

Modifiziertes Clean-up für PCDD/PCDF unter toxikologischen, ökologischen und ökonomischen Gesichtspunkten

Jürgen Höckel, Lothar Düsterhöft, Wolfgang Körner und Hanspaul Hagenmaier
Institut für Organische Chemie der Universität Tübingen, 72076 Tübingen

1. Einleitung

Zwischen 1984 und 1987 wurden in unserem Labor für eine Vielzahl von Matrices, z.B. Klärschlämme, Humanproben oder industrielle Proben, mit Hilfe einzelner Clean-up Schritte für die jeweiligen Probenmatrix validierte Clean-up Methoden entwickelt [1]. Diese Clean-up Schritte wurden von uns in den letzten 8 Jahren bei mehreren tausend Dioxin Analysen angewendet. *Andere Labors haben diese Methoden von uns übernommen und validiert. Es gibt nun zwei Gründe für uns, die bestehenden Methoden zu modifizieren: Ersatz von toxikologisch und ökologisch relevanten Lösungsmitteln und Minimalisierung der verwendeten Lösungsmittel- und Adsorbensmengen mit einer gleichzeitigen Verkürzung der benötigten Zeit.*

Folgende Änderungen der früher beschriebenen Clean-up Schritte werden hier beschrieben:

- Ersatz von n-Hexan durch n-Heptan und Dichlormethan durch Ethylacetat
- Behandlung der Proben mit Schwefelsäure bei höheren Temperaturen und
- die Einführung einer Kohlesäule mit einer speziellen Aktivkohle.

Die Kombination dieser Veränderungen erlaubt in den meisten Fällen eine Miniaturisierung der Clean-up Schritte unter verbesserten toxikologischen und ökologischen Gesichtspunkten.

Die von uns bereits beschriebene „selektive“ Abtrennung von 2,3,7,8-TCDD von den anderen PCDD/PCDF-Kongeneren wurde mit dem veränderten „Alumina B-Super I für die Dioxin-Analyse“ neu überprüft. Wir konnten zeigen, daß nicht nur 2,3,7,8-TCDD, sondern alle 2,3,7,8-Tetra- bis Hexadioxine und Furane selektiv von den anderen PCDD/PCDF-Kongeneren abgetrennt werden konnten. Dies erleichtert eine eindeutige Identifizierung in schwierig zu analysierenden Proben. Das Verfahren wird an anderer Stelle ausführlich beschrieben.

2. Experimenteller Teil

Die verschiedenen, veränderten Clean-up Schritte wurden bereits bei über 100 Flugasche- und Rauchgasproben einer Müllverbrennungsanlage (1), über 50 Bodenproben (2), 15 Rauchgasproben von Holzfeuerungsbetrieben (3) und mehreren Klärschlammproben angewendet. Der einzige Unterschied besteht in der „Vorbehandlung“ der Proben.

Flugascheproben werden mit ^{13}C -markierten Standards versetzt und mit einer Mischung aus Toluol, Ethylenglycolmonoethylether und HCl 18 Std. extrahiert. Der Extrakt wird mehrmals mit Wasser gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet.

Bodenproben, Abgasproben, Klärschlamm- und Kompostproben werden ebenfalls mit ^{13}C -markiertem Standard versetzt und mit Toluol 18 Std. am Soxhlet-Extraktor extrahiert. Die Extrakte werden anschließend mit dem Vakuum-Rotationsverdampfer soweit als möglich eingengt und in n-Hexan oder n-Heptan aufgenommen.

Hitzebehandlung mit konzentrierter Schwefelsäure

Die Schwefelsäurebehandlung als Clean-up Schritt in der Dioxinanalytik zum erstenmal von Firestone et al. [2] beschrieben. Die Schwefelsäure wird dabei entweder direkt oder auf Kieselgel bzw. andere inerte Adsorbentien aufgebracht verwendet. Untersuchungen ergaben, daß durch Schwefelsäurebehandlung bei erhöhter Temperatur der größte Teil der organischen Matrix eliminiert werden kann. Dabei ergaben die Behandlung mit reiner Schwefelsäure oder mit

Schwefelsäure auf Kieselgel adsorbiert bei 70°C über 20 Min. die besten Ergebnisse. Bei dieser Behandlung treten noch keine selektiven Verluste von PCDD/PCDF auf.

Drei unterschiedliche Verfahren kommen zum Einsatz:

- a) Zugabe von 25-50 g einer Mischung von 44% Schwefelsäure und 56% Kieselgel (w/w) zu einer Lösung des Probenextrakts in n-Heptan; anschließendes Entfernen des Lösungsmittels und Behandeln des trockenen Rückstands bei 70°C über 20 Min.
- b) Zugabe von 25-50 g einer Mischung von 44% Schwefelsäure und 56% Kieselgel (w/w) zu einer Lösung des Probenextrakts in n-Hexan (Siedepunkt:70°C) und Rückflußkochen der Mischung über 20 Min.. Das n-Hexan wird anschließend abdekantiert und der Rückstand zweimal mit n-Hexan oder n-Heptan nachgewaschen.
- c) Der Probenextrakt in 2-3 ml n-Heptan wird in ein 5 ml Schraubdeckelglas transferiert. Nach Zugabe von 1-2 ml konz. Schwefelsäure wird kräftig geschüttelt und 20 Min. bei 70°C im Heizblock erhitzt (bislang konnte niemals die Ausbildung eines Überdrucks im Schraubdeckelglas festgestellt werden). Während der Hitzebehandlung wird das Schraubdeckelglas noch 3-4 mal geschüttelt. Nachdem sich die Phasen getrennt haben, wird die n-Heptanphase von der Schwefelsäure abgetrennt und diese mit n-Heptan nachgewaschen.

Am besten eignen sich die Optionen b) und c) für eine wirkungsvolle Matrixabtrennung, speziell auch bei hohen Konzentrationen von PAHs. Option c) wird vor allem bei kleinen Mengen extrahierter Matrix verwendet. Dies ist bei allen Arten von Emissionsproben der Fall (nicht bei Verwendung von PUF als Adsorbens), bei unterschiedlichen Arten von Filterstäuben, Bodenproben usw.. Option b) wird vor allem bei großen Mengen extrahierbarer Matrix angewendet, z.B. bei Klärschlämmen oder Kompostproben. Für Klärschlämme kann es sinnvoll sein, einen Teil der Matrix durch Zugabe von 100 ml kalter, konz. Schwefelsäure in einem Scheidetrichter in die n-Hexanphase abzutrennen. Dabei sollte nicht geschüttelt werden.

Die Option a) wurde in unserem Labor über 3 Jahre angewendet, ist aber von den Optionen b) und c) wegen einer weitaus effektiveren Matrixabtrennung abgelöst worden.

Die Hitzebehandlung mit konzentrierter Schwefelsäure wurde über 2h bei Temperaturen bis zu 80°C durchgeführt. Unter den beschriebenen Bedingungen konnten keine selektiven Verluste von PCDD/PCDF beobachtet werden. Mit verschiedenen Mischungen von Kieselgel und Oleum wurden beträchtliche selektive Verluste, ausgelöst durch Matrixeffekte, beobachtet. Es konnte daher kein allgemeingültiges Clean-up-Verfahren für die Behandlung mit Kieselgel/Oleum-Mischungen zur Matrixabtrennung abgeleitet werden. Wir können deshalb die Verwendung von Oleum nicht empfehlen.

Austausch von Lösungsmitteln

Da n-Hexan eine über 10-fache Toxizität gegenüber n-Heptan besitzt, wurde untersucht, ob n-Hexan bei den oben beschriebenen Clean-up Methoden durch n-Heptan ersetzt werden kann. In allen Clean-up Schritten kann n-Hexan in der Tat ohne Änderung der Verfahren durch n-Heptan ersetzt werden. Der einzige Schritt, bei dem von uns heute n-Hexan verwendet wird, ist die Schwefelsäurebehandlung durch Rückflußkochen, um die Temperatur von 70°C nicht zu überschreiten.

Wir haben weiterhin den Ersatz von Dichlormethan in den einzelnen Clean-up Schritten, bei denen man Aluminiumoxid benötigt, durch andere Lösungsmittel untersucht. Bei Verwendung von mindestens 2g Aluminiumoxid kann Dichlormethan durch Ethylacetat ersetzt werden. Die Mischung n-Heptan/Dichlormethan (98:2) kann durch n-Heptan/Ethylacetat (99:1), die Mischung n-Heptan/Dichlormethan (1:1) kann durch n-Heptan/Ethylacetat (9:1) ersetzt werden. In beiden Fällen wird die Hälfte der ursprünglichen Lösungsmittelmenge benötigt (s. Abb. 1).

Kohlesäule

Proben, die nach einer der beschriebenen Schwefelsäurebehandlungen und einer ausreichenden Fraktionierung an Alumina B-Super 1 für die Dioxin-Analyse (ICN Biomedicals) für eine GC-MS-Analyse noch nicht ausreichend sauber sind, werden einem Reinigungsschritt an einer speziellen Aktivkohle unterzogen, die eine gute Adsorption und effektive Desorption mit einer relativ kleinen Menge Toluol erlaubt. Die verwendete Kohle ist Braunkohlekoks (Rheinbraun Brennstoff GmbH, Köln).

500 mg einer homogenen Mischung aus Aktivkohle (Braunkohlenkoks, Aktivkoks) und Kieselgel im Verhältnis 1:10 wird in einer Glassäule (Länge 10 cm, ID 10 mm), die auf der einen Seite durch einen Glasfaserpfropf verschlossen ist, eingefüllt und von der anderen Seite ebenfalls mit einem Glasfaserpfropf verschlossen. Durch beidseitige Verjüngungen in der Säulenmitte wird der Glasfaserpfropf fixiert. Die Aktivkohle/Kieselgelmischung sollte sich ungefähr in der Mitte der Säule befinden und von beiden Seiten von der Glasfaser festgehalten werden, so daß sich eine feste Säulenpackung bildet. Die Aktivkohlesäule wird mit wenig n-Heptan vorgewaschen.

Die n-Hexan- oder n-Heptanfraktion, die nach der Wärmebehandlung erhalten wird, wird nun direkt über die Aktivkohlesäule eluiert. Die Kohlesäule wird anschließend mit 10 ml Ethylacetat gewaschen. Dabei werden ortho-substituierte PCBs, Schwefel, Fett, Fettsäuren und andere Störkomponenten von der Säule gewaschen. Die PCDD/PCDF- und die nicht-ortho-substituierte PCB-Fraktion wird nun mittels Rückwärtselution mit 5 ml heißem Toluol von der Säule eluiert. Mit einer speziell dafür angefertigten beheizbaren Säulenhaltung lassen sich 6 Proben parallel bearbeiten.

Die Mikro-Aluminiumoxidsäule

Für Proben, für die eine Hitzebehandlung mit konz. Schwefelsäure nach Methode c) ausreichend ist oder die bereits durch die Kohlesäule aufgereinigt wurden, kann die Menge des im anschließenden Clean-up Schritts verwendeten Aluminiumoxids stark verringert werden. 0,8 g „Alumina B-Super 1 für die Dioxin-Analyse“ werden in eine mit Glasfaser verschlossene Pasteurpipette gegeben und mit etwas Kieselgel/Schwefelsäure bedeckt. Das Aluminiumoxid wird mit n-Heptan vorgewaschen. Die n-Heptanfraktion (2-3 ml) wird auf die Mikro-Aluminiumoxidsäule transferiert. Die Säule wird mit 2 ml n-Heptan/Ethylacetat (99:1) und 5 ml n-Heptan/Ethylacetat (9:1) (oder alternativ mit 2 ml n-Heptan/Dichlormethan (87:13), anschließend mit 5 ml n-Heptan/Dichlormethan (1:1)) eluiert. Die 9:1-Fraktion (bzw. die 1:1-Fraktion) enthält die Dioxine und Furane und die coplanaren PCBs.

Für alle von uns analysierten Flugascheproben, Rauchgasproben und Bodenproben war die Schwefelsäurebehandlung nach Methode c) und Adsorptionschromatographie mit der Mikro-Aluminiumoxidsäule in jedem Fall ausreichend für Analysen mit niedrig- und hochauflösender MS.

3. Ergebnis und Diskussion

Die oben beschriebenen, modifizierten Clean-up Methoden werden schematisch in *Abb. 1* dargestellt. Abhängig von der Probenmatrix werden zwei verschiedene Wege beschrieben: Für Proben, die relativ wenig durch Toluol extrahierbare Matrix enthalten, wie z.B. Flugascheproben, Rauchgasproben und Bodenproben, läßt sich das Clean-up mit weniger als 20 ml halogenfreiem Lösungsmittels durchführen. Dies bedeutet ein sehr wirtschaftliches Clean-up, das auch toxikologische und ökologische Aspekte berücksichtigt. Die Wiederfindung des ¹³C-Standards war in allen Fällen größer 70%.

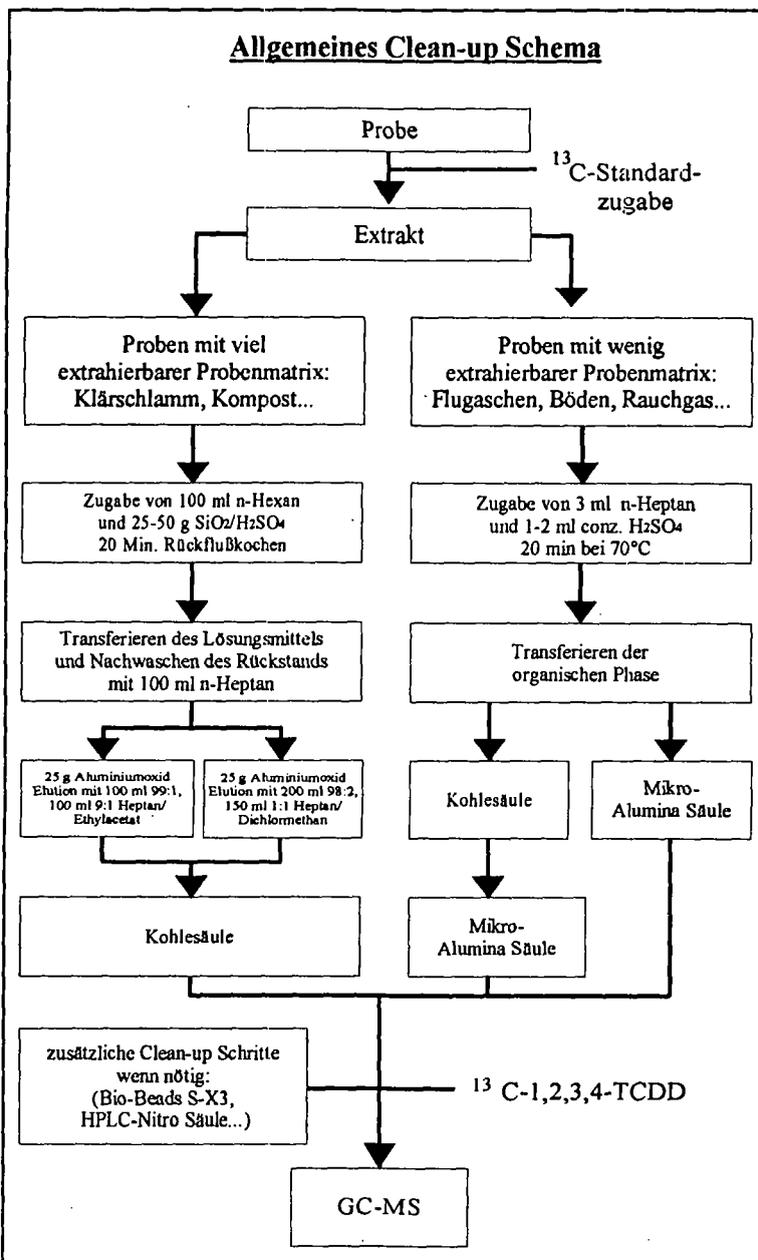


Abb. 1

4. Literatur

- [1] VDI-Berichte 634, 61-89 (1987).
- [2] J. of the AOAC 54 (6), 1293 (1971).