zur Extraktion verwendeten organischen Lösungsmittel zu ersetzen. Weiterhin ist die Extraktion bei einer Dauer von ungefähr einer Stunde wesentlich schneller als die herkömmlichen Verfahren zur Extraktion von Dioxinen. Die besonderen physikalischen Eigenschaften der Heißwasserextraktion erlaubten die Entwicklung einer besseren und effektiveren „online“-Sammlung und -Aufreinigung der Extrakte. Durch die Verwendung herkömmlicher Festphasen aus der Wasseranalytik war es so möglich, eine gute Aufreinigungsleistung zu erzielen. Trotz eher geringer Wiederfindungsraten überwiegen die Vorteile dieser Methodik für die schnelle Übersichtsanalytik von Dioxinen. Bislang war es lediglich unter günstigen Bedingungen mit schnellen Extraktions- und Analyseverfahren möglich, eine abschätzende Dioxin-Analyse von festem Probenmaterial in etwa 6 Stunden durchzuführen. Das in dieser Arbeit vorgestellte Verfahren ermöglicht jedoch eine Analyse bereits in etwa 4 Stunden. Der bedeutendste Vorteil ist jedoch die enorme Einsparung an organischen Lösungsmitteln. So werden bei einer Analyse lediglich die folgenden Mengen benötigt: 50 mL Toluol, 10 mL Methanol, 15 mL Hexan und 5 mL Dichlormethan. Wenn man bedenkt, daß bei einer Soxhlet-Extraktion schon mindestens 250 mL Toluol verwendet werden, ist dies ein bedeutender Nutzen für die Umwelt.

Da bei dieser Analytik keine großen Geräte benötigt werden und auch die Anforderungen an das Analysensystem gering sind, kann diese Methode auch in mobilen Einsatzwagen durchgeführt werden. Eine Gefährdung durch den Transport und das Hantieren von großen Lösungsmittelmengen vor Ort entfällt. Weiterhin ist eine solchermaßen durchgeführte Übersichtsanalyse recht kostengünstig, da auf teure und aufwendige Geräte verzichtet werden kann.

Die Kopplung der Heißwasserextraktion mit der „online“-Sammlung und -Aufreinigung von Dioxin-belasteten Proben kann damit zu einem schnellen, umweltschonenden, kostengünstigen, mobilen und vor allem effektiven Verfahren für die Übersichtsanalytik führen.

## 12 Anhang

### 12.1 Verwendete Materialien und Geräte

#### 12.1.1 Standards

Die Standards der PCB, PAK und Dioxine sowie von HCB und Methoxychlor wurden von Promochem bezogen, mit Ausnahme der *standard stock solution* von *Cambridge Laboratories*. Das *certified reference material* 490 stammt von den *NIST Laboratories*.

#### 12.1.2 Lösungsmittel

Alle Lösungsmittel wurden, soweit nicht anders angegeben, in der Reinheit „zur Rückstandsanalyse“ verwendet. Bestimmte Hersteller wurden nicht bevorzugt. Verwendet wurden:

2-Methoxyethanol; Aceton; Aceton p.a.; Chloroform; Dichlormethan; Methanol; n-Hexan; Nonan; Schwefelsäure, konz.; Toluol; Trifluoressigsäure p.a.; Wasser (Seralpur®)

#### 12.1.3 Feststoffe

Alle Feststoffe wurden, soweit nicht anders angegeben, in der Reinheit „p.a.“ verwendet. Bestimmte Hersteller, mit Ausnahme der Markenprodukte, wurden nicht bevorzugt. Verwendet wurden:

Aktivkohle („Carbon Black“, Chemviron); Aluminiumoxid B Super I (ICN); C<sub>18</sub>-Material; Celite® 545 (Riedel-de-Häen); Florisil® (Riedel-de-Häen); Kieselgel 63-200 µm, 60 Å; Lichrolut EN (Merck); Natriumhydroxid; Natriumsulfat; Oasis® (Waters); Seesand; XAD-2

#### 12.1.4 Geräte und Hilfsmittel

Neben den laborüblichen Geräten und Gläsern wurden folgende Geräte verwendet:

GC/MS „Finnigan GCQ“; GC/ECD HP 5890 II; Säule: BPX 5 (SGE) 60 m, 0,25 mm i.d.; die verwendeten Gase hatten die Reinheit 5.0

Anlage zur SFE, Selbstbau unter Verwendung von Geräten der Fa. Isco, Knaur, HP, Rheodyne und Hielscher; Edelstahlzellen von Keystone Sci.



## 12.2 Physikochemische Daten

Tab. 12.1: Verteilung des Molekulargewichts der PCDD/-F

Angabe des mittleren Molekulargewichts und prozentuale Verteilung der Isotopenmassen im Molekülionencluster bei der EI-Massenspektrometrie

Dioxine	M <sup>+</sup>	(M+2) <sup>+</sup>	(M+4) <sup>+</sup>	(M+6) <sup>+</sup>	(M+8) <sup>+</sup>	Furane	M <sup>+</sup>	(M+2) <sup>+</sup>	(M+4) <sup>+</sup>	(M+6) <sup>+</sup>	(M+8) <sup>+</sup>
TeCDD	319,8965	321,8937	323,8909	325,8882		TeCDF	303,9016	305,8988	307,8959	309,8932	
$\bar{M}$ =321,97	76,42	100,00	49,38	11,00		$\bar{M}$ =305,98	76,54	100,00	49,25	10,92	
PeCDD	353,8576	355,8547	357,8518	359,8491		PeCDF	337,8627	339,8598	341,8569	343,8541	
$\bar{M}$ =356,42	61,26	100,00	65,55	21,64		$\bar{M}$ =340,42	61,33	100,00	65,42	21,53	
HxCDD	387,8186	389,8157	391,8128	393,8100		HxCDF	371,8237	373,8208	375,8179	377,8151	
$\bar{M}$ =390,86	51,11	100,00	81,72	35,78		$\bar{M}$ =374,87	51,17	100,00	81,60	35,64	
HpCDD	421,7796	423,7767	425,7738	427,7710	429,7628	HpCDF	405,7847	407,7818	409,7789	411,7760	413,7732
$\bar{M}$ =425,31	43,85	100,00	97,91	53,41	17,57	$\bar{M}$ =409,31	43,89	100,00	97,79	53,25	17,47
OCDD	455,7407	457,7378	459,7349	461,7320	463,7291	OCDF	439,7457	441,7428	443,7399	445,7370	447,7342
$\bar{M}$ =459,75	33,65	87,64	100,00	65,33	26,76	$\bar{M}$ =443,76	33,71	87,73	100,00	65,24	26,67

Tab. 12.2: Schmelz- und Siedepunkte der 17 wichtigsten PCDD/-F

Schmelzpunkte (PCDF [144], wenn nicht anders angegeben)

Siedepunkte; berechnete Werte (PCDD [12], PCDF [13])

Dioxine	Schmp. °C	Sdp. °C	Furane	Schmp. °C	Sdp. °C
2378-TeCDD	305 [9]	447	2378-TeCDF	228 [145]	438
12378-PeCDD	240 [146]	464	12378-PeCDF	227	465
			23478-PeCDF	196	465
123478-HxCDD	273 [9]	487	123478-HxCDF	227	488
123678-HxCDD	285 [147]	487	123678-HxCDF	222	488
			234678-HxCDF	236	488
123789-HxCDD	243 [147]	487	123789-HxCDF	246	488
1234678-HpCDD	264 [16]	507	1234678-HpCDF	237	507
			1234789-HpCDF	221	507
OCDD	330 [9]	510	OCDF	254 [10]	537

Tab. 12.3: Abhängigkeit des Dampfdruckes von der Temperatur für einige PCDD [13]

Dioxine	$p_0^s(T)$ T=25°C	$p_0^s(T)$ T=50°C	$p_0^s(T)$ T=75°C	$p_0^s(T)$ T=125°C
2378-TeCDD	$2,0 \cdot 10^{-7}$	$9,5 \cdot 10^{-6}$	$4,6 \cdot 10^{-3}$	$5,7 \cdot 10^{-2}$
123478-HxCDD	$5,1 \cdot 10^{-9}$	$4,1 \cdot 10^{-7}$	$4,6 \cdot 10^{-4}$	$8,0 \cdot 10^{-3}$
OCDD	$1,1 \cdot 10^{-10}$	$1,3 \cdot 10^{-8}$	$9,1 \cdot 10^{-5}$	$5,1 \cdot 10^{-4}$

Tab. 12.4: Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient ( $\log K_{ow}$ ) der 17 wichtigsten PCDD/-F (aus [148])

$\log K_{ow}^{exp}$ : experimentell bestimmter Wert

$\log K_{ow}^{ber}$ : berechneter Wert

Dioxine	$\log K_{ow}^{exp}$	$\log K_{ow}^{ber}$	Furane	$\log K_{ow}^{exp}$	$\log K_{ow}^{ber}$
2378-TeCDD	6,42	6,44	2378-TeCDF	6,53	6,21
12378-PeCDD	6,64	6,87	12378-PeCDF	-	6,65
			23478-PeCDF	6,92	6,65
123478-HxCDD	7,80	7,30	123478-HxCDF	7,00	7,08
123678-HxCDD	-	7,30	123678-HxCDF	-	7,08
			234678-HxCDF	-	7,08
123789-HxCDD	-	7,30	123789-HxCDF	-	7,08
1234678-HpCDD	8,00	7,73	1234678-HpCDF	7,40	7,51
			1234789-HpCDF	-	7,51
OCDD	8,20	8,16	OCDF	7,97	7,94

Tab. 12.5: Wasserlöslichkeit ( $S_w$ ) einiger PCDD/-F bei 25°C (aus [7])

Dioxine	$S_w$ [ng/L]	$S_w$ [mol/L]	Furane	$S_w$ [ng/L]	$S_w$ [mol/L]
2378-TeCDD	8-200	$2,5-6,2 \cdot 10^{-10}$	2378-TeCDF	419	$1,37 \cdot 10^{-9}$
			23478-PeCDF	235	$6,92 \cdot 10^{-10}$
123478-HxCDD	4,42 (20°C)	$1,12 \cdot 10^{-11}$	123478-HxCDF	8,25	$2,20 \cdot 10^{-11}$
1234678-HpCDD	2,4 (20°C)	$5,64 \cdot 10^{-12}$	1234678-HpCDF	1,35	$3,31 \cdot 10^{-12}$
OCDD	0,4 (20°C)	$1,6-8,7 \cdot 10^{-13}$	OCDF	1,16	$2,61 \cdot 10^{-12}$

Tab. 12.6: Löslichkeit von 2378-TeCDD und OCDD in verschiedenen organischen Lösungsmitteln in mg/L [18]

Lösungsmittel	2378-TeCDD	OCDD
Aceton	110	-
Anisol	-	1730
Benzol	570	-
Chloroform	370	562
Dioxan	-	384
Methanol	10	-
n-Octanol	50	-
Pyridin	-	400
Xylol	-	3575

### 12.3 Funktion des verwendeten automatischen Aufreinigungssystems

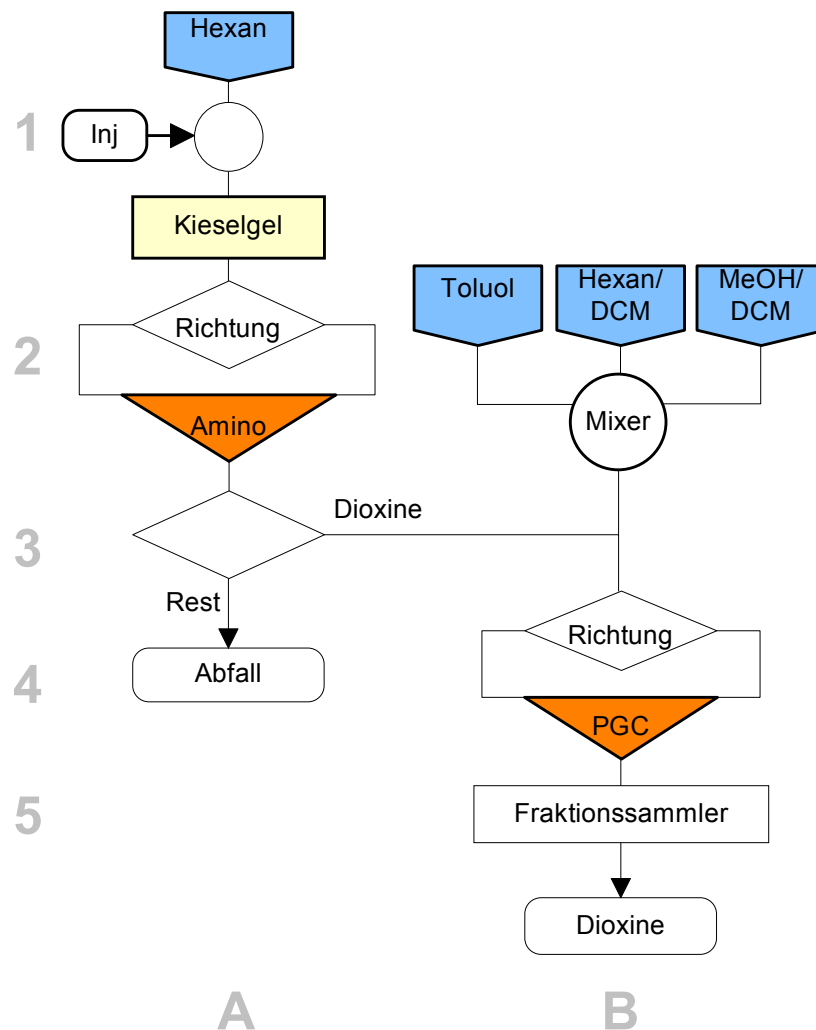


Abb. 12.1: Ablaufschema des automatisierten HPLC-Aufreinigungssystem

Inj: Injektionsport, DCM: Dichlormethan, Amino: Aminopropylsäule, PGC: „porous graphitic carbon“-Säule

Das automatisierte Aufreinigungssystem funktioniert nach der in Kapitel 5.3 beschriebenen Methode der *heart-cut*-Technik. Dieses von Schrickel [96] realisierte System verwendet zwei Lösungsmittelpumpen, von der eine mit einem Gradientenmischer versehen ist, sowie sechs verschiedene Schaltventile. Die Probe wird über den Injektionsport (Ebene A1) in das System gegeben. Eine Vorsäule mit Kieselgel soll die starke Belastung mit Probenmatrix reduzieren. In der zweiten Ebene wird das Gemisch durch die Aminopropylsäule vorgetrennt. Die Flußrichtung ist hier normal. Die direkt eluierende Fraktion, welche die Dioxine enthält, wird in Ebene 3 auf die Kohlenstoff-Säule (Ebene B4) geleitet. Anschließend wird die Flußrichtung der Aminopropylsäule zur Reinigung und Regeneration der Säule umgekehrt

und das Dioxin-freie Eluat verworfen. Auf der Kohlenstoff-Säule werden die Dioxine am Säulen-anfang gesammelt und nacheinander die Begleitstoffe mit Hexan/Dichlormethan, Methanol/Dichlormethan eluiert. Danach wird die Flußrichtung umgekehrt und die Dioxine mit Toluol eluiert. Die Sammlung des Eluates erfolgt über einen Fraktionssammler (Ebene B5). Nach der Elution wird auch die Kohlenstoff-Säule mit Methanol/Dichlormethan und Hexan/Dichlormethan gereinigt und mit Hexan rekonditioniert. Die Elution der Dioxine ist nach etwa 2:15 Stunden beendet und die Anlage im Anschluß an die Reinigungsschritte nach 4:45 Stunden wieder einsatzbereit. Der Lösungsmittelverbrauch beträgt etwa: 200 mL Hexan, 120 mL Dichlormethan, 60 mL Toluol und 20 mL Methanol.

## 12.4 Kalibrationsdaten

### 12.4.1 Kalibration am GC/MSD

Das verwendete Analysengerät war ein Gaschromatograph mit angeschlossenem massenspektrometrischen Ionenfallen-Detektor (Finnigan GCQ). Als Chromatographiesäule kam eine Dünnschichtkapillarsäule BPX 5 (SGE) mit einem Innendurchmesser von 0,25 mm und 50 m Länge zum Einsatz. Das Gerät verfügt über eine Vorsäulendruckregelung, über welche ein konstanter Fluß von 40 cm/s Helium 5.0 eingestellt wurde. Die Injektion erfolgte ohne Split, bei einem Volumen von 2 µL.

- ♦ Temperaturprogramm

Injektortemperatur:	275°C		
Starttemperatur:	110°C	5 min	
Heizrate:	30°C/min	200°C	
	5°C/min	320°C	8 min
Dauer:			40 min

Die Temperatur der Transferleitung lag bei 275°C und die der Ionenquelle bei 150°C. Das Filament wurde nach 11 Minuten eingeschaltet und die Aufnahme der Massenspektren erfolgte zwischen 150-480 amu, bei einer Scan-Rate von 1 s (10 µscans). Die Kalibration der Ionenfalle erfolgte nach der Gerätebeschreibung. Als Injektionsstandard wurde Methoxychlor verwendet (Quantifizierungsmasse: 227).

Tab. 12.7: *Kalibrationsparameter*

*alle Angaben als relative Werte zum Injektionsstandard Methoxychlor*

Substanz	Quantifizierungs- masse(n)	Steigung	Achsenabschnitt	Korr.-koeff. $r^2$
2,2'-Dichlorobiphenyl (4)	187, 222, 224	0,0156	0,3184	0,9991
3,3'-Dichlorobiphenyl (11)	152, 222, 224	0,0282	0,2282	0,9991
2,2',4,4',6-Pentachlorobiphenyl (100)	324, 326, 328	0,0180	0,0268	0,9998
3,3',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl (127)	324, 326, 328	0,0191	-0,0589	0,9996
Fluoranthen	202	0,0230	-0,0796	0,9997
Benzo[e]pyren	252	0,0142	-0,2063	0,9975
12478-PeCDD	354, 356, 358	0,0136	0,0573	0,9994
OCDD	458, 460, 462	0,0101	-0,0946	0,9996

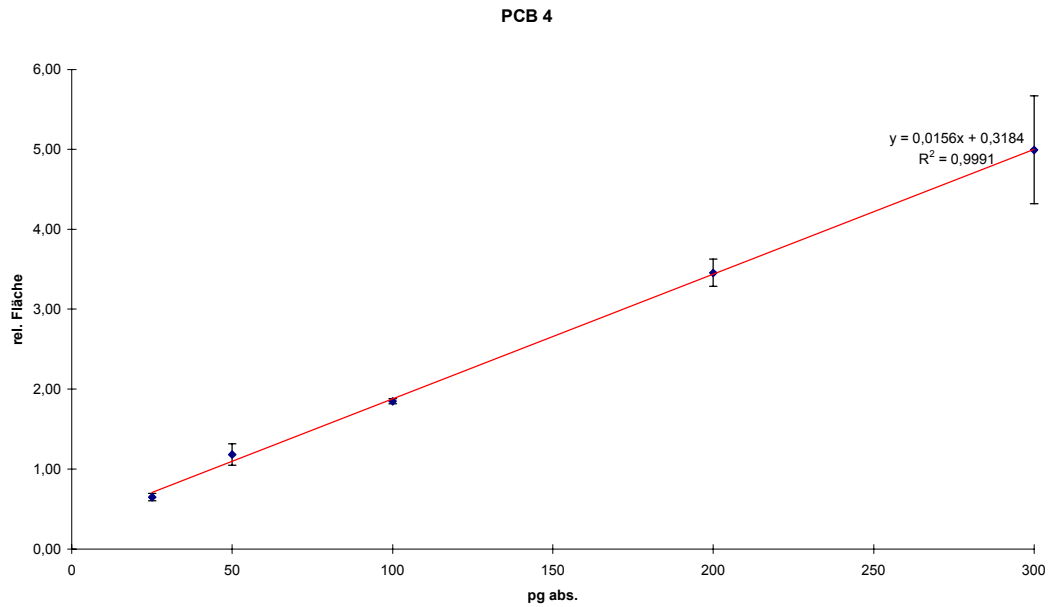


Abb. 12.2: Kalibriergerade von 2,2'-Dichlorobiphenyl (4)

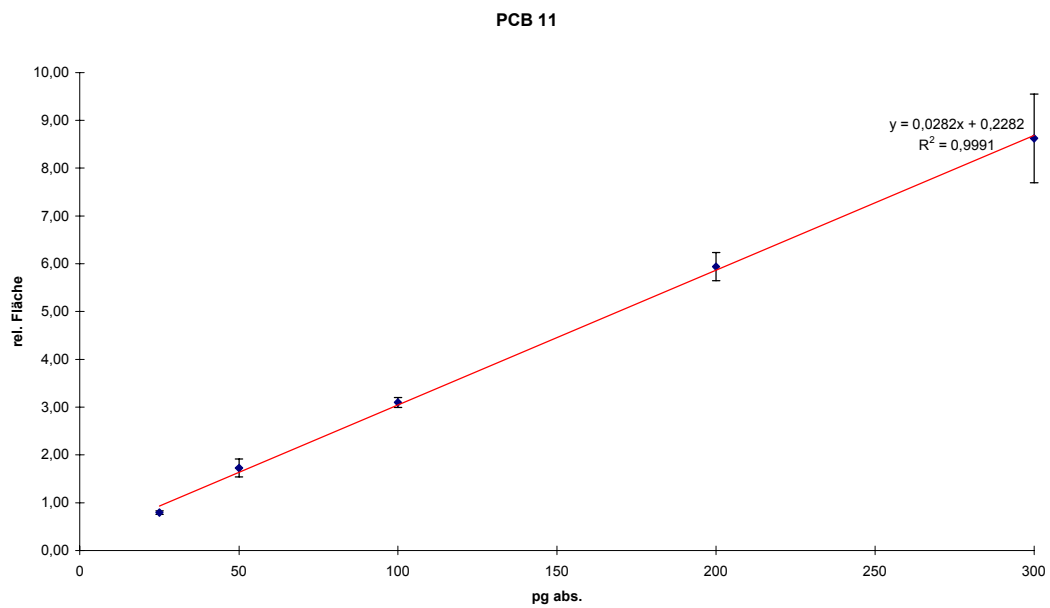


Abb. 12.3: Kalibriergerade von 3,3'-Dichlorobiphenyl (11)

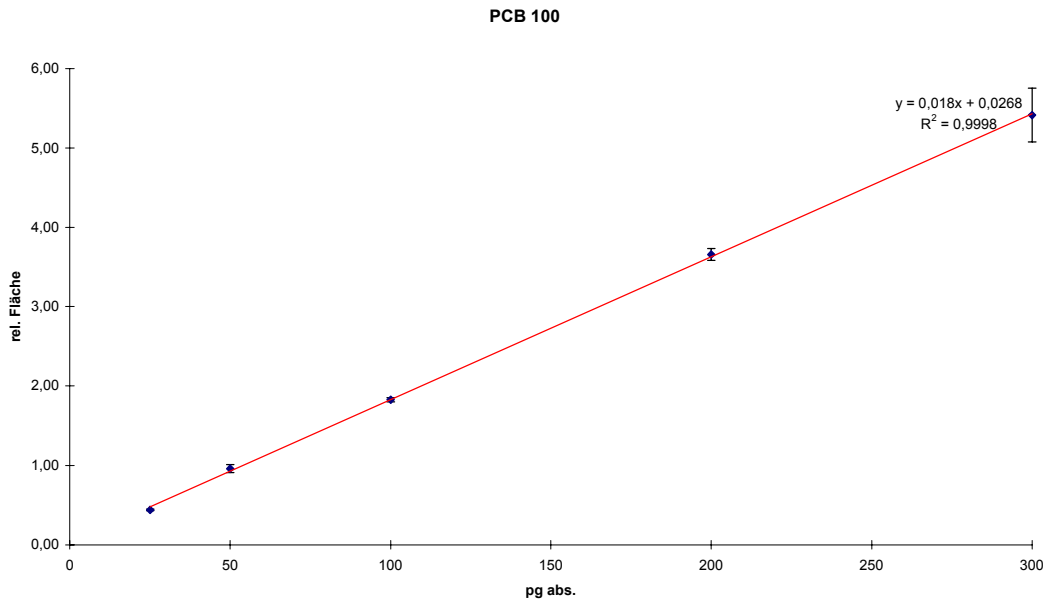


Abb. 12.4: Kalibriergerade von 2,2',4,4',6-Pentachlorobiphenyl (100)

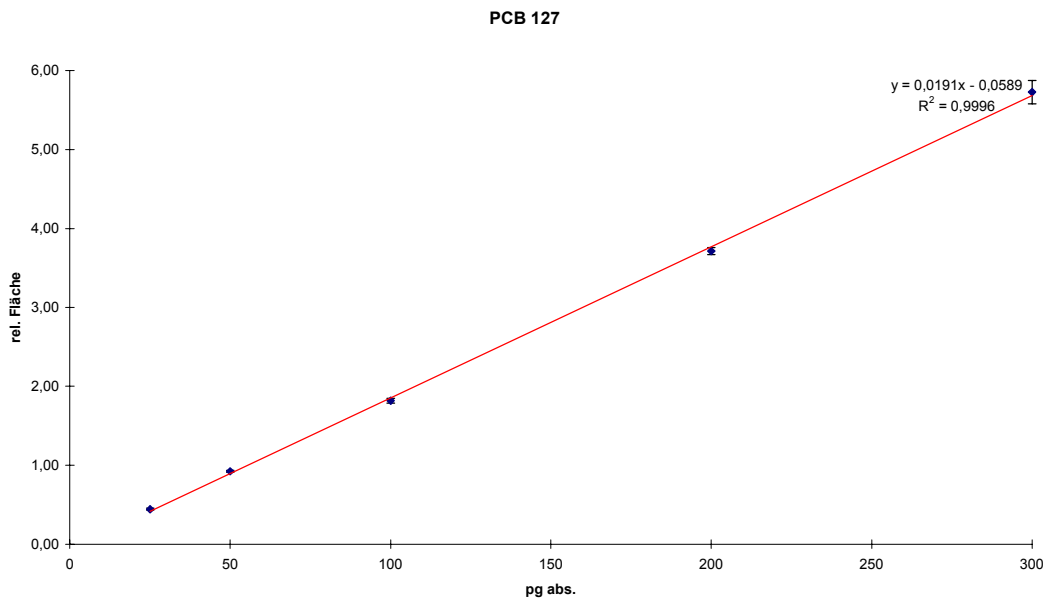


Abb. 12.5: Kalibriergerade von 3,3',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl (127)

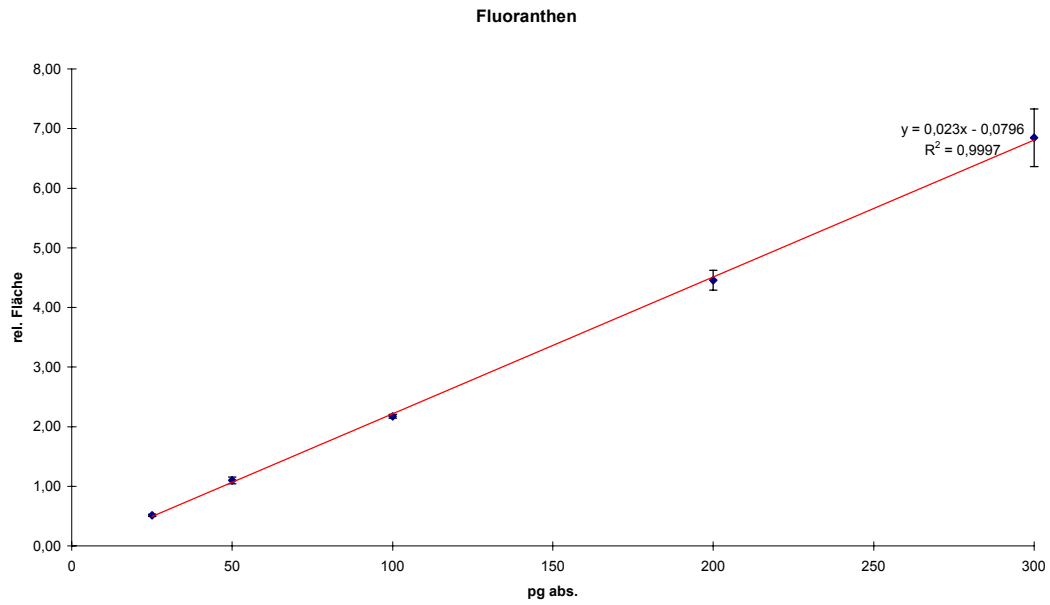


Abb. 12.6: Kalibriergerade von Fluoranthen

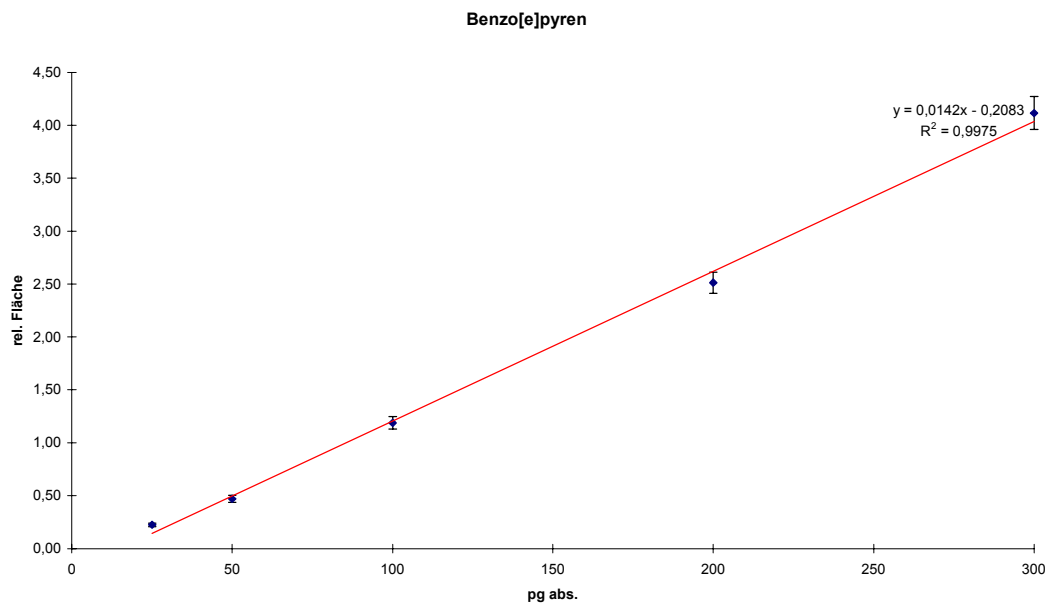


Abb. 12.7: Kalibriergerade von Benzo[e]pyren



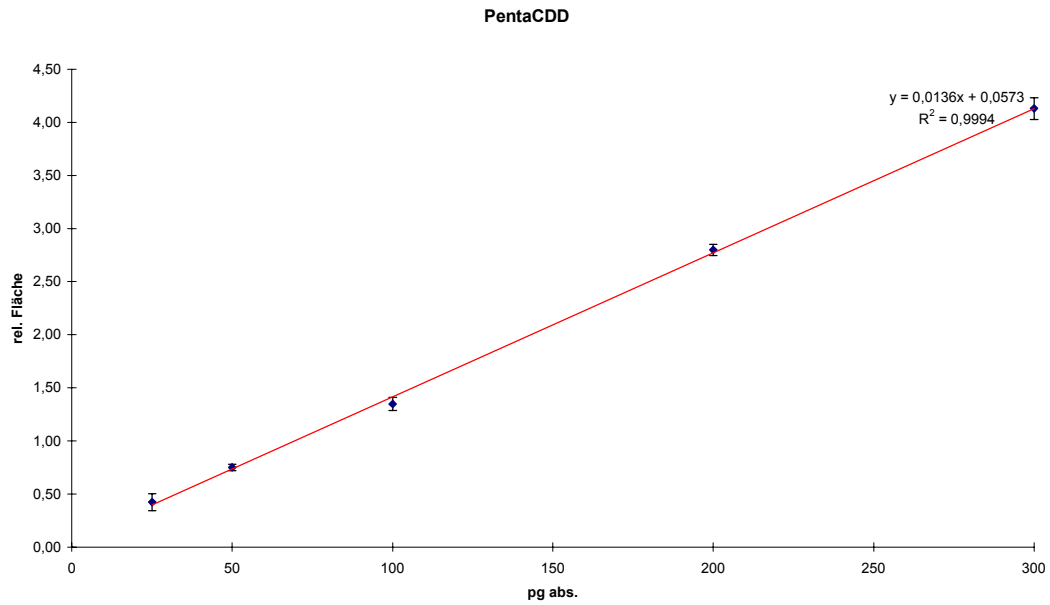


Abb. 12.8: Kalibriergerade von 12478-PeCDD

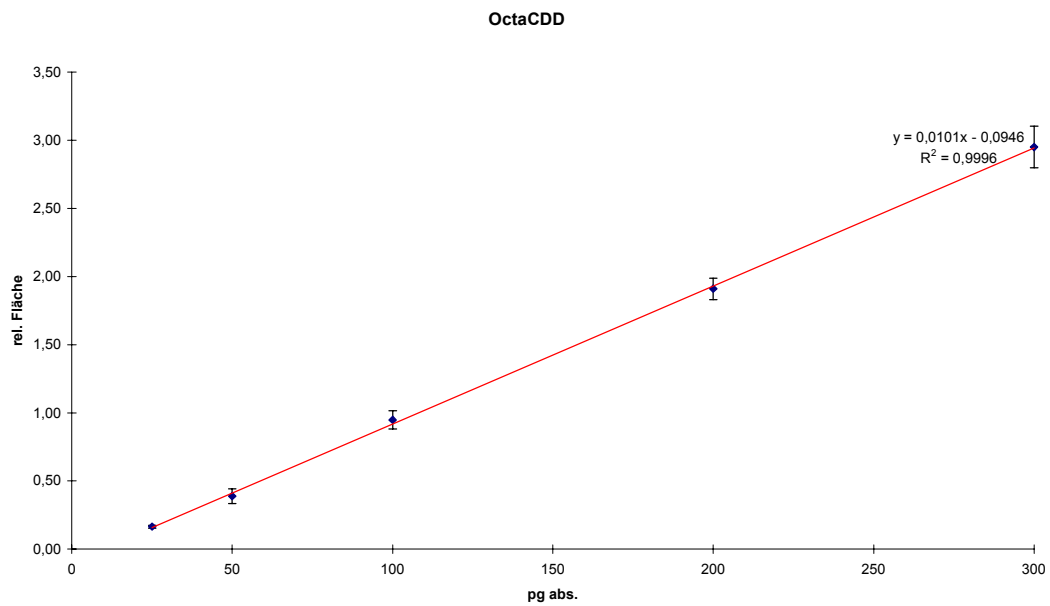


Abb. 12.9: Kalibriergerade von OCDD

### 12.4.2 Kalibration am GC/ECD

Das verwendete Analysengerät war ein Gaschromatograph mit angeschlossenem Elektroneneinfang-Detektor (Agilent HP 5890 II). Als Chromatographiesäule kam eine Dünnschichtkapillarsäule BPX 5 (SGE) mit einem Innendurchmesser von 0,25 mm und 50 m Länge zum Einsatz. Es wurde ein Fluß von 1,2 mL/min Helium 5.0 bei 110°C eingestellt. Die Injektion erfolgte ohne Split, bei einem Volumen von 1 µL.

- ♦ Temperaturprogramm

Injektortemperatur:	300°C		
Detektortemperatur:	320°C		
Starttemperatur:	150°C	5 min	
Heizrate:	20°C/min	200°C	
	2,8°C/min	300°C	22 min
Dauer:			65 min

Tab. 12.8: Kalibrationsparameter der Kalibration am Elektroneneinfang-Detektor

Substanz	Steigung	Achsenabschnitt	Korr.-koeff. $r^2$
Hexachlorbenzen	2578	3961	0,9992
2378-TeCDF	1978	32	1,0000
2378-TeCDD	1665	40	0,9998
12378-PeCDF	2622	2431	0,9991
23478-PeCDF	2428	2148	0,9991
12378-PeCDD	1783	1788	0,9986
123478-HxCDF	2802	2361	0,9988
123678-HxCDF	3156	3594	0,9984
234678-HxCDF	2642	1691	0,9995
123478-HxCDD	2207	1649	0,9991
123678-HxCDD	2609	2766	0,9985
123789-HxCDD	2268	1008	0,9996
123789-HxCDF	2057	13	1,0000
1234678-HpCDF	3110	2716	0,9984
1234678-HpCDD	2511	1224	0,9995
1234789-HpCDF	2482	261	0,9999
OCDD	1891	3417	0,9987
OCDF	2352	4998	0,9979

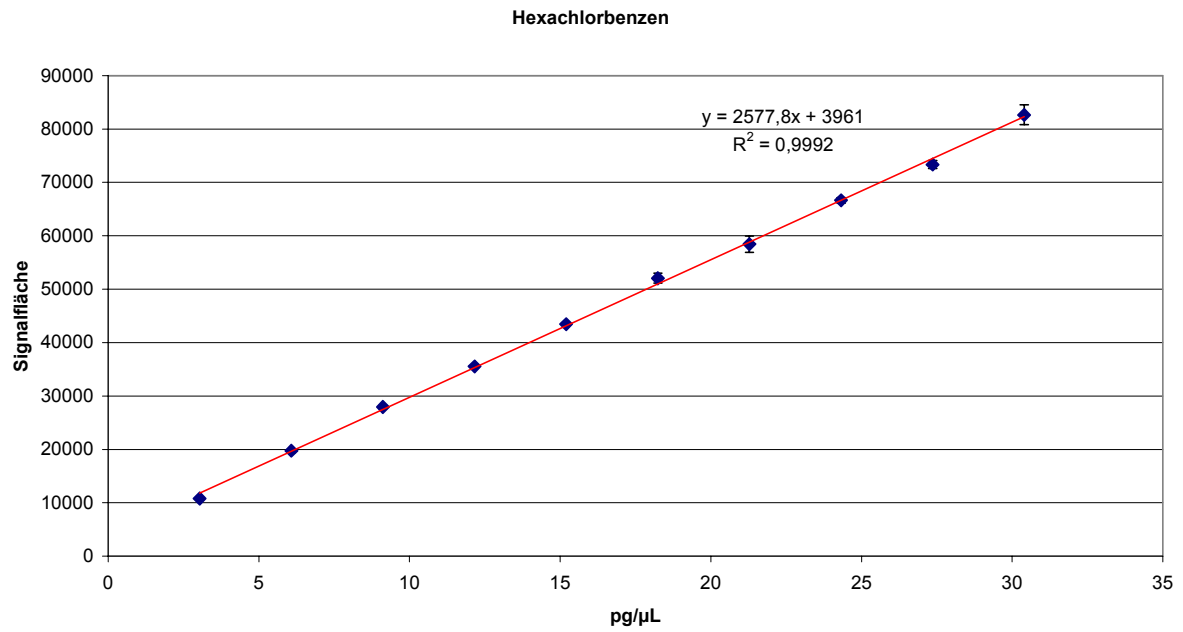


Abb. 12.10: Kalibriergerade von Hexachlorbenzen

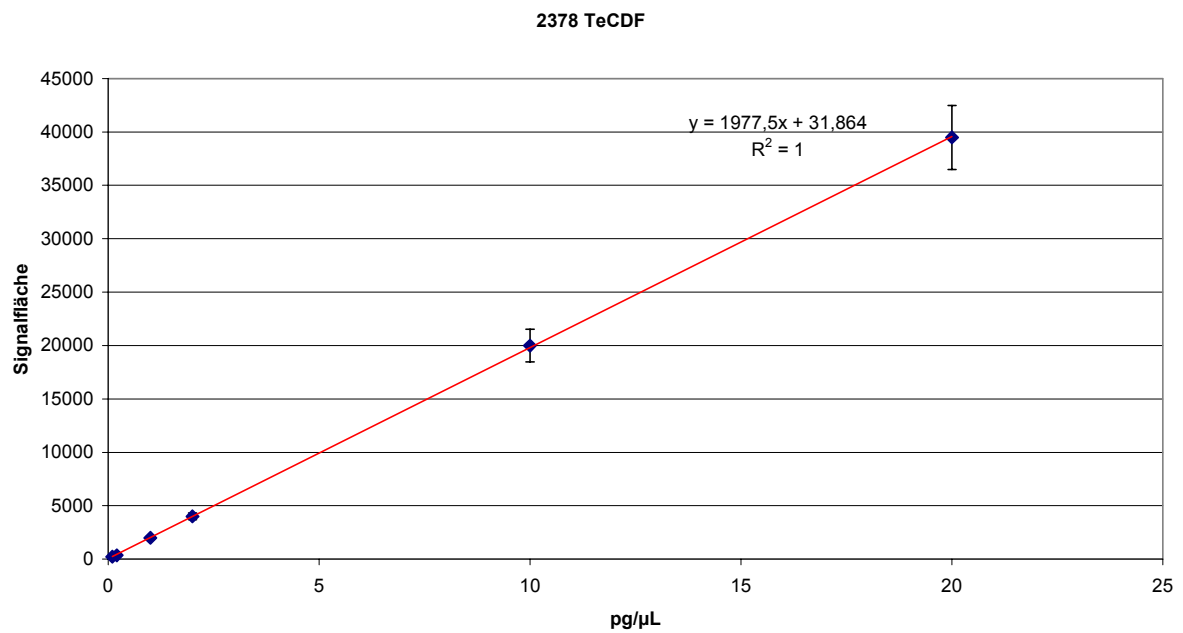


Abb. 12.11: Kalibriergerade von 2378-TeCDF

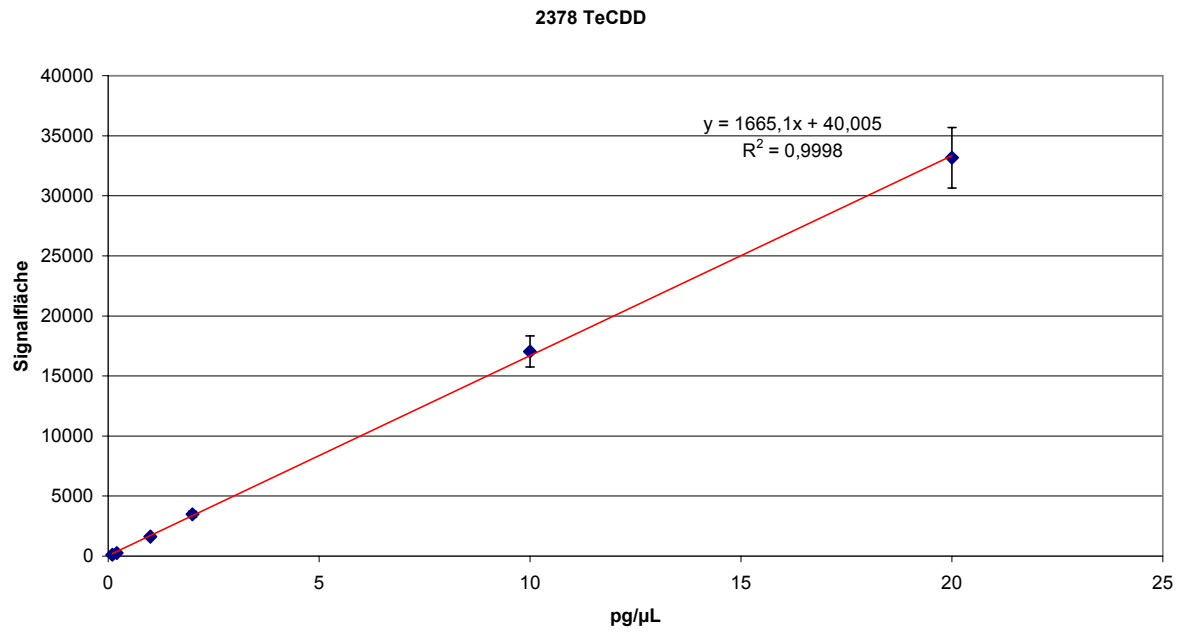


Abb. 12.12: Kalibriergerade von 2378-TeCDD

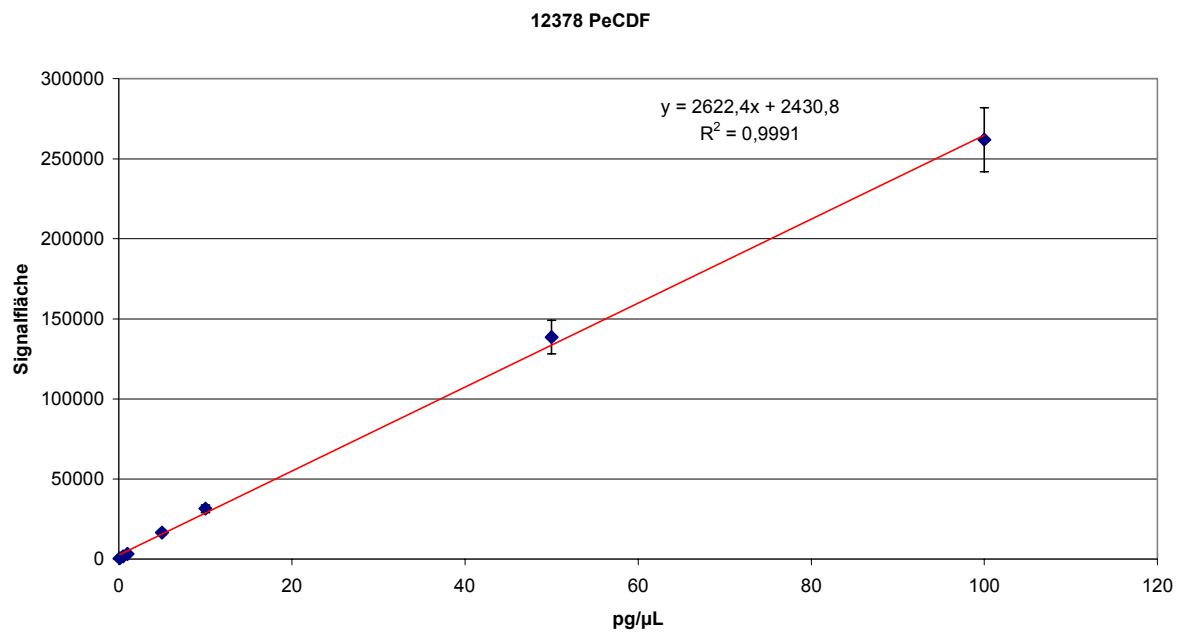


Abb. 12.13: Kalibriergerade von 12378-PeCDF

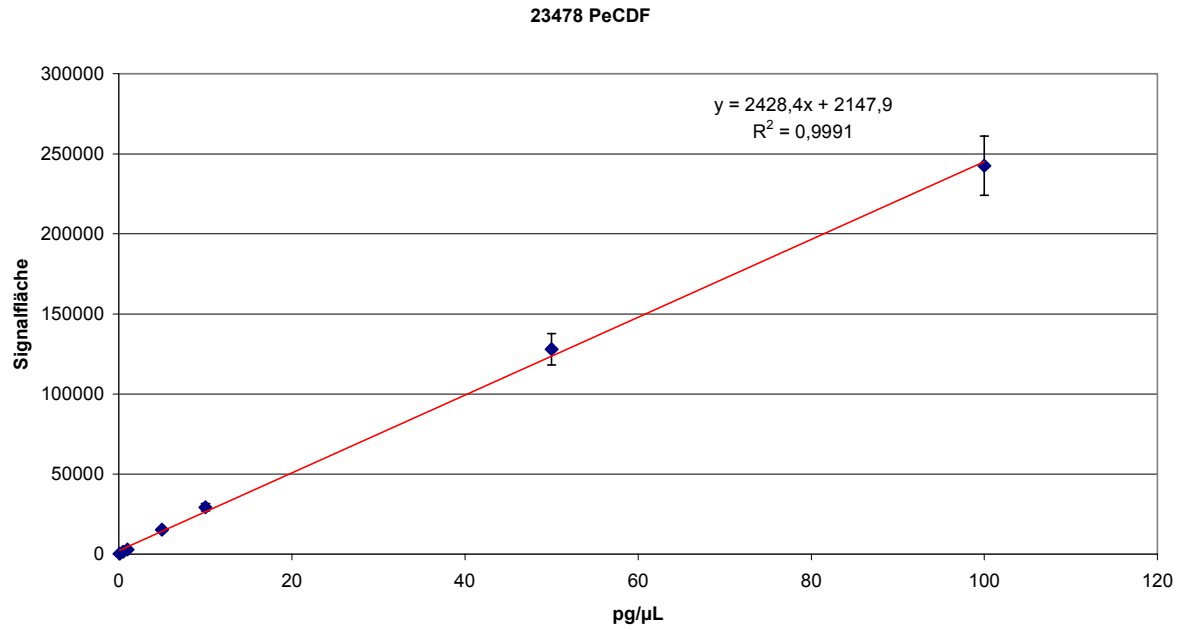


Abb. 12.14: Kalibriergerade von 23478-PeCDF

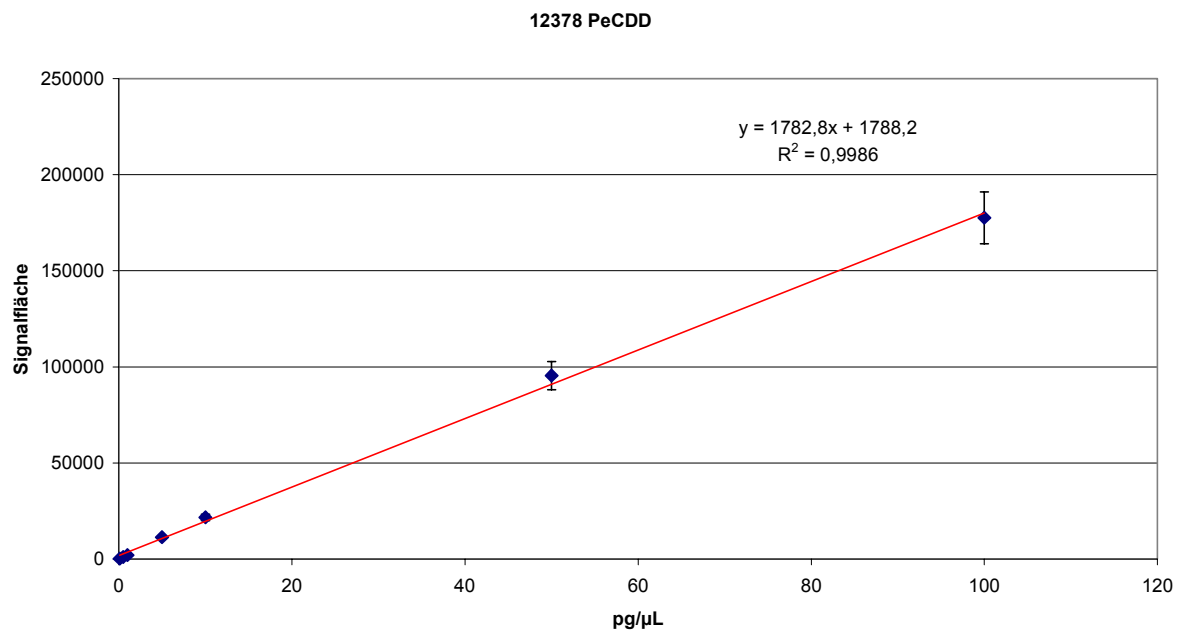


Abb. 12.15: Kalibriergerade von 12378-PeCDD

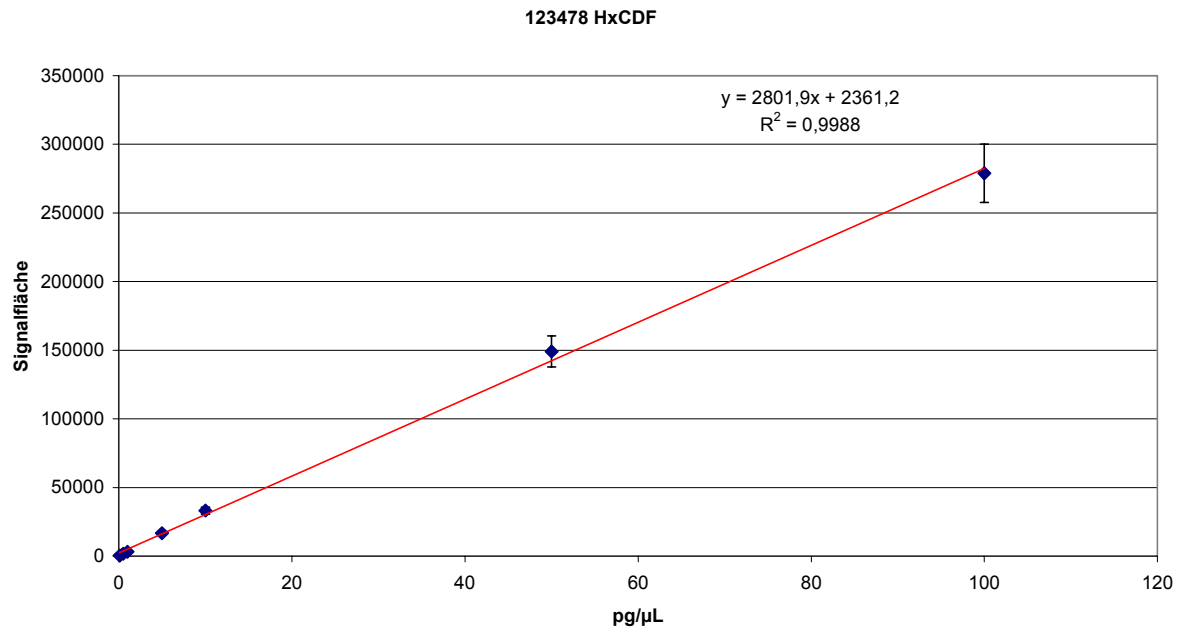


Abb. 12.16: Kalibriergerade von 123478-HxCDF

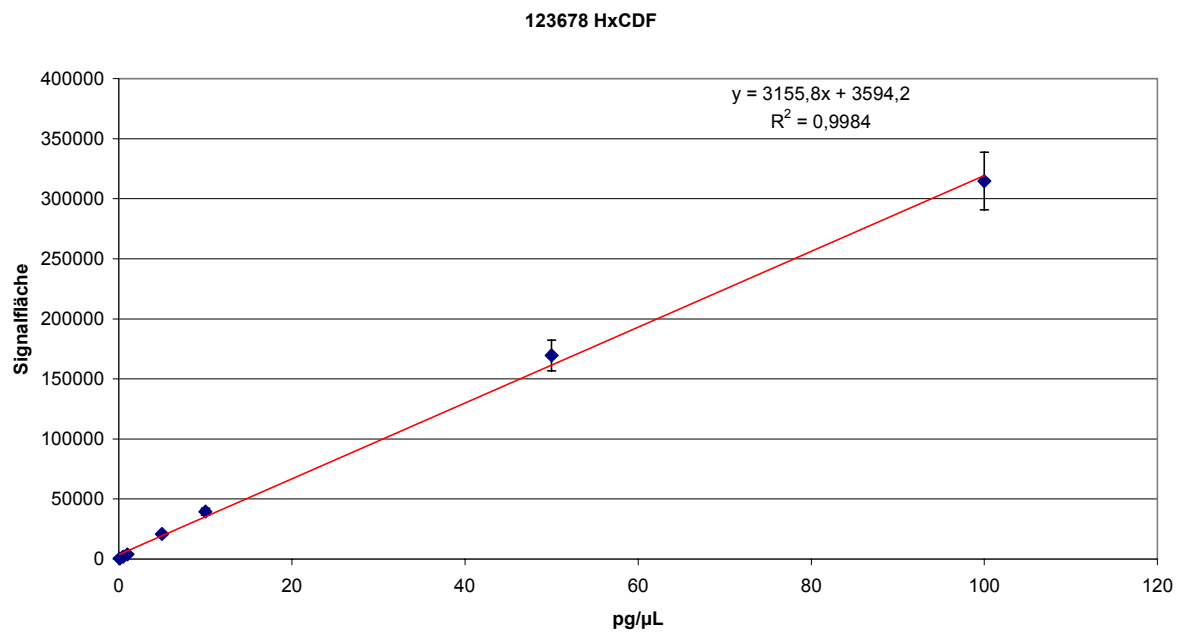


Abb. 12.17: Kalibriergerade von 123678-HxCDF

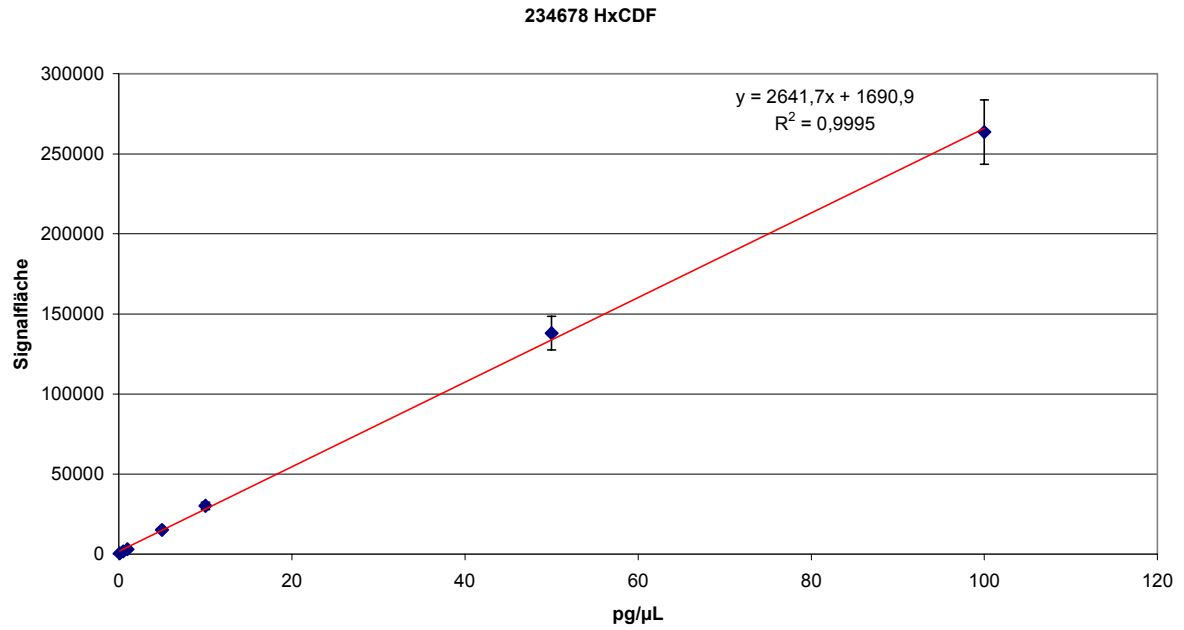


Abb. 12.18: Kalibriergerade von 234678-HxCDF

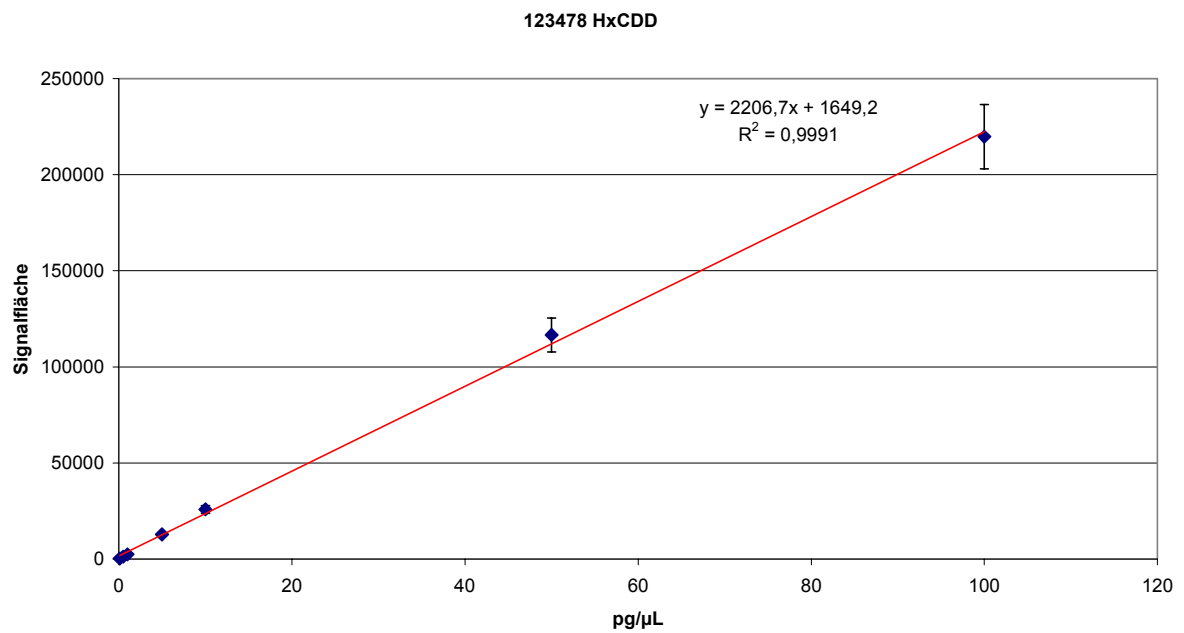


Abb. 12.19: Kalibriergerade von 123478-HxCDD

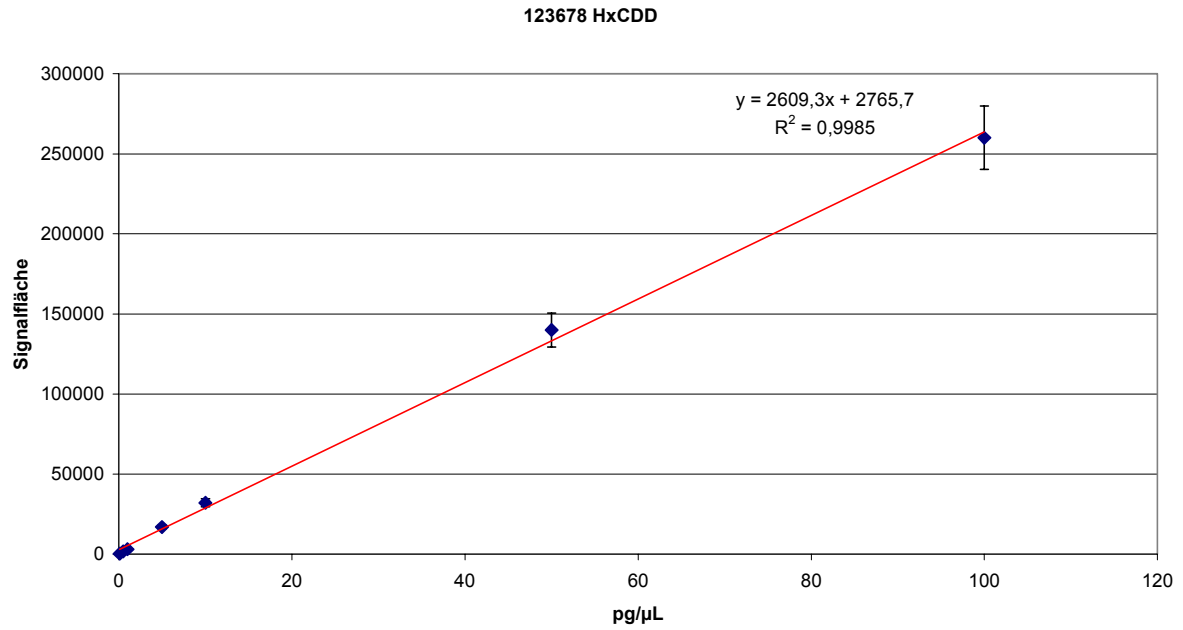


Abb. 12.20: Kalibriergerade von 123678-HxCDD

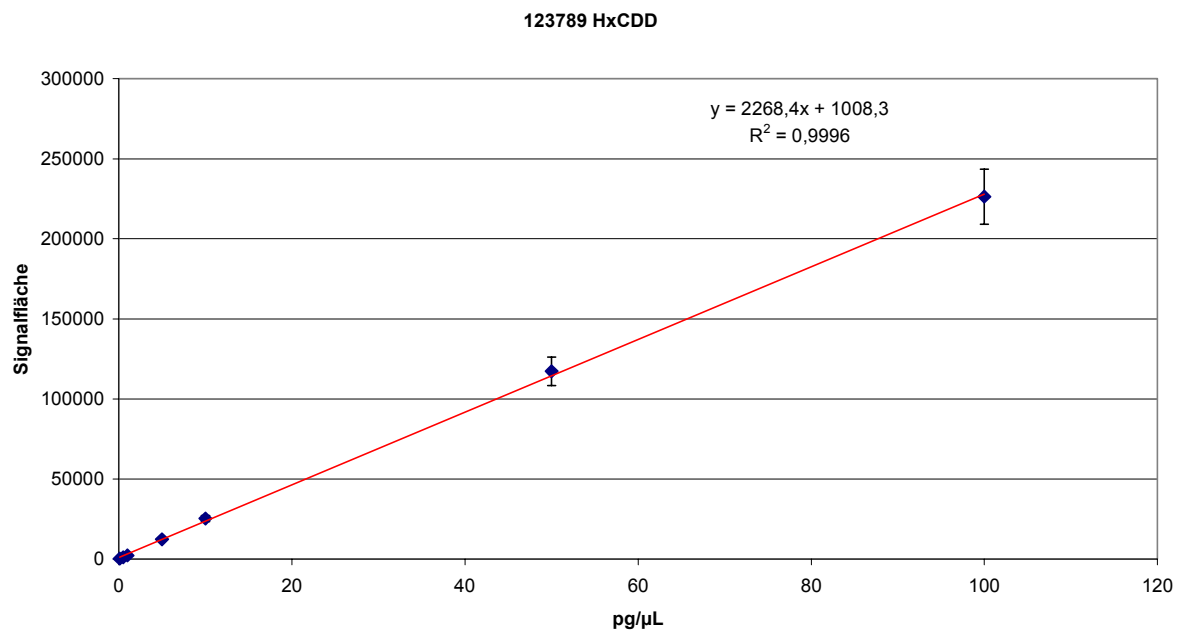


Abb. 12.21: Kalibriergerade von 123789-HxCDD



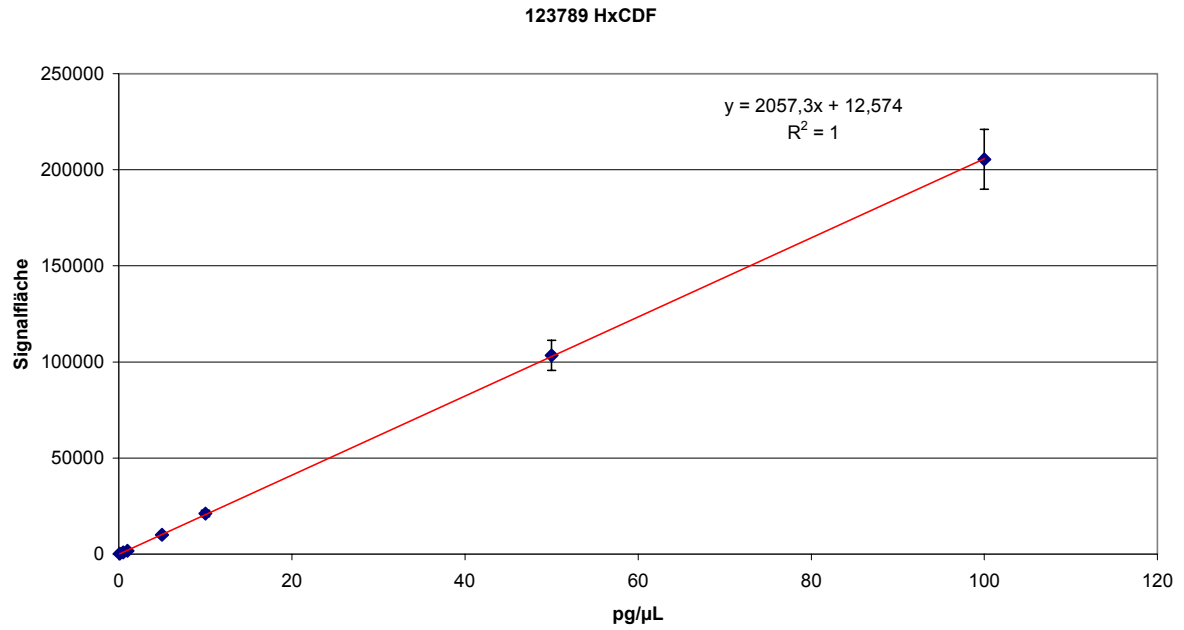


Abb. 12.22: Kalibriergerade von 123789-HxCDF

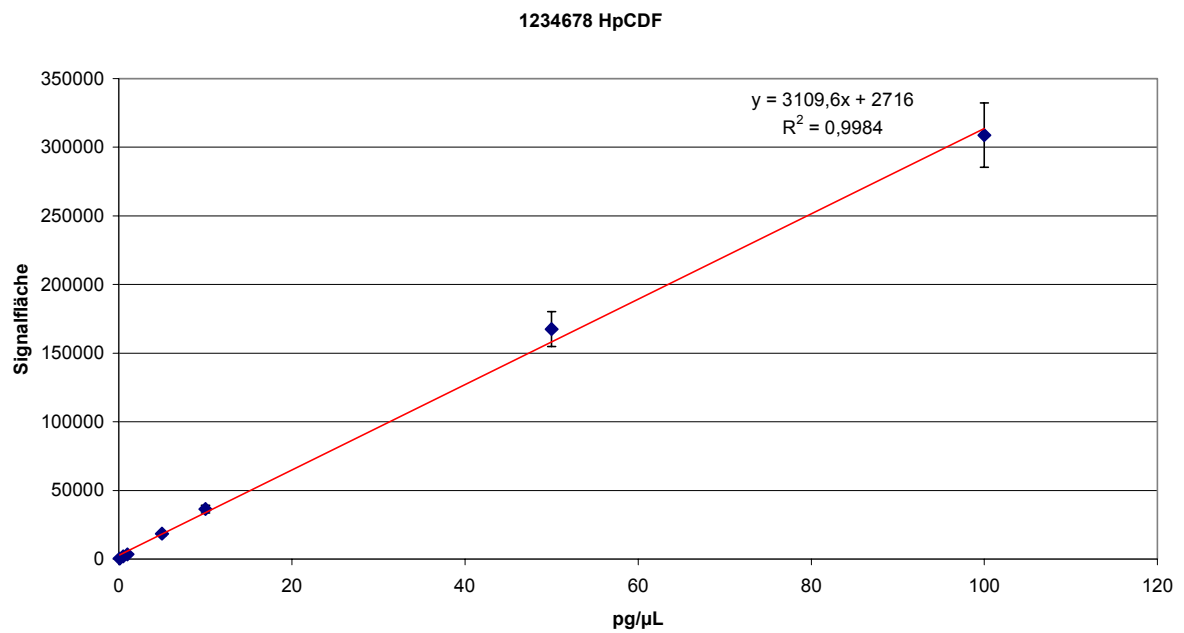


Abb. 12.23: Kalibriergerade von 1234678-HpCDF

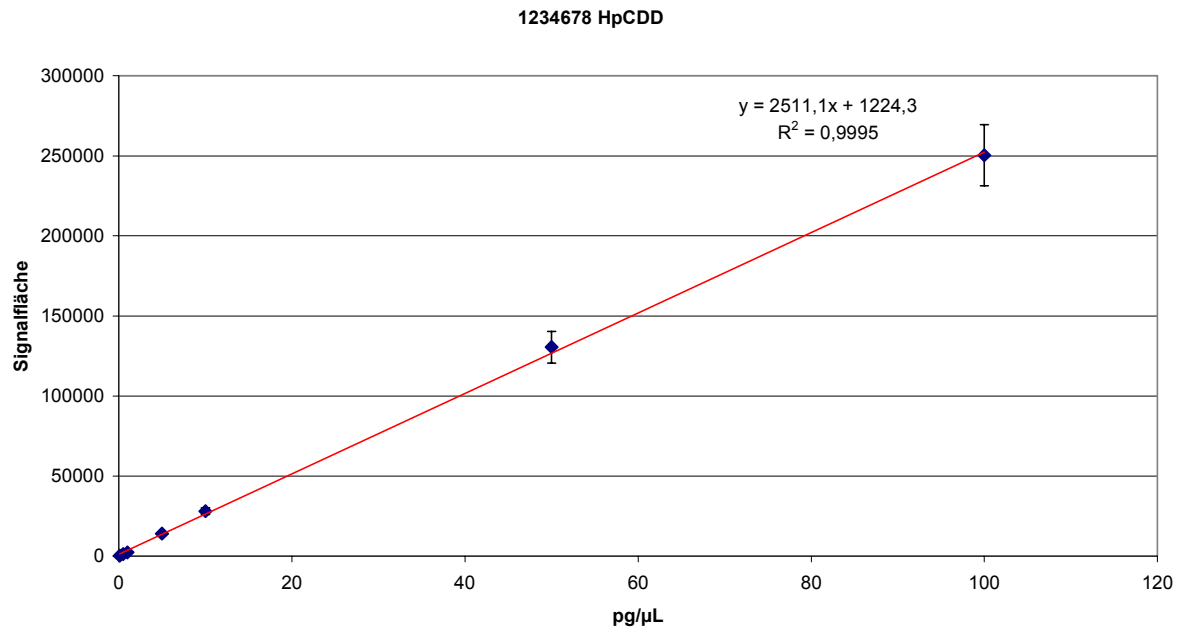


Abb. 12.24: Kalibriergerade von 1234678-HpCDD

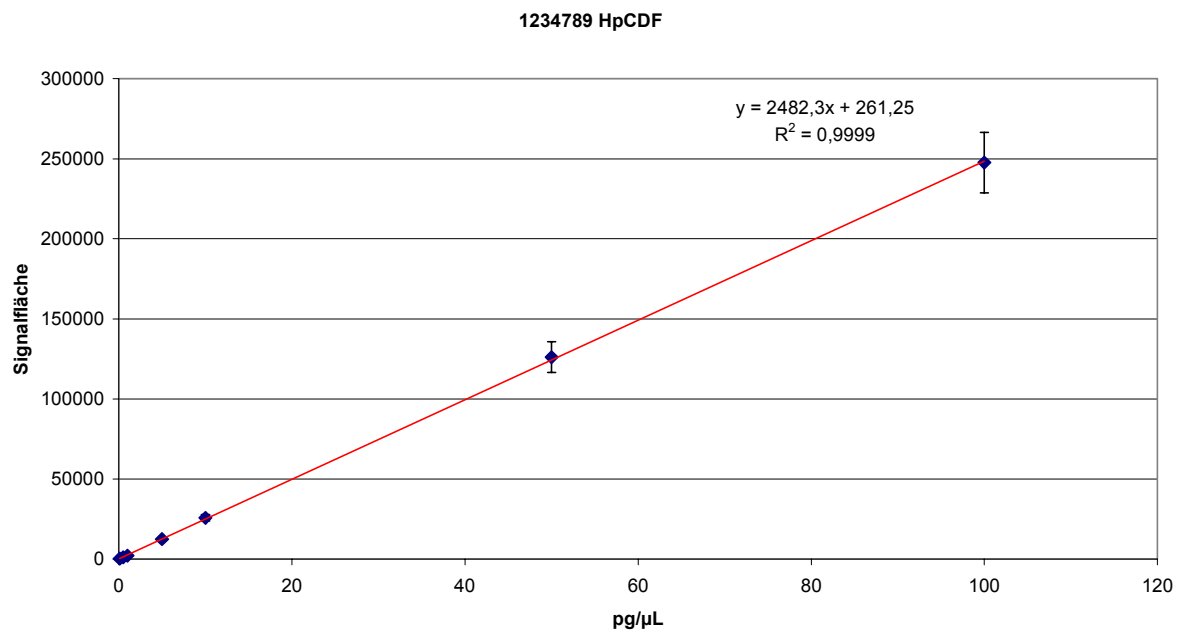


Abb. 12.25: Kalibriergerade von 1234789-HpCDF

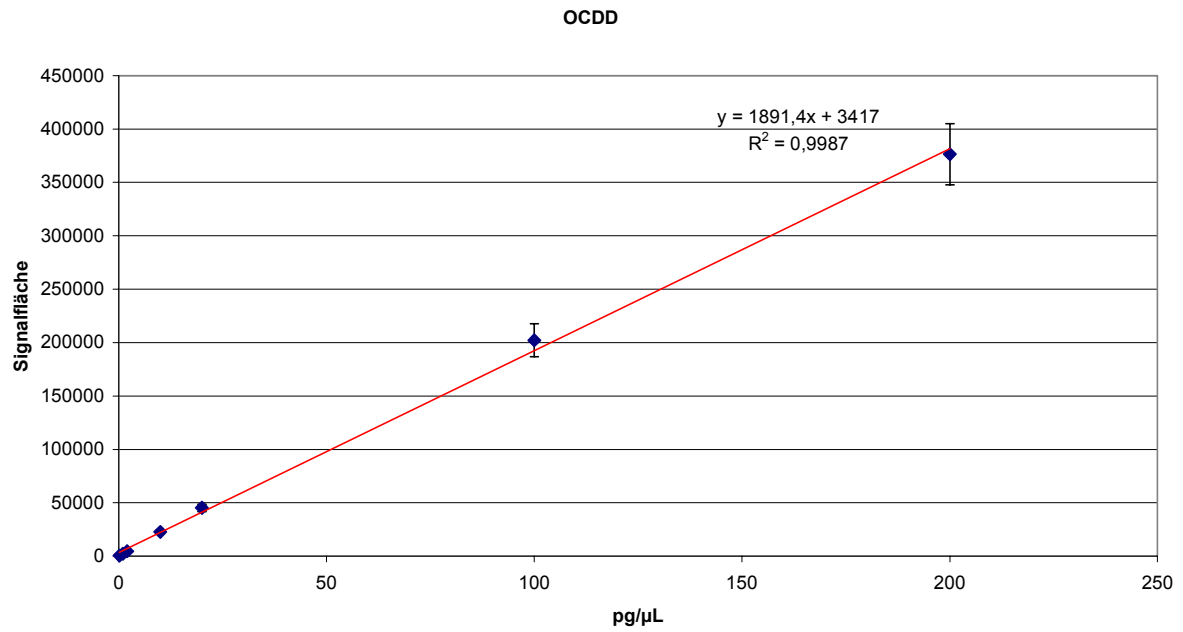


Abb. 12.26: Kalibriergerade von OCDD

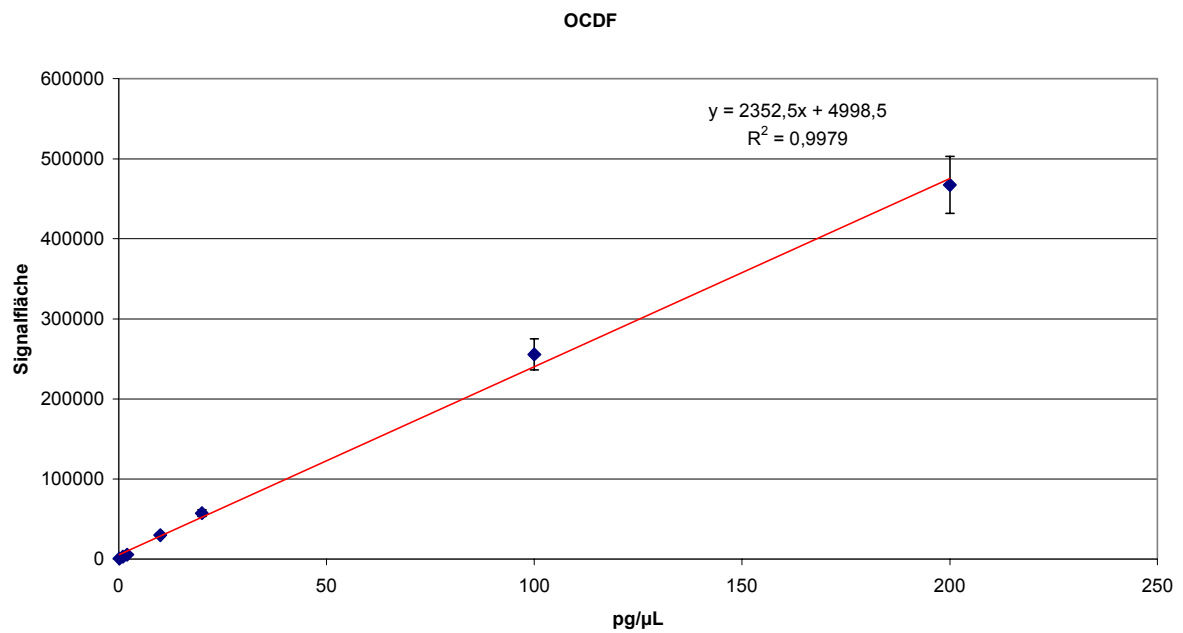


Abb. 12.27: Kalibriergerade von OCDF

## **12.5 Herstellung und Behandlung der verwendeten Festphasen**

### **12.5.1 Celite®/Aktivkohle (98:2)**

Die Aktivkohle (Chemviron: „Carbon Black“) wird in einem Mörser fein zermahlen. Zwei Teile der Aktivkohle, auf die Masse bezogen, werden in einer Reibschale sukzessive mit 98 Teilen Celite® (Riedel-de-Häen) gut vermischt.

### **12.5.2 Kieselgel (5% Wasser)**

Bei 130°C für 18 h getrocknetes Kieselgel (Baker) wird mit 5 Gewichts-% Reinstwasser (Seralpur®) versetzt und mehrere Stunden gründlich vermischt.

### **12.5.3 Kieselgel S, sauer**

Bei 130°C für 18 h getrocknetes Kieselgel (Baker) wird mit 40%iger Schwefelsäure (Riedel-de-Häen) zu gleichen Gewichtsanteilen versetzt und mindestens 12 h gründlich vermischt. Die Aufbewahrung erfolgt unter Luftabschluß.

### **12.5.4 Kieselgel B, basisch**

Bei 130°C für 18 h getrocknetes Kieselgel (Baker) wird mit ein molarer Natriumhydroxid-Lösung im Massenverhältnis 2:1 versetzt und mehrere Stunden gründlich vermischt.

### **12.5.5 Florisil®**

Florisil® (Riedel-de-Häen) wird bei 130°C für 18 h getrocknet. Die Aufbewahrung erfolgt unter Luftabschluß.

### **12.5.6 Weitere Festphasen**

#### ***C<sub>18</sub>-modifiziertes Kieselgel und Aluminiumoxid, basisch***

C<sub>18</sub>-Material (Baker: „Bakerbond C<sub>18</sub>“) und Aluminiumoxid (ICN: „Alox B“) werden unbehandelt eingesetzt. Die Aufbewahrung des Aluminiumoxid erfolgt unter Luftabschluß.

**13 Literaturverzeichnis**

- 1 V. Zitko; Chemosphere, 14 (1985) 165
- 2 K. Ballschmiter et al.; Chemosphere 15 (1986) 901
- 3 H. Fiedler, O. Hutzinger; VDI-Berichte, 634 (1987) 299
- 4 17. BimSchV., BGBl. I Erich Schmidt Verlag, Bielefeld, (1990) 2545
- 5 United States Environmental Protection Agency (EPA); *Method 1613: Tetra- through Octa-Chlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGC/HRMS*, Washington (1994)
- 6 United States Environmental Protection Agency (EPA); *Method 8280: Tetra-Octa-Chlorinated Dioxins and Furans by GC/MS*, Washington
- 7 K. Ballschmiter, R. Bacher; *Dioxine*, Verlagsgesellschaft Chemie VCH, Weinheim, (1996)
- 8 G.G. Choudry, G. Sundström, F.W.M. van der Wielen, O. Hutzinger; Chemosphere 6 (1977) 327
- 9 A.E. Poland, G.C. Yang; J. Agr. Food Chem. 20 (1972) 1093
- 10 J.T. Chen; J. Asso. Off. Anal. Chem. 56 (1973) 962
- 11 B.F. Rordorf; Chemosphere 15 (1986) 1325
- 12 B.F. Rordorf; *Thermochimica Acta* 112 (1987) 117
- 13 B.F. Rordorf; Chemosphere 18 (1989) 783
- 14 G.R.B. Webster, K.J. Friesen, L.P. Sarna, D.C.G. Muir; Chemosphere 14 (1985) 609
- 15 B.F. Rordorf, L.P. Sarna, G.R.B. Webster, S.H. Safe, L.M. Safe, D. Lenoir, K.H. Schwind, O. Hutzinger; Chemosphere 20 (1990) 1603
- 16 K.J. Friesen, L.P. Sarna, G.R.B. Webster; Chemosphere 14 (1985) 1267
- 17 W.Y. Shiu, W. Doucette, F.A.P.C. Gobas, A. Andren, D. Mackay; *Environ. Sci. Technol.* 22 (1988) 651
- 18 W.E. Crummet, R.H. Stehl; *Environ. Health. Perspect.* 5 (1973) 15
- 19 R.H. Stehl, R.R. Papenfuß, R.A. Bredeweg, R.W. Roberts; *Adv. Chem. Ser.* 120 (1973) 119
- 20 H.R. Buser; Chemosphere 17 (1988) 889
- 21 T.J. Nestrick, L.L. Lamparski, D.I. Townsend; *Anal. Chem.* 52 (1980) 1865

- 22 P. Fortnagel, H. Harms, R.M. Wittich, S. Krohn, H. Meyer, V. Sinnwell, H. Wilkes, W. Francke; *Appl. Environ. Microbiol.* 56 (1990) 1148
- 23 J.A. Bampus, M. Tien, D. Wright, S.D. Aust; *Science* 228 (1985) 1434
- 24 R.J. Smith; *Science* 202 (1978) 1166
- 25 R.R. Bumb, W.B. Crummet, S.S. Cutie, J.R. Gledhill et al.; *Science* 20 (1980) 385
- 26 O. Hutzinger; VCI-Schriftenreihe *"Dioxin in der Umwelt"* 1 (1985) 26
- 27 Gesellschaft deutscher Chemiker GDCh, Beratergremium für umweltrelevante Schadstoffe (BUA), *"Pentachlorphenol - BUA-Stoffbericht"*, Verlagsgesellschaft Chemie VCH, Weinheim (1986)
- 28 H. Vogg, L. Stieglitz; *Chemosphere* 15 (1986) 1373
- 29 H. Hagenmeier, H. Brunner, R. Haag, H. Kunzendorf et al.; VCI-Berichte 634 (1987) 557
- 30 K.C.M. Ree, E.H.G. Evers, M. van den Berg; *Toxicol. Environ. Chem.* 17 (1988) 171
- 31 M.J. Blümich; *Nachr. Chem. Techn. Lab.* 38 (1990) 324
- 32 D. Lenoir, H. Fiedler; *Umweltchem. Ökotoxikol.* 3 (1992) 157
- 33 D. Lenoir, H. Sandermann; *Biol. unserer Zeit* 23 (1993) 363
- 34 G. Rippen, R. Gühr, I. Renner, W. Klöpfer; *Z. Umweltchem. Ökotox.* 4/1 (1992) 30
- 35 U. Zuberbühler, M. Angerer, G. Baumbach, J. Vatter, H. Hagenmeier; *Reinhalt. Luft.* 56/11 (1996) 415
- 36 K.H. Schwindt, J. Hosseinpour, H. Thoma; *Z. Umweltchem. Ökotox.* 1 (1989) 24
- 37 O. Hutzinger, H. Fiedler; *Chemosphere* 27 (1993) 121
- 38 N. Takeda, M. Takaoka, T. Fujiwara, H. Takyama, S. Eguchi; *Chemosphere* 40 (2000) 575
- 39 W. Lorenz; *Analytiker Taschenbuch Bd. 15*, Springer-Verlag, Heidelberg (1997) 255
- 40 G. Reggiani; *Arch. Toxicol.* 2 (1979) 291
- 41 W. Forth, D. Henschler, W. Rummel, K. Starke; *"Wichtige Gifte und Vergiftungen"*, BI-Wissenschaftsverlag, Mannheim (1992) 747
- 42 H. Poiger, C. Schlatter; *Chemosphere* 4/5 (1983) 453
- 43 M. Dauderer, *"Klinische Toxikologie - Dioxine III-13.3"*; Jhrg. 63, Ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg (1981)

- 44 K.D. Crow in: R.E. Tucker, A.L. Young (Eds.); *"Human and environmental risk of chlorinated dioxins and related compounds"* Plenum Press, London-NewYork (1983)
- 45 A. Zober; Landesverband Süddeutschland der gewerblichen Berufsgenossenschaften, Heidelberg (1993)
- 46 D. Neubert; VDI-Berichte 634 (1987) 665
- 47 *"International toxicity equivalency factor method of risk assessment for complex mixtures of dioxins and related compounds"*  
NATO-CCMS report 176 (1988)
- 48 *"Scientific basis for the development of international toxicity equivalency factor method of risk assessment for complex mixtures of dioxins and related compounds"*  
NATO-CCMS report 187 (1988)
- 49 M. van den Berg et al.; Environ. Health Perspec. 106/12 (1998) 775
- 50 F.X.R. van Leeuwen, M. Feeley, D. Schrenk, J.C. Larsen, W. Farland, M. Younes;  
Chemosphere 40 (2000) 1095
- 51 TA Luft, Erich Schmidt Verlag, Köln (1992)
- 52 TRGS 900, Carl Heymanns Verlag, Köln (1995)
- 53 GefStoffV, Änderung vom 12.6.96, BGBl. I (1996) 818
- 54 ChemVerbotsV, Änderung vom 12.6.96, BGBl. I (1996) 818
- 55 BarbBl.; 9 (1993) 71
- 56 Bund-Länder-Arbeitsgruppe Dioxine, *Umweltpolitik - Eine Information des Umweltministers*, Bundesumweltministerium, Bonn (1992)
- 57 R.J. Kociba et al.; Toxicol. Appl. Pharmacol. 46 (1978) 279
- 58 D. Schulz; 37. Seminar Umwelttechnologieforum, Berlin (1994) 7
- 59 H. Beck, K. Eckart, M. Mellert, W. Mathar, C.-S. Rühl, R. Wittkowski; Chemosphere 16 (1987) 1977
- 60 L. Stieglitz, G. Zwick, W. Roth; Chemosphere 15 (1986) 1135
- 61 F.J. Eller, J.W. King; Semin. Food Anal. 1 (1996) 145
- 62 M. Valcarcel, M.T. Tena; Fresenius J. Anal. Chem. 385 (1997) 561
- 63 T.A. Berger, J.F. Deye; J. Chromatogr. Sci. 29 (1991) 26
- 64 T.B. Thomason, M. Modell; Hazardous Waste 1 (1984) 453

- 65 R.W. Shaw, T.B. Brill, A.A. Clifford, C.A. Eckert, E.U. Franck; Chem. Eng. News 69 (1991) 26
- 66 T.I. Mizan, P.E. Savage, R.M. Ziff; J. Phys. Chem. 100 (1996) 403
- 67 M.H. Hoffmann, M.S. Conradi; Rev. Sci. Instrum. 68(1) (1997) 159
- 68 M.H. Hoffmann, M.S. Conradi; J. Am. Chem. Soc. 119 (1997) 3811
- 69 M.H. Hoffmann, M.S. Conradi; J. Phys. Chem. B 102 (1998) 263
- 70 J.W. Tester et al.; J. of Supercritical Fluids 13 (1998) 225
- 71 S.H. Page, S.H. Sumpter, M.L. Lee; J. Microcol. Sep. 4 (1992) 91
- 72 M.T. Tena, M.D. Luque de Castro, M. Valcarcel; Chromatographia 38 (1994) 431
- 73 M.D. David, J.N. Seiber; Anal. Chem. 68 (1996) 3038
- 74 T.S. Reighard, S.V. Olesik; Crit. Rev. Anal. Chem. 26 (1996) 61
- 75 T.L. Chester, J.D. Pinkston, D.E. Raynie; Anal. Chem. 70 (1998) 301R
- 76 B.E. Richter, J.L. Ezzel, W.D. Felix, K.A. Roberts, D.W. Later; American Laboratory 2 (1995) 24
- 77 B.E. Richter, B.A. Jones, J.L. Ezzel, N.L. Porter, N. Avdalovic, C. Pohl; Anal. Chem. 68 (1996) 1033
- 78 G.C. Akerlof, H.I. Oshry; 72 (1950) 2844
- 79 L. Haar; J.S. Gallagher, G.S. Kell; *"National Bureau of Standards / National Research Council Steam Tables"* Hemisphere Publishing Corp., Bristol PA (1984)
- 80 R.M. Smith, R.J. Burgess; J. Chromatogr. A 785 (1997) 49
- 81 R.M. Smith, R. J. Burgess, O. Chienthavorn, J.R. Stuttard; LCGC Int. 1 (1999) 30
- 82 D.J. Miller, S.B. Hawthorne; Anal. Chem. 70 (1998) 1618
- 83 H.R. Buser; J. Chromatogr. 107 (1975) 295
- 84 H. Hagenmaier, H. Brunner, J.R. Haag, M. Kraft; Fresenius Z. Anal. Chem. 323 (1986) 24
- 85 K. Ballschmiter et al.; Fresenius Z. Anal. Chem. 320 (1986) 711
- 86 L.M. Smith, D.L. Stalling, J.L. Johnson; Anal. Chem. 56 (1984) 1830
- 87 R.L. Harless, E.O. Oswald, M.K. Wilkinson, A.E. Dupuy, D.D. McDaniel, H. Tai; Anal. Chem. 52 (1980) 1239
- 88 L.L. Lemparski, T.J. Nestruck; Chemosphere 19 (1989) 1165



- 89 M.K.L. Bicking, R.L. Wilson; *Chemosphere* 22 (1991) 437
- 90 TÜV Nord, Hausverfahren, STAA C1-0140 HV, Hannover (1993)
- 91 A.L. Comsjö, Y.U. Zebühr, C.E. Östmann; *Chromatographia* 24 (1987) 541
- 92 M. Oehme, P. Kirschner; *Anal. Chem.* 56 (1984) 2754
- 93 C.S. Creaser, A. Al-Haddad; *Anal. Chem.* 61 (1989) 1300
- 94 M. Sverev, K. Ballschmiter; *Chemosphere* 15 (1986) 1123
- 95 Y. Zebühr, C. Näf, C. Bandh, D. Broman, R. Ishaq, H. Pettersen; *Chemosphere* 27/7 (1993) 1211
- 96 K. Schrickel; Dissertation, Universität Hannover (1998)
- 97 L.R. Snyder, T.C. Schunk; *Anal. Chem.* 54 (1982) 1764
- 98 D. Karlesky, D.C. Shelly, I.M. Warner; *J. Liquid Chromatogr.* 6 (1983) 471
- 99 M.T. Gilbert, J.H. Knox, B. Knaur; *Chromatographia* 16 (1982) 138
- 100 P.R. McEachern, G.D. Foster; *J. Chromatogr.* 632 (1993) 119
- 101 O.W. Parks, R.J. Maxwell; *J. Chromatogr. Sci.* 32 (1994) 290
- 102 R.J. Maxwell, A.R. Lightfield; *J. High Res. Chrom.* 18 (1995) 231
- 103 Y. Yang, W. Baumann; *Fresenius J. Anal. Chem.* 354 (1996) 56
- 104 T. Greibrokk; *J. Chromatogr. A* 703 (1995) 523
- 105 A. Meyer, W. Kleiböhmer, K. Cammann; *J. High Res. Chromatogr.* 16 (1993) 491
- 106 A. Meyer, W. Kleiböhmer; *J. Chromatogr. A* 657 (1993) 327
- 107 R. Deuster; Diplomarbeit, Universität Münster (1996)
- 108 R. Deuster, N. Lubahn, C. Friedrich, W. Kleiböhmer; *J. Chromatogr. A* 785 (1997) 227
- 109 S. Bøwadt, B. Johansson, F. Pelusio, B.R. Larsen, C. Rovida; *J. Chromatogr.* 662 (1994) 424
- 110 K. Hartonen, S. Bøwadt, S.B. Hawthorne, M.-L. Riekkola; *J. Chromatogr. A* 774 (1997) 229
- 111 S. Kipp; Diplomarbeit, Universität Münster (1996)
- 112 V. Pichon, E. Aulard-Macler, H. Oubihi, P. Sassi, M.-C. Hennion, M. Caude; *Chromatographia* 46 (1997) 529
- 113 V. Pichon, M. Bouzige, M.-C. Hennion; *Analytica Chimica Acta* 376 (1998) 21

- 114 K. Hartonen, K. Inkala, M. Kangas, M.-L. Riekkola; J. Chromatogr. A 185 (1997) 219
- 115 J.A. Field, K. Monohan, R. Reed; Anal. Chem. 70 (1998) 1956
- 116 C. Crescenzi, G. D'Ascenzo, A. Di Corcia et al.; Anal. Chem. 71 (1999) 2157
- 117 X. Lou, D.J. Miller, S.B. Hawthorne; Anal. Chem. 72 (2000) 481
- 118 C. Rappe, H.R. Buser, B. Dodet, I.K. O'Neill (Eds.); International Agency for Research on Cancer "*IARC Scientific Publication No. 108*" Lyon 11 (1991) 105
- 119 J.J. Ryan, H.B.S. Conacher, L.G. Panopio, B.P.Y. Lau, J.A. Hardy, Y. Masuda; J. Chromat. 541 (1991) 131
- 120 S.B. Singh, G. Kulshrestha; J. Chromatogr. A 774 (1997) 97
- 121 H. Santl, L. Gruber, J. Seidl; Organohalogen Compounds 23 (1995) 175
- 122 H.R. Buser, C. Rappe; Anal. Chem. 52 (1980) 2257
- 123 C. Friedrich; Dissertation, Universität Münster (1998)
- 124 H. Schimmel, B. Schmid, R. Bacher, K. Ballschmiter; Anal. Chem. 65 (1993) 640
- 125 G.F. Moler, R.R. Delongchamp, W.A. Korfmacher, B.A. Pearce, R.K. Mitchum; Anal. Chem. 55 (1983) 835
- 126 V.R. Meyer; "*Praxis der Hochleistungs-Flüssigchromatographie*" 7. Aufl. Otto Salle Verlag GmbH & Co, Frankfurt a.M., 1992
- 127 C. Friedrich, R. Deuster, W. Kleiböhmer; Abschlußbericht "*DISCO - Entwicklung eines Dioxin-Screening-Verfahrens für den vor Ort-Einsatz bei Großbränden*" Bundesministerium für Bildung, Forschung, Wissenschaft und Technologie, Förderkennzeichen 01 VQ 9508/3 (1998)
- 128 K.D. Bartle, A.A. Clifford, S.B. Hawthorne, J.J. Langenfeld, D.J. Miller, R.R. Robinson; J. Supercritical Fluids 3 (1990) 143
- 129 J. Pawliszyn; J. Chromatogr. Sci. 31 (1993) 31
- 130 A. Trost, W. Kleiböhmer, K. Cammann; Fresenius J. Anal. Chem. 359 (1997) 249
- 131 O.W. Berg, P.L. Diosady, G.A.V. Rees; Bull. Environ. Contam. Toxicol. 7 (1979) 338
- 132 A.H. Kleinveld, P. Verhoeve, M.W.F. Nielen; Chemosphere 18 7/8 (1989) 1401
- 133 W. Rotard, W. Christmann, W. Knoth, W. Mailahn; Z. Umweltchem. Ökotox. 7 (1995) 3
- 134 M.J.C. Rozemeijer, K. Olie, P. de Voogt; J. Chromatogr. A 761 (1997) 219

- 135 P.W.O. Keefe, J. Miller, R. Smith, S. Connor, W. Clayton, R. Storm; *J. Chromatogr. A* 771 (1997) 169
- 136 K. Schrickel, mündliche Mitteilung
- 137 U. Krismann, W. Kleiböhmer; Abschlußbericht "Entwicklung und Validierung eines ELISA-Verfahrens zur schnellen und kostengünstigen Bestimmung von polychlorierten Dibenzofuranen und Dibenzo-p-dioxinen", ICB Münster (2000)
- 138 S. Kipp, mündliche Mitteilung sowie Doktorarbeit (in Vorbereitung), Münster
- 139 B. van Bavel, K. Hartonen, C. Rappe, M.-L. Riekkola; *Analyst* 124 (1999) 1351
- 140 D.R. Lide (Ed.); "CRC Handbook of Chemistry and Physics" 73. Auflage, London (1980)
- 141 A.F. Holleman, N. Wiberg; "Lehrbuch der anorganischen Chemie" 91-100. Auflage, Verlag de Gruyter, Berlin, New-York (1985) 779
- 142 P. O'Keefe, C. Meyer, R. Smith, D. Hilker, K. Aldons, L. Wilson; *Chemosphere* 15 9-12 (1986) 1127
- 143 Waters Corporation; "*Oasis HLB Application Note*" Milford (1998)
- 144 H. Kuroki, K. Haraguchi, Y. Masuda; *Chemosphere* 13 (1984) 561
- 145 A.P. Gray, V.M. Dipinto, I.J. Solomon; *J. Org. Chem.* 41 (1976) 2428
- 146 A.P. Gray, V.M. Dipinto, I.J. Solomon, O. Anilin; *J. Org. Chem.* 41 (1976) 2435
- 147 A.P. Gray, S.P. Cepa, S. Cantrell; *Tetrahedron Lett.* 33 (1975) 2873
- 148 P. Ruelle; *Chemosphere* 40 (2000) 457-512