

Material und Methoden

Methodenvergleich Wasseranalytik

Nachweis organisch-chemischer Verunreinigungen im Kläranlagenablauf

M. Stróżyńska und K. Schuhen

Inhaltsverzeichnis

1 Probenvorbereitung	2
2 Eingesetzte Chemikalien und Materialien.....	3
3 Proben.....	3
4 Übersicht über die verwendeten analytischen Geräte	3
5 Derivatisierungen	4
5.1 Beschreibung der Derivatisierung für LLE und SPE	4
5.2 Beschreibung der Derivatisierung für SPME	4
6 Gegenüberstellung allgemeiner Parameter der vorgestellten analytischen Methoden (LLE, SPE und SPME)	4

Die im Fachartikel genannten Methoden wurden verwendet, um die organischen Verunreinigungen aus den Wasserproben aus vier verschiedenen Kläranlagen zu extrahieren. Neben der Beschreibung der Methoden und Ergebnisse wird ein Vergleich von allgemeinen Parametern (z. B. Kosten pro Analyse einer Probe, Extraktionszeit) aufgestellt. Des Weiteren werden Probleme beschrieben, die während der Probenvorbereitung für diese Extraktionstechniken auftraten.

1 Probenvorbereitung

Aufgrund der Komplexität des Wassers als Matrix ist es notwendig, vor der Analyse eine Probenvorbereitung durchzuführen. Die typische Probenvorbereitung für wässrige Proben ist die Filtration, gefolgt von verschiedenen Extraktionstechniken (SPE, SPME) [23,24]. Stir Bar Sorptive Extraktion (SBSE), Membranextraktion (ME) und Flüssigphasenmikroextraktion (LPME) können ebenfalls angewendet werden [25, 26]. Jedoch ist aufgrund der geringen Konzentrationen einiger organischer Verunreinigungen im Wasser eine Anreicherungstechnik vor der eigentlichen Analyse erforderlich. Die mit organischem Lösungsmittel (LLE) extrahierte Probe kann durch Verdampfen des Extraktes rekonzentriert werden. Dies gilt auch für die Festphasenextraktion. Wendet man eine SBSE- bzw. SPME-Technik an, erfordert dies keine organischen Lösungsmittel. Es ist keine Rekonzentration erforderlich.

2 Eingesetzte Chemikalien und Materialien

Alle Chemikalien wurden in analytischer Qualität von den Firmen Sigma Aldrich (Steinheim, D) und Merck (Darmstadt, D) bezogen.

Tabelle 1: Verwendete Chemikalien

Name	CAS	Firma
N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid	25561-30-2	Sigma Aldrich
2,3,4,5,6-Pentafluorbenzylbromid	1765-40-8	Sigma Aldrich
Triethylamin	121-44-8	Sigma Aldrich
Trifluoressigsäure (TFA)	76-05-1	Sigma Aldrich
Pyridin	110-86-1	Sigma Aldrich
Hexan	110-54-3	Merck
Acetonitril	75-05-8	Merck
Aceton	67-64-1	Merck

Für die SPME wurden 65 µm PDMS/DVB Fasern der Firma Supelco (Bellefonte, PA, USA) verwendet. Die SPE Kartuschen Chromabond HR-P 3 ml, 500 mg wurden bei Macherey-Nagel (Düren, Deutschland) bezogen. Der Glasfilter GF 51 Ø50 mm wurde von der Firma Schleicher & Schuell (Dassel, Deutschland) produziert.

3 Proben

Jeweils zwei Liter von 24-Stunden-Mischproben wurden aus dem Ablauf von insgesamt vier verschiedenen Kläranlagen in Baden-Württemberg entnommen. Alle Proben wurden bei 5°C in Glasflaschen gelagert und innerhalb von zwei Wochen nach der Probennahme analysiert.

4 Übersicht über die verwendeten analytischen Geräte

Die GC-MS-Analyse wurde mit Agilent 7890B mit 5977B MSD durchgeführt. Die Trennung erfolgte in einer DB-5ms-Quarzglas-Säule (30 mm x 0,25 mm x 0,25 µm) von Agilent (Santa Clara, USA). Helium (99.999%, Linde, Pulach) wurde als Trägergas (1ml/min) verwendet.

Injektionen wurden im Split-Modus 1:10 durchgeführt. Das Temperaturprogramm startet bei 40°C für 5 Minuten, danach wird auf 320°C bei 10°C/min erhöht und für 10 Minuten gehalten. Die gesamte GC-Analyse erfolgte in 43 Minuten. Die Temperaturen der Transferleitung und des Injektors wurden auf je 280°C und 250°C eingestellt. Die Elektronenionisation wurde unter Vakuum bei 70 eV durchgeführt. Die injizierte Menge betrug 1 µl. Alle Analysen wurden im GC-MS über den Massenbereich von m/z 50-550 durchgeführt.

5 Derivatisierungen

5.1 Beschreibung der Derivatisierung für LLE und SPE

Vor der Derivatisierungsreaktion wurde das Hexanextrakt bzw. SPE-Eluat in einem Headspaceglas zur Trockne eingedampft. Dann wurden der Probe 10 µl Pyridin und 20 µl BSTFA zugegeben. Das Reaktionsgefäß wurde mit PTFE/Silikonsepta geschlossen und 1 Stunde bei 60°C erhitzt. Im Anschluss daran wurden 0,5 mL Aceton zugegeben und die Probe in das GC-MS-System injiziert.

5.2 Beschreibung der Derivatisierung für SPME

Im ersten Schritt wurden 20 ml Wasser in ein Glas überführt und der pH-Wert wurde mit 1,0 mol/L TFA auf 2 eingestellt. Anschließend wurde die beschichtete Faser für 30 Minuten bei Raumtemperatur in die Probe eingetaucht. Dann wurden 2 µl 10% Triethylamin in Acetonitril und 0,5 µl 25% PFBB_r-Lösung in Acetonitril in ein Headspaceglas gegeben, welches mit PTFE/Silikonsepta verschlossen wurde. Die Umsetzung wurde für 30 Minuten bei 60 °C durchgeführt. Nach dieser Zeit wurde die Faser in die Nadel zurückgezogen und zur sofortigen Analyse in den Injektor des GCs eingeführt.

6 Gegenüberstellung allgemeiner Parameter der vorgestellten analytischen Methoden (LLE, SPE und SPME)

In Tabelle 3 werden sechs allgemeine Parameter für die drei Extraktionstechniken verglichen. Die Kosten für die Einzelprobenvorbereitung für LLE sind ausschließlich die Kosten für 5 ml Hexan (>99%, GC). Für die SPE-Technik beinhaltet der Preis 4 mL Aceton (>99%, GC), einen Glas-Mikrofaser-Filter und den Preis der einzelnen SPE Kartusche. Der Preis der SPME-Methode beinhaltet lediglich die Kosten der einzelnen SPME-Faser geteilt durch 10 (für reale Proben kann eine Faser etwa zehn Mal verwendet werden).

Tabelle 2: Vergleich von allgemeinen Parametern für LLE, SPE und SPME für die Wasseranalyse

Methode	Kosten für benötigte Materialien	Minimales Probenvolumen [ml]	Minimales Lösungsmittelvolumen [ml]	Extraktionszeit [h]	Zusätzliche Probenvorbereitungsschritte	Einmalige Zusatzausstattung
LLE	0,5 €	200	5	0,5	Zentrifugation, Rekonzentration	Extraktor, ~50 €
SPE	4 €	100	2	2	Konditionierung, Filtration, Zentrifugation, Rekonzentration	Vakuumkammer, ~400 €
SPME	10 €	10	-	0,5	Konditionierung	Faserhalter, ~440 €

Die SPE-Technik erfordert die längste Extraktionszeit, da die Probe mit Hilfe des Vakuums durch die Kartusche gesogen werden muss. Dieses System ermöglicht die Erzeugung eines maximalen Druckes von ca. 60 kPa. Für die hier beschriebenen Extraktionen wurde der Druck auf 20 kPa eingestellt. Resultierend benötigte das Verfahren für die eingesetzten Wasserproben (200 mL) 80 Minuten.

Das minimale Probenvolumen für SPME ist zwanzigmal kleiner als das für LLE erforderliche Probenvolumen. Ein Lösungsmittel ist nicht erforderlich, was die Notwendigkeit einer Rekonzentration des Extraktes eliminiert. Die SPME-Technik hat viele Vorteile. Sie spart Zeit, verbessert die Nachweisgrenze, eliminiert das Problem des Verlustes von flüchtigen Analyten durch Abdampfen und eliminiert die Möglichkeit der Kontamination durch Lösungsmittel. Sie erfordert lediglich eine Faserkonditionierung vor der Analyse, was bedeutet, dass die Faser in den GC-Injektor für 30 Minuten bei 250°C eingeführt wird.

Alle drei Techniken erfordern zusätzliche Ausrüstung, wobei der Extraktor für LLE die günstigste Zusatzausrüstung darstellt. Dieses Verfahren hat jedoch einen relativ geringen Anreicherungsfaktor (1:40). Bei der SPE-Technik ist für 1 Liter Probenvolumen eine Anreicherungsrate von 1:500 oder sogar 1:1000 möglich. Die Anreicherungsfaktoren bei LLE und SPE können noch erhöht werden. Dies wäre beispielweise durch die Anwendung anderer Injektionssysteme und Large-Volume-Injektion sowie Aufkonzentrierung des Extraktes möglich.

Die SPE-Extraktionszeit ist relativ lang, aber wie bei LLE können gleichzeitig mehrere Proben vorbereitet werden. Im Falle der SPME kann nur eine Probe zu einem Zeitpunkt vorbereitet werden. Zudem verlängert sich die Analysezeit bei SPME, da die Konditionierung und die Blindprobe zuerst vorbereitet werden müssen. Besonders bei der SPME-Handfaserhalterung hat die Analyse einen hohen Zeitaufwand, da jede Injektion in das GC-System manuell gestartet werden muss. SPME kann mit einer Vielzahl von Auto-Sampler-Systemen vollautomatisiert werden. Diese Ausstattung ist jedoch mit hohen Kosten verbunden.

Tabelle 3: Liste der mittels der Festphasenmikroextraktion (SPME) gefundenen Komponenten

Name	Verwendung	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Menthol	Duftstoff	-	-	-	x
Methylbenzotriazol	Korrosionsinhibitor, Reinigungsmittel	-	-	-	x
β-Methylionon	Naturstoffe in Pflanzen	x	x	-	x
Isophoron	Lösungsmittel (Farben, Klebstoffe)	-	-	-	x
Diethylcarbitol	Lösungsmittel	-	-	-	x
4-Ethoxy-3-anisaldehyd	Duftstoff	-	-	-	x
2-t-Butylcyclohexanol	Duftstoff	-	x	-	x
2,6-Diisopropylphenol	Kosmetika, Pharmazeutika	x		x	x
2,4-Diaminotoluol	Herstellung von Urethanen und Farbstoffen	-	-	-	x
Tributylphosphat	Extraktionsmittel, Weichmacher	-	-	x	-
Butylhydroxytoluol	Antioxidant	-	x	x	-
Methylthiobenzthiazol	Abbauprodukt (Fungizide, Vulkanisationsbeschleuniger)	x	x	x	-
Galaxolid	Duftstoff	x	x	x	-
Androsteron-Derivat	Steroidhormon	x	-	x	-
Cholesterol-Derivat	Sterol	-	-	-	-
Coprosterol	Cholesterol derivat	x	-	-	-

Furfurylalkohol	Lösungsmittel, modifikation	Holz	x	-	-	-
Bumetrizol	UV-Lichtabsorber (Kosmetika, Kunststoffe)		x	-	-	-
Diclofenac	Medikament		x	x	x	-

Tabelle 4: Liste der mittels der Festphasenextraktion (SPE) gefundenen Komponenten

Name	Verwendung	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Dipropylenglycolmethyl-ether	Lösungsmittel	x	-	x	x
Diethylcarbitol	Lösungsmittel	-	-	-	x
Surfynol	Tensid	x	-	-	-
β -Methylionon	Naturstoffe in Pflanzen	x	x	-	-
TMCP	Flammschutzmittel	x	x	-	-

Tabelle 5: Liste der mittels der Flüssig-Flüssig-Extraktion (LLE) gefundenen Komponenten

Name	Verwendung	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Glycerol (TMS-Derivat)	Befeuchtungsmittel, Schmiermittel	x	x	x	-
β -Methylionon	Naturstoffe in Pflanzen	x	x	-	x
Surfynol	Tensid	x	-	-	-
Galaxolid	Duftstoff	x	-	-	-