

2 Analytik organischer Spurenbestandteile

Einzelstoffanalyse, Leitkomponentenbestimmung und Summenparameter bilden heute ein komplexes Netz normierter Analysenverfahren, mit deren Hilfe der Zustand eines Systems, eines Umweltkompartiments oder eines Abfalls sowie das davon ausgehende Gefährdungspotential für einen Organismus und seine Umgebung abgeschätzt werden kann.

Im Falle organischer Spurenstoffe lässt sich die Bestimmung nur selten ohne extractive Aufbereitung der Probe erreichen. Störende Matrixbestandteile müssen abgetrennt, die Analyten aufkonzentriert werden. Die Zusammenfassung in Stoffgruppen, die eine gemeinsame Probenvorbereitung und zumeist eine gemeinsame analytische Erfassung erlauben, spielt in diesem Rahmen eine wichtige Rolle. Die Extraktion erlaubt nicht nur die Entfernung der Matrix, sie bildet auch ein probates Mittel, Stoffe und Stoffgruppen nach physiko-chemischen Gesichtspunkten zu selektieren und einer gemeinsamen chromatographischen Analyse zugänglich zu machen.

2.1 Strategien zur Analyse und Beurteilung von Umweltschadstoffen

2.1.1 Einzelkomponentenanalyse

Bei der Einzelkomponentenanalyse wird die interessierende Substanz entweder direkt in der umgebenden Matrix oder nach Abtrennung störender Begleitstoffe erfasst. Die Analyse erfolgt dabei nach Anreicherung oder geeigneter Umsetzung mit Hilfe einer spezifischen Bestimmungsmethode.

Je spezifischer die Erfassung der gewünschten Komponente erfolgt, desto geringer ist der präparative Aufwand.

Als klassisches Beispiel der Einzelkomponentenanalyse kann die photometrische Detektion anhand der charakteristischen Absorption einer Verbindung oder die Umsetzung mit einem spezifischen Reaktionspartner gelten. In beiden Fällen wird eine eindeutige Stoffeigenschaft des Analyten zu seiner Identifizierung und Quantifizierung genutzt. Mit steigender Komplexität der Probe sowie mit zunehmender struktureller Vielfalt des Analyten erschwert sich die Suche nach eindeutigen Stoffmerkmalen, die als Analysengrundlage dienen können. Die Bedeutung eines vorangehenden Abtrennungsschritts nimmt zu.

Für einige häufig interessierende Analyten konnten in den letzten Jahren auch neue Verfahren entwickelt werden, die eine unproblematische Vor-Ort-Bestimmung zulassen. Hierbei wird vor allem auf elektrochemische Detektion mit vorgelagerter chemischer Reaktion zurückgegriffen. Durch die spezifische Reaktion einer Molekülsorte an der Substratschicht wird das Potential an der Elektrodenoberfläche verändert [8]. Derartige Nachweismethoden sind zwar hochselektiv und unproblematisch in der Anwendung, allerdings auf eine geringe Zahl beschränkt, da die zumeist auf

Enzymreaktionen basierenden Nachweisreaktionen lediglich für eine geringe Anzahl Analyten verfügbar sind.

Dies ist nicht verwunderlich, da sich gerade bei der Bestimmung organischer Spurenkomponenten die Möglichkeiten aufgrund der Vielzahl ähnlich reagierender Verbindungen in der Matrix oft als begrenzt erweisen. Häufig ist auch die genaue Zusammensetzung der Störkomponenten unbekannt.

2.1.2 Leitkomponentenanalyse

Viele organische Verunreinigungen lassen sich aufgrund ihrer Struktur und ihrer physikochemischen Eigenschaften in Stoffgruppen zusammenfassen. So bilden Polyzyklische Aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK), Polychlorierte Biphenyle (PCB), Dioxine und Furane einige Beispiele unerwünschter, aber weit verbreiteter Schadstoffe, deren Gehalt in Umwelt und Lebensmitteln wirkungsvoller Kontrolle bedarf. Hinzu kommen gezielt ausgebrachte Chemikalien aus der Landwirtschaft, z. B. Pflanzenschutzmittel wie Organochlorpestizide, Organophosphate oder Carbamate, deren Rückstände und Metaboliten in Pflanzen, Wasser und Boden regelmäßig überprüft werden müssen. Die vollständige Erfassung aller Komponenten sowie ihrer zahlreichen Metaboliten stellt oft eine aufwändige, manchmal unlösbare Aufgabe für die Umwelt- und Lebensmittelanalyse dar. Um hier eine Vereinfachung zu erreichen, werden bekannte und gut zu erfassende Substanzen einer Stoffgruppe ausgewählt und bestimmt [9,10]. Anhand von Grenz- und Richtwerten für diese Leitkomponenten wird das Gefährdungspotential der gesamten Stoffgruppe ermittelt.

Grundlage der Bestimmung ist zumeist die extraktive oder adsorptive Abtrennung der Analyten von der Matrix. Ob hierbei alle Komponenten der interessierenden Stoffgruppe erfasst werden oder nur die entsprechenden Leitkomponenten, ist irrelevant.

2.1.2.1 PAK-Bestimmung als Beispiel der Leitkomponentenanalyse

Im Falle der PAK existieren je nach Gültigkeitsbereich der zugrunde liegenden Norm und Verwendungszweck der Probe eine ganze Reihe von Leitkomponenten. Die Stoffgruppe umfasst eine unbekannte Anzahl von Einzelsubstanzen, die sich durch ein kondensiertes System an aromatischen Ringen auszeichnen. Neben über 100 charakterisierten Vertretern ist mit einer unbekannt Anzahl weiterer Komponenten zu rechnen, zu denen noch eine Vielzahl an Metaboliten mit zum Teil stark veränderten Eigenschaften kommt. PAK tauchen als Rekombinationsprodukte unvollständiger Verbrennung nahezu überall auf. Trotz natürlicher Quellen wie Waldbränden oder Vulkanausbrüchen sind PAK erst seit Beginn der Industriellen Revolution großflächig nachweisbar. Teerölprodukte, die zum Teil zu Prozentanteilen aus PAK bestehen, wurden in der Vergangenheit verbreitet zur Imprägnierung von Holz, zur Abdichtung von Stoffen und Faserstoffen, als Straßen- und Dachbeläge eingesetzt. Aus Witterungsvorgängen gelangen die wenig mobilen PAK mit der Zeit dennoch in Boden und Wasser. Mit Verbrennungsabgasen wurden und werden noch immer große Mengen von PAK in die Umgebungsluft abgegeben. Zumeist partikulär gebunden gelangen sie durch trockene wie nasse Deposition an nahezu jeden Ort [11,12,13,14].

Ihre hohe Persistenz und Lipophilie, die zu ihrer Anreicherung im Fettgewebe führt, gepaart mit den mutagenen und teratogenen Eigenschaften einer Vielzahl bekannter PAK-Komponenten verdeutlichen den Überwachungsbedarf dieser Stoffklasse [15].

Während für die Bewertung der Wasserqualität nach der deutschen Trinkwasserverordnung (TVO) [16] lediglich die fünf Komponenten Benzo-[b]-Fluoranthen, Benzo-[k]-Fluoranthen, Benzo-[a]-Pyren, Benzo-[ghi]-Perylen und Indeno-(1,2,3,-cd)-Pyren zur Beurteilung herangezogen werden, sind es nach DIN 38407 Teil 7 und 8 [17,18] sechs (zusätzlich Fluoranthen) und nach Teil 18 [19] der gleichen Norm 15 Komponenten (Naphthalin, Acenaphthen, Fluoren, Phenanthren, Anthracen, Fluoranthen, Pyren, Benzo-[a]-anthracen, Chrysen, 6-Methylchrysen, Benzo-[b]-fluoranthen, Benzo-[k]-Fluoranthen, Benzo-[a]-Pyren, Dibenzo-[a]-anthracen, Benzo-[ghi]-Perylen und Indeno-[1,2,3,-cd]-Pyren). Hierin ist eine Angleichung an den auch in Deutschland häufig zur Beurteilung herangezogenen Standard der Richtlinie 610 der US-amerikanischen Umweltbehörde (EPA) [20] von 16 zu untersuchenden Einzelkomponenten zu sehen. Auf die Bestimmung von Acenaphthylen als 16. Komponente wird aufgrund mangelnder Detektierbarkeit verzichtet. Die PAK-Komponenten werden durch Extraktion aus der Matrix entfernt, chromatographisch getrennt und aufgrund ihrer Fluoreszenz bestimmt. Die Gehalte der Leitwertkomponenten werden addiert und anhand eines Summengrenzwertes beurteilt. Der Gehalt an wegen seines extrem hohen Krebspotentials als besonders gefährlich eingestuften Benzo-[a]-Pyren ist zudem gesondert anzugeben.

2.1.3 Summenparameter

Bei der Bestimmung von Summenparametern wird auf eine Einzelstofffassung bewusst verzichtet. Die häufig umweltrelevanten Parameter beschreiben vielmehr den Zustand einer Probe anhand eines durch die Summe einer Reihe von Substanzen hervorgerufenen Ergebnisses. Aus dem Zusammenspiel einiger Parameter wird die Belastung eines Umweltkompartiments abgeschätzt und gegebenenfalls der weitere Analysenplan festgelegt. In der Überwachung von Abwassereinleitungen und der Bewertung von Abfällen werden Summenparameter wegen ihrer vergleichsweise einfachen Ermittlung gern eingesetzt. Beispiele häufig verwendeter Parameter sind der Gesamtgehalt an organisch gebundenem Kohlenstoff (Dissolved Organic Carbon = DOC), der chemische und der biologische Sauerstoffbedarf (CSB und BSB₅), der Spektrale Absorptionskoeffizient bei 436 und 254 nm (SAK₄₃₆ und SAK₂₅₄), der Adsorbierbare sowie der Extrahierbare Organisch gebundene Halogenanteil (AOX bzw. EOX) und der Phenolindex.

Die Aussagekraft der Summenparameter unterscheidet sich erheblich. Während der Phenolindex auf der Reaktion mit der funktionellen Gruppe basiert, bilden DOC und SAK lediglich grobe Hinweise auf die Beschaffenheit der betreffenden Wasserprobe. So kann der DOC keine Aussage über die Art oder Anzahl der vorhandenen Kohlenstoffverbindungen liefern. Toxizität und Herkunft bleiben unbekannt. Der SAK als Absorptionskoeffizient im sichtbaren bzw. ultravioletten Spektralbereich gibt keinen Hinweis auf die Art der absorbierenden Stoffe. Dennoch erlaubt die kombinierte Auswertung eine schnelle und billige Charakterisierung der Proben.

2.1.3.1 EOX-Bestimmung als Beispiel der Summenparameter

Auch die Aussagekraft des EOX Parameters als Summenwert aller organisch gebundenen Chlor-, Brom-, und Iod-Anteile unterliegt engen Beschränkungen. Bei der Bestimmung nach DIN 38409 [21] wird die Probe mit organischem Lösungsmittel extrahiert und der Extrakt nach Trocknung im Sauerstoffstrom verbrannt. Die bei der Verbrennung entstehenden Halogenwasserstoffe werden anschließend in einer Absorptionslösung aufgefangen und coulometrisch oder argentometrisch als Chlor-Äquivalent bestimmt. Ebenso wie diese Angabe als Chlor-Äquivalent verdeutlicht der Einsatz von Pentachlorbenzol als einziger Kalibriersubstanz die Ausrichtung des Summenparameters auf die Erfassung chlororganischer Verbindungen. Die Halogenanteile brom- und iodorganischer Verbindungen sind aufgrund der Prozessführung im erhaltenen Ergebnis enthalten, ihrem Vorkommen wird jedoch wenig Beachtung geschenkt. Entsprechend der Konzentration auf die Problematik der Abfälle der Chlorchemie wurden zum Zeitpunkt der Entwicklung des Parameters brom- und iodorganische Verbindungen lediglich als wenig relevante Beimengungen erwartet. Der Ursprung der Chlororganischen Verbindungen aus anthropogenen Quellen schien sicher.

Tatsächlich stellt sich die Situation nach neueren Erkenntnissen als wesentlich komplexer dar. Chlor- aber auch Brom- und Iodverbindungen werden auch in verschiedenen biologischen Prozessen auf- und abgebaut [22]. Brom- und Iodverbindungen, obwohl in wesentlich geringerem Umfang gegenüber den chlorhaltigen Verbindungen aus industriellen Prozessen freigesetzt, finden sich zu annähernd gleichen Mengen in Umweltproben [23]. Zurückgehend auf eine halogen-differenzierende Bestimmung des verwandten AOX-Parameters konnte eine überraschend hohe AOI-Belastung des Berliner Wassers ausgemacht und auf iodhaltige Röntgenkontrastmittel zurückgeführt werden [24]. Trotz geringer Einleitemengen führt die hohe Persistenz der Verbindungen zu einer starken Akkumulation und einer Gefahr für das regionale Trinkwasser.

Der Rückgang der Chlorchemie sowie der verstärkte Einsatz bromierter Desinfektions- und Flamm-schutzmittel [25] erklären zudem die gegenüber der Grundannahme veränderte Sachlage.

Diese Situation verdeutlicht den Bedarf an differenzierteren Analysemethoden, um Art und Herkunft der halogenorganischen Verbindungen (HOV) zu klären und ihr Gefährdungspotential einschätzen zu können. Eine vollständige Analyse aller Einzelkomponenten, so wünschenswert sie wäre, ist häufig aufgrund der hohen Anzahl sehr unterschiedlicher Substanzen und zu geringer Konzentrationen unmöglich. Die Differenzierung der Halogenanteile oder die Fraktionierung der eingehenden HOV nach Molekülgröße können hier den Aussagewert erhöhen. Die Verbindung einer leistungsstarken Extraktion mit einer schnellen, automatisierten EOX-Bestimmung mit differenzierter Aussage zu den einzelnen Halogenanteilen böte in jedem Falle ein wirksames Hilfsmittel.

2.2 Chromatographie

Bei der Analyse organischer Spurenbestandteile stehen nur in seltensten Fällen selektive Detektionsmethoden zur Verfügung, die eine Direktbestimmung oder das spezifische Abtrennen des Analyten von der Matrix erlauben würde. Auch nach erfolgter extraktiver Matrixentfernung bedarf das erhaltene Stoffgemisch einer leistungsfähigen Auftrennung, sollen die Gehalte einzelner Kompo-

nenten ermittelt werden. Die Chromatographie ist auf dieser Grundlage zum unverzichtbaren Bestandteil organischer Analytik geworden.

Basierend auf der wiederholten Verteilung der Substanzen zwischen zwei Phasen, einer mobilen, gasförmigen oder flüssigen, und einer stationären, festen oder flüssigen, bildet die Chromatographie ein äußerst leistungsfähiges Verfahren zur Stofftrennung. Die oftmals in ihrem Verhalten relativ ähnlichen Komponenten wandern aufgrund von Unterschieden im Verteilungsgleichgewicht mit verschiedenen Geschwindigkeiten mit der mobilen Phase und verlassen die Chromatographiesäule zu unterschiedlichen Zeiten. Mit einem geeigneten Detektor können sie dann quantitativ bestimmt werden. Vor allem die Massenspektrometrie (MS) als Detektor am GC-Ausgang, mit ihrer Möglichkeit der Identifikation der jeweiligen Komponenten, erklären die Bedeutung, die die GC in der Umwelt- und Lebensmittelanalytik erlangt hat.

Mit ihren hohen Trennleistungen und geringen benötigten Substanzmengen kommt der Gaschromatographie zweifellos die bedeutendste Rolle zu. Bei ausreichendem Dampfdruck und thermischer Stabilität der Analyten erhält man mit diesem Verfahren auch in komplexen Gemischen einer großen Anzahl von Substanzen noch eine für die quantitative Auswertung ausreichende Trennung. Eine Reihe leistungsfähiger Detektoren erlaubt die Erfassung schon in der Größenordnung von wenigen Pikogramm [26].

Die hohe Trennleistung ist jedoch mit der Verminderung der Säulenkapazität verbunden. Die Aufgabenmenge muss auf ein verträgliches Maß reduziert werden. Keine Probleme verursacht dies, wird die Probe mit einem gasförmigen Träger aufgebracht. Die mitgeführten Analyten können leicht am kühlen Säuleneingang fokussiert werden, während das Trägergas die Säule ohne Verzögerung und von den meisten Detektoren unbemerkt die Säule passiert. So oder durch Einsatz einer vorgelagerten Kühlfalle können Probenmengen von mehreren hundert Millilitern einfach bewältigt werden. Mehr Schwierigkeiten macht die Aufbringung flüssiger Proben. Hier können schon wenige Mikroliter durch Überladung der Säule zu schweren Störungen der Analyse führen. Um ein Überdecken der Messsignale durch den durch Überladung stark verbreiterten Lösungsmittelpeak zu vermeiden, muss das Lösungsmittel entweder so stark getrennt von den Analyten eluiert werden, dass eine Störung ausgeschlossen werden kann, oder in seinem Volumen vor der Auftragung weitgehend reduziert werden. In der Praxis finden sich für ersteres Vorgehen nur begrenzte Einsatzmöglichkeiten.

Trotz hohem Zeitaufwand und Kontaminations- und Verlustgefahr ist das Einengen des Lösungsmittels nach erfolgter Extraktion häufig nicht zu umgehen.

Um der Tendenz zu immer geringeren Säulenkapazitäten zu begegnen, wurden in den letzten Jahren auch Techniken entwickelt, die das Einbringen größerer Lösungsvolumina (bis mehrere hundert Mikroliter) in den Injektor des Gaschromatographen erlauben [27]. Eine im Injektor integrierte Vorsäule erlaubt hierbei die Anreicherung der Analyten und die Abtrennung des Lösungsmittels vor dem Aufbringen auf die Säule.

Neben der Gaschromatographie stellt die HPLC, **H**igh **P**ressure **L**iquid **C**hromatography bzw. **H**igh **P**erformance **L**iquid **C**hromatography, das im Bereich organischer Spurenanalytik bedeutendste Verfahren dar.

Anders als bei der klassischen Säulenchromatographie bestehen die in der HPLC zumeist verwendeten stationären Phasen aus sog. reversed-phase Materialien. Die ursprünglich polaren Silikatkörner des Füllmaterials sind mit Kohlenwasserstoffketten belegt, so dass eine unpolare Außenschicht als stationäre Phase zur Verfügung steht. In Kombination mit relativ polaren Lösungsmitteln wird eine Auftrennung der Analyten während der Säulenpassage erreicht.

Die Detektion erfolgt zumeist optisch, aufgrund von UV-Absorption, Fluoreszenz oder der optischen Aktivität der Lösung. In den letzten Jahren wurden verstärkte Anstrengungen unternommen, auch die Massenspektrometrie dem Einsatz als Detektor in der HPLC zugänglich zu machen, um die außerordentlich hohe Einsatzflexibilität und Nachweisempfindlichkeit der MS auch in dieser Kombination nutzen zu können. Um den für die MS notwendigen geringen Massenstrom erreichen zu können, muss der die HPLC-Säule verlassende Flüssigkeitsstrom aufgesplittet und nur zu einem sehr geringen Teil der MS zugeführt werden. Der damit verbundene Empfindlichkeitsverlust ist nicht zu vermeiden. Dennoch bildet die MS heute auch für die HPLC eine leistungsfähige, flexible Kopplungsmöglichkeit, die die Einsatzbereiche der HPLC stark erweitert hat [28].

Thermisch labile sowie polare Verbindungen, die sich in der GC-Analyse häufig als problematisch erweisen, können mittels HPLC getrennt und bestimmt werden. Speziell angepasste stationäre Phasen erleichtern die gruppenbezogene Analyse. Durch gezielte Einbringung funktioneller Gruppen in die Stationärphase können Säulen für die Analyse bestimmter Schadstoffgruppen wie PAK oder Amine regelrecht „maßgeschneidert“ werden [29,30].

Obwohl die Aufgabemenge bei der HPLC etwa um den Faktor 10 größer ist als bei der GC, besteht auch bei der HPLC die gleiche Notwendigkeit zu hohen Anreicherungsraten bei der Probenvorbereitung. Die entsprechend der Aufgabemenge größere Analytmenge wird benötigt, um die stärkere Verdünnung durch Verbreiterung der Probenzone sowie die geringere Detektionsempfindlichkeit auszugleichen.