

Dioxin Analytik 1995 - Analysenqualität, Probenahme, Clean-up -

Hanspaul Hagenmaier, Peter Behnisch, Lothar Düsterhöft, Jürgen Höckel, Claus Lindig
Institut für Organische Chemie, Universität Tübingen, D-72076 Tübingen

1. Einleitung

Dioxinanalytik wird heute weitgehend nach den gleichen Methoden durchgeführt, die bereits 1987 zur Verfügung standen (1). Zum damaligen Zeitpunkt waren die relativ wenigen Dioxinlaboratorien in der Bundesrepublik im wesentlichen noch damit beschäftigt Datenmaterial zur Belastung der Umwelt mit Dioxinen zusammenzutragen. Grenzwerte gab es für keinen Bereich und damit auch keine Notwendigkeit für ihre Überwachung. 1987 war zum erstenmal vom Bundesgesundheitsamt zur Risikobewertung einer Belastungsfläche in Rastatt das vom UBA/BGA 1984 vorgeschlagene Toxizitätsäquivalent herangezogen worden und entsprechende Orientierungswerte für Bodennutzung und Bodensanierung verwendet worden.

In der Folge wurden auch für andere Bereiche Orientierungs-, Richt- und Grenzwerte festgelegt, vor allem auf der Basis von Toxizitätsäquivalenten.

Von besonderer Bedeutung für die Dioxinanalytik war die Einführung von Grenzwerten für PCDD/PCDF-Emissionen von Abfallverbrennungsanlagen in der 17. BImSchV und für PCDD/PCDF-Konzentrationen in Klärschlämmen, die für die Ausbringung in der Landwirtschaft zugelassen sind (AbfKlärV), aber auch die Festlegung von Grenzwerten für in den Verkehr zu bringende Waren und deren Transport im Rahmen der Gefahrstoffverordnung und der Dioxinverordnung. Damit war es zwingend geworden, Analysenkapazitäten für die Überwachung dieser Grenzwerte vorzuhalten. Daneben sind die von der Bund-Länder-Arbeitsgruppe Dioxine festgelegten Orientierungswerte für Böden und die im Komposterlaß Baden-Württemberg festgelegten Grenzwerte für Komposte von Bedeutung. Damit ergab sich im administrativen Bereich die Frage nach der Qualität der Dioxinanalytik bzw. der Dioxinlaboratorien.

Von den in der Dioxinanalytik tätigen Laboratorien werden im allgemeinen, z.T. in geringfügigen Modifikationen, die Verfahren angewandt, auf die in Richtlinien Bezug genommen wird, z.B. in der VDI Richtlinie 3499 oder in der AbfKlärV und die bereits 1987 beschrieben wurden. Verbesserungen und Vereinfachungen der Dioxinanalytik werden immer wieder gefordert und sind in verschiedenen Bereichen auch bereits vorhanden. Alternative (biologische) Methoden zur klassischen gaschromatographischen-massenspektrometrischen Dioxinanalyse haben sich bisher jedoch nicht durchsetzen können.

2. Zur Qualität der Dioxinanalytik

In der Umweltanalytik stellen sich bei jeder Analyse zwei getrennte Probleme: das Problem der Probenahme und das Problem der Analyse der entnommenen Probe. Die Qualität der Dioxinanalytik soll deshalb hier für die beiden Problemkreise getrennt betrachtet werden.

Analyse einer homogenen Probe

Das Institut für Organische Chemie der Universität Tübingen hat seit 1991 im Auftrag des Umweltministeriums Baden-Württemberg eine Reihe von externen Qualitätsprüfungen (Proficiency Tests) von Dioxinlaboratorien durchgeführt. Nach der AbfKlärV sind die Unter-

suchungsstellen verpflichtet, die Verlässlichkeit der Analyseergebnisse durch die erfolgreiche Teilnahme an Ringversuchen abzusichern. Weiterhin sollte entsprechend der vom Umweltministerium Baden-Württemberg formulierten Zielstellung durch die Teilnahme an den externen Qualitätsprüfungen (frühere Bezeichnung "Ringversuche") sichergestellt werden, daß die verschiedenen Laboratorien innerhalb und außerhalb der Landesgrenzen, die in der amtlichen Überwachung tätig sind und für das Land Baden-Württemberg Dioxinanalysen durchführen, auf hohem Niveau mit einheitlichen bzw. vergleichbaren Analyseverfahren arbeiten. Die Teilnahme an den Qualitätsprüfungen war und ist Voraussetzung für eine Auftragserteilung für Dioxinanalysen durch das Umweltministerium Baden-Württemberg. Bisher wurden vom Institut für Organische Chemie der Universität Tübingen folgende Qualitätsprüfungen von Dioxinlabors durchgeführt:

Probenart	Probenzahl	Jahr	Teilnehmerzahl
mittel belasteter Boden (10 -100 ng I-TEQ/kg)	2	1991	9
Klärschlamm	2	1992	13
gering belasteter Boden (> 1 ng I-TEQ/kg)	2	1993	22
Kompost	2	1994	29
Klärschlamm	2	1995	60

In Tabelle 1 ist die statistische Auswertung der Analyseergebnisse einer Klärschlammprobe aus der zuletzt durchgeführten Qualitätsprüfung mit 60 Teilnehmern aus der Bundesrepublik und dem europäischen Ausland zusammengestellt. Es dürfte sich dabei um die bisher weltweit umfangreichste Untersuchung zur externen Qualitätssicherung in der Dioxinanalytik handeln.

Diese statistische Auswertung liefert zwei wesentliche Parameter für die ermittelten Analysendaten, den ausreißerbereinigten Mittelwert und die Standardabweichung, die für die nachfolgende Qualitätsprüfung herangezogen werden können. Die hier ermittelten Standardabweichungen können im Mittel als repräsentativ für die anderen von uns durchgeführten Qualitätsprüfungen betrachtet werden.

Der Zweck jeder Qualitätsprüfung ist, die Laboratorien zu ermitteln, die in der Lage sind, bestimmte Qualitätskriterien zu erfüllen. Das Problem dabei ist, daß bisher weltweit keine Normen für solche Qualitätskriterien aufgestellt wurden. Bei der Dioxinanalytik kommt das Problem hinzu, daß es sich einerseits um eine Multikomponentenanalyse handelt, andererseits in den bisher festgelegten Grenz- Richt- und Orientierungswerten fast ausschließlich Toxizitätsäquivalente festgelegt wurden. Ausnahmen sind die Gefahrstoffverordnung und die Dioxinverordnung sowie die daraus abgeleitete Gefahrgutverordnung Straße.

Folgende Fragen sind dabei von Relevanz:

- wie wird der "wahre Wert" (assigend value) festgelegt, durch eine Referenzlaboratorium oder durch den ausreißerbereinigten Mittelwert der Teilnehmer ?
- wodurch sind akzeptable Werte definiert, eine prozentuale Abweichung oder einfache bzw. zweifache Standardabweichung vom Mittelwert?
- müssen bei einer Multikomponentenanalyse alle zu beurteilenden Werte akzeptabel sein oder ist eine bestimmte Fehlerquote auch akzeptabel?

Im Laufe der bisher von uns durchgeführten Qualitätsprüfungen haben wir in der Frage der Festlegung von Qualitätskriterien eine gewisse Entwicklung durchgemacht, bei der die obigen Fragen zu verschiedenen Zeiten unterschiedlich beantwortet wurden. Insbesondere

Tabelle 1: Zusammenfassung der statistischen Auswertung der Analyseergebnisse einer Klärschlammprobe (n=60)

	Minimum	Maximum	Median	Gesamtmittel*	Standardabw	Standardabw in % vom Gesamtmittel
TetraCDD	1	332	25	23,7	10,6	45
PentaCDD	3	227	64	64,2	26,4	41
HexaCDD	92	1400	320	328,0	89,5	27
HeptaCDD	310	2227	1207	1229,8	362,2	29
OctaCDD	1677	15550	6193	6172,6	1616,9	26
Tetra- bis OctaCDD	2163	18000	7752	7822,3	1935,5	25
TetraCDF	5	688	98	97,2	40,9	42
PentaCDF	4	290	86	81,6	29,3	36
HexaCDF	36	345	105	99,0	32,1	32
HeptaCDF	100	915	192	193,3	49,1	25
OctaCDF	118	1610	317	304,9	68,7	23
Tetra- bis OctaCDF	304	2393	801	779,7	175,0	22
2,3,7,8-TetraCDD	0,2	2	1	0,8	0,2	30
1,2,3,7,8-PentaCDD	1	16	4	4,3	1,1	26
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	1	38	6	6,1	2,0	33
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	14	115	34	32,1	6,3	19
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	9	117	19	20,0	5,6	28
1,2,3,4,7,6,7,8-HeptaCDD	190	1188	652	643,0	162,0	25
2,3,7,8-TetraCDF	4	106	11	10,8	3,2	30
1,2,3,7,8-PentaCDF	1	20	4	4,7	2,1	45
2,3,4,7,8-PentaCDF	1	21	6	5,7	1,9	33
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	22	59	7	6,8	1,9	27
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	0,2	23	6	5,8	1,7	30
1,2,3,7,8,9-HexaCDF	1	21	2	2,7	2,4	89
2,3,4,6,7,8-HexaCDF	39	47	6	5,4	1,8	34
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF	2	751	98	99,1	28,3	29
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF		38	5	5,2	1,8	34
I-TEQ (NATO/CCMS)	12	69	30	29,5	6,0	20

Grubbs-Ausreißer

*ausreißerbereinigt

das von der IUPAC publizierte "International harmonized protocol for the proficiency testing of (chemical) analytical laboratories" (2) hat dazu beigetragen, die von uns gegenwärtig angewandten Qualitätskriterien zu entwickeln. Diese bestehen darin, daß

- als "assigned value" der ausreißerbereinigte Mittelwert zugrunde gelegt wird,
- eine Abweichung der von den Laboratorien ermittelten 18 Einzelwerte für die 2,3,7,8-substituierten PCDD/PCDF und den I-TEQ-Wert vom jeweiligen Mittelwert von +/- 2 S als akzeptabel gilt (Z-score),
- 75% aller Werte diesem Qualitätskriterium entsprechen müssen
- und daß im Falle einer administrativen Festlegung einer zulässigen prozentualen Überschreitung des Grenzwertes (in der AbklärV sind dies 25%, in der Kompostverordnung Baden-Württemberg 30%) diese Abweichung vom Mittelwert beim I-TEQ-Wert nach oben und unten akzeptabel ist (Q-score), in diesem Falle also nur der I-TEQ-Wert einer Qualitätsprüfung unterworfen wird.

Tabelle 2 zeigt eine Zusammenfassung der Ergebnisse, wenn diese Qualitätskriterien auf die zuletzt durchgeführte Qualitätsprüfung für 2 Klärschlammproben angewandt werden. Es sollte noch erwähnt werden, daß den teilnehmenden Laboratorien das Clean-up Verfahren freigestellt war. Die statistische Auswertung ergab keinen Unterschied in der Anwendung von Hochauflösungs-MS und Niederauflösungs-MS.

Tabelle 2: Zusammenfassung der Ergebnisse für die Qualitätsprüfung PCDD/PCDF-Bestimmung in Klärschlammproben. Angegeben ist jeweils die Zahl der Laboratorien und ihr prozentualer Anteil, die die jeweilige Qualitätsnorm erfüllt haben.

	mittlere Stdabw. %	Z-score 100% n Labors (%)	Z-score 75% n Labors (%)	Q-score (%)	Q-score und Z-score 75%
Klärschlammprobe A	29	30 (50)	51 (85)	46 (77)	
Klärschlammprobe B	30	28 (47)	47 (78)	45 (75)	
beide Proben		22 (37)	44 (73)	43 (72)	42 (70)

Die Berechnung des I-TEQ hat eine stark ausgleichende Wirkung auf die Einzelergebnisse für die 17 2,3,7,8-substituierten Kongeneren und führt zu einem besseren Qualitätsergebnis (72 % aller Teilnehmer erfüllen für den I-TEQ-Wert das Kriterium +/- 25% vom Mittelwert = Q-score) als wenn für die Einzelergebnisse eine Abweichung von 2 S (im Durchschnitt etwa 60% Abweichung vom Mittelwert) zugelassen wird (nur 37% der Teilnehmer erfüllen dieses Kriterium zu 100% = Z-score 100%). Andererseits erfüllen 70% der Labors die beiden Kriterien Q-score und Z-score 75%.

Für eine nähere Diskussion der Problematik von Qualitätskriterien zur Beurteilung von Dioxinlaboratorien wird auf den Abschlußbericht zu dieser Qualitätsprüfung sowie auf früher erstellte Abschlußberichte verwiesen (3).

Angemerkt werden soll hier jedoch, daß es den Laboratorien nicht zugemutet werden kann, daß jedes Bundesland seine eigenen Qualitätsprüfungen als Grundlage für eine Zulassung zur Analyse entsprechender Proben durchführt und dabei noch ganz unterschiedliche Qualitätskriterien zur Anwendung kommen. Ein bundeseinheitliches Vorgehen ist hier dringend erforderlich.

Zum Problem der Probenahme

Auf das Problem der Probenahme kann hier nur kurz eingegangen werden. Sie spielt bei allen Untersuchungen einer heterogenen Matrix (z.B. Bodenproben, Brandproben, Sedimente

etc.) sowie bei der Abgasprobenahme eine entscheidende Rolle für die Aussagekraft einer Analyse. Es soll in diesem Zusammenhang nur kurz auf die besonders aktuelle Frage der Probenahme von Abgasen von Abfallverbrennungsanlagen bzw. aller Anlagen die unter die 17. BImSchV fallen, bei denen also der Emissionsgrenzwert auf 0,1 ng I-TEQ/Nm³ festgelegt ist, eingegangen werden. In der VDI 3499 werden Verfahren zur Probenahme von Abgasen für PCDD/PCDF bei industriellen Anlagen beschrieben. Eine Validierung dieser Verfahren für Emissionskonzentrationen <0,1 ng I-TEQ/Nm³ liegt jedoch nicht vor. Im Rahmen von CEN/TC 264/WG 1 "Dioxins" wurden 1992 Vergleichsmessung mit verschiedenen Methoden an einer Müllverbrennungsanlage durchgeführt, die mit einem Aktivkohlefilter ausgerüstet ist. In Tabelle 3 sind die Ergebnisse zusammengestellt, die an einem der beiden Meßtage erzielt wurden (4).

Tabelle 3: Ergebnisse der Dioxinmessungen an einer Müllverbrennungsanlage mit 3 verschiedenen Probenahmeverfahren durch 6 Probenahme-Institute nach Quantifizierung über die nach der Analyse zugesetzten "Analysen-Standards" bzw. über die vor der Probenahme zugesetzten "Probenahme-Standards". Angegeben sind die Mittelwerte von zwei Analyseninstituten (4).

Probenahme-Methode	Verdünnung		Filter/Kondensator		gekühlte Sonde		Mittelwert
	A	B	C	D	E	F	
Probenahme-Institut							
Quantifizierung über Analysen-Standards	0,608	0,113	0,069	0,073	0,095	0,060	0,082*
Quantifizierung über Probenahme-Standards	0,888	0,149	0,275	0,282	0,149	0,082	0,187*

*ohne Wert für Probenahme-Institut A

Aus Tabelle 3 läßt sich die ganze Problematik entnehmen, mit der Messungen von PCDD/PCDF-Emissionskonzentrationen nach der 17. BImSchV verbunden sind. Neben deutlichen Unterschieden für die verschiedenen Probenahmeverfahren wird deutlich, daß die Frage der Quantifizierung von besonderer Bedeutung für die Einhaltung des Grenzwertes der 17. BImSchV ist. Ohne näher auf diese Problematik hier eingehen zu können, ist unseres Erachtens nach Einführung eines Grenzwertes nur die Quantifizierung über die vor der Probenahme zugesetzten ¹³C-markierten Standards korrekt. Probenahmeverfahren mit ungenügenden Wiederfindungsraten für diese Standards werden der Fragestellung ganz einfach nicht gerecht. Es wird interessant sein zu verfolgen, wie CEN/TC 264/WG 1 "Dioxins" diese Frage abschließend behandeln wird.

3. Modifizierte Probenaufarbeitung

Die meisten Dioxinlabors verwenden für die Matrixabtrennung (Clean-up) "Bausteine" wie sie von uns 1987 beschrieben wurden. Diese Clean-up Schritte wurden von uns validiert und in den letzten 8 Jahren bei mehreren tausend Dioxin-Analysen angewandt. Andere Labors haben diese Methoden übernommen und teilweise modifiziert. Wir konnten in den letzten beiden Jahren zeigen, daß sich diese eingeführten Methoden unter toxikologischen, ökologischen und ökonomischen Gesichtspunkten vorteilhaft modifizieren lassen. Folgende Veränderungen im Clean-up wurden dazu vorgenommen:

- Ersatz von n-Hexan durch das weniger toxische n-Heptan und von Dichlormethan durch Ethylacetat
- Behandlung der Proben mit Schwefelsäure bei höheren Temperaturen, wodurch die Matrixabtrennung stark verbessert wird und

- Einführung einer Kohlesäule aus Herdofenkoks (Rheinbraun), die sich durch gute Adsorption, aber gleichzeitig durch einfache Desorption der PCDD/PCDF auszeichnet.

Die Kombination dieser Modifikationen erlaubt in den meisten Fällen eine Miniaturisierung der Clean-up Schritte. Im einfachsten Falle läßt sich die Matrixabtrennung mit 20 ml nicht-chlorierten Lösungsmitteln durchführen. In einem Posterbeitrag wird das Verfahren näher erläutert.

Damit wird auch die Frage nach vereinfachten "Screening-Verfahren" angesprochen. Immer wieder wird der Ruf laut nach "einfachen", "schnellen" und vor allem "billigen" Screening-Verfahren mit dem Ziel wesentlich mehr Dioxinanalysen durchzuführen als dies bisher möglich ist. Wenn man sich mit diesem Problem ernsthaft beschäftigt, stellt sich als erstes die Frage, in welchen Bereichen solche Screening-Verfahren erwünscht und/oder sinnvoll sind. Sinnvoll sind sie meines Erachtens z.B. im Bereich von Altlastenerkundigungen und -sanierungen. Hier kann mit "konventionellen" Verfahren unter Abgrenzung des Notwendigen vom Machbaren dem Wunsch nach Schnelligkeit und Wirtschaftlichkeit jedoch leicht entsprochen werden. So konnten wir zeigen (5), daß eine Einzelanalyse einer Bodenprobe mit 1 g Einwaage, einer Ultraschallextraktion und miniaturisiertem Clean-up ohne irgendwelche Kompromisse an die Qualität der Analyse in 90 Minuten durchzuführen ist, wenn nur I-TEQ-Werte >10 ng/kg sicher detektiert werden müssen. Unter den gleichen Bedingungen lassen sich ohne weiteres 20 komplette Analysen pro Tag durchführen. In (6) wird ein weiteres Screening-Verfahren für spezifisch mit 2,3,7,8-TCDD belastete Proben beschrieben.

Ideal wären im Screening-Bereich sicherlich biochemische Analysenverfahren z.B. unter Einsatz von Antikörper. Es gibt hierzu eine Reihe von Publikationen, keines der beschriebenen Verfahren hat bisher jedoch Eingang in die Praxis gefunden. Die mit einem biochemischen Verfahren zur Bestimmung von PCDD/PCDF zusammenhängenden Probleme werden von den auf diesem Gebiet tätigen Gruppen meist unterschätzt oder gar nicht erkannt. Mangelnde Spezifität, Selektivität und Nachweisempfindlichkeit sind nur ein Teil des Problems. Ein Clean-up ist nach bisherigen Erfahrungen unerlässlich, was die bessere Wirtschaftlichkeit solcher Verfahren grundsätzlich in Frage stellt. Der Arbeitsaufwand der Dioxinanalyse steckt ja fast ausschließlich in der Probenahme und dem Clean-up. Als einziger Nachteil der konventionellen GC-MS-Analyse gegenüber biochemischen Verfahren bleibt dann noch, daß die so aufgearbeiteten Proben nur sequentiell und nicht parallel abgearbeitet werden können. Eine wesentliche Voraussetzung für die Einführung biochemischer Screeningverfahren in die Dioxinanalytik ist deshalb unter anderem eine um ein bis zwei Größenordnungen höhere Nachweisempfindlichkeit als sie mit modernen Massenspektrometern erreicht wird.

4. Literatur

1. Hagenmaier H., Brunner H., Haag R., Kraft M., Stand der Dioxin Analytik, VDI-Berichte 634 (1987) 61-89
2. The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories, prepared for publication by M. Thompson and R. Wood, Pure & Appl. Chem. 65 (1993) 2123-2144
3. Lindig C., Hagenmaier H. Bundesweite externe Qualitätsprüfung mit internationaler Beteiligung - Bestimmung von PCDD/PCDF in Klärschlamm, Abschlußbericht juni 1995, sowie vier weitere Abschlußberichte zur externen Qualitätssicherung in Dioxinlaboratorien
4. Draft Report on the Dioxin Comparative Measurements of CEN/TC 264/WG 1 "Dioxins", May 1994
5. Behnisch P., Diplomarbeit, Universität Tübingen 1993
6. Darskus R., Hagenmaier H., v. Holst C., Beckmann L., Rapid determination of 2,3,7,8-TCDD in thermally treated soil, Fresenius J. Anal. Chem., 348 (1994) 148-149