

3 Extraktionsverfahren als Probenvorbereitung für die Chromatographie

Die Extraktion, dem Prinzip nach nicht mehr als die Verteilung eines Stoffes zwischen zwei in Kontakt stehenden, nicht mischbaren Medien, stellt eine geradezu allgegenwärtige und seit langem vom Menschen angewandte Trenntechnik dar. Je nach Art des betrachteten Systems unterscheidet man flüssig-flüssig-, gas-flüssig-, gas-fest- und flüssig-fest-Extraktionen.

Der Stoffaustausch zwischen zwei festen Medien bleibt aufgrund der geringen Teilchenbeweglichkeit in Feststoffen in der Regel unbeachtet. Die Verteilung zwischen zwei Gasen ist nur unter Zuhilfenahme einer trennenden Membran denkbar. Tatsächlich spielen Membranextraktionen eine äußerst wichtige Rolle auf unserem Planeten. Membranen zwischen zwei an sich mischbaren flüssigen Phasen oder zur Abtrennung einer flüssigen von einer gasförmigen Phase erlauben den Austausch von Stoffwechselprodukten einer Zelle mit ihrer Umgebung. Der Austausch von Gasbestandteilen zwischen Atemluft und Blutgefäßen in der Lunge von Landtieren oder zwischen Wasser und Blut in den Kiemen von Fischen bildet eine wichtige Grundlage des Lebens. Auch die Weiterleitung von neuronalen Signalen ist ohne membrangesteuerte Austauschprozesse undenkbar. Die Ausbildung von Trennmembranen, aber auch der Austausch zwischen den so getrennten Medien stellen also eine unverzichtbare Grundbedingung allen Lebens dar. Die Steuerung dieses Austauschs durch vor- oder nachgelagerte chemische Umsetzung oder Transportprozesse sowie der gezielte Durchlass durch eine oft je nach momentanen Bedürfnissen selektierende Membran bildet ein faszinierendes Vorbild für spezifische Direktnachweis-Methoden.

Doch auch für die Verwendung in der Analytik bieten Membranextraktionen viele Möglichkeiten.

Grundlage für die Beschreibung des Extraktionsprozesses ist das Verteilungsgleichgewicht eines Stoffes zwischen den zwei Phasen. Nach dem Nernst'schen Verteilungssatz [31]

$$k_i = \frac{c_1}{c_2} \quad 3.01$$

ist der Verteilungskoeffizient k_i einer Substanz i durch das Verhältnis ihrer Konzentrationen c in den Phasen 1 und 2 gegeben. Unter Berücksichtigung der Phasenvolumina V_1 und V_2 lässt sich hieraus die Extraktionsausbeute E ermitteln:

$$E = \frac{k_i}{k_i + \frac{V_1}{V_2}} \quad 3.02$$

Das klassische Ausschütteln bildet trotz hohem Arbeitsaufwand noch immer die meistverwandte Verfahrensweise der flüssig-flüssig-Extraktion. Unterschiedliche Techniken zur Effektivitätssteigerung, durch Pervaporatoren, Ultraschallunterstützung oder Emulgatorzugabe, erlauben in

speziellen Anwendungen hohe Anreicherungsraten sowie eine Reduzierung des benötigten Zeitaufwands, ohne sich jedoch allgemein durchsetzen zu können [32,33,34,35]. Hoher Aufwand und mangelnde Automatisierbarkeit stellen auch weiterhin die größten Nachteile dieser an sich effektiven und flexiblen Technik dar. Fließsysteme zur flüssig-flüssig-Extraktion besitzen zumeist nur eine geringe Effektivität und sind mit begrenzten Anreicherungsraten verbunden, da die in einem Reaktionsschlauch zusammengeführten Phasen nur eine eng begrenzte Kontaktfläche besitzen. Die im Schlauchbereich vorherrschende laminare Strömung führt nur in geringem Maß zur Mischung der Phasen. Die im Anschluss notwendige Separierung der Phasensegmente durch schwerkraftbasierte Phasenseparatoren oder Membranen ist empfindlich gegenüber Störungen durch oberflächenaktive Matrixbegleitstoffe.

Neben der klassischen flüssig-flüssig-Extraktion finden zunehmend Verfahren Anwendung, die mit festen oder immobilisierten Flüssigphasen arbeiten. Ihr Vorteil gegenüber dem Ausschütteln mit einer wässrigen Probe mit Lösungsmittel liegt in den hohen Anreicherungsraten, der einfachen Handhabung und in einer starken Reduktion an benötigtem Lösungsmittelvolumen. Mitunter kann auf den Einsatz organischer Lösungsmittel sogar ganz verzichtet werden. Anstatt durch Elution der an der Sorbensoberfläche angereicherten Substanzen mit einer geringen Menge eines geeigneten Lösungsmittels wie bei der klassischen Festphasenextraktion (**S**olid **P**hase **E**xtraction = SPE) werden die Analyten bei der Festphasenmikroextraktion (**S**olid **P**hase **M**icro **E**xtraction = SPME) thermisch aus den in diesem Bereich verwendeten immobilisierten Flüssigphasen freigesetzt [36].

Entsprechend dieser Verfahrensweise wird die SPME vorzugsweise in Verbindung mit der GC eingesetzt, wo die thermische Desorption durch Einbringen der Sorbensphase in den Injektor des GC direkt in den Trägergasstrom des Gerätes erfolgt. Der Verzicht auf ein flüssiges Lösungsmittel bringt hier deutliche Empfindlichkeitssteigerungen. Ohne dass eine Reduzierung des Extraktvolumens nötig würde, können vergleichsweise große Analytmengen auf die Säule gegeben werden. Eine Überladung der Säule mit Lösungsmittel wird vermieden [37].

Die SPE wiederum eignet sich besser für die Vorbereitung von Proben für die Flüssigchromatographie, die an der Festphase angereicherten Analyten können durch Waschen mit einem oder mehreren geeigneten Spüllösungen von störenden Verunreinigungen gereinigt werden. Anschließend wird der mit einem geringen Volumen Lösungsmittel von der Festphase gespülte Extrakt in den Eluentenstrom der HPLC injiziert. Über eine Installation des festen Sorbens in der Probenschleife des Gerätes kann die Extraktion der Analyten auch direkt mit dem Eluentenstrom erfolgen. Der möglicherweise störende Einfluss weiterer Lösungsmittel kann bei dieser Verfahrensweise vollständig vermieden werden.

Auch die vollständige Abtrennung der Probenvorbereitung von der nachfolgenden Analyse kann realisiert werden. Die Extraktionseinheit kann zur Probenahme vor Ort von der Analyseneinheit abgekoppelt werden. Der Transport größerer Wassermengen sowie eine Konservierung der Probe entfällt.

Beide Methoden erreichen ihre Einsatzmöglichkeiten durch einen zweistufigen Prozess. Nach anfänglicher flüssig-fest(flüssig)-Extraktion, die der Abtrennung der Analyten aus der flüssigen, in der Regel wässrigen Probenmatrix sowie ihrer Anreicherung an der festen oder immobilisierten

Sorbensphase dient, werden die Analyten in einer fest-flüssig- bzw. flüssig-gas-Extraktion in ein geringes Volumen abgegeben. Die immobilisierte Form der sorbierten Analyten ermöglicht eine bequeme Verlagerung bei geringer Verlust- und Kontaminationsgefahr. Die Integration in automatisierte Analysensysteme ist mit beiden Methoden möglich und in verschiedensten Formen kommerziell erhältlich. Dennoch sind beiden Verfahren Grenzen gesetzt.

Beide Verfahren sind auf die Abwesenheit von verschmutzenden oder verstopfenden Feststoffanteilen in der Probelösung angewiesen. Während bei der SPE vor allem Einwegkartuschen zum Einsatz kommen, werden die bei der SPME zumeist in die Kanüle des Autosamplers integrierten Hohlfasern mehrfach verwendet. Die Haltbarkeit einer solchen Faser hängt entscheidend von der Beschaffenheit der Probenmatrix ab. Auch die Diffusionsgeschwindigkeiten der Analyten in der Probe sind entscheidend. Die Faser ist auf der Innenseite mit einem dem Analysenproblem angepassten Sorptionsmittel versehen, die Analyten müssen also zunächst zu den aktiven Zentren der Faser wandern. Ihr Vorwärtkommen in der dünnen Faser ist diffusionskontrolliert. Ein Rühren der Lösung hat nur auf die Konzentrationsverteilung in der Außenlösung Einfluss. Das erreichbare Anreicherungsverhältnis ist also nicht nur vom Verteilungskoeffizienten des jeweiligen Analyten zwischen den beiden Medien, sondern auch entscheidend von seiner Diffusionsgeschwindigkeit in der Probelösung abhängig. Anreicherungszeiten können leicht 60 Minuten und mehr erreichen. Eine exakte Temperaturkontrolle ist essentiell. Unterschiede in der Matrixzusammensetzung schlagen verstärkt zu Buche.

Bei der SPE dagegen wird die Probe am Sorbens vorbeigeführt. Feststoffe müssen aufgrund der Verstopfungsgefahr zuvor entfernt werden. Die Gefahr irreversibler Verschmutzung des festen Sorbens wird durch die Verwendung von Einmalkartuschen ausgeschaltet, die Möglichkeit von Waschschritten zwischen Sorption und Elution bieten gerade bei stark verschmutzten Proben vielseitige Möglichkeiten, begrenzen jedoch die Automatisierbarkeit der Methode. Anders bei Einsatz einer in das Aufgabesystem integrierten Vorsäulekartusche. Hier ist ein komplett automatisiertes System leicht zu erreichen, die vollständige Reinigung des Sorptionsmittels ist allerdings von großer Wichtigkeit [36].

Bei der GC-Analyse leichter flüchtiger Substanzen aus wässrigen Proben kommt der Extraktion in eine Gasphase die größte Bedeutung zu. Unter den Begriffen Purge-and-Trap bzw. Headspace Analyse finden zwei Prozessführungen Anwendung, die auf dem Prinzip der flüssig-gas-Extraktion fußen. Während in ersterem Fall das Extraktionsgas durch die Probelösung geführt wird, verwendet man im zweiten Fall die gesättigte Gasphase über der Probe zur Analyse. Eine Anreicherung der Analyten durch Sammeln in einer Kühl- oder Sorptionsfalle stellt bei beiden Verfahren ein wichtiges Instrument dar. Besonders für die Analyse aus stark verschmutzten Proben bieten beide Techniken entscheidende Vorteile, da kaum die Gefahr einer irreversiblen Verschmutzung und Schädigung der Säule besteht. Selbst bei Erwärmung des Systems ist die Auswahl der Analyten jedoch auf solche mit ausreichendem Dampfdruck beschränkt. Die Anreicherungszeiten bei Sammlung der Analyten in einer Kühlfalle richtet sich nach ihren Dampfdrücken. Temperatur, Fluss- und Druckverhältnisse müssen kontrolliert und konstant gehalten werden [38,39,40].

Die weitgehende Reduzierung des Lösungsmittelbedarfs und vor allem die guten Automatisierungsmöglichkeiten von SPE, SPME, Purge-and-Trap und Headspace Verfahren haben zu einer

weitverbreiteten Anwendung dieser Verfahren bei der Probenvorbereitung für GC und HPLC geführt. Alle Verfahren lassen sich in der Analyse von PAK-Komponenten einsetzen. Dennoch weisen Normverfahren bis heute die flüssig-flüssig-Extraktion als einzusetzende Vorgehensweise bei der PAK-Bestimmung aus Wässern aus, wenn hohe Anreicherungsraten erreicht werden müssen.