FORSCHUNGSZENTRUM JÜLICH GmbH

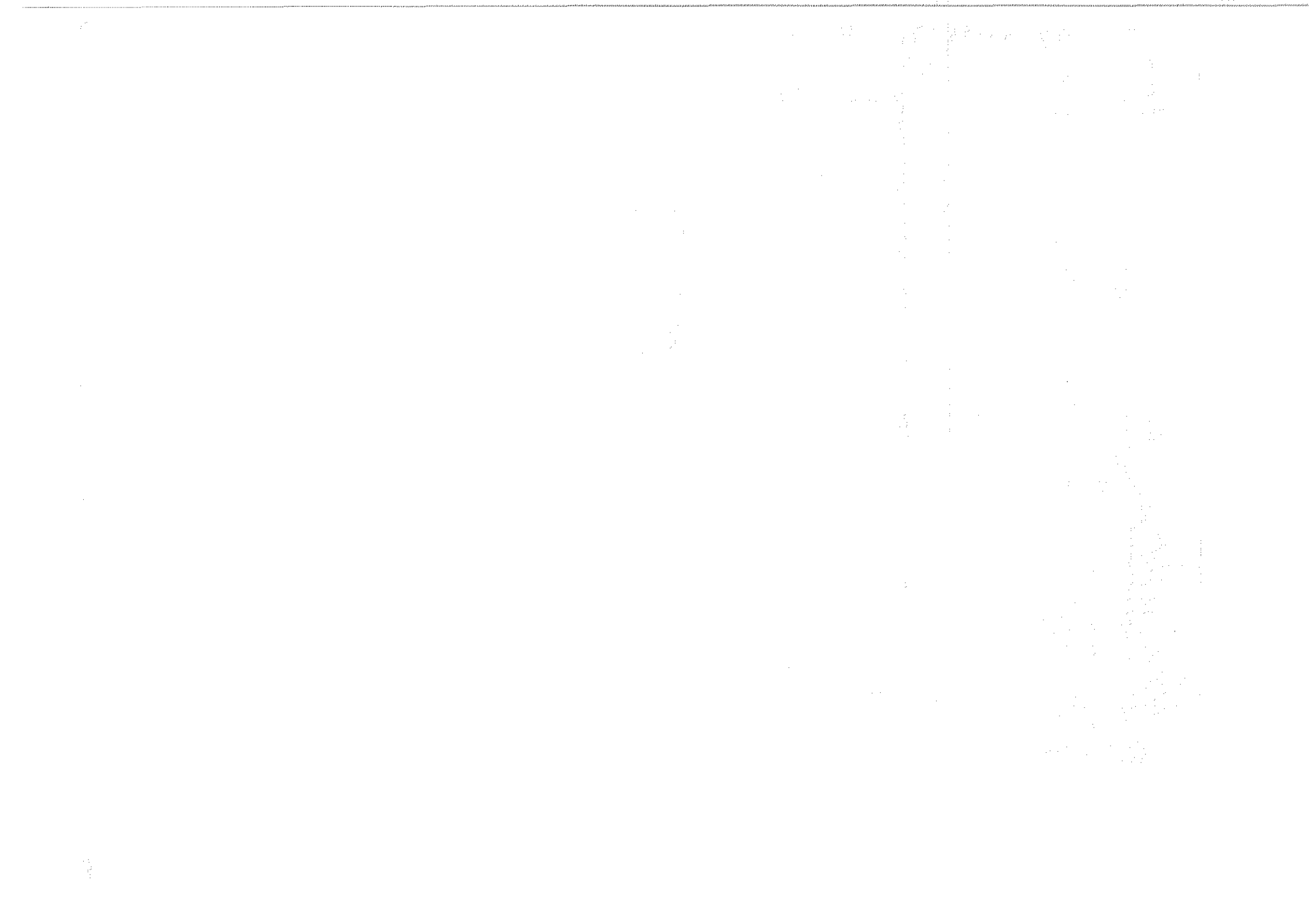
KFA

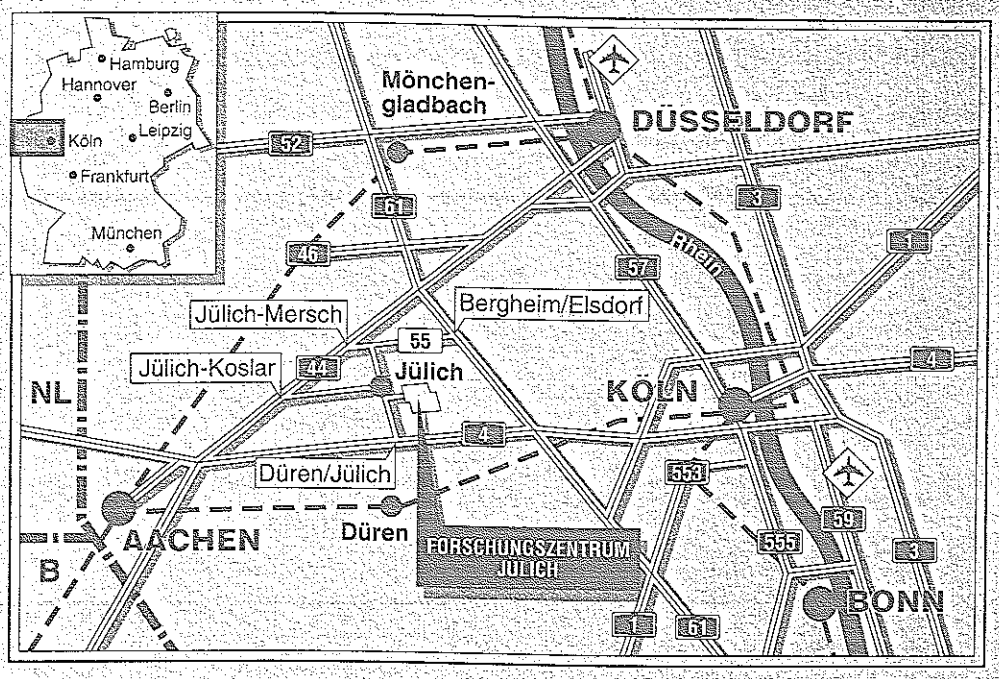
04. Feb. 1991

Institut für Angewandte Physikalische Chemie

Bestimmungsmethoden für ausgewählte Tenside in Flußwasserproben

Markus Schoester





Berichte des Forschungszentrums Jülich ; 2843
ISSN 0944-2952
Institut für Angewandte Physikalische Chemie Jül-2843
D 61 (Diss. Universität Düsseldorf)

Zu beziehen durch: Forschungszentrum Jülich GmbH · Zentralbibliothek
D-52425 Jülich · Bundesrepublik Deutschland
Telefon: 02461/61-6102 · Telefax: 02461/61-6103 · Telex: 833556-70 kfa d

Bestimmungsmethoden für ausgewählte Tenside in Flußwasserproben

Markus Schoester

INHALTSVERZEICHNIS

1 Zusammenfassung 1

2 Einführung 2
2.1 Anwendungstechnische Bedeutung der Tenside . . . 2
2.2 Eintrag, Abbau und Verteilung von Tensiden in der Umwelt 3
2.3 Wirkung von Tensiden in der Umwelt 5
2.4 Tensidanalytik in Flußwasserproben 7
2.5 Aufgabenstellung und Konzept 12

3 Ergebnisse und Diskussion 15
3.1 Vorbemerkungen 15
3.2 Festphasenextraktion von Tensiden 18
3.2.1 Vorbemerkungen 18
3.2.2 Fließgeschwindigkeit der Probelösung . . 20
3.2.3 Salzkonzentration 23
3.2.4 Säulendimensionierung und Formaldehydgehalt 25
3.2.5 Manuelle Mehrstufenelution 28
3.2.6 Destillative Zweistufenelution 29
3.3 Extraktion von Tensiden aus Schwebstoffen . . . 34
3.4 Trennung in die einzelnen Tensidklassen 39
3.4.1 Vorbemerkungen 39
3.4.2 Elutionsmittel und Säulenmaterial . . . 40
3.4.3 Lösemittel für die Fraktion "Anionische Tenside" 49
3.4.4 Leistungsfähigkeit des optimierten Verfahrens 52
3.5 Endbestimmung der Tenside mit HPLC 56
3.5.1 Vorbemerkungen 56
3.5.2 Nichtionische Tenside 58
3.5.3 Kationische Tenside 60
3.5.4 Anionische Tenside 60

3.6 Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystem zur Bestimmung aliphatischer kationischer Tenside mit HPLC 63
3.6.1 Vorbemerkungen 63
3.6.2 Aufbau und Funktionsweise 66
3.6.3 Chromatographische Trennung und Kopplung mit dem Detektionssystem . . . 68
3.6.4 Einflüsse auf das Detektionssystem . . . 71
3.6.5 Kalibrierung und Empfindlichkeit 77
3.7 Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystem zur Bestimmung aliphatischer anionischer Tenside mit HPLC 79
3.7.1 Vorbemerkungen 79
3.7.2 Auswahl geeigneter Farbstoffe 79
3.7.3 Aufbau und Funktionsweise 82
3.7.4 Chromatographische Trennung und Kopplung mit dem Detektionssystem . . . 84
3.7.5 Einflüsse auf das Detektionssystem . . . 88
3.7.6 Kalibrierung und Empfindlichkeit 92
3.8 Bestimmung von Tensiden in Modellösungen und dotierten Flußwasserproben 95
3.8.1 Vorbemerkungen 95
3.8.2 Modellösungen 97
3.8.3 Dotierte Flußwasserproben 99
3.8.4 Nachweisempfindlichkeit des Verfahrens . 110
3.9 Bestimmung von Tensiden in der Elbe 112

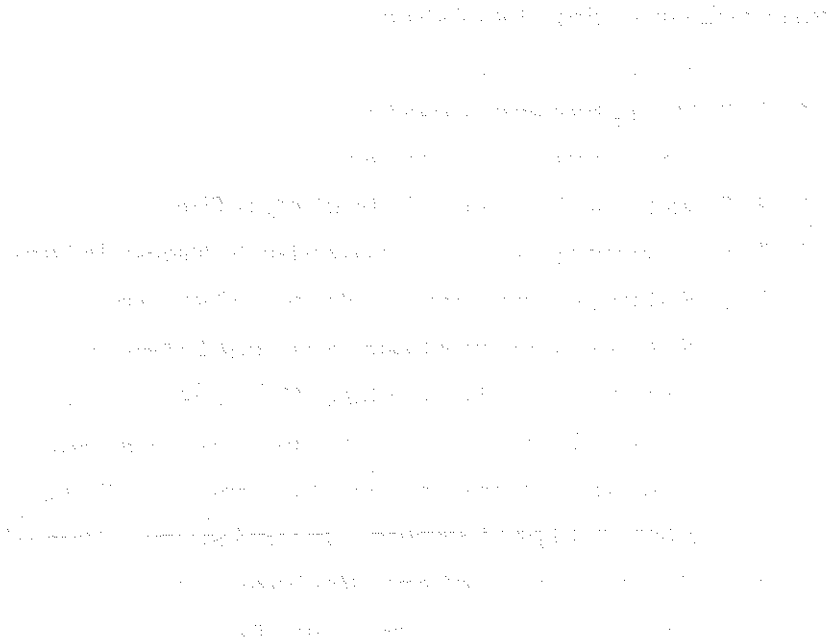
4 Abschließende Diskussion 121

5 Experimentelles 129
5.1 Vorbemerkungen 129
5.2 Gesamtverfahren zur Bestimmung von Tensiden in Flußwasser 129
5.2.1 Festphasenextraktion und Trennungsgang . 129
5.2.2 Endbestimmung von Alkylphenolethoxylaten und Alkylphenolen mit HPLC 137
5.2.3 Endbestimmung von Alkylammoniumverbindungen und Esterquats mit HPLC 138
5.2.4 Endbestimmung von LAS mit HPLC 141
5.2.5 Endbestimmung von Alkylsulfonaten 143

5.3 Entwicklung der Verfahrensschritte 145
5.3.1 Vorbemerkungen 145
5.3.2 Festphasenextraktion aus wäßriger Lösung 146
5.3.3 Extraktion von Schwebstoffen 147
5.3.4 Trennung in die einzelnen Tensidklassen . 148
5.3.5 Entwicklung eines Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystems zur Bestimmung aliphatischer kationischer Tenside 149
5.3.6 Auswahl von Farbstoffen für das Nachsäulen-Ionenpaar-Verfahren zur Bestimmung aliphatischer anionischer Tenside . 151
5.3.7 Entwicklung eines Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystems zur Bestimmung aliphatischer anionischer Tenside 152
5.4 Materialien 153
5.4.1 Kommerziell erhältliche Materialien . . . 153
5.4.2 Synthetisierte Substanzen 157

6 Literatur 167
6.1 Veröffentlichungen dieser Arbeit 167
6.2 Verwendete Literatur 168

7 Abkürzungen und Akronyme 176
7.1 Akronyme für Tenside 176
7.2 Sonstige 178



1 Zusammenfassung

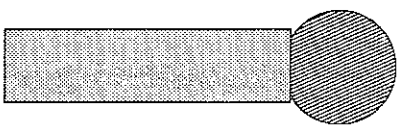
In dieser Arbeit wird ein Verfahren beschrieben, mit dem aus einer Flußwasserprobe nichtionische, kationische und anionische Tenside einzelsubstanzspezifisch bestimmt werden können. Durch Festphasenextraktion der Flußwasserlösung und Heißextraktion der Schwebstoffe werden die drei Tensidklassen gemeinsam angereichert, durch Säulenchromatographie in Form eines Trennungsganges voneinander getrennt und die einzelnen Substanzen anschließend mit der Hochdruckflüssigkeits-chromatographie quantifiziert. Für jede Tensidklasse wurden Modelltenside und interne Standardsubstanzen ausgewählt. Die einzelnen Verfahrensschritte wurden unabhängig voneinander untersucht, optimiert und die notwendigen Rahmenbedingungen für ihre Verwendung ermittelt. Bis auf wenige Ausnahmen lagen die Wiederfindungsraten bei der Festphasenextraktion im Bereich von 74 bis 110%, bei der Heißextraktion im Bereich von 60 bis 101% und im Trennungsgang zwischen 87 und 107%.

Eine empfindliche Quantifizierung der aliphatischen kationischen und anionischen Tenside im Anschluß an die chromatographische Trennung gelang durch die Entwicklung eines automatisch arbeitenden Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktions-systems. Herkömmliche Anlagen dieser Art konnten in entscheidenden Punkten weiterentwickelt werden. 1 ng aliphatisches kationisches Tensid und, je nach Substanz, 4 bis 42 ng aliphatisches anionisches Tensid lassen sich mit diesem System sicher nachweisen.

Mit dem Gesamtverfahren wurden bei der Analyse von Flußwasser-Modellösungen Wiederfindungsraten zwischen 67 und 106% erzielt. An dotierten Flußwasserproben lieferten die einzelnen Modellsubstanzen und internen Standardsubstanzen unterschiedliche Ergebnisse, die im einzelnen diskutiert werden. Die Bestimmungsgrenzen von Tensiden in Flußwasser liegen im unteren $\mu g L^{-1}$-Bereich. Bei der abschließenden Untersuchung einer Serie von Elbeproben wurden die Konzentrationen an Nonylphenolethoxylat, Dioctadecyldimethyl-, Octadecyltrimethyl- und Dodecyltrimethylammoniumchlorid sowie linearem Alkylbenzolsulfonat und Dodecylsulfonat gemessen. Die Gehalte dieser Substanzen, sowohl gelöst als auch schwebstoff-gebunden, lagen im Bereich von 0 bis 11 $\mu g L^{-1}$.

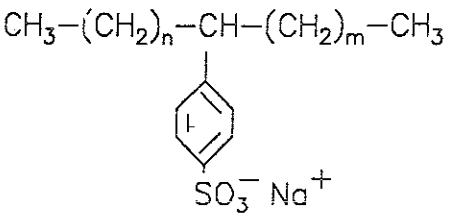
2 Einführung

2.1 Anwendungstechnische Bedeutung der Tenside

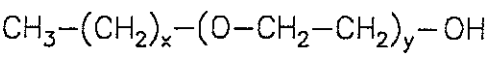


hydrophob hydrophil

Anionische Tenside



Nichtionische Tenside



Kationische Tenside

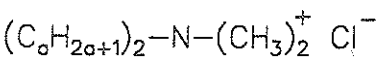


Abb. 2-1. Asymmetrischer Molekülaufbau von Tensiden und einige Strukturbeispiele.

Die Verwendung oberflächenaktiver Stoffe, wie z.B. Seifen, als Wasch- und Reinigungsmittel ist eine der ältesten praktischen Anwendungen der Chemie. Unter dem Begriff "Tenside" werden solche Stoffe verstanden, die in Lösemitteln, insbesondere in Wasser, aufgrund ihrer Oberflächenaktivität die Oberflächenspannung herabsetzen, und die außerdem zur Selbst-Assoziation, d.h. Mizellbildung, neigen. Die zugrundeliegende gemeinsame Eigenschaft der Tenside ist ihr asymmetrischer, hydrophil-

hydrophober Molekülaufbau (Abb. 2-1) [1]. Entsprechend der Ladung der Kopfgruppe unterscheidet man zwischen den Tensidklassen anionische, nichtionische, kationische und amphotere Tenside.

Das Produktionsvolumen synthetischer Tenside beläuft sich weltweit auf jährlich etwa 7 Millionen Tonnen [2]. Die Hälfte davon dient der Herstellung von Wasch- und Reinigungsmitteln sowie Körperpflegemitteln ("Personal-Care-Produkte"). Die andere Hälfte geht in industrielle Anwendungen. Dazu zählen die Verarbeitung von Textilien und Fasern, Kosmetik und Pharmazie, der Bergbau, die Erzaufbereitung, die Erdölförderung, die Herstellung von Farben, Lacken und Kunststoffen, die Lebensmittelindustrie, die Cellulose- und Papierindustrie, der Pflanzenschutz, Leder- und Pelzbearbeitung und andere mehr [2].

2.2 Eintrag, Abbau und Verteilung von Tensiden in der Umwelt

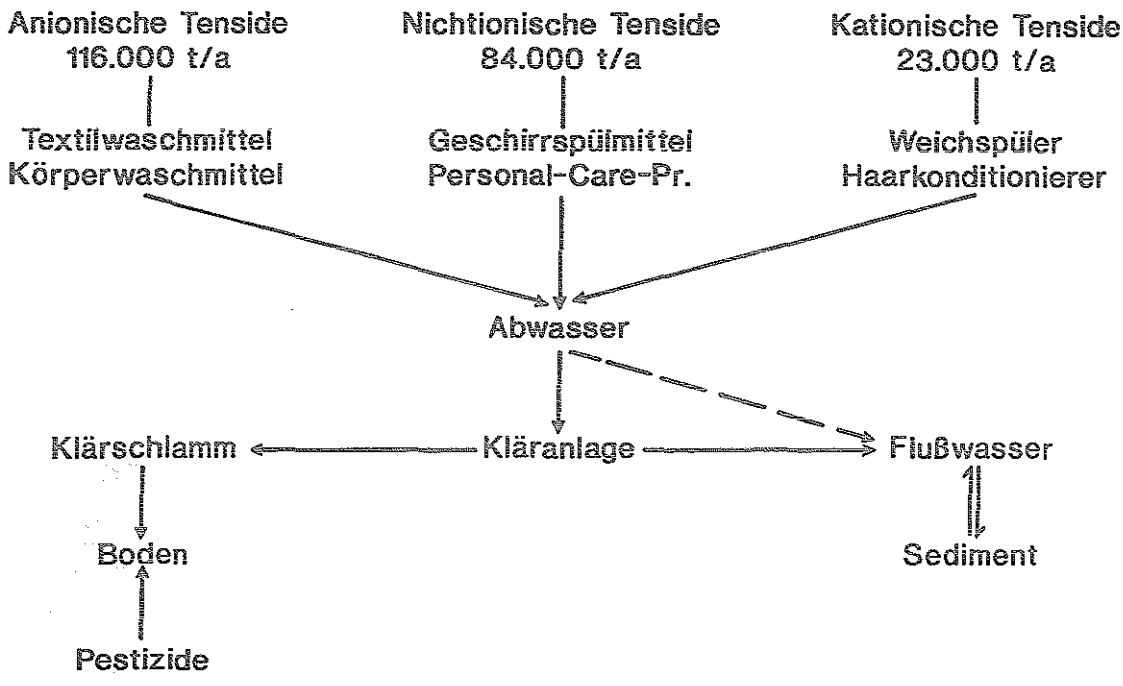


Abb. 2-2. Eintrag und Verteilung von Tensiden in der Umwelt.

In Wasch- und Reinigungsmitteln werden Tenside in der Regel offen angewandt und gelangen nach bestimmungsmäßigem Gebrauch

mit dem Abwasser in die aquatische Umwelt. Der entsprechend dem Wasch- und Reinigungsmittelgesetz [3] relevante Tensidverbrauch in der "alten" Bundesrepublik lag 1989 bei einer Höhe von rund 225.000 t [4]. Abb. 2-2 gibt die Mengenverhältnisse und die Verteilungswege wieder.

Mengenmäßig wichtigster Vertreter aus der Klasse der anionischen Tenside ist in Europa derzeit das lineare Alkylbenzolsulfonat, welches in Wasch- und Reinigungsmitteln in großen Anteilen enthalten ist. An nichtionischen Tensiden werden hauptsächlich Fettalkoholethoxylate und Alkylphenolethoxylate eingesetzt. Die bedeutendste Substanz innerhalb der Klasse der kationischen Tenside war bisher das Distearyl-dimethyl-ammoniumchlorid; in Deutschland ist diese Substanz in jüngster Zeit durch andere Stoffe ersetzt worden.

Der größte Teil der freigesetzten oberflächenaktiven Stoffe unterliegt unter aeroben Bedingungen dem biologischen Abbau. Beim Abbauverhalten der Tenside muß man zwischen dem Primärabbau und dem Totalabbau unterscheiden. Der Primärabbau spiegelt lediglich den Verlust spezifischer Substanzeigenschaften (z.B. die Grenzflächenaktivität) wider, wohingegen dem Totalabbau die vollständige Mineralisation bzw. Umwandlung in Biomasse zugrundeliegt. Da ein nicht unerheblicher Teil der Tensidfracht in ländlichen Gebieten anfällt, in denen die Kläranlagen sub-optimal arbeiten, ist der Abbau dort unvollständig [5, 6]. Ein anderer Teil wird bei Starkregenereignissen in der Kläranlage nicht erfaßt und gelangt unzersetzt in die Umwelt. Die über den Kläranlagenablauf in den Vorfluter transportierten Tenside unterliegen im Flußwasser einem weiteren Abbau und gelangen von dort durch Adsorptions- und Austauschprozesse in das Flußsediment oder schließlich in das Meer [7, 8, 9]. Der biologische Abbau in der Kläranlage und im Flußwasser sowie die Verdünnung durch die hohen Abflußraten der Flüsse verursachen, trotz der genannten hohen Eintragsmengen, Tensidkonzentrationen im Bereich weniger Mikrogramm je Liter, zumindest bei größeren Flüssen, in denen die Mikroflora entsprechend angepaßt ist [6, 10, 11, 12]. Von den nichtionischen Tensiden wurden von Hellmann 1989 im Niederrhein weniger als 2 μgL^{-1}, von den kationischen Tensiden etwa 10 μgL^{-1} und von den anionischen Tensiden etwa 8 μgL^{-1} gemessen

(Summenwerte für diese Tensidklassen) [12]. Angesichts der hohen Abflußmengen der Flüsse sind die resultierenden Frachten immer noch beachtlich.

Weil die meisten Tenside nur in sehr geringem Maße anaerob abgebaut werden, bleiben im Klärprozeß bei anaerober Schlammstabilisierung große Anteile einzelner Tensidklassen, an Klärschlamm adsorbiert, unzersetzt erhalten [13]. Ein Eintrag in die Umwelt erfolgt dann über die Klärschlammausbringung auf die Böden. Außerdem können Tenside auch direkt, z.B. aus Pestizidformulierungen, in Pflanzen und Böden gelangen. Durch den sehr langsamen Abbau der Substanzen im Boden ist eine Anreicherung bzw. ein längerfristiger Verbleib einzelner Tenside oder Metabolite in diesem Umweltkompartiment nicht auszuschließen [14].

In Waschmittel-Formulierungen werden aufgrund der besseren Abbaubarkeit und der Zugänglichkeit aus natürlichen, erneuerbaren Ressourcen zunehmend aliphatische Verbindungen verwendet. Besonders interessant sind Tenside, die auch anaerob hydrolysierbar bzw. abbaubar sind. Bei den nichtionischen Tensiden sind dies die Fettalkoholethoxylate [15] und Alkylpolyglykoside. Innerhalb der Klasse der kationischen Tenside wurde bei den Wäscheweichspülern der Wechsel bereits vollzogen: Anstelle der Tetraalkyl-ammoniumhalogenide ("Quats") finden heute bereits vorwiegend Imidazolinium-Verbindungen und sogenannte "Esterquats" Verwendung. Esterquats sind Gemische von Mono-, Di- und Trialkanoylestern von Tri(hydroxyethyl)-methyl-ammoniumhalogeniden. Als anionische Tenside, welche anaerob abbaubar sind, stehen Alkylsulfate [16] und Alkylether-sulfate zur Diskussion. Gut abbaubare anionische Tenside (zumindest aerob) stehen mit Alkylsulfonaten und α-Sulfo-fettsäure-methylestern zur Verfügung [17].

2.3 Wirkung von Tensiden in der Umwelt

Das Vorkommen von Tensiden in der Umwelt wurde der breiten Öffentlichkeit erstmals während der trockenen Jahre 1959/1960 bewußt, als sich sichtbare Schaumberge in den Wehren großer Flüsse bildeten [18]. Dieser Effekt wurde durch den damaligen

Hauptinhaltsstoff von Wäschewaschmitteln, dem Tetrapropylenbenzolsulfonat, hervorgerufen. Diese Substanz ist relativ schlecht abbaubar und wurde in den Industrienationen bis 1965 aufgrund gesetzlicher Maßnahmen durch das wesentlich leichter abbaubare lineare Alkylbenzolsulfonat (LAS) ersetzt [19, 20, 21, 22]. Da die Tenside moderner Wasch- und Reinigungsmittel eine gute biologische Abbaubarkeit besitzen, sind die Konzentrationen der Substanzen in den Vorflutern heute so klein, daß eine Schaumbildung in der Regel ausgeschlossen ist [12].

Die humantoxische Wirkung der meisten Tenside ist vergleichsweise gering. Entscheidender Parameter zur Bewertung der in der Umwelt beobachteten Tensidkonzentrationen ist die Toxizität gegenüber aquatischen und benthischen Organismen (Wasser- bzw. Sedimentbewohner). Diese Wirkung ist je nach Art des Organismus, Art der Substanz sowie Kettenlänge und Verzweigungstyp (bzw. Isomer) unterschiedlich [23]. Während beispielsweise bei den LAS bekannt ist, daß Homologe mit längerer Alkylkette toxischer sind, so weiß man auch, daß diese einem schnelleren Bioabbau unterliegen. Einige Substanzen besitzen jedoch eine erwähnenswerte Toxizität gegenüber Wasserorganismen, die dann problematisch werden kann, wenn der Primärabbau der Substanz nicht schnell genug abläuft, oder aber wenn Metabolite gebildet werden, die eine höhere Toxizität besitzen als die Ausgangsverbindung. Im Regelfall beginnt der biologische Abbau bei den meisten Tensiden am hydrophoben Molekülteil, so daß sich die Polarität erhöht, und somit die ohnehin schon geringe Tendenz zur Bioakkumulation noch weiter abnimmt [16, 24, 25]. Eine Ausnahme stellen aber die Alkylphenolethoxylate aus der Klasse der nichtionischen Tenside dar. Da die Polyglykoletherkette schneller abgebaut wird als die verzweigte Alkylkette, entstehen Metaboliten geringerer Polarität und hoher Persistenz [5, 26, 27]. Nonylphenol, welches gegenüber zahlreichen Wasserorganismen toxisch wirkt, wurde als relativ stabiles Stoffwechselzwischenprodukt des Nonylphenolethoxylates identifiziert und in Kläranlagenabläufen, Klärschlämmen und Sedimenten in beachtlichen Mengen nachgewiesen [28, 29, 30, 31, 32, 33]. Seit 1988 besteht deshalb in Deutschland ein freiwilliger Anwendungsverzicht dieser Stoffklasse in offenen Systemen [2]. Von den nur mäßig

abbaubaren Alkylammoniumverbindungen aus der Klasse der kationischen Tenside ist eine merkliche Toxizität, beispielsweise gegenüber Daphnien, bekannt. Diese Substanzen wurden bisher in Wäscheweichspülern verwendet. Über die kationischen Tenside liegen insgesamt aber nur wenige Informationen vor, und es besteht ein erheblicher Untersuchungsbedarf.

Die physikalisch-chemischen Effekte der in die Umwelt freigesetzten Tenside sind im Gegensatz zu deren direkten toxischen Wirkungen bislang wenig untersucht [5]. Beim Eintrag in Böden ist es denkbar, daß diese Stoffe durch Adsorption beispielsweise an Tonmineralien die organische Substanz des Bodens verändern, insbesondere unter Berücksichtigung der Tatsache, daß die Tenside dort nur in sehr geringem Maße dem biologischen Abbau unterliegen. Besonders bei kationischen Tensiden ist eine Erhöhung der Lipophilie der Bodensubstanzen wahrscheinlich. Dadurch könnten synergistische oder antagonistische Effekte auf die Bindung oder biologische Verfügbarkeit anderer, in den Boden eingetragener, organischer Schadstoffe hervorgerufen werden [5]. Außerdem ist von kationischen Tensiden ein starker Einfluß auf das Ionenaustauschverhalten der Böden und damit auf die Remobilisierung von Schwermetallen zu erwarten [7]. Ähnliche Prozesse sind auch im Flußsediment nicht auszuschließen. Aus diesem Grund ist es für eine detaillierte ökotoxikologische Betrachtung wichtig, bei der Analyse von Tensiden in Flußwasserproben zwischen schwebstoffgebundenen und in Lösung befindlichen Tensiden unterscheiden zu können.

2.4 Tensidanalytik in Flußwasserproben

Vorbemerkungen

Für die Bewertung ihrer Umweltverträglichkeit werden außer theoretischen Abschätzungen der Konzentrationen der Tenside in der Umwelt experimentelle Messungen benötigt, denn nur so kann abschließend überprüft werden, ob nachteilige Wirkungen auf die Umwelt möglich sind. Im Gegensatz zur Produktanalyse [34] müssen analytische Bestimmungsverfahren für Tenside in Flußwasser und

anderen Umweltmatrices eine Reihe von Problemen bewältigen. So stehen aufgrund der niedrigen Tensidkonzentration, bei gleichzeitig begrenzter Probemenge (im Labor können praktisch nur wenige Liter gehandhabt werden), nur sehr geringe absolute Mengen zur Quantifizierung zur Verfügung. Da wie bereits beschrieben das Abbauverhalten und die umwelttoxikologischen Eigenschaften von Homologen- (verschiedene Länge der Alkyl- und Polyglykolketten) und Isomerenverteilung (verschiedene Positionen beispielsweise des Benzolrings bei den LAS oder des Verzweigungstyps bei den Alkylphenolethoxylaten) abhängen, besteht ein hoher Bedarf an solchen Detailinformationen zu den jeweiligen Tensidtypen. Demzufolge ist es notwendig, die vorliegenden Substanzgemische entsprechend aufzutrennen, was nur mit chromatographischen Verfahren zu erreichen ist. Dadurch nimmt aber zwangsläufig die summarische Nachweisempfindlichkeit der Analysenmethode ab, denn am Ende der Aufarbeitungssequenz erreichen von jeder einzelnen aufgetrennten Substanz nur entsprechend geringere Mengen das jeweilige Detektionssystem. Um dann noch genügend kleine Nachweisgrenzen für jede Substanz erreichen zu können, müssen vor der chromatographischen Trennung entsprechend hohe Anreicherungsfaktoren erzielt werden und/oder sehr empfindliche Detektionstechniken verwendet werden.

Trennung, Detektion und Quantifizierung

Die ersten Methoden zur Bestimmung von Tensiden in umweltrelevanten Konzentrationen in wäßriger Umgebung führten zu Summenparametern, welche die einzelnen Tensidklassen in ihrer Gesamtheit erfassten. Die Quantifizierung erfolgt bei diesen Methoden über klassenspezifische Farbreaktionen und anschließende photometrische Messung. Bei den ionischen Tensiden wird die Bildung von Ionenpaaren mit entgegengesetzt geladenen Farb- oder Fluoreszenzfarbstoffen genutzt, welche im Gegensatz zu den Ausgangssubstanzen in unpolaren Lösemitteln löslich sind und somit aus der wäßrigen Lösung extrahiert werden können. Die Farbreaktionen nichtionischer Tenside beruhen dagegen auf der Bildung extrahierbarer Komplexe mit Metallionen und Farbstoffmolekülen. Bei der Bestimmung von Parametern wie Methylenblau-aktive Substanz (MBAS) [35, 36, 37, 38],

Wismut-aktive Substanz (BiAS) [38], Cobaltthiocyanat-aktive Substanz (CTAS) [20, 39] oder Disulfinblau-aktive Substanz (DSBAS) [40, 41] treten allerdings Fehler auf, welche die Zuverlässigkeit und Genauigkeit dieser Verfahren einschränken [13, 42, 43]. So findet man bei der MBAS- und DSBAS-Bestimmung systematisch zu hohe Meßwerte, verursacht durch nichttensidische Substanzen, die ebenfalls die Farbreaktion eingehen. Bei der BiAS- oder CTAS-Methode werden systematisch zu niedrige Werte gemessen, da für eine vollständige Reaktion mindestens 5 Ethoxygruppen erforderlich sind. Diese Verfahren wurden im Laufe der Zeit durch titrimetrische Techniken, wie z.B. die Zweiphasentitration, ergänzt und weiterentwickelt [37, 38, 44]. Zahlreiche andere unspezifische Methoden, basierend auf verschiedenen Meßprinzipien (Polarographie, Voltametrie, Atomabsorptionsspektrometrie, Ionenselektive Elektroden), wurden eingeführt [45]. Weitere Methoden nutzen zur Quantifizierung spektroskopische Eigenschaften (Infrarotspektroskopie, Kernresonanzspektroskopie, Massenspektrometrie, u.a.) im Anschluß an die Isolierung bestimmter Stoffgruppen [46, 47, 48, 49, 50, 51, 52].

Zur einzelsubstanzspezifischen Bestimmung von Tensiden müssen vor der eigentlichen Quantifizierung solche Trennverfahren vorgeschaltet werden, welche die jeweilig benötigten Detailinformationen liefern. Die Gaschromatographie, welche aufgrund ihrer hohen Trennleistung sehr detaillierte Ergebnisse bringen könnte, läßt sich nur für einige nichtionische Tenside und anionische Tenside (nach geeigneter Derivatisierung) einsetzen [32, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62]. Der größte Teil der Tenside läßt sich jedoch wegen der geringen Flüchtigkeit nicht mit dieser Technik analysieren. Die Chromatographie mit überkritischen Flüssigkeiten ist vergleichsweise neu, so daß sich deren Anwendung bisher nur auf wenige Gebiete der Tensidanalytik erstreckt [43, 61, 63], und es ist fraglich, ob sich beispielsweise auch kationische Tenside hiermit chromatographieren lassen. Wegen der Unempfindlichkeit der erhältlichen Detektoren scheidet auch die Kapillarelektrophorese als Trennmethode aus, die aufgrund der hohen möglichen Trennleistungen für die ionischen Tenside interessant wäre. Als universell geeignete Technik innerhalb der

chromatographischen Verfahren steht deshalb nur die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) zur Verfügung.

Bei den zunehmend in die Anwendung drängenden aliphatischen Tensiden steht in der Flüssigchromatographie das Problem der Detektierbarkeit im Vordergrund, denn diese Substanzklassen sind weder lichtabsorbierend noch fluoreszenzaktiv. Andere Detektionsprinzipien sind zu unempfindlich oder erfordern eine isokratische Arbeitsweise, die für viele analytische Trennprobleme nicht ausreicht. Einige Versuche wurden unternommen, die empfindlichen, aber wenig spezifischen Quantifizierungstechniken der klassenspezifischen Farbreaktionen (MBAS u. a.) an die chromatographischen Techniken zu koppeln [64, 65, 66, 67, 68, 69, 70]. Dies ist nur in wenigen Fällen gelungen, teilweise mit erheblichem Aufwand und einigen technischen Nachteilen [64, 66, 69]. Wegen der bereits dargelegten großen anwendungstechnischen Bedeutung aliphatischer Tenside besteht ein erheblicher Entwicklungsbedarf an Methoden zu deren empfindlichen Quantifizierung in Kombination mit einer chromatographischen Trenntechnik. Nur für die aromatischen Verbindungen (LAS und Alkylphenolethoxylate) sind zahlreiche Methoden zu ihrer flüssigchromatographischen Bestimmung in der Literatur beschrieben, denn hier sind empfindliche und für Fließmittel-gradienten geeignete Detektoren kommerziell erhältlich. Für diese Stoffklassen und einen Großteil ihrer Abbauprodukte stehen validierte, einzelsubstanzspezifische und empfindliche Methoden zur Bestimmung zur Verfügung [43, 71]. Genutzt wird in der Regel die Fluoreszenz der Aromaten, die neben einer sehr empfindlichen auch eine sehr selektive Detektion ermöglicht. An die Matrixabtrennung bei dem vorausgehenden Anreicherungs- bzw. Isolierungsverfahren können dann geringere Anforderungen gestellt werden. Bei diesen Substanzen lassen sich Nachweisgrenzen im unteren ng-Bereich (absolute Menge auf der Säule) erzielen.

Anreicherung und Isolierung

Bei der "Ausblastechnik" wird die Oberflächenaktivität der Tenside zur Anreicherung aus Wasserproben genutzt. Die Tenside reichern sich an der Oberfläche der Gasblasen eines durch die Probe geleiteten Stickstoffstromes an und werden so in eine

überstehende Ethylacetat-Schicht transportiert [38, 40, 72, 73, 74]. Da die Verteilung der Tenside zwischen den Phasen als ein kinetisch kontrollierter Prozeß betrachtet werden kann, ist es aber nicht ohne weiteres möglich, reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. Besonders unter dem Einfluß verschiedener Matrices in der Flußwasseranalyse ist dies ein entscheidender Nachteil dieses Verfahrens. Außerdem ist ein Zusatz von Tensiden der jeweils anderen Klassen (entweder zur Ionenpaarbildung oder zur Adsorptionsunterdrückung) erforderlich, so daß aus einer Probe nur jeweils eine Tensidklasse analysiert werden kann. Auch Flüssig/Flüssig-Extraktionstechniken werden angewendet; bei den ionischen Tensiden müssen dabei entsprechend unpolare Gegenionen zugesetzt werden, um die notwendige Lipophilie des resultierenden Ionenpaars zu erreichen [42, 43, 75, 76]. Daher können mit dieser Technik nicht ohne weiteres anionische und kationische Tenside parallel analysiert werden. Eine Alternative, die nur für genügend thermostabile Tenside (z.B. Distearyldimethylammoniumchlorid, DSDMAC) verwendet werden kann, ist das vollständige Eindampfen der Probe mit anschließender Extraktion des Rückstandes [72]. Nach diesem Prinzip, in Kombination mit weiteren Anreicherungsschritten, verfahren viele Methoden zur Bestimmung des DSDMAC in Oberflächengewässern und anderen wäßrigen Proben.

In jüngster Zeit treten zunehmend Festphasenextraktions- und chromatographische Anreicherungstechniken in den Vordergrund. Diese Verfahren sind flexibel einsetzbar und bei gleichem Zeitaufwand meist leistungsfähiger. Besonders für die gut detektierbaren aromatischen anionischen und nichtionischen Tenside sind zahlreiche Methoden dieser Art bekannt, meist in Kombination mit den bereits erwähnten HPLC-Verfahren [38, 40, 52, 73, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84]. Für viele Substanzen wurde aber bisher keine geeignete Anreicherungstechnik entwickelt, denn die zur Verfügung stehenden Detektionsmöglichkeiten waren zu unempfindlich oder unspezifisch, um den Anforderungen an ein Umweltmonitoring überhaupt gerecht werden zu können. Letzteres gilt aus den besagten Gründen besonders für die wichtige Gruppe der aliphatischen Tenside.

Bei den bislang verwendeten Methoden, welche Festphasenextraktions- und chromatographische Anreicherungstechniken

nutzen, wird für jede Stoffgruppe eine eigene Probe und ein eigenes Aufarbeitungsverfahren benötigt. Will man aber mit diesen Verfahren ein Monitoring möglichst vieler Tenside durchführen, so wird ein erheblicher Zeitaufwand notwendig. Hinzu kommt, daß die Daten nur eingeschränkt vergleichbar wären, da sie aus verschiedenen Proben stammen. Außerdem besteht bei einer gemeinsamen Anreicherung einer größeren Bandbreite von Tensiden ein wesentliches Problem darin, daß diese bis auf ihre Oberflächenaktivität keine ausgeprägten Gemeinsamkeiten haben, die zur Isolierung genutzt werden könnten. Hinzu kommt, daß durch diese Eigenschaft Verluste bei der Anreicherung durch Adsorption an Gefäßwände etc. zu befürchten sind. Dies gilt im besonderen Maße für die kationischen Tenside wegen ihrer hohen Affinität zu zahlreichen Oberflächenmaterialien. Für diese Stoffklasse und für solche Methoden zur Tensidbestimmung in Flußwasser, welche eine große Bandbreite von Tensiden erfassen, besteht daher ein entsprechend großer Entwicklungsbedarf.

2.5 Aufgabenstellung und Konzept

Aufgabenstellung

Diese Arbeit hatte das Ziel, ein Verfahren zu entwickeln, das die qualitative und quantitative Bestimmung der in die Umwelt gelangten anionischen, nichtionischen bzw. kationischen Tenside in Flußwasser möglichst einzelsubstanzspezifisch und in den umweltrelevanten Konzentrationen ($\mu g L^{-1}$-Bereich) erlaubt. Die Nachweisstärke des Gesamtverfahrens sollte so groß sein, daß es mit den insbesondere für aromatische Tenside beschriebenen Einzelverfahren mindestens konkurrieren und die in Flußwasser vorhandenen Tensidgehalte erfassen kann.

Konzept

Um die Aufgabenstellung zu erfüllen, wurde eine Methode entwickelt, mit der aus nur einer Flußwasserprobe alle drei Tensidklassen zunächst gemeinsam angereichert und anschließend voneinander getrennt werden. Die einzelnen Tensidklassen werden dann geeigneten chromatographischen Trennverfahren zugeführt.

In Kombination mit einer empfindlichen Quantifizierungstechnik ist eine weitgehend einzelsubstanzspezifische und empfindliche Bestimmung von Tensiden in Flußwasserproben möglich.

Um die Methodenentwicklungen und experimentellen Untersuchungen in Umfang und Aussage überschaubar zu halten, wurden einige interessante Tensidstrukturen als Modellsubstanzen ausgewählt (Abb. 2-3). Die Auswahl orientierte sich an den gegebenen Eintragsmengen, an der anwendungstechnischen Bedeutung der Stoffklassen (vgl. Abschnitt 2.1), an der umwelttoxikologischen Relevanz (z.B. Alkylphenolethoxylate und Alkylammoniumverbindungen) und an dem großen Bedarf an empfindlichen Bestimmungsmethoden für aliphatische Tenside. Aus letzterem Grund wurde bei der Methodenentwicklung das Hauptaugenmerk auf die kationischen Tenside gelegt, deren quantitative Bestimmung aus den bereits beschriebenen Gründen eine besondere Schwierigkeit darstellt.

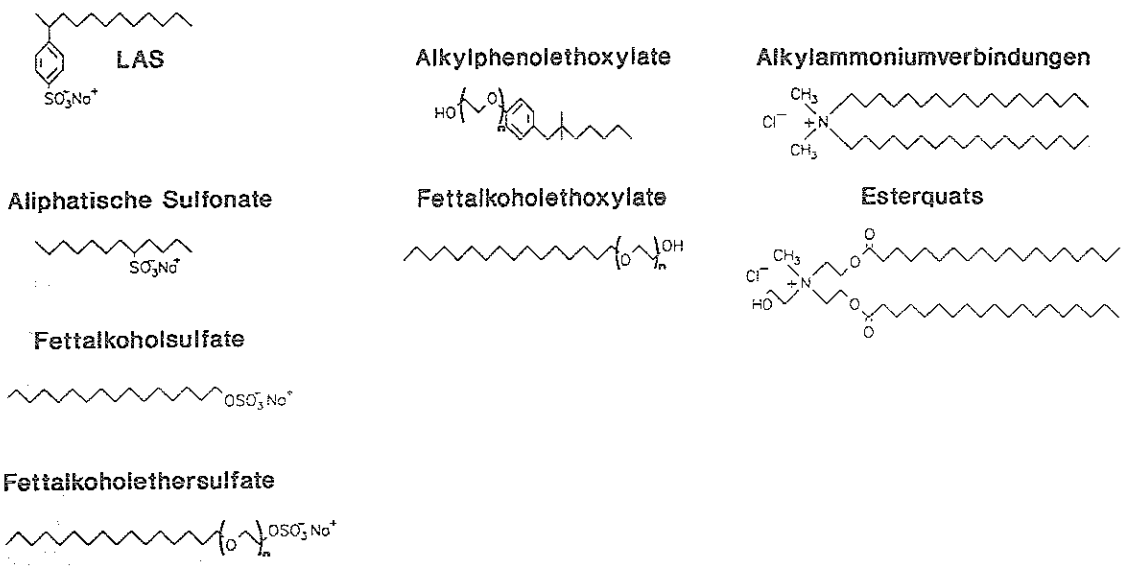


Abb. 2-3. Strukturen der ausgewählten Modelltenside.

Das zu entwickelnde Gesamtverfahren wurde "modular" konzipiert, womit gewährleistet ist, daß die einzelnen "Module", d.h. Verfahrensschritte, auch bei der Aufarbeitung anderer Umweltmatrices eingesetzt werden können und somit in

nachfolgenden Forschungsarbeiten weiter verwertbar sind. Daher wurden diese unabhängig voneinander untersucht, optimiert und die notwendigen Rahmenbedingungen für ihre Verwendung bestimmt. Bei der Methodenentwicklung wurden außerdem alle Oberflächeneffekte von der Probenahme bis zur Endbestimmung berücksichtigt ("Geschlossenes Konzept"). Um geringfügige Analytenverluste kompensieren zu können, wurden verschiedene interne Standardsubstanzen auf ihre Eignung geprüft. Optimal geeignete interne Standardsubstanzen wären isotopenmarkierte Verbindungen, welche aufgrund der gleichen chemischen Eigenschaften auch das gleiche Verhalten in der Anreicherung aufweisen. Anschließend müßten diese dann selektiv mit einem geeigneten Detektor quantifiziert werden. Eine einfachere Alternative bot sich durch die Verwendung möglichst strukturähnlicher Substanzen, die während des analytischen Bestimmungsverfahrens die gleichen Verluste wie die ihnen zugeordneten Analyten erfahren. Sowohl die Leistungsfähigkeit der einzelnen Module als auch des Gesamtverfahrens wurden durch die Ermittlung von Wiederfindungsraten der Modell-Analyten, der Korrelation der ausgewählten internen Standardsubstanzen zu den ihnen zugeordneten Analyten und durch die letztendlich erreichbaren Nachweisgrenzen dokumentiert.

Zur empfindlichen Quantifizierung der Tenside wurden neue HPLC-Verfahren entwickelt oder bekannte Methoden übernommen und bezüglich Anwendungsbreite, Selektivität oder Empfindlichkeit an die gegebenen Problemstellungen adaptiert. Für die Substanzklassen, bei denen die Nachweisstärke gängiger HPLC-Verfahren nicht ausreichte (aliphatische anionische und kationische Tenside), wurde eine empfindlichere Detektionstechnik aufgebaut bzw. weiterentwickelt. Um auch Schwankungen ausgleichen zu können, die nur innerhalb der Endbestimmungsverfahren (HPLC-Verfahren) entstehen, wurden Kontroll-Standardsubstanzen verwendet. Diese werden unmittelbar vor der Endbestimmung dotiert und dienen daher zur Kompensation von Fehlern in den Endbestimmungsverfahren.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Vorbemerkungen

Entsprechend dem vorgestellten Konzept wurde eine Bestimmungsmethode für Tenside in Flußwasserproben entwickelt. Abb. 3-1 zeigt schematisch das Aufbauprinzip dieser Methode.

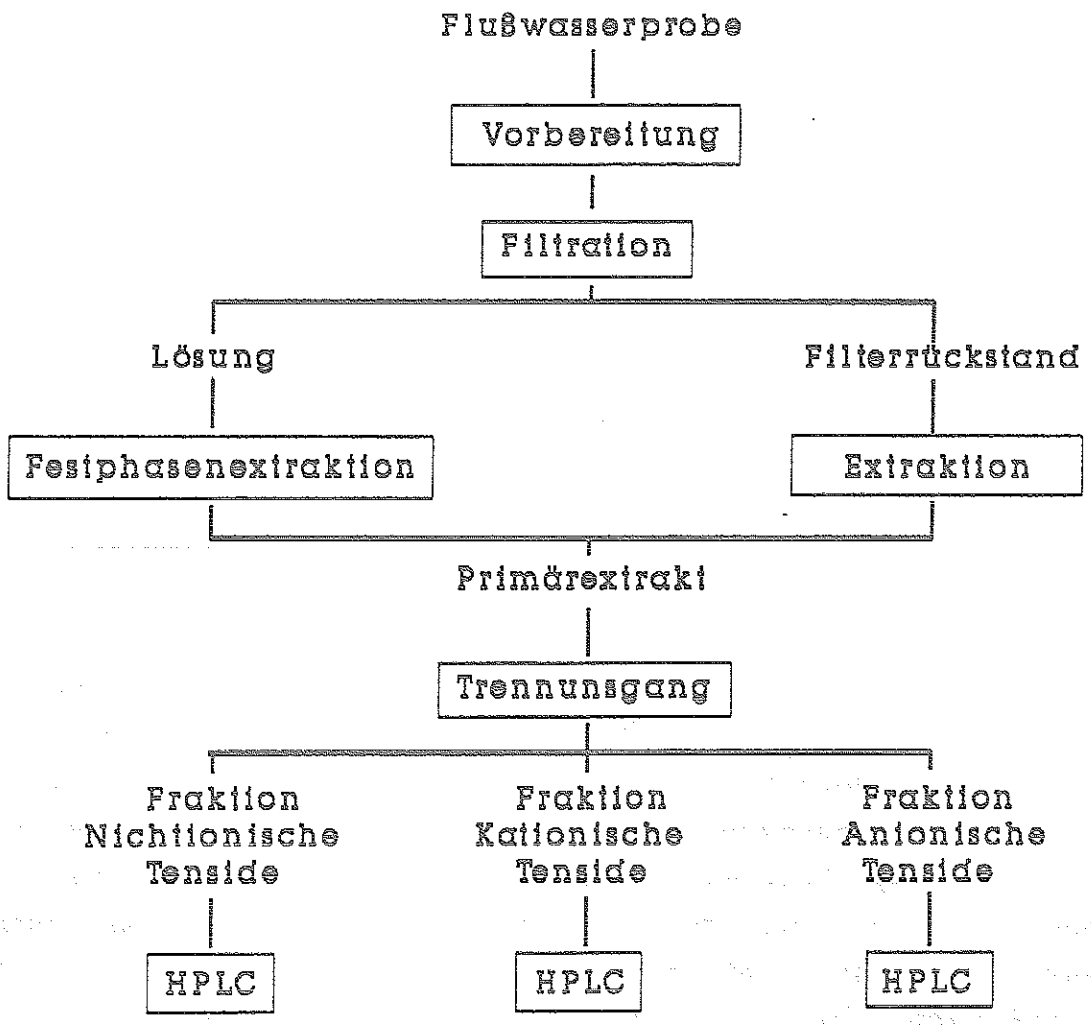


Abb. 3-1. Arbeitsablauf der Bestimmung von Tensiden in Flußwasser.

Ziel dieser Analysesequenz ist es, alle drei Tensidklassen zunächst gemeinsam anzureichern und möglichst weitgehend von den Matrixkomponenten abzutrennen. Dazu dienen die Schritte der

Festphasenextraktion bzw. der Extraktion des Filterrückstandes und der Trennungsgang. In dem zweistufigen Verfahren werden die amphiphilen Eigenschaften der Tenside genutzt, um diese selektiv von der Matrix abzutrennen: Für den ersten Verfahrensschritt, der Festphasenextraktion der Flußwasserlösung, wird ein Styrol-Divinylbenzol-Copolymer-Harz verwendet, das eine Adsorption der Analyten aufgrund hydrophober Wechselwirkungen (Festphase - unpolarer Molekülteil des Tensids) ermöglicht; der Filterrückstand wird mit organischen Lösemitteln extrahiert. In diesem Schritt erfolgt somit die Abtrennung von polaren, hydrophilen Störkomponenten. Im zweiten Schritt, dem Trennungsgang, lassen sich die Tenside aufgrund hydrophiler Wechselwirkungen (Festphase - polare Kopfgruppe des Tensids) an Aluminiumoxid adsorbieren. Hier erfolgt dann die Abtrennung unpolarer, hydrophober Störkomponenten. Dieser Verfahrensschritt hat außerdem die Aufgabe, die Tensidklassen voneinander zu trennen und somit den verschiedenen HPLC-Verfahren zugänglich zu machen, denn wegen der großen Bandbreite der Tenside ist es nicht möglich, diese gemeinsam aus einer Lösung mit der HPLC zu analysieren.

Die Verwendung der HPLC ermöglicht schließlich eine weitgehend einzelsubstanzspezifische Bestimmung der Tenside. Je nach Substanzklasse werden literaturbekannte (meist leicht modifizierte) oder neu entwickelte HPLC-Verfahren verwendet. Für die Gruppe der aliphatischen ionischen Tenside werden empfindliche Detektionstechniken eingesetzt, die auf der Ankopplung klassenspezifischer Farbstoffreaktionen basieren. Die Leistungsfähigkeit der einzelnen Module und des Gesamtverfahrens wird durch die Ermittlung von Wiederfindungsraten der ausgewählten Modelltenside beschrieben. Zur Kompensation geringfügiger Analytenverluste dienen interne Standardsubstanzen, deren Eignung anhand ihrer Korrelation zu den Wiederfindungsraten der entsprechenden Modelltenside untersucht wird.

Die einzelnen Verfahrensschritte (Module) wurden zuerst unabhängig voneinander entwickelt, optimiert und die notwendigen Rahmenbedingungen für ihre Verwendung bestimmt. Dementsprechend sind sie in den folgenden Abschnitten (3.1 bis 3.4) einzeln beschrieben und ebenso im experimentellen Teil

einzeln dokumentiert. Die Ergebnisse der Weiter- bzw. Neuentwicklung empfindlicher Detektionstechniken zur Bestimmung aliphatischer ionischer Tenside werden in den Abschnitten 3.6 (kationische Tenside) und 3.7 (anionische Tenside) dargestellt. Die daraus abgeleiteten HPLC-Verfahren, die für die Entwicklungsarbeiten bzw. die Flußwasseranalyse eingesetzt wurden, sind im experimentellen Teil innerhalb der Darstellung des Gesamtverfahrens beschrieben (Abschnitt 5.2). Das Gesamtverfahren wurde sowohl mit Flußwasser-Modellösungen als auch mit dotierten Flußwasserproben untersucht. Die Ergebnisse dazu sind im Abschnitt 3.8 wiedergegeben.

Bei den Versuchen zur Optimierung der einzelnen Verfahrensschritte wurde als Modellsubstanz für das LAS ein Homologen-Gemisch mit Alkylkettenlängen von 10 bis 13 C-Atomen verwendet. Diese wurden nach der Länge der Alkylkette chromatographisch getrennt und quantifiziert. Durchweg konnten jedoch keine signifikanten Einflüsse der Kettenlänge auf das Verhalten dieser Stoffe festgestellt werden. Da wegen der teilweise recht geringen Mengen einzelner Homologe (insbesondere LAS-10 und LAS-13, - Akronyme siehe Abschnitt 7.1) im Bereich der Bestimmungsgrenze des HPLC-Verfahrens eine große Streubreite der Einzel-Daten resultiert, werden bei der folgenden Darstellung der Ergebnisse der Verfahrensoptimierung die LAS-Werte als Gesamt-LAS (Kettenlängenbereich 10 bis 13 C-Atome) angegeben.

Bei allen durchgeführten Experimenten wurde auch ein Standardgemisch eines nichtionischen Fettalkoholethoxylates (AEO) als Modellsubstanz dotiert. Da jedoch keine geeignete Quantifizierungsmöglichkeit zur Verfügung stand, konnten die Wiederfindungsraten dieser Stoffklasse nicht bestimmt werden. Bei allen ionischen organischen Verbindungen wurden jeweils die Salze verwendet, die in der höchsten Reinheitsstufe erhältlich waren (meist Natrium-Salze bei den anionischen Tensiden bzw. Bromide bei den kationischen Tensiden). Lösemittelkombinationen und andere Konzentrationsangaben sind entweder in Volumenprozent (Auffüllen eines Volumenteils auf ein bestimmtes Gesamtvolumen, Schreibweise als "vol-%") bezeichnet oder es sind die einzelnen Volumenteile jeder Komponente zur Herstellung der Mischung durch Addition der Volumenteile

(Schreibweise: z.B. "3/1") angegeben.

3.2 Festphasenextraktion von Tensiden

3.2.1 Vorbemerkungen

Zur selektiven Anreicherung von organischen Verbindungen aus wäßriger Lösung (hier: Flußwasser) bietet sich die Festphasenextraktion wegen ihrer Flexibilität und Leistungsfähigkeit an (siehe Ausführungen auf S. 11). Neben mittelpolaren Phasen (Diol-, Aminopropyl- und Cyanopropyl-Phasen) sind in erster Linie Umkehrphasen (Alkyl-, Cyclohexyl-, Phenyl-Phasen), die üblicherweise als modifizierte Kieselgele kommerziell erhältlich sind, geeignet. Die bei diesen Materialien vorhandenen polaren Oberflächenstellen (z.B. freie Hydroxy-Funktionen) lassen bei der Tensid-Anreicherung allerdings Elutionsprobleme durch polare Wechselwirkungen mit den hydrophilen Molekülteilen der Tenside befürchten. Dies gilt besonders für die kationischen Tenside, die durch die negativen Oberflächenladungen des Kieselgelgerüstes durch ionische Wechselwirkungen festgehalten werden und möglicherweise nur sehr aufwendig wieder eluiert werden können [85, 86].

Als unpolare Festphase ohne diese ungünstigen Eigenschaften bietet sich ein Styrol-Divinylbenzol-Copolymer-Harz (z.B. die Handelsprodukte Amberlite XAD-2 oder XAD-4) an. Die günstigste technische Umsetzung der Festphasenextraktion für die Anreicherung analytischer Substanzmengen ist der Einsatz von Festphasensäulen. Um eine möglichst vollständige Extraktion der Analyten an solchen XAD-Säulen zu erhalten, wurden verschiedene Einflußfaktoren untersucht und optimiert. Dazu wurden wäßrige Modellösungen von ausgewählten Tensiden hergestellt und durch die Säule getropft. Alternativ wurden methanolische Tensid-Standardlösungen direkt durch Aufgabe eines Aliquots auf den Säulenkopf (und Abblasen des Lösemittels) dotiert. Die dotierten Tensidmengen wurden an den zu erwartenden Tensidgehalten in belasteten Flußwasserproben orientiert. Als Berechnungsgrundlage wurde von einem Probevolumen von 1000 - 2500 mL ausgegangen. Tabelle 3-1 zeigt

die als Modelltenside verwendeten Stoffe und deren Dotierungsmenge.

Tab. 3-1. Dotierungsmengen der für die Festphasenextraktionsversuche verwendeten Tenside. - Akronyme siehe Abschnitt 7.1

Substanz	Menge µg
Nichtionische Tenside	
TMP	50
TMP(EO)1	50
TMPEO	50
NPEO	50
DDP	50
AEO-Σ	200
Kationische Tenside	
N-18-18	10
N-12-12	10
N-8-8	10
N-E-8-Σ	20
N-E-18-Σ	100
Anionische Tenside	
LAS-9	50
LAS-Σ	200
LAS-15	50
C12-SO3	50

Zur Anreicherung lipophiler Stoffe aus wäßriger Lösung sind verschiedene Styrol-Divinylbenzol-Copolymer-Harze kommerziell erhältlich. Die entscheidenden Unterschiede bestehen in der spezifischen Oberfläche und der Reinheit der Materialien. In der Tensidanalytik werden meist Amberlite XAD-2 [52, 77, 81] und Amberlite XAD-4 [82, 87] verwendet. Erste Extraktionsversuche

haben gezeigt, daß diese Materialien zuerst eine umfangreiche Reinigungsprozedur durchlaufen müssen, bevor sie für die Tensidanreicherung im Spurenbereich eingesetzt werden können. Im Anschluß an die Elution können die Säulen dann aber leicht regeneriert und wiederverwendet werden.

Zur Optimierung des Anreicherungsverfahrens stellt sich die Frage, ob die Wahl des Polymermaterials bei den vorliegenden Rahmenbedingungen (vorgesehenes Probevolumen, Fließgeschwindigkeit, Zusammensetzung der Probelösung, Analytenkonzentrationen, ...) eine Rolle spielt. Wegen der größeren spezifischen Oberfläche des XAD-4 im Vergleich zum XAD-2 (XAD-4: 725 $m^2 g^{-1}$; XAD-2: 300 $m^2 g^{-1}$) ist von diesem Material eine höhere Kapazität und somit möglicherweise auch eine höhere Extraktionsausbeute zu erwarten. Daher wurde die Wiederfindung der Tenside bei der Extraktion aus der Modellösung mit Amberlite XAD-2 und XAD-4 bestimmt. Es zeigte sich aber, daß es diesbezüglich keinen wesentlichen Unterschied zwischen den beiden Harzen gibt. Weil das XAD-4 von der praktischen Handhabung her günstiger ist (geringerer Durchflußwiderstand, stabilere Säulenpackung), schien dieses Material besser geeignet und wurde für die weitere Verwendung ausgewählt.

3.2.2 Fließgeschwindigkeit der Probelösung

Um möglichst gut reproduzierbare Resulate zu erhalten, sollte die Probelösung die Festphasensäule mit einer definierten Fließgeschwindigkeit durchströmen. Dabei muß die Kontaktzeit der Probelösung mit dem Adsorbermaterial genügend lang sein, um eine vollständige Extraktion der Analyten zu erreichen. Dies gilt in besonderem Maße für die makroporösen Styrol-Divinylbenzol-Copolymer-Harze wie XAD-2 und XAD-4, die im Gegensatz zu Kieselgel- oder Aluminiumoxid-gestützten Umkehrphasen-Materialien vergleichsweise ungünstige Massenaustauscheigenschaften haben (trotz ähnlich großer spezifischer Oberflächen). Dementsprechend sind bei höherer Fließgeschwindigkeit geringere Wiederfindungsraten besonders von Substanzen mit geringer Affinität zum Adsorbermaterial zu

erwarten. Üblicherweise werden für XAD-Säulen zur Adsorption von Tensiden aus wäßriger Lösung Fließgeschwindigkeiten in der Größenordnung von wenigen Millilitern je Minute verwendet [77, 81].

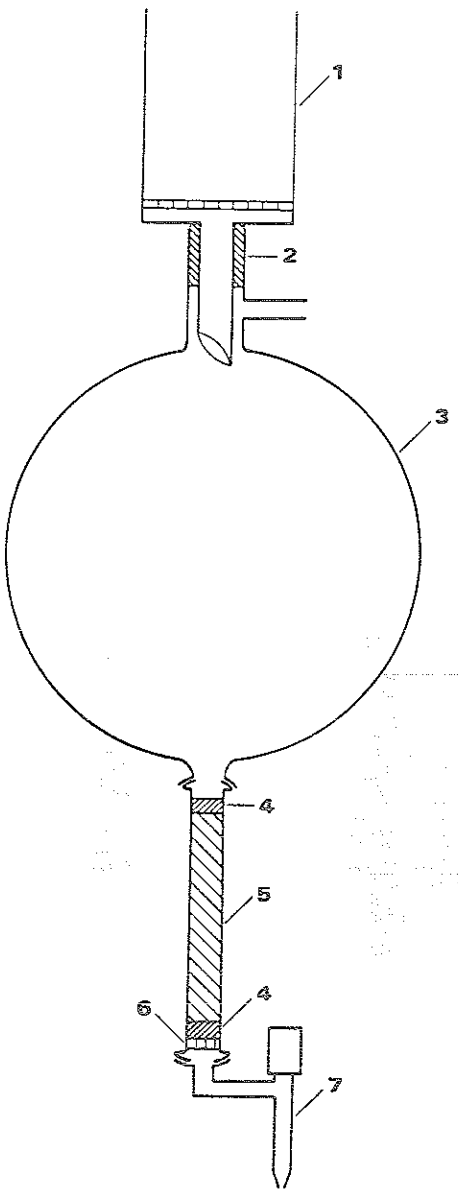


Abb. 3-2. Apparatur zur Filtration und Festphasenextraktion wäßriger Tensidlösungen. - 1 Filtrationsaufsatz; 2 Gummidichtung; 3 Kolbenaufsatz mit Vakuumstutzen; 4 Glaswatte/-wolle; 5 Adsorbersäule; 6 Glasfritte; 7 Bürettenhahn.

Der Einfluß dieses Parameters auf die Wiederfindungsraten der Modelltenside wurde untersucht, um eine möglichst hohe Extraktionsausbeute in einer möglichst kurzen Zeitspanne zu erreichen. Abb. 3-2 zeigt die verwendete Apparatur zur Festphasenextraktion der Flußwasserlösung. Die der Festphasenextraktion vorhergehende Abtrennung der Schwebstoffe aus der Flußwasserprobe durch einen Filtrationsschritt (Erläuterung dieses Schrittes auf S. 34) ist in Form eines Filtrationsaufsatzes bereits in die Extraktionsapparatur integriert.

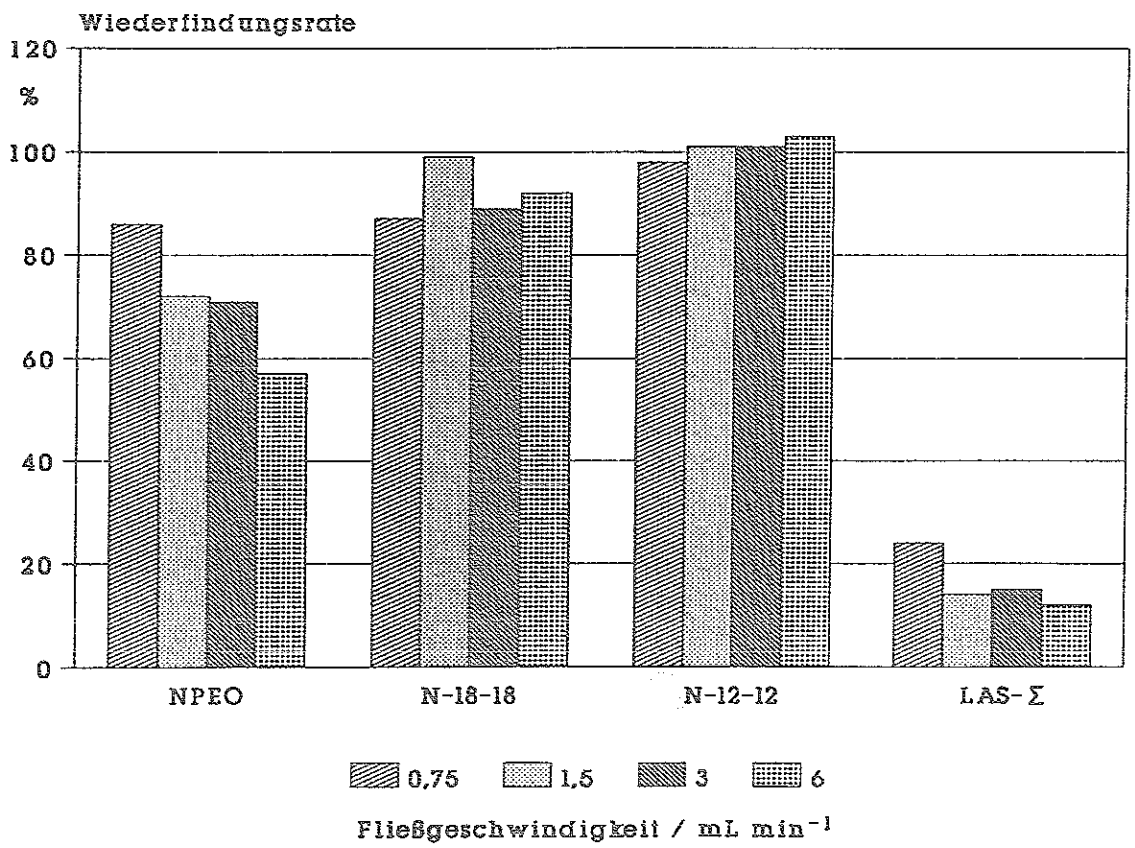


Abb. 3-3. Einfluß der Fließgeschwindigkeit der Probelösung auf die Wiederfindung von Tensiden. - Probe: Tensidgemisch nach Tab. 3-1 (S. 19), gelöst in 1000 mL destilliertem Wasser. Säule: 120 mm x 10 mm i.D. (innerer Durchmesser) XAD-2. Manuelle Mehrstufenelution. Einfachbestimmungen. Experimentelle Details siehe Abschnitt 5.3.2.

Abb. 3-3 zeigt, daß unter den gewählten Bedingungen die Wiederfindungsrate des nichtionischen Tensids NPEO mit sinkender Fließgeschwindigkeit ansteigt und bei 0,75 mL min^{-1} einen zufriedenstellenden Wert von mehr als 80% erreicht. Die kationischen Tenside ließen sich unabhängig von der Fließgeschwindigkeit nahezu vollständig extrahieren, während das LAS im Bereich von 12 - 24% wiedergefunden wurde. Offensichtlich sind die Wechselwirkungen der festen Phase mit dem LAS in der vorgegebenen Modellösung nicht stark genug, um eine vollständige Adsorption zu bewirken. Dies ist umso überraschender, da bereits Verfahren bekannt sind [77, 88], die eine nahezu vollständige Extraktion von LAS aus Flußwasser unter vergleichbaren Bedingungen beschreiben. Eine mögliche Erklärung dieses scheinbaren Widerspruchs wären Matrixeinflüsse, d.h. Wechselwirkungen zwischen dem LAS und weiteren Inhaltsstoffen (z.B. anderen organischen Verbindungen oder Elektrolyten) der Wasserprobe. Möglicherweise beruht die gemessene, gleichbleibend kleine Wiederfindungsrate von etwa 12 bis 15% auf einer Elektroneutralsalzbildung zwischen den anionischen LAS und an der Festphase adsorbierten kationischen Tenside. Nimmt man dafür eine 1:1 Ionenpaarbildung an, so läßt sich die im Unterschuß vorliegende Menge kationischer Tenside auf eine Wiederfindung von etwa 10% LAS umrechnen, welches diese Vermutung unterstützt.

3.2.3 Salzkonzentration

Um die Extraktion der Analyten, speziell der LAS, zu verbessern wurde der Einfluß eines Elektrolytzusatzes zur Probelösung untersucht. Abb. 3-4 verdeutlicht, daß die Anwesenheit von Natriumchlorid in der Wasserprobe die vollständige LAS-Extraktion bewirkt. Die Wiederfindungsrate der nichtionischen NPEO erhöht sich von 70% auf über 90%, während die Wiederfindungsraten der kationischen Tenside mit 90 - 100% unverändert gut bleiben. Damit wird die Annahme bestätigt, daß der Elektrolytgehalt der Probelösung einen wesentlichen positiven Einfluß auf die Festphasenextraktion von Tensiden aus wäßriger Lösung hat. Folglich lassen sich durch Zusatz von

Elektrolyt zur Probelösung Verluste bei der Festphasen-extraktion, besonders bei den LAS und in einem geringeren Maße auch bei den NPEO, reduzieren. Durch den Zusatz eines deutlichen Salzüberschusses (relativ zu den in Flußwasser bereits vorhandenen Gehalten an Elektrolyten) lassen sich so außerdem Schwankungen der Extraktionsleistung durch variierende Elektrolytgehalte verschiedener Flußwasserproben von vornherein verhindern. Die Salzkonzentration muß genügend groß sein, um auch gegenüber der vorliegenden Tensidkonzentration in einem deutlichen Überschuß zu stehen. Dadurch sollte sich eine hohe Extraktionsausbeute erreichen lassen.

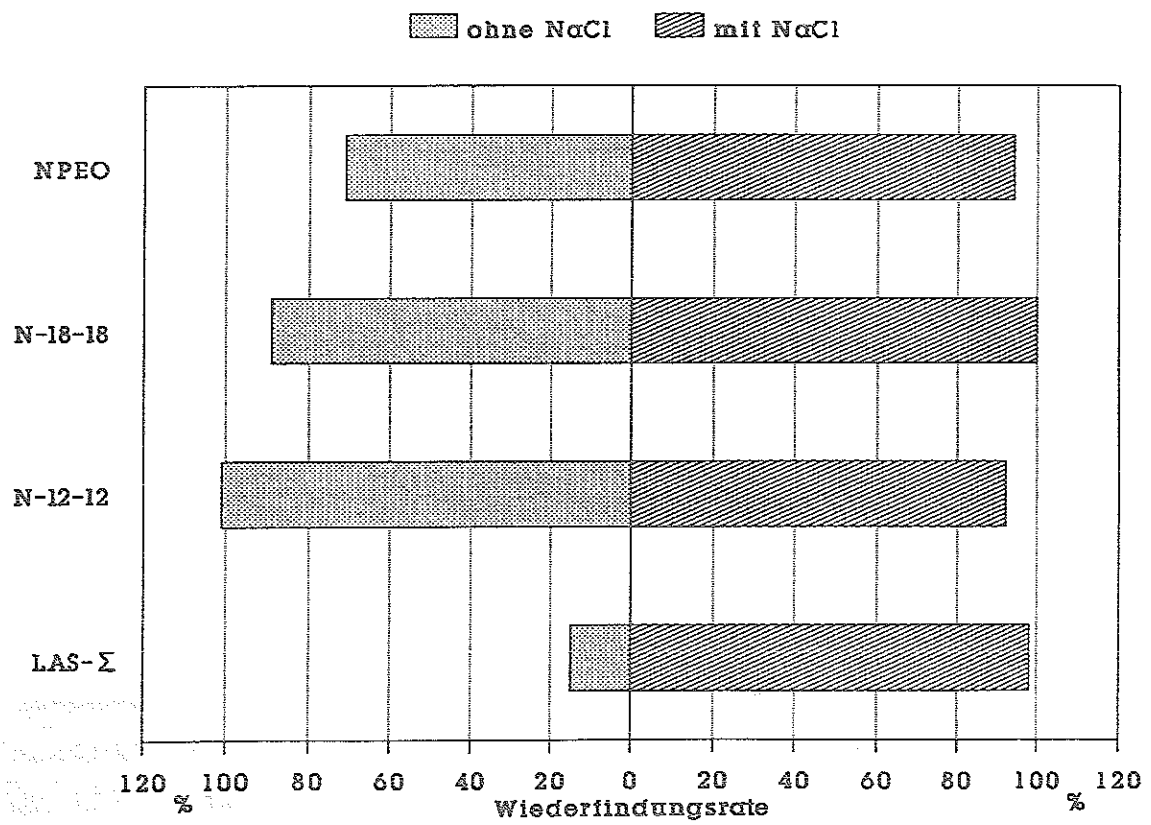


Abb. 3-4. Einfluß des Salzzusatzes zur Probelösung auf die Wiederfindung von Tensiden. - Probe: Tensidgemisch nach Tab. 3-1 (S. 19), gelöst in 1000 mL destilliertem Wasser bzw. Natriumchloridlösung (10 gL^{-1}). Säule: 120 mm x 10 mm i.D. XAD-2. Manuelle Mehrstufenelution. Einfachbestimmungen. Experimentelle Details siehe Abschnitt 5.3.2.

Will man auch Schwankungen der Extraktionsleistung durch variierende pH-Werte verschiedener Flußwasserproben ausschließen, so empfiehlt es sich, die Flußwasserproben (und Modellösungen) in der Säurekonzentration zu puffern. In diesem Zusammenhang berichten Neufarth et al. [89] ohne nähere Erklärung der Ursache über die Notwendigkeit der Einstellung auf pH 3, um die nichtionischen Tenside aus 25 L Flußwasser an XAD-2 vollständig zu adsorbieren. Dieser Wert wurde ohne weitere Überprüfung übernommen und in den Flußwasserproben durch einen 0,1 molaren Citrat-Puffer (pH 3,1) realisiert.

Für die beobachteten Effekte sind zwei Wirkungsmechanismen denkbar: Zum einen kann die höhere Extraktionsausbeute der anionischen und nichtionischen Modelltenside auf die Steigerung der Stoffkonzentration in der mobilen wäßrigen Phase und die daraus über das Massenwirkungsgesetz resultierende Verschiebung des Verteilungsgleichgewichtes gelöst/adsorbiert in Richtung der Adsorption zurückgeführt werden (analog dem "Aussalzen" bei der Flüssig/Flüssig-Extraktion lipophiler Verbindungen). Zum anderen könnten anionische Verbindungen wie das LAS über Coulomb-Wechselwirkungen mit den Natriumionen eine Adsorptionsverstärkung an den Polymeradsorber erfahren, analog zu den Effekten an Mizelloberflächen und anderen Grenzflächen (sogenannter "Elektrolyteffekt", d.h. Kompression der elektrischen Doppelschicht). Ob letztgenannter Effekt für die anionischen Tenside in den hier vorliegenden, vergleichsweise geringen Konzentrationen tatsächlich eine Rolle spielt, ist allerdings sehr zweifelhaft, da bei der großen Oberfläche des Adsorbermaterials (im Experiment: über 1000 m^2) eine entsprechende räumliche Nähe der LAS-Moleküle untereinander nicht gegeben ist.

3.2.4 Säulendimensionierung und Formaldehydgehalt

Die Tensidgehalte in Flußwasser kann man als das Resultat eines dynamischen Gleichgewichtes auffassen, in dem der ständige Eintrag und der mikrobiologische Abbau zu einem stationären Zustand führen. Entnimmt man eine Probe (welche zwangsläufig

auch die entsprechenden Mikroorganismen enthält), so muß diese innerhalb einer Zeitspanne konserviert werden, in der noch kein meßbarer Abbau der Stoffe eingetreten ist. Wegen der vergleichsweise schnellen Abbauraten der Tenside (vgl. Abschnitt 2.2), ist eine Konservierung an der Probenahmestelle unumgänglich. Dazu sind physikalische Verfahren wie Sterilfiltration, Hitzesterilisation oder Tiefkühlung oder chemische Verfahren wie beispielsweise Azid- oder Formaldehydzusatz denkbar. Sterilfiltration und Hitzesterilisation könnten zu Analyt-Verlusten führen, die Tiefkühlung erfordert eine entsprechende Lagerkapazität und genügend schnelle Kühlverfahren. Von den chemischen Zusätzen bietet die Azidkonservierung zwar den Vorteil, daß sehr geringe Zusätze ausreichend sind, doch verbietet sich hier aus Sicherheitsgründen (Stickstoffwasserstoffsäure!) eine spätere Ansäuerung der Probelösung. Als günstigste Lösung wurde daher die Konservierung der Flußwasserproben mit Formaldehyd (Endkonzentration in der Probe: 0,36 vol-%) [75, 90, 91, 92, 93] gewählt. Da dieser Zusatz die Extraktionsausbeute bei der Festphasenextraktion beeinflussen könnte, mußte dies experimentell untersucht werden.

Als weitere Einflußgröße auf die Leistungsfähigkeit der Festphasenextraktion kommt die Dimensionierung des Adsorbers in Frage, die in einem Kombinationsexperiment gemeinsam mit dem Formaldehydzusatz untersucht wurde. Die Menge an Adsorbermaterial sollte sich an der Menge lipophiler, also adsorbierbarer Stoffe orientieren, die in der vorgesehenen Probenmenge enthalten sein kann. Diese läßt sich anhand der für Oberflächenwässer typischen DOC-Werte (gelöster organischer Kohlenstoff) im unteren mgL^{-1}-Bereich näherungsweise ermitteln. Da jedoch die Adsorptionskapazitäten polymerer Adsorber als exakte Daten nicht zur Verfügung stehen, ist eine rechnerische Abschätzung nicht möglich. Die Dimensionierung wurde daher an literaturbekannte Verfahren der Flußwasser-Tensidanalytik angelehnt [77, 81, 82] und empirisch abgesichert, indem zwei verschiedene Säulendimensionierungen experimentell miteinander verglichen wurden. Abb 3-5 gibt die Ergebnisse des Kombinationsexperimentes wieder. Beim Vergleich konservierter und nicht konservierter Proben läßt sich erkennen, daß kein

systematischer genereller Analyt-Verlust durch den Zusatz von Formaldehyd verursacht wird, so daß diese Konservierungsmethode gut geeignet ist.

Vergleicht man die Wiederfindungsraten der Modelltenside an 10 mm - Säulen mit denen an 20 mm - Säulen, so kann man auch bezüglich der Säulendimensionierung keinen generellen Trend feststellen (Abb. 3-5). Daraus folgt, daß unter den gegebenen Rahmenbedingungen (Probevolumen, Fließgeschwindigkeit, Zusammensetzung der Probelösung, Analytenkonzentrationen, usw.) die Verwendung einer 10 mm - Säule ausreicht, und eine größere Menge Adsorbermaterial keine vollständigere Anreicherung der Tenside ermöglicht.

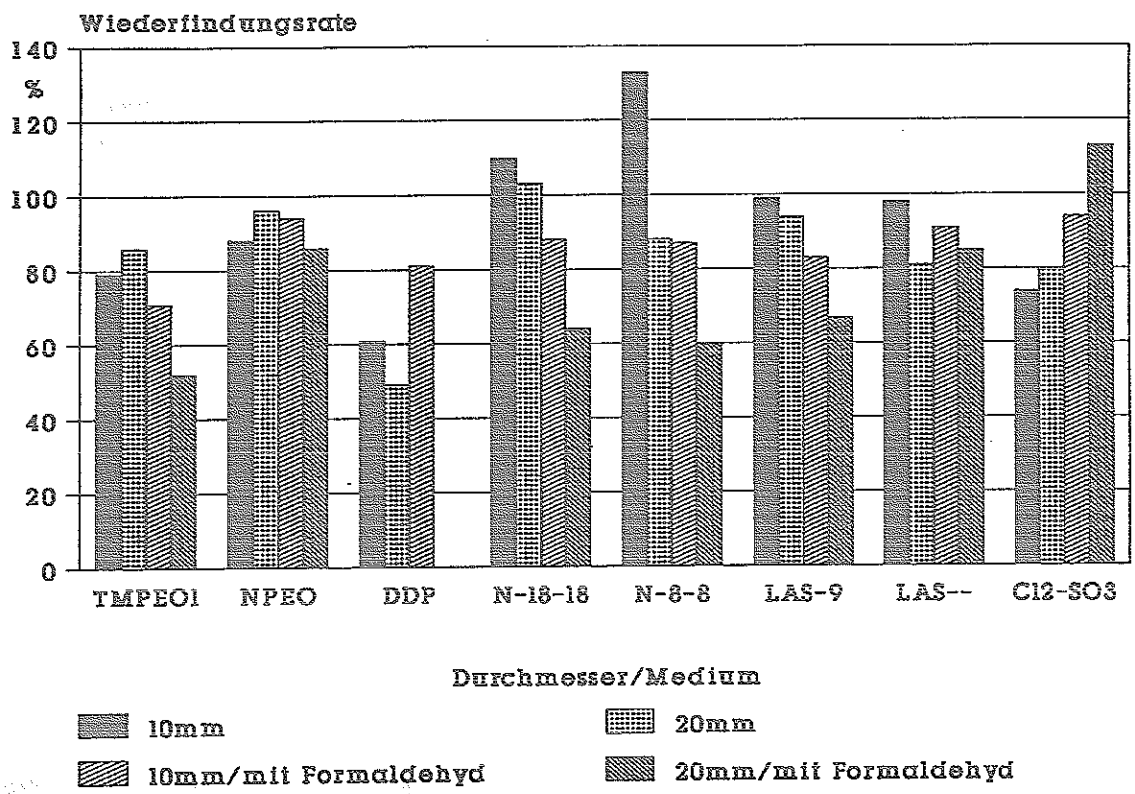


Abb. 3-5. Einfluß der Säulendimensionierung und des Formaldehydgehaltes der Probelösung auf die Wiederfindung von Modellsubstanzen. - Probe: Tensidgemisch nach Tab. 3-1 (S. 19), gelöst in 1000 mL Natriumchlorid/Citratpuffer mit bzw. ohne 0,36 vol-% Formaldehyd. Säule: 120 mm x 10 mm bzw. 20 mm i.D. XAD-2. Destillative Zweistufenelution. Einfachbestimmungen. Experimentelle Details siehe Abschnitt 5.3.2.

3.2.5 Manuelle Mehrstufenelution

Bei der Passage der Probelösung durch die Festphasensäule werden die Tenside auf der Säule adsorbiert, während zumindest ein Teil der begleitenden Matrixkomponenten (polare Verbindungen und Elektrolyte) diese passieren und damit wie gewünscht von den Analyten abgetrennt werden. Wegen der großen Bandbreite der Tenside (von den eher schlecht adsorbierenden LAS bis hin zu den kationischen Tensiden mit hoher Affinität) erscheint es kaum möglich, weitere Matrixkomponenten durch selektive Elution der Tenside von diesen abzutrennen. Ziel des nächsten Schrittes der Analysesequenz muß es sein, alle drei Tensidklassen so vollständig wie möglich von der Säule zu eluieren.

Tab. 3-2. Wiederfindung von Modellsubstanzen bei manueller Mehrstufenelution. - Probe: Tensidgemisch nach Tab. 3-1 (S. 19), direkt auf den Säulenkopf dotiert. Säule: 120 mm x 10 mm i.D. XAD-2. Manuelle Mehrstufenelution. Einfachbestimmungen. Experimentelle Details siehe Abschnitt 5.3.2.

Substanz	% Wiederfindung
NPEO	94
N-18-18	100
N-12-12	92
LAS-Σ	98

In der Literatur wird die Elution der Tenside von dem hydrophoben Styrol-Divinylbenzol-Copolymer-Harz je nach Stoffklasse durch ein oder mehrere in Sequenz aufeinanderfolgende Lösemittel erreicht. So beschreiben Jones und Nickless [82] die vollständige Elution von Fettalkoholethoxylaten mit Aceton. Für die gleiche Stoffklasse verwenden Schmitt et al. [81] erst einen Spülschritt mit Petrolether und dann anschließend eine dreistufige Elutionssequenz mit

Diethylether, Diethylether/Methanol und Methanol. Die Elution der LAS gelingt Osburn [77] im Anschluß an einen Spülschritt mit Diethylether durch eine mehrstufige Sequenz mit Methanol, Methanol/Natronlauge, Methanol, Methanol/Chloroform/Salzsäure und wieder Methanol.

Mit der Zielsetzung, alle Tensidklassen möglichst vollständig zu eluieren, wurden in Anlehnung an die zitierten Arbeiten verschiedene mehrstufige Elutionssequenzen untersucht. Um bei diesen Experimenten Verluste durch mögliche Adsorptionen im Rundkolbenaufsatz der Apparatur zu vermeiden, wurde das Modell-Tensid-Gemisch auf den Säulenkopf der Adsorbersäule dotiert und 1000 mL Natriumchlorid-/Salzsäure-/Formaldehydlösung (10 gL^{-1} / pH 3 / 0,36 vol-%) durch die Säule gespült. Bei der anschließenden Elution stellte sich heraus, daß die Kombination von Methanol und Ethylacetat als Elutionsmittel die besten Ergebnisse liefert. Tab. 3-2 zeigt die Wiederfindungsraten der Modelltenside in diesem Experiment.

3.2.6 Destillative Zweistufenelution

Für Elutionsmittel, die nur aus einer Komponente bestehen und Lösemittelkombinationen, die azeotrope Gemische bilden, bietet es sich an, eine automatisch arbeitende Apparatur zur Elution zu verwenden, bei der das Eluat am Sieden gehalten wird und das Elutionsmittel zur zyklischen Verwendung überdestilliert. Im Vergleich zur manuellen Mehrstufenelution ist das automatische Verfahren weniger zeitaufwendig, weil das Justieren der Fließgeschwindigkeit entfällt. Da während einer Destillationszeit von beispielsweise zwei Stunden bereits vergleichsweise große Mengen Elutionsmittel (im Experiment: etwa 200 mL) durch die Adsorbersäule transportiert werden, sind höhere Extraktionsausbeuten als bei der manuellen Mehrstufenelution (typisches Fraktionsvolumen: 50 mL) zu erwarten. Außerdem ist die Destillationsdauer im Gegensatz zur Fließgeschwindigkeit leicht reproduzierbar, so daß ein weiterer potentieller Störfaktor entfällt. Als günstigste technische Umsetzung bietet sich eine Fließrichtung des Elutionsmittels entgegen der Schwerkraft an, so daß vorhandene Lufteinschlüsse nach oben aus

dem Säulenbett gedrückt werden. Abb. 3-6 zeigt die entsprechende Apparatur.

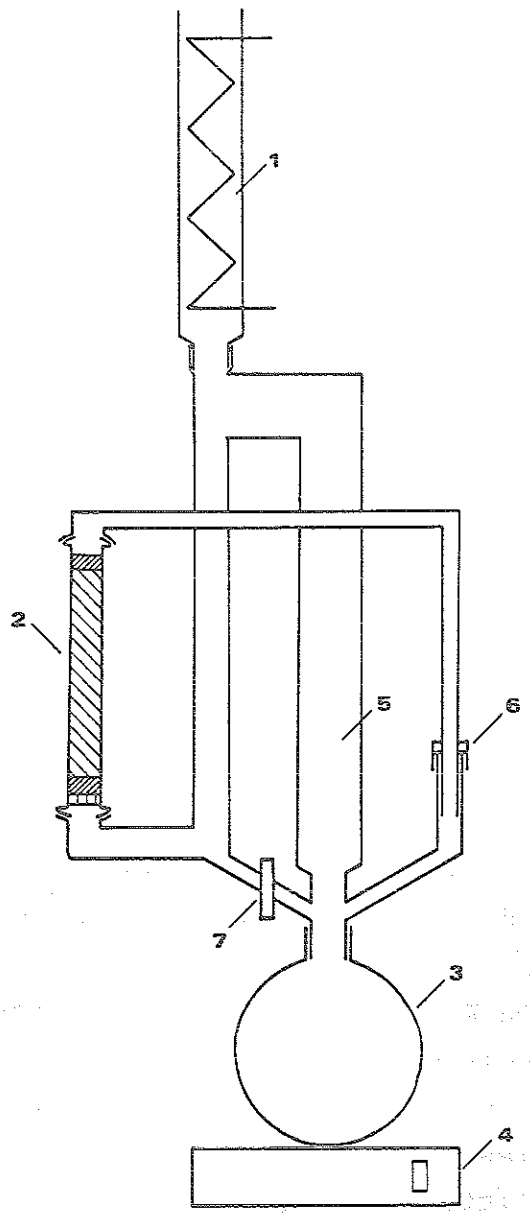


Abb. 3-6. Apparatur zur destillativen Elution von Tensiden von XAD-Säulen. - 1 Rückflußkühler; 2 Adsorbersäule; 3 Rundkolben; 4 Heizgerät; 5 Elutionsaufsatz; 6 Verschraubung; 7 Dreiwegehahn.

Die Übertragung auf das zweistufige Verfahren mit Methanol und Ethylacetat/Methanol als Elutionsmittel gelang, indem zuerst mit Methanol und anschließend durch Zugabe einer ausreichenden Menge Ethylacetat mit dem Azeotrop Ethylacetat/Methanol destillativ eluiert wurde. Im Dampf (und damit im Elutionsmittel) stellt sich eine Zusammensetzung von 56 zu 44 Volumenteilen ein [94]. Tab. 3-3 zeigt die Wiederfindung von Modelltensiden bei der Anreicherung aus wäßriger Lösung unter Verwendung der destillativen Zweistufenelution.

Tab. 3-3. Wiederfindung von Modellsubstanzen bei der Festphasenextraktion mit anschließender destillativer Zweistufenelution. - Probe: Tensidgemisch nach Tab. 3-1 (S. 19), gelöst in 1000 mL Natriumchlorid/Formaldehyd/Citratpuffer. Säule: 120 mm x 10 mm i.D. XAD-4. Destillative Zweistufenelution: Methanol, 2 h; Ethylacetat/Methanol (Azeotrop) 2 h. Einfachbestimmungen. Experimentelle Details siehe Abschnitt 5.3.2.

Substanz	% Wiederfindung
TMP(EO)1	79
NPEO	88
DDP	61
N-18-18	110
N-8-8	133
LAS-9	99
LAS-Σ	98
LAS-15	--[a]
C12-SO3	74

[a] nicht bestimmbar wegen chromatographischer Störungen.

Es wird deutlich, daß mit diesem Verfahren alle Tensidklassen

zufriedenstellend an der Festphasensäule adsorbiert und anschließend wieder eluiert werden können.

In dem hier vorgestellten Verfahren der Festphasenextraktion sind folgende Arbeitsschritte enthalten, bei denen eine thermische Zersetzung, eine Verdampfung oder ein Verlust durch Adsorption einzelner Analyten denkbar sind:

1. die destillative Elution (bei Siedetemperatur der Elutionsmittel, d.h. 65 °C für Methanol bzw. 62 °C für das Azeotrop),
2. die Vakuumverdampfung der Lösemittel nach der Elution (bei 40 °C und Wasserstrahlvakuum),
3. das Auflösen des Extraktes von der Kolbenwandung und das anschließende Abblasen des Lösemittels mit Inertgas (bei 40 °C).

Für die Bewertung der Leistungsfähigkeit des Anreicherungsverfahrens, die Festlegung des Anwendungsbereiches sowie zur Auswahl geeigneter interner Standardsubstanzen stellt sich die Frage, welche Substanzen bzw. Substanzgruppen bei den aufgeführten Prozessen Verluste erleiden. Zu diesem Zweck wurde das Modell-Tensid-Gemisch zu verschiedenen Zeitpunkten, d.h. jeweils unmittelbar vor den genannten Prozeßschritten dotiert und weiter aufgearbeitet. Tab. 3-4 zeigt die Ergebnisse dieses Versuches.

Von den untersuchten Modelltensiden durchlaufen NPEO, N-18-18, LAS-Σ und C12-SO3 alle Prozeßschritte ohne signifikante Verluste. Nur der "Esterquat" N-E-18-Σ geht bereits bei Schritt 3 (Aufnehmen und Abblasen) vollständig verloren und ist folglich auch zu früheren Dotierungszeitpunkten nicht wiederzufinden. Sehr wahrscheinlich ist dieser Verlust auf eine hydrolytische Spaltung der Esterfunktionen im Molekül zurückzuführen. Diese Labilität des Stoffes ist seitens der Hersteller sicher beabsichtigt, da diese Stoffe eine (besser abbaubare) Alternative zu den nur mäßig abbaubaren Alkylammoniumverbindungen darstellen sollen (vgl. Ausführungen in Abschnitt 2.2). Die Instabilität dieser Substanzklasse zeigte sich auch bei der Synthese und spiegelt sich in der nur kurzfristigen Haltbarkeit methanolischer Stammlösungen wider. Es ist daher nicht möglich, diese Stoffklasse mit diesem Verfahren zu analysieren.

Tab. 3-4. Wiederfindung von Modellsubstanzen bei den Destillations- und Verdampfungsschritten der Anreicherungssequenz. - Probe: Tensidgemisch nach Tab. 3-1 (S. 19), direkt dotiert, jeweils unmittelbar vor den angegebenen Prozeßschritten. Säule: 120 mm x 10 mm i.D., ohne Adsorbermaterial. 1 Destillative Zweistufenelution; 2 Vakuumverdampfung des Lösemittels; 3 Aufnehmen und Abblasen. Mittelwerte und Standardabweichungen aus drei Messungen. Experimentelle Details siehe Abschnitt 5.3.2.

Substanz	% Wiederfindung		
Schritte	1 + 2 + 3	2 + 3	3
Nichtionische Tenside			
TMP	67 ± 5	43 ± 17	57 ± 13
TMP(EO)1	79 ± 2	71 ± 14	82 ± 4
NPEO	97 ± 8	93 ± 10	101 ± 2
DDP	98 ± 8	87 ± 13	105 ± 2
Kationische Tenside			
N-18-18	93 ± 4	102 ± 1	100 ± 6
N-12-12	87 ± 7	101 ± 1	95 ± 6
N-8-8	92 ± 3	100 ± 1	101 ± 6
N-E-18-Σ	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Anionische Tenside			
LAS-9	97 ± 2	96 ± 4	100 ± 3
LAS-Σ	101 ± 1	94 ± 6	101 ± 1
LAS-15	100 ± 1	80 ± 7	81 ± 21
C12-SO3	101 ± 6	102 ± 5	107 ± 1

Von den untersuchten möglichen internen Standardsubstanzen zeigten sich DDP, N-12-12, N-8-8, LAS-9 und LAS-15 ausreichend stabil. Lediglich TMP und TMP(EO)1 gehen teilweise verloren. Die Meßdaten weisen darauf hin, daß hauptsächlich Schritt 3

diese Verluste verursacht. Aufgrund der stabilen chemischen Struktur dieser Phenolderivate kann davon ausgegangen werden, daß eine partielle Verdampfung dieser Stoffe dafür verantwortlich ist. Die bekannte Flüchtigkeit und Wasserdampfflüchtigkeit kurzkettiger Phenolderivate [95] unterstützt diese Annahme. Zur Verwendung als interne Standards scheiden diese Substanzen daher aus.

3.3 Extraktion von Tensiden aus Schwebstoffen

Dampft man die komplette Flußwasserprobe ein und arbeitet dann den Rückstand weiter auf, so ermittelt man den Gesamtgehalt an Tensiden [73]. Dabei geht allerdings die Information über die Verteilung der Substanzen zwischen Schwebstoff und Lösung verloren, die bei ökotoxikologischen Betrachtungen von Bedeutung sein kann (siehe Abschnitt 2.3). Außerdem könnten thermolabile Stoffe, sofern nicht Vakuumverfahren angewendet werden, während des drastischen Verdampfungsprozesses (mehrere Stunden 100 °C) abgebaut werden.

Die in der Flußwasserprobe enthaltenen Schwebstoffe lassen sich von der Flußwasserlösung unter schonenden Bedingungen abtrennen, indem man die Wasserprobe filtriert oder zentrifugiert. Letzteres ist bei den großen Probenvolumina aber zu aufwendig, daher wurde die Filtration angewendet. Dabei muß dann allerdings in Kauf genommen werden, daß durch das Einbringen einer neuen "Grenzfläche" (Flußwasser/Filter) ein Teil der gelösten Tenside, besonders die schlechter wasserlöslichen Verbindungen, welche in der Regel eine höhere Grenzflächenaktivität besitzen, an die Filteroberfläche adsorbiert werden könnte. Aus diesem Grund wurde die vergleichsweise polare, aber lösemittelresistente regenerierte Cellulose als Filtermaterial verwendet, so daß solche hydrophoben Wechselwirkungen möglichst vermieden werden.

Tenside, die an kleinste Partikel gebunden durch den Filter laufen, werden in der Lösung zumindest teilweise analytisch miterfaßt und gehen der Analyse des Filterrückstands verloren. Um dennoch eine Vergleichbarkeit der Analysendaten mit Literaturdaten gewährleisten zu können, ist es notwendig,

gleiche Porenweiten des Filters zu verwenden. Dafür wurde ein Wert von 0,45 µm ausgewählt, der sich an den in der Wasseranalytik üblichen Werten orientiert [33, 78, 88, 96].

Will man nun die abfiltrierten, schwebstoffgebundenen Tenside analytisch bestimmen, so muß man sie zuerst möglichst vollständig von der Feststoffmatrix entfernen und in Lösung bringen, um sie dann weiter anreichern und schließlich quantifizieren zu können. Dazu kommen mehrere Verfahren in Betracht. Sehr verbreitet ist die Extraktion feststoffgebundener Tenside mit organischen Lösemitteln [97]. Meist werden Methanol [73, 84, 91, 92, 98, 99], Methanol/Salzsäure [73, 100, 101] oder Methanol/Natronlauge [102] verwendet. Unpolarere Lösemittel wie Chloroform/Methanol, Dichlormethan oder n-Hexan kommen zum Einsatz, wenn nichtionische Tenside mit niedrigem Ethoxylierungsgrad oder kationische Tenside erfaßt werden sollen [14, 50, 103, 104]. Das Herauslösen von LAS gelingt auch durch Extraktion mit überkritischen Flüssigkeiten (SFE), allerdings nur unter Verwendung polarer oder ionenpaarbildender Zusätze [61, 63]. Ein anderes Prinzip verfolgen Hellmann [105] und Klotz [100], die das kationische N-18-18 aus Bodenproben durch ein Aufschlußverfahren mit Flußsäure aus der Matrix herauslösen. Die Verwendung von Aufschlußverfahren könnte aber bei anderen Substanzklassen zu Zersetzungsprozessen führen.

Für die gegebene Aufgabenstellung, möglichst alle Tensidklassen mit einem einzigen Verfahren aus dem Rückstand der Flußwasserfiltration zu extrahieren, scheint die Extraktion mit überkritischen Flüssigkeiten (SFE) trotz einiger Vorteile (geringe Betriebskosten, keine Lösemittelabtrennung erforderlich) wenig erfolgversprechend. Aufgrund der unterschiedlichen Polaritäten der Tensidklassen sind vermutlich verschiedene Elutionsmittelzusammensetzungen notwendig, so daß ein hoher Entwicklungsaufwand entsteht. Außerdem ist es wegen der geringen Menge an Schwebstoff, die zudem im Filter eingebunden ist, schwierig, diese dicht gepackt in eine Extraktionshülse zu bringen, was für eine hohe Extraktionsausbeute erforderlich ist.

Als sinnvollster, technisch einfach durchzuführender Ansatz wurde die Lösemittelextraktion ausgewählt. Die praktische Umsetzung wurde auch hier über eine zyklische

destillative Verwendung des Lösemittels mit den entsprechenden Vorteilen (siehe Abschnitt 3.2.6) realisiert. Um eine möglichst hohe Extraktionsausbeute zu erreichen, wurde nicht das verbreitete Soxleth-Verfahren angewendet [33, 84, 102, 106], sondern bei Siedetemperatur des Lösemittels gearbeitet. Abb. 3-7 zeigt die Apparatur zur Heißextraktion des Filterrückstandes.

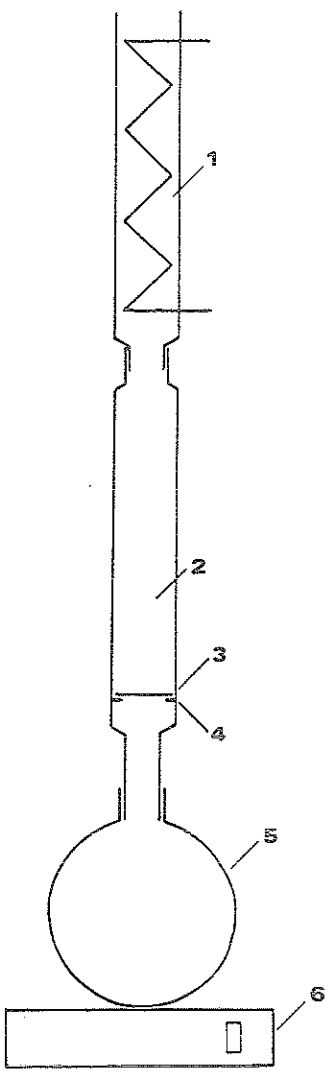


Abb. 3-7. Apparatur zur destillativen Heißextraktion von Tensiden aus Flußwasser-Filterrückständen. - 1 Rückflußkühler; 2 Extraktor; 3 Filter mit Rückstand; 4 Glaseinbuchtungen; 5 Vorlagekolben; 6 Heizgerät.

Die Heißextraktion und als Alternative dazu eine Extraktion durch Kochen (und anschließendes Abfiltrieren) des Filters mit den Extraktionsmitteln Methanol oder Methanol/Salzsäure wurden auf ihre Leistungsfähigkeit hin untersucht. Vergleicht man in Abb. 3-8 die Wiederfindungsraten der Modelltenside bei der Heißextraktion mit denen beim Kochen, so kann man keinen generellen Unterschied feststellen. Da bei der Heißextraktion kein zusätzlicher, zeitaufwendiger Filtrationsschritt notwendig ist, scheint diese Variante günstiger. Stellt man die Wiederfindungsraten der Modelltenside mit und ohne Salzsäurezusatz zum Methanol gegenüber, so läßt sich erkennen, daß der Säurezusatz bei fast allen Stoffen zu besseren Werten führt. Einzige Ausnahme bildet DDP, das bei keiner der Varianten zufriedenstellende Werte erreicht. Ob aber auch die hydrolyseempfindlichen Alkylsulfate und Esterquats diesen Arbeitsschritt ohne Verluste überstehen, ist fraglich. Entsprechende Experimente müßten diese Fragen aufklären.

Als Ergebnis läßt sich festhalten, daß das Nonylphenolethoxylat, die Alkylammoniumverbindungen und die linearen Alkylbenzolsulfonate durch Heißextraktion mit methanolischer Salzsäure im Wertebereich 60% bis 110% Wiederfindungsrate extrahiert werden können. Die interne Standardsubstanz DDP fiel hier mit 26% Wiederfindungsrate allerdings deutlich aus dem Rahmen.

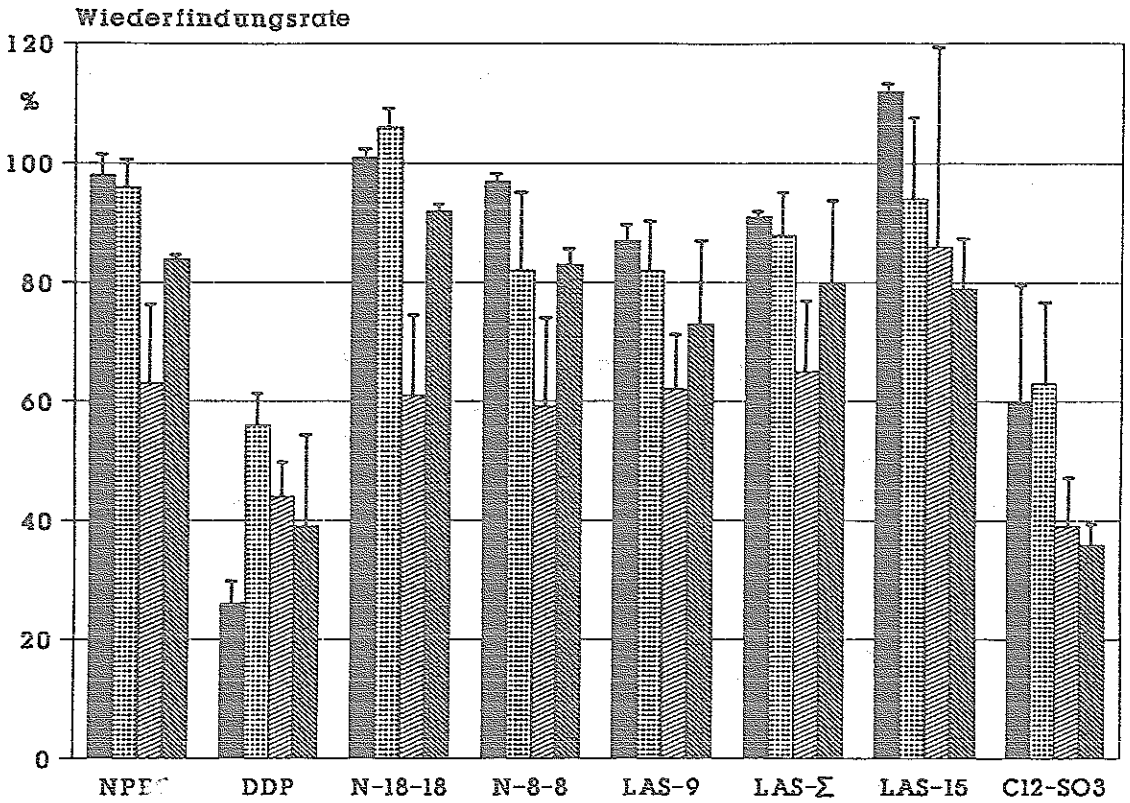


Abb. 3-8. Vergleich der Leistungsfähigkeit verschiedener Lösemittel und Verfahren bei der Extraktion feststoffgebundener Tenside. - Probe: Tensidgemisch nach Tab. 3-1 (S. 19), direkt auf die Filter dotiert. Wartezeit nach Dotierung: 1 h. Extraktionsmittel und Extraktionsverfahren: ▒ Salzsäure/Methanol & Heißextraktion; ▒ Salzsäure/Methanol & Kochen; ▒ Methanol & Heißextraktion; ▒ Methanol & Kochen. Extraktionsdauer: 4 h. Mittelwert und Standardabweichung aus 2 Messungen bzw. 4 Messungen (▒). Experimentelle Details siehe Abschnitt 5.3.3.

3.4 Trennung in die einzelnen Tensidklassen

3.4.1 Vorbemerkungen

Das Ziel eines weiteren Verfahrensschrittes im Anschluß an die Festphasenextraktion bzw. die Heißextraktion ist es, die Analyten weiter anzureichern und dabei gleichzeitig die noch vorhandenen störenden Begleitstoffe weitgehend zu entfernen. Außerdem hat dieser Schritt die Aufgabe, die Tensidklassen voneinander zu trennen und somit den verschiedenen HPLC-Verfahren zugänglich zu machen, denn wegen der großen Bandbreite der Tenside ist es nicht möglich, diese gemeinsam aus einer Lösung chromatographisch zu bestimmen.

Als leistungsfähiges Werkzeug werden in der Umweltanalytik zum Zweck der Isolierung einzelner Stoffgruppen aus einer komplexen Matrix in der Regel chromatographische Methoden herangezogen. Diese nutzen spezifische Unterschiede (z.B. die Polarität oder Molekülgröße) zwischen den zu trennenden Komponenten aus. Unterscheiden sich Analyten und Matrixkomponenten auch bezüglich der Ladung, so können auch Ionenaustauscher oder elektrophoretische Techniken verwendet werden. Auch Kombinationen mehrerer Verfahren sind üblich.

Literaturbekannte Verfahren der Tensidanalytik in Umweltproben sind meist auf die Anreicherung einer einzigen Stoffklasse ausgerichtet [97]. Bei der Zielsetzung, möglichst alle Tensidklassen aus einer einzigen Probe simultan anzureichern und zu quantifizieren, müssen die einzelnen Methoden derart miteinander kombiniert werden, daß die Tenside aus einer Probe schließlich in einer Art "Trennungsgang" den jeweiligen Endbestimmungsverfahren (z.B. HPLC) zugeführt werden können. Frahne berichtet in diesem Zusammenhang über eine Kombination von Elektrophorese und Dünnschichtchromatographie [107]. Weniger aufwendig sind Kombinationen von Ionentauschern und Chromatographiesäulen und geeigneten Lösemittelsequenzen, wie sie von Neufarth et al. [89] sowie Buschmann und Kruse [108] und anderen Autoren beschrieben wurde [109, 110]. Hellmann [98] trennt analytische Mengen kationischer und anionischer Tenside an Säulen aus neutralem Aluminiumoxid. Dabei werden die beiden Substanzklassen mit vergleichsweise geringem Zeit- und

Materialaufwand an nur einer Chromatographiesäule sowohl voneinander getrennt als auch von den sie begleitenden Störstoffen aus der Flußwassermatrix abgetrennt. Basierend auf diesem Prinzip sollte ein Verfahren möglich sein, bei dem auch die nichtionischen Tenside isoliert werden können, und so der gewünschte Trennungsgang erhalten wird. Die experimentellen Untersuchungen wurden ebenso wie bei der Evaluierung der Festphasenextraktion durch Dotierung mit einer Modell-Tensidmischung und anschließender Aufarbeitung durchgeführt (Dotierungsmengen für die Versuche in den Abschnitten 3.4.2 und 3.4.3 siehe Tab. 3-1, S. 19). Die Esterquats konnten wegen der Labilität dieser Verbindungsklasse nicht bestimmt werden, da vor der HPLC-Quantifizierung ein Abblasschritt zum Konzentrieren notwendig ist (vgl. Abschnitt 5.2.1).

3.4.2 Elutionsmittel und Säulenmaterial

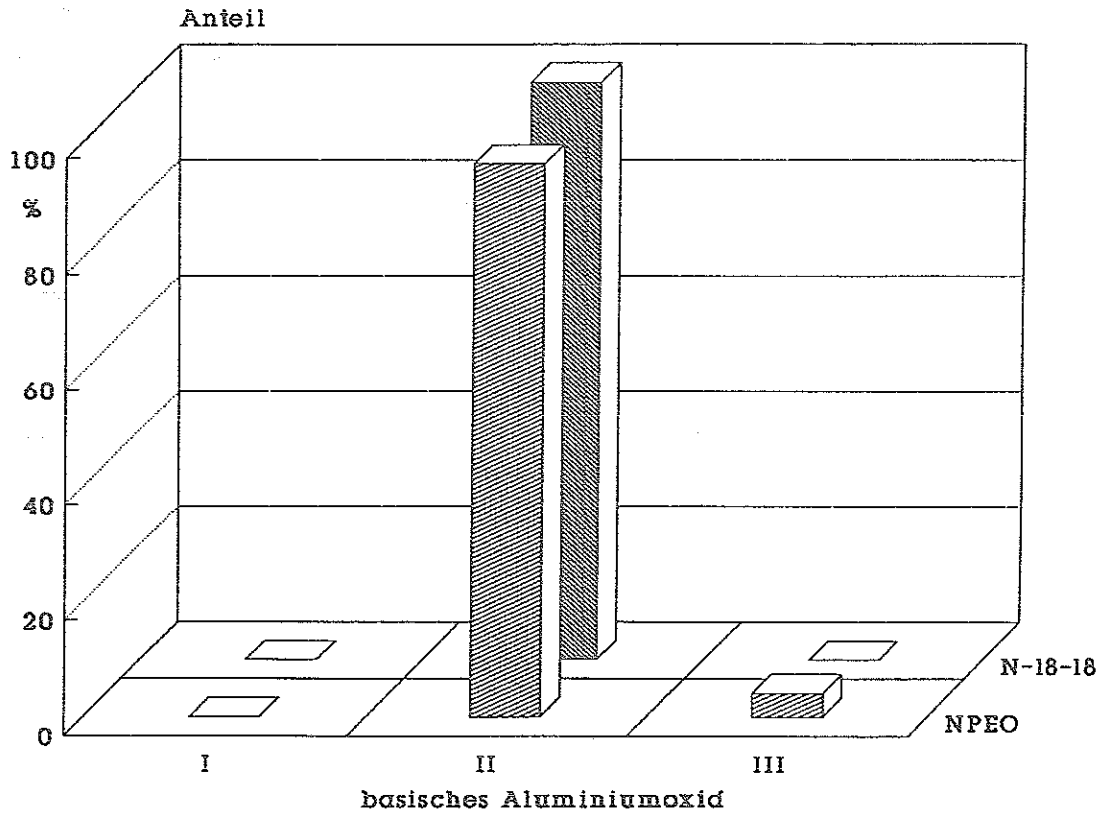
Hellmann [98] eluiert Begleitstoffe und Tenside von neutralem Aluminiumoxid mit Chloroform (Alkane), Chloroform/Methanol 95/5 ("gelbe Störstoffe"), Chloroform/Methanol 5/1 (kationische Tenside) und Methanol/2M Salzsäure 3/1 (nichtionische Tenside). An diesem Material und mit vergleichbaren Lösemittelsequenzen wurde die Modell-Tensidmischung hinsichtlich der Verteilung der Komponenten auf die einzelnen Fraktionen untersucht. Dabei stellte sich heraus, daß das Hauptproblem in der Trennung der nichtionischen von den kationischen Tensiden liegt. Die Elution der anionischen Tenside, die von allen Tensidklassen die "stärkste" Affinität zum Aluminiumoxid aufweisen, erfolgt mit der letzten Fraktion. Es zeigte sich, daß die von Hellmann vorgeschlagene Lösemittelkombination Methanol/2M Salzsäure 3/1 für die vollständige Elution der anionischen Tenside gut geeignet ist.

Verschiedene Elutionsmittel (Dichlormethan, 1.2-Dichlorethan, Ethylacetat) wurden getestet, um eine selektive Elution der nichtionischen Tenside oder kationischen Tenside jeweils vor der anderen Tensidklasse zu erreichen - jedoch ohne Erfolg. Es gelang lediglich, kleinere Anteile (weniger als 10%) des NPEO (Modell-Tensid für die nichtionischen Tenside) selektiv

vor dem N-18-18 (Modell-Substanz der kationischen Tenside) zu eluieren. Um die gewünschte Trennung zu ermöglichen, boten sich verschiedene Lösungsstrategien an: Zusätzlich zu der Aluminiumoxidsäule könnte eine zweite Chromatographiesäule verwendet werden; sinnvoll wäre z.B. ein Kationentauscher. Will man aber diesen zusätzlichen Arbeits- und Materialaufwand vermeiden, so könnte auch ein Zusatz unpolarer Anionen als Ionenpaarbildner für die kationischen Tenside diese auf der Säule zurückhalten. Dies ließ sich im Experiment mit Natrium-tetraphenylborat nicht wirksam umsetzen, denn die Löslichkeit dieses Stoffes in den benutzten Lösemitteln war zu gering, um die erhofften Effekte zu verursachen. Als weitere Möglichkeit bot sich der Einsatz eines anderen Chromatographiematerials an. Es ist naheliegend, daß ein geeignetes Material die positive Ladung der kationischen Tenside zur Abtrennung von den nichtionischen Tensiden ausnutzen sollte. Daher wurde anstelle des neutralen Aluminiumoxids basisches Aluminiumoxid, ebenfalls mit entsprechenden Lösemittelsequenzen, auf die Verteilung der Komponenten der Modell-Tensidmischung hin untersucht. Abb. 3-9 zeigt die Verteilungsmuster der Modellsubstanzen NPEO und N-18-18 bei der Trennung an basischem Aluminiumoxid. In dieser Versuchsreihe wurden verschiedene Elutionsmittel für die Fraktion "Nichtionische Tenside" verwendet. Zum Vergleich ist auch ein entsprechendes Verteilungsmuster an neutralem Aluminiumoxid dargestellt.

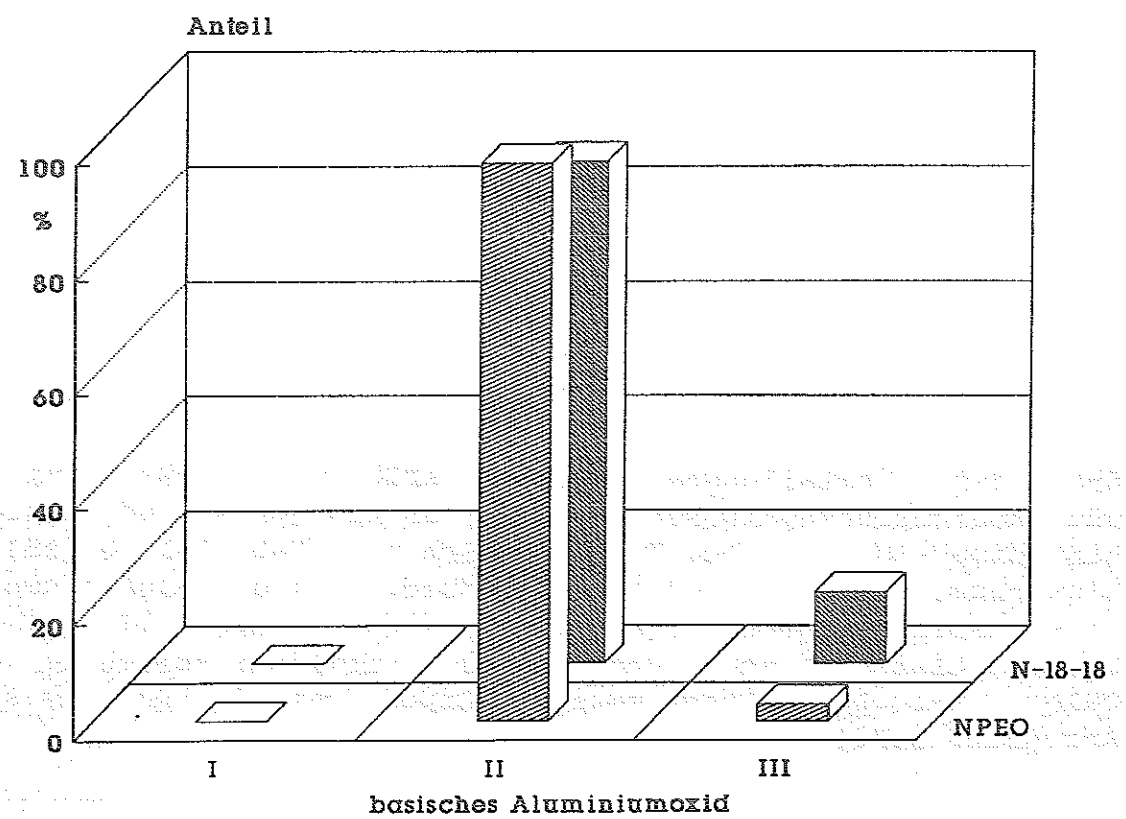
Abb. 3-9. Verteilungsmuster von NPEO und N-18-18 bei der säulenchromatographischen Trennung an basischem und neutralem Aluminiumoxid. - Probe: Tensidgemisch nach Tab. 3-1 (S. 19), in Elutionsmittel I dotiert. Säule: 1 g Aluminiumoxid. Elutionsmittelsequenz (je 5 mL): I Chloroform; II variabel; III 40 vol-% Methanol und 10 vol-% Trifluoressigsäure - in Chloroform. Einfachbestimmungen. Experimentelle Details siehe Abschnitt 5.3.4.

Abb. 3-9 a)



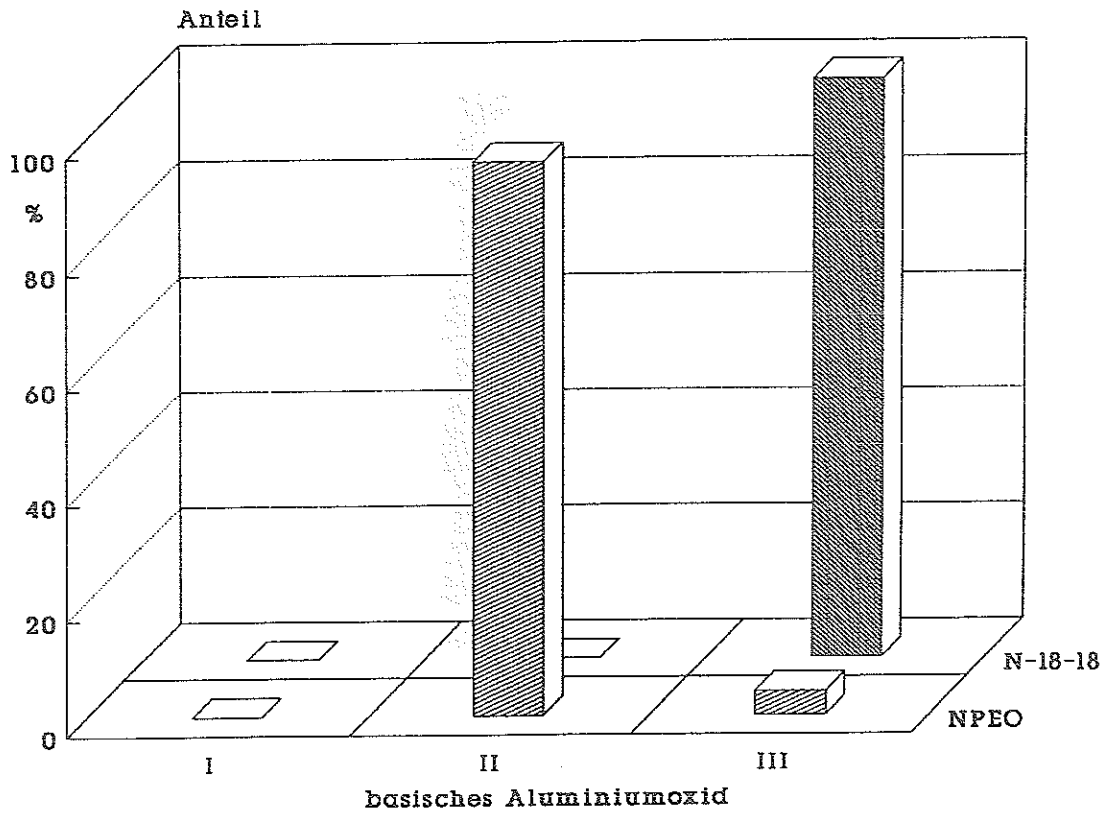
II = 20 vol-% Methanol in Chloroform

Abb. 3-9 b)



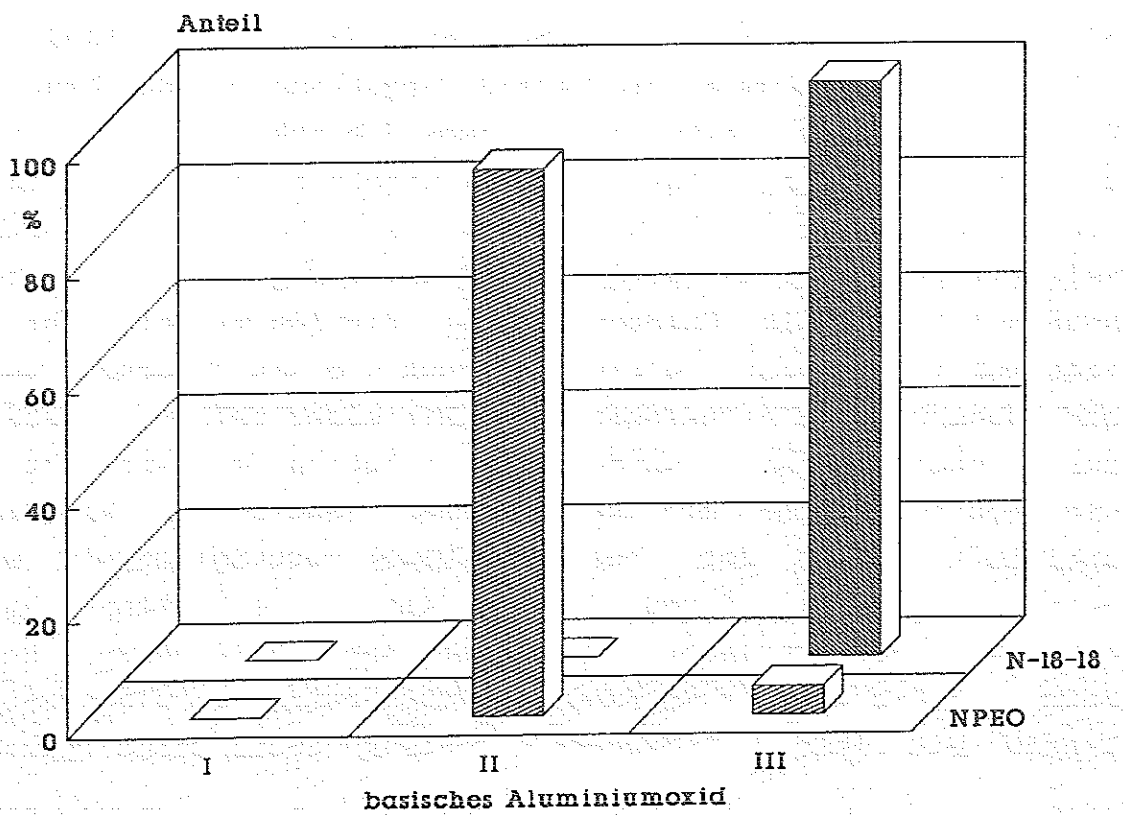
II = 10 vol-% Methanol in Chloroform

Abb. 3-9 c)



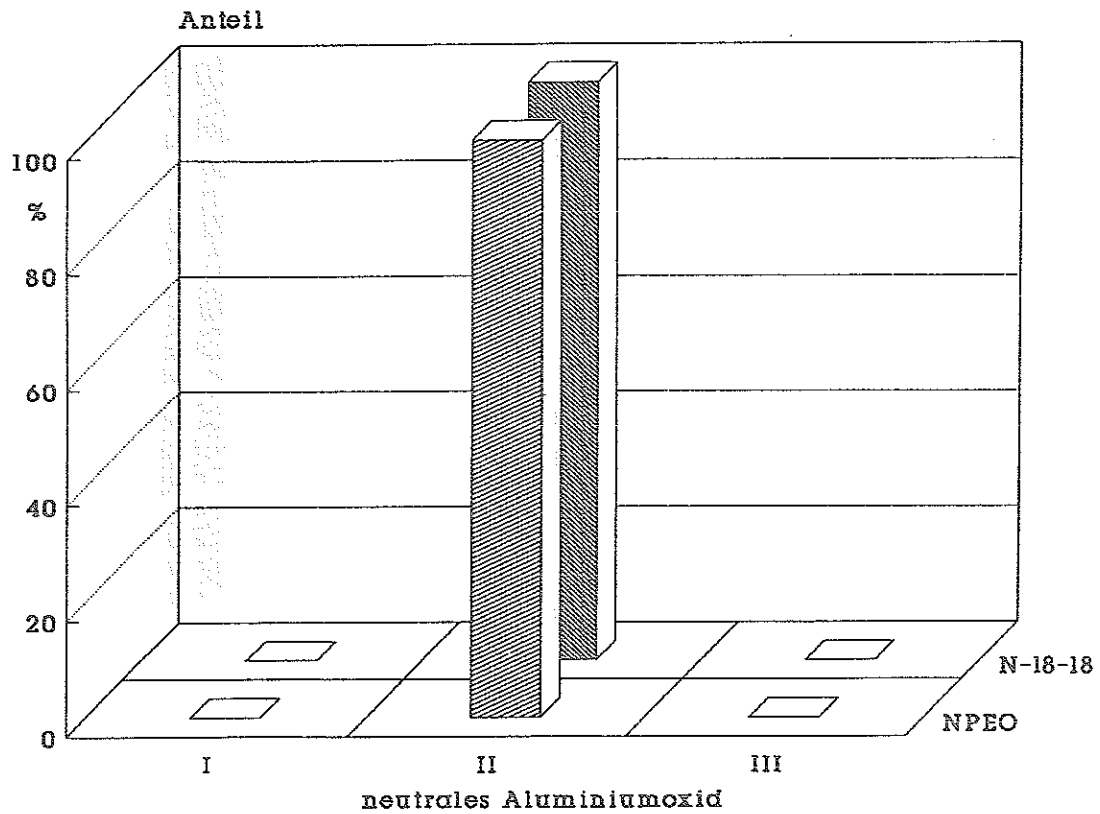
II = 5 vol-% Methanol in Chloroform

Abb. 3-9 d)



II = 5 vol-% Methanol in Ethylacetat

Abb. 3-9 e)

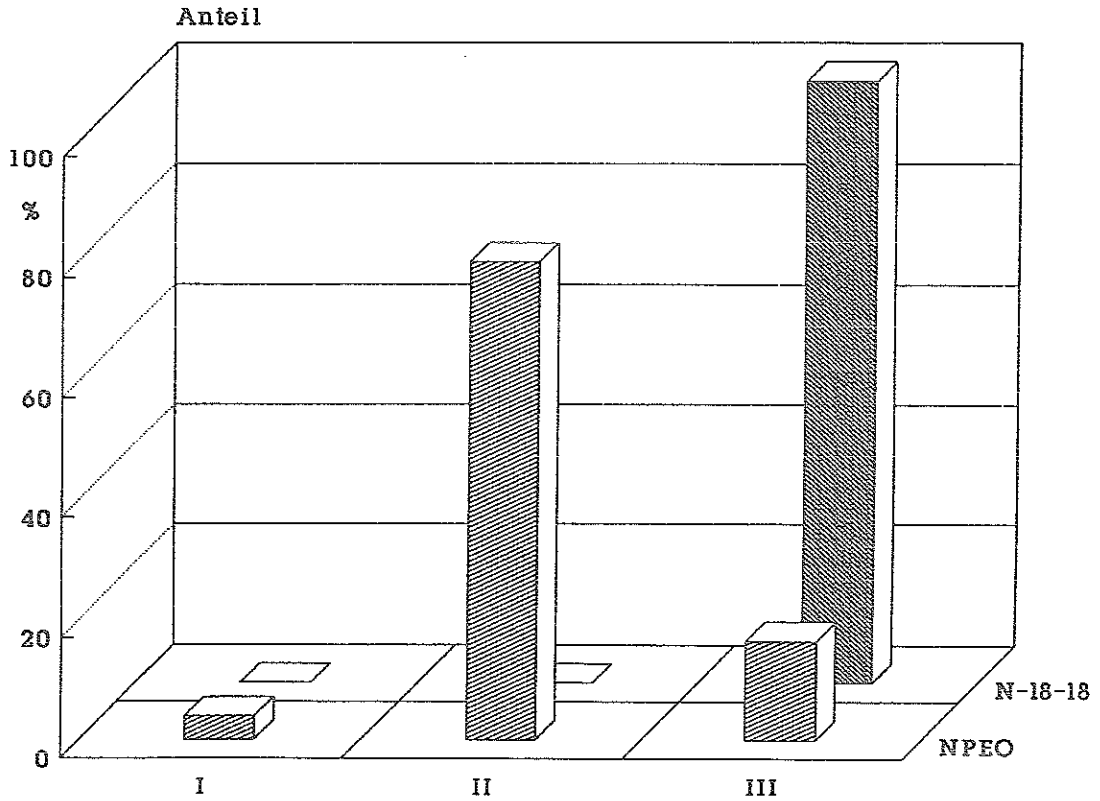


Es zeigte sich, daß NPEO mit 5 vol-% Methanol in Chloroform oder 5 vol-% Methanol in Ethylacetat nahezu vollständig von N-18-18 an basischem Aluminiumoxid abgetrennt werden kann. Der Vergleich mit neutralem Aluminiumoxid bestätigt die Annahme, daß die kationischen Stoffe durch ionische Wechselwirkungen mit den negativen Oberflächenladungen des basischen Adsorbers selektiv festgehalten werden. Wird allerdings durch zu hohen Methanol-Anteil im Chloroform das Elutionsmittel für die Fraktion II zu polar, so eluieren auch die kationischen Tenside gemeinsam mit den nichtionischen. Mit einer feineren Abstufung der Lösemittelstärke wurden die "Elutionsfenster" für die nichtionischen und die kationischen Tenside im Experiment optimiert. Wegen der besseren Umweltverträglichkeit wurde anstelle des Chloroforms das zu diesem Zweck offensichtlich gleichwertige Ethylacetat verwendet. Abb. 3-10 zeigt, daß im Bereich 2 bis 6 vol-% Methanol in Ethylacetat das nichtionische Tensid mit leicht steigender Tendenz ausreichend eluiert,

während das kationische Tensid ab 8 vol-% Methanolanteil "durchbricht". Als günstigster Arbeitspunkt wurde daher ein Elutionsmittel der Zusammensetzung 6 vol-% Methanol in Ethylacetat ausgewählt, welches das NPEO ausreichend eluieren kann und die kationischen Tenside auf der Säule gerade noch zurückläßt.

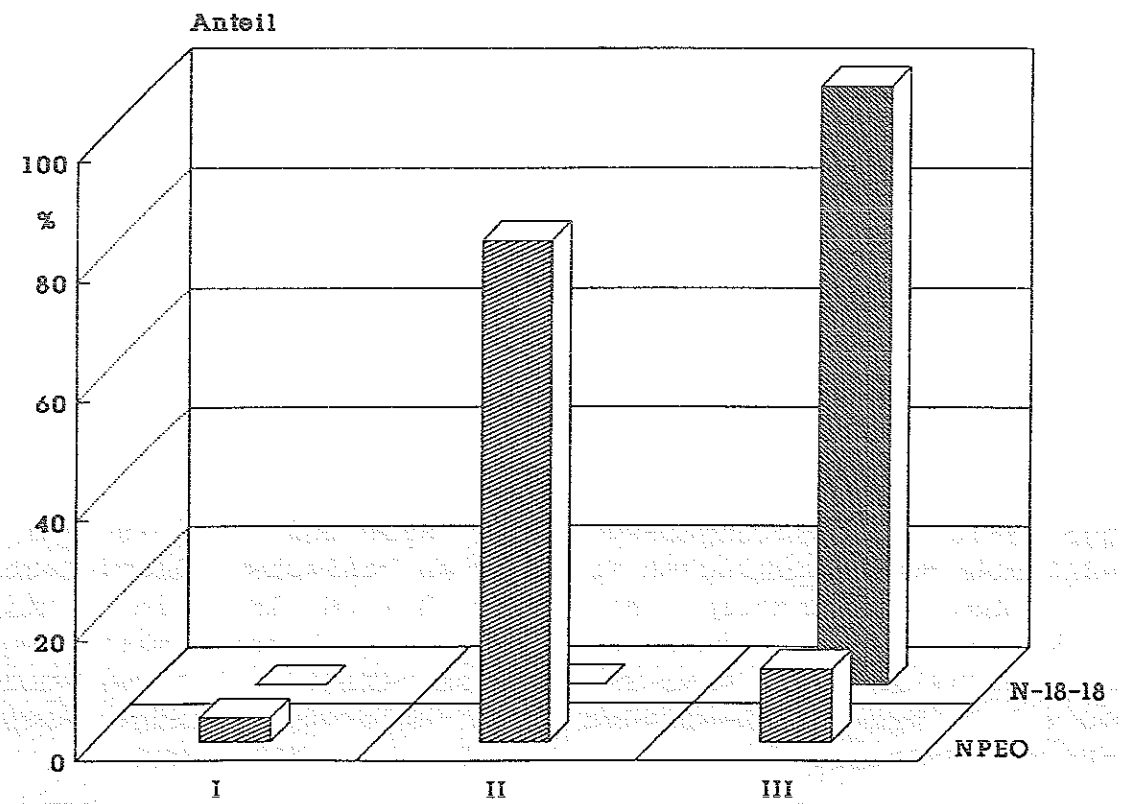
Abb. 3-10. Verteilungsmuster von NPEO und N-18-18 bei der säulenchromatographischen Trennung an basischem Aluminiumoxid. - Probe: Tensidgemisch nach Tab. 3-1 (S. 19), in Elutionsmittel I dotiert. Säulenfüllmenge: 1 g. Elutionsmittelsequenz (je 5 mL): I Chloroform; II variabel; III 40 vol-% Methanol und 10 vol-% Trifluoressigsäure - in Chloroform. Einfachbestimmungen. Experimentelle Details siehe Abschnitt 5.3.4.

Abb. 3-10 a)



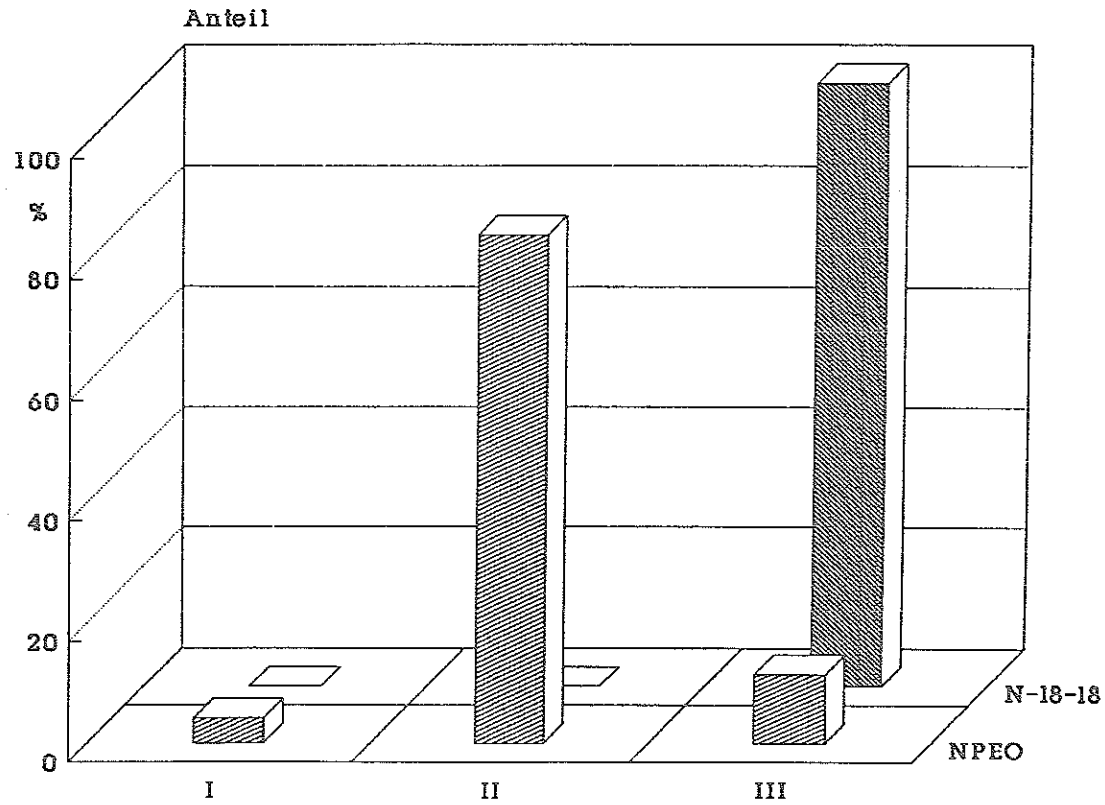
II = 2 vol-% Methanol in Ethylacetat

Abb. 3-10 b)



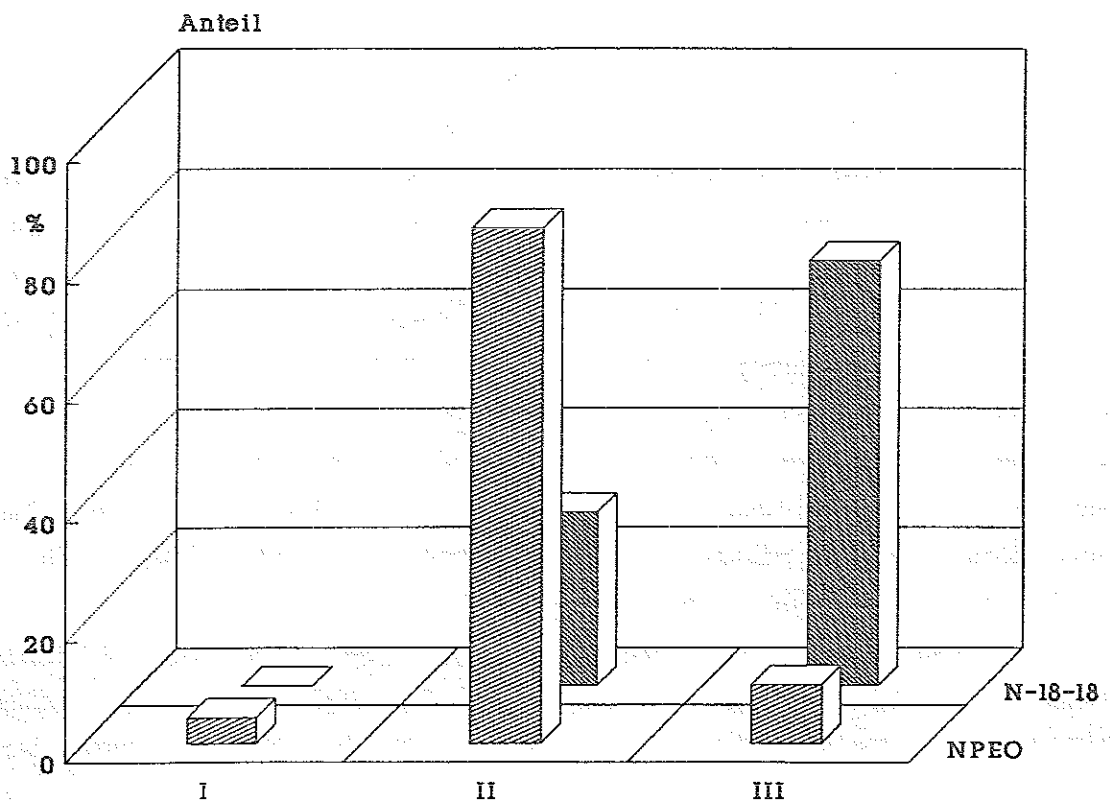
II = 4 vol-% Methanol in Ethylacetat

Abb. 3-10 c)



II = 6 vol-% Methanol in Ethylacetat

Abb. 3-10 d)



II = 8 vol-% Methanol in Ethylacetat

Wenn der Trennungsgang direkt in die HPLC einmünden soll, müssen die Eluate mit dieser Technik kompatibel sein, d. h. sie müssen als Injektionslösungen für die HPLC verwendet werden können. Dies ist in der Regel dann der Fall, wenn das Lösemittel die gleiche oder eine geringere Elutionskraft (bezogen auf die HPLC-Trennsäule) besitzt als das HPLC-Fließmittel und mit diesem gut mischbar ist. Bei HPLC-Gradientenverfahren (welche in der Tensidanalytik notwendig sind) ist in diesem Zusammenhang das Anfangsfließmittel entscheidend. Ist diese Kompatibilität nicht gegeben, so muß das Elutionsmittel entfernt und der Rückstand anschließend mit einem geeigneten Lösemittel wieder aufgenommen werden.

Da im entwickelten Trennungsgang Elutionsvolumina im Bereich einiger Milliliter notwendig sind, und in der HPLC maximal 100 µL injiziert werden können ohne die chromatographische Trennung negativ zu beeinflussen, bleibt bei der direkten Verwendung des Eluates für die HPLC-Bestimmungen ein Großteil davon ungenutzt, selbst wenn Mehrfachbestimmungen mit der HPLC durchgeführt werden. Auch dieser Nachteil läßt sich vermeiden, wenn man das Elutionsmittel entfernt und anschließend mit einem geringeren Volumen Lösemittel wieder aufnimmt, so daß man letztendlich die Analyten weiter konzentriert hat (allerdings ohne diese gegenüber Matrixkomponenten anzureichern).

Bei den kationischen Tensiden wie auch bei den anionischen Tensiden stellten sich die Elutionsmittel des Trennungsganges als nicht kompatibel mit der HPLC heraus. Daher müssen bei diesen Fraktionen die Lösemittel, wie beschrieben, ersetzt werden. Als schonendste Methode der Lösemittelentfernung wurde das Abblasen mit Inertgas (hier: Argon) unter leichter Erwärmung (40 °C, im Metallblock) gewählt. Der Rückstand der Fraktion "Kationische Tenside" wird mit dem Anfangsfließmittel des HPLC-Verfahrens aufgenommen. Das entsprechende Volumen (hier: 1 mL) wird über den Flüssigkeitsmeniskus und einer entsprechenden Markierung an den Fraktionssammelröhrchen eingestellt.

Wegen des hohen Wassergehaltes der Fraktion "Anionische Tenside" war es aber nicht möglich, das Eluat vollständig abzublasen. Da nur der zu große Methanolanteil störend wirkt,

wurde diese Fraktion weitgehend eingeengt (das Methanol wird somit entfernt) und mit Methanol so ergänzt, daß sich eine Verhältnis von Methanol zu Wasser ergibt, welches dem HPLC-Fließmittel (Anfangsfließmittel des Gradienten) entspricht. Trotzdem führten Injektionen dieses Eluates in das HPLC-System zu chromatographischen Störungen, so daß eine Quantifizierung der Tenside nicht möglich war. Das Lösemittel dieser Fraktion mußte daher weiter variiert werden. Dies ist im folgenden Abschnitt 3.4.3 beschrieben.

Im Falle der nichtionischen Tenside ist das Elutionsmittel des Trennungsganges zwar mit den gewählten HPLC-Verfahren kompatibel, jedoch wurde zum Zwecke der optimalen Nutzung der angereicherten Analyten ebenfalls abgeblasen und mit einem geringeren Volumen Lösemittel wieder aufgenommen.

3.4.3 Lösemittel für die Fraktion "Anionische Tenside"

Da die Zusammensetzung der HPLC-Injektionslösung bezüglich des Methanol/Wasser - Verhältnisses mit dem Fließmittel identisch ist, kann nur die Säurestärke oder der Chloridgehalt im Fließmittel für die chromatographischen Störungen verantwortlich sein. Offensichtlich ist das Bestimmungsverfahren so empfindlich, daß bei Direktinjektion des HCl-haltigen Methanol/Wasser-Gemisches bereits die über das Injektionsvolumen (typisch: 10 - 100 µL) eingebrachten Mengen an Säure bzw. Chlorid die Chromatographie und die Reproduzierbarkeit der Quantifizierung stören. In Vorversuchen konnte festgestellt werden, daß zwar beliebige Elektrolyten die chromatographische Bestimmung ab einer gewissen Konzentration negativ beeinflussen können, jedoch in einem geringerem Maße als die Säurestärke der Injektionslösung. Wegen des hohen Wassergehaltes würde das vollständige Abblasen der methanolischen Salzsäure zu viel Zeit und entsprechend drastische Bedingungen erfordern, unter denen sich thermolabile Stoffe zersetzen könnten. Da vermutlich der Säuregehalt Ursache für die Schwierigkeiten ist, wurde als Alternative dazu eine Auswahl von Puffersubstanzen auf ihre Eignung hin untersucht. Diese sollten den störenden Einfluß der Säure durch Neutralisation beseitigen. Letztere durften aber

wiederum nicht selbst die chromatographische Bestimmung behindern, d.h. die resultierende Lösung mußte kompatibel mit dem Endbestimmungsverfahren sein. Dies wurde mit verschiedenen Puffersubstanzen im Experiment untersucht. Die Puffersalze wurden als Feststoff in den Fraktionssammelröhrchen vorgelegt, und nach Passage der Aluminiumoxidsäule wurde der Methanolanteil im Elutionsmittel durch Abblasen (von etwa 6 mL bis auf weniger als 2 mL) reduziert bzw. weitgehend entfernt. Die HPLC-Kompatibilität (festgestellt durch Bewertung des Erscheinungsbildes der Chromatogramme und zusätzlich belegt durch die Wiederfindungsraten von Modell-Tensiden) und die Lösegeschwindigkeit des Puffersalzes wurden als entscheidende Kriterien ausgewertet (Tab. 3-5).

Als Berechnungsgrundlage für die Puffermenge diente die maximale Säuremenge, die (bei vollständigem Durchlauf des Elutionsmittels durch die Säule) in das Eluat gelangen kann (berechneter Wert: 2,5 mval). Die Tabelle 3-5 zeigt, daß Natriumacetat im leichten Überschuß (Äquivalentverhältnis 1,5 : 1) die Kriterien HPLC-Kompatibilität und Lösegeschwindigkeit als einzige Testsubstanz ausreichend erfüllt und deshalb gut geeignet ist. Versuchsweise wurde auch der Zusatz von Tetrabutylammoniumhydroxid (TBAH) zum Elutionsmittel zur Unterstützung der Elution der anionischen Tenside geprüft. Dieser Zusatz führte aber bei der Alkylsulfonat-Bestimmung mit HPLC und On-line-Ionenpaarextraktion zu sehr starken Störsignalen, so daß keine Substanzen mehr detektiert werden konnten.

Tab. 3-5. Eigenschaften verschiedener Substanzen bei der Anwendung zur Pufferung der Eluatfraktion "Anionische Tenside". - Probe: LAS und C12-SO3, ohne Abblasen in das Eluat dotiert. Säule: 1,2 g basisches Aluminiumoxid. Elutionsmittel: 6 mL 2M Salzsäure in Methanol 25/75. Einfachbestimmungen.

Substanz/Äquivalentverhältnis[a]	Lösegeschwindigkeit	HPLC[b]	% Wiederfindung	
			LAS-Σ	C12-SO3
Kaliumcarbonat 1:1	sehr langsam			
Natriumcarbonat 1:1	sehr langsam			
Natriumcitrat 1:1	langsam	Störpeak (LAS)	87	86
Natriumcarbonat/ Natriumhydroxid 0,5:0,8:1	langsam	gut	89	104
Natriumacetat 1:1	schnell	Störpeak (LAS)	87	101
Natriumacetat 1,5:1	schnell	gut	90	99
Natriumacteat/ 10 µmol TBAH[c] 1,5:1	schnell	gestört (C12-SO3)	87	0
Natriumacetat/ 100 µmol TBAH 1,5:1	schnell	gestört (C12-SO3)	95	0

[a] Äquivalentverhältnis zur vorhandenen Salzsäuremenge (2,5 mval)
[b] insb. Kompatibilität (LAS- bzw. C12-SO3-Bestimmung)
[c] Vorliegende Menge Aniontenside: etwa 1 µmol

3.4.4 Leistungsfähigkeit des optimierten Verfahrens

Für die Bewertung der Leistungsfähigkeit des vorgestellten Trennungsganges, die Bestimmung des Anwendungsbereiches und zur Auswahl geeigneter interner Standardsubstanzen mußte das Verfahren auf die Wiederfindung der Analyten und der möglichen internen Standardsubstanzen (innerhalb der jeweiligen Tensidklasse) hin untersucht werden. Abb. 3-11 zeigt den Arbeitsablauf des optimierten Trennungsganges. Zur abschließenden Untersuchung der Leistungsfähigkeit wurde eine realitätsnahe Dotierung verwendet.

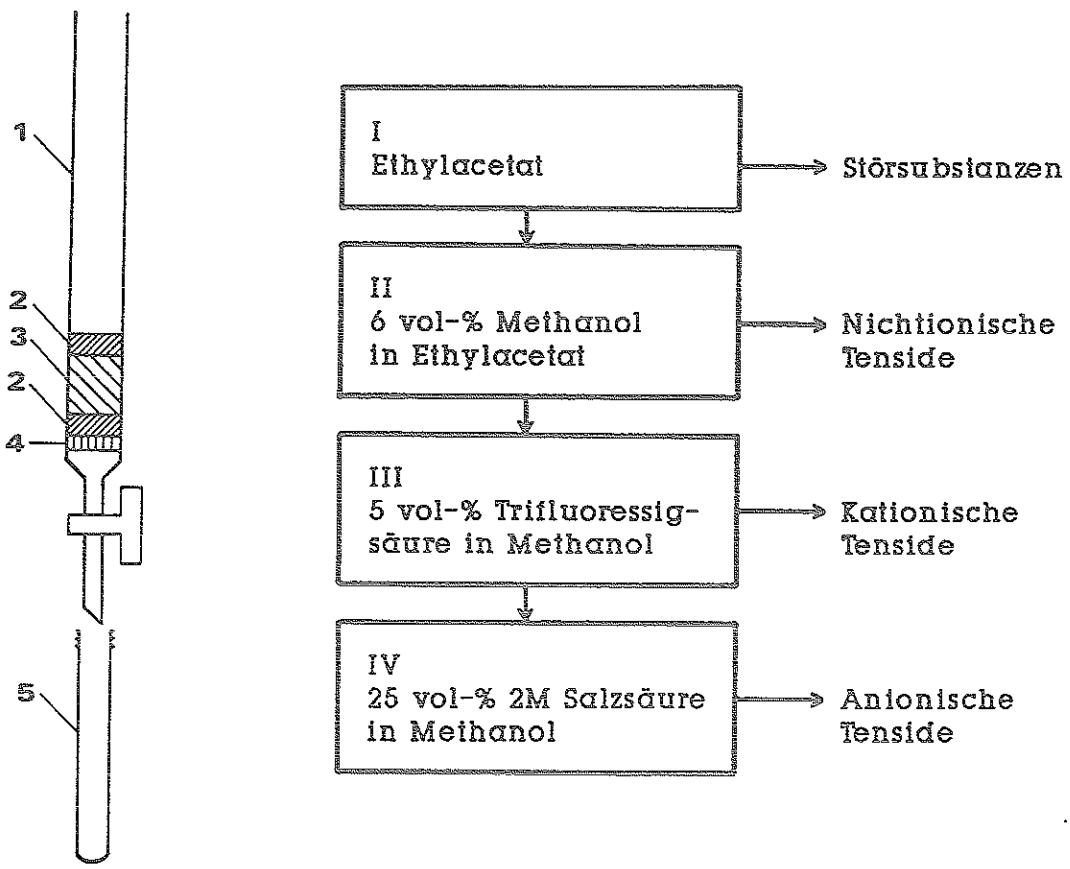


Abb. 3-11. Aufbau der Trennsäule und Arbeitsablauf des optimierten Trennungsganges. - 1 Chromatographiesäule; 2 Glasfaserwatte; 3 Aluminiumoxid; 4 Glasfritte; 5 Schraubgläschen. Elutionsmittelvolumina: je 6 mL. Experimentelle Details in Abschnitt 5.2.1.

Tab. 3-6 zeigt die für diese Untersuchung verwendeten Modelltenside und deren Dotierungsmenge.

Tab. 3-6. Dotierungsmengen der für den Trennungsgang verwendeten Tenside. - zu den Experimenten des Abschnitts 3.4.4.

Substanz	Menge µg
Nichtionische Tenside	
TMP(EO)1	5
NPEO	20
DDP	5
Kationische Tenside	
N-18-18	2
N-12-12	2
N-8-8	1
Anionische Tenside	
LAS-9	10
LAS-Σ	50
LAS-15	10
C12-SO3	2

Tab. 3-7 zeigt die Ergebnisse dieser abschließenden Untersuchung; Abb. 3-12 gibt die Verteilung und die einzelnen Wiederfindungsraten grafisch wieder. Es wird deutlich, daß alle untersuchten Modelltenside in ihren Fraktionen optimal wiedergefunden werden. Die Wiederfindungsraten liegen mit geringen Streubreiten im Bereich von 85% bis 110%.

Tab. 3-7. Wiederfindung von Modellsubstanzen in den entsprechenden Fraktionen im Trennungsgang. - Probe: Tensidgemisch nach Tab. 3-6 (S. 53), in erstes Elutionsmittel (Ethylacetat) dotiert. Säule: 1,2 g bas. Aluminiumoxid. Elutionsmittelsequenz (je 6 mL): Ethylacetat, 6 vol-% Methanol in Ethylacetat (nichtionische Tenside), 5 vol-% Trifluoressigsäure in Methanol (kationische Tenside), 25 vol-% 2M Salzsäure in Methanol (anionische Tenside). Mittelwert und Standardabweichung aus 2 Bestimmungen. Experimentelle Details in Abschnitt 5.3.4.

Substanz	% Wiederfindung
NPEO	87 ± 4
DDP	87 ± 4
N-18-18	100 ± 5
N-12-12	107 ± 4
N-8-8	95 ± 3
LAS-9	95 ± 1
LAS-15	96 ± 2
LAS-Σ	97 ± 1
C12-SO3	99 ± 6

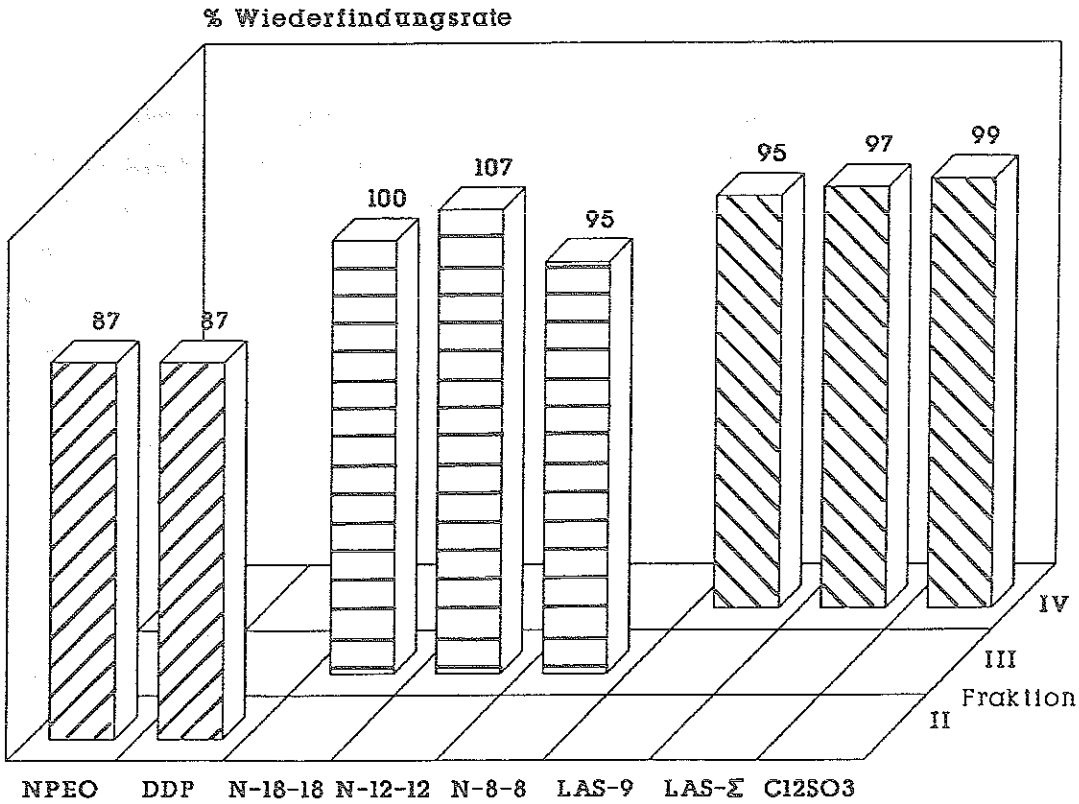


Abb. 3-12. Wiederfindung von Modellsubstanzen im Trennungsgang und Verteilung auf die einzelnen Fraktionen. - Erläuterungen siehe Tab. 3-7.

3.5 Endbestimmung der Tenside mit HPLC

3.5.1 Vorbemerkungen

Im Anschluß an den Anreicherungs- und Trennungsgang müssen die Tenside möglichst empfindlich und einzelsubstanzspezifisch quantifiziert werden. Wie bereits diskutiert (Abschnitt 2.4), bietet sich dazu in erster Linie die HPLC an. Für einen Teil der ausgewählten Modellsubstanzen sind HPLC-Verfahren in der Literatur beschrieben oder konnten aus literaturbekannten Verfahren durch Modifizierung (Trennsäulen, Fließmittelgradienten) an die vorliegenden Trennprobleme adaptiert werden. Dies war bei den aromatischen Tensiden, also den (nichtionischen) Alkylphenolethoxylaten und den (anionischen) linearen Alkylbenzolsulfonaten der Fall. Die Detektion kann über die Fluoreszenzaktivität oder die Lichtabsorption dieser Verbindungsklassen erfolgen. Mit der Fluoreszenzmessung läßt sich aber eine höhere Empfindlichkeit und Selektivität erzielen, so daß diese angewendet wurde.

Ein Teil der Modellsubstanzen sind aliphatisch und daher weder lichtabsorbierend noch fluoreszenzaktiv. Hierzu zählen die (nichtionischen) Fettalkoholethoxylate, die (kationischen) Alkylammoniumverbindungen und Esterquats sowie die (anionischen) Alkylsulfonate, Fettalkoholsulfate und Fettalkoholethersulfate. Bei diesen zunehmend in die Anwendung drängenden Substanzen steht in der Flüssigkeitschromatographie das Problem der Detektierbarkeit im Vordergrund. Andere Detektionsprinzipien als Fluoreszenz- oder Lichtabsorptionsmessung sind vergleichsweise unempfindlich oder nur sehr eingeschränkt tauglich für Fließmittel-Gradienten, was für viele analytische Trennprobleme nicht ausreicht. Eine Ausnahme bildet die Ankopplung der Massenspektrometrie an die HPLC, welche allerdings einen hohen finanziellen Aufwand erfordert und ebenfalls Einschränkungen an die HPLC-Verfahren stellt.

Alternative Detektionsprinzipien, die für die Quantifizierung dieser Verbindungen verwendet werden können, sind beispielsweise die Leitfähigkeitsdetektion, die Brechungsindexmessung, die indirekte Leitfähigkeitsdetektion, die indirekte photometrische Detektion und die Lichtstreuungsmessung

(Evaporative Light Scattering Detection). Die beiden indirekten Techniken (indirekte Leitfähigkeitsdetektion und indirekte photometrische Detektion) basieren auf der Verdrängung von dem Fließmittel zugesetztem Elektrolyten bzw. Farbstoff durch eluierende Analyten. Der Lichtstreudetektor mißt die Lichtstreuung durch Feststoffe, die nach Verdampfung des Fließmittels zurückbleiben.

Abgesehen vom Lichtstreudetektor, welcher per se ausgesprochen unempfindlich ist, messen die genannten Verfahren nicht spezielle Eigenschaften der Analyten, sondern Eigenschaften der gesamten mobilen Phase. Diese Eigenschaften werden aber nur in einem geringen Maße durch eluierende Analyten verändert, so daß sich folglich nur eine mäßige Empfindlichkeit ergibt. Da sich die Gesamteigenschaften der mobilen Phase bei der Anwendung von Fließmittelgradienten verändern, sind HPLC-Methoden mit diesen Detektionsverfahren auch nur sehr eingeschränkt gradiententauglich. Dies zeigt sich in einem drastischen Verlust an Nachweisempfindlichkeit bei der Anwendung von Fließmittel-Gradienten, denn die Detektoren müssen entsprechend unempfindlich eingestellt werden. Große Bandbreiten der Analyten, wie sie bei der Analyse von Tensiden in Umweltproben zu erwarten sind, erfordern aber die Anwendung recht deutlicher Fließmittelgradienten, so daß mit den genannten Verfahren keine hohen Empfindlichkeiten erreichbar sind.

Bei der Bestimmung von Tensiden in Umweltproben mit solchen nur wenig empfindlichen Endbestimmungsverfahren sind folglich hohe Anreicherungsfaktoren und damit ein hoher Zeitaufwand notwendig. Wegen der bereits dargelegten großen Bedeutung und Zukunftsperspektive aliphatischer Tenside besteht aber ein erheblicher Bedarf an Methoden zu deren empfindlichen Quantifizierung in Kombination mit einer chromatographischen Trenntechnik. Für die aliphatischen nichtionischen Tenside sind erfolgversprechende Verfahren in der Literatur beschrieben [32, 81, 111, 112]. Diese wurden jedoch innerhalb dieser Arbeit nicht weiter verfolgt und die Entwicklung der Anreicherungs- und Isolierungsverfahren wurde mit den aromatischen Vertretern (Alkylphenolethoxylate) dieser Substanzklasse durchgeführt. Für die aliphatischen ionischen Tenside konnte mit der Kombination

von HPLC und einem Nachsäulen-Ionenpaarextraktionssystem eine empfindliche Methode entwickelt werden. Die Entwicklung und Optimierung dieser Technik wird im Detail in Abschnitt 3.6 (aliphatische kationische Tenside) und Abschnitt 3.7 (aliphatische anionische Tenside) dokumentiert.

Die Quantifizierung wurde aus Gründen der Zeitersparnis bei allen HPLC-Verfahren auf der Basis der Zwei-Punkt-Kalibrierung der Signalflächen durchgeführt. Dazu wird eine Gerade zwischen dem Nullpunkt der Signalfläche/Konzentrations-Kurve und einem Meßwert dieser Kurve für eine gegebene Konzentration der Standardlösung gezogen. Die Bestimmung unbekannter Konzentrationen läßt sich durch Interpolation zwischen diesen beiden Werten erreichen. Der höhere Fehler (höhere Standardabweichung), der hierbei im Vergleich zu beispielsweise einer Fünf-Punkt-Kalibrierung entsteht, dürfte deutlich kleiner sein als die Fehlerbreiten des Anreicherungs- und Isolierungsverfahrens. Ein größerer Zeitaufwand für exaktere Endbestimmungsergebnisse wäre demnach nicht gerechtfertigt.

Die Möglichkeiten und Grenzen des Einsatzes der HPLC für die Bestimmung von Tensiden im allgemeinen sowie die durchgeführten Modifikationen literaturbekannter Methoden für die vorliegenden Trennprobleme werden in den folgenden Abschnitten (3.5.2, 3.5.3 und 3.5.4) für die einzelnen Tensidklassen diskutiert. Die letztendlich für die Untersuchung der Flußwasserproben verwendeten HPLC-Methoden sind im experimentellen Teil aufgeführt.

3.5.2 Nichtionische Tenside

Bei Einsatz der Umkehrphasen-HPLC (RP-HPLC) zur Trennung von Alkylphenolethoxylaten beeinflußt fast ausschließlich der hydrophobe Alkyl-Aryl-Teil das Retentionsverhalten dieser Verbindungsklasse [102, 113, 114, 115]. Mit der Normalphasen-chromatographie läßt sich aber auch eine Trennung nach der Zahl der Ethoxylateinheiten im Molekül durchführen [102, 113, 115, 116]. Die zeitlich aufeinanderfolgende Trennung nach beiden Kriterien ist zwar prinzipiell realisierbar, jedoch müßte dazu jeder "Peak"

aufgefangen und anschließend mit der jeweils anderen HPLC-Methode analysiert werden. Der Information über den hydrophoben Molekülteil wurde in dieser Arbeit der Vorrang gegeben. Dennoch ist wegen der Vielzahl der Isomeren (unterschiedlich verzweigte Vertreter), die innerhalb eines homologen Alkylphenolethoxylates (d.h. Vertreter mit identischer Zahl der C-Atome) auftreten, bei dieser Stoffklasse ein HPLC-Verfahren mit vollständiger Isomeren- und Homologentrennung auf dem heutigen Entwicklungsstand der Technik nicht realisierbar. Möglich ist aber eine Trennung nach Homologen, also nach der Zahl der C-Atome im Alkylteil der Verbindungen.

In Anlehnung an Arbeiten von Marcomini und anderen Autoren [102, 113, 115, 117] wurden daher die Alkylphenolethoxylate ausschließlich nach der Alkylkettenlänge getrennt. Das als Modellsubstanz verwendete Nonylphenolethoxylat erscheint dabei trotz seiner Isomerenverteilung im Chromatogramm als ein Signal. Auf die Erfassung dieser Substanz mit einem möglichst schmalen Signal (und damit mit möglichst sicherer Identifizierungsmöglichkeit und guter Quantifizierbarkeit) wurde auch die Optimierung des Verfahrens (Säulenauswahl, Fließmittelgradient, usw.) ausgelegt. Das letztendlich verwendete Verfahren ist im experimentellen Teil dokumentiert. Entsprechende Flußwasserchromatogramme sind in Abb. 3-30 (S. 113) wiedergegeben.

Wie bereits diskutiert, können die aliphatischen nichtionischen Tenside mit herkömmlichen Detektoren nur sehr unempfindlich oder ohne Verwendung eines Fließmittelgradienten quantifiziert werden. Gemeinsames Strukturmerkmal der aliphatischen nichtionischen Tenside, das für eine empfindliche Detektion genutzt werden könnte, ist die endständige Hydroxygruppe. So ist es durch die Bildung geeigneter Derivate off-line vor der HPLC-Trennung, z.B. über die Reaktion mit Isocyanaten oder anderen Derivatisierungsreagenzien [32, 81, 111, 112] möglich, fluoreszierende oder lichtabsorbierende Molekülteile in die Analyten einzubauen. Die Verbindungen wären dann für den empfindlichen und gradiententauglichen Fluoreszenzdetektor bzw. Lichtabsorptionsdetektor zugänglich. Aliphatische nichtionische Tensidbestimmungen wurden allerdings im Rahmen dieser Arbeit nicht untersucht.

3.5.3 Kationische Tenside

Die als Modellsubstanzen eingesetzten Alkylammoniumverbindungen und Esterquats sind aliphatische Verbindungen. Bei der analytischen Bestimmung mit der HPLC steht damit das Problem der Detektierbarkeit im Vordergrund. Bisher in der Literatur beschriebene Verfahren greifen in der Regel auf den Leitfähigkeitsdetektor [75, 93] oder auf indirekte photometrische Detektion [118] zurück. Mit keinem dieser Verfahren können jedoch Mengen unterhalb von 0,2 µg nachgewiesen werden [72, 118]. Die Verfahren sind außerdem isokratisch und können daher nur eine geringe Bandbreite an kationischen Tensiden gleichzeitig erfassen.

Um mindestens zwei Größenordnungen empfindlicher und unter Anwendung von Fließmittelgradienten können kationische Tenside durch HPLC und on-line Dosierung von negativ geladenen Farb- bzw. Fluoreszenzfarbstoffen mit anschließender Ionenpaarextraktion bestimmt werden [64, 65, 66, 119]. Diesem Detektionsverfahren liegt das gleiche Prinzip zugrunde wie der direkten Quantifizierung der kationischen Tenside (in wäßriger Lösung) über klassenspezifische Farbreaktionen. Die Entwicklung und Optimierung dieser Technik wird im Detail in Abschnitt 3.6 dargestellt. Entsprechende Flußwasserchromatogramme sind in Abb. 3-30 (S. 113) wiedergegeben.

3.5.4 Anionische Tenside

In Anlehnung an literaturbekannte Methoden [78, 96, 102, 113, 120] wurden die linearen Alkylbenzolsulfonate mit RP-HPLC nach der Länge der Alkylkette getrennt. Wegen der Isomeren (unterschiedliche Position der aromatischen Gruppe an der Alkylkette), die innerhalb eines homologen Alkylbenzolsulfonates (d.h. Vertreter mit identischer Zahl der C-Atome) vorhanden sind, steht auch bei dieser Stoffklasse kein HPLC-Verfahren mit vollständiger Isomeren- und Homologentrennung zur Verfügung. Es ist lediglich möglich, einen Teil der Isomeren voneinander zu trennen, während ein anderer Teil als gemeinsame Peaks eluieren. Daher erschien es sinnvoll, HPLC-Methoden zu verwenden, welche die

Alkylbenzolsulfonate ausschließlich nach der Länge der Alkyl-Seitenkette trennen und quantifizieren, anstatt eine unvollständige Information über die Isomerenverteilung zu gewinnen. Durch die Zusammenfassung der Isomeren innerhalb eines Peaks läßt sich die Nachweisempfindlichkeit erhöhen, da die Signalhöhen gegenüber dem Grundlinienrauschen ansteigen. In Anlehnung an die Arbeiten von Marcomini et al. [78, 102], Yokoyama und Sato [83] sowie Castles et al. [79] wurde die Entwicklung des Verfahrens (Säulenauswahl, Fließmittelgradient, usw.) entsprechend ausgelegt. Es konnte schließlich eine HPLC-Methode entwickelt werden, welche in der Lage ist, Alkylbenzolsulfonate ausschließlich nach der Länge der Alkyl-Seitenkette zu trennen und zu quantifizieren. Die partielle Trennung nach Positionsisomeren ließ sich durch systematisches Austesten stationärer und mobiler Phasen vollständig unterdrücken. Dies gelang durch die Verwendung einer kurzkettigen Umkehrphasensäule (RP-1) anstelle der sonst üblichen langkettigen Säulen (RP-18). Das letztendlich verwendete Verfahren zur LAS-Bestimmung mit HPLC ist im experimentellen Teil dokumentiert. Entsprechende Flußwasserchromatogramme sind in Abb. 3-30 (S. 113) wiedergegeben.

Trotz zahlreicher Verbesserungsversuche gelang es nicht, das LAS-15, welches als interner Standard vorgesehen war, mit dieser Methode störungsfrei zu bestimmen. So schwankten beispielsweise die Peakhöhen bei mehrfach aufeinanderfolgenden Injektionen der Kalibrierlösung. Vermutlich spielen dabei Adsorptionsprozesse dieser Substanz im Gefäß der wäßrig-methanolischen Injektionslösung eine Rolle. Durch Einwirkungen von Ultraschall oder Hitzebehandlung auf die Injektionslösung kurz vor der Injektion konnten zwar deutliche Veränderungen der Signalhöhen erreicht werden, jedoch ließen sich diese Effekte kaum reproduzieren. Auf eine Verwendung dieser Substanz für das Bestimmungsverfahren mußte daher letztendlich verzichtet werden.

Weil die einzelnen LAS-Homologen (im Bereich von 10 bis 14 C-Atomen in der Alkylkette) nicht kettenlängenrein zur Verfügung standen, mußte die Kalibrierung mit einer Standardlösung eines Homologengemisches (Natrium-dodecyl-benzolsulfonat, LAS-12, technisches Produkt) erfolgen. Da die

Gehalte der einzelnen Homologen nicht exakt bekannt waren, konnte die Kalibrierung aber nicht direkt erfolgen, sondern erst nachdem der Gehalt der einzelnen LAS-Homologen in dieser Lösung bestimmt worden war. In der Literatur ist beschrieben worden [102], daß sich die Verhältnisse von Signalfläche (der Fluoreszenzdetektion) zu molarer Stoffmenge bei dieser Stoffklasse innerhalb des hier interessanten Bereiches der Alkylkettenlängen nur minimal unterscheiden. Die eigentliche Kalibrierung läßt sich daher an der in genügender Reinheit synthetisierten Substanz LAS-9 (Isomer Natrium-4-nonyl-benzolsulfonat, "1-C_9-LAS") durchführen und durch Vergleichs-messung auf eine Standardlösung des Homologengemisches übertragen. Unter Zugrundelegen des gleichen Verhältnisses von Signalfläche zu molarer Stoffmenge für die anderen Homologen können die Konzentrationen der Standardlösungen des LAS-Standardgemisches bestimmt und auf Massenkonzentrationen umgerechnet werden.

Für die als Modellsubstanzen ausgewählten aliphatischen Sulfonate, Fettalkoholsulfate und -ethersulfate stehen zur Detektion in der HPLC ebenfalls keine nachweisstarken (und gleichzeitig gradiententauglichen) Detektoren zur Verfügung. Zahlreiche Methoden greifen daher (trotz der geringen Äquivalentleitfähigkeit dieser Stoffe) auf den Leitfähigkeits-detektor oder auf den Brechungsindexdetektor zurück. Bei sehr großen Tensidmengen, beispielsweise in der Produktkontrolle, kann auch der Lichtstreuungsdetektor [121] verwendet werden. Bei keinem dieser Verfahren können Mengen unterhalb von 1 µg noch detektiert werden [122, 123, 124, 125, 126, 127]. Auch die indirekte photometrische Detektion kann eingesetzt werden. Bei dieser liegen die erreichbaren Nachweisgrenzen für anionische Tenside im isokratischen Betrieb zwar nur bei 20 ng [122, 123, 128], bei Gradientenverfahren erhöht sich dieser Wert jedoch auf 1 µg und mehr. Maki et al. [129] bestimmen anionische Tenside mit HPLC und indirekter Leitfähigkeitsdetektion. Es können noch 5 ng Natrium-dodecylsulfonat nachgewiesen werden, jedoch muß das Trennsäulenmaterial selbst synthetisiert werden und Fließmittelgradienten sind nicht möglich.

Analog zur Bestimmung kationischer Tenside (siehe Abschnitt 3.6) bietet sich zur empfindlichen Detektion der

anionischen Tenside ein Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystem an. Die Technik ist für die HPLC-Analyse von anionischen Tensiden und anderen anionischen organischen Verbindungen in der Literatur beschrieben worden [66, 68, 69, 70, 130, 131]. Das zugrundeliegende Prinzip der spezifischen Farbreaktion wurde in Abschnitt 2.4 diskutiert. Die Entwicklung und Optimierung dieser Technik wird im Detail in Abschnitt 3.7 dargestellt. Das letztendlich verwendete Verfahren zur Quantifizierung der Alkylsulfonate ist im experimentellen Teil dokumentiert. Entsprechende Flußwasserchromatogramme sind in Abb. 3-30 (S. 113) wiedergegeben.

3.6 Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystem zur Bestimmung aliphatischer kationischer Tenside mit HPLC

3.6.1 Vorbemerkungen

Der Extraktion von Ionenpaaren von kationischen Tensiden und anionischen Farb- oder Fluoreszenzfarbstoffen im Anschluß an die chromatographische Trennung mit der HPLC liegt das gleiche Prinzip zugrunde wie der direkten Quantifizierung der kationischen Tenside über die in Abschnitt 2.4 beschriebenen klassenspezifischen Farbreaktionen. Zur Quantifizierung ausgenutzt wird die Bildung von lichtabsorbierenden bzw. fluoreszierenden Ionenpaaren, welche im Gegensatz zu den Ausgangssubstanzen mit unpolaren Lösemitteln aus wäßriger Lösung extrahierbar sind. Bei der Kopplung dieser Ionenpaarbildung und -extraktion mit der HPLC muß im Anschluß an die chromatographische Trennung der Farbstoff zudosiert, ein Zweiphasensystem erzeugt werden sowie die selektive Zuleitung der organischen Phase zum Detektor ermöglicht werden.

Sowohl die Ankopplung der Normalphasenchromatographie (NP-Chromatographie) [64, 132] als auch der Umkehrphasenchromatographie (RP-Chromatographie) [65] an die Ionenpaarextraktion sind in der Literatur beschrieben worden. Unter NP-Chromatographie versteht man die Trennung der Analyten an polaren Säulenmaterialien unter Verwendung unpolarer Fließmittel. In der RP-Chromatographie sind die Verhältnisse

umgekehrt. Es werden unpolare Säulenmaterialien und wäßrige Fließmittelsysteme verwendet. Abb. 3-13 zeigt eine Ionenpaarbildung, wie sie beispielsweise bei der Kopplung mit der Normalphasenchromatographie kationischer Tenside ($^{+}NR_4$) verwendet wird [64]. Hinter der Trennsäule wird als Reagenz eine mit dem Fließmittel nicht mischbare, wäßrige Lösung des Farbstoffes (z.B. Natrium-9,10-Dimethoxy-anthracen-2-sulfonat, DAS) kontinuierlich zudosiert. Während der Elution kationischer Tenside bilden sich fluoreszierende Ionenpaare, die im Gegensatz zum reinen Farbstoff in der organischen Phase gut löslich sind.

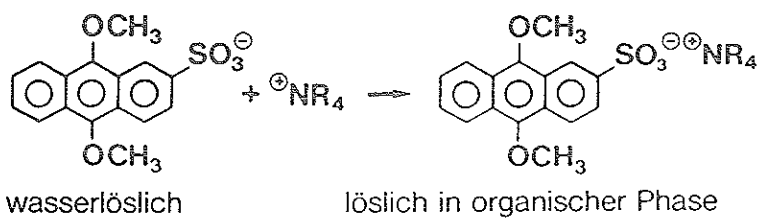


Abb. 3-13. Bildung fluoreszierender Ionenpaare.

Sowohl bei der Kopplung mit der NP- als auch mit der RP-Chromatographie gilt, daß das Tensid-Farbstoff-Ionenpaar einerseits im wäßrig-organischen Zweiphasensystem möglichst vollständig in der organische Phase vorliegen muß, aber andererseits soll der Farbstoff selbst nur in minimalem Maße dort löslich sein. Je besser diese Voraussetzungen erfüllt sind, desto empfindlicher können die kationischen Tenside quantifiziert werden. Zur sinnvollen Kopplung dieses Prinzips mit der HPLC muß eine der beiden Phasen als mobile Phase zur Trennung der Komponenten eines Stoffgemisches geeignet sein sowie auch unter HPLC-Bedingungen eine ausreichende Empfindlichkeit erreicht werden, die den technischen Aufwand rechtfertigt. Um die Kopplungsmöglichkeiten mit den chromatographischen Trennsystemen und die Leistungsfähigkeit zu untersuchen, wurde ein entsprechender Aufbau realisiert.

Als Konstruktionsgrundlage wurde eine in der Literatur beschriebene Detektionsanlage verwendet, bei der die kationischen Tenside über Normalphasenchromatographie voneinander getrennt werden [119]. Die Detektion erfolgt über die in Abb. 3-13 dargestellte Ionenpaarbildung. Diese Anlage wies allerdings einige Schwachstellen auf und wurde daher in verschiedenen konstruktiven Merkmalen geändert, die im einzelnen in den folgenden Abschnitten beschrieben sind. Die entscheidenden Nachteile dieser Anlage waren die wenig vertrauenswürdige und zeitaufwendige Äquilibrierungsprozedur [64, 119], die Empfindlichkeit gegenüber Matrixbelastungen der Probe und die Instabilität gegenüber Luftdruckveränderungen (z.B. durch Schließen von Türen) und Vibrationen in der Umgebung der Anlage. In Abweichung bzw. in Ergänzung zu der als Konstruktionsgrundlage dienenden Anlage [64, 119] wurden der innere Aufbau des Phasenseparators (siehe Offenlegungsschrift zur Patentanmeldung [133]), die Mischkapillare und die Konfiguration der Kapillaren [133] im Bereich hinter dem Phasenseparator verändert sowie eine Systemreinigungsfunktion integriert. Die aufgeführten Mängel konnten, wie dies in den folgenden Abschnitten dokumentiert ist, durch diese Weiterentwicklungen und Modifikationen abgestellt werden.

3.6.2 Aufbau und Funktionsweise

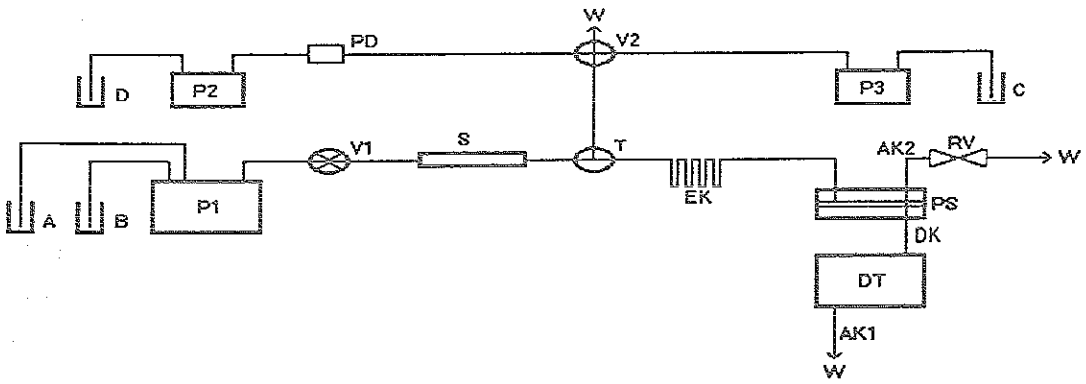


Abb. 3-14. Aufbau des Systems. - A Fließmittel A; AK1 Abfallkapillare; AK2 Abfallkapillare; B Fließmittel B; C Methanol; D Reagenzlösung; DK Detektorkapillare; DT Fluoreszenzdetektor; EK Extraktionskapillare; P1 HPLC-Gradientensystem; P2 Reagenzpumpe; P3 Pumpe für Spülfunktion; PD Pulsationsdämpfer; PS Phasenseparator; RV Regulierventil; S HPLC-Trennsäule; T T-Verbindungs-Stück; V1 Injektionsventil; V2 4-Wege-Ventil für Spülfunktion; W Abfall. Experimentelle Details siehe Abschnitt 5.3.5.

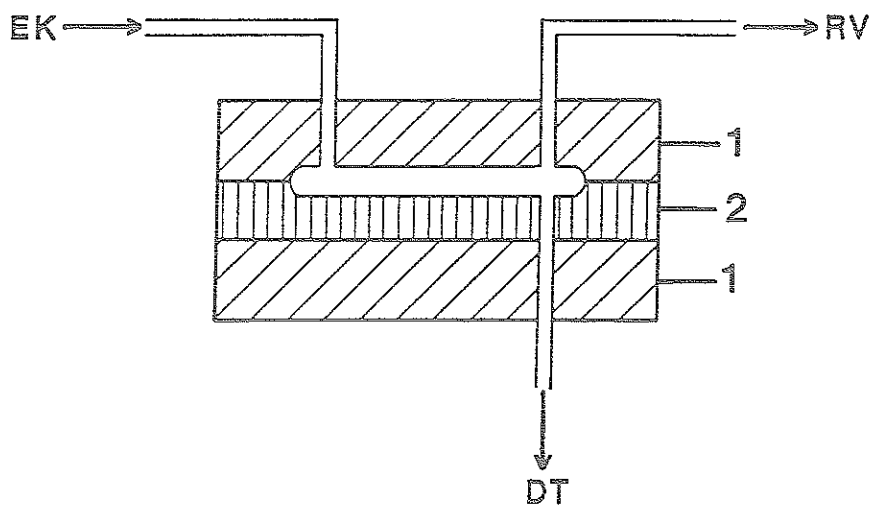


Abb. 3-15. Aufbau des Phasenseparators. - 1 Edelstahl; 2 PTFE; EK Extraktionskapillare; DT Fluoreszenzdetektor; RV Regulierventil.

Abb. 3-14 zeigt den Aufbau der Anlage. Bei Dosierung der Reagenzlösung (D) durch Pumpe P2 über das Verbindungsstück (T) bildet sich das Zweiphasengemisch, das über die Extraktionskapillare (EK) in den Phasenseparator (PS) (Abb. 3-15) geleitet wird. In der Extraktionskapillare erfolgt der Übergang des Farbstoffes aus der wäßrigen in die organische Phase (bei der Elution kationischer Tenside). Die Trennung der beiden Phasen soll on-line ohne wesentliche Peakverbreiterung erfolgen. Hierzu dient der Phasenseparator (Detailansicht in Abb. 3-15). Aufgrund des unterschiedlichen Benetzungsverhaltens der beiden Flüssigkeiten gegenüber den Werkstoffen Stahl und Polytetrafluorethen (PTFE) des Phasenseparators wird ein Teil der organischen Phase kontinuierlich abgetrennt und in den Fluoreszenzdetektor (DT) geleitet. Dabei bestimmen die Abmessungen der Kapillaren (DK, AK1, AK2) hinter den beiden Ausgängen des Phasenseparators und das Regulierventil RV die Trenneffizienz, d. h. den abgetrennten Anteil organischer Phase relativ zur Gesamtmenge dieser Phase. Eine Reinigungsfunktion (Erläuterung der Funktionsweise und Wirkung in Abschnitt 3.6.4) ist derart in das System integriert, daß alle mit dem Zweiphasensystem in Berührung kommenden Teile (Leitungen, Extraktionskapillare und Detektor) bei Ansteuerung der Pumpe gespült werden. Nach Umschalten des Ventils V2 kann die Spülfüssigkeit (C) durch Pumpe P3 durch die Anlage gefördert werden. Als Spülflüssigkeit wurde Methanol verwendet, das sowohl mit dem wäßrigen Reagenz als auch mit der mobilen organischen Phase mischbar ist. Um bei jedem Chromatogramm gleiche Ausgangsbedingungen zu haben, wird nach Aufnahme eines Chromatogrammes die Anlage gespült und zur nächsten Analyse vorbereitet (Durchführung in Form einer festgelegten Sequenz, siehe Abschnitt 5.3.5). Die Anlage wird 2 min mit Methanol gespült. Anschließend wird zum Entfernen des Methanols und zur Benetzung des Phasenseparators die HPLC-Pumpe aktiviert, so daß nur die organische mobile Phase gefördert wird. Die Benetzung des Phasenseparators zuerst mit der organischen Phase führte zu einer stabileren Phasentrennung und zu einer schnelleren Äquilibrierung. Nach 2 min wird die Reagenzförderung aktiviert und es bildet sich das Zweiphasensystem aus. Das System ist dann nach weiteren 2 min Äquilibrierungszeit wieder zur

Injektion bereit.

3.6.3 Chromatographische Trennung und Kopplung mit dem Detektionssystem

Normalphasen-HPLC

Bei der Kopplung der HPLC an das Ionenpaar-Extraktionssystem entstehen Probleme durch die Löslichkeit des anionischen Fluoreszenzfarbstoffes DAS in der organischen Phase. In der Normalphasenchromatographie stellt diese gleichzeitig die mobile Phase, d.h. das Fließmittel dar, während der Farbstoff in wäßriger Lösung hinter der Trennsäule zudosiert wird. Je höher die Polarität des Fließmittels und je höher die Konzentration des Farbstoffes in der wäßrigen Phase (d.h. die Reagenzkonzentration) ist, desto mehr ungepaarter Farbstoff wird in die organische Phase extrahiert. Das Grundlinienniveau des Detektionssystems steigt entsprechend an, so daß der Bereich für eine substanzmengenabhängige Signalerzeugung (sog. "dynamischer Bereich") eingeschränkt wird. Außerdem erhöht sich der Rauschpegel der Basislinie, welcher mitentscheidend für die erreichbaren Nachweis- und Bestimmungsgrenzen ist. Auch die Gradiententauglichkeit nimmt parallel ab (siehe Ausführungen auf S. 57), was sich in einem übermäßig starken Anstieg der Basislinie während des Gradienten-Chromatogrammes äußern würde.

Da die kationische Substanz im Fließmittel löslich sein muß und eine chromatographische Trennung möglich sein soll, ist ein gewisser Anteil an polarem organischen Lösemittel unverzichtbar. Aus diesen Gründen ist die Auswahl an Fließmitteln begrenzt. Es zeigte sich, daß N-18-18, N-12-12 und andere kationische Tenside mit Chloroform/Methanol- oder Chloroform/Acetonitril-Gemischen an Aminopropyl- oder Dihydroxypropyl-modifizierten Kieselgelsäulen getrennt werden können. Ohne den Zusatz eines weiteren Modifiers ließ sich allerdings ein auffallendes Tailing der Substanzpeaks nicht verhindern. Durch die Verwendung von Essigsäure oder Trifluoressigsäure konnte dieser Effekt unterdrückt werden, während gleichzeitig die Retentionszeit erheblich abnahm. Für vergleichbare Retentionszeiten wurde der notwendige Methanol-

gehalt von 5 bis 10 vol-% auf 1 bis 3 vol-% reduziert. Da aufgrund des geringeren Methanolanteils auch die Löslichkeit des Fluoreszenzfarbstoffes geringer ist, konnten damit die negativen Auswirkungen auf Basislinie und Basislinienrauschen reduziert werden. Der beobachtete Effekt der Essigsäure bzw. der Trifluoressigsäure läßt vermuten, daß entweder die entsprechenden Anionen in der mobilen Phase als Konkurrenten zu den negativen Oberflächenladungen des Kieselgels wirken oder dieses von den Säuren direkt ausreichend protoniert wird. Dabei hat sich Essigsäure trotz der niedrigeren Säurestärke als günstiger im Vergleich zur Trifluoressigsäure erwiesen, bei deren Verwendung sich die Retentionszeiten ständig vergrößerten, wahrscheinlich durch Solvolyse des modifizierten Kieselgels.

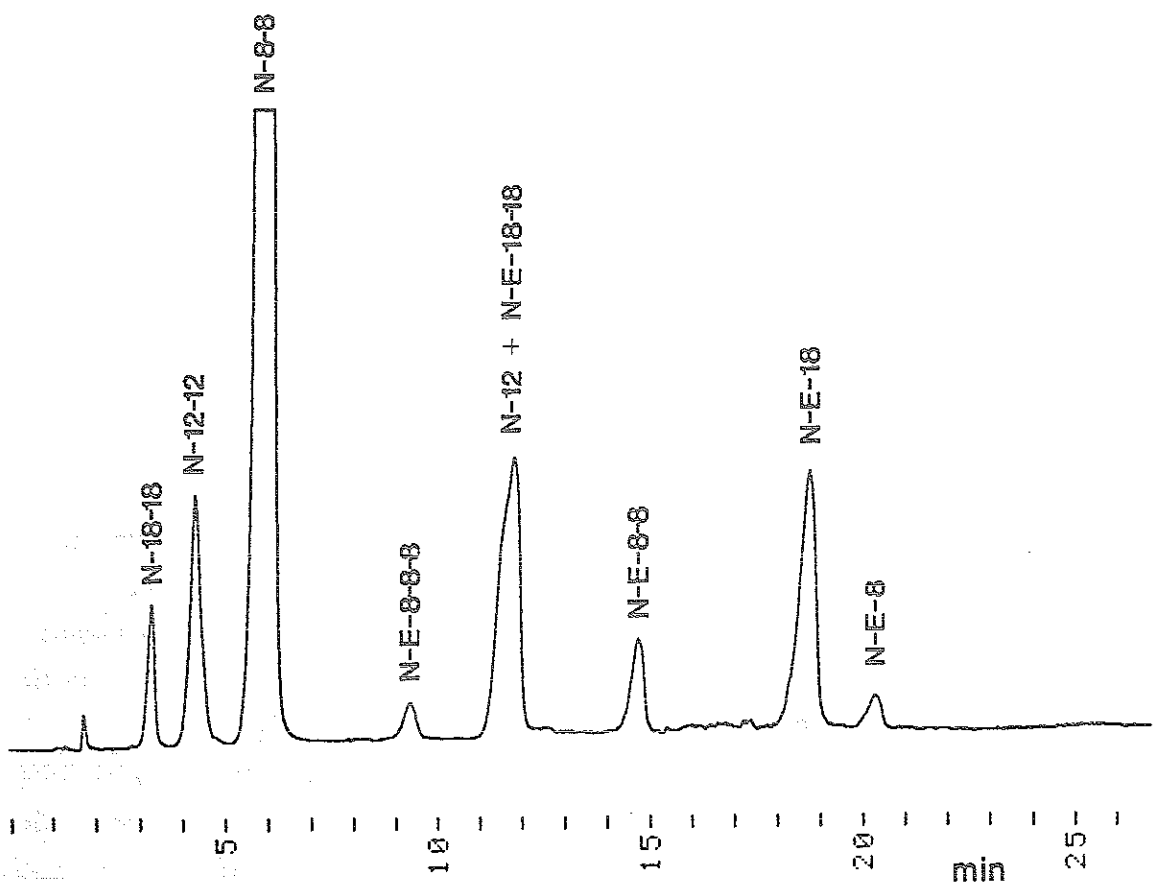


Abb. 3-16. Chromatogramm eines Standardgemisches von Alkylammoniumverbindungen und Esterquats. - Injektionsmengen: Alkylammoniumverbindungen jeweils 100 ng; N-E-8-Σ 200 ng; N-E-18-Σ 1000 ng. HPLC-Bedingungen: siehe Abschnitt 5.2.3.

Abb. 3-16 zeigt ein typisches Gradientenchromatogramm eines Standardgemisches kationischer Tenside auf einer aminopropyl-modifizierten Silikagelsäule. Unter diesen Bedingungen konnten alle untersuchten kationischen Tenside bis auf N-12 und N-E-18-18 voneinander getrennt werden. Falls diese gemeinsam in einer Probe vorkommen sollten, ließe sich die Trennung wahrscheinlich durch Modifikation des Fließmittelgradienten ermöglichen.

Betrachtet man einerseits die Kettenlängen der kationischen Tenside in diesem Chromatogramm und andererseits die Peakbreite einzelner Substanzen, so wird deutlich, daß das vorgestellte chromatographische Trennsystem einen Anwendungsbereich aufweist, der die komplette Bandbreite kationischer Tenside abdeckt. Allerdings ist bezüglich der Feinunterscheidung nahe zusammenliegender Homologer erkennbar, daß nur eine vergleichsweise geringe Trennleistung erreicht wird. So müssen in der Summe mindestens 4 bis 6 Methylengruppen Unterschied zwischen zwei kationischen Tensiden sein, um sie voneinander trennen zu können. Technisches Distearyldimethylammoniumchlorid, das sowohl C_{16}- als auch C_{18}-Seitenketten enthält, wird in diesem chromatographischen Trennsystem als ein einziger Peak registriert. Unter dem Gesichtspunkt der Nachweisempfindlichkeit ist diese Zusammenfassung in einem Peak allerdings erwünscht.

Umkehrphasen-HPLC

Bei der HPLC gilt im allgemeinen, daß die RP-Chromatographie zur Trennung von Substanzgemischen nach der Länge der Alkylkette leistungsfähiger ist als die NP-Chromatographie. Dies liegt darin begründet, daß die Wechselwirkungen zwischen Analyt und stationärer Phase bei der Umkehrphasentechnik überwiegend auf unmittelbare Wechselwirkungen zwischen Alkylkette und Trägermaterial basieren. Dies ist bei der Normalphasentechnik nicht dermaßen ausgeprägt. Wären also sehr feine Auftrennungen kationischer Tenside nach ihrer Alkylkettenlänge erforderlich, so sind vom Prinzip her Umkehrphasentrennungen erfolgversprechender als Normalphasentrennungen.

Zur Detektion von kationischen Tensiden in Umkehrphasen-

fließmitteln kann das Reagenz direkt dem Fließmittel zugesetzt oder hinter der Trennsäule durch eine zusätzliche Pumpe zudosiert werden [65]. Die Pumpe P2 (Abb. 3-14) fördert zur Bildung des Zweiphasensystems ein organisches Lösungsmittel, beispielsweise 1,2-Dichlorethan. Während der Elution kationischer Tenside bilden sich wiederum fluoreszierende Ionenpaare, die aus dem Fließmittel in die organische Phase übergehen (Abb. 3-13, S. 64). Ohne Verwendung einer Trennsäule konnte im Experiment N-18-18 mit einer Nachweisgrenze von wenigen Nanogramm (Signal-/Rausch-Verhältnis = 3) detektiert werden. Die Wechselwirkungen der kationischen Tenside mit den getesteten Säulenmaterialen stellten sich aber als so stark heraus, daß eine Elution nur mit vergleichsweise hohem Modifier-Anteil im wäßrigen Fließmittelsystem möglich war. Auch auf Dioxan/Wasser basierende Fließmittelgradienten, die mit dem Nachsäulen-Ionenpaarextraktionssystem nach Wolf et al. [134] besonders gut kompatibel sein sollen, führten nicht zum gewünschten Erfolg. In noch stärkerem Maße als in der Normalphasenchromatographie ist hier die Fließmittelauswahl eingeschränkt, so daß ohne weiteren technischen Aufwand (z.B. Verdünnung der mobilen Phase nach der Trennung unter Verlust an Empfindlichkeit) kein geeignetes Trennsystem (Fließmittel/ Säule) gefunden werden konnte.

3.6.4 Einflüsse auf das Detektionssystem

Integrierte Spülfunktion

Mit zunehmender Verschmutzung der Anlage, die bereits nach wenigen Chromatogrammen einsetzt, kann es je nach Matrixbelastung der Injektionslösung zu deutlichen Peakverbreiterungen und damit zu verringerter Genauigkeit der Quantifizierung kommen. Außerdem reduziert sich die maximal erreichbare Phasentrenneffizienz (d.h. der Anteil der organischen Phase, der aus dem Phasenseparator in den Detektor transportiert wird) und damit die Stabilität des Systems. Wird die Anlage aber nach jedem Chromatogramm durch die integrierte Reinigungsfunktion gespült, so kann man bei Phasentrenneffizienzen von 60 - 70% mit genügender Systemstabilität reproduzierbar quantifizieren.

Abb. 3-17 zeigt die Wirkung der integrierten Spülfunktion, indem vier aufeinanderfolgende Chromatogramme des Tensid-Standardgemisches aufgenommen wurden, bei denen erst nach dem dritten Chromatogramm die Spül- und Äquilibrierungssequenz aktiviert wurde.

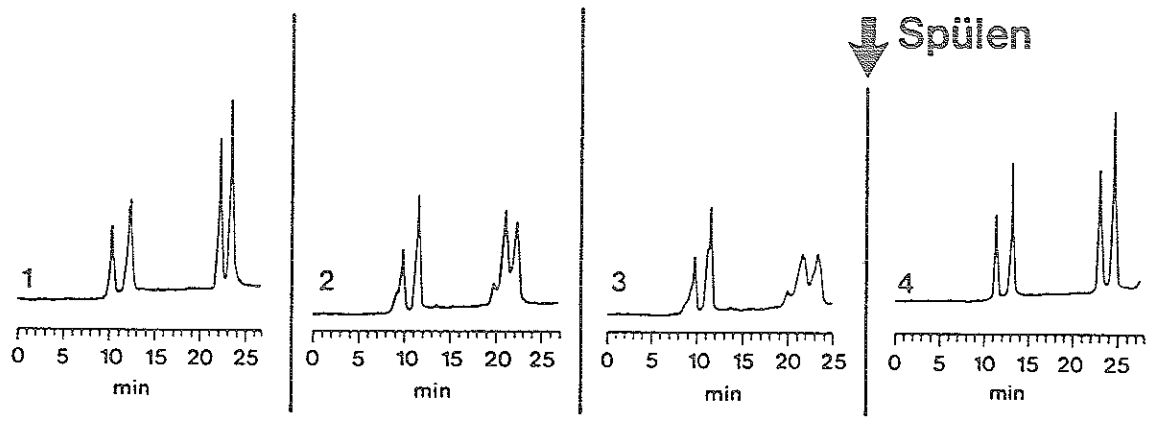


Abb. 3-17. Wirkung der integrierten Spülfunktion.
- Aufeinanderfolgende Chromatogramme eines Gemisches von Alkylammoniumverbindungen. - Injektionsmengen: jeweils 100 ng; Substanzen (von links nach rechts): N-18-18, N-12-12, N-18, N-12. 1-3 Ohne Aktivierung der Spülfunktion; 4 Nach Aktivierung der Spülfunktion. HPLC-Bedingungen: siehe Abschnitt 5.3.5.

Reagenzkonzentration

Die extrahierte Menge ungepaarten Farbstoffes ist neben der Zusammensetzung der mobilen Phase auch von der vorhandenen Menge an Farbstoff, also von der Reagenzkonzentration, abhängig. Wenn zu große Mengen an Farbstoff in die organische Phase gelangen, treten die bereits beschriebenen Probleme auf, d.h. die Empfindlichkeit und die Gradiententauglichkeit nehmen ab. Um die optimale Reagenzkonzentration zu finden, wurde das Detektorsignal in Abhängigkeit von diesem Parameter bei 3 verschiedenen Injektionsmengen der Modell-Substanz N-18-18 aufgenommen (20, 100 und 1000 ng).

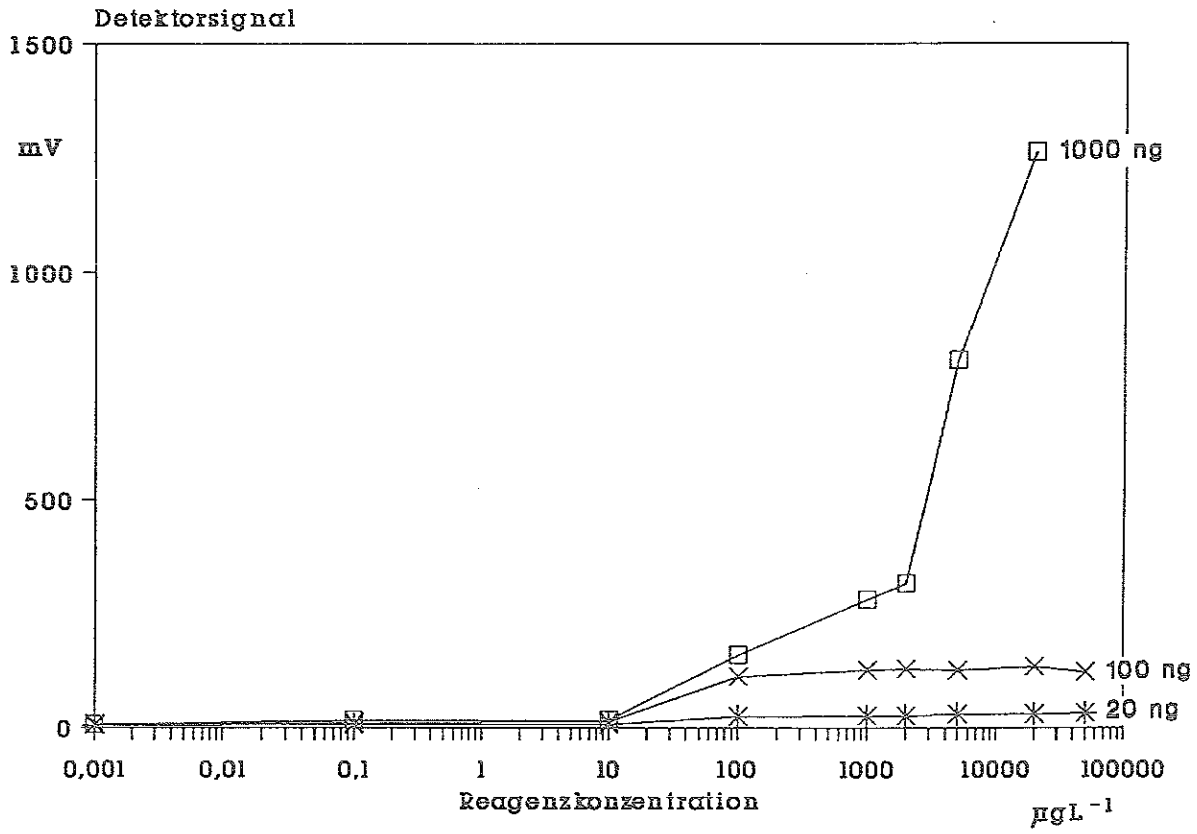


Abb. 3-18. Einfluß der Reagenzkonzentration auf die Signalhöhe. -Injektion: 3 verschiedene Mengen N-18-18. Jeweils Einfachbestimmungen. HPLC-Bedingungen: siehe Abschnitt 5.3.5.

Wie Abb. 3-18 zeigt, bestimmt die zur Ionenpaarbildung zur Verfügung stehende Menge DAS bei kleinen Verhältnissen von DAS zu kationischem Tensid die Signalhöhe, während bei der umgekehrten Situation das Detektorsignal hauptsächlich von der Menge kationischem Tensid bestimmt wird, wie es für eine verläßliche Quantifizierung notwendig ist. Im Plateaubereich der Kurven ist ein genügend großer Überschuß an DAS vorhanden, um die signalerzeugende Ionenpaarbildung vollständig ablaufen und damit das resultierende Signal unabhängig von der Reagenzkonzentration werden zu lassen. Es muß also bei der Wahl der Reagenzkonzentration zwischen Empfindlichkeit und Gradiententauglichkeit einerseits und einem möglichst großen Meßbereich (für die Analytenmenge) andererseits ein Kompromiß

gefunden werden. Für den Arbeitsbereich an der Nachweisgrenze des Modell-Tensids N-18-18 (unterer ng-Bereich, absolut auf der Säule) wurde eine optimale DAS-Konzentration von 30 mgL^{-1} ermittelt. Mit dieser Reagenzkonzentration können Mengen im Bereich der Nachweisgrenze (etwa 1 ng) bis zu einigen hundert Nanogramm N-18-18 (absolut auf der Säule) quantifiziert werden. Bei größeren Mengen muß entsprechend verdünnt werden (siehe auch Kalibrierkurve in Abb. 3-21, S. 77).

Extraktionskapillare und Detektorzuleitung

Die Funktionsweise der Extraktionskapillare beruht auf zwei Effekten: Einerseits muß genügend Zeit zur Verfügung stehen, um den Farbstoff in die organische Phase hinein zu transportieren und das Ionenpaar zu bilden, andererseits muß durch eine günstige Geometrie der Kontakt der beiden Phasen miteinander intensiviert werden. De Ruiter et al. [64] verwenden hierfür eine zu einer Helix gewundene Edelstahlkapillare (0,8 mm i.D.). Zur Minimierung der Peakverbreiterung (verursacht durch das Totvolumen dieser Kapillare) und zur Maximierung der Extraktionsausbeute wurden diese und verschiedene alternative Anordnungen untersucht. Eine mit feinen Glaskugeln gefüllte kurze Edelstahlsäule sollte den beiden Phasen eine große Kontaktfläche bieten und somit die Extraktionsausbeute erhöhen. Diese lieferte im Experiment jedoch keine größeren Signalhöhen oder -flächen, sondern nur sehr breite Signale (Peaks). Da diese außerdem ein deutliches Tailing aufwiesen, ist zu vermuten, daß für die Peakverbreiterung im wesentlichen Adsorptionseffekte der Analyten an das Glasmaterial (negative Oberflächenladungen!) verantwortlich sind. Kapillaren mit kleinerem Innendurchmesser als in der Literaturvorlage sollten eine geringere Peakverbreiterung (geringeres Totvolumen) erwarten lassen. Da wegen der konstanten Flußrate aber zwangsläufig weniger Zeit zur Ionenpaarbildung zur Verfügung steht, könnte die Extraktionsausbeute sinken. Kapillaren mit kleineren Innendurchmessern (0,5 und 0,25 mm) unterschieden sich aber weder in der Signalhöhe oder -fläche noch in der Peakverbreiterung wesentlich von der literaturbekannten Anordnung [64].

Weitere Experimente zeigten allerdings, daß in Abhängigkeit vom Material der Extraktionskapillare unterschiedliche Äquilibrierungszeiten und vorhergehende Tensidinjektionen die spätere Signalerzeugung beeinflussen können ("Memory-Effekt"). Auch De Ruiter et al. [64] berichten in diesem Zusammenhang über die Notwendigkeit der Injektion großer Mengen Analyt (10 µg N-18-18) zu Beginn einer jeden Analysenserie, jedoch ohne die Ursache dafür im Detail aufklären zu können. Da solch eine Maßnahme das Vertrauen in die Quantifizierung unbekannter Proben, die nur einen Bruchteil dieser Menge enthalten, einschränkt, wurden die Zusammenhänge im Experiment untersucht.

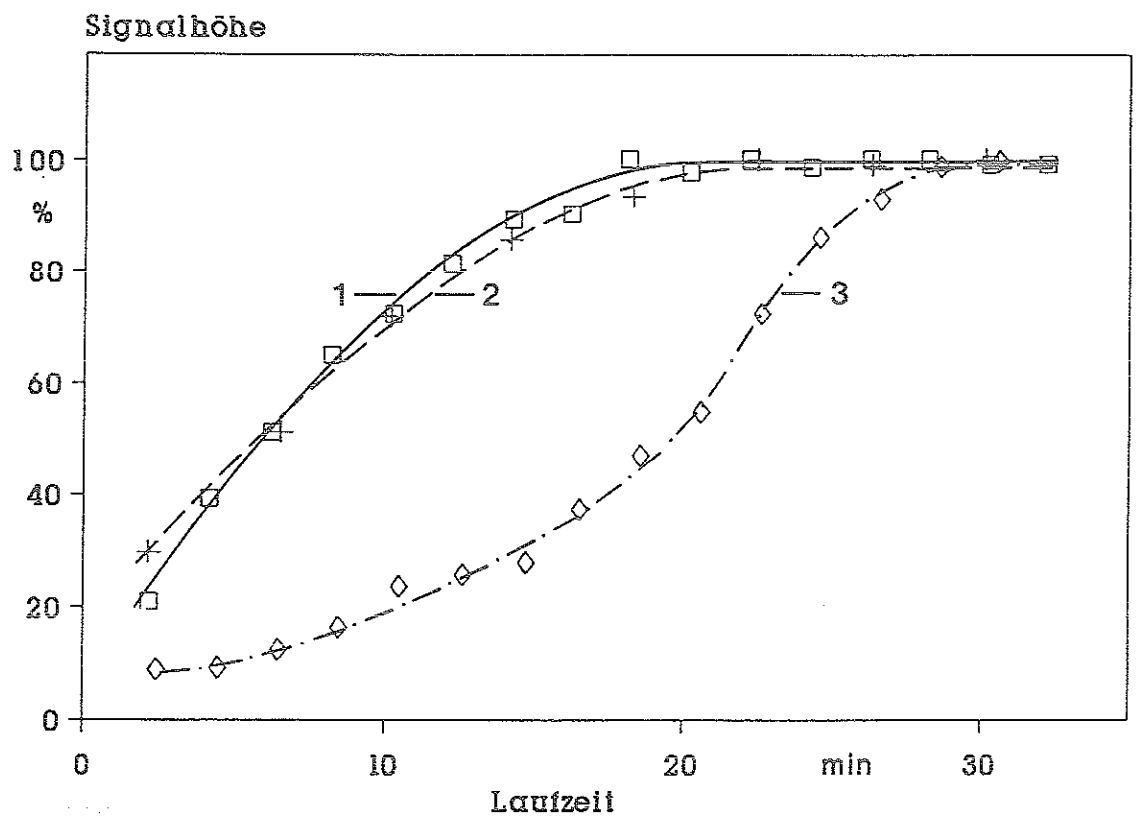


Abb. 3-19. Zeit- und Tensidmengenabhängigkeit des Detektorsignals bei verschiedenen Materialien der Mischkapillare.
1 (——) Mischkapillare aus PTFE; Injektionen alle 2 min.
2 (— —) Mischkapillare aus PTFE; Injektionen alle 4 min.
3 (—·—) Mischkapillare aus Edelstahl; Injektionen alle 2 min.
Injektionsmengen: jeweils 100 ng N-18-18. Mischkapillare: 1000 mm x 0,50 mm. Detektorkapillare: 750 mm x 0,30 mm, Edelstahl. HPLC-Bedingungen: siehe Abschnitt 5.3.5.

Dazu wurde, beginnend mit dem Start der Reagenzpumpe, alle 2 min eine Dosis von je 100 ng N-18-18 unter isokratischen Bedingungen (bei einer Retentionszeit von etwa 2 min) injiziert und die erzeugte Signalhöhe aufgezeichnet. Die Kurven 1 und 3 in Abb. 3-19 zeigen die so ermittelte kombinierte Zeit- und Tensidmengenabhängigkeit des Detektorsignals bei verschiedenen Materialien der Mischkapillare. Es ist zu erkennen, daß die volle Wirksamkeit bei Edelstahl deutlich später als bei PTFE erreicht wird. Ersetzt man auch die Edelstahlleitung zum Detektor durch eine PTFE-Kapillare, so läßt sich eine zeitliche oder tensidmengenabhängige Verzögerung in der Signalerzeugung kaum noch feststellen (Abb. 3-20).

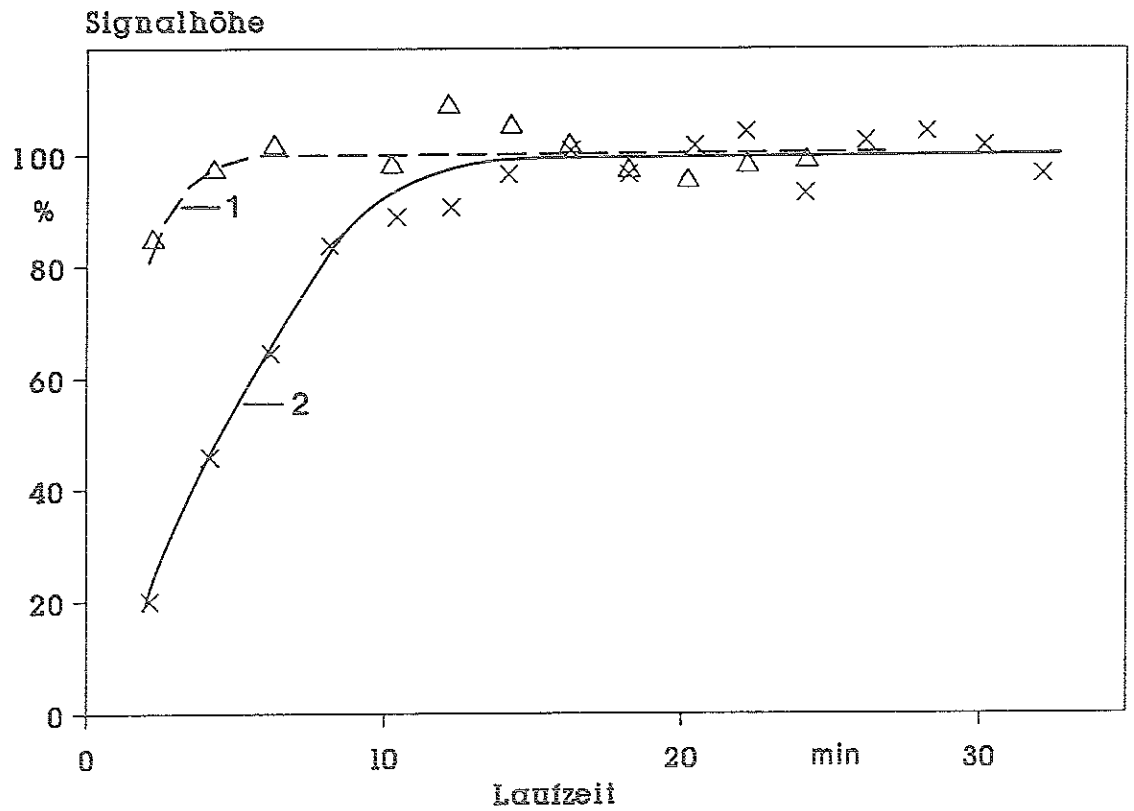


Abb. 3-20. Zeit- und Tensidmengenabhängigkeit des Detektorsignals bei verschiedenen Materialien der Detektorkapillare.
1 (– –) Detektorkapillare aus PTFE.
2 (——) Detektorkapillare aus Edelstahl.
Injektionen alle 2 min: jeweils 100 ng N-18-18. Mischkapillare: 1000 mm x 0,50 mm, PTFE. Detektorkapillare: 750 mm x 0,30 mm. HPLC-Bedingungen: siehe Abschnitt 5.3.5.

Aus diesen Ergebnissen läßt sich schließen, daß unterschiedliche Materialien der Mischkapillare und der Detektorzuleitung eine verschiedene zeitliche Verzögerung der Signalerzeugung bewirken. Darüber hinaus hängt das Detektorsignal bei der Verwendung von Stahlkapillaren wesentlich von der Menge des bereits durchgeströmten Kationtensids ab. Erst nach Durchfluß einer genügenden Menge Kationtensid und/oder DAS geht die Detektorsignal/Laufzeit-Kurve in ein Plateau über. Dieser erstaunlich große Materialeinfluß läßt vermuten, daß die Bildung der fluoreszierenden Ionenpaare zumindest teilweise über Austauschprozesse an der inneren Kapillaroberfläche abläuft und daß die Geschwindigkeit dieser Prozesse von deren Material abhängig ist. Vermutlich erfolgt eine Belegung der inneren Oberfläche der Stahlkapillaren mit den Analyten bzw. dem Farbstoff. Die Anlage wäre so für eine zuverlässige Analytik im Bereich kleiner Konzentrationen ungeeignet. Die Kurve 1 in Abb. 3-20 zeigt aber, daß dieser Effekt bei ausschließlicher Verwendung von PTFE-Kapillaren unter den gewählten Bedingungen nicht zu beobachten ist, so daß dieses Material für die weitere Verwendung ausgewählt wurde.

3.6.5 Kalibrierung und Empfindlichkeit

Nach Optimierung aller experimentellen Parameter wurde eine Kalibrierkurve der Modell-Substanz N-18-18 aufgenommen. Um eventuelle zeitliche Schwankungen in der Signalerzeugung auszugleichen, wurde N-12-12 als Kontroll-Standard, d.h. als Standard nur für das Endbestimmungsverfahren, getestet. Abb. 3-21 zeigt die Kurven ohne Verwendung (a) und mit Verwendung des Kontroll-Standards (b) im Bereich von 1 - 100 ng N-18-18.

Abb. 3-21. Kalibrierkurven von N-18-18. - a) ohne Verwendung eines Kontrollstandards; b) mit N-12-12 als Kontrollstandard. Höhe bzw. Höhenverhältnis N-18-18/N-12-12 des Fluoreszenzsignals in Abhängigkeit von der Menge N-18-18. Injektionsmenge N-12-12: 100 ng. Dreifachbestimmungen. HPLC-Bedingungen: siehe Abschnitt 5.3.5.

Abb. 3-21 a)

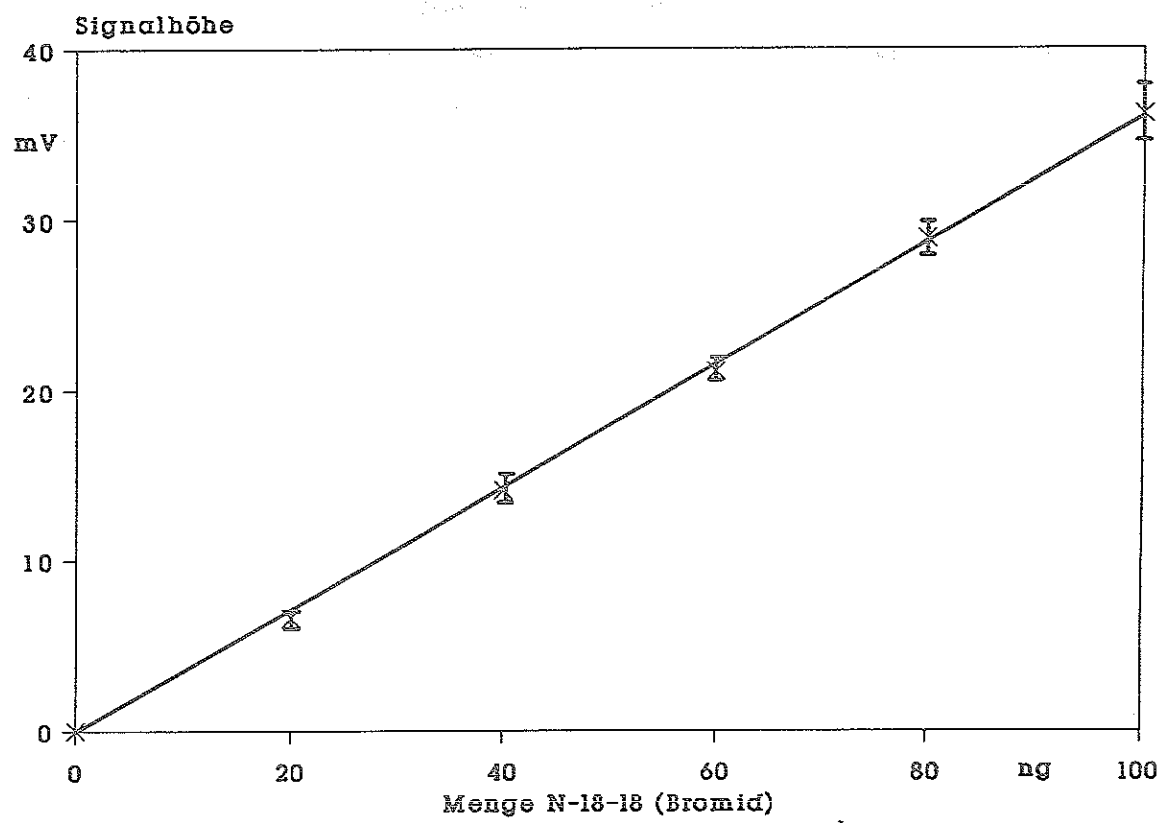
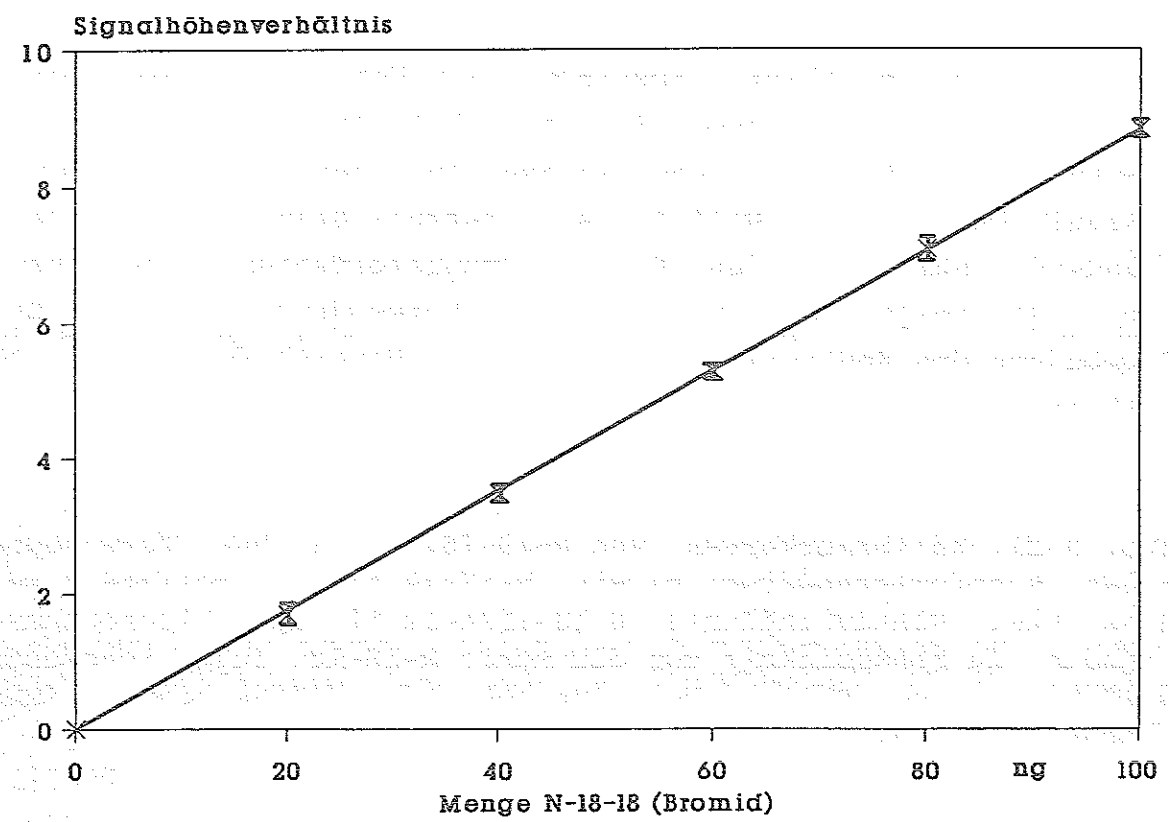


Abb. 3-21 b)



Es zeigt sich, daß die Signalhöhe der injizierten Substanzmenge im Bereich von 1 bis 100 ng proportional ist, obwohl dies aufgrund der komplexen Vorgänge, die zur Signalerzeugung führen, nicht unbedingt zu erwarten ist. Außerdem führt die Quantifizierung über das Höhenverhältnis zum Kontrollstandard N-12-12 zu deutlich niedrigeren Streubreiten der Werte, so daß dessen Einsatz sich als sinnvoll erwiesen hat.

Die Bestimmungsgrenze für N-18-18 liegt bei 2 ng (Signal/Rausch-Verhältnis S/N = 10), die Nachweisgrenze bei 0,7 ng (S/N = 3). Im Vergleich zu Endbestimmungsverfahren, die mit anderen Detektionsprinzipien möglich sind, liegen diese Werte somit um mehr als zwei Zehnerpotenzen niedriger.

3.7 Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystem zur Bestimmung aliphatischer anionischer Tenside mit HPLC

3.7.1 Vorbemerkungen

Analog zur Bestimmung aliphatischer kationischer Tenside bietet sich zur empfindlichen Detektion aliphatischer anionischer Tenside im Anschluß an die HPLC-Trennung die on-line Dosierung von entgegengesetzt geladenen Farb- bzw. Fluoreszenzfarbstoffen mit anschließender Ionenpaarextraktion an. Auch hier liegt das gleiche Prinzip zugrunde wie der direkten Quantifizierung der anionischen Tenside über die in Abschnitt 2.4 beschriebene klassenspezifische Farbreaktion (MBAS-Bestimmung).

Die Ankopplung der RP-Chromatographie bzw. die Fließinjektionsanalyse in wäßrigen Fließmitteln (also RP-Fließmitteln) an dieses Verfahren ist in der Literatur beschrieben worden [66, 68] . Kopplungen dieser Technik mit der NP-Chromatographie sind zwar bekannt, jedoch in der Anwendungsbreite sehr eingeschränkt [69].

3.7.2 Auswahl geeigneter Farbstoffe

Um eine optimale Detektion zu ermöglichen, muß das Tensid-Farbstoff-Ionenpaar einerseits im wäßrig-organischen

Zweiphasensystem möglichst vollständig in der organischen Phase vorliegen, aber andererseits soll der Farbstoff selbst nur in minimalem Maße dort löslich sein. Dieses Verhalten hängt wesentlich von den Eigenschaften des kationischen Farbstoffes ab. Für die üblichen Off-line-Verfahren, bei denen das Ionenpaar durch Extraktion aus wäßriger Lösung isoliert wird, sind zahlreiche geeignete Farbstoffe bekannt [97]. Zur sinnvollen Kopplung dieses Prinzips mit der HPLC muß eine der beiden Phasen als mobile Phase zur Trennung der Komponenten eines Stoffgemisches geeignet sein sowie auch unter HPLC-Bedingungen eine ausreichende Empfindlichkeit erreicht werden, die den technischen Aufwand rechtfertigt.

Im Experiment wurden verschiedene Farbstoffe sowohl off-line, d.h. mit einem Extraktions-Verfahren, als auch gekoppelt an das HPLC-System auf ihre Eignung hin untersucht. Als Testsubstanz wurde Natrium-dodecylsulfat (C12-SO4), als wäßrige bzw. organische Phase wurden jeweils literaturbekannte Medien verwendet (siehe Tab. 3-8). Die Untersuchung der On-line Kopplung wurde in einer Normalphasenanordnung entsprechend Abb. 3-14 (S. 66) durchgeführt, wie sie für die aliphatischen kationischen Tenside verwendet wurde. Allerdings wurde das Experiment ohne Einbau einer Trennsäule durchgeführt, also quasi als Fließinjektionsanalyse (experimentelle Parameter siehe Abschnitt 5.3.5). Durch sukzessives Verdünnen der Injektionslösung unter gleichzeitiger Anpassung der Reagenzkonzentration wurde die jeweilige Nachweisgrenze empirisch ermittelt. Tab. 3-8 zeigt die Ergebnisse.

Es ist bekannt, daß die spektrophotometrischen Eigenschaften des gebildeten Ionenpaares je nach Medium, Farbstoff und Tensid von denen des reinen Farbstoffes abweichen können [135, 136]. Da diese Verschiebungen auch bei kleinsten Konzentrationen auftreten, ist Mizellbildung als Ursache für diesen Effekt ausgeschlossen. Sehr wahrscheinlich wird die Abweichung durch intermolekulare Wechselwirkungen verursacht. Zur Ermittlung der optimalen Anregungs- und Emissionswellenlängen wurden deshalb entsprechende Spektren des Ionenpaares im laufenden Analysensystem aufgenommen. Die Meßwellenlängen für die entsprechenden Ionenpaare, die in der Literatur angegeben sind, wurden als Ausgangswerte für die Optimierung verwendet.

Tab. 3-8. Eigenschaften verschiedener Substanzen bei der Anwendung zur Nachsäulen-Ionenpaar-Detektion von anionischen Tensiden. Systemaufbau: Normalphasen-HPLC ohne Trennsäule. Mobile Phase: Isopropanol/Toluol 2/8. Messung bei optimierten bzw. literaturbekannten Wellenlängen. FL=Fluoreszenz; L=Lichtabsorption.

Substanz	Detektionsprinzip	Nachweisgrenze[a]	Kopplungsprobleme
		ng	
Methylenblau [66, 130, 137]	L	3000	
Rhodamin B [138]	FL	100	korrosive Reagenzlösung (pH<1)
Rhodamin G6 [139]	FL	100	
Acridinorange [140, 141]	FL	>10000	übermäßige Farbstoffextraktion
Dimidiumbromid [142]	L	10000	
Ethylendiamin-Kupferkomplex [143, 144]	L	>10000	technisch nur sehr schlecht realisierbar
CTBI[b] [140, 145]	FL	1	

[a] Testsubstanz: Natriumdodecylsulfat.
[b] 1-Cyano-[2-(2-trimethylammonio)ethyl]benz[f]isoindol

Im Vergleich zu den kommerziell erhältlichen Farbstoffen stellte sich das CTBI (1-Cyano-[2-(2-trimethylammonio)ethyl]-benz[f]isoindol), das selbst vergleichsweise leicht synthetisch zugänglich ist [131], als sehr empfindlich und für die Kopplung gut geeignet heraus. In der Literatur wurde dieser Stoff zur Bestimmung von Phenoxyessigsäurederivaten mit einem Nachsäulen-

Ionenpaar-Extraktionssystem vorgeschlagen [131]. Andere literaturbekannte Farbstoffe mit einer vergleichbaren Empfindlichkeit, wie z.B. Amino-aryl-azo-pyridin-derivate [146, 147] und Phenyl-zimtsäurenitril-farbstoffe [148], müssen vergleichsweise aufwendig synthetisiert werden und wurden daher nicht weiter in Betracht gezogen.

3.7.3 Aufbau und Funktionsweise

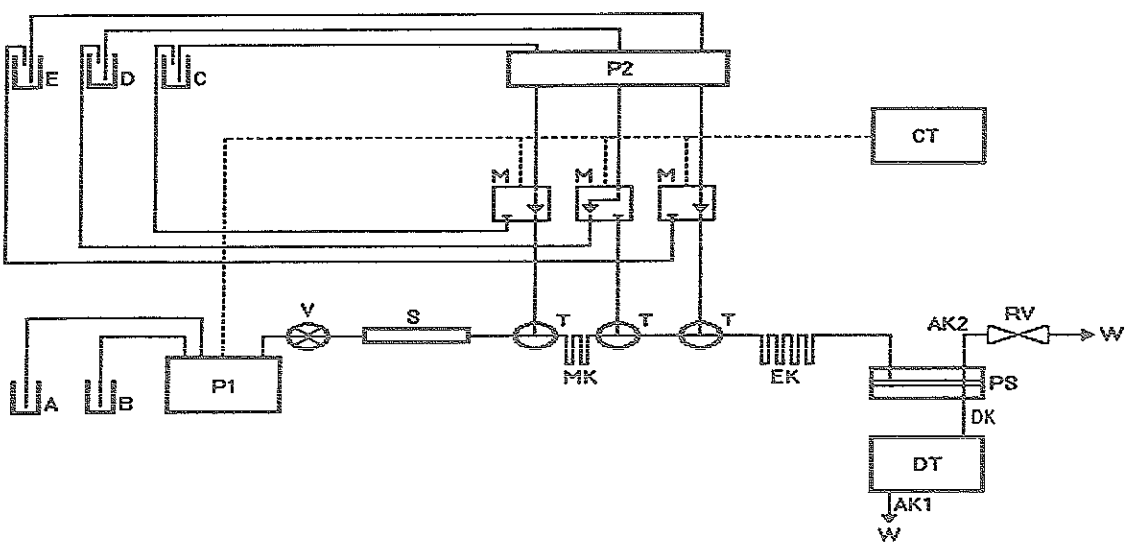


Abb. 3-22. Aufbau des Systems. - A Fließmittel A; AK1 Abfallkapillare; AK2 Abfallkapillare; B Fließmittel B; C Reagenzlösung; D Methanol; DK Detektorkapillare; DT Fluoreszenzdetektor; E Chloroform; EK Extraktionskapillare; M Magnetventil; MK Mischkapillare; P1 HPLC-Gradientenpumpe; P2 3-Kanal-Reagenzpumpe; PS Phasenseparator; RV Regulierventil; S HPLC-Trennsäule; T T-Verbindungs-Stück; V Injektionsventil; W Abfall.

Da Versuche, ein geeignetes Trennsystem (Fließmittel/Säule) in der NP-Chromatographie auch für die anionischen Tenside aufzubauen, erfolglos blieben, wurde eine Anordnung für die Kopplung der RP-Chromatographie mit der Ionenpaarextraktion realisiert. Dazu wurde die bereits für die kationischen Tenside

konstruierte Anlage entsprechend ergänzt und umgebaut, so daß sowohl anionische als auch kationische Tenside damit bestimmt werden können. Zum Wechsel zwischen den beiden Anwendungsbereichen sind nur geringe Umbauten (Extraktionskapillare, Fließmittel, Säule und Reagenzlösung) erforderlich. Abb. 3-22 zeigt den Aufbau des Systems.

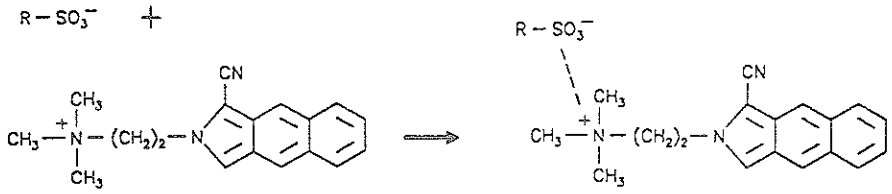


Abb. 3-23. Bildung fluoreszierender Ionenpaare.

In der hier realisierten Anordnung für die Umkehrphasenchromatographie wird die Reagenzlösung (C) direkt hinter der Trennsäule zudosiert. In der Mischkapillare (MK) mischt sich die Reagenzlösung (C) mit der mobilen Phase, so daß sich während der Elution anionischer Tenside Ionenpaare bilden (Abb. 3-23). Nach Zugabe von Chloroform als Extraktionsmittel (E) erfolgt die Extraktion des Ionenpaares in der Extraktionskapillare (EK) und anschließend die Phasentrennung.

Entsprechend den Erfahrungen mit dem Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystem zur Bestimmung aliphatischer kationischer Tenside sollte die integrierte Reinigungsfunktion auch bei der Bestimmung anionischer Tenside entsprechend vorteilhaft sein (siehe Abschnitt 3.6.4). Durch die Verwendung von Magnetventilen, angesteuert über das Zeitprogramm des Fließmittelgradienten, läuft die Reinigungsprozedur vollautomatisch ab (Steuerprogramm siehe Tab. 3-18, S. 145). Zur Reinigung des Systems wird nach Aufnahme eines Chromatogrammes für 2 min Methanol durch die Anlage gefördert. Anschließend wird zum Entfernen des Methanols und zur Benetzung des Phasenseparators 2 min lang mit Chloroform gespült. Nach Aktivierung der Förderung der wäßrigen Reagenzlösung bildet sich das Zweiphasensystem aus, und nach einer Minute wird die

HPLC-Pumpe eingeschaltet. Das System ist dann nach weiteren 2 min Äquilibrierungszeit wieder zur Injektion bereit.

3.7.4 Chromatographische Trennung und Kopplung mit dem Detektionssystem

Normalphasen-HPLC

Zur Detektion von anionischen Tensiden in Normalphasen-fließmitteln muß die wäßrige Reagenzlösung hinter der Trennsäule zudosiert werden. Während der Elution der Tenside bilden sich fluoreszierende Ionenpaare, die zum überwiegenden Teil in die organische Phase übergehen.

Ohne Verwendung einer Trennsäule konnte im Experiment C12-SO4 zwar mit einer Nachweisgrenze von 1 ng (Signal-/Rausch-Verhältnis = 3) detektiert werden, doch ließ sich an keiner der getesteten Chromatographiesäulen eine akzeptable Trennung für ein Gemisch anionischer Tenside realisieren. Offenbar ist hier die Fließmittelauswahl dermaßen eingeschränkt, daß ohne weiteren technischen Aufwand (z.B. Verdünnung der mobilen Phase nach der Trennung unter Verlust an Empfindlichkeit) kein geeignetes Trennsystem gefunden werden konnte. Wie bereits diskutiert (Abschnitt 3.6.3), gilt bei der HPLC prinzipiell, daß die RP-Chromatographie zur Trennung von Substanzgemischen nach der Länge der Alkylkette leistungsfähiger ist als die NP-Chromatographie. Deshalb wurde die Normalphasentechnik zur Trennung anionischer Tenside nicht weiter untersucht.

Umkehrphasen-HPLC

Bei der Kopplung mit der Umkehrphasenchromatographie besteht das Hauptproblem im Gehalt an vergleichsweise polaren, organischen Lösemitteln (z.B. Methanol oder Acetonitril) im Eluenten [66, 123, 149]. Diese gehen teilweise in das Extraktions-mittel über, so daß die Löslichkeit für den kationischen Fluoreszenzfarbstoff CTBI dort zunimmt. Die Situation ist in gewisser Hinsicht mit der Situation bei der NP-Chromatographie kationischer Tenside vergleichbar. In beiden Fällen stören die Anteile polarer Modifier in der organischen Phase, da sie dort die Löslichkeit des ungepaarten Farbstoffes verbessern. Als

Folge davon treten die in diesem Zusammenhang bereits beschriebenen Probleme auf, d.h. die Empfindlichkeit und die Gradiententauglichkeit nehmen ab. Aus diesen Gründen ist es notwendig, nach der Trennsäule Wasser zum Eluat zuzudosieren, um den Modifiergehalt ausreichend klein zu halten. Dieses Wasser läßt sich gleichzeitig als Lösemittel für den Fluoreszenzfarbstoff CTBI nutzen. Um die notwendige Dosierung von Wasser möglichst gering zu halten und damit übermäßige Einbußen in der Empfindlichkeit des Verfahrens zu vermeiden, wurden für die Trennung anionischer Tenside RP1-Säulen verwendet, welche geringere Modifiergehalte als RP8- oder RP18-Säulen erfordern. Die Unterschiede bei der HPLC-Trennung anionischer Tenside mit diesen Säulenmaterialien wurden bereits im Zusammenhang mit dem Trennverfahren für lineare Alkylbenzolsulfonate diskutiert (siehe Abschnitt 3.5.4).

Neben dem Gehalt an organischem Modifier im Fließmittel stören außerdem organische Anionen, wie sie in der Ionenpaar-chromatographie [122, 125, 150] verwendet werden, und andere Elektrolyten, denn einige Anionen sind in der Lage, nennenswerte Mengen des Farbstoffes als Ionenpaar zu binden und damit extrahierbar zu machen. Dies führt zu den gleichen nachteiligen Effekten wie bei den organischen Modifiern bereits diskutiert. Ohne den Zusatz von Elektrolyten lassen sich organische Ionen in der RP-Chromatographie aber nur sehr schlecht chromatographisch voneinander trennen und die Retentionszeiten sind kaum reproduzierbar, denn diese hängen dann stark vom Elektrolytgehalt der Injektionslösung ab. Außerdem bieten die Elektrolyte im Fließmittel eine gute Möglichkeit, das Trennverhalten zu steuern und zu optimieren. Da sich auf einen Elektrolytzusatz also kaum verzichten läßt, wurden verschiedene Salze, Fließmittel und RP-Säulen auf ihre Eignung hin getestet [66, 122, 123, 149, 150, 151]. Mit der Fließmittelkombination Methanol/Wasser/Natriumperchlorat ließen sich zwar mit einem Methanolgradienten gute Trennungen aufbauen [66, 151], jedoch waren die erreichbaren Nachweis- und Bestimmungsgrenzen noch nicht überzeugend. Dies lag sehr wahrscheinlich an der Bildung extrahierbarer Ionenpaare von CTBI-perchlorat. Aceton/Phosphatpuffer mit Phosphatgradient nach Smedes et al. [68] führten dabei ebensowenig zum Erfolg wie

Methanol/Phosphatpuffer, sowohl als Methanolgradient wie auch als Phosphatgradient [68, 123]. Sehr gute Resultate lieferte dagegen das (vergleichsweise polare) Citrat in Kombination mit einem Acetonitril-Gradienten. Abb. 3-24 zeigt entsprechende Chromatogramme verschiedener Gemische anionischer Tenside.

Abb. 3-24 a)

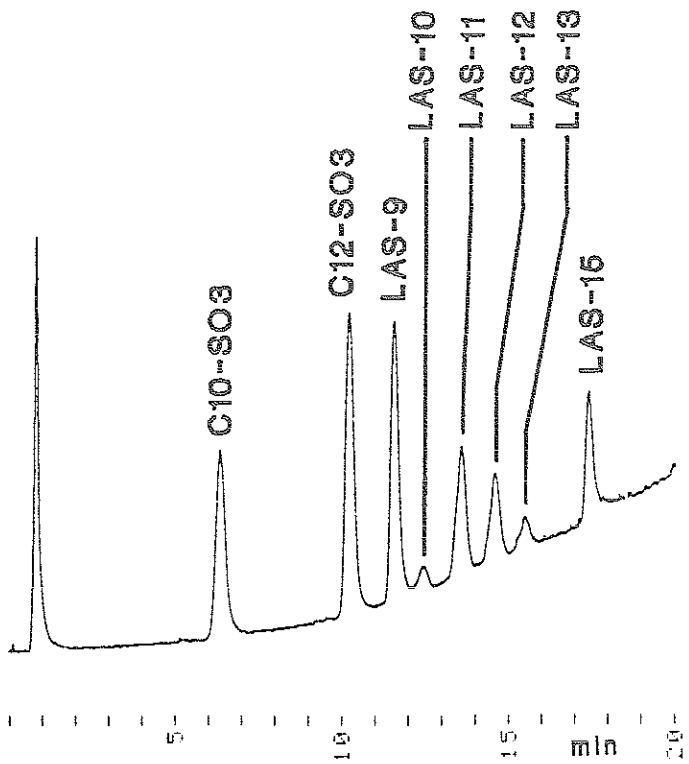


Abb. 3-24 b)

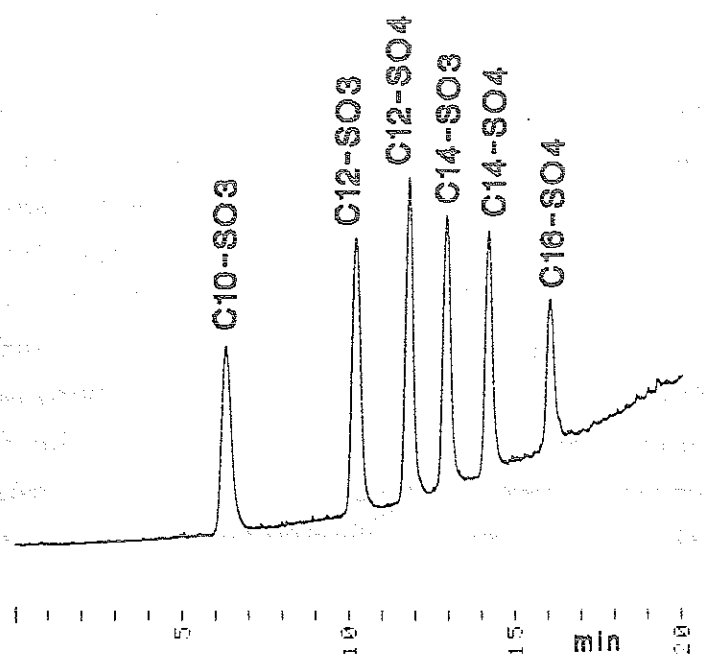


Abb. 3-24 c)

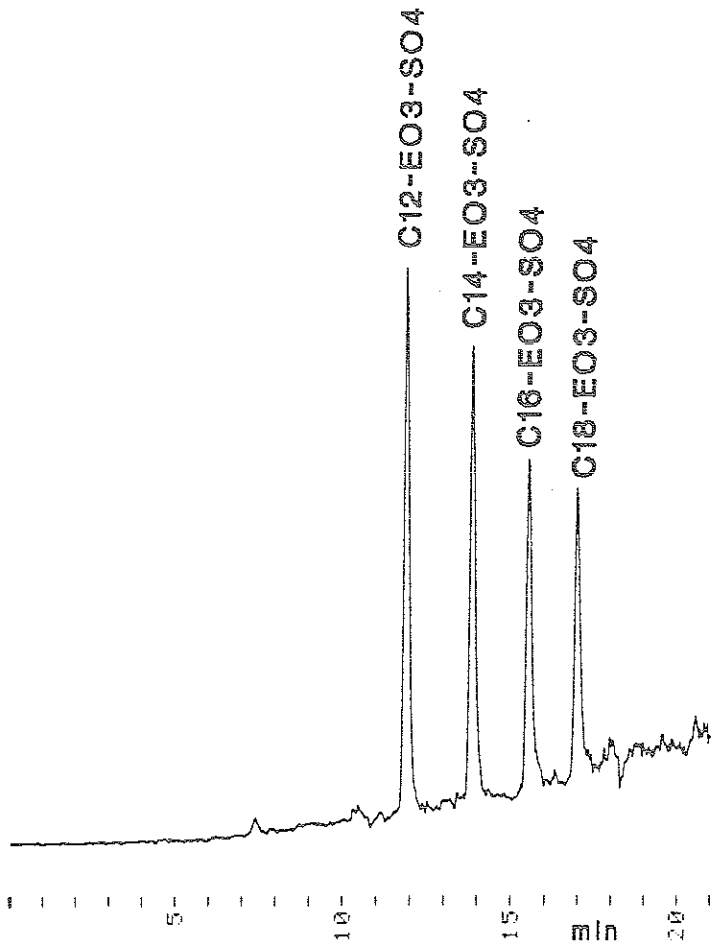


Abb. 3-24 d)

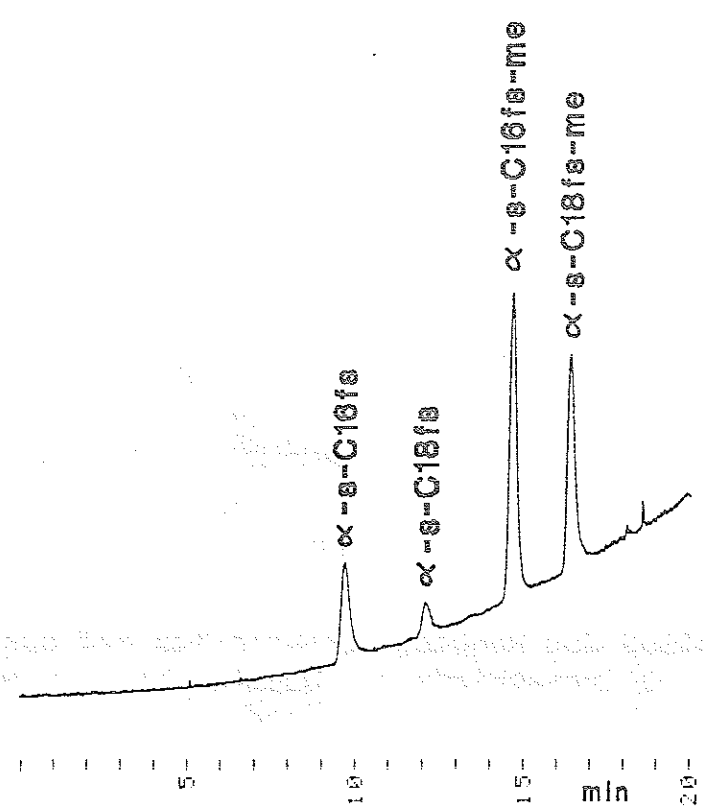


Abb. 3-24. Trennung verschiedener anionischer Tenside mit der HPLC.- a) Lineare Alkylbenzolsulfonate und Alkylsulfonate; b) Alkylsulfonate und Alkylsulfate; c) Alkylethersulfate; d) α-Sulfo-fettsäuren und α-Sulfo-fettsäuremethylester. Injektionsmengen: jeweils 100 ng. HPLC-Bedingungen: siehe Abschnitt 5.2.5. Akronyme: siehe Abschnitt 7.1.

3.7.5 Einflüsse auf das Detektionssystem

Reagenzkonzentration

Um die optimale Reagenzkonzentration zu finden, wurde das Detektorsignal in Abhängigkeit von diesem Parameter bei drei verschiedenen Injektionsmengen (20, 100 und 1000 ng) von Natrium-decylsulfonat aufgenommen (Abb. 3-25).

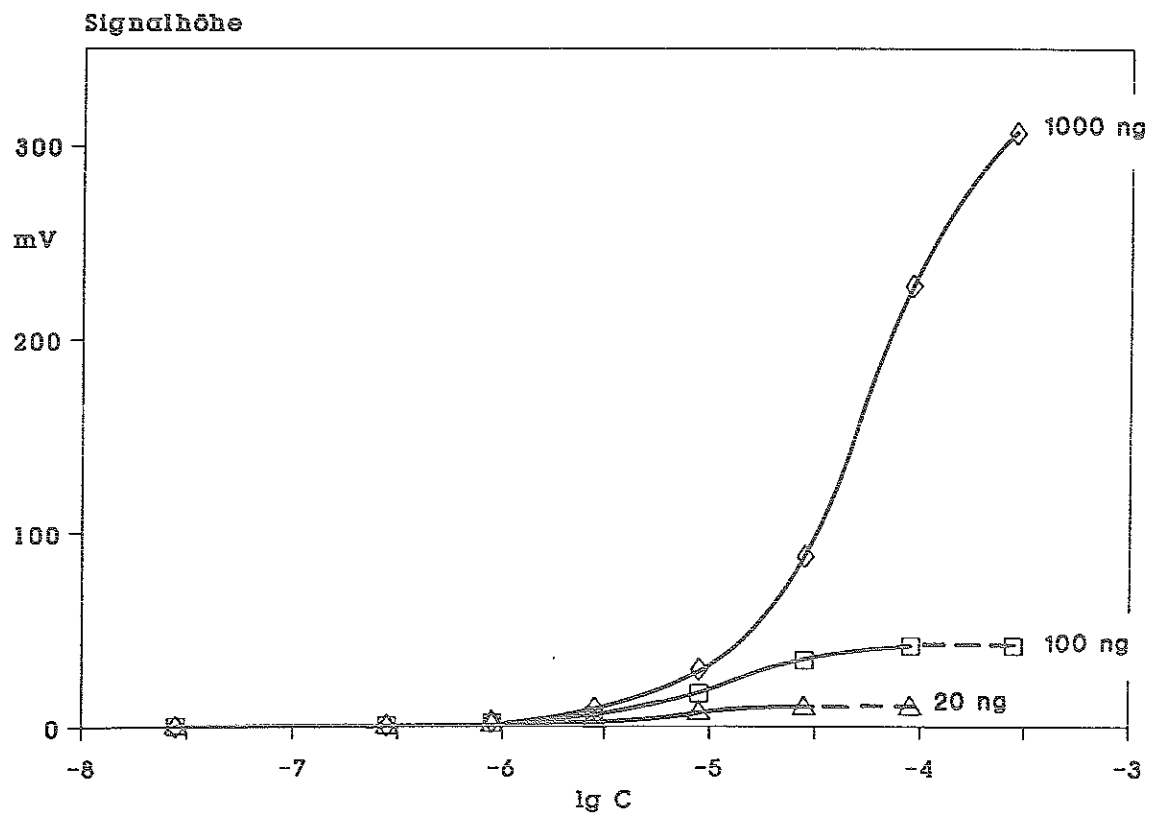


Abb. 3-25. Einfluß der Reagenzkonzentration auf die Signalhöhe. - Injektion: 3 verschiedene Mengen Natrium-decylsulfonat (C10-SO3). Einfachbestimmungen. C Reagenzkonzentration.

Es ergibt sich ein Kurvenverlauf analog zu den Verhältnissen bei der Bestimmung kationischer Tenside, so daß vermutlich die gleichen Prozesse zugrundeliegen, nur mit entgegengesetzten Ladungen der Moleküle. Da das Basislinienrauschen aufgrund der Extraktion ungepaarten CTBI's die zu erwartende Signalhöhe bei hohen Reagenzkonzentrationen und kleinen Analytmengen übersteigt, ist in diesem Bereich keine Messung mehr möglich (unterbrochene Linie in Abb. 3-25). Für den Arbeitsbereich an der Nachweisgrenze des Modelltensids Natrium-decylsulfonat wurde eine optimale CTBI-Konzentration von 14 µmol L^{-1} ermittelt.

Extraktionsmittel

De Ruiter [131] berichtet von einer deutlichen Verbesserung der Extraktion von Ionenpaaren bestehend aus Phenoxyessigsäurederviaten und CTBI durch Zusatz von Butanol zum Extraktionsmittel Chloroform. Deshalb wurde ein analoger Effekt bei der Bestimmung anionischer Tenside untersucht. Es zeigte sich allerdings, daß die Signalhöhe mit steigendem Butanolgehalt zwar geringfügig zunimmt, jedoch bei gleichzeitig stark zunehmendem Rauschen das Signal/Rausch-Verhältnis absinkt, so daß letztendlich durch den Butanolzusatz keine Verbesserung zu erreichen ist.

Extraktionskapillare

Die Experimente bei der Bestimmung kationischer Tenside hatten ergeben, daß einige Materialien der Extraktions- und der Detektorkapillare längere Äquilibrierungszeiten erfordern und "Memory-Effekte" auftreten können (siehe Abschnitt 3.6.4). Daher wurden solche Abhängigkeiten auch bei dieser Anordnung untersucht. Bei vier verschiedenen Materialien der Extraktionskapillare (Edelstahl, PTFE, PEEK und Tefzel) wurde, beginnend mit der Förderung des Extraktionsmittels Chloroform, alle zwei Minuten eine Dosis von je 100 ng C10-SO3 unter isokratischen Bedingungen (bei einer Retentionszeit von etwa 2 min) injiziert und die jeweils erzeugte Signalhöhe aufgezeichnet. Dabei konnten keine Zeitabhängigkeiten der Signalhöhe festgestellt werden. Allerdings zeigten sich Unterschiede in der erzeugten Signalhöhe und deren Schwankungsbreite. Edelstahl führte zu

auffallend geringen Signalhöhen und wurde daher nicht weiter untersucht. Mit PTFE-Kapillaren ließen sich die größten Signalhöhen erzielen, jedoch mit einer recht hohen Standardabweichung und sehr unruhiger Basislinie. Mit PEEK und Tefzel wurden akzeptable, etwa gleiche Signalhöhen bei sehr geringer Standardabweichung erzeugt. Da Tefzel einfacher zu einer Helix zu biegen ist, wurde dieses Material für die Standardkonfiguration ausgewählt.

Wegen der Proportionalität der Farbstoffmenge zur Signalfläche wurden einige Experimente unter Messung dieses Parameters durchgeführt. Mit der Modellsubstanz C10-SO3 wurde die Signalfläche in Abhängigkeit von der Länge einer Tefzel-Kapillare gemessen.

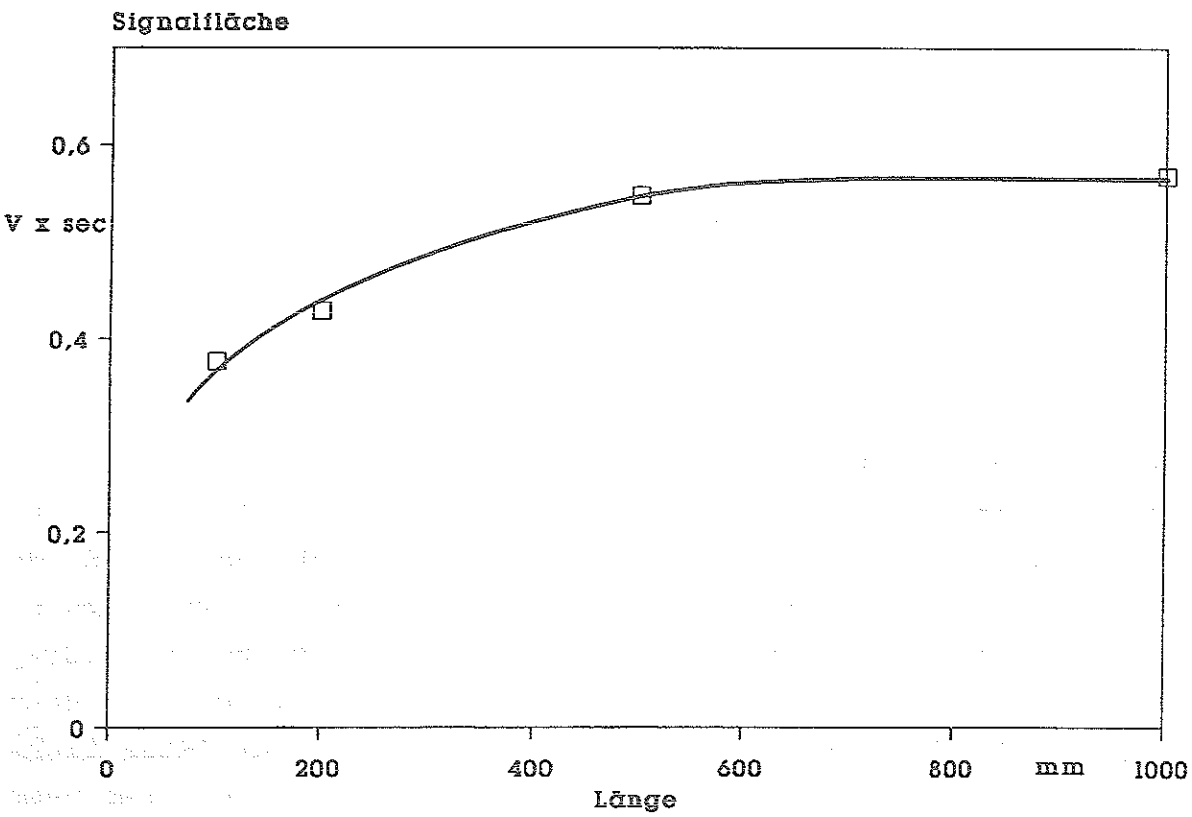


Abb. 3-26. Signalfläche als Funktion der Länge der Extraktionskapillare. - Injektionsmenge: 100 ng C10-SO3. Extraktionskapillare: Tefzel 0,5 mm i.D.. Einfachbestimmungen.

Wie Abb. 3-26 zeigt, reicht eine Länge von 500 mm bereits aus, um den maximalen Wert der Signalfläche zu erzielen. Offensichtlich können ab dieser Länge keine weiteren Mengen Ionenpaar gebildet bzw. extrahiert werden.

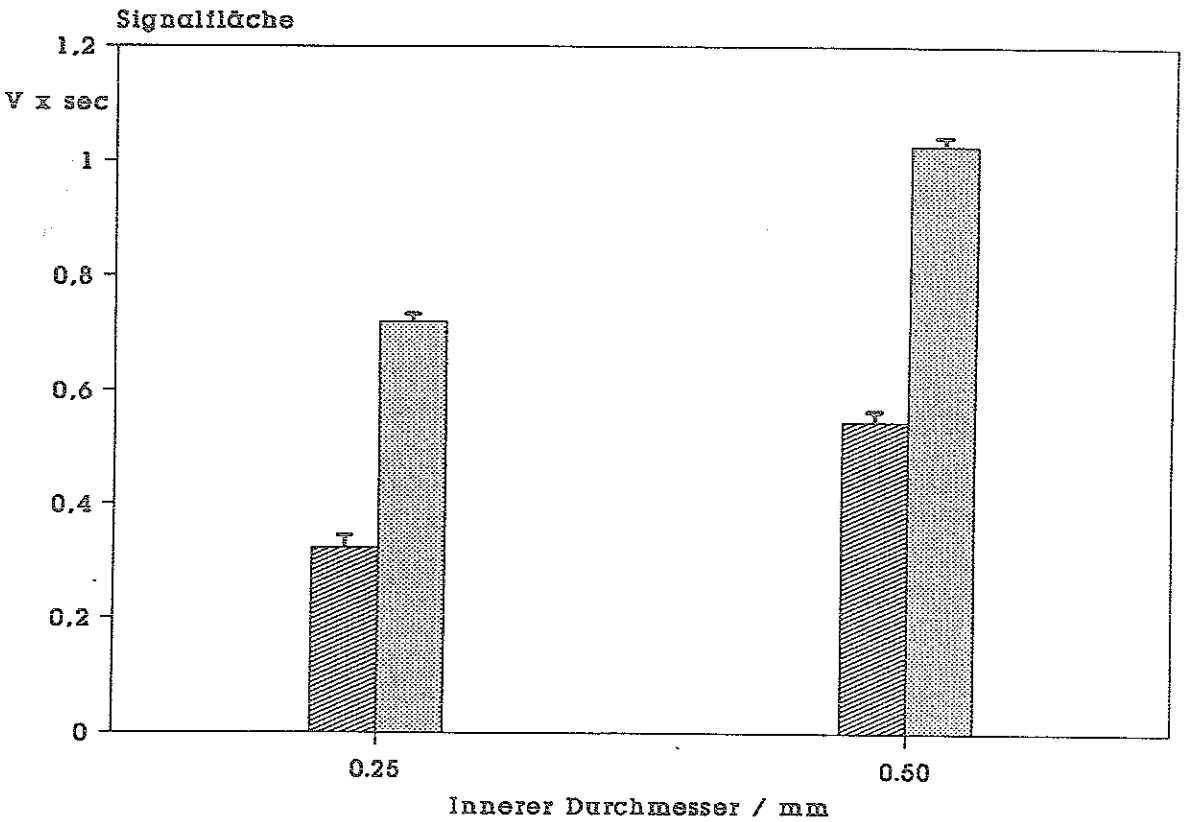


Abb. 3-27. Signalfläche bei unterschiedlichen inneren Durchmessern der Extraktionskapillare und verschiedenen Injektionsmengen. - Injektionsmenge C10-SO3: ▨ 100 ng; ▩ 1000 ng. Extraktionskapillare: Tefzel, Länge 500 mm, i.D.: 0,25 bzw. 0,5 mm. Vierfachbestimmungen.

Abb. 3-27 zeigt bei einer Kapillarenlänge von 500 mm die entsprechenden Signalflächen bei zwei verschiedenen Innendurchmessern der Kapillare (0,25 mm und 0,5 mm) und zwei verschiedenen Analytmengen (100 ng und 1000 ng C10-SO3). Mit dem größeren Innendurchmesser können mit beiden Analytmengen größere Signalflächen erzielt werden. Daraus läßt sich folgern, daß größere Mengen Ionenpaar gebildet bzw. extrahiert werden. Zu welchen Anteilen aber die innere Oberfläche der Kapillare

oder die für die Ionenpaarextraktion zur Verfügung stehende Zeit dieses beeinflußt, kann ohne einen erheblichen experimentellen Aufwand nicht festgestellt werden. Auch die verfügbare Menge an CTBI (Reagenzkonzentration und Flußrate) oder weitere Faktoren (Material der Kapillaren) könnten eine Rolle spielen. Die in der Extraktionskapillare für die Ionenpaarbildung zur Verfügung stehende Zeit ist wegen der konstanten Flußrate der inneren Querschnittsfläche der Kapillare proportional. Eine Verdopplung des Innendurchmessers führt somit zu einer Vervierfachung dieser Zeitspanne. Im Experiment führte die Verdopplung des Innendurchmessers sowohl bei 100 ng als auch bei 1000 ng Injektionsmenge aber nur zu etwa 1,5-fachen größeren Signalflächen, so daß folglich die Ionenpaarextraktion nicht quantitativ verläuft. Da außerdem eine Verzehnfachung der Analytmenge auch nicht zu einer Verzehnfachung der Signalfläche führt, ist anzunehmen, daß mehrere unbekannte Faktoren die Signalfläche beeinflussen.

Aus den genannten Gründen ist es notwendig, für einen vorgegebenen Arbeitsbereich der Analytmenge eine entsprechende Optimierung durchzuführen und die Systemkonfiguration während einer Analysenserie nicht zu verändern. Da die Quantifizierung der Analyten nur reproduzierbares Verhalten bei der Ionenpaarbildung und -extraktion voraussetzt, ist eine vollständige Ionenpaarbildung bzw. -extraktion nicht notwendig. Unabdingbar ist es allerdings, bei der Analyse nur innerhalb eines kalibrierten Bereiches (der Analytmenge) zu arbeiten.

3.7.6 Kalibrierung und Empfindlichkeit

Nach Optimierung aller experimentellen Parameter wurden Kalibrierkurven der Modell-Substanz C12-SO3 aufgenommen, mit und ohne Verwendung von C10-SO3 als Kontrollstandard (vgl. Abschnitt 3.6.5).

Abb. 3-28 a)

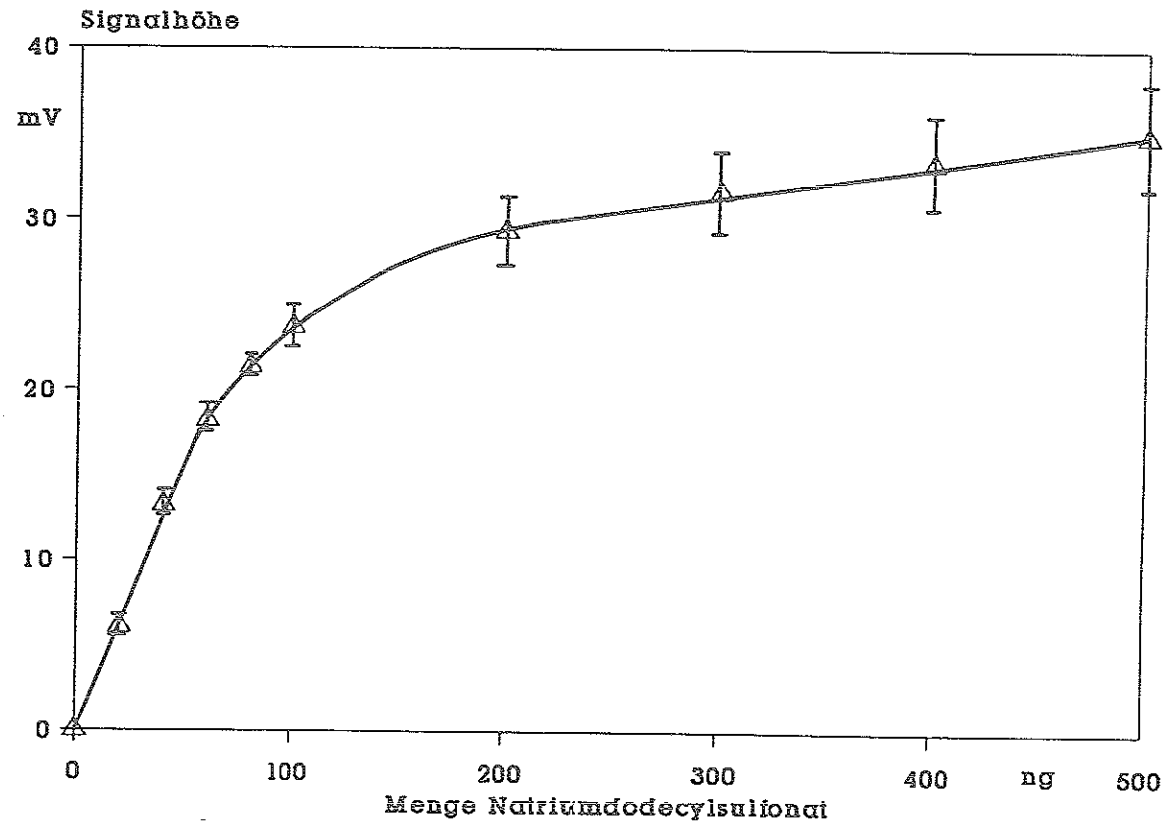


Abb. 3-28 b)

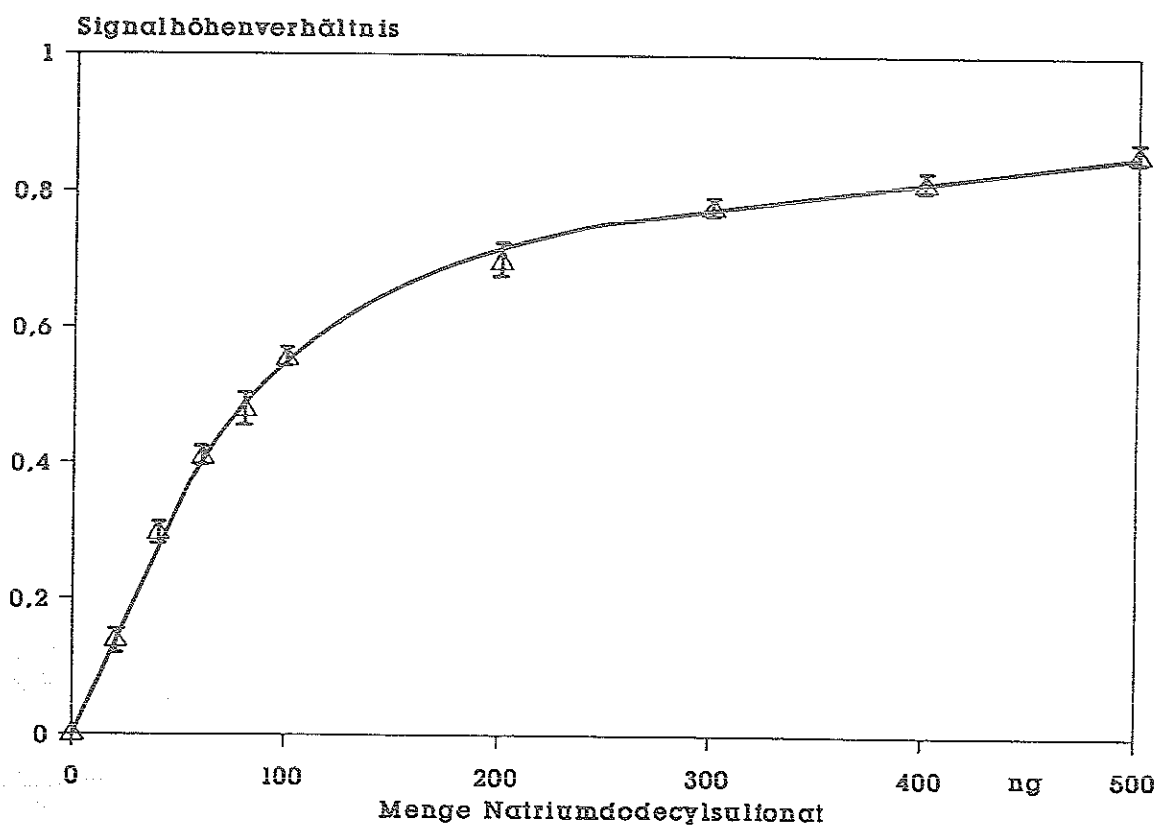


Abb. 3-28. Kalibrierkurven von C12-SO3. - a) ohne Verwendung eines Kontrollstandards; b) mit C10-SO3 als Kontrollstandard. Höhe bzw. Höhenverhältnis C12-SO3/C10-SO3 des Fluoreszenzsignals in Abhängigkeit von der Menge C12-SO3. Injektionsmenge C10-SO3: 1000 ng. Dreifachbestimmungen.

Wie Abb. 3-28 zeigt, ist im Bereich von 1 bis 60 ng C12-SO3 die Signalhöhe der injizierten Substanzmenge proportional, im Bereich 60 - 200 ng flacht die Kurve allmählich ab und geht bei 200 ng in einen zweiten linearen Abschnitt mit sehr geringer Steigung über. Vermutlich tritt oberhalb des ersten linearen Bereiches eine zunehmende Erschöpfung des verfügbaren Farbstoffes auf. Bei Analytmengen oberhalb 200 ng ist die Steigung der Kurve allerdings so gering, daß eine analytische Nutzung dieses Bereiches nicht sinnvoll erscheint, obwohl korrekte Ergebnisse bis zu Mengen von 500 ng erhalten werden, wenn ein Kontrollstandard verwendet wird. Kalibrierungen über den steilen linearen Bereich hinaus sind aber sehr zeitaufwendig, so daß die Bestimmungen grundsätzlich im unteren linearen Bereich mit wenigen Kalibrierpunkten und linearer Regression durchgeführt wurden.

Wie Tab. 3-9 zeigt, liegen die Bestimmungsgrenzen für anionische Tenside im Bereich 10 bis 100 ng (S/N = 10) und die Nachweisgrenzen im Bereich 4 bis 40 ng (S/N = 3). Im Vergleich zum Leitfähigkeits- oder Brechungsindexdetektor können Werte um etwa zwei Zehnerpotenzen niedriger erreicht werden. Lineare Alkylbenzolsulfonate sind um den Faktor 3 bis 5 empfindlicher nachweisbar als bei der HPLC-Bestimmung mit direkter Fluoreszenzmessung.

Tab. 3-9. Nachweis- und Bestimmungsgrenzen verschiedener anionischer Tenside bei der Bestimmung mit HPLC und Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktion. HPLC-Bedingungen: siehe Abschnitt 5.2.5. Mittelwerte aus zwei Bestimmungen. Akronyme siehe Abschnitt 7.1.

Substanz	Bestimmungsgrenze[a)] ng	Nachweisgrenze[a)] ng
LAS-9	17	5
LAS-10	60	18
LAS-11	69	21
LAS-12	96	29
LAS-13	140	42
LAS-15	58	17
C10-SO3	14	5
C12-SO3	12	4
C14-SO3	17	6
C12-SO4	14	5
C14-SO4	27	10
C16-SO4	50	17
α-s-C16fs	29	11
α-s-C18fs	66	27
α-s-C16fs-me	20	5
α-s-C18fs-me	24	9

[a] als Natriumsalze

3.8 Bestimmung von Tensiden in Modellösungen und dotierten Flußwasserproben

3.8.1 Vorbemerkungen

Stellt man die in den Abschnitten 3.2 bis 3.4 beschriebenen Module und die chromatographischen Endbestimmungsverfahren zusammen, so ergibt sich der in Abb. 3-1 (S. 15) dargestellte

Arbeitsablauf. Lediglich der Schritt der Probenahme muß noch ergänzt werden. Entsprechend dem geschlossenen Konzept sollen alle Oberflächen, die mit den Tensiden in Berührung gekommen sind, in die Analysensequenz einbezogen werden. Deshalb erschien es sinnvoll, die Flußwasserprobe direkt durch Eintauchen einer Glasflasche zu nehmen, d.h. also ohne Schöpfen oder Umschütten mit einem weiteren Gefäß. Die Flasche darf auch nicht mit dem Probewasser vorgespült werden, um einen Analysenfehler durch Adsorption von Tensiden (aus dem Spülwasser) an der Glaswandung zu vermeiden.

Die Leistungsfähigkeit der gesamten Methode läßt sich anhand folgender Kriterien bewerten:

- Wiederfindungsraten der Analyten.
- Kompensationsmöglichkeit der Analytenverluste durch interne Standardsubstanzen.
- Nachweisempfindlichkeit.

Entscheidenden Einfluß auf diese Kriterien haben die Begleitstoffe der Flußwasserprobe, die letztendlich die maximale Probenmenge festlegen. Das Bestimmungsverfahren wurde daher sowohl an (begleitstofffreien) Flußwasser-Modellösungen als auch an dotierten Flußwasserproben getestet, wobei für letzteres bei fünf homogenen Flußwasserproben in jeweils vier Teilproben die Tensidkonzentrationen bestimmt wurden. Von diesen Teilproben wurden zwei nur mit internem Standard ("Blindwert"-Bestimmungen) und zwei zusätzlich mit Modelltensiden dotiert. Tab. 3-10 zeigt die hierfür verwendeten Modelltenside und deren Dotierungsmenge. Die Dotierungen wurden nach dem Filtrationsschritt ausgeführt, um eine unkontrollierte Aufteilung der dotierten Substanzen auf gelöste und schwebstoffgebundene Anteile zu vermeiden (eine Auswertung über interne Standards wäre sonst nicht möglich). Die Proben variierten dabei bezüglich des Probevolumens (Teilproben zu 1000 bzw. 2500 mL) und der Flußwasserherkunft (Elbe bzw. Rur).

Tab. 3-10. Dotierungsmengen der für die Bestimmung von Tensiden in Modellösungen und dotierten Flußwasserproben verwendeten Stoffe.

Substanz	Menge µg
Nichtionische Tenside	
NPEO	20
DDP	10
AEO-Σ	20
Kationische Tenside	
N-18-18	6
N-8-8	2
N-18	2
N-12	2
Anionische Tenside	
LAS-9	10
LAS-Σ	50
LAS-15	10
C12-SO3	2

3.8.2 Modellösungen

Zur Herstellung von Modellösungen wurde anstelle einer Flußwasserprobe destilliertes Wasser verwendet und entsprechend der Arbeitsvorschrift zur Flußwasseranalyse (siehe experimenteller Teil) aufgearbeitet. Tab. 3-11 zeigt die Wiederfindungsraten der Analyten in Flußwasser-Modellösungen bei zwei verschiedenen Durchmessern der Anreicherungssäulen.

Tab. 3-11. Wiederfindung von Tensiden bei der Analyse von Flußwasser-Modellösungen. Probe: 1000 mL destilliertes Wasser, dotiert nach Tab. 3-10 (S. 97).

Substanz	% Wiederfindung	
	Säulendurchmesser 10 mm[a)]	Säulendurchmesser 20 mm[b)]
DDP	70 ± 1	53 ± 19
NPEO	81 ± 1	82 ± 13
N-18-18	88 ± 2	95 ± 12
N-8-8	106 ± 32	106 ± 10
LAS-9	98 ± 5	79 ± 8
LAS-Σ	102 ± 3	68 ± 9
C12-SO3	67 ± 1	66 ± 16

[a] Mittelwert und Standardabweichung aus 2 Bestimmungen.
[b] Mittelwert und Standardabweichung aus 4 Bestimmungen.

In der Spurenanalytik von Substanzen, die problemlos isolierbar sind (z.B. unpolare Verbindungen aus wäßriger Lösung), können nahezu vollständige Wiederfindungen der Analyten erreicht werden. Bei Substanzklassen aber, die mit sehr aufwendigen Verfahren angereichert bzw. isoliert werden müssen, wie dies hier der Fall ist, müssen Wiederfindungsraten von 50 bis 70% als ausreichend angesehen werden. Die Analytenverluste müssen dann aber über interne Standardsubstanzen rechnerisch kompensiert werden.

Tab. 3-11 zeigt in diesem Zusammenhang, daß bis auf die interne Standardsubstanz DDP alle Tenside aus der Modellösung ausreichend wiedergefunden werden. Erstaunlicherweise ist die Wiederfindung der LAS allerdings an den kleineren Säulen wesentlich günstiger, ohne daß sich dafür eine plausible

Erklärung anbietet. Da verschiedene Faktoren die optimale Dimensionierung der Festphasensäule festlegen, wie z.B. die Matrixbelastung (und damit Probenart und Probenvolumen), kann aufgrund dieser Ergebnisse mit Modellösungen keine abschließende Aussage getroffen werden.

3.8.3 Dotierte Flußwasserproben

Als interne Standards müssen Substanzen gefunden werden, die den Analyten möglichst strukturähnlich sind und die während des analytischen Bestimmungsverfahrens die gleichen Verluste wie die ihnen zugeordneten Analyten erfahren (siehe Ausführungen auf S. 14), gleichzeitig aber in der Probe nicht vorhanden sein dürfen. Die vollständige Kompensation auftretender Meßfehler wird in einem X/Y-Diagramm bei der symmetrischen Auftragung der Wiederfindungsraten der internen Standardsubstanzen gegen die der zugeordneten Analyten daher durch die Winkelhalbierende beschrieben. Punkte, die weitab dieser Gerade liegen, beschreiben eine Situation, bei der die Korrektur des primären Meßwertes "falsche", d.h über- bzw. unterkorrigierte Analysenwerte liefern würde. In der doppelt logarithmischen Darstellung sind die Abstände der Meßpunkte von der Winkelhalbierenden dem (bei der Korrekturrechnung) entstehenden Relativfehler proportional. Abb. 3-29 zeigt die entsprechenden Diagramme der untersuchten internen Standard/ Analyt-Kombinationen. Bei dieser Darstellungsweise müssen allerdings die "Blindwerte" der Flußwasserproben vernachlässigt werden, weil eine Quantifizierung nicht möglich ist (ohne die exakten Wiederfindungsraten bereits zu kennen). Da diese bei der ausgewählten Flußwasserprobe (Rur/ Jülich) durchweg unterhalb von 10% der Dotierungsmenge liegen, ist die daraus resultierende Verzerrung der Ergebnisse aber gering.

Abb. 3-29a)

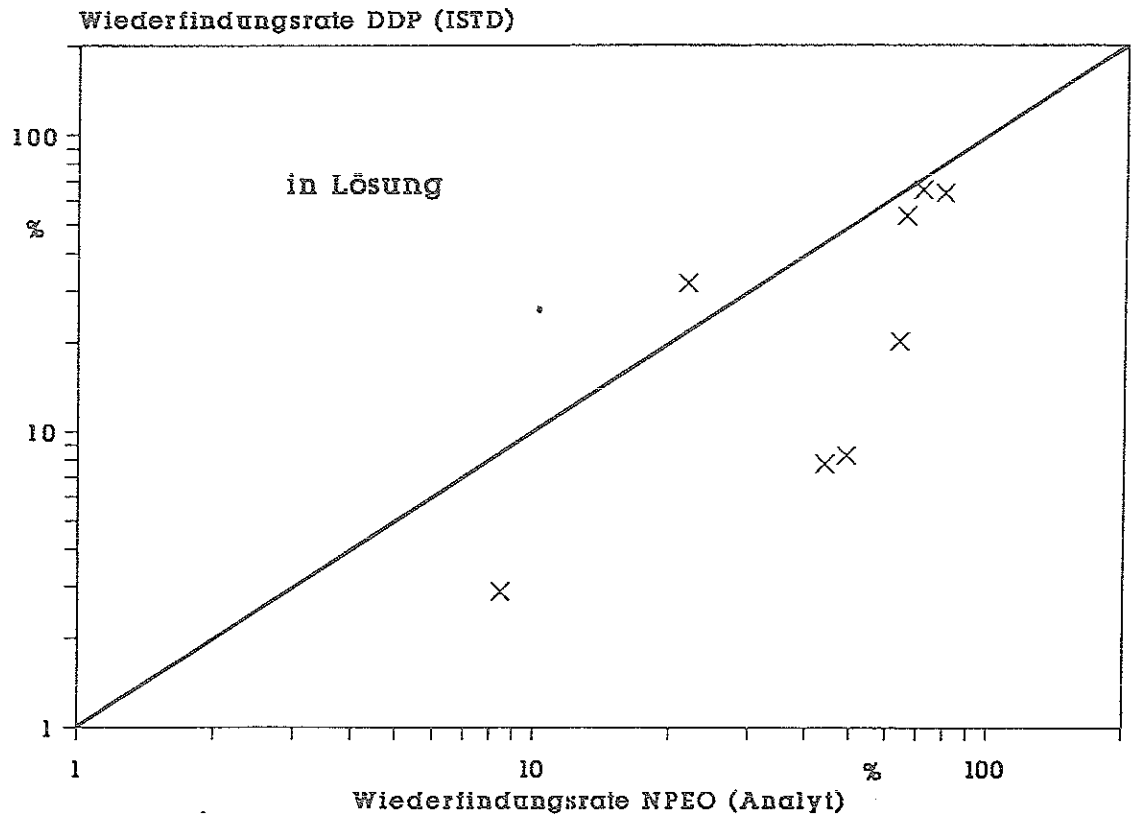


Abb. 3-29b)

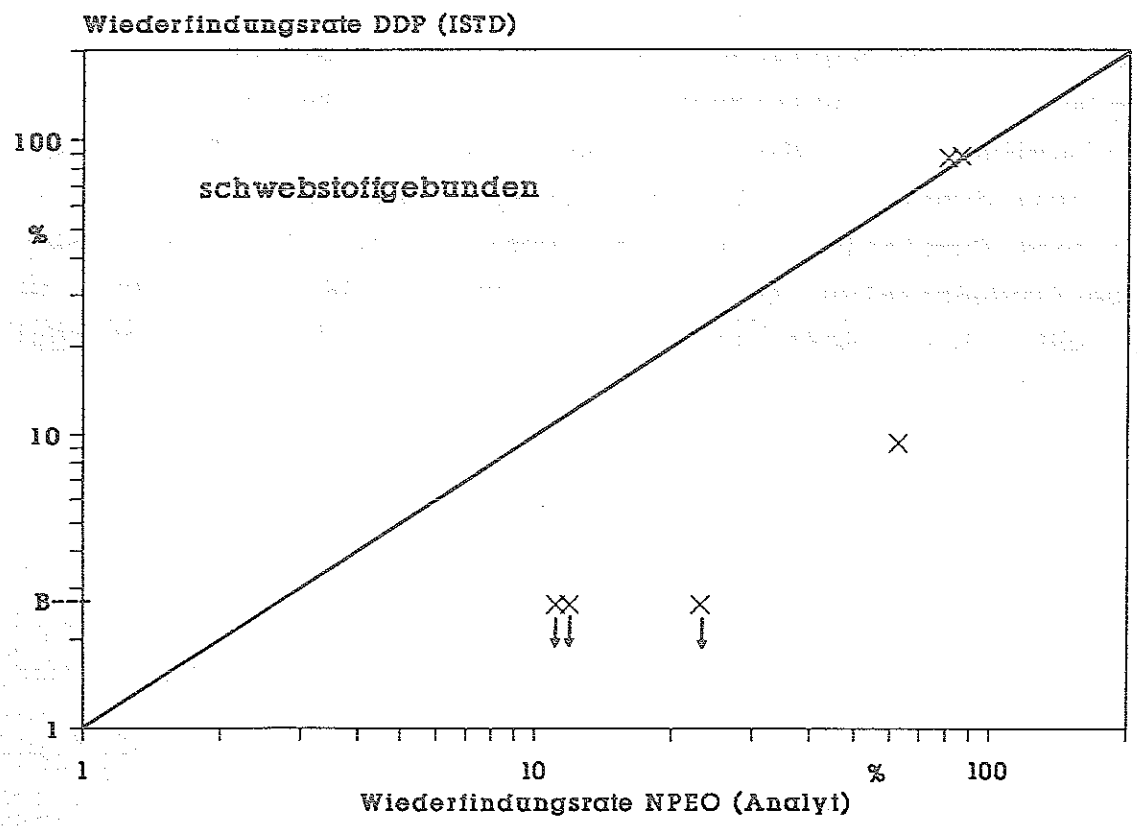


Abb. 3-29c)

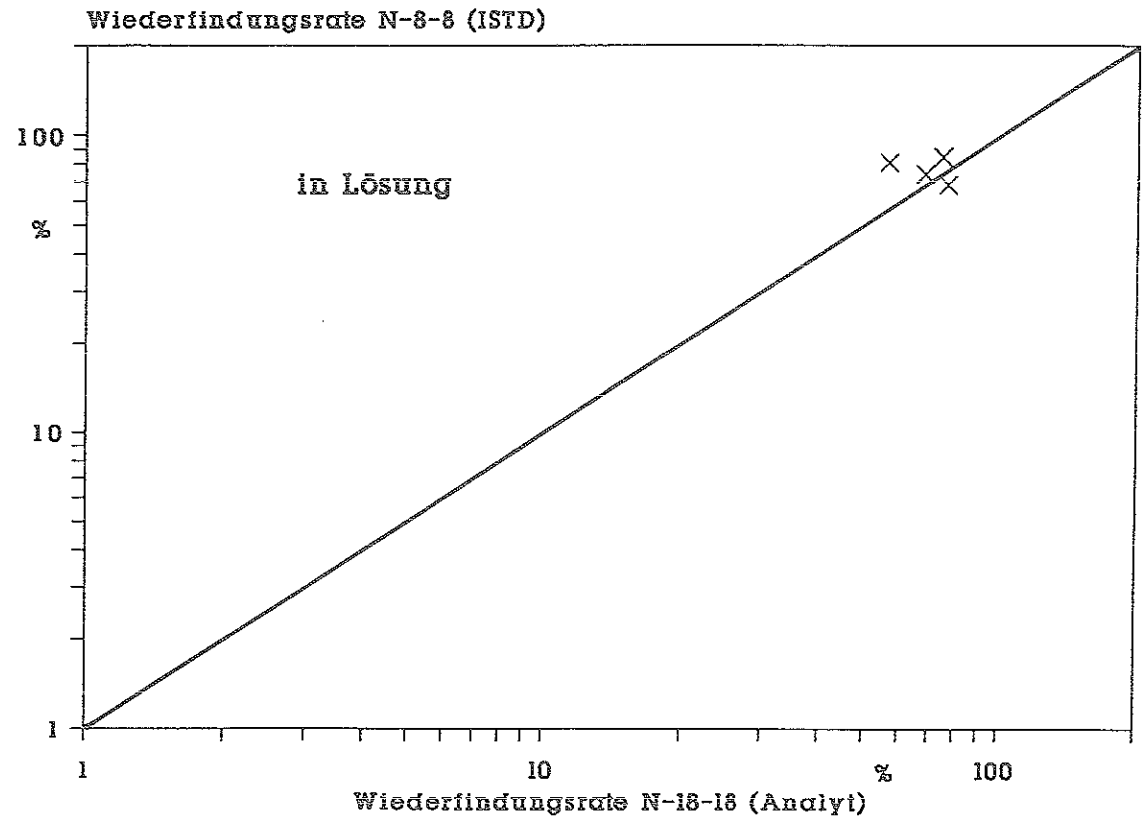


Abb. 3-29d)

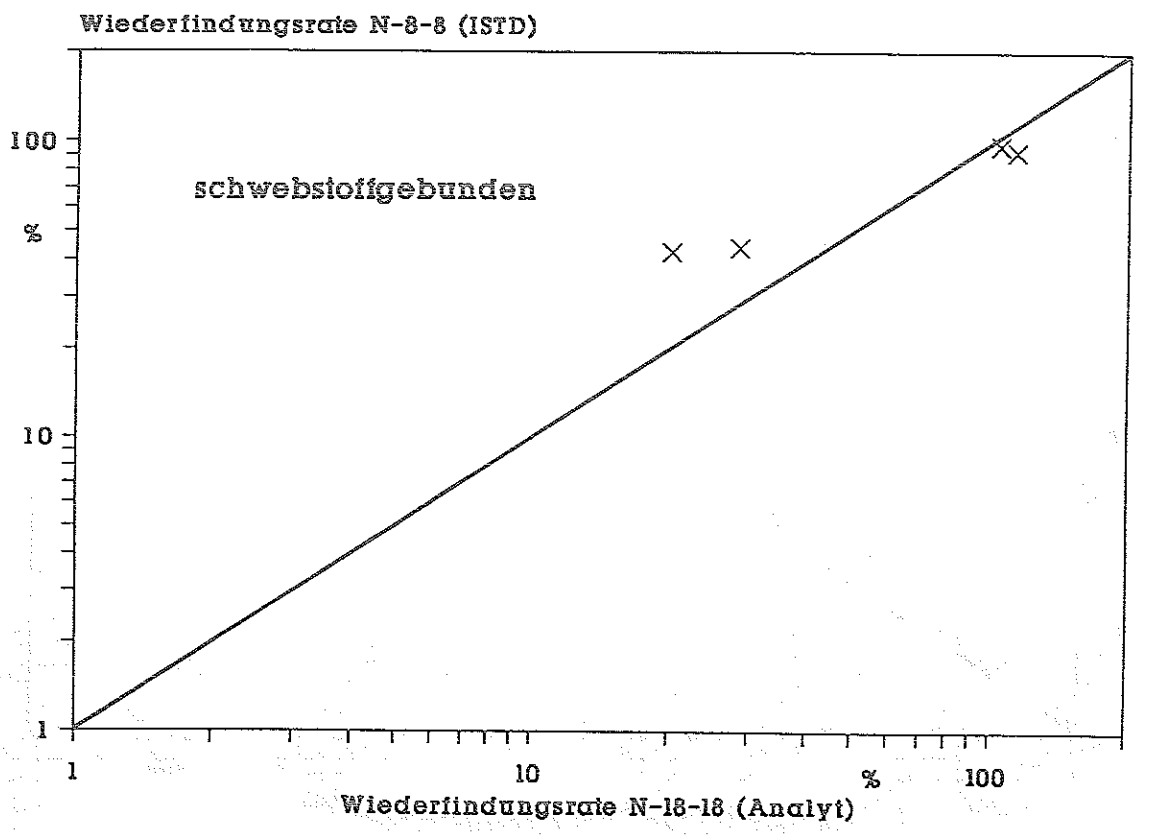


Abb. 3-29e)

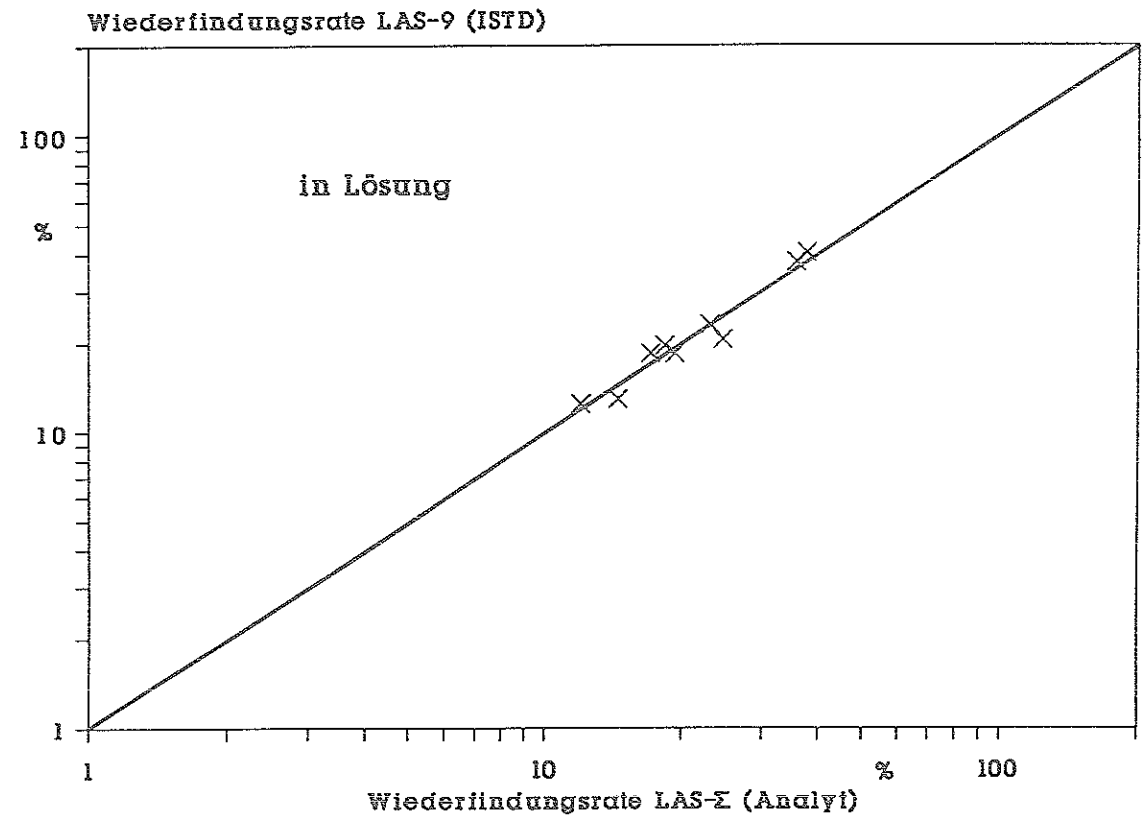


Abb. 3-29f)

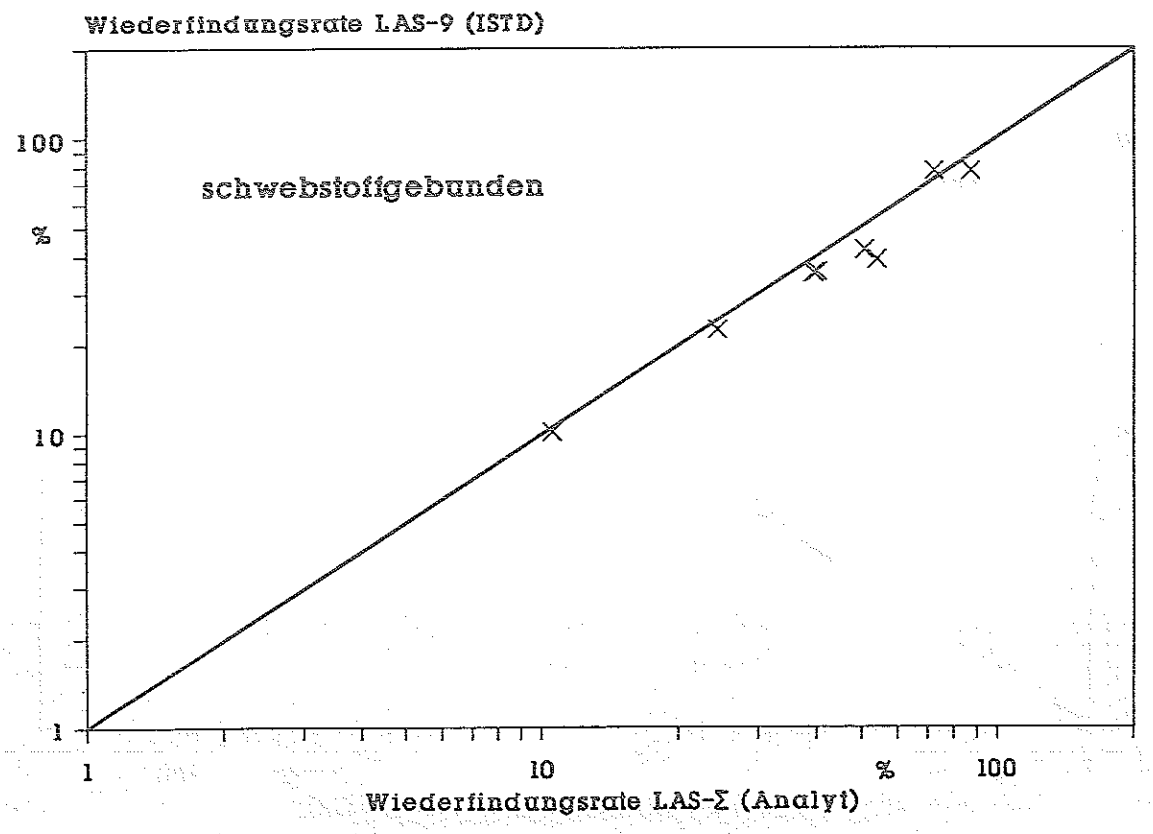


Abb. 3-29g)

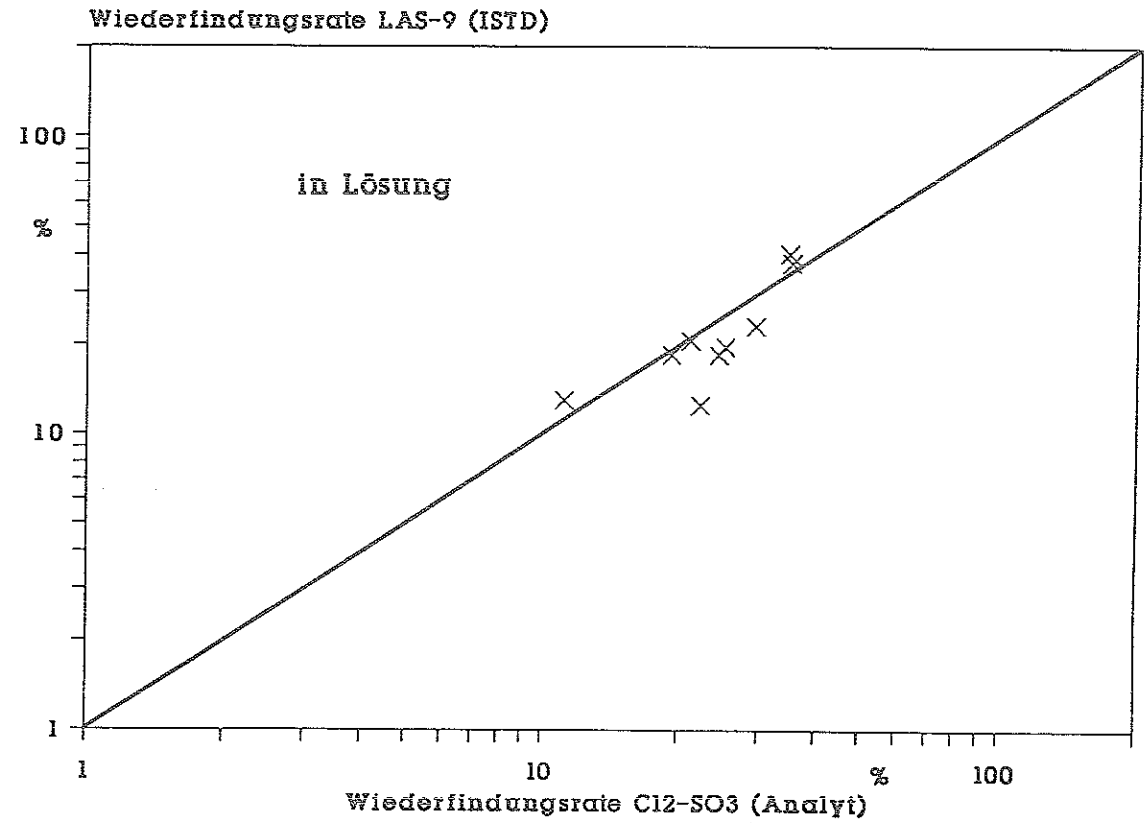


Abb. 3-29h)

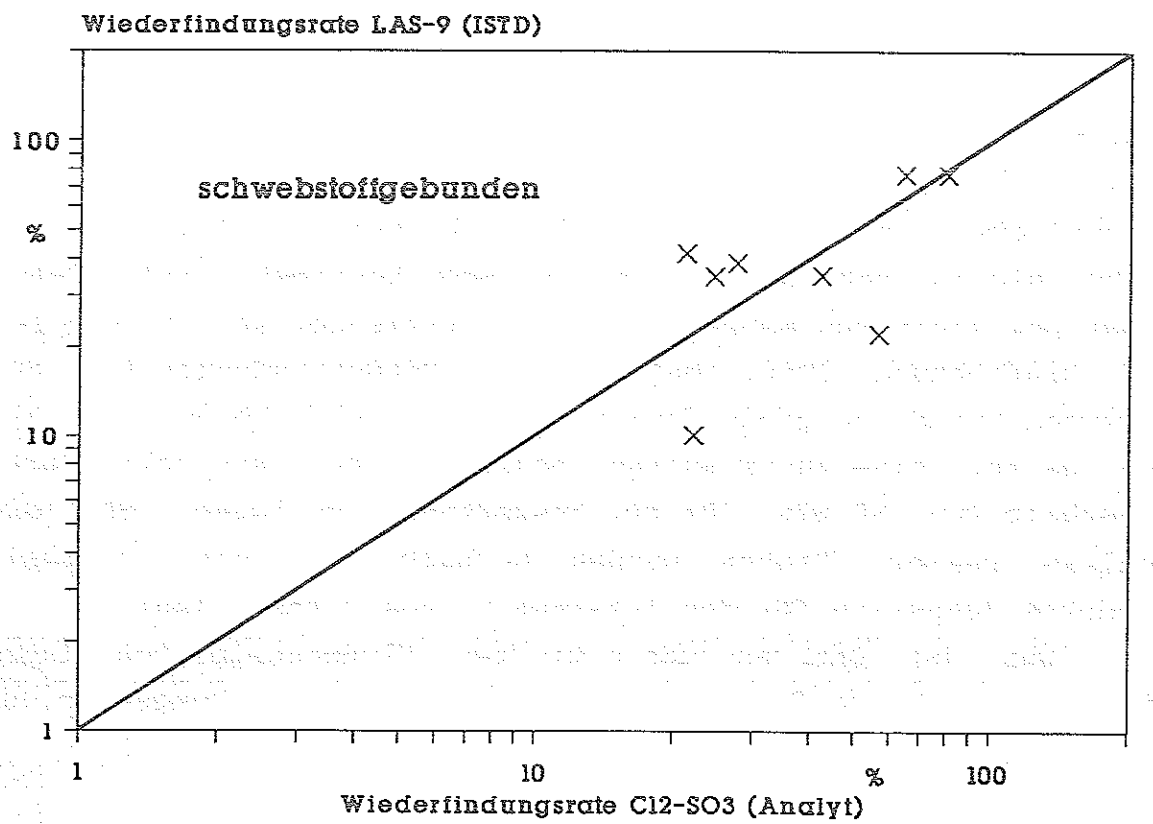


Abb. 3-29. Gemeinsame Darstellung der Wiederfindungsraten von möglichen internen Standardsubstanzen mit denen der Analyten bei der Analyse von dotierten Flußwasserproben. - Differenzierung nach gelösten und schwebstoffgebundenen Anteilen. Die jeweils erstgenannte Substanz (Ordinate) ist der interne Standard, die zweitgenannte der zugeordnete Analyt (Abszisse). a), b) DDP/NPEO; c), d) N-8-8/N-18-18; e), f) LAS-9/LAS-Σ; g), h) LAS-9/C12-SO3. B Bestimmungsgrenze. Pfeile markieren Meßwerte unterhalb der Bestimmungsgrenze.

DDP erweist sich als interner Standard ungeeignet, sowohl in Lösung als auch für schwebstoffgebundene Tenside, denn die Verluste dieser Substanz sind in der Regel höher als die des zugeordneten Analyten NPEO (Abb. 3-29a und 3-29b, S. 100). Offensichtlich ist das Verhalten dieser Substanz dem des Analyten zu unähnlich. Die Verluste werden wahrscheinlich durch irreversible Adsorption des DDP's an Gefäß- bzw. Filter- und Partikeloberflächen verursacht. Dagegen korreliert N-8-8 gut mit N-18-18 sowie LAS-9 außerordentlich gut mit LAS-Σ. LAS-9 ist als interner Standard auch für C12-SO3 in Lösung geeignet, zeigt allerdings bei schwebstoffgebundenem C12-SO3 geringfügige Abweichungen. LAS-15 wurde nicht untersucht, da dieser Stoff chromatographisch nicht störungsfrei bestimmbar war (siehe S. 61).

Bei analytischen Bestimmungen in der Nähe der Bestimmungsgrenze kann man den absoluten Meßfehler des Analyseverfahrens als konstant annehmen, da dieser im wesentlichen nur noch durch das (konstante) Rauschen der Grundlinie in den HPLC-Chromatogrammen bestimmt wird. Daher nimmt bei kleineren Meßwerten der Relativfehler zu, so daß bei der Einrechnung (Division) kleiner Wiederfindungsraten des internen Standards große Gesamtfehler entstehen können. Deshalb ist es für eine zuverlässige Analytik nicht sinnvoll, Werte unterhalb von 50 bis 70% zur Auswertung zuzulassen. Für die Analyse realer Proben wurden deshalb 60% als Minimal-Wiederfindungsrate für den internen Standard festgelegt.

Bei der Untersuchung dotierter Flußwasserproben lagen aber einige Meßwerte unterhalb von 60% Wiederfindungsrate. Um

noch eine möglichst lückenlose Aussage treffen zu können, mußten auch diese in die Auswertung einbezogen werden. Für die Darstellung der Wiederfindungsraten in dotierten Flußwasserproben wurden daher auch Werte im Bereich 30 bis 60% Wiederfindungsrate verwendet. Hierbei ist kein übermäßig großer Fehler zu erwarten, denn die gute Korrelation über diesen Bereich der Wiederfindungsrate wurde bereits nachgewiesen (siehe Abb. 3-29, S. 104). Werte unterhalb von 30% wurden aber nicht mehr berücksichtigt, denn hier treten wegen des geringen Signal/Rausch-Verhältnisses bei der HPLC-Bestimmung so große Schwankungen der Meßwerte auf, daß die Korrelation nicht mehr ausreicht, um die Korrekturrechnung mit genügender Richtigkeit anwenden zu können. Die Tabellen 3-12 und 3-13 zeigen die mit dotierten Flußwasserproben erreichten Wiederfindungsraten der internen Standardsubstanzen und der Analyten. Die Wiederfindungsraten der dotierten Analyten (Tab. 3-13) wurden bis auf NPEO, für das sich der interne Standard DDP als ungeeignet erwiesen hat (Abb. 3-29a und 3-29b, S. 100), über den internen Standard (Division) korrigiert. Die Wiederfindungsraten von NPEO sind daher in Tab. 3-13 ohne diese Korrektur angegeben. Zum Vergleich wurde zwischen 1000 mL und 2500 mL Probevolumen differenziert, die an Säulen mit 10 mm bzw. 20 mm Innendurchmesser aufgearbeitet wurden.

Tab. 3-12. Wiederfindungsraten interner Standardsubstanzen bei der Analyse von Flußwasserproben. Probe: Rur/Jülich. Dotierung nach Tab. 3-10 (S. 97). Mittelwerte und Standardabweichungen aus 4 Messungen.

Substanz	% Wiederfindung	
	Probevolumen 1000 mL	Probevolumen 2500 mL
in Lösung:		
DDP	50 ± 25	16 ± 6
N-8-8	72 ± 2	84 ± 2
LAS-9	27 ± 14	13 ± 4
schwebstoffgebunden:		
DDP	23 ± 25	2 ± 2
N-8-8	92 ± 7	77 ± 40
LAS-9	56 ± 17	48 ± 38

Tab. 3-13. Korrigierte Wiederfindungsraten von Tensiden bei der Analyse von dotierten Flußwasserproben. - Probe: Rur/Jülich. Dotierung nach Tab. 3-10 (S. 97). Interne Standards: N-8-8 (für N-18-18) und LAS-9 (für LAS-Σ und C12-SO3). Bedingung für interne Standards: 140% ≥ WFR (Wiederfindungsrate) ≥ 30%. Mittelwert und Standardabweichung (Differenzrechnung) aus 2 Bestimmungen und 2 Blindwertbestimmungen.

Substanz	% Wiederfindung	
	Probevolumen 1000 mL	Probevolumen 2500 mL
in Lösung:		
NPEO[b)]	65 ± 9	47 ± 14
N-18-18	98 ± 15	75 ± 14
LAS-Σ	--- [a)]	--- [a)]
C12-SO3	--- [a)]	--- [a)]
schwebstoffgebunden:		
NPEO[b)]	41 ± 27	0 ± 0
N-18-18	105 ± 11	45 ± 13
LAS-Σ	100 ± 15	--- [a)]
C12-SO3	112 ± 11	0 ± 0

[a] Bedingung für Wiederfindungsrate des internen Standards nicht erfüllt. In allen Fällen: WFR < 30%.
[b] Ohne interne-Standard-Korrektur. Berechnungsgrundlage: 100%ige Wiederfindung.

Die unvollständige Wiederfindung des nichtionischen NPEO macht deutlich, daß auch für diese Substanzklasse ein gut

korrelierender interner Standard notwendig ist. Sinnvoll wäre dazu ein Alkylphenol oder Alkylphenolethoxylat, welches im molekularen Aufbau dem Analyten näher steht als DDP und ebenfalls in der Anwendungstechnik und damit in der Umwelt nicht vorkommt. Für NPEO könnte dies z.B. Heptylphenol bzw. Heptylphenolethoxylat oder Decylphenol bzw. Decylphenolethoxylat sein, die sich flüssigkeitschromatographisch vermutlich leicht von NPEO abtrennen lassen.

Bei den Analyten mit gut korrelierendem internen Standard, also N-18-18, LAS-Σ und C12-SO3, kann unter den gegebenen Rahmenbedingungen nur die Gruppe der kationischen Tenside überzeugen, denn die mittlere Wiederfindungsrate des internen Standards N-8-8 liegt durchweg oberhalb von 70% und die korrekturgerechneten Analyt-Wiederfindungsraten (N-18-18) zwischen 75% und 105%.

Die allgemein schlechte Wiederfindung der gelösten anionischen Tenside in dotierten Flußwasserproben spiegelt sich in den in Tab. 3-13 fehlenden Werten wider. Obwohl die Wiederfindung des internen Standards LAS-9 mit der Analyt-Wiederfindung meist gut korreliert, wie Abb. 3-29 (S. 104) zeigt, ist eine sinnvolle Auswertung der Meßdaten nicht mehr möglich, denn das Limit von 30% Wiederfindungsrate für den internen Standard wird fast immer unterschritten (Diskussion des 30%-Limits: siehe S. 105). Bei den schwebstoffgebundenen anionischen Tensiden wurden in der 1000 mL - Probe im Gegensatz zur 2500 mL - Probe gute Werte für die Analyt-Wiederfindungsraten erhalten, allerdings ist die mittlere Wiederfindungsrate des internen Standards (LAS-9) mit 56% ± 17% noch nicht ganz zufriedenstellend.

Vergleicht man diese Resultate (Tab. 3-13, S. 107) mit der Untersuchung an Modellösungen (Tab. 3-11, S. 98), so wird deutlich, daß die Probenmatrix die Wiederfindungsraten der Substanzen deutlich negativ beeinflußt. Es ist anzunehmen, daß mit geringerem Probevolumen zwar höhere Werte erreichbar sind, allerdings unter entsprechenden Einbußen in der Nachweisempfindlichkeit. Soll diese Empfindlichkeit aber beibehalten werden, so ist es für die nichtionischen Tenside und besonders für die anionischen Tenside notwendig, das Bestimmungsverfahren weiter zu verbessern. Aufgrund des dargestellten Matrix-

einflusses ist es sehr wahrscheinlich, daß die wesentlichen Verluste bei den ersten Verfahrensschritten, also der Festphasenextraktion bzw. der Extraktion des Filterrückstandes, auftreten. Obwohl keine exakten Daten über die Kapazität der Polymeradsorber erhältlich sind, so läßt sich aus Applikationsbeispielen leicht abschätzen, daß eine Kapazitätsauslastung durch organische Inhaltsstoffe des Flußwassers unwahrscheinlich ist. Die Gehalte an organischen Inhaltsstoffen in Flußwasser, gemessen über den DOC-Wert (gelöste organische Kohlenstoffverbindungen), liegen typischerweise im unteren mgL^{1}-Bereich [152], während die Kapazitäten der verwendeten Adsorbersäulen schätzungsweise im Bereich einiger Gramm [153] liegen. Die Ursache des Problems liegt vermutlich in der fehlenden Affinität der anionischen Tenside zum Adsorber (in Anwesenheit der Flußwassermatrix). Sinnvoll zur Verbesserung der Festphasenextraktion könnten deshalb zusätzliche, hinter die Polymersäule geschaltete Festphasensäulen sein, welche mit ihrer hohen Affinität in der Lage sind, die anionischen Tenside zu adsorbieren. Dazu könnten z.B. kieselgelgestützte Umkehrphasensäulen eingesetzt werden, wie sie von verschiedenen Autoren zur Anreicherung anionischer Tenside erfolgreich verwendet werden [79, 91, 102, 113, 154]. Durch Serienschaltung (1. Stufe: XAD; 2. Stufe: kieselgelgebundene Umkehrphase) und anschließende, gegenläufige Extraktion ließe sich ein Kontakt der kationischen Tenside mit der Umkehrphase vermeiden, so daß für diese keine Elutionsprobleme zu erwarten sind (siehe S. 18). Diese und andere Stoffklassen würden bei dieser Arbeitsweise keine andere analytische Behandlung erfahren, als bei der in dieser Arbeit vorgestellten Methode, da nur solche Analyten mit der Umkehrphase in Kontakt kämen, welche die XAD-Säule bereits passiert hätten.

Vergleicht man die Resultate der Heißextraktion schwebstoffgebundener Tenside aus dotierten Flußwasserproben (Tab. 3-13, S. 107) mit der Untersuchung an dotierten Filtern (Tab. 3-8, S. 38), so wird deutlich, daß die Probenmatrix die Wiederfindungsraten der Substanzen auch hier deutlich negativ beeinflußt. Es ist offensichtlich, daß mit geringerem Probevolumen (1000 mL anstelle von 2500 mL) entscheidend bessere Werte erreichbar sind, allerdings unter entsprechenden

Einbußen in der Nachweisempfindlichkeit. Als Ergebnis läßt sich festhalten, daß die Modell-Analyten mit dem entwickelten Verfahren extrahiert werden können, sofern nicht mehr als 1000 mL Probevolumen aufgearbeitet werden. Die Extraktion schwebstoffgebundener Tenside könnte aber bezüglich des Lösemittels, der Extraktionsdauer, der Extraktionstechnik und anderer Parameter weiter optimiert werden, um sich einer möglichst vollständigen Extraktionsausbeute anzunähern (siehe dazu Ausführungen in Abschnitt 3.3).

3.8.4 Nachweisempfindlichkeit des Verfahrens

Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für Tenside bei der Analyse in Flußwasser wurden anhand einer grafischen Analyse der HPLC-Chromatogramme ermittelt. Dazu wurde das in der Umgebung des Analytenpeaks auftretende Rauschen der Grundlinie gemessen und der dreifache Wert dessen Signalhöhe als Nachweisgrenze bzw. der zehnfache Wert als Bestimmungsgrenze festgelegt. Bei der Umrechnung auf die Tensid-Konzentration in der Probe wurde eine Wiederfindungsrate von 60% (als ungünstigster Fall) zugrundegelegt. Für den Filterrückstand wurden bei dieser Untersuchung die gleichen Werte (für Grundlinienrauschen und Signalhöhe) erhalten, so daß anzunehmen ist, daß auch hier die Matrixkomponenten weitgehend abgetrennt sind (und dadurch die chromatographische Bestimmung nicht weiter beeinträchtigen) und somit die Nachweisleistung im wesentlichen durch den Anreicherungsfaktor bestimmt wird. Dieser ist bei der Bestimmung der gelösten Tenside und der Bestimmung der schwebstoffgebundenen Tenside identisch (Bezugsgröße der Konzentrationsangaben: Volumen der Flußwasserlösung), so daß auf eine Differenzierung verzichtet werden kann. Tab. 3-14 zeigt, daß mit dem vorgestellten Verfahren Bestimmungsgrenzen im unteren μgL^{-1} -Bereich erreicht werden. Die Empfindlichkeit dieses für alle Tensidklassen geeigneten Verfahrens liegt somit mindestens im Bereich der leistungsfähigeren Bestimmungsmethoden für einzelne Stoffgruppen [72, 75, 91, 102]. Bei geringer Matrixbelastung einer Probe, z.B. bei besonders gering belasteten Oberflächengewässern sowie

Leitungswasser oder Grundwasser, können vermutlich noch geringere Nachweis- und Bestimmungsgrenzen erzielt werden, indem größere Probenvolumina aufgearbeitet werden.

Tab. 3-14. Nachweis- und Bestimmungsgrenzen von Tensiden bei der Analyse von Flußwasser. - Werte sowohl für gelöste wie auch für schwebstoffgebundene Anteile. Probe: Rur/Jülich. Dotierung nach Tab. 3-10 (S. 97). Probevolumen: 1000 mL. Mittelwert aus 2 Messungen.

Substanz	Bestimungsgrenze[a] $\mu g L^{-1}$	Nachweisgrenze[a] $\mu g L^{1}$
DDP[b]	2	0,5
NPEO	5	2
N-18-18	3	0,7
N-8-8[b]	0,09	0,03
N-18	3	0,9
N-12	3	0,7
LAS-9[b]	1	0,3
LAS-10	1	0,3
LAS-11	0,9	0,3
LAS-12	1	0,3
LAS-13	2	0,4
LAS-15[b]	3	0,7
C12-SO3	2	0,4

[a] anionische Tenside sind als Natriumsalze, kationische Tenside als Chloridsalze berechnet.
[b] mögliche interne Standardsubstanzen

Die Untersuchungen haben gezeigt, daß größere Volumina als 1000 mL ungenügende Wiederfindungsraten verursachen. Die Tatsache, daß dabei die größere Menge störender Begleitstoffe der Probe sich nicht im Chromatogramm widerspiegelt, weist

darauf hin, daß durch Verfahrensverbesserung doch noch höhere Probevolumina und damit niedrigere Nachweisgrenzen zu erreichen sein könnten. Offensichtlich ist die Anreicherung der Tenside gegenüber anderen Substanzen ausreichend selektiv, jedoch gehen einige der Verbindungen (insbesondere das LAS) durch den Einfluß von Begleitstoffen bei der Anreicherung verloren. Diese Verluste sollten sich, wie bereits diskutiert, durch Modifikation bzw. Erweiterung der vorgestellten Methode beheben lassen. Wie schon dargelegt (Abschnitt 3.8.3), reicht dafür aber eine einfache Kapazitätserhöhung der Festphasensäule nicht aus.

3.9 Bestimmung von Tensiden in der Elbe

An 7 Probenahmestellen entlang des Verlaufes der Elbe von der deutsch-tschechischen Grenze bis zur ehemaligen deutsch-deutschen Grenze wurden die Tensidgehalte in der Elbe bestimmt. Im Januar 1991 wurden jeweils zwei Proben zu je 2500 mL entnommen, konserviert und bis zur Aufarbeitung im Sommer 1992 bei 4 °C gelagert. Entsprechend den in Abschnitt 3.8 erläuterten Ergebnissen sind, u.a. wegen des großen Probevolumens, einige Meßwertausfälle aufgrund mangelnder Wiederfindungsraten der internen Standards aufgetreten. Um dennoch ein möglichst lückenloses Ergebnis darstellen zu können, mußten auch Messungen ausgewertet werden, bei denen die Wiederfindung des internen Standards das Limit von 60% (vgl. Abschnitt 3.8.3) unterschritten hat. Außerdem lag für NPEO kein geeigneter interner Standard vor (siehe Abschnitt 3.8.3), so daß die Bestimmung dieses Stoffes ebenfalls nur zu Mindestwerten führt, da zumindest mit partiellen (nicht korrigierbaren) Analytverlusten zu rechnen ist. Für die Auswertung der Meßdaten mit interner Standard-Korrektur wurde deshalb folgender Bewertungsmaßstab zugrundegelegt:

Kategorie I 0% ≤ interne-Standard-WFR < 30%
Kategorie II 30% ≤ interne-Standard-WFR < 60%
Kategorie III 60% ≤ interne-Standard-WFR ≤ 140%

Meßdaten der Kategorien II und III wurden über die Wiederfindung des jeweiligen internen Standards korrigiert; die

Werte der Kategorie II können dabei als Näherungswerte (Kennzeichnung: ~) angesehen werden. Zur maximalen Ausnutzung der zur Verfügung stehenden Meßdaten sollten auch die Werte der Kategorie I ausgewertet werden. Um dabei einen übermäßig großen Fehler durch Über- bzw. Unterkorrektur zu vermeiden (vgl. Abschnitt 3.8.3), wurden diese grundsätzlich über eine interne-Standard-Wiederfindungsrate von 30% korrigiert, so daß die korrigierten Werte als Mindestwerte (Kennzeichnung: ≥) zu sehen sind.

Die Berechnung des Tensidgehaltes von Flußwasser einer Probenahmestelle (jeweils zwei Proben) erfolgte, sofern beide Einzelwerte innerhalb der Kategorie II oder beide innerhalb der Kategorie III lagen, wie üblich, über interne-Standard-Korrektur und Mittelwertbildung. Fielen beide Einzelwerte in Kategorie I, so wurde der höhere Wert von beiden (der den anderen einschließt) als Endresultat genannt. Lagen die Werte in verschiedenen Kategorien, so wurde nur der "präzisere" Wert, also der Wert in der höheren Kategorie, angegeben.

Abb. 3-30 zeigt acht typische Chromatogramme von Elbeproben. Das Erscheinungsbild der Chromatogramme von Flußwasser verschiedener Probenahmestellen war im wesentlichen gleich. Die Tabellen 3-15 und 3-16 zeigen die dort gemessenen Tensidgehalte der Elbe.

Abb. 3-30. Typische Chromatogramme von Elbeproben. - HPLC-Chromatogramme nach Anreicherung der gelösten bzw. schwebstoffgebundenen Tenside. Probenahmestelle: Magdeburg. a), b) Alkylphenolethoxylate; c), d) Alkylammoniumverbindungen; e), f) lineare Alkylbenzolsulfonate; g), h) Alkylsulfonate.

Abb. 3-30 a)

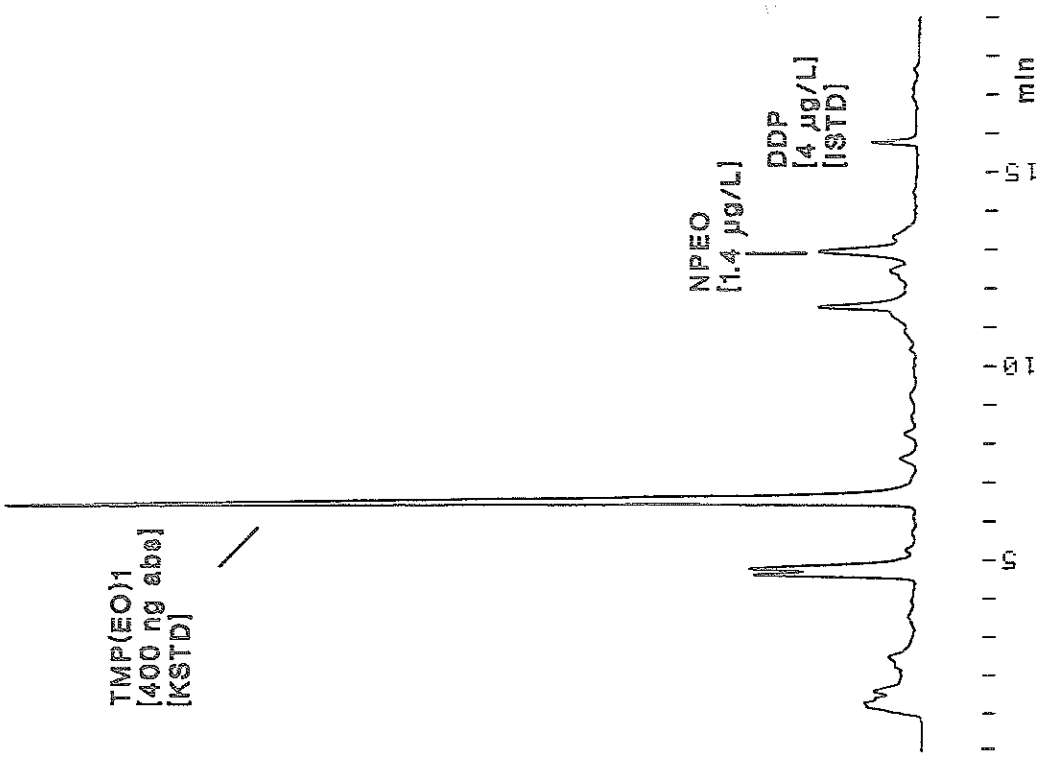


Abb. 3-30 b)

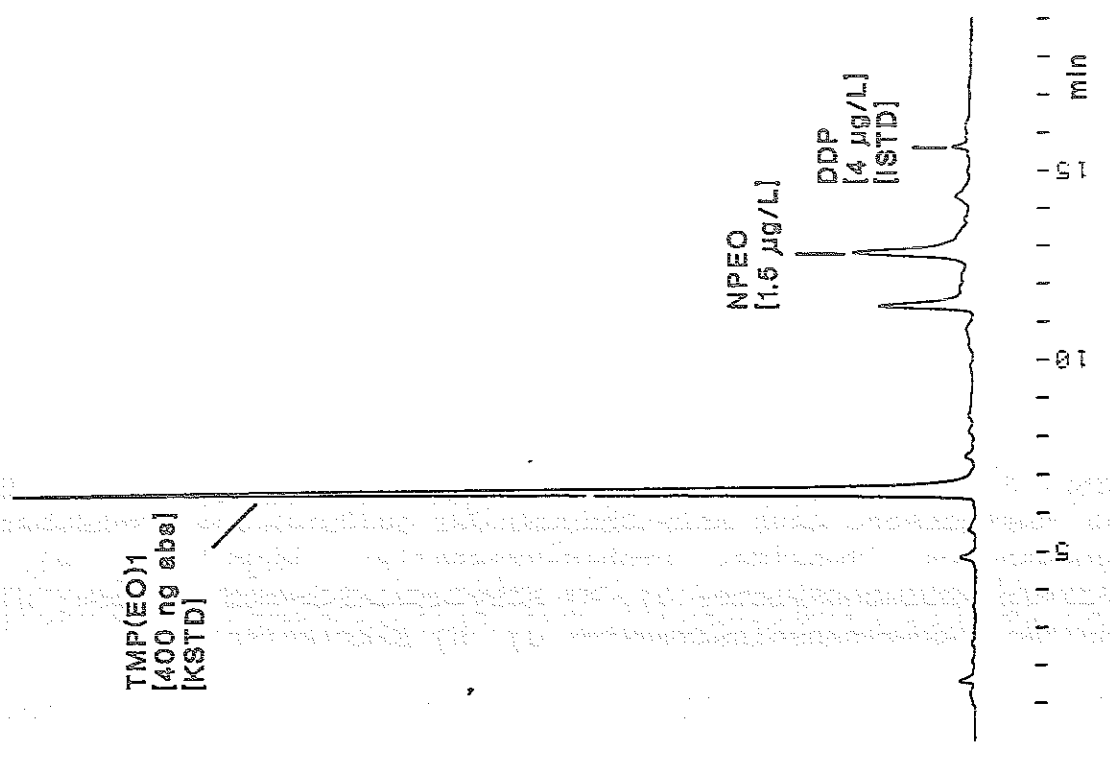


Abb. 3-30 c)

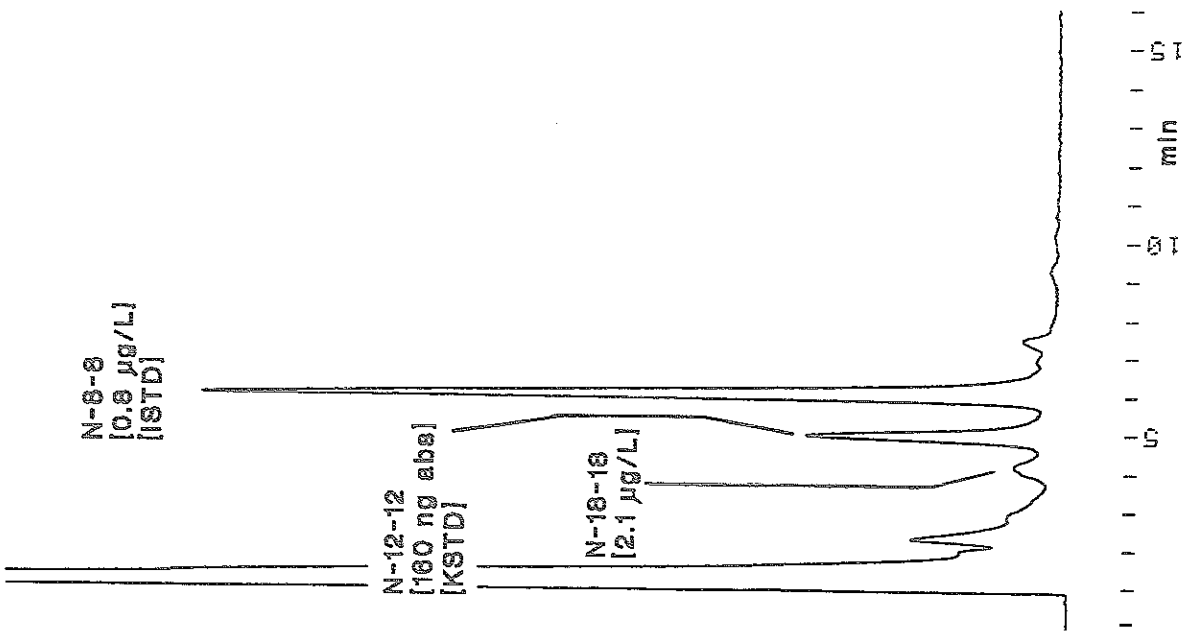


Abb. 3-30 d)

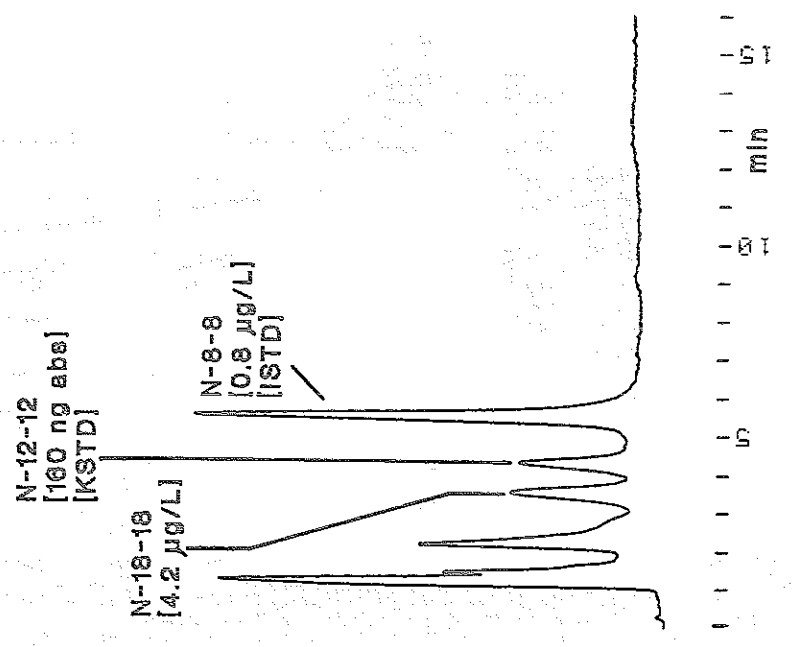


Abb. 3-30 e)

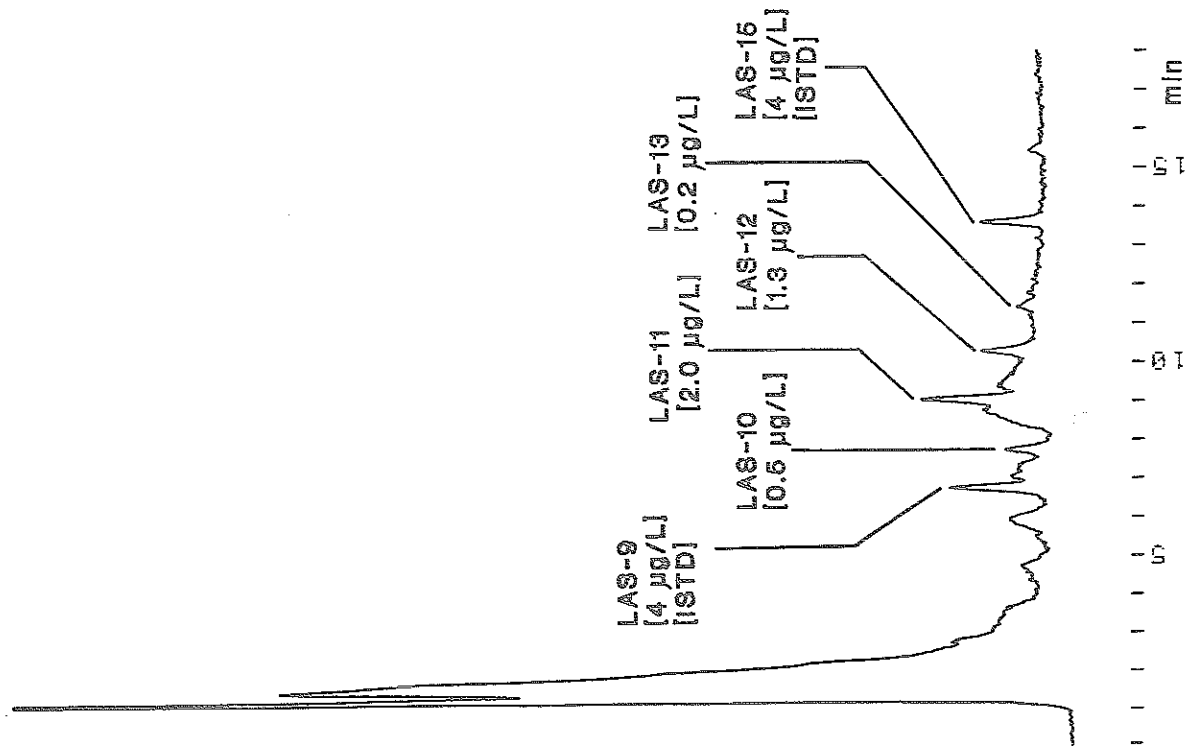


Abb. 3-30 f)

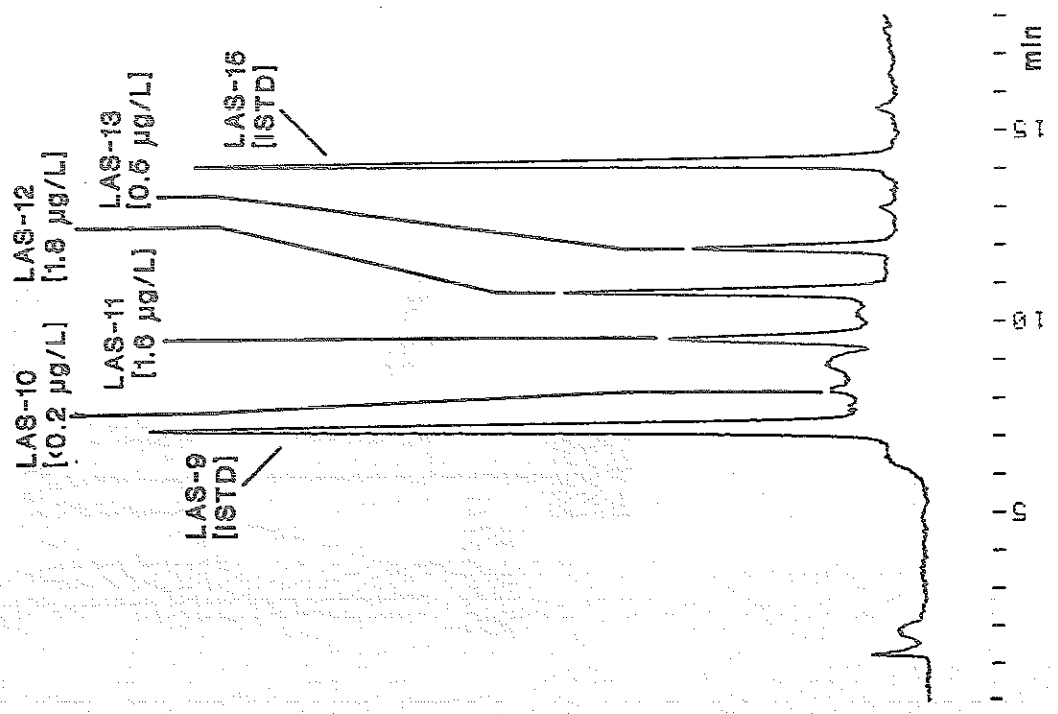


Abb. 3-30 g)

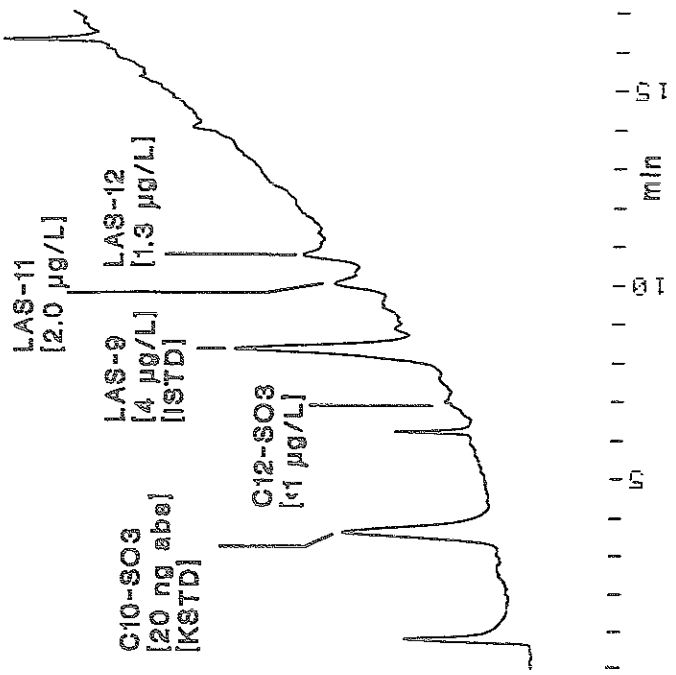
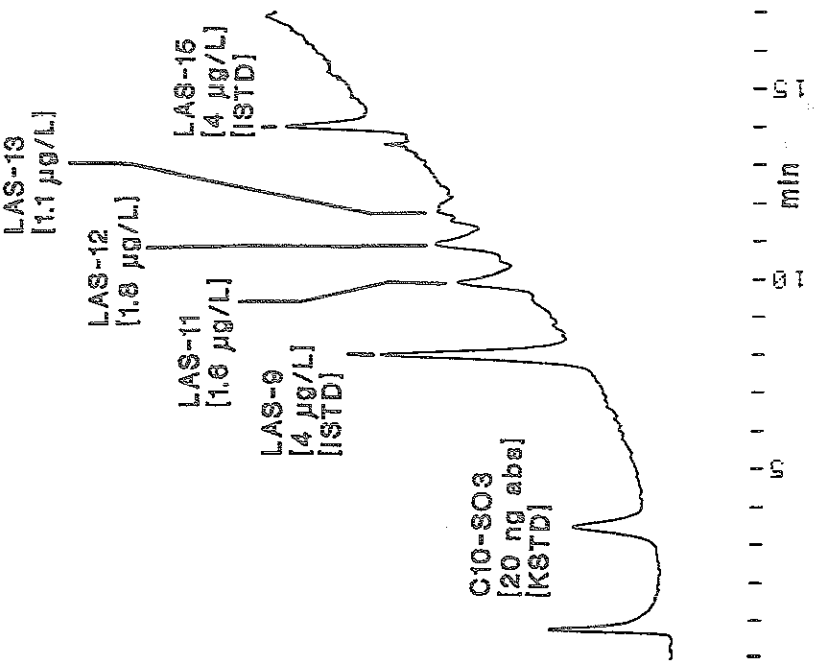


Abb. 3-30 h)



Tab. 3-15. Gelöste Tenside in der Elbe. - interne Standards: N-8-8 (für N-18-18, N-18 und N-12) und LAS-9 (für alle LAS und C12-SO3). Ohne internen Standard bei NPEO. Exakte Werte bei Interner-Standard-WFR ≥ 60%. Näherungswerte (gekennzeichnet mit ~) bei 30% ≤ Interner-Standard-WFR < 60%. Mindestwerte (gekennzeichnet mit ≥) bei Interner-Standard-WFR < 30% (Berechnung mittels 30% Interner-Standard-WFR). Akronyme siehe Abschnitt 7.1.

Probenahmestelle	Substanzkonzentration in $\mu g L^{-1}$				
	NPEO	N-18-18	N-18	N-12	C12-SO3
Postelwitz	0,9	3,9	<0,4	<0,3	~0,9
Dresden	0,8	0,7	<0,4	<0,3	~0,8
Dessau	3,2	≥1,1			≥0,9
Barby	2,9	1,0	<0,4	<0,3	≥0,7
Magdeburg	1,4	~2,1	~<0,4	~<0,3	
Havelberg	1,2	0,4	<0,4	<0,3	
Cumlosen	0,5	2,4	<0,4	<0,3	

	LAS-10	LAS-11	LAS-12	LAS-13	LAS-Σ
Postelwitz	~2,8	~4,9	~2,3	~0,8	~10,7
Dresden	~2,2	~3,6	~1,4	~0,4	~7,6
Dessau	≥1,7	≥3,7	≥2,1	≥0,5	≥7,8
Barby	≥1,8	≥5,0	≥2,4	≥0,5	≥9,7
Magdeburg	≥0,5	≥2,0	≥1,3	≥0,2	≥3,9
Havelberg	≥0,3	≥0,7	≥0,4		≥1,1
Cumlosen		≥1,1	≥0,5		≥1,6

Tab. 3-16. Schwebstoffgebundene Tenside in der Elbe. - Interne Standards: N-8-8 (für N-18-18, N-18 und N-12) und LAS-9 (für alle LAS und C12-SO3). Ohne internen Standard bei NPEO. Exakte Werte bei Interner-Standard-WFR ≥ 60%. Näherungswerte (gekennzeichnet mit ~) bei 30% ≤ Interner-Standard-WFR < 60%. Mindestwerte (gekennzeichnet mit ≥) bei Interner-Standard-WFR < 30% (Berechnung mittels 30% Interner-Standard-WFR).

Probenahmestelle	Substanzkonzentration in $\mu g L^{-1}$				
	NPEO	N-18-18	N-18	N-12	C12-SO3
Postelwitz	2,9	<0,3	0,4	<0,3	<0,2
Dresden	0,3	<0,3	0,4	0,4	<0,2
Dessau	0,6	1,9	<0,4	<0,3	<0,2
Barby	5,5	7,9	0,5	<0,3	~<0,2
Magdeburg	1,5	4,2	<0,4	<0,3	<0,2
Havelberg	1,8	2,7	<0,4	<0,3	<0,2
Cumlosen	0,3	2,2	<0,4	<0,3	<0,2

	LAS-10	LAS-11	LAS-12	LAS-13	LAS-Σ
Postelwitz	0,3	1,5	1,6	1,0	4,4
Dresden	<0,2	1,1	1,1	0,9	3,0
Dessau	<0,2	1,3	1,3	0,8	3,5
Barby	~0,3	~2,6	~3,4	~1,8	~8,0
Magdeburg	<0,2	1,6	1,8	1,1	4,7
Havelberg	<0,2	0,5	0,6	0,5	1,6
Cumlosen	<0,2	0,5	0,3	0,2	1,0

Die Tabellen 3-15 und 3-16 zeigen, daß die Gehalte an NPEO, Alkylammoniumverbindungen und LAS im Bereich von wenigen $\mu g L^{-1}$ liegen, wie das für große Gewässer mit einem hohen Abfluß typisch ist [12, 20, 155]. Neben den hier aufgeführten Substanzen wurden außerdem Alkylsulfate (12 bis 16 C-Atome), Alkylethersulfate (12 bis 18 C-Atome in der Alkylkette), Alkylsulfonate (12 bis 14 C-Atome), α-Sulfo-fettsäuren (16 bis 18 C-Atome) und

deren Methylester in den Endbestimmungsverfahren bestimmt, wobei keine dieser Substanzen in den Elbeproben nachgewiesen werden konnte. Allerdings ist das Anreicherungsverfahren für diese Stoffklassen noch nicht untersucht worden, so daß diese Ergebnisse nur bei nachträglicher Validierung des Verfahrens für diese Substanzen aussagekräftig werden.

Erwähnenswert ist die Tatsache, daß von den kationischen Alkylammoniumverbindungen ein recht hoher Anteil des Gesamtgehaltes schwebstoffgebunden vorliegt. Ein vergleichbares Ergebnis ist auch von Hellmann [6] beschrieben worden. Dieser Effekt ist wahrscheinlich eine Folge der starken Adsorptionsneigung dieser Stoffklasse aus wäßriger Lösung an die Oberflächen der Schwebstoffe.

4 Abschließende Diskussion

Ausgangssituation

Mit der zunehmenden Bedeutung aliphatischer Tenside in Waschmittel-Formulierungen steigt der Bedarf an Bestimmungsmethoden für diese Stoffklassen in den Vorflutern. Nur wenn die Analysenmethoden hohe Anreicherungsfaktoren und leistungsfähige Quantifizierungstechniken miteinander kombinieren, können einzelsubstanzspezifische Informationen mit hoher Empfindlichkeit gewonnen werden.

Bei den aliphatischen Tensiden ist dies bis heute, abgesehen von einigen wenigen Ausnahmen, nicht gelungen. Dies liegt in erster Linie daran, daß empfindliche Endbestimmungsverfahren fehlen. Literaturbekannte Methoden für einige aliphatische ionische Tenside, welche die Kopplung der Flüssigchromatographie mit empfindlichen Ionenpaar-Extraktionstechniken nutzen, wiesen deutliche technische Einschränkungen auf und waren für die Routineanwendung ungeeignet [64, 66, 69, 119].

Fast alle literaturbekannten Methoden der einzelsubstanzspezifischen Analytik von Tensiden in Umweltproben orientieren sich an dem Konzept, einzelne Tensid- oder Stoffklassen selektiv aus der Umweltprobe anzureichern, möglichst weitgehend zu isolieren und dann zu quantifizieren. Dabei werden alle anderen Substanzen, also auch andere Tenside, entfernt. Nur wenige Versuche sind bisher unternommen worden, mehrere Tensidklassen aus einer Probe, beispielsweise durch einen Trennungsgang, zu isolieren, wie es in der Produktanalyse möglich ist [89, 98, 108, 109, 110]. In der Literatur ist derzeit keine Methode zur gemeinsamen Anreicherung von anionischen, nichtionischen und kationischen Tensiden bekannt, die eine anschließende Quantifizierung in umweltrelevanten Konzentrationen erlaubt. Mit dieser Arbeit sollte der Versuch unternommen werden, eine solche Methode für die Analyse von Flußwasser zu entwickeln. Die Nachweisempfindlichkeit sollte so hoch sein, daß diese Methode mit den literaturbekannten Einzelverfahren konkurrieren und die in Flußwasser vorhandenen Gehalte erfassen kann.

Bedeutung der Ergebnisse

In dieser Arbeit wurde ein Konzept entwickelt, nach dem aus nur einer Flußwasserprobe alle drei Tensidklassen gemeinsam angereichert und anschließend voneinander getrennt werden, um die einzelnen Stoffgruppen dann geeigneten Endbestimmungsverfahren, d.h. HPLC-Verfahren, zuzuführen. Dies wurde mit einem zweistufigen Verfahren realisiert: Im Primärschritt werden durch Festphasenextraktion des Flußwassers die meisten organischen Verbindungen fixiert. Mit Lösemitteln werden die Tenside eluiert und anschließend konzentriert. Im Sekundärschritt ("Trennungsgang") erfolgt die Trennung in die einzelnen Tensidklassen durch Chromatographie an Säulen aus basischem Aluminiumoxid.

Die experimentellen Messungen wurden derart durchgeführt, daß alle denkbaren Oberflächeneffekte von der Probenahme bis zur Endbestimmung berücksichtigt wurden ("geschlossenes Konzept"). Dazu gehörte beispielsweise auch die Einbeziehung des Probenahmegefäßes in die Aufarbeitungssequenz. Dieser Aspekt wurde bisher nicht immer in der Literatur beachtet [32, 88, 156, 157], obwohl die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Tenside annehmen lassen, daß die Analyten dort durch Adsorptionsvorgänge verlorengehen könnten [72, 158].

Die Untersuchungen der einzelnen Verfahrensschritte der modular aufgebauten Methode (Festphasenextraktion, Heißextraktion und Trennungsgang) führten durchweg zu positiven Ergebnissen, d.h. die Wiederfindungsraten der Tenside lagen im Bereich von 60 bis 130%. Bei der Analyse von Flußwasser-Modellösungen wurden mit dem Gesamtverfahren zwischen 65 und 110% Wiederfindungsrate erreicht. An dotierten Flußwasserproben lieferten die einzelnen Modelltenside allerdings recht unterschiedliche Ergebnisse sowohl bezüglich der Wiederfindungsrate als auch bezüglich der Korrelation zu den getesteten internen Standardsubstanzen, welche der rechnerischen Kompensation etwaiger Analytenverluste dienen sollten.

Für die Klasse der anionischen Tenside wurde Natrium-4-nonyl-benzolsulfonat (LAS-9) erfolgreich als interner Standard eingesetzt. Die Eignung dieses Stoffes für diesen Zweck wurde auch bei anderen Arbeiten bereits beschrieben [77, 79]. Im

Gegensatz zum LAS-9 erwies sich Natrium-4-pentadecyl-benzolsulfonat (LAS-15 bzw. "1-C_{15}-LAS") aber als ungeeignet, da dieser Stoff chromatographisch nicht störungsfrei bestimmbar war, obwohl ein anderes Isomer des LAS-15 (Natrium-4-(1-ethyl-tetradecyl)-benzolsulfonat, "3-C_{15}-LAS") bereits Anwendungen dieser Art gefunden hat [30, 78, 102]. Die beiden Isomere unterscheiden sich offensichtlich in ihrem Verhalten während der chromatographischen Bestimmung. Hinsichtlich der Wiederfindungsraten der Modelltenside konnte das Gesamtverfahren die Anforderungen bezüglich des LAS letztendlich nicht erfüllen, obwohl Defizite in der Wiederfindungsrate dieser Stoffe nur bei der Analyse dotierter Flußwasserproben auftraten, während die Untersuchungen der einzelnen Module gute Ergebnisse lieferten.

Das nichtionische Modelltensid 4-Nonylphenol-ethoxylat (NPEO, Isomerengemisch) wurde im Gesamtverfahren aus Flußwasser ebenfalls nicht vollständig wiedergefunden. Trotz einiger Versuche ist es außerdem nicht gelungen, einen geeigneten internen Standard für diese Substanzklasse zu finden, der diese Verluste kompensieren könnte, so daß eine abschließende Bewertung der Methode für diese Stoffklasse noch offenbleiben muß. Die als interne Standards für die Klasse der nichtionischen Tenside vorgesehenen Substanzen Trimethylphenol und Trimethylphenol-monoethoxylat erlitten bei den Destillations- und Verdampfungsschritten im Gegensatz zum Analyten NPEO deutliche Verluste, so daß keine genügende Korrelation zwischen internem Standard und Analyt erreicht werden konnte. DDP zeigte an vielen anderen Punkten der Sequenz ebenfalls nur ungenügend ähnliches Verhalten.

In der Klasse der kationischen Tenside wurde das Modelltensid Dioctadecyl-dimethyl-ammoniumhalogenid (N-18-18) in dem vorgestellten Bestimmungsverfahren sehr gut wiedergefunden, so daß hiermit eine gute Alternative zu den bekannten Bestimmungsverfahren besteht. Das als interner Standard ausgewählte Dioctyl-dimethyl-ammoniumhalogenid (N-8-8) zeigte eine günstige Korrelation. Für die "Esterquats" ist diese Methode allerdings ungeeignet, denn diese sind offensichtlich so instabil, daß sie sich bereits bei den Destillations- und Verdampfungsschritten vollständig zersetzen.

Für diese Stoffklasse konnte mit HPLC und Nachsäulen-Ionenpaarextraktion zwar ein empfindliches Endbestimmungsverfahren entwickelt werden, jedoch steht immer noch kein geeignetes Anreicherungsverfahren zur Verfügung. Ein möglicher Lösungsweg könnte eine Anreicherungsmethode sein, die ohne Erhitzungsschritte auskommt; die Integration in das vorgestellte Verfahren scheint aber nicht realisierbar zu sein. Da es wegen der hohen Instabilität dieser Verbindungen als sehr unwahrscheinlich erscheint, daß diese Substanzen überhaupt in Flußwasserproben (unzersetzt) vorliegen, ist der Bedarf an einer Bestimmungsmethode für diese Stoffgruppe aber als nicht so dringlich einzuschätzen.

Bei den Untersuchungen zur Isolierung der Tenside aus den Schwebstoffen wurden prinzipiell die gleichen Resultate wie für die Analyse der Flußwasser-Lösung bezüglich Wiederfindungsraten und Korrelation der internen Standardsubstanzen erhalten. Dabei wurde allerdings experimentell nicht untersucht, inwieweit auch im Innern der Schwebstoffe eingebundene Tenside miterfaßt werden. Nur wenige Arbeiten haben sich bisher mit dieser Frage auseinandergesetzt [100].

Zur chromatographischen Trennung einiger Modelltenside (LAS, Alkylphenolethoxylate) ließen sich literaturbekannte HPLC-Verfahren adaptieren. Für alle ausgewählten Modelltenside wurden schließlich geeignete Trennverfahren gefunden. Für die Alkylethersulfate, α-Sulfo-fettsäuren und α-Sulfo-fettsäureester sowie für die Esterquats (zur gemeinsamen Bestimmung mit Alkylammoniumverbindungen) wurden geeignete HPLC-Trennverfahren entwickelt, da keine solchen in der Literatur zur Verfügung standen.

Bei den aliphatischen anionischen und kationischen Tensiden, bei denen die Nachweisstärke bekannter Endbestimmungsverfahren nicht ausreichte, führte die Kopplung der HPLC mit einem Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystem und Fluoreszenzdetektion zum gewünschten Ziel. Als Weiterentwicklung literaturbekannter Systeme wurde u.a. der Aufbau des Phasenseparators und der Kapillaren-Konfiguration entscheidend verändert [133] sowie eine Reinigungsfunktion in die Anlage integriert. Gegenüber herkömmlichen Anlagen konnten so entscheidende Vorteile erreicht werden: Das System zeigt eine

hohe Stabilität gegenüber Matrixeffekten und ist unempfindlich gegenüber Vibrationen und Druckveränderungen. Die Ursachen für schlecht reproduzierbare und störanfällige Signalerzeugung in literaturbekannten Anordnungen dieser Art konnten aufgedeckt und abgestellt werden. Zeitaufwendige manuelle Reinigungsoperationen und langwierige Äquilibrierungsprozesse, wie sie bisher beschrieben worden sind [64, 119], entfallen bei der hier vorgestellten Konfiguration. Die eingesetzten Bauteile, insbesondere der Phasenseparator, sind im Gegensatz zu den ursprünglichen Techniken [64, 65, 66] kaum störanfällig und wartungsfrei. Durch Integration der Anlagen-Steuerung (Spül- und Äquilibriersequenz) in die Steuereinheit der HPLC-Anlage ist außerdem ein vollautomatischer Ablauf ermöglicht worden, so daß das System ohne spezifische Kenntnisse zu bedienen ist. Für die Bestimmung aliphatischer anionischer und aliphatischer kationischer Tenside wurde eine Anlage entwickelt, die durch geringfügige Umbauten für beide Anwendungsfälle nutzbar ist. Alle Randbedingungen wie z.B. Reagenzkonzentration, Extraktionsmittel, Flußraten usw. wurden zur Quantifizierung der jeweils vorliegenden Modelltenside optimiert.

Mit diesem System können in der Endbestimmung absolute Nachweisgrenzen für aliphatische ionische Tenside erreicht werden, die um mindestens zwei Zehnerpotenzen niedriger liegen als mit kommerziell erhältlichen Detektoren. Natriumdodecylsulfonat beispielsweise kann in dem vorgestellten analytischen Verfahren und dem Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystem mit einer Nachweisgrenze von nur 0,4 $\mu g L^{-1}$ in Flußwasser erfaßt werden. Lediglich Methoden, die sehr speziell auf die Anreicherung dieses Stoffes bzw. der Stoffklasse zugeschnitten sind, können solche Empfindlichkeiten erreichen [75, 77, 91, 97, 102].

Bei der abschließenden Untersuchung einer Serie von Flußwasserproben der Elbe konnten die Gehalte an den kationischen Tensiden N-18-18, N-18 und N-12 sowie an C12-SO3 gut bestimmt werden. Für die einzelnen Homologen des LAS und für NPEO konnten, trotz der nachgewiesenen Schwächen der Anreicherungsmethode bzw. des fehlenden internen Standards, zumindest Näherungswerte ermittelt werden. Die Gehalte erwiesen sich als sehr niedrig, wie das für Gewässer mit einem hohen

Abfluß typisch ist. Die Notwendigkeit eines empfindlichen Bestimmungsverfahrens und des damit verbundenen technischen und zeitlichen Aufwandes wird dadurch unterstrichen, daß die Tenside in der Regel im Bereich der Bestimmungsgrenze quantifiziert werden mußten. Teilweise wurden diese auch unterschritten (Octadecyl-trimethyl-ammoniumhalogenid, N-18; Dodecyl-trimethyl-ammoniumhalogenid, N-12; Dodecylsulfonat, C12-SO3).

Schlußfolgerungen und Ausblick

Die Ergebnisse zeigen, daß es prinzipiell möglich ist, detaillierte analytische Bestimmungen des Tensidmusters auch mit einem gemeinsamen Verfahren für alle drei Tensidklassen in Flußwasser durchzuführen. Die Empfindlichkeit dieser Methode liegt mindestens im Bereich der Leistungsfähigkeit von Bestimmungsmethoden für einzelne Stoffgruppen. Dies wurde durch einen hohen Anreicherungsfaktor, einen effizienten Trennungsgang sowie leistungsfähige chromatographische Endbestimmungsverfahren erreicht. Das Detektionsproblem aliphatischer ionischer Tenside wurde durch die Entwicklung eines automatisch arbeitenden Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystems gelöst. Die bisher in der Literatur beschriebenen technischen Einschränkungen konnten weitgehend eliminiert werden. Somit steht eine Methode zur empfindlichen, einzelsubstanzspezifischen Bestimmung von Tensiden zur Verfügung, deren Leistung bisher nur durch mehrere, voneinander unabhängige Methoden hätte erreicht werden können.

Das Problem der schlechten Wiederfindung der LAS in realen, undotierten Flußwasserproben könnte sich durch Modifikation bzw. Erweiterung der vorgestellten Methode beheben lassen, denn gerade für diese Stoffklasse sind zahlreiche substanzspezifische Verfahren zur Anreicherung bekannt [9, 43, 73, 78, 80, 83, 91, 102, 113, 156]. Denkbar wäre beispielsweise eine Erweiterung der Festphasenextraktion durch zusätzliche (in "Serie" geschaltete) Festphasensäulen, z.B. mit Umkehrphasen-materialien. Durch geeignete Anordnung könnte erreicht werden, daß diese ausschließlich mit den die Adsorbersäule unerwünscht passierenden anionischen Tensiden in Kontakt kommen und diese dort zurückhalten.

Für die Klasse der nichtionischen Tenside müssen interne Standardsubstanzen gefunden werden, die in ihrem Verhalten den Analyten genügend ähnlich sind. Das könnten für die Alkylphenolethoxylate z.B. Heptyl- oder Decylphenol oder deren Ethoxylate sein.

Die Extraktion schwebstoffgebundener Tenside könnte bezüglich des Lösemittels, der Extraktionsdauer, der Extraktionstechnik und anderer Parameter möglicherweise noch weiter verbessert werden. Auch die Untersuchung der möglichen Einbindung von Tensiden in das Innere der Schwebstoffe könnte lohnend sein, denn es ist davon auszugehen, daß Extraktionsverfahren ohne vorhergehenden Aufschluß nur "außen" adsorbierte Tenside erfassen können. Andere Extraktionstechniken, wie z.B. die Extraktion mit überkritischen Flüssigkeiten (SFE) oder Aufschlußverfahren (z.B. Flußsäureaufschluß anorganischer Matrix), könnten verwendet werden. Ob diese Techniken allerdings in der Lage sind, die gesamte Bandbreite der Tenside abzudecken, ist fraglich.

Da entsprechend dem Konzept dieser Arbeit die einzelnen Module, d.h. Verfahrensschritte, unabhängig voneinander eingesetzt werden können, sollte es möglich sein, diese auch bei der Aufarbeitung anderer Umweltmatrices (Kläranlageneinlauf, -ablauf, Klärschlamm, Flußsediment, Boden) zu verwenden und damit für weitergehende Forschungsarbeiten zu nutzen.

Aufgrund des zweistufigen Aufbaus der Analysenmethode, d.h. Adsorption organischer Verbindungen im Primärschritt und Feinauftrennung im Sekundärschritt, ist es denkbar, daß die Methode durch geringfügige Modifizierungen auch zur Bestimmung anderer Substanzklassen (z.B. Alkylsulfate, Alkylethersulfate, α-Sulfo-fettsäuren, α-Sulfo-fettsäureester und Fettalkoholethoxylate) verwendet werden kann. Für die meisten dieser Substanzen wurden in dieser Arbeit bereits HPLC-Trennverfahren entwickelt und mit dem Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystem sind auch die aliphatischen ionischen Vertreter empfindlich quantifizierbar.

Sinnvoll und möglich scheinen auch eine Automatisierung sowie andere Maßnahmen zur Verkürzung der Analysendauer zu sein. Eine abschließende Bewertung wird möglich sein, wenn die

Methode in Ringversuchen ihre Leistungsfähigkeit unter Beweis gestellt hat.

5 Experimentelles

5.1 Vorbemerkungen

Die erarbeitete Gesamtmethode zur Bestimmung von Tensiden in Flußwasserproben, wie sie zur Analyse von Modellösungen, dotierten Flußwasserproben und Elbeproben letztendlich verwendet wurde, wird mit allen Verfahrensschritten und HPLC-Endbestimmungsmethoden in Abschnitt 5.2 beschrieben. Alle zur Durchführung des Bestimmungsverfahrens notwendigen Details sind dort dokumentiert.

Da das Anreicherungsverfahren für Tenside aus Flußwasserproben sowie das Nachsäulen-Ionenpaarextraktionssystem zur Endbestimmung aliphatischer ionischer Tenside entwickelt und optimiert wurden, stellen diese den wesentlichen Teil der Ergebnisse dieser Arbeit dar. Die experimentellen Details bezüglich der Entwicklung und Optimierung sind deshalb gesondert in Abschnitt 5.3 dokumentiert. Wegen des modularen Aufbaus dieses Bestimmungsverfahrens sind die Verfahrensschritte (Module) dort einzeln aufgeführt.

Die Bezugsquellen und Synthesevorschriften der eingesetzten Chemikalien bzw. sonstigen Materialien sind in Abschnitt 5.4 aufgelistet. Die Geräte und Durchführungshinweise zu den spektroskopischen und anderen Methoden der Strukturaufklärung (^{1}H-Kernresonanz(NMR)-Spektroskopie, Infrarot(IR)-Spektroskopie, Fluoreszenz-Spektroskopie, Elementaranalyse) sind dort jeweils bei der erstmaligen Darstellung entsprechender Daten angegeben.

5.2 Gesamtverfahren zur Bestimmung von Tensiden in Flußwasser

5.2.1 Festphasenextraktion und Trennungsgang

Abb. 2-1 (S.15) zeigt schematisch das Gesamtverfahren zur Bestimmung von Tensiden in Flußwasser.

Entnahme und Konservierung einer Flußwasserprobe
Eine gereinigte 1000 mL - oder 2500 mL - Braunglasflasche wird

an möglichst gut fließender Stelle des Flusses solange unter die Wasseroberfläche gedrückt, bis die Flasche annähernd gefüllt ist, aber noch genügend Raum für das Konservierungsmittel bleibt (10 bzw. 25 mL). Die Flasche wird nicht mit dem Probewasser vorgespült. Zu einer 1000 mL- (bzw. 2500 mL-) Wasserprobe werden 10 mL (bzw. 25 mL) 36%ige Formaldehydlösung zur Konservierung zugegeben. Die Flasche wird gut verschlossen und bis zur Aufarbeitung bei 4 °C im Dunkeln gelagert.

Vorbereitung der Flußwasserprobe zur Festphasenextraktion
Zu einer 1000 mL - (bzw. 2500 mL -) Flußwasserprobe gibt man 11,7 g (bzw. 29,3 g) Natriumchlorid, 21 g (bzw. 52,5 g) Citronensäure-monohydrat und 2 g (bzw. 5 g) Natriumhydroxid. Durch gelegentliches Umschütteln lösen sich die Salze schnell auf.

Herstellung der Adsorbersäulen zur Festphasenextraktion
Eine Soxleth-Hülse (33 mm i.d. x 94 mm Höhe, Schleicher & Schüll, Dassel) wird mit Adsorberharz XAD-4 befüllt und mit silanisierter Glaswolle oder Glaswatte bedeckt. Die Hülse wird in die Apparatur zur Heißextraktion (Abb. 3-7, S.36) eingesetzt. Der Extraktor hat eine Länge von 200 mm bei einem i.D. von 40 mm, der Rundkolben ein Volumen von 500 mL. Als Heizquelle dient ein 6-Kanal-Heizgerät (Typ "Pilz RE6", Heraeus, Heidelberg). Nach je 16 Stunden Heißextraktion unter Rückfluß mit 200 mL Diethylether und anschließend mit 200 mL Methanol werden die Glaswatte bzw. -wolle und das XAD-4 entnommen. Das XAD-4 wird bis zur weiteren Verwendung unter Methanol aufbewahrt. Die gereinigte Glaswatte bzw. -wolle wird später ebenfalls gebraucht und deshalb aufbewahrt.

Die Apparatur zur kombinierten Filtration und Festphasenextraktion von Flußwasser ist in Abb. 3-2 (S. 21) dargestellt. Als Auffanggefäß für das Filtrat wird ein Kolbenaufsatz (Volumen: 1000 mL) mit angesetztem Vakuumstutzen und Kugelschliffhülse am unteren Ende verwendet. Als Adsorbersäule dient eine Glassäule (mit Glasfritte G0, Länge 200 mm, 10 bzw. 20 mm i.D. bei 1000 bzw. 2500 mL Probevolumen), beidseitig mit Kugelschliffkernen versehen. Der Bürettenhahn ist über eine Kugelschliffhülse mit der Säule verbunden.

Etwa 10 mm gereinigte, silanisierte Glaswatte werden auf die Fritte der Adsorbersäule gegeben. Bis 10 mm unter den oberen Rand wird gereinigtes XAD-4 mit Methanol eingefüllt und die Säulenpackung mit Glaswolle bis unter die Oberkante der Säule bedeckt. Sowohl neu hergestellte als auch bereits verwendete Säulen (eine Säule wird bis zu 10 x regeneriert und wiederverwendet) müssen ebenso wie die Elutionsapparatur gereinigt werden. Dazu werden ein Rundkolben und die Adsorbersäule in die Elutionsapparatur (siehe Abb. 3-6, S. 30) eingebaut, und es wird mit etwa 100 mL Methanol 8 Stunden destillativ gespült. Anschließend läßt man das Methanol bis unter den oberen Säulenschliff ablaufen und verschließt die obere Öffnung mit einem dünn gefetteten Schliffverschluß. Das restliche Methanol läßt man ablaufen, entnimmt die Säule, dreht um 180° und verschließt ebenfalls mit einem Schliffverschluß. In diesem Zustand kann die Säule einige Tage gelagert werden. Zum Wechseln auf die Adsorptionsapparatur wird entsprechend Abb. 3-2 (S. 21) ein dünn gefetteter Bürettenhahn dicht angesetzt. Dabei muß evtl. erst etwas Methanol in die Säule gegeben werden, damit das Adsorbensbett nicht aufreißt.

Vorbereitung der Adsorptionsapparatur

Die Kugelschliffhülse des Kolbenaufsatzes wird dünn gefettet, wobei man sorgfältig darauf achtet, daß kein Schliffett in den Innenraum gelangt. Zur Äquilibrierung auf das Probenmedium werden 100 mL bzw. 400 mL dest. Wasser in 2 Portionen mit etwa 1 mL min^{-1} bzw. 4 mL min^{-1} (Säulen mit 10 mm bzw. 20 mm i.D.) durch die Säule getropft, anschließend 40 mL bzw. 150 mL Pufferlösung, ebenfalls mit dieser Tropfgeschwindigkeit.

Filtration der Flußwasserprobe

Zur Filtration wird ein Membranfilter in den Filtrationsaufsatz eingebaut und mit einem Vorfilter bestückt. Der Filtrationsaufsatz besteht aus einem 250 mL Vakuum-Membranfiltrationsgerät für 50 mm Membranfilter mit Glasfritte und Viton-Dichtung. Als Filter werden Glasfaservorfilter (Standarddicke) und Membranfilter aus regenerierter Cellulose (50 mm Durchmesser, 0,45 µm Porenweite) verwendet. Alle Geräte und Filter wurden von Sartorius (Göttingen) bezogen. Der Filtrationsaufsatz wird

mit einer Gummidichtung (vakuumdicht) auf den Kolbenaufsatz der Adsorptionsapparatur (kombinierte Apparatur zur Filtration und Festphasenextraktion, entsprechend Abb. 3-2, S. 21) montiert und an Wasserstrahlvakuum gelegt. Die vorbereitete Flußwasserprobe wird portionsweise in das Vorratsgefäß des Membranfiltrationsaufbaus gegeben, wobei vor jeder Aufgabe die Probenahmeflasche kräftig umgeschüttelt wird. Die Filter werden mit einer Edelstahlpinzette entnommen, der Filtrationsaufsatz wieder zusammengebaut und aufgesetzt.

Dotierung mit internen Standardsubstanzen

Von den benötigten Substanzen werden Stammlösungen mit einer Konzentration von 1 gL^{-1} in Methanol (nichtionische und kationische Tenside) bzw. 80 vol-% Methanol in Wasser (anionische Tenside) hergestellt. Entsprechend der vorgesehenen Dotierungsmengen mit internen Standardsubstanzen (siehe Tab. 3-10, S. 97) wird aus den einzelnen Stammlösungen eine gemeinsame Dotierlösung mit internen Standardsubstanzen zusammengestellt, so daß 100 µL Dotierungsvolumen eingesetzt werden können. Entsprechende Aliquote werden in einem Meßkolben zusammengegeben und mit Methanol zur Marke ergänzt.

Eine gasdichte Hamilton-Spritze wird mit dieser internen-Standard-Dotierungslösung vorgespült und 100 µL werden zu der Lösung im Kolbenaufsatz gegeben (anschließend 15 min Wartezeit, um eine gleichmäßige Verteilung der Dotierungslösung zu ermöglichen). Der Filterrückstand wird ebenso dotiert, indem die Lösung möglichst gut verteilt zum Filterrückstand auf dem Vorfilter zugegeben wird. Vor der Weiterverarbeitung wird 10 min mit Argon abgeblasen oder 1 h zum Abdampfen stehengelassen.

Extraktion der Tenside aus dem Filterrückstand (Heißextraktion)

Die Apparatur zur Heißextraktion der Tenside aus dem Filterrückstand (schwebstoffgebundene Tenside) ist in Abb. 3-7 (S. 36) dargestellt. Geräte und Abmessungen wurden bereits im Abschnitt "Herstellung der Adsorbersäulen" (S. 130) angegeben. Man legt 200 mL methanolische Salzsäure (80 mL 25 gew-% Salzsäure werden mit Methanol auf 1000 mL aufgefüllt) im Rundkolben (Volumen: 500 mL) vor und baut diesen in die

Apparatur ein. Auf die Glasnoppen im Extraktionsaufsatz gibt man reichlich von der gereinigten Glaswolle (so daß keine Partikel vom Filter in den Kolben fallen können) und legt die entsprechenden Filter (von unten nach oben: Glasfaservorfilter und Membranfilter) flach auf die Glaswolle. Es wird 4 Stunden destillativ extrahiert. Dabei muß darauf geachtet werden, daß die vom Kühler herabfallenden Tropfen die ganze Filterfläche erfassen und nicht an der Glaswandung (am Filter vorbei) herunterlaufen. Die Extraktionslösung wird in gleicher Weise weiterbearbeitet wie die Elutionslösung der Festphasenextraktion. Die weitere Aufarbeitung der schwebstoffgebundenen Tenside ist dementsprechend ab Abschnitt "Konzentrierung" beschrieben.

Festphasenextraktion

Die Probe wird mit einer Durchflußgeschwindigkeit von 1 mL min^{-1} über Nacht durch die XAD-4-Säule getropft (die Säule läuft trocken). 100 mL dest. Wasser werden in zwei Portionen, ebenfalls mit dieser Tropfgeschwindigkeit, über die Probenahmeflasche, den Filtrationsaufbau und den Kolbenaufsatz durch die Säule gespült. Beim Ein- bzw. Umfüllen des Wassers sollen die jeweiligen Innenwandungen (die mit den Tensiden in Berührung gekommen sind) möglichst gründlich gespült werden. Die Säule wird trockenlaufen gelassen und restliches Wasser mit Druckluft aus der Säule herausgepreßt. Evtl. verbleibendes Wasser unter der Glasfritte wird nach Abbau des Bürettenhahnes mit einem Tuch abgewischt.

Elution der Tenside von der Festphasensäule

Der Kugelschliff des Adsorptionsaufsatzes wird mit Aceton vom Schliffett befreit. 200 mL Methanol werden in mehreren Portionen durch das Probenahmegefäß und von dort aus über den Filtrationsaufbau und den Kolbenaufsatz in einen 500 mL Rundkolben gespült (Glasstab). Das Probenahmegefäß wird dabei nach jeder Portion Methanol verschlossen und kurz durchgeschüttelt. Der Rundkolben und die Adsorbersäule werden in die Elutionsapparatur (siehe Abb. 3-6, S. 30) eingebaut. Es wird zwei Stunden destillativ eluiert. Dann werden 100 mL Ethylacetat zugesetzt und es wird weitere 2 Stunden

destilliert.

Konzentrierung der Tenside

Sowohl die Extraktionslösung der Heißextraktion (schwebstoffgebundene Tenside) als auch die Elutionslösung der Festphasenextraktion (gelöste Tenside) werden, wie im folgenden beschrieben, in gleicher Weise weiterbearbeitet.

Der Extrakt bzw. das Eluat werden bei 40°C am Vakuumrotationsverdampfer (Firma Heidolph, Kelheim) soweit wie möglich eingeengt; es verbleiben nur noch einige Wassertropfen. Zu den zurückbleibenden Wasserresten werden etwa 20 mL Isopropanol über das Belüftungsrohr des Verdampfers zugegeben, und es wird bis zur Trockne abrotiert. Der Rückstand sollte nicht zu lange im Rotationsverdampfer verbleiben, muß aber trocken sein. Der Rückstand im Kolben wird mit 4 mL Ethylacetat versetzt und kurz geschwenkt. Zur Lagerung bei 4 °C verschließt man dicht mit einem Glasschliffstopfen.

Herstellung der Aluminiumoxidsäulen

Der Aufbau der Aluminiumoxidsäulen ist in Abb. 3-11 (S. 52) dargestellt. Als Chromatographiesäulen werden Glassäulen (Länge 200 mm, 10 mm i.D.) mit einer Glasfritte G0 und PTFE-Hahn verwendet. Lösemittel und Probelösung werden mit Pasteurpipetten (150 mm) überführt. Als Vorlage für die Lösemittel dienen Meßzylinder (10 mL).

Die Fritte der Chromatographiesäule wird mit 2-3 mm gereinigter silanisierter Glaswatte dicht belegt, mit Methanol befeuchtet und die Säule mit 1,2 g basischem Aluminiumoxid (Aktivitätsstufe 1), aufgeschlämmt in Methanol, beschickt. Es wird mit Methanol eingeschlämmt, bis sich keine Aluminiumoxidreste mehr im Becherglas befinden. Alle Geräte müssen äußerst trocken sein, und die Vorratsflasche mit wasserfreiem Aluminiumoxid muß unbedingt wieder feuchtigkeitsdicht verschlossen werden. Auf die Säulenpackung wird mit einem Glasstab ein mit Methanol befeuchteter 2-3 mm breiter Pfropfen silanisierter Glasfaserwatte gedrückt. Man läßt das Lösemittel bis auf den Säulenkopf ablaufen, spült noch zweimal mit etwas Methanol nach und verschließt gut mit einem Polyethylenstopfen.

Trennungsgang an Aluminiumoxid

Die Säule wird unmittelbar vor der Benutzung mit 6 x 1 mL Methanol und anschließend mit 6 x 1 mL Ethylacetat gespült. Tropfgeschwindigkeit: 1 bis 2 mL min^{-1}. Das Tensidkonzentrat (in 4 mL Ethylacetat) wird unmittelbar vor der Aufgabe auf die Aluminiumoxidsäule im Ultraschallbad (Transsonic T460/H, Elma, Singen) 5 min bei 40 °C geschwenkt. Die Tensidlösung wird mit der Pasteurpipette noch warm in 4 Portionen auf die Säulenpackung gebracht. Nach 2 min Wartezeit (bis die Lösung abgekühlt ist) läßt man langsam ablaufen. Weitere 2 mL Ethylacetat werden in den Rundkolben gegeben, und es wird nochmals kurz mit Ultraschall behandelt. Dann wird ebenfalls auf die Säule überführt und ablaufen gelassen. Das Eluat (Fraktion I) wird verworfen. Jetzt erfolgt die Elution der Tensidklassen in der Reihenfolge Nichtionische Tenside ("NT", Fraktion II), Kationische Tenside ("KT", Fraktion III) und Anionische Tenside ("AT", Fraktion IV). Die Fraktionen werden in verschließbaren Glasröhrchen (6 mL Volumen) aufgefangen. Die Röhrchen für die NT- und KT-Fraktion tragen eine Markierung bei einem Volumen von 1 mL, die Röhrchen für die Fraktion AT eine Markierung bei einem Volumen von 2 mL. Für die AT-Fraktion werden jeweils 308 mg Natriumacetat als feste Substanz vorgelegt. Die Elution der einzelnen Tensidklassen wird mit folgenden Lösemitteln erreicht (Elutionsgeschwindigkeit: 1 bis 2 mL min^{-1}):

NT: 6 vol-% Methanol in Ethylacetat
KT: 5 vol-% Trifluoressigsäure in Methanol
AT: 25 vol-% 2M Salzsäure in Methanol

Von den jeweiligen Elutionsmitteln werden 6 mL in Portionen à 1 mL auf die Säule gegeben. Nach jeder Portion läßt man bis auf die Watte ablaufen. Die Röhrchen der AT-Fraktion werden fest verschlossen, umgeschüttelt und ultraschallbehandelt, bis das Natriumacetat vollständig gelöst ist.

Konzentrierung und Dotierung mit Kontrollstandard

Die NT- und KT-Lösungen werden mit Argon bei 40 °C gerade bis zur Trockne abgeblasen, die AT-Lösung bis knapp unter die 2 mL-Marke. Anschließend wird wie folgt mit Kontrollstandard-lösungen und Lösemitteln beschickt, mit dem Schraubdeckel

verschlossen und bis zur HPLC-Analyse bei 4 °C im Dunkeln gelagert:

NT: 50 µL 100 mgL^{-1} TMP(EO)1 in Methanol sowie 350 µL Methanol zudosieren. Auffüllen mit Wasser zur Marke.

KT: 20 µL 100 mgL^{-1} N-12-12 in Methanol sowie 2 µL Essigsäure zudosieren. Auffüllen mit Chloroform zur Marke.

AT: 20 µL 100 mgL^{-1} C10-SO3 in Methanol zugeben. Auffüllen mit Methanol zur Marke.

HPLC-Analyse

Die Endbestimmung mittels HPLC erfolgt wie in den folgenden Abschnitten 5.2.2, 5.2.3, 5.2.4 und 5.2.5 beschrieben. Dort sind auch die Standard-Werte für Analytenkonzentrationen und Injektionsvolumina der Kalibrierlösungen angegeben. Je nach Flußwasserprobe (Analytenkonzentration bzw. Matrixstörungen in den Chromatogrammen) müssen diese Werte angepaßt werden. Die Kalibrierlösungen werden aus den Stammlösungen der Tenside und den Kontrollstandardlösungen wie folgt hergestellt:

NT: Entsprechende Mengen Stammlösung der nichtionischen Tenside und 500 µL Kontrollstandardlösung (100 mgL^{-1} TMP(EO)1 in Methanol) werden im 10 mL Meßkolben mit 4 mL Methanol versetzt und mit Wasser zur Marke ergänzt

KT: Entsprechende Mengen Stammlösung der kationischen Tenside und 1 mL Kontrollstandardlösung (100 mgL^{-1} N-12-12 in Methanol) und 100 µL Essigsäure auffüllen mit Chloroform auf 50 mL.

AT: Entsprechende Mengen Stammlösung der anionischen Tenside und 200 µL Kontrollstandardlösung (100 mgL^{-1} C10-SO3 in Methanol), 5 mL Methanol und 140 mg Natriumperchlorat-dihydrat; auffüllen mit Wasser auf 20 mL.

5.2.2 Endbestimmung von Alkylphenolethoxylaten und Alkylphenolen mit HPLC

HPLC-Anlage (allgemeine Dokumentation)
Für die Endbestimmung von Tensiden mit der HPLC wurden in dieser Arbeit folgende Gerätekomponenten verwendet:
HPLC-Pumpe 2150 mit Niederdruck-Gradientenmischsystem; Gradientensteuerung 2152; Fließmittelentgaser 2156; Lichtabsorptions-Detektor 2151 (Pharmacia Biosystems, Freiburg). 6-Wege-Injektionsventil C6W (Valco, Houston, TX, USA). Fluoreszenz-Spektrophotometer F1000 mit 12 µL Meßzelle. Chromato-Integrator D-2500 (Merck-Hitachi, Darmstadt). Kapillaren und Herstellung der HPLC-Säulen durch Chromatographie Service, Langerwehe.

Endbestimmung von Alkylphenolethoxylaten und Alkylphenolen
Trennsäule: LiChrospher 100 RP18-EC 5µm, 125 x 4 mm, Edelstahl. Fließmittel/Gradient: A = 20 vol-% Methanol "LiChrosolv gradient grade" in Wasser; B = Methanol "LiChrosolv gradient grade".

Gradient:

Zeit/min	%B	mL/min
0	40	1,20
15	100	
19	100	
19,1	40	
21	40	

Retentionszeiten:

TMP	5,5 min
TMP(EO)1	6,4 min
TMPEO	6,8 min
NPEO	13,1 min
DDP	15,9 min

Detektion: Fluoreszenz bei 230/305 nm. Quantifizierung (das hier angegebene Prinzip wurde bei allen im folgenden dokumentierten HPLC-Verfahren angewendet): Lineare Regression über Zwei-Punkt-Kalibrierung der Signalflächen (Begründung dieser Vorgehensweise siehe Abschnitt 3.5.1). Dazu wird eine

Gerade zwischen dem Nullpunkt der Signalfläche/Konzentrations-Kurve und einem Meßwert dieser Kurve für eine gegebene Konzentration der Standardlösung gezogen. Die Bestimmung unbekannter Konzentration erfolgt über Interpolation zwischen diesen beiden Werten.

Standard-Konzentrationen in der Kalibrierlösung bei der Flußwasseranalyse (HPLC-Bestimmung von Alkylphenolethoxylaten und Alkylphenolen): 20 mgL^{-1} NPEO (Analyt), 10 mgL^{-1} DDP (Interner Standard), 5 mgL^{-1} TMP(EO)1 (Kontroll-Standard). Injektionsvolumen: 80 µL.

5.2.3 Endbestimmung von Alkylammoniumverbindungen und Esterquats mit HPLC

Trennverfahren

Trennsäule: Spherisorb S5 Aminopropyl, 125 x 4 mm, Edelstahl (siehe auch Abschnitt 5.3.5, bezüglich der Inbetriebnahme neuer Säulen). Fließmittel/Gradient: A = 0,2 vol-% Essigsäure in Chloroform; B = 0,2 vol-% Essigsäure/ 4 vol-% Acetonitril/ 10 vol-% Methanol - in Chloroform.

Gradient:	Zeit/min	%B	mL/min
	0	20	1,20
	5	20	
	25	70	
	25,1	100	
	30	100	
	30,1	20	
	32	20	

Retentionszeiten:	N-18-18	3,4 min
	N-12-12	4,3 min
	N-8-8	5,9 min
	N-E-8-8-8	9,4 min
	N-12	11,5 min
	N-E-18-18	11,8 min
	N-E-8-8	14,7 min
	N-E-18	18,8 min
	N-E-8	20,2 min

Quantifizierung mit einem Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystem

Die Bestimmung der aliphatischen kationischen Tenside in Modellösungen und dotierten Flußwasserproben sowie in Elbeproben wurden mit dem in Abb. 3-22 (S. 82) dargestellten Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystem realisiert. Die Anlage ist sowohl für die Bestimmung aliphatischer kationischer als auch für die Bestimmung aliphatischer anionischer Tenside geeignet. Zum Wechsel zwischen den beiden Modi müssen neben dem Austausch der Trennsäule und der Fließmittelkomponenten auch geringfügige Umbauten an der Anlage selbst vorgenommen werden. Außerdem werden andere Lösungen (Reagenzlösung etc.) zur Versorgung des Systems benötigt. Die Anlagenteile der HPLC (Steuerung, Pumpe, Detektor, ...) wurden bereits dokumentiert (Abschnitt 5.2.2). Im folgenden sind zuerst die gemeinsamen Konstruktionsmerkmale des Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystems beschrieben, entsprechend der Abb. 3-22 (S. 82):

Der Phasenseparator wurde nach den Vorgaben von De Ruiter et al. [119] modifiziert und in der Werkstatt der KFA gefertigt. Der Querschnitt der Doppelnut ist, in Abweichung von dieser Veröffentlichung, kreisförmig, mit einem Durchmesser von 2 mm und einer Länge von 12 mm. Das entspricht einem Volumen des zylindrischen Hohlraumes von etwa 40 µL. Die Zu- und Abläufe wurden so angebracht, daß sich diese in jeweils 1 mm Abstand zu den Stirnseiten der Doppelnut befinden. Die beiden Edelstahlblöcke haben eine Kantenlänge von 40 mm und eine Höhe von 13 mm. Die PTFE-Platte (Kantenlänge ebenfalls 40 mm) ist 5 mm hoch.

Alle Kapillaren hinter der Trennsäule bestehen, sofern

nicht anders angegeben, aus PTFE. Alle Kapillaren vor der Trennsäule bestehen aus Edelstahl. Die Kapillaren wurden geliefert von Chromatographie Service, Langerwehe. Das Regulierventil (RV) Typ G6Y wurde von Hoke, Frankfurt bezogen. Als Mischkapillare (MK) dient eine PTFE-Kapillare, 500 mm x 0,50 mm i.D., aufgerollt zu einer Helix mit 15 mm Durchmesser. Als Detektorkapillare (DK) wurde eine PTFE-Kapillare, 750 x 0,30 mm, verwendet. Die Längen der anderen Kapillaren werden beim Aufbau der Anlage so klein wie möglich gehalten, der innere Durchmesser beträgt 0,30 mm. Eine Ausnahme bilden die Kapillaren AK1 und AK2. Diese haben die Abmessungen 2800 x 0,30 mm (AK1) und 2800 x 0,50 mm (AK2). Die Magnetventile (M) sind 3/2-Wege-Ventile Typ 364 von Asco (Ratingen). Die 3-Kanal-Reagenzpumpe 655A-13 (incl. Pulsationsdämpfer und T-Verbindungsstücke, P2) stammt von Merck-Hitachi. Der Aufbau dieses Anlagenteils zur Phasenseparation ist auch in der Offenlegungsschrift zur Patentanmeldung detailliert beschrieben [133].

Im Unterschied zur Quantifizierung aliphatischer anionischer Tenside mit dieser Anlage werden zur Bestimmung aliphatischer kationischer Tenside die im folgenden aufgeführten Konstruktionsmerkmale und Verfahren angewendet: Als Extraktionskapillare (EK) dient eine PTFE-Kapillare, 1000 mm x 0,50 mm i.D., aufgerollt zu einer Helix mit 40 mm Durchmesser. Die 3-Kanal-Reagenzpumpe (P2) läuft mit Flußraten von 0,4 mL min^{-1} je Kanal. Gefördert werden: Chloroform (C), Methanol (D) und eine wäßrige Lösung von 30 mgL^{-1} DAS (E). Letztere wird entweder frisch zubereitet oder zur längeren Verwendung gekühlt aufbewahrt. Tabelle 3-17 zeigt das Programm, das im Anschluß an den Fließmittel-Gradienten die Spül- und Äquilibrierschritte steuert. Die Steuerung erfolgt von der Kontrolleinheit der HPLC-Anlage aus, eingebettet in das Zeitprogramm des Fließmittelgradienten. In Tab. 3-17 ist die Fließmittelzusammensetzung nicht angegeben; diese wurde bereits dokumentiert (S. 138). Bei längeren bzw. kürzeren Laufzeiten des Fließmittelgradienten muß die Spül- und Äquilibrierungssequenz entsprechend angepaßt werden, d.h. zeitversetzt angesteuert werden.

Tab. 3-17. Programm der Spül- und Äquilibrierschritte bei der Bestimmung kationischer Tenside. - Gesteuert von der HPLC-Kontrolleinheit. Reagenz-, Methanol- und Chloroformflußrate: 0,4 mL min^{-1}. + Zudosierung; - Keine Zudosierung (Kreislaufschaltung).

Zeit min	Eluens-Fluß mL min^{-1}	Chloroform	Methanol	DAS-Lösung
0 - 25[a)]	0.80	+	-	+
25	0	-	+	-
27	0	+	-	-
29	0.80	+	-	-
30	0.80	+	-	+
32	0.80	+	-	+

[a] Ablauf der HPLC-Trennung.

Detektion: Fluoreszenzmessung bei 360/450 nm. Quantifizierung: Lineare Regression über Zwei-Punkt-Kalibrierung (Nullpunkt und ein Meßwert). Standard-Konzentrationen in der Kalibrierlösung bei der Flußwasseranalyse: 6 mgL^{-1} N-18-18 (als Bromid, Analyt), 7,5 mgL^{-1} N-12-12 (als Bromid, Kontroll-Standard), 2 mgL^{-1} N-8-8 (als Jodid, Interner Standard), 2 mgL^{-1} N-18 (als Bromid, Analyt), 2 mgL^{-1} N-12 (als Bromid, Analyt). Injektionsvolumen: 80 µL. Die Injektionen erfolgen immer unmittelbar nach Ablauf einer Spül- und Äquilibrierungssequenz.

5.2.4 Endbestimmung von LAS mit HPLC

Trennsäule: Spherisorb S3 C1, 125 x 4 mm, Edelstahl.
Fließmittel/Gradient: A = 20 vol-% Methanol (LiChrosolv gradient grade) in Wasser (LiChrosolv); 0,025 M Natriumperchlorat. B = 20 vol-% Wasser (LiChrosolv) in Methanol (LiChrosolv gradient grade); 0,025 M Natriumperchlorat.

Gradient:	Zeit/min	%B	mL/min
	0	40	1,20
	18	100	
	21	100	
	21,1	40	
	23	40	

Retentionszeiten:		
	LAS-9	5,5 min
	LAS-10	6,5 min
	LAS-11	7,8 min
	LAS-12	9,1 min
	LAS-13	10,3 min
	LAS-15	12,7 min

Detektion: Fluoreszenz bei 230/290 nm. Quantifizierung: Lineare Regression über Zwei-Punkt-Kalibrierung (Nullpunkt und ein Meßwert). Die Kalibrierung erfolgt nicht direkt über den Gehalt der Standardlösung des LAS-Standardgemisches (n-Dodecylbenzol-sulfonat, LAS-12, technisches Produkt), sondern erst nachdem der Gehalt der einzelnen LAS-Homologen in dieser Lösung bestimmt worden ist (Begründung für diese Vorgehensweise siehe Abschnitt 3.5.4). Das Verhältnis von Signalfläche zu molarer Stoffmenge wird zuerst an einer Standardlösung von LAS-9 (reines Isomer Natrium-4-nonyl-benzolsulfonat, 1-C_9-LAS) bestimmt (Injektionsmenge absolut: 10 µg). Unter Zugrundelegen des gleichen Verhältnisses von Signalfläche zu molarer Stoffmenge auch für andere Homologe werden die Konzentrationen einer Standardlösung des LAS-Standardgemisches bestimmt (Umrechnen der molaren Konzentrationen auf Massenkonzentrationen). Standard-Konzentrationen in der Kalibrierlösung bei der Flußwasseranalyse (alle Angaben bezogen auf die Natrium-

Salze der LAS): 5 mgL^{-1} LAS-9 (Interner Standard), 20 mgL^{-1} n-Dodecyl-benzolsulfonat (Analyt; technisches Produkt mit etwa 70% Substanzgehalt, Homologengemisch). Die Berechnung der Homologenkonzentrationen ergab: 1,23 mgL^{-1} LAS-10, 5,84 mgL^{-1} LAS-11, 4,89 mgL^{-1} LAS-12, 2,24 mgL^{-1} LAS-13. Injektionsvolumen: 80 µL.

5.2.5 Endbestimmung von Alkylsulfonaten

Trennverfahren
Trennsäule: Spherisorb S5 C1, 40 x 4 mm, Edelstahl.
Fließmittel/Gradient: A = 0,01 mol Trinatrium-citrat-dihydrat, 1 mL 5 mol L^{-1} Salzsäure, 50 mL Acetonitril in 1000 mL Wasser (LiChrosolv). B = wie A, nur 550 mL Acetonitril.

Gradient:

Zeit/min	%B	mL/min
0	20	0,80
20	100	
22	100	
22,1	20	
25	20	

Retentionszeiten: siehe Abb. 3-24 (S. 88).

Quantifizierung mit einem Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktions-system
Die Bestimmung der Gehalte aliphatischer anionischer Tenside in Modellösungen und dotierten Flußwasserproben sowie in Elbeproben werden mit dem in Abb. 3-22 (S. 82) dargestellten Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystem durchgeführt. Die Anlage ist sowohl für die Bestimmung aliphatischer kationischer als auch für die Bestimmung aliphatischer anionischer Tenside geeignet. Zum Wechsel zwischen den beiden Modi müssen neben dem Austausch der Trennsäule und der Fließmittelkomponenten auch geringfügige Umbauten an der Anlage selbst vorgenommen werden. Außerdem werden andere Lösungen (Reagenzlösung etc.) zur Versorgung des Systems benötigt. Die Konfiguration dieser Anlage für die Bestimmung aliphatischer kationischer Tenside

(Abschnitt 5.2.3) sowie die Anlagenteile der HPLC (Abschnitt 5.2.2) wurden bereits dokumentiert. Im folgenden sind daher nur die davon abweichenden Konstruktionsmerkmale des Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystems beschrieben. Die Angabe der Bauteile bezieht sich auf die Abb. 3-22 (S. 82).

Als Extraktionskapillare (EK) dient eine Tefzel-Kapillare, 1000 mm x 0,50 mm i.D., aufgerollt zu einer Helix mit 40 mm Durchmesser. Die 3-Kanal-Reagenzpumpe (P2) läuft mit Flußraten von 0,8 mL min^{-1} je Kanal. Gefördert werden: Reagenzlösung (C), Methanol (D) und Chloroform (E). Die Reagenzlösung wird durch Auffüllen von 10 mL CTBI-Stammlösung auf 200 mL mit 0,011 mol L^{-1} Trinatrium-citrat-dihydrat-Lösung hergestellt (Zusammensetzung der hergestellten Lösung: 14 µmol L^{-1} CTBI in 0,01 mol L^{-1} Trinatrium-citrat-Lösung). Letztere wird täglich frisch zubereitet und während der Verwendung im Dunkeln gehalten (Einwickeln in Aluminiumfolie). Tabelle 3-18 zeigt das Programm, das im Anschluß an den Fließmittel-Gradienten die Spül- und Äquilibrierschritte steuert. In Tab. 3-18 ist die Fließmittelzusammensetzung nicht angegeben; diese wurde bereits dokumentiert (S. 143). Bei Veränderung der Laufzeiten des Fließmittelgradienten (z.B. wg. Anpassung an eine neue Trennsäule) muß die Spül- und Äquilibrierungssequenz entsprechend angepaßt werden.

Tab. 3-18. Programm der Spül- und Äquilibrierschritte bei der Bestimmung anionischer Tenside. - Gesteuert von der HPLC-Kontrolleinheit. Reagenz-, Methanol- und Chloroformflußrate: 0,8 mL min^{-1}. + Zudosierung; - Keine Zudosierung (Kreislaufschaltung).

Zeit min	Eluens-Fluß mL min^{-1}	CTBI-Lösung	Methanol	Chloroform
0 - 25[a)]	0.80	+	-	+
25	0	-	+	-
27	0	-	-	+
29	0	+	-	+
30	0.80	+	-	+
32	0.80	+	-	+

[a] Ablauf der HPLC-Trennung

Detektion: On-line-Ionenpaarextraktion/Fluoreszenz bei 285/485 nm. Quantifizierung: Lineare Regression über Zwei-Punkt-Kalibrierung (Nullpunkt und ein Meßwert). Standard-Konzentrationen in der Kalibrierlösung bei der Flußwasseranalyse (alle Angaben bezogen auf die Natrium-Salze der Alkylsulfonate): 2,5 mgL^{-1} C10-SO3 (Kontroll-Standard), 2,5 mgL^{-1} C12-SO3 (Analyt). Injektionsvolumen: 80 µL.

5.3 Entwicklung der Verfahrensschritte

5.3.1 Vorbemerkungen

Die aufgebaute Gesamtmethode zur Bestimmung von Tensiden in Flußwasserproben, wie sie zur Analyse von Flußwassermodellösungen und Elbeproben letztendlich verwendet wurde, ist

mit allen Verfahrensschritten und HPLC-Endbestimmungsmethoden bereits in Abschnitt 5.2 beschrieben worden. Im folgenden werden die experimentellen Details bezüglich der Entwicklung und Optimierung des Anreicherungsverfahrens und der Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionsverfahren (zur Endbestimmung aliphatischer ionischer Tenside) aufgeführt. Da die einzelnen Schritte der Methode größtenteils unabhängig voneinander entwickelt wurden, sind diese im folgenden auch einzeln dargestellt. Es werden aber nur die von der in Abschnitt 5.2 dargestellten Gesamtmethode (inkl. den dort dokumentierten Nachsäulen-Ionenpaar-Verfahren) abweichenden experimentellen Parameter angegeben. Details, beispielsweise zu Geräten und Materialien, finden sich bei der Darstellung der Gesamtmethode.

Von den benötigten Substanzen wurden Stammlösungen mit einer Konzentration von 1 gL^{-1} in Methanol (nichtionische und kationische Tenside) bzw. 80 vol-% Methanol (anionische Tenside) hergestellt. Entsprechend den Dotierungsmengen mit Modell-Substanzen wurde aus den einzelnen Stammlösungen eine Dotierlösung nur mit internen Standardsubstanzen und eine nur mit Modell-Analyten derart zusammengestellt, daß 100 µL Dotierungsvolumen eingesetzt werden können (Lösemittel zum Auffüllen: Methanol). Zur Dotierung wurde eine gasdichte Hamilton-Spritze mit der jeweiligen Dotierungslösung vorgespült. 100 µL interner-Standard-Dotierungslösung sowie bei einem Wiederfindungsversuch 100 µL Dotierungslösung mit Modell-Analyten wurden am Beginn des jeweiligen Verfahrensschrittes zugegeben (detaillierte Angaben zur Dotierungsweise folgen bei den jeweiligen Schritten).

5.3.2 Festphasenextraktion aus wäßriger Lösung

Zur Untersuchung der Festphasenextraktion mit Modellösungen wurde die Apparatur in Abb. 3-2 (S. 21) ohne den Filtrations-aufsatz verwendet. Die Dotierungslösungen wurden zu der Lösung im Kolbenaufsatz gegeben und anschließend wurde 15 min gewartet. Die Endbestimmungen erfolgten mit den in den Abschnitten 5.2.2 (Alkylphenolethoxylate und Alkylphenole), 5.3.5 (aliphatische kationische Tenside), 5.2.4 (LAS) und 5.3.7

(aliphatische anionische Tenside) beschriebenen Verfahren. Die Geräte und Bauteile sind im Detail in Abschnitt 5.2 beschrieben.

Standard-Werte für Anreicherung der Tenside aus der Probelösung
Fließgeschwindigkeit: 3 mL min^{-1}.
Natriumchlorid-Konzentration: 10 gL^{-1}.
Citratpuffer: 21 gL^{-1} Citronensäure-monohydrat, 2 g NaOH.
Konservierungsmittel: 0,36 vol-% Formaldehyd (Zugabe von 10 mL 36%igem Formalin zu je 1000 mL Probe).

Elution
Manuelle Mehrstufenelution: Es wurden 38 mL Methanol sowie anschließend 38 mL Ethylacetat/Methanol 5/5 durch die Säule getropft - jeweils mit etwa 0,5 mL min^{-1}.
Destillative Zweistufenelution: 118 mL Methanol wurden vorgelegt und es wurde 2 h destilliert. Nach Zugabe von 132 mL Ethylacetat wurde nochmals 2 h destilliert.

Konzentrierung
Die vereinigten Eluate wurden bei 40°C abrotiert und das zurückgebliebene Wasser mit etwas Isopropanol azeotrop entfernt. Der Rückstand wurde bei 40°C unter Ultraschallbehandlung mit Methanol in einen 5 mL Meßkolben überführt und nach Abkühlen zur Marke ergänzt.

Endbestimmung
Für jede Endbestimmung mit der HPLC wurden jeweils 1 mL der methanolischen Lösung bei 40°C mit Argon abgeblasen, mit 1 mL Anfangs-Fließmittel aufgenommen und analysiert.

5.3.3 Extraktion von Schwebstoffen

Die Apparatur zur Extraktion der Tenside aus dem Filterrückstand (schwebstoffgebundene Tenside) ist in Abb. 3-7 (S.36) dargestellt. Der Filterrückstand wurde dotiert, indem die Dotierungs-Lösungen möglichst gut verteilt auf den Vorfilter aufgegeben werden. Vor der Weiterverarbeitung wurde

10 min mit Argon abgeblasen. Die Extraktionslösung wurde, wie für das Eluat der Festphasenextraktion beschrieben (siehe Abschnitt 5.3.2: "Konzentrierung" und "Endbestimmung"), weiterbearbeitet und die konzentrierten Tenside den Endbestimmungsverfahren zugeführt.

5.3.4 Trennung in die einzelnen Tensidklassen

Der prinzipielle Aufbau der Säule und Arbeitsablauf dieses Schrittes sind in Abb. 3-11 (S. 52) dargestellt.

Probenaufgabe und Elution
Herstellung der Aluminiumoxidsäulen: wie in Abschnitt 5.2.1 beschrieben. Die Säule wurde vor Verwendung 6 x mit 1 mL Methanol und 6 x mit 1 mL Elutionsmittel I (siehe jeweiliges Experiment im Ergebnisteil) gespült. Die Modelltenside wurden, sofern nicht anders angegeben, in ein verschraubbares 6 mL Reagenzglas dotiert, bei 40°C mit Argon abgeblasen, im Elutionsmittel I unter kurzer Ultraschallbehandlung (40°C) aufgenommen und nach Abkühlen mit einer Pasteur-Pipette auf die Säule gebracht. Die Elutionssequenz ist bei der Beschreibung des jeweiligen Experiments im Ergebnisteil genannt. Fließgeschwindigkeit (alle Schritte): 1 bis 2 mL min^{-1}.
Die Eluate wurden bei den Versuchen der Abschnitte 3.4.2 und 3.4.3 in einem 10 mL Meßkolben aufgefangen und mit Methanol zur Marke ergänzt. Bei dem in Abschnitt 3.4.4 dargestellten Experiment wurden die jeweiligen Eluate direkt wie in Abschnitt 5.2.1 beschrieben weiterbearbeitet.

Endbestimmung
Für die Endbestimmung mit HPLC wurden jeweils 2 mL des Eluates der entsprechenden Fraktion bei 40°C abgeblasen, mit 1 mL Anfangs-Fließmittel (des HPLC-Fließmittel-Gradienten) aufgefüllt und analysiert. Die Endbestimmungen erfolgten mit den in den Abschnitten 5.2.2 (Alkylphenolethoxylate und Alkylphenole), 5.3.5 (aliphatische kationische Tenside), 5.2.4 (LAS) und 5.3.7 (aliphatische anionische Tenside) beschriebenen Verfahren. Für die abschließende Untersuchung der Leistungs-

fähigkeit des Verfahrens (Abschnitt 3.4.4) wurde anstelle eines Aliquots (von 2 mL) das komplette Eluat bearbeitet, d.h. für die jeweilige HPLC-Analyse vorbereitet (Abblasen, Lösen in Fließmittel). Die Bestimmung des C12-SO3 aus der AT-Fraktion erfolgte aus der Injektionslösung, die für die Bestimmung der LAS hergestellt wurde, d.h. mit dem dort verwendeten Anfangs-Fließmittel (des HPLC-Fließmittel-Gradienten).

5.3.5 Entwicklung eines Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystems zur Bestimmung aliphatischer kationischer Tenside

Normalphasen-Trennverfahren

Bei der Verwendung von Aminopropylsäulen zur HPLC kationischer Tenside stellte sich heraus, daß die Retentionszeiten der untersuchten Verbindungen sowohl auf Säulen verschiedener Hersteller als auch auf Säulen verschiedener Chargen eines Herstellers nur schlecht reproduzierbar sind. Es hat sich deshalb als zweckmäßig erwiesen, bei Inbetriebnahme einer neuen Säule erst eine Standardmischung mit einem Testgradienten (0 -> 60 min: 0 -> 60 %B bei Trennverfahren I bzw. 0 -> 40 min: 0 -> 100 %B bei Trennverfahren II) zu trennen und daraus die günstigste Anfangszusammensetzung des Fließmittels abzuschätzen. Die Steigung des Gradienten (1 %B min^{-1} bzw. 2,5 %B min^{-1}) sollte beibehalten werden.

Trennsäule: LiChrospher Aminopropyl 5 µm, 125 x 4 mm, Edelstahl.
Fließmittel/Gradient: A = 0,2 vol-% Essigsäure/ 1 vol-% Acetonitril/ 1 vol-% Methanol - in Chloroform; B = 0,2 vol-% Essigsäure/ 1 vol-% Acetonitril/ 20 vol-% Methanol - in Chloroform.

Gradient:	Zeit/min	%B	mL/min
	0	10	1,20
	5	10	
	35	40	
	40	40	
	42	10	
	44	10	

Retentionszeiten:	N-18-18	15,2 min
	N-12-12	16,9 min

Die Experimente zu den Abbildungen 3-18 (S. 73), 3-19 (S. 75), 3-20 (S. 76) und 3-21 (S. 77) wurden isokratisch mit 30 %B durchgeführt (Retentionszeit von N-18-18: etwa 2 min).

Umkehrphasen-Trennverfahren

Getestete Trennsäulen: LiChrospher RP-18 5 µm, 150 x 3 mm, CGC-Glas-Kartusche; Spherisorb S5 Cyanopropyl, 125 x 4 mm, Edelstahl.

Fließmittelsystem: 10 mgL^{-1} DAS in 0,1 mol L^{-1} wäßrigem Phosphat-Puffer, pH 3, mit steigenden Anteilen (Fließmittelgradient) Tetrahydrofuran, Acetonitril oder Methanol. Flußrate: 0,8 mL min^{-1}. Organische Phase: 1,2-Dichlorethan; 0,8 mL min^{-1}.

Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionsverfahren

Für den Aufbau des Systems (Abb. 3-14, S. 66) wurden folgende Bauteile und Verfahren verwendet:

Standardanordnung für die Detektorkapillare (DK): PTFE-Kapillare, 750 mm x 0,30 mm i.D..

Standardanordnung für die Extraktionskapillare (EK): PTFE-Kapillare, 1000 mm x 0,50 mm i.D., aufgerollt zu einer Helix mit 40 mm Durchmesser.

Reagenzpumpe (P2): Schlauchpumpe WM 101 FD/R (Watson-Marlow, Falmouth, GB); Siliconschlauch 0,5 mm i.D. Umlaufgeschwindigkeit etwa 15 min^{-1} (DAS-Reagenz-Flußrate: 0,4 mL min^{-1}).

Pumpe für Spülfunktion (P3): Schlauchpumpe WM 101 FS/R (Watson-Marlow, Falmouth, GB); Verderpreneschlauch 0,5 mm i.D. (Verder, Düsseldorf); Umlaufgeschwindigkeit 20 min^{-1} (Flußrate etwa 1 mL min^{-1}).

Pulsationsdämpfer (PD): 1000 mm x 1 mm i.D. Siliconschlauch, über ein T-Stück an den Flüssigkeitsstrom der Reagenzpumpe angeschlossen.
T-Verbindungsstücke (T): aus Poly-Ether-Ether-Keton (PEEK), totvolumenarm (Chromatographie Service, Langerwehe).
4-Wege-Schaltventil (V2) V-101D (Upchurch Scientific, Oak Harbour, USA)
Die HPLC-Geräte (P1, DT, V1) sind in Abschnitt 5.2.2 angegeben. Die Bauteile zur Phasenseparation (PS, RV, Kapillaren) sind in Abschnitt 5.2.3 beschrieben.
Zur Herstellung der jeweiligen Injektionslösungen wurden entsprechende Aliquote der Stammlösungen abgeblasen und in Anfangs-Fließmittel (des HPLC-Fließmittel-Gradienten) aufgenommen.

Zur Reinigung des Systems wurde nach Aufnahme eines Chromatogrammes für 2 min die Reinigungspumpe P3 aktiviert und das Schaltventil V2 entsprechend umgelegt. Anschließend wurde für 2 min die HPLC-Pumpe P1 eingeschaltet und dann die Reagenzpumpe P2 ebenfalls zugeschaltet. Das System war nach weiteren 2 min Äquilibrierungszeit wieder zur Injektion bereit.

Detektion: On-line-Ionenpaarextraktion/Fluoreszenz bei 360/450 nm. Quantifizierung: Lineare Regression über Zwei-Punkt-Kalibrierung (Nullpunkt und ein Meßwert). Standard-Konzentrationen in der Kalibrierlösung: 2 mgL^{1} N-18-18 (als Bromid), 2 mgL^{-1} N-12-12 (als Bromid), 1 mgL^{-1} N-8-8 (als Jodid), 2 mgL^{-1} N-18 (als Bromid), 2 mgL^{-1} N-12 (als Bromid). Injektionsvolumen: 80 µL. Die Injektionen erfolgten immer unmittelbar nach Ablauf einer Spül- und Äquilibrierungssequenz, sofern nicht anders angegeben.

5.3.6 Auswahl von Farbstoffen für das Nachsäulen-Ionenpaar-Verfahren zur Bestimmung aliphatischer anionischer Tenside

Zur Auswahl eines Farbstoffes wurde eine Normalphasenanordnung entsprechend Abb. 3-14 (S. 66) aufgebaut. Als mobile Phase wurde Isopropanol/Toluol 2/8 verwendet. Die erzeugte Signalhöhe von 100 ng Natrium-dodecylsulfat (durch Ionenpaarbildung mit dem jeweiligen Farbstoff) als Funktion der Absorptions- bzw.

Anregungs- und Emissionswellenlängen sowie das Rauschen der Basislinie wurden aufgezeichnet. Aus den gemessenen Werten wurde das Signal/Rausch-Verhältnis berechnet und die entsprechenden Wellenlängen bezüglich dieses Parameters optimiert. Angaben bei Fluoreszenzmessung (FL): Anregungs-/ Emissionswellenlänge. Angabe bei Lichtabsorption (L): Absorptionswellenlänge.

Methylenblau	560 nm (L)
Rhodamin B	355/580 nm (FL)
Rhodamin G6	360/560 nm (FL)
Dimidiumbromid	290 nm (L)
Ethylendiamin-Kupferkomplex	435 nm (L)
CTBI	285/485 nm (FL)

5.3.7 Entwicklung eines Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystems zur Bestimmung aliphatischer anionischer Tenside

Normalphasen-Trennverfahren

Getestete Trennsäulen: LiChrospher Si 60 5 µm, 125 x 4 mm, Edelstahl; LiChrospher 100 Diol 5, 125 x 4 mm, Edelstahl; Spherisorb S5 Cyanopropyl, 125 x 4 mm, Edelstahl; Spherisorb S5 Aminopropyl, 125 x 4 mm, Edelstahl.

Fließmittelsysteme: Toluol/Isopropanol- und Chloroform/ Methanol-Gemische. Die Gehalte der polareren Komponenten (Isopropanol bzw. Methanol) wurden sukzessive gesteigert, solange das Zweiphasensystem gerade noch aufrecht erhalten bleibt und eine Detektion noch möglich ist. Flußrate: 0,8 mL min^{-1}. Reagenzlösung: 14 µmol L^{-1} CTBI in 0,01 mol L^{-1} Trinatrium-citrat-Lösung (hergestellt durch Auffüllen von 10 mL CTBI-Stammlösung auf 200 mL mit 0,011 mol L^{-1} Trinatrium-citrat-dihydrat-Lösung).

Umkehrphasen-Trennverfahren

Trennsäule und Fließmittelkomponenten entsprechen den Angaben in Abschnitt 5.2.5. Die Experimente zu den Abbildungen 3-25 (S. 88), 3-26 (S. 90) und 3-27 (S. 91) wurden isokratisch mit 45 %B durchgeführt (Retentionszeit C10-SO3: etwa 2 min). Die

Aufnahme der Kalibrierkurve von C12-SO3 (Abb. 3-28, S. 94) erfolgte isokratisch mit 60 %B.

Zur Herstellung der jeweiligen Injektionslösungen wurden die Modelltensid-Stammlösungen mit Lösemitteln so ergänzt, daß sich eine Zusammensetzung ergibt, die der des Anfangs-Fließmittels (des HPLC-Fließmittel-Gradienten) möglichst ähnlich ist.

Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionsverfahren

Die Standard-Konfiguration des Systemaufbaus und der Verfahrensparameter entspricht der Beschreibung in Abschnitt 5.2.5.

5.4 Materialien

5.4.1 Kommerziell erhältliche Materialien

Wenn nicht anders angegeben, wurden Chemikalien der Qualitätsstufe pro analysis verwendet. Bei allen ionischen organischen Verbindungen wurden jeweils die Salze verwendet, die in der höchsten Reinheitsstufe erhältlich waren. Soweit zweckmäßig, erfolgte die Benennung entsprechend den Regeln der International Union Of Pure And Applied Chemistry (IUPAC) [160]. In vielen Fällen mußte davon aber abgewichen werden, da sich sonst einige Substanzklassen in verständlicher Form nicht darstellen ließen (insbesondere wegen des umfangreichen Homologen- und Isomerenmusters). Lösemittelkombinationen und andere Konzentrationsangaben sind entweder in Volumenprozent (Auffüllen eines Volumenteils auf ein bestimmtes Gesamtvolumen, Schreibweise als "vol-%") bezeichnet oder es sind die einzelnen Volumenteile jeder Komponente zur Herstellung der Mischung durch Addition der Volumenteile (Schreibweise: z.B. "3/1") angegeben.

Die Stoffe und sonstigen Materialien wurden von folgenden Firmen bezogen:

#1 Aldrich Chemicals, Milwaukee, USA
#2 Bio-Rad, München
#3 Burdick & Jackson Labaratories, Muskegon, MI, USA
#4 Fluka Chemie, Buchs, CH
#5 Henkel, Düsseldorf
#6 Lancaster, Morecambe, GB
#7 Macherey-Nagel, Düren
#8 Merck, Darmstadt
#9 Phase Sep, GB
#10 Promochem, Wesel
#11 Riedel de Haen, Seelze
#12 Serva Feinbiochemika, Heidelberg
#13 Sigma Chemie, Deisenhofen

Aceton - #11
Acetonitril - #8
Acetonitril "LiChrosolv gradient grade" - #8
Acridinorange (Zinkchlorid Doppelsalz) - #8
Aluminiumchlorid (wasserfrei, z.S.) - #4
Aluminiumoxid 90 aktiv neutral (Aktivitätsstufe I) - #8
Aluminiumoxid 90 aktiv basisch (Aktivitätsstufe I) - #8
Amberlite XAD-2 pract. (20-50 mesh ASTM) - #8
Amberlite XAD-4 pract. (20-50 mesh ASTM) - #4
2-Aminoethyl-trimethyl-ammoniumchlorid - #1
1-Amino-propan - #4
Ammoniumsulfat (reinst) - #8
Anionentauscher AG 1 x 2 Cl^- - #2
Brij 30 (Fettalkoholethoxylat, entsprechend Dodecanol mit mittlerem Ethoxylierungsgrad 4) - #4
2-Bromethanol - #1
n-Butanol "glass distilled grade" - #3
Calciumchlorid - #8
Chloroform "Chrom AR" (für die HPLC) - #10
Citronensäure-monohydrat - #8
D-Glucose - #8
1,2-Dichlorethan - #8

Dichlormethan - #8
Dideutero-Schwefelsäure (für NMR-Spektroskopie) - #8
Didodecyl-dimethyl-ammoniumbromid (N-12-12) - #4
Diethylether - #8
Dimidiumbromid - #12
Dinatrium-2-sulfo-hexadecanoat (α-s-C16fs) - #5
Dinatrium-2-sulfo-octadecanoat (α-s-C18fs) - #5
Dinatrium-hydrogen-phosphat (wasserfrei) - #8
Dinatrium-tetraborat-decahydrat - #8
Dioctadecyl-dimethyl-ammoniumbromid (N-18-18) - #13
N,N-Dioctyl-methylamin - #4
Dodecanoylchlorid (z.S.) - #4
Dodecyl-trimethyl-ammoniumbromid (N-12) - #13
Essigsäure (100%ig) - #11
Ethanol (96%ig) - #8
Ethanol (absolut) - #8
Ethylacetat - #8
Ethylendiamin (wasserfrei) - #12
Formaldehyd (36%ig in Wasser) - #8
Glaskugeln (säuregereinigt, Durchmesser 150 - 212 µm) - #13
Hexadeutero-aceton (für NMR-Spektroskopie) - #8
Hexadeutero-dimethylsulfoxid (für NMR-Spektroskopie) - #8
n-Hexan - #8
Hydrazinhydrat (24%ig in Wasser, z.S.) - #4
Jodmethan (z.S.) - #8
Kaliumbromid (suprapur) - #8
Kaliumcarbonat - #8
Kaliumhydroxid - #8
Kaliumjodid - #8
Kupfer(II)sulfat-pentahydrat - #8
LiChrospher (HPLC-Säulenfüllmaterial, verschiedene Typen) - #8
Methanol "LiChrosolv gradient grade" - #8
Methanol - #11
Methylenblau - #4
Naphthalin-2,3-dicarboxy-aldehyd - #10
Natrium - #8
Natrium-2-sulfo-hexadecansäure-methylester (α-s-C16fs-me) - #5
Natrium-2-sulfo-octadecansäure-methylester (α-s-C18fs-me) - #5
Natrium-9,10-dimethoxy-anthracen-2-sulfonat (DAS) - #4

Natrium-decylsulfonat - #4
Natrium-dihydrogen-phosphat-monohydrat - #8
Natrium-dodecyl-benzolsulfonat (LAS-Σ, technisch. Nach eigener Analyse: 10,7% C10-LAS, 40,9% C11-LAS, 35,2% C12-LAS, 13,2% C13-LAS - #4
Natrium-dodecylsulfat - #8
Natrium-dodecylsulfonat - #8
Natrium-hexadecylsulfat - #6
Natrium-tetradecylsulfat - #6
Natrium-tetradecylsulfonat - #1
Natrium-tetraphenyl-borat - #4
Natriumacetat - #8
Natriumcarbonat (wasserfrei) - #8
Natriumchlorid - #8
Natriumcyanid - #8
Natriumhydrogencarbonat - #8
Natriumhydroxid - #8
Natriumperchlorat - #8
Natriumsulfat (wasserfrei) - #8
Nitrobenzol - #8
n-Nonylbenzol - #4
Nonylphenolethoxylat (NPEO, technisch, Ethoxylierungsgrad: 12,9) - #4
Octadecyl-trimethyl-ammoniumbromid (N-18) - #4
Octanoylchlorid (z.S.) - #4
n-Pentadecylbenzol - #10
n-Pentan - #8
Perchlorsäure (70%ig) - #8
Phenol - #8
Phosphorpentoxid ("Sicapent") - #8
2-Propanol - #11
Pyridin - #8
Rhodamin B - #8
Rhodamin G6 - #12
Salzsäure (5 mol L^{-1}) - #8
Salzsäure (min. 32%) - #11
Schliffett "Apiezon N" - #4
Schwefelsäure (konzentriert) - #8
Schwefeltrioxid (30%ig in Schwefelsäure) - #8

Silanisierte Glasfaserwatte - #7
Silanisierte Glaswolle - #7
Spherisorb (HPLC-Säulenfüllmaterial, verschiedene Typen) - #9
Stearoylchlorid (z.S.) - #4
Tetrabutyl-ammonium-hydroxid (20%ig in Wasser, z.S.) - #8
Tetrachlormethan - #8
Tetrahydrofuran - #8
Toluol - #8
Toluol-sulfonsäure-monohydrat - #4
Trideutero-chloroform (für NMR-Spektroskopie) - #8
Triethanolamin - #8
Triethylenglykol (wasserfrei) - #4
Trifluoressigsäure (z.S., vor Verwendung destilliert) - #8
2,3,5-Trimethylphenol (TMP) - #1
Trimethylphenolethoxylat (TMPEO, mittlerer Ethoxylierungsgrad 7) - #5
Trinatrium-citrat-dihydrat - #8
Trinatrium-phosphat-dodecahydrat - #8
Wasser "LiChrosolv"- #8

5.4.2 Synthetisierte Substanzen

2,3,5-Trimethyl-phenol-monoethoxylat

Die Synthese basiert auf dem Verfahren von Williamson [160]: 120 mmol Natrium wurden mit 60 mL absolutem Ethanol bei konstantem Sieden, unter Wasserausschluß und Rückfluß, umgesetzt. Dann wurden 100 mMol 2,3,5-Trimethylphenol und eine Spatelspitze wasserfreies Kaliumjodid zugegeben und nach Aufklaren der Lösung tropfenweise noch 240 mMol frisch destilliertes 2-Bromethanol. Nach 96stündigem Kochen wurde der Alkohol abdestilliert und der Rückstand mit 100 mL 20%iger Natronlauge aufgeschlämmt. Nach zweimaliger Extraktion der Suspension mit je 100 mL Diethylether wurden die vereinigten Extrakte fünfmal mit je 100 mL 20%iger Natronlauge und zweimal mit 100 mL Wasser gereinigt, über Calciumchlorid getrocknet und abrotiert. Das Rohprodukt wurde in 80 mL Methanol gelöst, mit gesättigter wäßriger Natronlauge auf etwa pH 12 eingestellt und mit Wasser auf 100 mL aufgefüllt. Eine Anionentauschersäule

(60 mL BioRad AG 1 x 2 Cl^- Glassäule mit 20 mm i.D. und 200 mm Höhe) wurde mit 120 mL Methanol/Wasser 8/2 vorgereinigt. Zur Reinigung des Rohproduktes, d.h. zur Entfernung nicht umgesetzten Alkylphenols, wurde die Produktlösung durch die Ionentauschersäule getropft (Flußrate: etwa 5 mL min^{-1}). Es wurde noch mit 120 mL Methanol/Wasser 8/2 nachgespült und das Lösemittel des Eluates bei 40 °C vakuumverdampft (Rotationsverdampfer). Die Behandlung wurde mit frischem Ionentauscher nochmals wiederholt und das Produkt aus n-Hexan zweimal umkristallisiert. Ausbeute= 24% d.Th. (der Theorie). Produktverteilung lt. HPLC-Analyse: 2,9 Flächen-% TMP ; 97,1 Flächen-% TMP-1EO (Flächenanteile der Signale im Chromatogramm).

Durchführung der Elementaranalysen:
Bestimmungen von C, H, N und O: Mikroanalytisches Labor Pascher, Remagen. Bestimmung des Schwefels: Zentralabteilung für Chemische Analysen, KFA Jülich. Bei der Beurteilung der Daten (insbesondere hinsichtlich einer möglichen Wasseraufnahme) muß berücksichtigt werden, daß die Proben wegen eines Gerätedefektes etwa 6 Monate (ohne Trocknungsmittel) lagerten.

Elementaranalyse:

gefunden:	C 73,0%	H 9,1%	N <0,2%	O 17,6%
berechnet:	C 73,3%	H 8,9%	N 0%	O 17,8%

Durchführung der ^{1}H-NMR-Spektroskopie:
Gerät: Varian EM-390 90 MHz NMR Spectrometer. Die Angabe der chemischen Verschiebung δ bezieht sich auf die Referenzsubstanz Tetramethylsilan. Die Signalauswertung erfolgte aufgrund der Regeln nach Williams und Fleming [161] und einschlägigen Datensammlungen [162]. Abkürzungen für die Aufspaltungsmuster: S = Singulett; D = Dublett; T = Triplett; K = komplex.

^{1}H-NMR-Spektrum (Lösemittel: DMSO-d_6):

δ/ppm	Muster	Integral/mm	Theor. H	Zuordnung
2 - 2,3		102	9	$-CH_3$
3,8	T	23	2	$-CH_2-OH$
4,0	T	23	2	$Aryl-O-CH_2-$
6,6	S	22	2	Aryl-H

IR-Spektrum (Lösung in $CDCl_3$):
Gerät: Perkin-Elmer 283B Infrared Spectrophotometer.

Banden/cm^{-1}	Zuordnung
1490, 1580, 1620	Benzol-Ring
2240, 2740	
2840-2960	C-H
3020	Aryl-H
3640-3560	OH

4-Dodecyl-phenol

Nach dem Einhorn-Verfahren [160] wurden 400 mMol Phenol in 200 mL trockenem Pyridin mit 400 mMol Dodecanoylchlorid umgesetzt (16 h bei Raumtemperatur). Das Reaktionsgemisch wurde auf Eiswasser gegossen, mit konz. Salzsäure auf pH 0-1 angesäuert und mit 200 mL Diethylether versetzt. Nach Aufnehmen im Scheidetrichter und Ablauf der wäßrigen Phase wurde zweimal mit verdünnter Salzsäure und zweimal mit Natriumhydrogencarbonatlösung ausgeschüttelt. Nach Vakuumverdampfung des Diethylethers und Vakuumdestillation (Ölpumpe) des verbliebenen Rohproduktes destillierte bei 146-148 °C (etwa 10^{-2} Torr) Dodecansäure-phenylester als farblose, viskose Flüssigkeit. Ausbeute: 71% d.Th..

Der Dodecansäure-phenylester wurde durch Fries'sche Verschiebung zum 1-(4-Hydroxyphenyl)-dodecan-1-on umgesetzt [163, 164]. Dazu wurden 150 mMol Ester in 300 mL Nitrobenzol gelöst und mit 300 mMol wasserfreiem Aluminiumchlorid 96 Stunden auf 50 °C gehalten. Die abgekühlte Reaktionslösung wurde auf 400 mL Eiswasser gegeben und mit verd. Salzsäure auf pH < 1 angesäuert. Es wurde langsam auf 70°C erwärmt und 10 min bei dieser Temperatur gehalten. Nach Abkühlen und Zusatz von 20 g Kochsalz wurde erst mit 400 mL und anschließend mit 200 mL Toluol im Scheidetrichter extrahiert. Nach Extraktion der

vereinigten organischen Phasen einmal mit 600 mL und zweimal mit je 200 mL 0,5 mol L^{-1} NaOH in Methanol/Wasser (4/6) wurden die vereinigten wäßrig-methanolischen Extrakte durch zweimaliges Ausschütteln mit je 200 mL n-Hexan gereinigt. Nach Ansäuern mit Salzsäure (unter pH 1) wurde das Reaktionsprodukt im Scheidetrichter zweimal mit je 200 mL Ethylacetat extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Vakuum-Rotationsverdampfer abgezogen. Nach Umkristallisation aus Diethylether/Pentan und aus Methanol konnte ein weißer Feststoff erhalten werden. Ausbeute: 53% d.Th. Schmelzpunkt: 72 °C (Literaturwert [164]: 71 °C).

Die Reduktion des 1-(4-Hydroxyphenyl)-dodecan-1-on zum 4-Dodecylphenol gelang nach dem Verfahren von Wolff-Kizner [160] unter Umsetzung von 50 mMol des Ketons mit 150 mMol Hydrazinhydrat und 250 mMol Kaliumhydroxid in 50 mL Triethylenglykol. Eine 85%ige Hydrazinhydratlösung wurde aus 24%iger Hydrazinhydratlösung durch azeotrope Destillation mit Xylol hergestellt [160]. Durch Umkristallisation aus Pentan/Diethylether konnte eine hellgelber Feststoff erhalten werden. Ausbeute: 83% d.Th..

Schmelzpunkt:
gefunden: 64 - 65 °C
Literatur [165, 166]: 64 - 65 °C

Elementaranalyse:

gefunden:	C 81,4%	H 11,4%	N 0,2%	O 7,4%
berechnet:	C 82,4%	H 11,5%	N 0%	O 6,1%

^{1}H-NMR-Spektrum (Lösemittel: Aceton-d_6):

δ/ppm	Muster	Integral/mm	Theor. H	Zuordnung
0,9	T	12	3	$-CH_3$
1,2 - 1,4	K	78	20	$-CH_2-$
2,5	T	8	2	Aryl-CH_2-
6,8	D	8	2	Aryl-H (C-2)
7,1	D	8	2	Aryl-H (C-3)

IR-Spektrum (Lösung in $CDCl_3$):

Banden/cm^{-1}	Zuordnung
1500, 1600	Benzol-Ring
1670, 2240	
2850-2970	C-H
3010	Aryl-H
3640-3560	OH

Tri(hydroxyethyl)-methyl-ammoniumjodid-trioctanoylester (N-E-8-8-8)

100 mMol frisch destilliertes Triethanolamin wurden mit 400 mMol Octanoylchlorid vorsichtig unter Eiskühlung versetzt und in 400 mL (wasserfreiem) Acetonitril unter Wasserausschluß 4 Stunden gekocht. Durch Zugabe von etwa 400 mMol Natriumhydroxid, gelöst in 200 mL Wasser, wurde alkalisch gestellt und 30 min gerührt. Nach zweimaliger Extraktion mit je 250 mL Diethylether wurden die vereinigten Extrakte zweimal mit je 250 mL verdünnter Natronlauge und 1 x mit 250 mL Wasser durch Ausschütteln gereinigt, über Calciumchlorid getrocknet und abrotiert. In gleicher Weise wurde das Produkt (hellgelbes Öl) mit weiteren 200 mMol Octanoylchlorid 16 Stunden umgesetzt, mit etwa 200 mMol Natriumhydroxid alkalisch gestellt und gerührt. Nach zweimaliger Extraktion der Lösung mit je 250 mL Toluol/Hexan 1/3 wurden die vereinigten Extrakte dann noch zweimal mit je 250 mL verd. Natronlauge, zweimal mit 250 mL verd. Natronlauge in Methanol/Wasser 1/3 und 1 x mit 250 mL Methanol/Wasser 1/3 gereinigt, über Calciumchlorid getrocknet und abrotiert. Das Produkt, Tri(hydroxyethyl)-amin-trioctanoylester, wurde über P_2O_5 bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Ausbeute: 70% d.Th..

Zur Quaternisierung [160] wurden 50 mMol des Tri(hydroxyethyl)-amin-trioctanoylesters mit 100 mMol Jodmethan in 60 mL Acetonitril 1 h bei Raumtemperatur und anschließend 30 min bei Siedetemperatur umgesetzt. Durch Umkristallisation aus Diethylether/Aceton und Trocknen über P_2O_5 bis zur Gewichtskonstanz konnte Tri(hydroxyethyl)-methyl-ammoniumjodid-trioctanoylester als hellgelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 39% d.Th..

Elementaranalyse:

gefunden:	C	55,7%	H	9,2%	N	2,1%	O 14,9%
berechnet:	C	55,6%	H	9,0%	N	2,1%	O 14,3%

^{1}H-NMR-Spektrum (Lösemittel: Aceton-d_6):

δ/ppm	Muster	Integral/mm	Theor. H	Zuordnung
0,8	T	30	9	$-CH_2-CH_3$
1,1 - 1,7	K	94	30	$-CH_2-$
2,4	T	19	6	$-O-CO-CH_2-$
2,8	S	8		
3,6	S	10	3	$-N^+-CH_3$
4,3	K	20	6	$-N^+-CH_2-$
4,7	K	20	6	$CO-O-CH_2-$

IR-Spektrum (KBr-Preßling):

Banden/cm^{-1}	Zuordnung
1430-1470	C-H
1700-1770	-CO-O-
2820-2960	C-H

Dioctyl-dimethyl-ammoniumjodid (N-8-8)

Zur Quaternisierung [160] wurden 150 mMol N,N-Dioctylmethylamin mit 300 mMol Jodmethan in 180 mL Acetonitril 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt und anschließend 30 min gekocht.
Nach Abrotieren bei 70 °C im Vakuum, Umkristallisation aus Diethylether/Aceton und Trocknen über P_2O_5 bis zur Gewichtskonstanz wurde Dioctyl-dimethyl-ammoniumjodid als hellgelber Feststoff erhalten. Ausbeute: 55% d.Th..

Elementaranalyse:

gefunden:	C	54,1%	H	10,3%	N	3,6%	O 0,7%
berechnet:	C	54,4%	H	10,1%	N	3,5%	O 0%

^{1}H-NMR-Spektrum (Lösemittel: Aceton-d_6):

δ/ppm	Muster	Integral/mm	Theor. H	Zuordnung
0,8	T	30	6	$-CH_2-CH_3$
1,2 - 1,5	K	98	24	$-CH_2-$
3,4	S	27	6	$-N^+-CH_3$
3,7	K	18	4	$-N^+-CH_2-$

IR-Spektrum (KBr-Preßling):

Banden/cm^{-1}	Zuordnung
1370, 1420-1490	C-H
2780-2960	C-H

Natrium-4-nonyl-benzolsulfonat (LAS-9)

Die Synthese von Natrium-4-nonyl-benzolsulfonat wurde in Anlehnung an die Arbeiten von Paquette et al. [167] durchgeführt: 100 mMol konzentrierte Schwefelsäure wurden vorgelegt, und nach Zusatz von 50 mMol n-Nonylbenzol wurde 6 Stunden bei 70 °C gerührt. Nach Zugabe von 50 mL Methanol wurde mit festem Natriumhydroxid langsam bei 40 °C im Ultraschallbad neutralisiert. Nach dreimaliger Umkristallisation aus Methanol unter Abtrennung der Salzrückstände und anschließender Trocknung bei 70 °C (über Nacht) konnte das Produkt in Form farbloser, feiner Nadeln gewonnen werden. Ausbeute (nur para-Produkt): 19% d.Th..

Elementaranalyse:

gefunden:	C 57,2%	H 7,7%	N <0,2%	O 16,2%	S 10,1%
berechnet:	C 58,8%	H 7,6%	N 0%	O 15,7%	S 10,5%

^{1}H-NMR-Spektrum (Lösemittel: DMSO-d_6):

δ/ppm	Muster	Integral/mm	Theor. H	Zuordnung
0,8	T	20	3	$-CH_3$
1,2 - 1,6	K	92	14	$-CH_2-$
2,5	K	19	2	Aryl-CH_2-, DMSO
7,2	D	13	2	Aryl-H (C-3)
7,6	D	13	2	Aryl-H (C-2)

IR-Spektrum (KBr-Preßling):

Banden/cm^{-1}	Zuordnung
1430-1470	C-H
1500, 1570, 1600	Benzol-Ring
2820-2960	C-H
3030	Aryl-H

Natrium-4-pentadecyl-benzolsulfonat (LAS-15)

Die Synthese von Natrium-4-pentadecyl-benzolsulfonat erfolgte ebenfalls in Anlehnung an die Arbeiten von Paquette et al. [167]:

0,5 g konzentrierte Schwefelsäure wurden bei 70 °C mit 25 mMol n-Pentadecylbenzol versetzt und 5 g 30%iges Schwefeltrioxid in Schwefelsäure unter Rühren langsam zugetropft. Nach 10 min Rühren wurde bei Raumtemperatur mit festem Natriumhydroxid im Ultraschallbad neutralisiert. Das Produkt (farblose Plättchen) wurde zweimal aus Wasser umkristallisiert. Ausbeute (nur para-Produkt): 88% d.Th..

Elementaranalyse:

gefunden:	C	61,7%	H	9,0%	N	<0,2%	O	15,0%	S 8,0%
berechnet:	C	64,6%	H	9,0%	N	0%	O	12,3%	S 8,2%

^{1}H-NMR-Spektrum der 4-Pentadecyl-benzolsulfonsäure:
Zur Aufnahme eines ^{1}H-NMR-Spektrums wurde das Syntheseprodukt mit D_2SO_4 versetzt, mit CCl_4 extrahiert und nach Abblasen in Aceton-d_6 gelöst und vermessen.

δ/ppm	Muster	Integral/mm	Theor. H	Zuordnung
0,8	T	9,5	3	$-CH_3$
1,2 - 1,5	K	76	26	$-CH_2-$
2,7	T	6,5	2	Aryl-CH_2-
6,7	S	6,5		
7,4	D	6,5	2	Aryl-H (C-3)
7,8	D	6,5	2	Aryl-H (C-2)

IR-Spektrum (KBr-Preßling):

Banden/cm^{-1}	Zuordnung
1450-1480	C-H
1500, 1570, 1600	Benzol-Ring
1660	
2840-2960	C-H
3050	Aryl-H

3-Propyl-5-hydroxy-5-D-arabinotetrahydroxybutyl-3-thiozolidin-2-thion (PHTTT)
Die Substanz wurde als Komponente eines Ethylendiamin-Kupfer-Farbstoff-Komplexes zur Ionenpaarbildung mit anionischen Tensiden verwendet (siehe Tab. 3-8, S.81). Die Synthese erfolgte entsprechend der Vorschrift von Crisp et al. [143].

Elementaranalyse:

gefunden:	C 40,3%	H 6,5%	N 4,8%	O 26,2%	S 21,6%
berechnet:	C 40,4%	H 6,4%	N 4,7%	O 26,9%	S 21,6%

^{1}H-NMR-Spektrum (Lösemittel: Methanol-d_4):

δ/ppm	Muster	Integral/mm	Theor. H	Zuordnung
1,0	T	33	3	$-CH_3$
1,8	K	23	2	$-CH_2-CH_3$
3,4 - 4,1	K	99	9	$-N-CH_2-$,$-CH_n-O-$

IR-Spektrum (KBr-Preßling):

Banden/cm^{-1}	Zuordnung
1480-1530	$-CS-NR_2$
2850-2960	C-H
3100-3600	O-H

1-Cyano-[2-(2-trimethylammonio)ethyl]-benz[f]isoindole (CTBI)
Nach der Vorschrift von De Ruiter et al. [131] wurde eine Lösung des Farbstoffes CTBI synthetisiert. Zu einer Lösung von 9 mg 2-Aminoethyl-trimethyl-ammoniumchlorid in 100 mL wäßrigem Natriumboratpuffer (10 mmol L^{-1}, pH 9,5) wurden 5,5 mL einer 10 mM Natriumcyanidlösung zugegeben. 9,5 mg Naphthalin-2,3-dicarboxy-aldehyd wurden in 100 mL Methanol gelöst. In einer Braunglasflasche wurden beide Lösungen zusammengegeben, gut geschüttelt und 2 Stunden zur Reaktion stehengelassen. Die Reaktionsmischung wurde zweimal mit je 200 mL Chloroform extrahiert (die Chloroformphasen wurden verworfen). Die verbleibende wäßrige Phase diente als Stammlösung ("CTBI-Stammlösung") und wurde im Dunkeln bei 4 °C gelagert. Eine Reaktionsausbeute von 100% entsprach dabei einer Konzentration von 280 µmol L^{-1}. Dieser Wert wurde bei der Herstellung einer definierten Verdünnung (CTBI-Reagenzlösung) zugrundegelegt. Bei 4 °C im Dunkeln war die CTBI-Stammlösung mindestens 2 Monate haltbar.

Fluoreszenz-Spektren (der CTBI-Stammlösung, 1 vol-%-ige Verdünnung in Wasser). Gerät: Fluoreszenz-Spektrophotometer F1000 (Merck-Hitachi, Darmstadt).

Fluoreszenz-Anregungsspektrum:
bei Emissionswellenlänge: 455 nm
Maxima: 270 nm

Fluoreszenz-Emissionsspektrum:
bei Anregungswellenlänge: 270 nm
Maxima: 390 nm, 455 nm.

6 Literatur

6.1 Veröffentlichungen dieser Arbeit

Diese Arbeit wurde auszugsweise bereits in folgenden Literaturstellen veröffentlicht:

Schoester M, Kloster G. Optimierung eines chromatographischen Nachsäulen-Ionenpaar-Extraktionssystems zur Bestimmung kationischer Tenside. Vom Wasser 77 (1991): 13-20.

Schoester M, Kloster G. Bestimmung kationischer Tenside mit HPLC und einem On-line-Ionenpaar-Extraktionssystem. In: Millipore (Hrsg). Tagungsband der elften Königsteiner Chromatographie Tage 1991. Darmstadt: GIT Verlag, 1991: 357-362.

Schoester M, Forschungszentrum Jülich GmbH. Phasenseparator zur Trennung von Zwei-Phasen-Flüssigkeitssystem. Schutzrecht DE P41 14 729 Offenlegungsschrift (1992-11-12).

Kloster G, Schoester M, Schwuger M-J. HPLC-analysis of aliphatic ionic surfactants at trace levels. Commun Jorn Com Esp Deterg 24 (1993): 25-33.

Schoester M, Prast H, Kloster G. Bestimmung von Tensiden in Flußwasserproben mittels HPLC. In: Günther W (Hrsg). Tagungsband der INCOM 1993. Würzburg: Vogel Verlag, 1993.

Schoester M, Kloster G. HPLC separation and quantification of anionic surfactants using an automated on-line ion pair extraction system. Fres J Anal Chem 345 (1993): 767-772.

Schoester M, Kloster G. Determination of ionic surfactants with HPLC and an on-line ion pair extraction system. In: Tagungsband der HPLC 1993, Vol 1. Würzburg: Vogel Verlag, 1993.

Kloster G, Schoester M, Prast H. Entwicklung eines einheitlichen Trennungsganges zur Anreicherung aller drei Tensidklassen aus Umweltproben. Tenside Surf Det (im Druck).

6.2 Verwendete Literatur

1 Schwuger M-J, Piorr R. Tenside Deterg 24 (1987): 70-84.

2 Stache H, Kosswig K (Hrsg). Tensid-Taschenbuch. Dritte Auflage. München: Hanser, 1990.

3 Gesetz über die Umweltverträglichkeit von Wasch- und Reinigungsmitteln vom 20.08.75, Bundesgesetzblatt I, 2255 ff; in der Fassung vom 19.12.86, Bundesgesetzblatt I, 2615ff.

4 Noll L. Tenside Surf Det 28 (1991): 90-92.

5 Schwuger M-J. Tenside Surf Det 27 (1990): 365.

6 Hellmann H. Dtsch Gewässerkundl Mitt 34 (1990): 166-173.

7 Schwuger M-J. Tenside Surf Det 27 (1990): 420-422.

8 Stalmans M, Mathijs E, De Oude N-T. Wat Sci Tech 24 (1991): 115-126.

9 Takada H, Ishiwatari R. Environ Sci Technol 21 (1987): 875-883.

10 Takada H, Ishiwatari R. Environ Sci Technol 24 (1990): 86-91.

11 Steber J. Tenside Deterg 16 (1979): 5-10.

12 Hellmann H. Tenside Surf Det 27 (1990): 318-323.

13 McEvoy J, Giger W. Naturwissenschaften 72 (1985): 429-431.

14 Marcomini A, Capel P-D, Lichtensteiger T, Brunner P-H, Giger W. J Environ Qual 18 (1989): 523-528.

15 Steber J, Wierich P. Water Res 21 (1987): 661-667.

16 Steber J, Gode P, Guhl W. Soaps Cosmetics Chemical Specialities (November, 1988).

17 Gerike P. Chemosphere 13 (1984): 169-190.

18 Gerike P. In: Falbe J (Hrsg). Surfactants in consumer products. Berlin: Springer, 1987: 450-474.

19 Fischer W-K, Winkler K. Vom Wasser 47 (1976): 81-129.

20 Gerike P, Winkler K, Schneider W, Jakob W. Tenside Surf Det 26 (1989): 136-140.

21 Fischer W-K. Tenside Deterg 17 (1980): 250-261.

22 Gerike P, Winkler K, Jakob W. Tenside Surf Det 26 (1989): 270.

23 Guhl W, Gode P. Tenside Surf Det 26 (1989): 282-287.

24 Schöberl P, Bock K-J, Huber L. Tenside Surf Det 25 (1988): 86-98.

25 Täuber G. Tenside Surf Det 25 (1988): 134-136.

26 Swisher R-D. Surfactant biodegradation. Zweite Auflage. New York: Dekker, 1987.

27 Kravetz L, Salanitro J-P, Dorn P-B, Guin K-F. J Amer Oil Chem Soc 68 (1991): 611-618.

28 Giger W, Brunner P-H, Schaffner C. Science (Washington DC, 1883-) 225 (1984): 623-625.

29 Schaffner C, Stephanou E, Giger W. Comm Eur Communities; Anal Org Micropollut Water (1982): 330-334.

30 Brunner P-H, Capri S, Marcomini A, Giger, W. Water Res 22 (1988): 1465-1472.

31 Schaffner C, Brunner P-H, Giger W. Comm Eur Communities; Process Use Sewage Sludge (1984): 168-171.

32 Wahlberg C, Renberg L, Wideqvist U. Chemosphere 20 (1990): 179-195.

33 Marcomini A, Pavoni B, Sfriso A, Orio A-A. Marine Chemistry 29 (1990): 307-323.

34 Hüls AG (Hrsg). Die Analytik der Tenside. Druckschrift der Chemischen Werke Hüls AG. Marl, 1976.

35 Longwell J, Maniece W-D. Analyst 80 (1955): 165.

36 Epton S-R. Nature (London) 160 (1947): 795.

37 Reid V-W, Longman G-F, Heinerth E. Tenside 4 (1967): 292.

38 Norm DIN 38409, Teil 23 (1980).

39 Vytras K, Dvorakova V, Zeman I. Analyst 114 (1989): 1435-1441.

40 Norm DIN 38409, Teil 20 (1989).

41 Waters J, Kupfer W. Anal Chim Acta 85 (1976): 241-251.

42 Hellmann H. Z Wasser Abwasserforsch 22 (1989): 131-137.

43 Huber W. Tenside Surf Det 28 (1991): 106-110.

44 Wickbold R. Tenside Deterg 10 (1973): 148.

45 Jehring H. Elektrosorptionsanalyse mit der Wechselstrom-polarographie. Berlin : Akademie-Verlag, 1974.

46 Irgolic K-J, Hobill J-E. Spectrochim Acta 42B (1987): 269-273.

47 Le Bihan A, Courtot-Coupez J. Analusis 6 (1978): 346.

48 Hellmann H. Z Wasser Abwasserforsch 24 (1991): 178-187.

49 Hummel D. Analyse der Tenside. München: Hanser, 1962.

50 Simms J-R, Keough T. Anal Chem 69 (1988): 2613-2620.

51 Ventura F, Caixach J, Figueras A, Espalder I, Fraisse D, Rivera J. Water Res 23 (1989): 1191-1203.

52 Ventura F, Fraisse D, Caixach J, Rivera J. Anal Chem 63 (1991): 2095-2099.

53 Giger W, Brunner P-H, Ahel M, McEvoy J, Marcomini A, Schaffner C. Gas Wasser Abwasser 66 (1987): 111-122.

54 Hon-Nami H, Hanya T. J Chromatogr 161 (1978): 205-212.

55 Stephanou E. Chemosphere 13 (1984): 43-51.

56 Kataoka H, Okazaki T, Makita M. J Chromtogr 473 (1989): 276-280.

57 Sones E-L, Hoyt J-L, Sooter A-J. J Amer Oil Chem Soc 56 (1979): 689-700.

58 Trehy M-L, Gledhill W-E, Orth R-G. Anal Chem 62 (1990): 2581-2586.

59 Gledhill W-E, Trehy M-L, Carson D-B. Chemosphere 22 (1991): 873-880.

60 Kataoka H, Muroi N, Makita M. Analytical Sciences 7 (1991): 585-588.

61 Field J-A, Miller D-J, Field T-M, Hawthorne S-B, Giger W. Anal Chem 64 (1992): 3161-3167.

62 Fendinger N-J, Begley W-M, McAvoy D-C, Eckhoff W-S. Environ Sci Technol 26 (1992): 2493-2498.

63 Hawthorne S-B, Miller D-J, Walker D-D, Whittington D-E. J Chromatogr 541 (1991): 185-194.

64 De Ruiter C, Hefkens J-C-H-F, Brinkman U-A-T, Frei R-W. Int J Environ Anal Chem 31 (1987): 325-339.

65 Kawase J, Takao Y, Tsuji K. J Chromatogr 262 (1983): 293-298.

66 Kanesato M, Nakamura K, Nakata O, Morikawa Y. J Amer Oil Chem Soc 64 (1987): 434-438.

67 Kawase J, Tsuji K, Yasuda Y. J Chromatogr 267 (1983): 149-166.

68 Smedes F, Kraak J-C, Werkhoven-Goewie C-F, Brinkman U-A-T, Frei R-W. J Chromatogr 247 (1982): 123-132.

69 Terweij-Groen C-P, Kraak J-C, Niessen W-M-A et al. Intern J Environ Anal Chem 9 (1981): 45-57.

70 Nakae A, Tsuji K. Commun Jorn Com Esp Deterg 14 (1983): 133-146.

71 Waters J. In: Porter M-R (Hrsg). Recent developments in the analysis of surfactants. London: Elsevier, 1991: 161-218. (Critical reports on applied chemistry; Vol 32).

72 Klotz H. Tenside Surf Det 24 (1987): 370-373.

73 Mathijs E, Hennes E-C. Tenside Surf Det 28 (1991): 22-27.

74 Kupfer W. Tenside Deterg 19 (1982): 158.

75 Wee V-T, Kennedy J-M. Anal Chem 54 (1982): 1631-1633.

76 McEvoy J, Giger W. Environ Sci Technol 20 (1986): 376-378.

77 Osburn Q-W. J Amer Oil Chem Soc 63 (1986): 257-263.

78 Marcomini A, Capri S, Giger W. J Chromatogr 403 (1987): 243-252.

79 Castles M-A, Moore B-L, Ward S-R. Anal Chem 61 (1989): 2534-2540.

80 Corcia A-D, Marchetti M, Samperi R. Anal Chem 63 (1991): 1179-1182.

81 Schmitt T-M, Allen M-C, Brain D-K, Guin K-F, Lemmel D-E, Osburn Q-W. J Amer Oil Chem Soc 67 (1990): 103-109.

82 Jones P, Nickless G. J Chromatogr 156 (1978): 87-97.

83 Yokoyama Y, Sato H. J Chromatogr 555 (1991): 155-162.

84 Holt M-S, Bernstein S-L. Water Research 26 (1992): 613-624.

85 Dowle C-J, Campbell W-C, Cooksey B-G. Analyst 114 (1989): 883-885.

86 Suortti T, Sirviö H. J Chromatogr 507 (1990): 421-425.

87 Jones P, Nickless G. J Chromatogr 158 (1978): 99.

88 Valls M, Bayona J-M. Int J Environ Anal Chem 39 (1990): 329-348.

89 Neufarth A, Hofmann K, Täuber G. Comm Jorn Com Esp Deterg 15 (1984): 123-138.

90 Giger W, Ahel M, Koch M, Laubscher H-U, Schaffner C, Schneider J. Water Sci Technol 19 (1987): 449-460.

91 Mathijs E, De Henau H. Tenside Surf Det 24 (1987): 193-199.

92 Kikuchi M, Tokai A, Yoshida T. Water Res 20 (1986): 643-650.

93 Mathijs E, De Henau H. Vom Wasser 69 (1987): 73-83.

94 Marsden C, Mann S (Hrsg). Solvents Guide. Zweite Auflage. New York: Interscience, 1963.

95 Morrison R-T, Boyd R-N. Lehrbuch der organischen Chemie. Zweite Auflage. Weinheim: Verlag Chemie, 1984.

96 Nakae A, Tsuji K, Yamanaka M. Anal Chem 52 (1980): 2275-2277.

97 Schmitt T-M. Analysis of surfactants. New York: Dekker, 1992. (Surfactant Science Series; Vol 40).

98 Hellmann H. Z Wasser Abwasserforsch 22 (1989): 4-12.

99 Berna J-L, Moreno A, Ferrer J. J Chem Tech Biotechnol 50 (1991): 387-398.

100 Klotz H. Fres Z Anal Chem 326 (1987): 155-156.

101 Emmrich M, Levsen K. Vom Wasser 75 (1990): 343-349.

102 Marcomini A, Giger W. Anal Chem 59 (1987): 1709-1715.

103 Fernandez P, Valls M, Bayona J-M, Albaiges J. Environ Sci Technol 25 (1991): 547-550.

104 Marcomini A, Cecchi F, Sfriso A. Environ Technol 12 (1991): 1047.

105 Hellmann H. Z Wasser Abwasserforsch 16 (1983): 174-179.

106 Valls M, Fernandez P, Bayona J-M. Chemosphere 19 (1989): 1819-1827.

107 Frahne D, Schmidt S, Kuhn H-G. Fette Seifen Anstrichmittel 79 (1977): 32-41, 122-130.

108 Buschmann N, Kruse A. Commun Jorn Com Esp Deterg 23 (1992): 317-322.

109 Hoyt J-L, Sones E-L, Sooter A-J. J Amer Oil Chem Soc 56 (1979): 701-703.

110 Nakamura K, Morikawa Y. J Am Oil Chem Soc 59 (1982): 64-68.

111 Nozawa A, Ohnuma T. J Chromatogr 187 (1980): 261-263.

112 Allen M-C, Linder D-E. J Amer Oil Chem Soc 58 (1981): 950-957.

113 Marcomini A, Stelluto S, Pavoni B. Int J Environ Anal Chem 35 (1989): 207-218.

114 Ogawa M, Handa T, Kuroda K, Kato C. Chem Lett (1990): 71-74.

115 Zhou C, Bahr A, Schwedt G. Anal Chim Acta 236 (1990): 273-280.

116 Kubeck E, Naylor C-G. J Amer Oil Chem Soc 67 (1990): 400-405.

117 Varughese P, Gangoda M-E, Gilpin R-K. J Chromatogr 499 (1990): 469-475.

118 Larson J-R, Pfeiffer C-D. Anal Chem 55 (1983): 393-396.

119 De Ruiter C, Wolf J-H, Brinkman U-A-T, Frei R-W. Anal Chim Acta 192 (1987): 267-275.

120 Nakae A, Tsuji K, Yamanaka M. Anal Chem 53 (1981): 1818-1821.

121 Bear G-R. J Chromatogr 459 (1988): 91-107.

122 Pietrzyk D-J, Rigas P-G, Yuan D. J Chromatogr Sci 27 (1989): 485-490.

123 Boiani J-A. Anal Chem 59 (1987): 2583-2586.

124 Steinbrech B, Neugebauer D, Zulauf G. Fres Z Anal Chem 324 (1986): 154-157.

125 Li J-B, Jandik P. J Chromatogr 546 (1991): 395-403.

126 Zhou D, Pietrzyk D-J. Anal Chem 64 (1992): 1003-1008.

127 Danielson N-D, Shamsi S-A, Maki S-A. J High Res Chromatogr 15 (1992): 343-346.

128 Larson J-R. J Chromatogr 356 (1986): 379-381.

129 Maki S-A, Wangsa J, Danielson N-D. Anal Chem 64 (1992): 583-589.

130 Lawrence J-F, Charbonneau C-F. J Chromatogr 445 (1988): 189-197.

131 De Ruiter C, Minnaard W-A, Lingeman H, Kirk E-M, Brinkman U-A-T. Int J Environ Anal Chem 43 (1991): 79-90.

132 Kawase J. Anal Chem 52 (1980): 2124-2127.

133 Schoester M, Forschungszentrum Jülich GmbH. Phasen-separator zur Trennung von Zwei-Phasen-Flüssigkeits-system. Schutzrecht DE P41 14 729 Offenlegungsschrift (1992-11-12).

134 Wolf J-H, De Ruiter C, Brinkman U-A-T, Frei R-W. J Pharm Biomed Anal 4 (1986): 523-527.

135 Motomizu S, Oshima M, Kuroda T. Analyst 113 (1988): 747-753.

136 Motomizu S, Oshima M, Hosoi Y. Mikrochim Acta 106 (1992): 57-74.

137 Uchiyama M. Water Res 11 (1977): 205-207.

138 Rubio-Barroso S, Gomez-Rodriguez M, Polo-Diez L-M. Microchem J 37 (1988): 93-98.

139 Schieder D. Analytik anionischer Tenside zur Untersuchung der Tensidadsorption an Mineraloberflächen [Diplom-arbeit]. Regensburg: Universität Regensburg, 1990.

140 Stewart J-T, Lang J-R, Honigberg I-L. J Liquid Chrom 11 (1988): 3353-3373.

141 Lavandier C-D, Pelletier M-C, Reinsborough V-C. Aust J Chem 44 (1991): 457-461.

142 Orthgieß E, Dobias B. Tenside Surf Det 27 (1990): 226-229.

143 Crisp P-T, Eckert J-M, Gibson N-A. Anal Chim Acta 78 (1975): 391-396.

144 Gagnon M-J. Water Res 13 (1979): 53-56.

145 De Montigny P, Stobaugh J-F, Givens R-S et al. Anal Chem 59 (1987): 1096-1101.

146 Shimoishi Y, Miyata H. Fres Z Anal Chem 338 (1990): 46-49.

147 Kubota H, Idei M, Motomizu S. Analyst 115 (1990): 1109-1115.

148 Kim M, Stewart J-T. J Liquid Chrom 13 (1990): 213-237.

149 Liebscher G, Eppert G, Oberender H, Berthold H, Hauthal H-G. Tenside Surf Det 26 (1989): 195-197.

150 Escott R-E-A, Chandler D-W. J Chromatogr Sci 27 (1989): 134-138.

151 Sachok B, Deming S-N, Bidlinymeyer B-A. J Liquid Chrom 5 (1982): 389-402.

152 Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe (Hrsg). Wassergütedaten der Elbe; Zahlentafel 1991. Hamburg: Wassergütestelle Elbe, 1992. ISSN 0931-2153.

153 Serva (Hrsg). Amberlite XAD. Druckschrift der Serva Feinbiochemika. Heidelberg, 1989.

154 Waters J, Holt M-S, Mathijs E. Tenside Surf Det 26 (1989): 129-135.

155 Hennes E-C, Rapaport R-A. Tenside Surf Det 26 (1989): 141-147.

156 Fujita I, Ozasa Y, Tobino T, Sugimura T. Chem Pharm Bull 38 (1990): 1425-1428.

157 Nitschke L, Müller R, Metzner G, Huber L. Fres J Anal Chem 342 (1992): 711-713.

158 Wee V-T. Water Res 18 (1984): 223-225.

159 Deutscher Zentralausschuß für Chemie (Hrsg). Internationale Regeln für die chemische Nomenklatur. Weinheim: Verlag Chemie: 1975.

160 Schwetlick K et al (Autorenkollektiv). Organikum. Berlin: Deutscher Verlag der Wissenschaften, 1976.

161 Williams D-H, Fleming I. Strukturaufklärung in der organischen Chemie. Fünfte Auflage. Stuttgart: Thieme, 1985.

162 Simons W-W (Hrsg). The Sadtler Handbook of Proton NMR-Spectra. Philadelphia (Pennsylvania, USA): Sadtler Research Labaratories, 1978.

163 Henecka H. Ketone durch Fries-Verschiebung. In: Houben-Weyl. Methoden der organischen Chemie. Band VII/2a. Stuttgart: Thieme (1973): 379-389.

164 Beilstein 8, Erg IV: 620.

165 Beilstein 6, Erg IV: 3534-3535.

166 Beilstein 6, Erg III: 2090.

167 Paquette R-G, Lingafelter E-C, Tartar H-V. J Am Chem Soc 65 (1943): 686-692.

7 Abkürzungen und Akronyme

7.1 Akronyme für Tenside

Alkylphenol- und Fettalkoholethoxylate

AEO-Σ	Gemisch aus Dodecanol (Hauptkomponente), Tetradecanol und Hexadecanol mit einem mittleren Ethoxylierungsgrad von 4 Ethoxygruppen je Molekül (Handelsprodukt: "Brij-30")
DDP	4-Dodecylphenol
NPEO	4-Nonylphenol-ethoxylat (Isomerengemisch) mit einem mittleren Ethoxylierungsgrad von 11,9 Ethoxygruppen je Molekül
TMP	2,3,5-Trimethyl-phenol
TMP(EO)1	2,3,5-Trimethyl-phenol-monoethoxylat
TMPEO	2,3,5-Trimethyl-phenol-ethoxylat (Isomerengemisch) mit einem mittlerem Ethoxylierungsgrad von 7 Ethoxygruppen je Molekül

α-Sulfo-fettsäuren und deren Methylester

α-s-C16fs	Dinatrium-2-sulfo-hexadecanoat
α-s-C16fs-me	Natrium-2-sulfo-hexadecansäure-methylester
α-s-C18fs	Dinatrium-2-sulfo-octadecanoat
α-s-C18fs-me	Natrium-2-sulfo-octadecansäure-methylester

Alkylsulfonate

C10-SO3	Natrium-decylsulfonat
C12-SO3	Natrium-dodecylsulfonat
C14-SO3	Natrium-tetradecylsulfonat

Alkylsulfate

C12-SO4	Natrium-dodecylsulfat
C14-SO4	Natrium-tetradecylsulfat
C16-SO4	Natrium-hexadecylsulfat

Alkylethersulfate

C12-EO3-SO4	Natrium-dodecanol-triglykolether-sulfat
C14-EO3-SO4	Natrium-tetradecanol-triglykolether-sulfat
C16-EO3-SO4	Natrium-hexadecanol-triglykolether-sulfat
C18-EO3-SO4	Natrium-octadecanol-triglykolether-sulfat

Lineare Alkylbenzolsulfonate

LAS	Lineares Alkylbenzolsulfonat. Technische Produkte: Gemische verschiedener Natrium-4- und Natrium-2-alkylbenzol-1-sulfonate mit unverzweigter Alkylkette; die Arylfunktion befindet sich an einem sekundärem C-Atom.
LAS-Σ	LAS, Alkylkettenlänge 10 - 14 (Homologen- und Isomerengemisch)
LAS-9	LAS, Alkylkettenlänge 9 (Isomer: Natrium-4-nonyl-benzolsulfonat, "1-C_9-LAS")
LAS-10	LAS, Alkylkettenlänge 10 (Isomerengemisch)
LAS-11	LAS, Alkylkettenlänge 11 (Isomerengemisch)
LAS-12	LAS, Alkylkettenlänge 12 (Isomerengemisch)
LAS-13	LAS, Alkylkettenlänge 13 (Isomerengemisch)
LAS-15	LAS, Alkylkettenlänge 15 (Isomer: Natrium-4-pentadecyl-benzolsulfonat, "1-C_{15}-LAS")

Alkylammoniumverbindungen und Esterquats

N-12	Dodecyl-trimethyl-ammoniumhalogenid
N-18	Octadecyl-trimethyl-ammoniumhalogenid
N-8-8	Dioctyl-dimethyl-ammoniumhalogenid
N-12-12	Didodecyl-dimethyl-ammoniumhalogenid
N-18-18	Dioctadecyl-dimethyl-ammoniumhalogenid
N-E-8-Σ	Tri(hydroxyethyl)-methyl-ammoniumhalogenid-octanoylester; Gemisch aus Mono-, Di- und Trioctanoylester
N-E-18-Σ	Tri(hydroxyethyl)-methyl-ammoniumhalogenid-octadecanoylester; Gemisch aus Mono-, Di- und Trioctadecanoylester

7.2 Sonstige Abkürzungen und Akronyme

a	Jahr
Abb.	Abbildung
AT	Anionische Tenside
CTBI	1-Cyano-[2-(2-trimethylammonio)ethyl]benz-[f]isoindol
D	Dublett (NMR-Spektrum)
DAS	Natrium-9,10-dimethoxy-anthracen-2-sulfonat
DOC	gelöster organischer Kohlenstoff (dissolved organic carbon)
DSDMAC	Distearyldimethylammoniumchlorid (N-18-18)
d.Th.	der Theorie
Esterquat	Tri(hydroxyethyl)-methyl-ammoniumhalogenid-alkanoylester (Mono-, Di- oder Trialkanoylester)
et al.	et alii (und andere)
h	Stunde
HPLC	high performance liquid chromatography (Hochdruckflüssigkeitschromatographie)
i.D.	innerer Durchmesser
IR	Infrarot
gew-%	Gewichts-Prozent
K	Komplex (NMR-Spektrum)
KT	Kationische Tenside
min	Minute
NMR	nuclear magnetic resonance
NP	Normalphase
NT	Nichtionische Tenside
PEEK	Poly-Ether-Ether-Keton
ppm	parts per million
PTFE	Poly-tetra-fluor-ethen
Quat	Tetraalkyl-ammoniumhalogenid
RP	reversed phase (Umkehrphase)
RP1	HPLC-Umkehrphase mit Methylsubstituierung
RP18	HPLC-Umkehrphase mit Octadecylsubstituierung
RP8	HPLC-Umkehrphase mit Octylsubstituierung
S.	Seite
S	Singulett (NMR-Spektrum)

SFE	supercritical fluid extraction (Extraktion mit überkritischen Flüssigkeiten)
S/N	signal/noise-ratio (Signal/Rausch-Verhältnis)
t	Tonne
T	Triplett (NMR-Spektrum)
Tab.	Tabelle
TBAH	Tetrabutyl-ammonium-hydroxid
vgl.	vergleiche
vol-%	Volumen-Prozent
WFR	Wiederfindungsrate
XAD	Polymeradsorber Amberlite XAD

DANKSAGUNG

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom Mai 1990 bis April 1993 im Institut für Angewandte Physikalische Chemie des Forschungszentrums Jülich angefertigt.

Dem Institutsleiter, Herrn Prof. Dr. M.J. Schwuger danke ich für die Arbeitsmöglichkeit und die Betreuung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. G. Wulff danke ich für die Übernahme des Koreferates.

Mein spezieller Dank gilt Herrn Dr. G. Kloster, der durch ständige Gesprächsbereitschaft, konstruktive Kritik und stete Unterstützung einen wesentlichen Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit geleistet hat.

Bei allen Mitarbeitern des Instituts, die mich im Laufe meiner Arbeit tatkräftig unterstützt haben, möchte ich mich an dieser Stelle ebenfalls herzlich bedanken.

FORSCHUNGSZENTRUM JÜLICH GmbH

KFA

Jül-2843
November 1993
ISSN 0944-2952