

# CLB

*Chemie in Labor und Biotechnik*

Analytik

Biotechnik

Optimierte Prozesse

Komplexe Materialien

Maßgeschneiderte Moleküle

Menschen und Chemie

Aus- und Weiterbildung

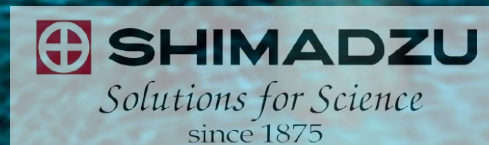
Schwerpunkt Wasseranalytik zum Langenauer Wasserforum 2006

in Zusammenarbeit mit dem

Zweckverband  
Landeswasserversorgung

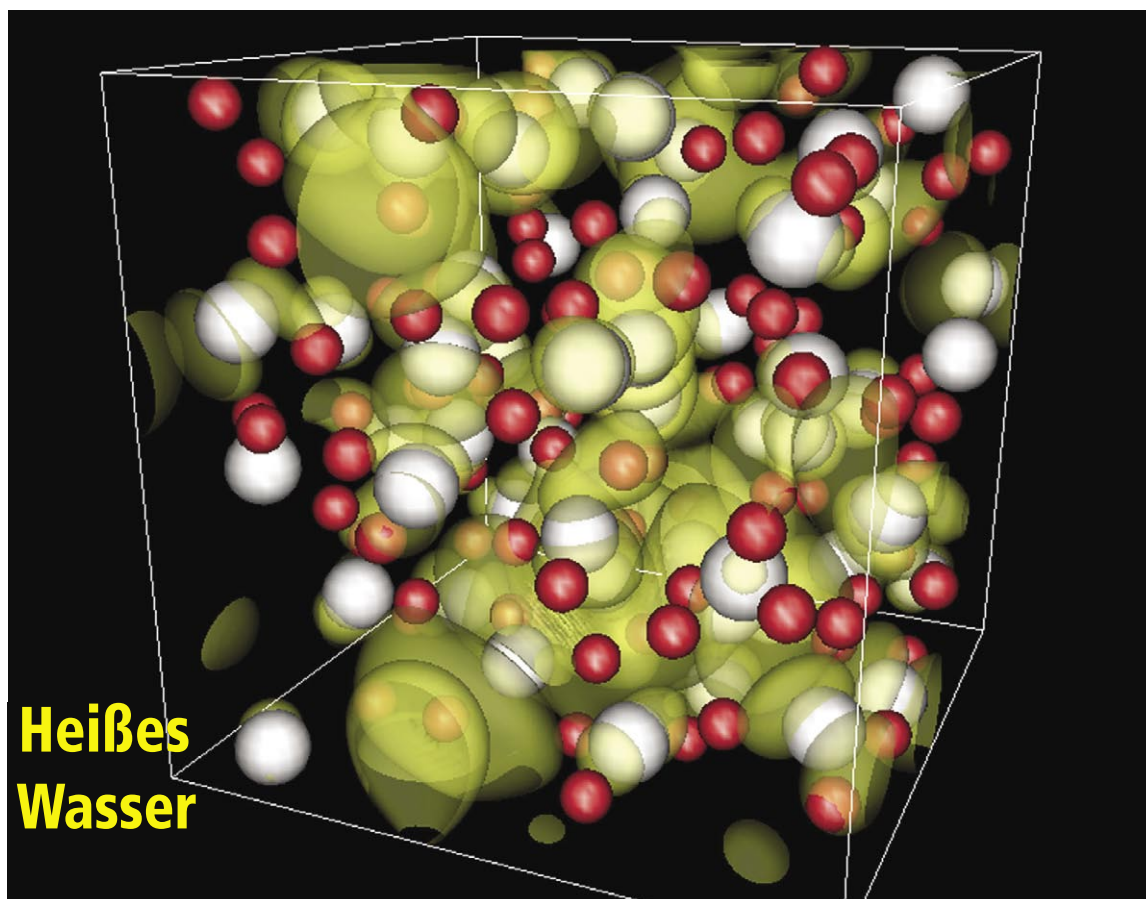


und unterstützt von



09 – 10 / 2006

D 2046 E



## Heißes Wasser

für Experimente mit einem extrem leistungsfähigen Beschleuniger, der für kurze Zeit hohe Temperaturen und Drücke in Wasser erzeugt. Er wird für das Erstellen experimenteller Grundlagen-Daten zur Simulation von Atombombenexplosionen verwendet. Die jetzigen Erkenntnisse haben auch Einfluss auf die Planetenforschung. Das Bild zeigt in Rot Wasserstoffatome, weiße Kugeln stellen Sauerstoffatome dar, und die Elektronendichte eines teilweise angeregten Elektronenzustandes, der zuständig für die Leitfähigkeit ist, wird in Gold dargestellt (Abb.: Sandia Labs).

Wasser unter extremen Druck- und Temperaturbedingungen verhält sich anders als bislang angenommen, sagen US-Forscher der Sandia Labs, Albuquerque, New Mexico. Ihren Supercomputer-Simulationen zufolge müssen die Phasengrenzen, über denen sich Wasser metallisch elektrisch leitend verhält, von 7000 auf 4000 Kelvin sowie von 250 auf 100 Gigapascal erniedrigt werden. Sie erweiterten für ihre Rechnungen das „Vienna Ab-initio Simulation Package“. Die Berechnungen waren notwendig

## Impressum

**CLB**  
Chemie in Labor und Biotechnik

**Verlag:**  
Agentur & Verlag Rubikon  
für technische und wissenschaftliche  
Fachinformation – Rolf Kickuth  
Anschrift:  
CLB, Agentur & Verlag Rubikon  
Bammentaler Straße 6–8  
69251 Gaiberg bei Heidelberg  
Deutschland  
E-Mail: redaktion@clb.de

**Gründungsherausgeber:**  
Dr. Dr. h.c. Wilhelm Foerst (†)  
Prof. Dr. Wilhelm Fresenius (†)

**Herausgeber:**  
Dr. Dr. U. Fitzner, Düsseldorf · Prof. Dr.  
K. Kleinerhans, Düsseldorf · Prof. Dr.  
Heinz-Martin Kuß, Duisburg, · Prof.  
Dr. J. Schram, Krefeld · Prof. Dr. Georg  
Schwedt, Clausthal-Zellerfeld ·  
Dr. Wolfgang Schulz, Langenau ·  
Prof. Dr. G. Werner, Leipzig.

**Redaktion:**  
Rolf Kickuth (RK, verantwortlich);  
E-Mail: kickuth@clb.de,

Dr. Maren Bulmahn (MB, CLB-Memory,  
E-Mail: bulmahn@clb.de),  
Dr. Christiane Soiné-Stark  
(CS, E-Mail: stark@clb.de).

**Ständige Mitarbeiter:**  
Ans de Bruin (Grafik), Heidelberg; Werner  
Günther, Düsseldorf; Prof. Dr. Wolf-  
gang Hasenpusch, Hanau;  
Dr. Mechthild Kässer, Diekholzen; PD Dr.  
Röbbe Wünschiers, Köln.

**VBTA-Verbandsmitteilungen:**  
Thomas Wittling,  
Raiffeisenstraße 41, 86420 Diedorf  
Telefon (0821)327-2330  
Fax (08 23 8) 96 48 50  
E-Mail: info@vbta.de

**Anzeigenservice:**  
Natalia Khilian  
CLB, Agentur & Verlag Rubikon  
Bammentaler Straße 6–8  
69251 Gaiberg bei Heidelberg  
Telefon (0 62 23) 97 07 43  
Fax (0 62 23) 97 07 41  
E-Mail: anzeigen@clb.de

**Abonnentenbetreuung:**  
Natalia Khilian  
E-Mail: service@clb.de

**Layout und Satz:**  
Agentur & Verlag Rubikon  
Druck: Printec Offset, Ochshäuser Straße  
45, 34123 Kassel

CLB erscheint monatlich.

**Bezugspreise:**  
CLB Chemie in Labor und Biotechnik mit  
der Beilage „CLB-MEMORY“. Einzelheft  
– außerhalb des Abonnements – 8,60  
Euro, im persönlichen Abonnement jäh-  
rlich 91,35 Euro zuzüglich Versandkosten;  
ermäßigter Preis für Schüler, Studen-  
ten und Auszubildende (nur gegen Vor-  
lage der Bescheinigung) jährlich 70,45  
Euro zuzüglich Versandkosten, inkl. 7%  
MWSt. Ausland sowie Firmenabonne-  
ments (Staffelpreisliste nach Anzahl) auf  
Anfrage. Bezug durch den Buchhandel  
und den Verlag. Das Abonnement ver-  
längert sich jeweils um ein weiteres Jahr,  
falls nicht 8 Wochen vor Ende des Be-  
zugsjahres Kündigung erfolgt.  
Erfüllungsort ist Heidelberg. Mitglieder

des VBTA, des VCÖ sowie des VDC erhal-  
ten die CLB zu Sonderkonditionen.

**Anzeigenpreisliste:**  
Nr. 45 vom 01. 01. 2006.

Bei Nichterscheinen durch Streiks oder  
Störung durch höhere Gewalt besteht kein  
Anspruch auf Lieferung.  
Die Zeitschrift und alle in ihr enthaltenen  
einzelnen Beiträge und Abbildungen sind  
urheberrechtlich geschützt. Jede Verwer-  
tung außerhalb der engen Grenzen des  
Urheberrechtsgesetzes ist ohne Zustim-  
mung des Verlags unzulässig und straf-  
bar.  
Für die Rückgabe unverlangt eingesand-  
ter Buchbesprechungsexemplare kann  
keinerlei Gewähr übernommen werden.

ISSN 0943-6677



## Liebe CLB-Leserin, lieber CLB-Leser,

„Ich sage JA zu deutschem Wasser“ tönte Star-Entertainer Harald Schmidt in seiner Show vor wenigen Jahren eine zeitlang jeden Abend. Sie sollten das auch tun: Kein Lebensmittel wird so gut überwacht wie unser Leitungswasser, auch nicht die Mineral- oder Tafelwässer, die oft hochpreisig in schönen Flaschen daherkommen, aber hinsichtlich ihrer analytischen Überwachung dem Nass aus der

Leitung nicht das Wasser reichen können ;-)



Wie dies im Einzelnen geschieht, welche Stoffe wie überwacht werden, welche Probleme anstehen – und wie man sie löst, davon erfahren Sie viel in dieser CLB, die erstmals als Doppelnummer

erscheint. Auch wenn ich nicht zuvor über diese besondere Erscheinungsform informiert habe und Sie jetzt die doppelte Anzahl von Seiten auf einen Schlag als Lektüre zu bewältigen haben – ich denke, Sie haben Verständnis für diese Entscheidung. Der Hintergrund: Mit Dr. Wolfgang Schulz hat die CLB seit knapp zwei Jahren einen engagierten Mitherausgeber gefunden. Er ist beruflich für Forschungsaufgaben bei dem Zweckverband Landeswasserversorgung in Langenau zuständig. Jetzt konnte er seinen Arbeitgeber dafür gewinnen, die CLB als Tagungspublikation für das Langenauer Wasserforum zu wählen. Dieses Forum findet am 6. und 7. November im schwäbischen Langenau bei Ulm statt und zieht zum wiederholten Male über einhundert Fachleute für Wasseranalytik in seinen Bann – übrigens fachlich unterstützt seitens der Hochschule Aalen. Sie kennen den Kontakt dort hin: Es ist Prof. Dirk Flottmann, der schon wiederholt in der CLB veröffentlichte, und der in dieser Ausgabe zusammen mit Wolfgang Schulz den ersten Teil eines Übersichtsartikels zur Chemometrie und Massenspektrometrie anbietet.

Sehr gut mit seinen verständlichen Aufsätzen ist Ihnen Prof. Hasenpusch bekannt. Seine umfassende Kompetenz in Grundlagen- und Umweltchemie dokumentiert er auch in dieser CLB: Passend zu dem Themenschwerpunkt Wasser schrieb er ab Seite 400 den Artikel „Das dreckige Dutzend von Stockholm“ über persistente organische Stoffe.

Anfang Oktober ist für Wissenschaftspublizisten – und für Wissenschaftler – eine spannende Zeit, entscheidet sich doch, wer in dem Jahr Nobelpreisträger wird. Dieses Jahr triumphierten in den Naturwissenschaften die US-Amerikaner (s.S. 327). Ein Deutscher dürfte sich geärgert haben, nicht dabei gewesen zu sein: Thomas Tuschl. Der promovierte Chemiker entwickelte die RNA-Interferenz-Methode zur Abschaltung einzelner Gene. Damit lässt sich prinzipiell die Funktion aller 30 000 Human-Gene ermitteln, und es zeichnen sich neue Therapien ab. Tuschl wurde bereits mit zahlreichen Preisen geehrt (siehe z.B. CLB 12-2002, S. 445) und galt als Nobelpreis-Kandidat. Ob nach der Vergabe der diesjährigen RNA-orientierten Nobelpreise in Medizin und Chemie, die so deutlich wie selten das Übereinandergreifen der Disziplinen zeigen, noch Raum für eine spätere Nobel-Auszeichnung der Tuschl-Arbeiten ist, darf bezweifelt werden. Der Deutsche kann sich jedoch mit seinem beruflichen Erfolg trösten: Er ist Professor an der Rockefeller University in New York, aber auch Mitgründer der amerikanischen Firma Alnylam (der Name stammt von dem mittleren Gürtelstern des Orions, 250 000 mal heller als die Sonne). Sie hat exklusive Lizenzrechte an Patenten aus den Arbeiten Tuschls am Göttinger Max-Planck-Institut – und ebenfalls Lizenzen aus den Arbeiten der frisch gekürten Medizin-Nobelpreisträger Fire und Mello ;-)

Mit der diesjährigen Physik-Nobelpreisvergabe an die beiden Kosmologen Mather und Smoot gibt das Nobelpreis-Komitee Papst Benedikt XVI weiteren Grund, wie in Regensburg zu klagen: „Wenigstens ein Teil der Wissenschaft arbeitet emsig daran, eine Welterklärung zu finden, in der Gott überflüssig wird“. Ihre Forschung bezieht sich nämlich auf Fragen nach dem Ursprung des Weltalls, und die Theorien dazu kommen ohne einen Gott aus, der für jeden einzelnen Menschen da ist. Vielleicht mag der Papst ja die Chemiker auch nicht. Wenn die Weihwasser analysieren finden sie darin zwar eine Reihe von Terpenen und Ketonen, aber nicht den Segen der Priester an das Wasser...

Ihr

# INHALT

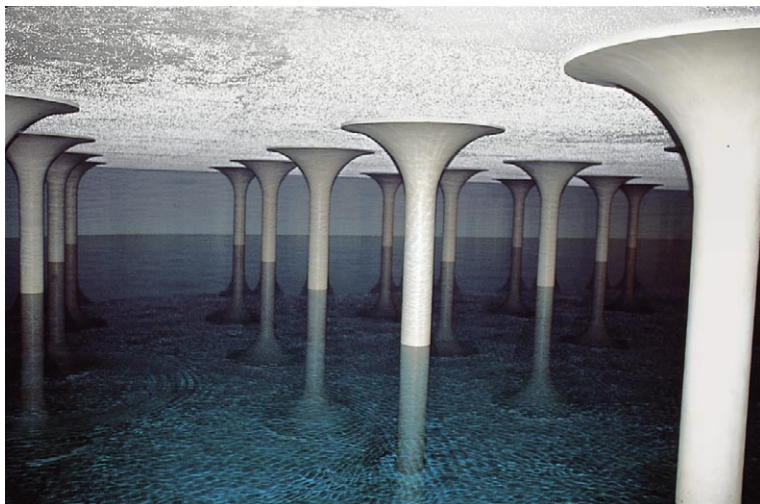
Zweckverband Landeswasserversorgung Sicher Trinkwasser höchster Qualität liefern _____	328
Chemometrie: Grundlagen und Anwendungen in der Hauptkomponentenanalyse Von der univariaten zur multivariaten Datenanalyse (Teil 1) _____	332
Bestimmung von Brom- und Iodspezies mit der HPLC-ICP-MS-Kopplung Mit Automatisierung in die Routine _____	338
Iodspezifische Wasseranalytik am Beispiel der Röntgenkontrastmittel Mit HPLC-MS Abbauprodukte erkennen _____	340
HPTLC/ESI-MS, HPTLC/DART-MS, HPTLC/APGD-MS Kopplung der Planar-Chromatographie mit der Massenspektrometrie _____	343
Phase Optimized Liquid Chromatography (POPLC): Ein neues und effektives Werkzeug zur Methodenoptimierung in der HPLC _____	349
GC-MS in der Wasseranalytik Purge-und-Trap-GC/MS mit neuer Normung _____	352
Direct injection detection using LC/MS/MS Analysis of dissociated organo-phosphorus pesticides _____	356
HPLC-MS/MS in der Wasseranalytik Anreicherungsfreie LC-MS-Analytik im Ultra-Spuren-Bereich _____	360
LC-MS-MS-Analytik von organischen Spurenstoffen, deren Metaboliten und Transformationsprodukten in Wasser LC-MS-MS – ein neues analytisches Fenster für polare Spurenstoffe in Wasser _____	364
Flugzeit-Massenspektrometer (Time-of-Flight MS, TOF-MS) Exakte Massenbestimmung mit TOF-LC/MS _____	368
Neu: MultiPurposeSampler MPS mit SPE-Modul für Standardkartuschen Festphasenextraktion im Handumdrehen automatisieren _____	372
IC-MS und IC-ICP-MS – Anwendungen und Perspektiven Werkzeug für die Wasseranalytik _____	376
BTEX- und LHKW-Analytik wässriger Proben mit GC/MS Ohne zeitaufwendige Anreicherungsverfahren _____	380
Ultraschnelle und hochauflösende Flüssigchromatographie: Grundlagen, Anwendungen, Grenzen _____	383
Fast GC-MS: Geschwindigkeit ist keine Hexerei! Grundlagen der Trennung in der schnellen Gaschromatographie _____	387
PAK-Analytik partikulär belasteter Wässer mit RP-Extraktionsscheiben Ein GC-MS-Verfahren für die ISO-Normung _____	392
Schädlingsbekämpfungsmittel auf der Verbotsliste: „Das dreckige Dutzend von Stockholm“ _____	394

## Rubriken

Editorial	321
Impressum	U2
F & E im Bild	U2
Unternehmen	324
Personalia	326
Förderungen / Preise	327
Forschung und Technik	400
Literatur	402
Neue Produkte	405
Bezugsquellenverzeichnis	409

## CLB-Memory

<b>Frauen in der betrieblichen Berufsausbildung:</b>	
Seltener am Start, genauso oft am Ziel	M65
<b>Basisinformationen zu Biomass-to-liquid (BtL)</b>	
Die 2. Generation der Biokraftstoffe	M66
<b>Fleisch, Milch und Eier kaum belastet</b>	
Jede 500. Probe beanstandet	M68
<b>Qualitative Analyse – Trennungsgänge</b>	
Vorproben, Löseversuche und Aufschlüsse	M69



### Zum Titelbild

Ein wichtiger Bestandteil des Fernleitungsnetzes der Landeswasserversorgung sind die 33 Wasserbehälter mit einem Speichervolumen von ca. 400 000 Kubikmetern. Sie dienen in erster Linie der Versorgungs- und Betriebssicherheit, da sie Abgabeschwankungen ausgleichen, einen wirtschaftlichen Anlagenbetrieb ermöglichen und damit die Leistungsfähigkeit der Trinkwasserversorgung im Gebiet der Landeswasserversorgung steigern (Foto: LW).

## NACHRICHTEN & NOTIZEN

**Die Saltigo GmbH** in Leverkusen, Dienstleister für Custom Synthesis/Manufacturing und eine 100%ige Tochter des Chemiekonzerns Lanxess, investiert rund 10 Mio. Euro in einen bereits bestehenden Anlagenkomplex, um ihn zu einer multifunktionalen Anlage für die CGMP-konformen (Current Good-Manufacturing Practice) Anlage auszubauen.

**SGL Carbon** wird Ende 2006 mit dem Bau eines Kohlenstoff- und Graphit-Hubs in Malaysia beginnen. Das Unternehmen rechnet mit einer Gesamtinvestition von 150 bis 200 Mio. Euro über mehrere Jahre.

**Die Protagen AG**, Protein-Biochip-Spezialist in Dortmund mit derzeit 32 Mitarbeitern, hat als erste Auslandsgesellschaft die 100%ige Tochter Protagen Incorporated mit Sitz in Chester, New Jersey/USA, gegründet. Der Schwerpunkt des Vertriebs wird zunächst an der amerikanischen Ostküste liegen.

**Die Retsch GmbH** in Haan startet für Bestellungen zwischen dem 1. Oktober 2006 und dem 31. März 2007 zwei Angebote: Mit jeder Retsch Siebmaschine erhalten Kunden die Auswertesoftware EasySieve kostenlos dazu, und für jedes Präzisionssieb des Unternehmens wird ein kostenloses Abnahmeprüfzeugnis erstellt. Zusätzlich veranstaltet die Firma ein Gewinnspiel, bei dem es ein Kilogramm Gold und monatlich weitere Preise zu gewinnen gibt ([www.retsch.de/goldrush](http://www.retsch.de/goldrush)).

**Die Sartorius AG** und die Georg-August-Universität in Göttingen planen eine langfristige Kooperation. So sollen Studierende des internationalen Master- und Promotionsstudiengangs Neurosciences ihr zweimonatiges Praktikum bei Sartorius absolvieren. Vom kommenden Jahr an können auch Studierende der Molecular Biology dieses Angebot nutzen.

**EMBL Ventures** investiert weitere 3 Mio. Euro in JadoLabs GmbH (JADO Technologies). JADO Technologies ist ein biopharmazeutisches Unternehmen, das 2003 aus dem Dresdner Max Planck Institut für Molekulare Zellbiologie und Genetik ausgegründet wurde. Mit dem Geld will man erste klinische Prüfungen am Menschen mit Wirkstoffkandidaten gegen Typ I Allergien wie Nesselsucht und Asthma durchführen.

**Die Bruker AXS GmbH**, mit Standorten in Karlsruhe und Berlin-Adlershof hat alle Anteile der Quantron GmbH übernommen. Die Quantron GmbH entwickelt, fertigt und vertreibt weltweit optische Emissions-Spektrometer-Systeme (OES) für Anwendungsgebiete im Bereich der Metallanalyse. Nach der Übernahme verbleibt die Bruker-Quantron GmbH am Standort Kleve, und soll dort weiter wachsen.

**Die Axel Semrau GmbH & Co. KG**, Sprockhövel, steigerte im Geschäftsjahr 2005/06 (endete am 30. September) seinen Umsatz und konnte beim Auftragszugang um über 20 % zulegen. Die Firma wird ab November eine Serviceniederlassung im Industriepark Infraserb Höchst eröffnen – ein weiterer Schritt hin zu den Kunden.

## Bayer errichtet WorldScale-Anlage für Chlorrecycling Salzsäure-Elektrolyse in Shanghai

**F**ür die Herstellung der Polyurethan-Rohstoffe MDI und TDI am Standort Shanghai plant die Bayer MaterialScience AG die Errichtung einer World-Scale-Produktionsanlage. Das für diese Anlage benötigte Chlor wird in der weltweit größten Salzsäure-Recyclinganlage direkt vor Ort produziert.

Die neue Salzsäure-Elektrolyse mit einer Jahreskapazität von 215 000 Tonnen Chlor soll im Jahr 2008 in Betrieb genommen werden. In der Anlage wird die von Bayer gemeinsam mit Partnern entwickelte Sauerstoffverzehrkathoden-Technik (SVK) erstmals im großindustriellen Maßstab eingesetzt. Die als Neben-

produkt bei der Isocyanat-Herstellung anfallende Salzsäure wird in der Elektrolyse mit Hilfe von elektrischer Energie und Sauerstoff als zusätzlichem Reaktionspartner in Chlor und Wasser zerlegt. Das gewonnene Chlor wird erneut zur Isocyanat-Herstellung eingesetzt und damit in einem Kreislauf gefahren. Die als Kathode geschaltete, Sauerstoffverbrauchende Elektrode wird als Sauerstoffverzehrkathode bezeichnet und hat der neuen Technik ihren Namen gegeben. Der Vorteil des SVK-Elektrolyseverfahren liegt in der Energieersparnis von rund 30 Prozent gegenüber dem bei Bayer seit vielen Jahren etablierten Diaphragmaprozess.

## Fusionsfieber in der Pharmabranche

### Konzentration setzt sich fort

**K**leine und mittelständische Unternehmen in der Pharmabranche werden von den Großen einverleibt. Der Darmstädter Pharma-Konzern Merck hat den Schweizer Biotech-Konzern Serono gekauft, das belgische Unternehmen UCB übernahm Schwarz Pharma aus Monheim und das dänische Pharmaunternehmen Nycomed mit Sitz in Roskilde hat die Konstanz Pharma-Parte von Altana in Bad Homburg übernommen.

Altana hatte zuletzt zu wenig neue Produkte vorzuweisen. Die Lizenz für den Hauptumsatzbringer, das Magenmittel Pantoprazol, läuft bis 2010 in wichtigen Märkten aus. Altana mit weltweit 13 300 Mitarbeitern hatte im vergangenen Jahr 3,3 Milliarden Euro umgesetzt. Nun wird Altana zum reinen Chemieunternehmen mit 4400 Beschäftigten und einem neuen Hauptsitz in Wesel am Niederrhein. Unklar ist, wie es für die Beschäftigten in der verkauften

Pharmasperte weitergeht. Der Käufer Nycomed entwickelt keine eigenen Medikamente, sondern kauft Lizenzen und steigt in der Endphase einer Neuentwicklung ein.

Der Pharmakonzern Schwarz Pharma aus Monheim wird vom belgischen Wettbewerber UCB für rund 4,4 Mrd. Euro übernommen. Die beiden Standorte von Schwarz Pharma in Monheim und Zwickau seien nicht gefährdet, sagte eine Sprecherin. Gemeinsam kommen beide Unternehmen auf einen Umsatz von 3,3 Mrd. Euro im Jahr und ein Forschungsbudget von 770 Mio. Euro.

Mit der Serono-Übernahme gelang dem Darmstädter Pharma-Konzern Merck ein Überraschungscoup. Merck hatte zuletzt versucht, den Berliner Arzneimittelhersteller Schering zu übernehmen. Diesem Vorhaben war aber der Bayer-Konzern mit einer höheren Offerte in die Quere gekommen. Die Darmstädter zahlen für Serono umgerechnet 10,6 Milliarden Euro.

## GVC/Dechema-Jahrestagung 2006 Boom der Bio-Rohstoffe

„In 20 Jahren lernen Studenten ganz normal Stammbäume von Reaktionen und ihren Produkten, die auf erneuerbaren Rohstoffen beruhen“, stellte der Dechema-Vorsitzende und stellvertretende Vorstandsvorsitzende von Degussa, Dr. Alfred Oberholz, auf der Pressekonferenz der GVC/Dechema-Jahrestagungen in Wiesbaden fest. Ein Themenschwerpunkt waren dabei die erneuerbaren Rohstoffe und Biokraftstoffe.

„Schon jetzt produzieren wir bei der Degussa acht Prozent der der Chemikalien auf Basis erneuerbarer Rohstoffe. In zehn Jahren wird sich dieser Anteil verdoppelt haben“, so Oberholz weiter. Dazu äußerte er die Überzeugung, dass der Forschungsstandort Deutschland – und auch die Industrie – gerade auf diesem Gebiet eine aussichtsreiche Zukunft habe.

Auch Dr. Ludolf Plass, Executive Vice President Technology der Lurgi AG, lieferte Daten für den Biostoff-Boom. So soll in neun Jahren 10 Prozent, bis zum Jahr 2020 20 Prozent des Kraftstoffbedarfs aus alternativen Quellen wie Biodiesel, Bioethanol oder Biogas ersetzt werden. Das bedeutet wohl auch Positives für sein Unternehmen: Laut Untersuchung der US-Investment-Bank Morgan Stanley soll der Markt für Biodiesel-Anlagen bis 2015 auf zwölf bis 15 Milliarden Dollar anwachsen. Die Entwicklung kommt wohl in diesem Umfang relativ überraschend, jüngst noch gestärkt durch Bemerkungen von US-Präsident Bush, der die USA von Ölimporten weniger abhängig machen will. „Bis 2000/2001 haben wir gesagt: Außer Öl und Gas fassen wir nichts an, keine dreckige Kohle oder Biomasse“, verriet Plass die Fehleinschätzung des Anlagenbauers Lurgi mit einem Schmunzeln. Dann jedoch baute man 2001 eine erste entsprechende Anlage, und von 2002 an bis heute habe man eine weltweit führende Position erarbei-

tet und Aufträge über insgesamt 40 Biodieselanlagen erhalten.

Die Biotreibstoff-Branche bekäme noch mehr Schwung, wenn die zweite Generation der Technologie eingesetzt werde, so Plass. Darunter versteht man die

Verwendung von Bioethanol. Dann steht schon die dritte Generation in Lauerstellung. Mit ihr wird es möglich sein, nicht nur Pflanzenfrüchte wie etwa Korn, sondern auch das Stroh und Holz zu verarbeiten, etwa durch den Einsatz ionischer Flüssigkeiten, die Holz enzymatisch verzuckern können (siehe CLB 05-2006, Seiten 176-181). Bei diesen Verfahren wird sich das Verhältnis von eingesetzter Energie für die Gewinnung der Rohstoffe zur Energie aus den Biotreibstoffen von 1,5: 1 (Biodiesel) bis zu 10:1 (Biomass to Liquids-Treibstoffe, kurz BtL) verbessern (siehe auch CLB-Memory in dieser Ausgabe, Seiten 408-409).

Synthetische Kraftstoffe aus der Vergasung von Biomasse und anschließender Synthese nach dem BtL-Verfahren sind schwefel- und aromatenfrei, besonders effizient und umweltfreundlich. Pilotanlagen dafür gibt es am Forschungszentrum Karlsruhe und bei der Choren Industries GmbH in Freiberg. Plass erwartet, dass die Technik in drei bis fünf Jahren am Markt ist.

Eher eine Absage erteilten die Experten der Wasserstofftechnologie hinsichtlich ihres Einsatzes als Mobil-Treibstoff – nicht in stationären Brennstoffzellen. Allein in Deutschland müsste man 140 Milliarden Euro für die Tankstellen-Infrastruktur investieren, so Plass. Womöglich setzt sich da eher das Elektrofahrzeug durch. Degussa-



Reges Interesse bei Siemens-Geschäftsführer Prof. Dr. Norbert Schädler (links) und Lurgi-Cheftechnologe Dr. Ludolf Plass (rechts) fand die Präsentation eines inhärent sicheren Lithium-Ionen-Akkus durch Dr. Oberholz (Mitte, mit dem Akku; nein, es ist kein Redemanuskript ;-). Er hat einen Energieinhalt von 8,3 Amperestunden, der sich in den nächsten Jahren auf das Zwei- bis Dreifache steigern lassen soll (Foto: Kickuth).

Forschungsvorstand Oberholz hatte dafür eine handliche Demonstration parat: eine brand- und explosions-sichere Akku-Zelle in Lithium-Ionen-Technik, durch die sich sogar ohne Gefahr ein Nagel schlagen ließe. Mit der erwarteten Leistungssteigerung in den nächsten Jahren könne sie das Aus für die H<sub>2</sub>-Technologie im Auto bedeuten. RK

### NACHRICHTEN & NOTIZEN

**Clariant** will das Spezialchemie-Geschäft Masterbatches von Ciba übernehmen, um seine globale Position im Bereich Farben und Additive für Plastikprodukte weiter zu stärken. Mit den Produktionsstätten in Frankreich, Saudi-Arabien und Malaysia sowie etwa 300 Beschäftigten erwirtschaftet dieser Bereich rund 80 Millionen CHF.

**Die Hansa Group AG** will am Standort Duisburg-Wanheimerort ihre Tensid-Produktion mit neuen Anlagen erweitern, was eine Investition von etwa 11,5 Mio. Euro erfordert. Der Produktionsbeginn der neuen Anlagen mit 20 bis 25 neuen Mitarbeitern ist für das Jahr 2008 geplant. Bisher produziert Hansa Tenside am Standort Düren im Volumen von etwa 25 000 t/Jahr.

**Die Vestolit GmbH & Co. KG**, ein Hersteller von PVC-Produkten mit rund 650 Mitarbeitern, treibt ihren Wachstumskurs in Europa mit einem neuen Investor voran. Ein von Strategic Value Partners gemanagter Fonds übernimmt unter Beteiligung des Vestolit-Managements alle Anteile an Vestolit, die bisher von einem Konsortium unter Führung von Candover Plc., London, gehalten wurden. Es ist geplant, innerhalb von drei Jahren mehr als 100 Millionen Euro zu investieren, vor allem in eine neue Membrananlage am Firmensitz in Marl.

**BIO** Die Biotechnologie-Industrie-Organisation Deutschland (BIO Deutschland e.V.) wählte **Dr. Viola Bronsema**, vormalig Leiterin der Kommunikationsabteilung der Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, zur Geschäftsführerin. Die BIO Deutschland mit mehr als 100 Mitgliedern aus Bereichen der roten, grünen und weißen Biotechnologie unterstützt und fördert die Entwicklung dieses Wirtschaftszweiges.



Bronsema

**CELESIO** Der Pharmagroßhändler Celesio AG meldete, dass sein Aufsichtsrat der Berufung des Vorstandsvorsitzenden **Fritz Oesterle** in den Vorstand der Franz Haniel & Cie. GmbH ab 1. Oktober 2006 zugestimmt hat. Oesterle übernimmt die Vorstandposition bei Haniel neben seiner Chefposition bei Celesio. Haniel ist seit Dezember 1972 Mehrheitsaktionär bei Celesio und hält derzeit knapp 53 Prozent. Oesterle übernimmt als neue Aufgaben die Ressorts „Industriebeziehungen“, „Unternehmensbeteiligungen“ und „Außenbeziehungen“.



Lemmen



Tsao



Uhlmann

**IMU** Die International Mathematical Union (IMU) wählte **Prof. Martin Grötschel**, Sprecher des DFG-Forschungszentrums Mathematik und Leibnizpreisträger, zum Generalsekretär dieser größten und wichtigsten internationalen Mathematikervereinigung. Damit zieht auch die Geschäftsstelle der IMU von Princeton in den USA nach Berlin um. Mitglied der IMU sind derzeit 67 Länder, die jeweils durch ihre nationalen Wissenschaftsakademien oder durch ihre Mathematikervereinigung vertreten werden.



Grötschel



Hartl

**UFZ** **Dr. Andreas Schmidt** wird neuer administrativer Geschäftsführer des Umweltforschungszentrums Leipzig-Halle (UFZ). Der 38jährige Betriebs- und Volkswirt tritt die Nachfolge von Dr. Frank Nolden an. Für die Forschung ist weiterhin der wissenschaftliche Geschäftsführer, Prof. Georg Teutsch, zuständig.



Schmidt

## EHRUNGEN

Für die besonders ansprechende und auch für Laien leicht verständliche Präsentation seiner Doktorarbeit gewann **Carsten Lemmen** den diesjährigen Wettbewerb um den **Günther-Leibfried-Preis** des Forschungszentrums Jülich. Wissenschaft transparent präsentieren und den Dialog mit der Öffentlichkeit suchen, so lautet der Anspruch des Günther-Leibfried-Preises. Carsten Lemmens Berechnungen auf dem Jülicher Supercomputer JUMP belegen, dass das FCKW-Verbot aus dem Jahr 1987 voraussichtlich tatsächlich seinen Zweck erfüllt, das heißt dass es kein Ozonloch über dem Nordpol geben wird.

**Dr. Taolei Sun** vom Physikalischen Institut der Universität Münster wurde mit dem **Sofja-Kovalevskaja-Preis** der Alexander-von-Humboldt-Stiftung für Spitzennachwuchswissenschaftler ausgezeichnet. Sein Projekt zur Thematik „Blutkompatible Materialien und biologische Grenzflächen sowie steuerbare Benetzbarkeit durch nanostrukturierte Oberflächen und Grenzflächen“ wird mit einer Million Euro über vier Jahre ausgestattet. Der Preis wird vom Bundesministerium für Bildung und Forschung gestiftet und hat das Ziel, bereits erfolgreiche junge Wissenschaftler weitgehend unbelastet von administrativen Zwängen die Durchführung hochrangiger und innovativer Forschung an Instituten eigener Wahl in Deutschland zu ermöglichen.

Für seine ambitionierte Forschungsarbeit zur zellulären Proteinfaltung wurde **Prof. Ulrich Hartl**, Direktor am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried, mit dem „**Körper-Preis für die Europäische Wissenschaft 2006**“ geehrt. Mit dem Preisgeld in Höhe von 750 000 Euro fördert die Körper-Stiftung auch Hartls Forschungsprojekt „Chaperone der Proteinfaltung in Biotechnologie und Medizin“.

Der **Alfred-Stock-Gedächtnispreisträger 2006** ist **Professor Dr. Karl O. Christe**, Loker Hydrocarbon Research Institute, University of Southern California, Los Angeles. Der **Klaus-Grohe-Preis** für Medizinische Chemie (beide Preise von der GDCh) wird in diesem Jahr zweimal verliehen, an **Dr. Daniel B. Werz**, Laboratorium für Organische Chemie der ETH Zürich, und **Dr. Carl F. Nising**, Department of Chemistry and Chemical Biology, Harvard University, Cambridge, USA.

Der **Eppendorf & Science Prize for Neurobiology** wird jährlich auf internationaler Ebene ausgelobt und ist mit einer Summe von 25 000 US-Dollar dotiert. In diesem Jahr heißt die Gewinnerin **Dr. Doris Tsao** von der Universität Bremen. Sie erhält den Preis für ihre Arbeit „What’s in a face? Recognition at the cellular level“.

**Dr. Frank Uhlmann** vom London Research Institute ist der Gewinner der mit 10 000 Euro dotierten **2006 EMBO Goldmedaille**. Er wird für seine Arbeiten zum Zellzyklus geehrt, die neue Möglichkeiten in der Krebs-Therapie eröffnen.

**Dr. Ellen Fritsche**, wissenschaftliche Mitarbeiterin des Instituts für umweltmedizinische Forschung (IUF) an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, ist mit dem **CEFIC Long Range Research Initiative (LRI) Innovative Science Award 2006** ausgezeichnet worden. Dieser europäische Forschungspreis wird einmal jährlich an einen Wissenschaftler für die Konzeption eines neuartigen interdisziplinären Forschungsprojektes auf dem Gebiet der Toxikologie verliehen. Dr. Ellen Fritsche erhält den Preis für die Entwicklung einer tierversuchsfreien Methode zur Prüfung der Entwicklungsneurotoxizität von chemischen Substanzen auf der Basis menschlicher Zellen.



## Nobelpreise in Chemie und Medizin für RNA-Forschungen

**Die diesjährige Nobelpreisvergabe zeigt deutlich die Interdisziplinarität der heutigen Forschung; fast wünscht man sich einen Preis für Biochemie-medizininformatik.**

Die Themen der drei Preisträger treffen in der Zelle aufeinander. Bei der Umsetzung genetischer Informationen in Proteine spielt RNA eine entscheidende Rolle. Der mit 1,1 Millionen Euro dotierte **Nobelpreis für Chemie** geht in diesem Jahr an den amerikanischen Wissenschaftler **Roger D. Kornberg** von der Stanford-Universität in Kalifornien. In seiner Arbeit erforschte der 59-jährige Wissenschaftler, wie die eukaryontische Transkription funktioniert. Dabei geht es um die Umsetzung von Genen höherer Organismen in Proteine. Bei der Transkription von Eukaryonten wird für die Nutzung genetischer Informationen zunächst eine Kopie der DNA erstellt. Nach diesem Vorgang, der Transkription, wird die Kopie in eine andere Zelle gebracht, wo die Information zum Aufbau von Proteinen verwendet wird. Diesen genetischen Mecha-

nismus benötigen alle Lebewesen. Wird er unterbrochen, tritt innerhalb weniger Tage der Tod ein. In der Begründung der Stockholmer Akademie hieß es, das Verständnis des eukaryontischen Vorgangs sei auch für die Medizin von Bedeutung. Störungen der Transkription seien bei vielen Krankheiten, bei Krebserkrankungen, Herzerkrankungen oder Entzündungen, zu beobachten. Auch für neuartige Behandlungsmethoden in der Medizin wie etwa die therapeutische Anwendung von Stammzellen, seien die Forschungen Kornbergs von weit reichender Bedeutung.

Bereits mit zwölf Jahren war Kornberg in Stockholm gewesen, als sein Vater, Arthur Kornberg, den Nobelpreis für Medizin erhielt. Während der Vater herausfand, wie genetische Informationen von einer DNA-Mutterzelle an ihre Tochterzellen weitergegeben werden, erklärt Roger Kornberg nun, wie die Information von der DNA auf die Boten-RNA überschrieben wird.

**Der Nobelpreis für Medizin** geht an **Andrew Z. Fire** von der

Stanford-Universität und **Craig C. Mello** von der University of Massachusetts Medical School in Worcester. Die beiden Amerikaner werden für ihre Entdeckung der RNA-Interferenz geehrt (siehe dazu auch das Editorial auf Seite 321). Dieser Mechanismus ist für das Ausschalten einzelner Gene verantwortlich. Mit dem nun ausgezeichneten genetischen Verfahren prüfen Genetiker, welche Aufgaben eine Erbanlage im Organismus übernimmt. Die RNA-Interferenz schaltet das jeweils gewünschte Gen aus, die Folgen zeigen dann, wofür es zuständig ist. Auf diese Weise könnten auch krank machende Gene ausgeschaltet oder Viren blockiert werden. In Zukunft könnten mit der RNA-Interferenz unter anderem Herzkreislauf-Erkrankungen, Krebs und Hormonstörungen behandelt werden. **Der Nobelpreis für Physik** geht an die US-Physiker **John C. Mather** und **George F. Smoot** für die Untersuchung der kosmischen Hintergrundstrahlung, womit sich das Alter des Alls auf rund 13 Milliarden Jahre bestimmen ließ.

## Preis für Technikgeschichte

Der VDI schreibt in diesem Jahr erstmals den mit 3000 Euro dotierten Conrad-Matschoß-Preis des VDI für Technikgeschichte aus. Der Preis zielt, ganz im Sinne des Namensgebers, darauf, die historische Analyse und Darstellung der Technik und der Ingenieure im Rahmen von Gesellschaft, Wissenschaft und Umwelt zu fördern und einer breiten Öffentlichkeit zu erschließen. Gesucht werden technikgeschichtliche Arbeiten, die sich nicht nur an das Fachpublikum, sondern auch an die allgemeine Öffentlichkeit wenden. Historiker, Museumsmitarbeiter, Archivare, Denkmalpfleger, Journalisten für Druckmedien, bildgebende Medien und Hörfunk sowie Ingenieure und Naturwissenschaftler sind aufgefordert, ihre Bewerbung einzureichen. Die Arbeiten müssen im

vergangenen oder in diesem Jahr abgeschlossen worden sein und können in schriftlicher Form, als Fernseh- und Videoproduktionen sowie als Hörfunkbeiträge und Audio-Features auf CD, DVD oder VHS-Videokassette eingereicht werden. Der Umfang der Arbeiten darf in der Regel 400 Seiten, bei Film- und Tonbeiträgen 90 Minuten Spieldauer nicht überschreiten. Bewerbungsschluss ist der **30. Oktober 2006**. Der Preis wird auf der Technikgeschichtlichen Jahrestagung des VDI am 22. Februar 2007 in Düsseldorf vergeben. Informationen und Bewerbungen: Verein Deutscher Ingenieure e. V., Bereich Technikgeschichte, Michael Kussmann, Postfach 10 11 39, 40002 Düsseldorf, Tel. 0211 6214 205/273, Fax 0211 6214 150, Mail tub@vdi.de.

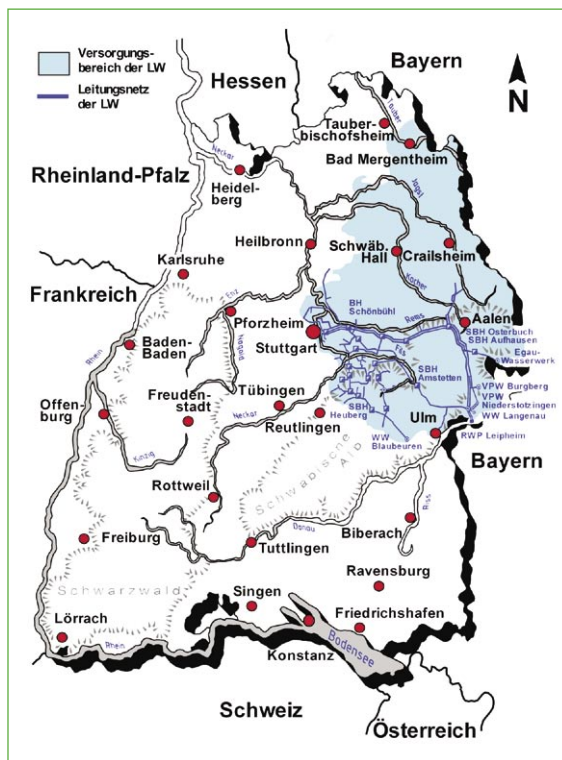
## KMU im Internet

Der NEG Website Award 2006 prämiert die besten und kreativsten Internetseiten in Deutschland. Zielgruppe des Wettbewerbs sind kleine und mittlere Unternehmen (KMU) aus Industrie, Handel, Handwerk und Dienstleistung, die maximal 250 Mitarbeiter sowie einen maximalen Jahresumsatz von 50 Millionen Euro haben dürfen. Für die besten Webauftritte ist ein Preisgeld von insgesamt 6000 Euro ausgelobt. Die Preisverleihung findet im Rahmen der CeBIT 2007 statt. Das Netzwerk Elektronischer Geschäftsverkehr ([www.ec-net.de](http://www.ec-net.de)) ermittelt in zwei Stufen die bundesweiten Gesamtsieger. Die Bewerbungsfrist läuft bis zum **30.10.2006**. Weitere Informationen gibt es im Internet unter [www.neg-website-award.net](http://www.neg-website-award.net).

## Zweckverband Landeswasserversorgung Sicher Trinkwasser höchster Qualität liefern

**W**asser auf der Erde unterliegt einem Kreislauf, der seine Energie von der Sonne erhält. Als Regen gelangt verdampft Wasser immer wieder auf die Erde zurück, wird als Grundwasser und aus Flüssen für Trinkwasser gewonnen. Die Wasserversorger kennen genau mögliche Quellen von Verunreinigungen. Mit Hilfe aufwendiger Analytik und Aufbereitung garantieren sie aber als Produkt ihrer Anstrengungen Trinkwasser höchster Qualität. Beispielhaft zeigt dies die Landeswasserversorgung (LW), eine der größten und traditionsreichsten Fernwasserversorgungen Deutschlands.

Das Versorgungsgebiet der Landeswasserversorgung erstreckt sich über weite Bereiche im nordöstlichen Landesteil von Baden-Württemberg und über Teile von Bayern. In diesem Gebiet werden ca. drei Millionen Einwohner in rund 250 Städten und Gemeinden mit Trinkwasser versorgt (Abkürzungen: BH: Behälter; RWP: Rohwasserpumpwerk; SBH: Scheitelbehälter; VPW: Vorpumpwerk; WW: Wasserwerk. Alle Abbildungen: LW).



Das Unternehmen wurde im Jahr 1912 gegründet, die ersten Anlagen gingen bereits 1917 in Betrieb. Heute steht die Landeswasserversorgung für die zuverlässige und sichere Trinkwasserversorgung von rund 250 Städten und Gemeinden – darunter die Städte Aalen, Esslingen, Göppingen, Heidenheim, Ludwigsburg, Schwäbisch Gmünd, Stuttgart und Ulm – mit einer jährlichen Abgabe von von rund 95 Millionen Kubikmetern Trinkwasser bester Qualität.

Dem kommunalen Zweckverband Landeswasserversorgung gehörten zum 1. Januar 2005 108 Verbandsmitglieder – Städte, Gemeinden, Zweckverbände und Versorgungsunternehmen in Baden-Württemberg und Bayern – an. Die Hauptverwaltung der Landeswasserversorgung hat ihren Sitz in Stuttgart. Insgesamt sind ca. 250 Beschäftigte an sechs Standorten tätig. Am Anfang stand eine königliche Verordnung: Zur Umsetzung des zukunftsweisenden Planes des „Königlichen Bauamtes für das öffentliche Wasserversorgungswesen“ aus dem Jahr 1909 für eine erste großräumige Trinkwasserversorgung in Württemberg gründete König Wilhelm II von Württemberg im Jahr 1912 die Staatliche Landeswasserversorgung. Sie wurde 53 Jahre lang als landeseigenes Unternehmen betrieben.

### Rund 95 Millionen Kubikmeter Trinkwasser jährlich

Erst im Jahr 1965 wurde der schon im Gründungsgesetz erteilte Auftrag erfüllt; die Landeswasserversorgung wurde in einen selbstständigen kommunalen Zweckverband überführt. Seit dieser Zeit sind die Verbandsmitglieder der Landeswasserversorgung nicht nur Kunden, sondern auch Eigentümer des Wasserversorgungsunternehmens.

Angesichts der Verknüpfung von Nutzern und Kapitalgebern versteht es sich von selbst, dass das

wirtschaftliche Ziel des Zweckverbandes nicht die Gewinnerzielung ist. Oberstes Ziel ist die sichere Versorgung der Bürger mit einwandfreiem Trinkwasser. Dabei geht es um bedeutende Mengen: Die LW hat im Jahr 2003 die bisher höchste Abgabemenge von ca. 100 Millionen Kubikmeter Trinkwasser für seine Verbandsmitglieder im Großraum Stuttgart und im gesamten nordost-württembergischen Raum bereitgestellt.

Die Versorgung der Bevölkerung mit Trinkwasser unterliegt den sehr strengen Bestimmungen der deutschen Trinkwasserverordnung. In dieser Verordnung ist detailliert festgelegt, welchen Anforderungen das Trinkwasser in bakteriologischer und in chemisch-physikalischer Hinsicht entsprechen muss, wie dies zu kontrollieren ist und wie dies von den zuständigen Aufsichtsbehörden, den Gesundheitsämtern, zu überwachen ist.

### 250 000 Einzelanalysen pro Jahr

Das Trinkwasser gehört wegen der aufwändigen und regelmäßigen Überwachung zu den am besten kontrollierten Lebensmitteln überhaupt. Im Rahmen der Trinkwasseranalyse werden alle trinkwasserrelevanten Parameter, das sind mehr als 100 Einzelparameter, untersucht. Bei der Landeswasserversorgung beläuft sich die Anzahl der Einzelanalysen pro Jahr auf etwa 250 000 Stück!

Alle Anforderungen zur Beschaffenheit von Trinkwasser sind so festgelegt, dass bei einem lebenslangen Genuss von täglich 5 Litern, dies entspricht der für das Trinken und Kochen benötigten Wassermenge, alle Belange einer umfassenden Gesundheitsvorsorge zuverlässig berücksichtigt sind. Wie die langjährigen Analyseergebnisse zeigen, wird das von der Landeswasserversorgung abgegebene Trinkwasser allen Anforderungen der Trinkwasserverordnung in hohem Maße gerecht.

Zur Gewinnung dieses Trinkwassers nutzt der Zweckverband neben dem Grundwasser aus dem Donauried, das nordöstlich von Ulm zwischen Langenau und Sontheim an der Brenz liegt, auch Wasser aus dem Tiefenkarst bei Burgberg sowie Karstquellwasser aus der Buchbrunnenquelle im Egautal bei Dischingen und Karstgrundwasser aus dem Blautal bei Blaubeuren.

### Einmalig in Deutschland

Zusätzlich ist es schon seit vielen Jahren notwendig, auch Oberflächenwasser aus der Donau aufzubereiten, um die benötigten Trinkwassermengen ganzjährig, also auch dann, wenn das Grundwasserangebot besonders niedrig

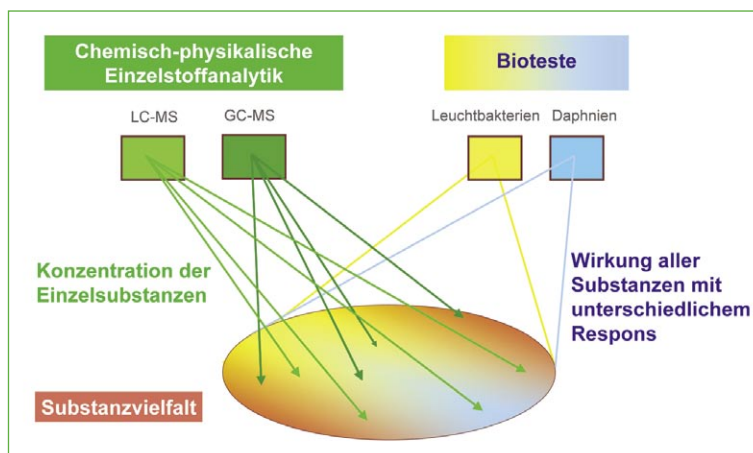
Daphnien – kleine Krebse – sind eine Art der Testorganismen.



ist, störungsfrei vorhalten zu können. Einzigartig in Deutschland entnimmt die LW dabei das Wasser direkt dem Fluss, nicht aus dem Boden des Uferbereichs. Das erfordert natürlich eine schnelle Analytik, mit der sich plötzlich auftretende Verunreinigungen zeitnah und sicher erkennen lassen. Im Falle

des Donaurohwassers, welches im Wasserwerk Langenau über mehrere Stufen zu Trinkwasser aufbereitet wird, erlaubt die von der LW eingesetzte, ausgefeilte Analytik, dieses noch vor Erreichen des Wasserwerks zu bewerten. Das Rohwasser benötigt von der Entnahmestelle an der Donau bis in das Wasserwerk ca. vier bis fünf Stunden.

In der Routine werden die Rohwasserressourcen auf unterschiedliche relevante Verbindungen gezielt untersucht (Targetanalytik, Einzelstoffanalytik; siehe dazu die

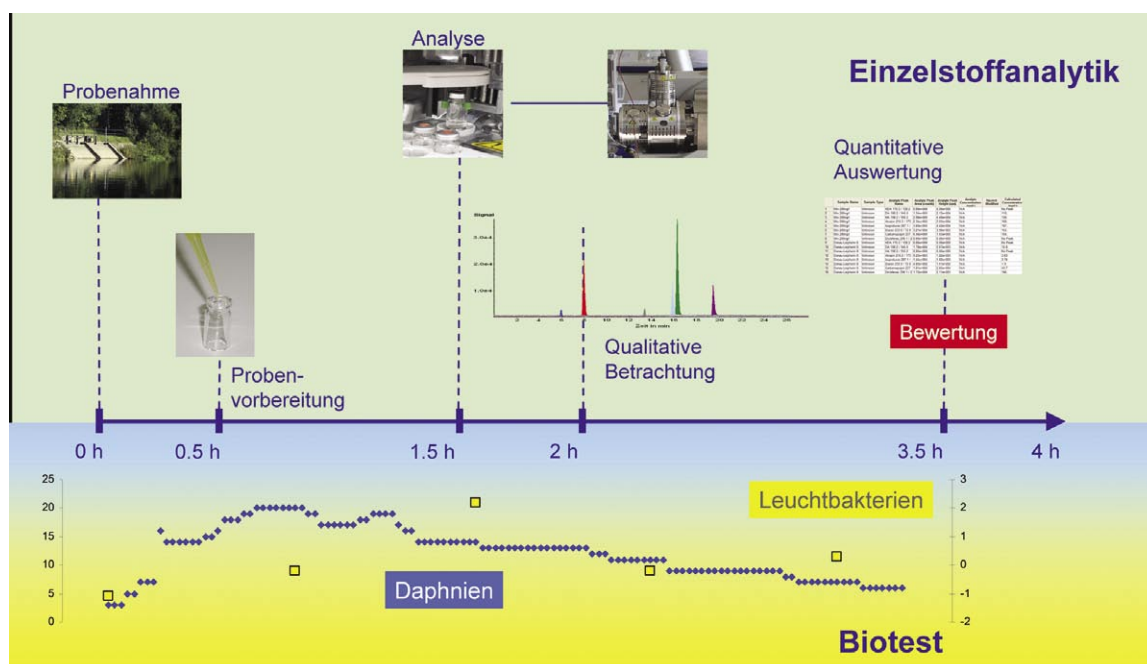


Einzelstoffanalytik gegenüber Biotest: Die mögliche Substanzvielfalt, die in einem Rohwasser vorliegen kann, ist durch die Ellipse verdeutlicht. Die chemisch-physikalische Einzelstoffanalytik beispielsweise die LC-MS detektiert nur die ausgewählten Substanzen hier durch die Pfeile dargestellt. Im Gegensatz dazu erfassen die Biotest-Systeme die Wirkung aller Substanzen wobei die unterschiedliche Respons zu beachten ist; daher verwendet man unterschiedliche Testorganismen.

Seiten 360 bis 363: HPLC-MS/MS in der Wasseranalytik: Anreicherungs-freie LC-MS-Analytik im Ultra-Spuren-Bereich). Ergänzt wird dies durch Messung von Summenparametern beispielsweise SAK, DOC oder AOX. Summenparameter erfassen eine Vielzahl von Substanzen gleichzeitig, sind aber in der Bewertung von Veränderungen schwierig.

### Biotestsysteme als Ergänzung

Hier stellen Biotestsysteme eine hilfreiche Ergänzung dar, da durch die Reaktion eines Testorganismus



Prinzip der zeitnahen Donau-überwachung mit Einzelstoffanalytik und Biotests.



Entnahmebauwerk bei Leipheim an der Donau.

nicht allein die Anwesenheit einer Verbindung angezeigt wird sondern zudem noch seine Wirkung. Schon seit 1982 gibt es eine DIN-Norm zur Bestimmung der Wirkung von Wasserinhaltsstoffen auf Kleinkrebse, den Daphnien-Kurzzeittest. Erst seit wenigen Jahren hat man eine Norm für den Leuchtbakterientest herausgegeben, die Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri*. Da die Testorganismen unterschiedlich auf Substanzen reagieren haben sie unterschiedliche Empfindlichkeiten und Antwortzeiten. So beträgt die mittlere effektive Wirk-Konzentration ( $EC_{50}$ ) von Benzol auf Daphnien 1050 Milli-

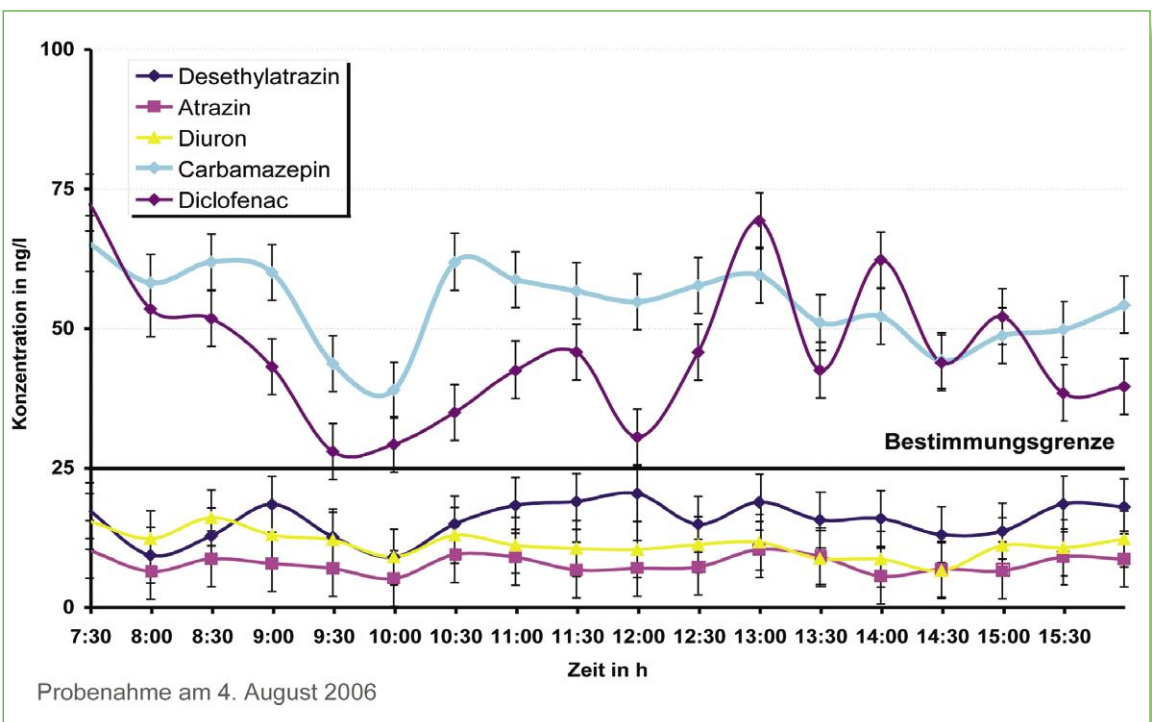
gramm pro Liter, die auf Leuchtbakterien nur 70 Milligramm pro Liter. Zudem erfolgt die Reaktion hier nach 30 Minuten statt nach 24 Stunden wie bei den Kleinkrebsen. Anders bei Acrylnitril: Hier beträgt die  $EC_{50}$  von Daphnien nur 0,78 bis elf Mikrogramm pro Liter Wasser; bei den Leuchtbakterien beträgt sie 3900 Milligramm pro Liter. Allerdings reagieren die Bakterien dann in fünf Minuten; die Reaktion der Kleinkrebse lässt zwei Tage auf sich warten.

### Schnelle Massenspektrometrie

Ergänzend zur chemisch und physikalischen Online-Überwachung der Wasseraufbereitung und -Verteilung bietet die schnelle Analytik mittels Flüssigkeitschromatographie und tandem-massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS) die Möglichkeit einer schnellen und zuverlässigen Möglichkeit gezielt organische Spurenstoffe bereits im Rohwasser zu untersuchen. Hierbei ist insbesondere die schnelle Reaktionsfähigkeit hervorzuheben, da im Unterschied zur klassischen Analytik von Spurenstoffen nach Anreicherung bereits innerhalb weniger Stunden die Analysenresultate ermittelt werden können.

Da es sich um ein anreicherungs-freies Verfahren handelt, werden für eine Analyse lediglich wenige Milliliter Wasserprobe benötigt. Diese können nach der Probenahme und dem Transport in das Labor nach einer Filtration über  $0,45 \mu\text{m}$  direkt in das Analysensystem injiziert werden, wobei das Injektionsvolumen hierbei  $100 \mu\text{L}$  beträgt. Die injizierten Probenbestandteile werden unter Verwendung eines Gradienten aus Wasser und Methanol sowie einem Zusatz von Ammoniumacetat als Ionisationshilfsmittel mit Hilfe einer Umkehrphasen-Trennsäule (Phenomenex Synergi Fusion RP 80 A,  $4 \mu\text{m}$ ,  $50 \times 2.0 \text{ mm}$ ) chromatographiert. Die zu untersuchenden Substanzen werden nach flüssigchromatographischer Trennung (Agilent Technologies 1100 Series) unter Verwendung einer Elektrospray-Ionenquelle in ein Triple-Quadrupol-Massenspektrometer (Applied Biosystems/MDS Sciex API 4000 Qtrap) transferiert und dadurch hochempfindlich und hochselektiv detektiert.

Die Nachweisgrenzen des direkten Verfahrens liegen für die untersuchten Stoffe im Bereich von  $10 - 25 \text{ ng/L}$  und sind somit ausreichend um selbst geringste Spuren sicher



Donauüberwachung: Tagesverlauf am 4. August 2006.

erfassen zu können. Durch den Verzicht auf die sonst übliche Probenanreicherung sind Analysenzeiten von ca. 2 – 3 Stunden inklusive Probenahme und Transport, minimaler Probenvorbereitung, Kalibrierung sowie qualitativer und quantitativer Auswertung realisierbar.

### Wasseraufbereitung: Trinkwasser aus der Donau

In einem mehrstufigen Verfahren wird das bei Leipeim aus der Donau entnommene Flusswasser zu Trinkwasser aufbereitet. Das Grundwasser aus dem Donauried und aus den Tiefbrunnen bei Burgberg kann aufgrund seiner guten Qualität direkt als Trinkwasser abgegeben werden, nur ein Teilstrom wird in einer Entcarbonisierungsanlage enthärtet.

Das im Wasserwerk Langenau bereitgestellte Trinkwasser – nach nur fünf Baujahren 1973 in Betrieb genommen – wird in die auf der Hochfläche der Schwäbischen Alb gelegenen Scheitelbehälter Amstetten und Osterbuch gepumpt. Von dort fließt es ohne weiteren Energieeinsatz über das Fils- bzw. das Remstal bis in den mittleren Neckarraum. Es liefert ca. 65 Millionen Kubikmeter Trinkwasser pro Jahr – davon ca. 30 Millionen Kubikmeter aufbereitetes Donauwasser – und ist so ein strategischer Pfeiler der LW.

Die Anlagen zur Gewinnung von Trinkwasser aus dem Flusswasser der Donau bestehen im Einzelnen aus einem Rohwasserpumpwerk, welches das Wasser direkt dem Fluss entnimmt, einer Druckleitung vom Pumpwerk zum Wasserwerk Langenau und den Aufbereitungsanlagen im Wasserwerk. In Spitzenzeiten können bis zu 2300 Liter Donauwasser pro Sekunde zu Trinkwasser aufbereitet werden.

Das Verfahren zur Trinkwassergewinnung aus der Donau wurde in langjährigen Versuchen erforscht und optimiert. Es besteht im Wesentlichen aus den folgenden Verfahrensschritten:

1. Vorreinigungsanlage (Kompaktflockungsanlage) zur Entfernung von Trüb- und Huminstoffen aus dem Flusswasser

Atrazin	Chlorsulfuron	Sebutylazin
Desethylatrazin	Iodosulfuron-methyl	Simazin
Desisopropylatrazin	Metsulfuron-methyl	Terbutylazin
Hydroxyatrazin	Nicosulfuron	Terbutryn
Hydroxydesethylatrazin	Primisulfuron-methyl	Simetryn
Simazin	Prosulfuron	Prometryn
Chlortoluron	Thifensulfuron-methyl	Simeton
Diuron	Triasulfuron	2,4-DB
Isoproturon	Triflursulfuron-methyl	2,4-D
Linuron	Hexazinon	2,4-DP
Methabenzthiazuron	Metazachlor	Bromoxynil
Metobromuron	Metamitron	loxynil
Metoxuron	Chloridazon	MCPA
Monolinuron	Carbamazepin	Mecoprop
Amidosulfuron	Diclofenac	Dicamba
Bensulfuron-methyl	Propazin	Atraton

2. Bioreaktor zur bedarfsweisen Entfernung von Ammonium
3. Ozonanlage zur oxidativen Entfernung von Geschmacks- und Geruchsstoffen und zur Desinfektion des Wassers
4. Flockungsfiltration über Zweischichtfilter (Hydroanthrazit, Sand) zur Entfernung der verbliebenen Schwebstoffe
5. Aktivkohlefilteranlage zur Entfernung von organischen Schadstoffen in geringsten Konzentrationen
6. Desinfektion des Trinkwassers mit Chlordioxid zur Vermeidung der Gefahr einer Wiederverkeimung des Trinkwassers auf dem Weg zum Kunden.

Ein großer Teil des abgegebenen Trinkwassers wird nicht als Lebensmittel, sondern als Brauchwasser für die verschiedensten Zwecke verwendet. Dabei spielt die Wasserhärte bei der Erwärmung des Wassers wegen der zumeist unerwünschten Ablagerungsprozesse oder bei der Dosierung von Waschmitteln eine große Rolle.

Dieses Verbraucherverhalten und die wirtschaftlichen und ökologischen Vorteile einer zentralen Trinkwasserenthärtung gegenüber den vielen kleinen privaten Enthärtungsanlagen haben zu dem Entschluss geführt, sowohl im Wasserwerk Langenau als auch im Egauwasserwerk eine zentrale Entcarbonisierungsanlage zu bauen.

Die Anlagen wurden in Langenau im Jahr 1989 und im Egauwasserwerk im Jahr 1995 in Betrieb genommen.

Das von der Landeswasserversorgung entwickelte Verfahren zur Trinkwasserenthärtung zeichnet sich dadurch aus, dass ein Teil des härtebildenden gelösten Kalkes  $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$  durch die Zugabe von gelöschtem Kalk  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  ausgeflockt, abgesetzt und dann entfernt wird. Damit ist gewährleistet, dass die durch den Kalk bedingte Wasserhärte (Carbonathärte) reduziert wird, die natürliche Zusammensetzung der vielen anderen Wasserinhaltsstoffe jedoch nicht beeinflusst wird.

Dank der beiden Anlagen ist es möglich, das im Donauried entnommene Grundwasser um 8,5°dH und das im Egauwasserwerk entnommene Quellwasser um 5°dH zu enthärten und als Trinkwasser mit jeweils 13,5°dH an die Verbraucher abzugeben. Dadurch wurde es möglich, im gesamten Versorgungsgebiet der Hauptleitungen 1, 2 und 3 Trinkwasser des Härtebereiches 2, also „weiches“ Wasser bereitzustellen.

Bei der Grundwasserenthärtung fallen täglich ca. 50 Tonnen Kalkschlamm als Trockensubstanz an; er ist hochrein. Er wird zum überwiegenden Teil als wertvoller Rohstoff an die Papierindustrie verkauft. Der Verkaufserlös deckt die Betriebskosten.

CLB

Eine Auswahl von Pestiziden und Arzneimitteln, die in der Wasseranalytik erfasst werden können.

# Von der univariaten zur multivariaten Datenanalyse (Teil 1)

Dirk Flottmann, Alexander Müller, Aalen, Wolfgang Schulz, Langenau

In den letzten Jahren gewinnt die statistische Datenanalyse in der Analytik und in großen Teilen der industriellen Praxis immer weiter an Bedeutung. Die modernen instrumentellen analytischen Methoden, beispielsweise induktiv gekoppeltes Plasma mit Massenspektrometer (ICP-MS) oder Flüssigchromatographie mit massenspektrometrischer Detektion (LC-MS), liefern in kurzer Zeit große Datenmengen. Abhängig von der Fragestellung können diese Datenmengen meist nicht mehr durch deren Einzelbetrachtung ausreichend bewertet und interpretiert werden. Hierbei kann eine Auswertung mittels statistischer Datenanalyse helfen Zusammenhänge zwischen den einzelnen Parametern überhaupt zu erkennen. Die Möglichkeiten der statistischen Datenanalyse (Hauptkomponentenanalyse, Versuchsplanung und andere) sollen in den folgenden Teilen erläutert und an Beispielen aufgezeigt werden. Unser Ziel ist es den Leser neugierig für diese statistischen Methoden zu machen. Am Ende des dritten Teils befindet sich ein ausführliches Literaturverzeichnis.

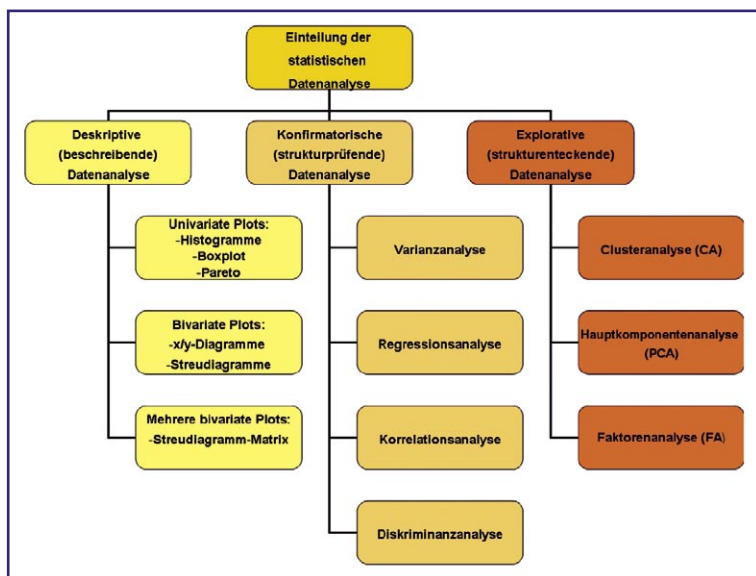


Abbildung 1: Übersicht über die statistischen Methoden der Datenanalyse.

Die statistische Datenanalyse kann in folgende drei Gruppen eingeteilt werden (Abbildung 1):

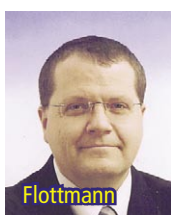
- deskriptive (beschreibende) Datenanalyse
- konfirmatorische (strukturprüfende) Datenanalyse
- explorative (strukturentdeckende) Datenanalyse

Bei der univariaten deskriptiven Datenanalyse erfolgt eine Darstellung der Zielvariablen in Abhängigkeit **einer** Variablen, bei der bivariaten in Abhängigkeit von **zwei** Variablen. Hingegen handelt es sich bei der konfirmatorischen und explorativen Datenanalyse überwiegend um den multivariaten Fall, das heißt der Einfluss von mindestens drei Variablen auf Zielvariablen wird untersucht.

In Teil 1 dieser Übersicht wird auf die univariate und bivariate deskriptive Datenanalyse eingegangen. Neben der Beschreibung der einzelnen Darstellungsformen werden auch Anwendungsbeispiele vorgestellt. Die konfirmatorische und explorative Datenanalyse wird in den Teilen zwei und drei näher erläutert.

## Deskriptive Datenanalyse

Jede angewendete statistische Datenanalyse fängt in der Regel mit der deskriptiven Statistik an. Abbildung 2 zeigt die unterschiedlichen Darstellungsformen von Analysedaten für eine univariate und bivariate Betrachtung. Neben den Beschreibungen und Erklärungen der einzelnen Darstellungsformen wird im Folgenden auch deren Anwendungsbereich erläutert.



Flottmann



Müller



Schulz

### Die Autoren

**Prof. Dr. Dirk Flottmann**, Jahrgang 1965: Studium der Chemie an der Universität Bielefeld, 1995-2002 Wacker Chemie GmbH/Burghausen und Wacker Siltronic AG/Singapur. Seit April 2002 arbeitet er im Fachbereich Chemie der FH Aalen im Studienschwerpunkt Analytische Chemie. Sein Forschungsinteresse liegt auf dem Gebiet der Elementanalytik, der Spurenanalytik und neuartiger Trennverfahren.

**Dipl.-Ing. Alexander Müller**, Jahrgang 1980, absolvierte ein Chemiestudium an der Hochschule Aalen, spezialisierte sich in Analytik.

**Dr. Wolfgang Schulz** arbeitete nach abgeschlossenem Chemiestudium an der Hochschule Aalen und anschließendem Studium der Physik an der Universität Stuttgart seit 1988 im Umweltlabor der wave GmbH in Stuttgart als technischer Laborleiter. Dr. Schulz promovierte an der Universität Lüneburg im Fachbereich Umweltwissenschaften und ist seit 2005 im Betriebs- und Forschungslaboratorium der LW als Laborleiter tätig.

Hierbei wird nur eine Eigenschaft des Merkmalsträgers (zum Beispiel Elementgehalt von Schlacken unterschiedlicher Herkunft) erfasst. Die Datenmengen werden auf Punkte wie Mittelwert, Standardabweichung, Verteilungen oder Streuungen untersucht. In Tabelle 1 sind die verschiedenen Lage- und Streumaße zur Beschreibung einer Verteilung zusammengestellt.

**Box-Plot**

Für die Auswertung von Messwerten mittels eines Box-Plots müssen die Daten, wie in Abbildung 3 dargestellt, umgeformt werden. Die Daten der Urliste werden der Größe nach in eine Rangliste übertragen. Der Median liegt genau in der Mitte der Messwerte der Rangliste und ist das 2. Quartil. Im Box-Plot wird er als Strich dargestellt. Er entspricht nur bei der Normalverteilung der Messwerte dem arithmetischen Mittelwert. Der arithmetische Mittelwert wird meist durch einen Punkt dargestellt. Der Interquartilbereich (Interquartile Range Abkürzung IQR oder dq) reicht vom 1. Quartil bis zum 3. Quartil und schließt 50 % der Messwerte ein, je 25 % rechts und links vom Median. Die eigentliche Box umschließt die Ranglistenwerte zwischen 25 % und 75 % der Gesamtanzahl von Messwerten. An diese sind die so genannten Whisker angebracht. Die Länge der Whisker berechnet sich im Allgemeinen aus der 1,5-fachen Spannweite des Interquartilbereichs. Bei der Darstellung des Box-Plots wird der obere und untere Whisker nur bis zum letzten Messwert innerhalb dieser 1,5-fachen Spannweite dargestellt. Daraus resultiert bei der Darstellung des Box-Plots die meist unterschiedliche Länge der beiden Whisker (Abbildung 3). Alle Messwerte, die außerhalb der Spannweite der Whisker liegen, werden als Ausreißer einzeln angezeigt.

In Abbildung 3 ist sowohl die Verteilung von Messwerten auf dem Zahlenstrahl und als Box-Plot dargestellt. Eine asymmetrische Verteilung ist bei beiden Darstellungsformen deutlich erkennbar. Beim Box-Plot ist dies durch die Verschiebung des Medians nach rechts angezeigt. Bei dieser Darstellungsform werden aber noch zusätzlich die Spannweite der Messwerte innerhalb der Whisker und die darüber hinaus liegenden Ausreißer angezeigt.

**Darstellung von Verteilungen mittels eines Boxplots**

Die Normalverteilung beschreibt die Wahrscheinlichkeitsverteilung bei Versuchsanzahl  $n \rightarrow \infty$ . Jedoch bei kleinen Stichprobenmengen  $n$  liegen die reale Messwerte meist nicht normal verteilt vor. Für die Beschreibung einer Verteilung von Messwerten sind folgende Kennwerte besonders wichtig:

**arithmetischer Mittelwert** :  $\bar{x} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i$

$N$  = Stichprobenumfang

$x_i$  = Merkmalsausprägung am  $i$ -ten Element der Stichprobe

**Standardabweichung** :  $s_x = \sqrt{\frac{1}{(N-1)} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}$

**Range = Spannweite = R** =  $x_{\max} - x_{\min}$

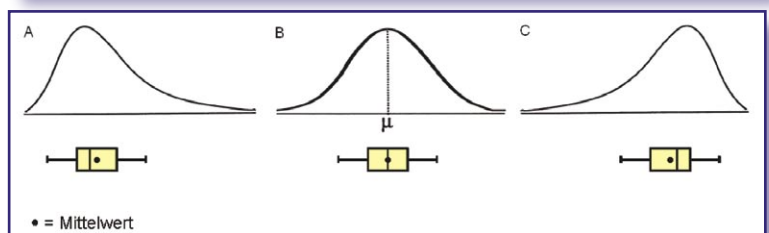
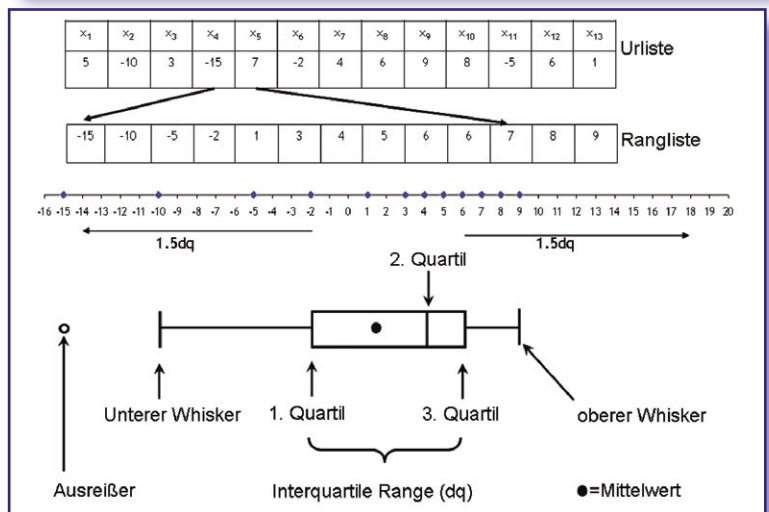
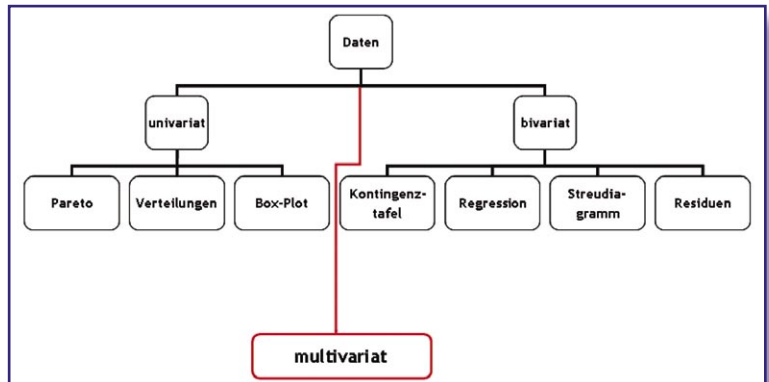
Bei dem Modalwert (Mo) handelt es sich um den häufigsten gefundenen Wert, dieser stellt den Hochpunkt der Verteilung dar.

Abbildung 4 zeigt den Zusammenhang zwischen der Verteilung und der Position des Medians im Box-Plot. Liegt eine positiv oder negativ schiefe Verteilung (A und C) vor, so verschiebt sich der Median vom Mittelwert in Richtung des Modalwertes. Nur bei einer Normalverteilung der Messwerte ist der Median gleichzeitig auch der arithmetische Mittelwert. Auch bei schiefen Verteilungen von Messwerten ist der Box-Plot eine geeignete Darstellung.

Von oben nach unten: Abbildung 2: Möglichkeiten der Darstellungsformen von Daten in Abhängigkeit von Variablen.

Abbildung 3: Von den Rohdaten zum Box-Plot.

Abbildung 4: Verteilungen mit den entsprechenden Boxplots.



lungsform für wichtige Eigenschaften von Verteilungen, wie zum Beispiel Mittelwert, Median, Spannweite und Schiefe.

Anwendungsbeispiele

In Abbildung 5 ist der Box-Plot für den Gehalt an Kalium und Calcium in 590 untersuchten Schlackeproben dargestellt. Der Vergleich zeigt zum einen den wesentlichen größeren Streubereich der Calciumgehalte (deutlich größere Box) verglichen mit den Kaliumgehalten und zum andern das Auftreten von mehreren Ausreißern beim Kaliumgehalt (Messwerte außerhalb der Whiskers als Kreise dargestellt). Die mit Stern dargestellten Messwerte in Abbildung 5 sind so genannte Extremwerte, die mehr als das dreifache des Interquartil range entfernt sind.

Für 90 auf K und Ca untersuchte Wasserproben ist der Box-Plot in Abbildung 6 dargestellt. Aufgrund der großen

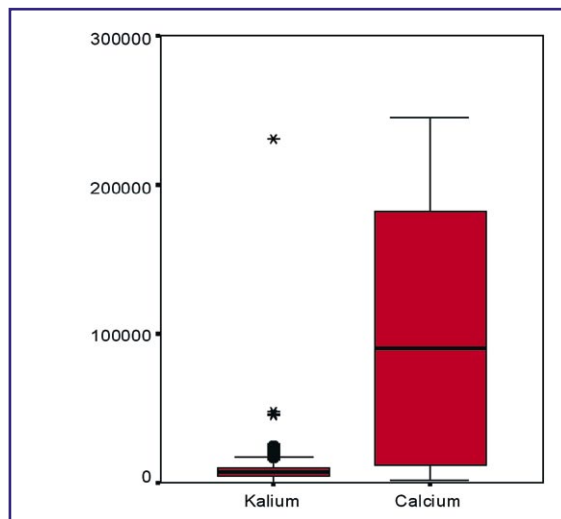


Abbildung 5: Box-Plot von K und Ca in Schlackeproben (N = 590).

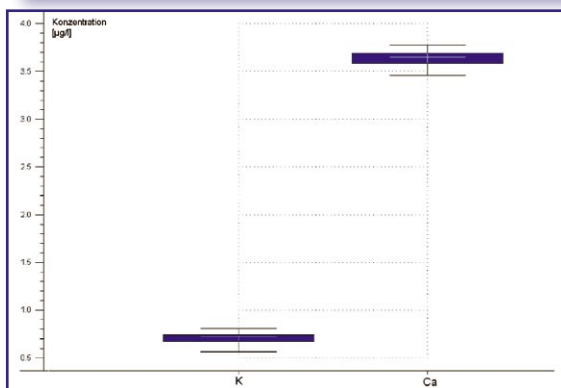


Abbildung 6: Box-Plot von K und Ca in Wasserproben (N = 90).

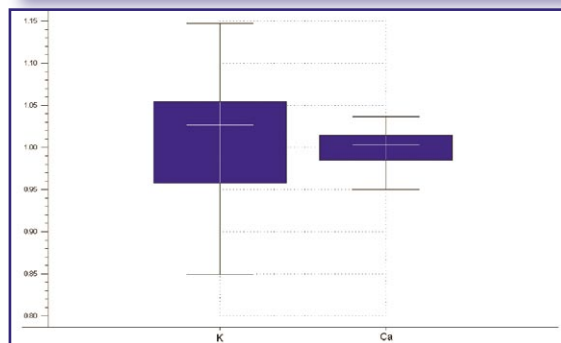


Abbildung 7: Relative Messwerte von K und Ca.

Konzentrationsunterschiede der beiden Ionen ist ein Vergleich der beiden Messreihen nur unzureichend möglich. Deshalb ist eine Art Normierung der Messwerte erforderlich.

Normierung von Daten

Eine Möglichkeit der Normierung ist die Division aller Messwerte durch den Mittelwert. Diese Werte sind dimensionslos. In Abbildung 7 sind die so normierten K und Ca Konzentrationen aus Abbildung 6 dargestellt. Der Mittelwert für beide Ionen liegt infolge dieser Normierung bei eins (siehe Abbildung 7). Die Streuung der normierten Messwerte von K sind deutlich größer als die von Ca.

Bei Analyseergebnissen (Merkmalwerte, Beobachtungswerte) für verschiedene Proben (Objekte) können große Zahlenunterschiede aufgrund unterschiedlicher Einheiten ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,  $\text{mg}/\text{kg}$ , %,  $\text{mg}/\text{L}$ ,  $\mu\text{g}/\text{L}$ , pH) auftreten. Zur Angleichung dieser unterschiedlichen Skalierungen für die Variablen ist eine **Standardisierung** des Datensatzes erforderlich. Eine Standardisierung erfolgt durch Bildung der Differenzen zum Mittelwert der Beobachtungswerte einer Variablen (Zentrierung) und deren **Skalierung** (Normung, Standardisierung) durch die Standardabweichung der Variablen. Der standardisierte dimensionslose Variablenwert wird mit  $z_i$  (z-score) bezeichnet.

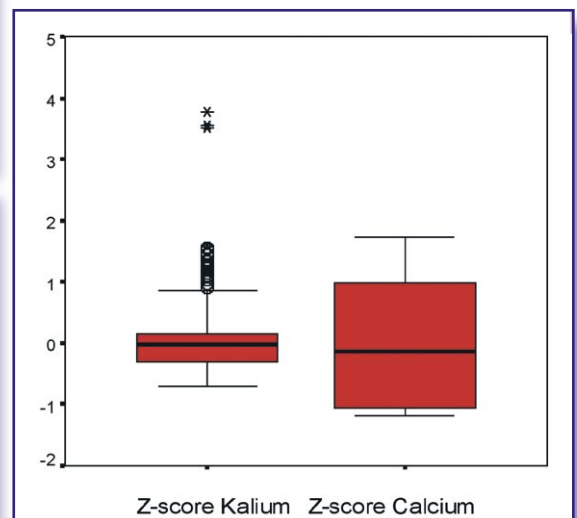
$$z_i = \frac{x_i - \bar{x}}{s}$$

$z_i$  : Standardisierter Beobachtungswert der Variablen

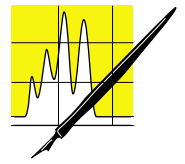
$s$  : Standardabweichung der Variablen

Der Mittelwert  $\bar{z}$  der standardisierten Beobachtungswerte ist Null, und die Standardabweichung  $s(z)$  eins. Dies ist in Abbildung 8 für die K- und Ca-Gehalte von Schlacken durchgeführt.

Abbildung 8: Relative Messwerte von K und Ca.







**AUFSÄTZE**

Bezeichnung	Symbol	Beschreibung	Berechnung
<b>Lagemaße</b>			
Modalwert	Mo	Der häufigste Wert in einer Urliste von Daten	
Median (Zentralwert)	Md	Der Wert einer mindestens ordinalskalierten Variablen, der die Häufigkeitsverteilung in zwei gleiche Hälften teilt. Unempfindlich gegenüber Ausreißern	N Variablenwerte nach Größe sortiert. Bei N ungerade ist Md der (N+1)/2-te Wert. Bei N gerade liegt Md zwischen N/2-ten und dem (N+2)/2-ten Wert.
Arithmetisches Mittel Mittelwert	AM — x	Das gebräuchlichste Maß zur Kennzeichnung der Lage einer Häufigkeitsverteilung von N mindestens intervallskalierten Daten	$\bar{x} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i$
<b>Streuungsmaße</b>			
Variationsbreite Spannweite (range)	R	Differenz von größtem und kleinstem Wert. Wird sehr stark von Extremwerten der Verteilung beeinflusst.	$R = x_{max} - x_{min}$
Perzentile Centil Quantil	$P_{x\%}$	Das x-te Perzentil ist der Wert einer mindestens ordinalskalierten Häufigkeitsverteilung, bei der genau x % aller Werte kleiner und 100 – x Prozent aller Werte größer oder gleich sind. Beispiel: Ca in Schlacke N = 590 (Bild 7) $P_{75} = 183$ g/kg. 75 % (442) aller ermittelten Ca-Werte liegen unter 183 mg/kg und 25 % (148) sind gleich oder größer als 183 mg/kg.	$P_{50} = Md$ $P_{25}, P_{50}, P_{75}$ Quartile $P_{10}, P_{20}, \dots, P_{90}$ Dezile
Varianz und Standardabweichung	$s^2$ s	Im Gegensatz zur Variationsbreite und den Perzentilen werden sämtliche Werte einzeln berücksichtigt.	$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}$ $s = \sqrt{s^2}$
Variationskoeffizient	V	Streuemaß zum Vergleich der Dispersion mindestens intervallskalierter Variablen mit sehr unterschiedlichem Lagemaß	$V = \frac{s}{\bar{x}}$ ( $\bar{x} > 0$ )
Standardfehler des Mittelwertes			$s_m = \frac{s}{\sqrt{n}}$

Tabelle 1: Zusammenstellung von Lage- und Streumaßen einer Verteilung.

**Boxplot als Regelkarte**

Aus den Regelkarten nach Shewhart können neben den natürlichen auch die unnatürlichen Schwankungen von Messwerten abgelesen werden (Abbildung 9). Die natürliche Streuung ist zufällig und konstant, dies macht die Datenanalyse berechenbar und vorhersagbar. Die unnatürliche Streuung wird beispielsweise durch Alterungsprozesse hervorgerufen und macht die Analyse unvorhersagbar und unkontrolliert.

Für die Erstellung einer Regelkarte werden 20 bis maximal 30 Stichproben benötigt. Hieraus werden der benötigte Mittelwert (Zentrallinie M) und die oberen und unteren Warn- und Eingriffsgrenzen berechnet.

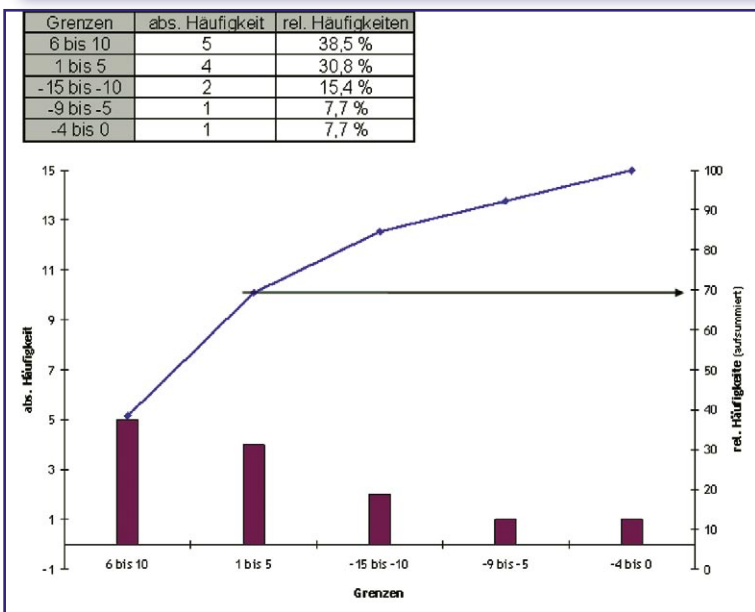
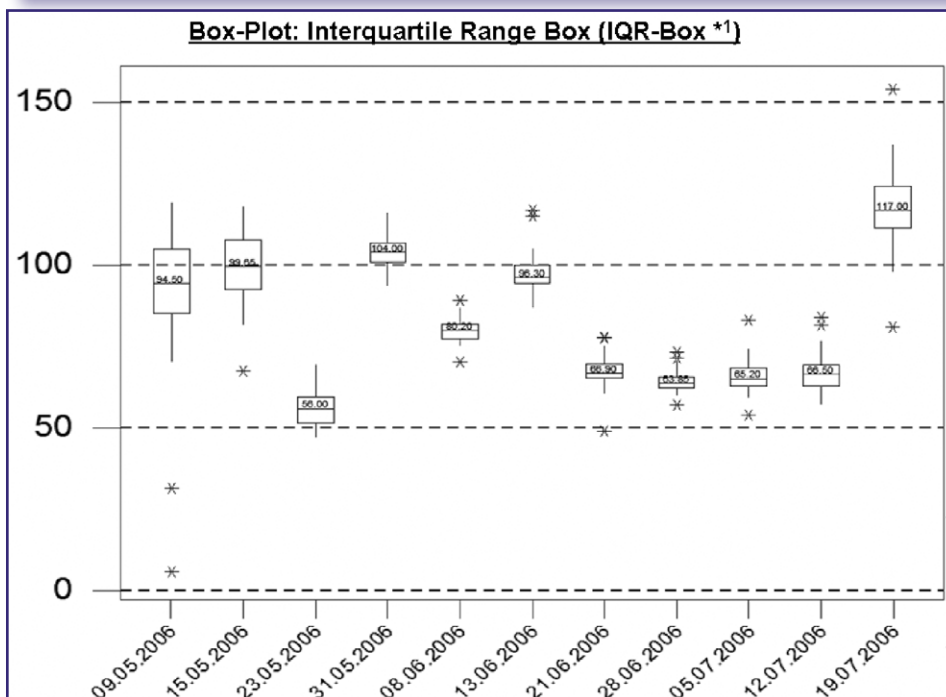
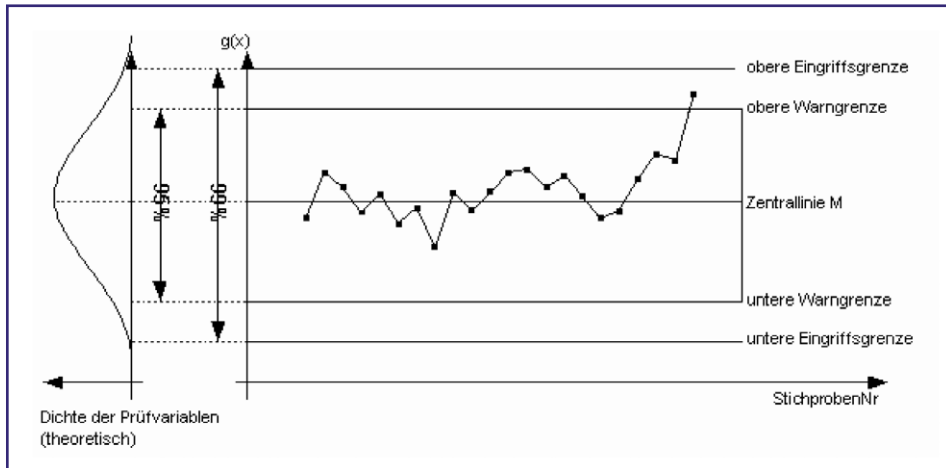
Eine derartige Regelkarte wird in der Qualitätssicherung von Analysenverfahren häufig eingesetzt. Bei der Bestimmung

von Pestizidrückständen in Lebensmitteln wird als Messgröße für die Regelkarte die Wiederfindungsrate eines internen Standards herangezogen. Werden täglich eine Vielzahl unterschiedlicher Matrices (Äpfel, Salat, Tomaten, Melonen, Trauben u.a.) untersucht, so kann für jede Matrix getrennt eine entsprechende Regelkarte geführt werden, oder man trägt die Wiederfindung über alle Matrices als Box-Plot in die Regelkarte ein. Abbildung 10 zeigt eine derartige Regelkarte. Anhand der Box-Größe (IQR) und den Ausreißern sind Probleme der Probenaufbereitung und Messung sofort zu erkennen.

**Pareto-Diagramm**

Das Pareto-Diagramm ist eine andere Darstellungsform für univariate Daten. Die Gausverteilung wird in Segmente

Von oben nach unten: Abbildung 9: Beispiel einer Regelkarte. Abbildung 10: Regelkarte mittels Box-Plot. Abbildung 11: Beispiel für ein Pareto-Diagramm einer Verteilung.



(Intervalle) eingeteilt. Pro Segment wird die Anzahl der Datenpunkte bestimmt. Anschließend wird nach der absoluten Häufigkeit der entsprechenden Segmente sortiert. Darüber hinaus wird die Summenkurve der absoluten Häufigkeit in das Diagramm eingetragen. Auch aus dieser Darstellung kann leicht entnommen werden, wie viele Segmente zu wie viel Prozent der Messdaten beitragen. Diese Darstellungsform wird weiter bei der multivariaten Datenanalyse an Bedeutung gewinnen.

Bivariate Datenanalyse

Bei der bivariaten Datenanalyse werden **zwei** Eigenschaften pro Merkmalsträger erfasst. Dadurch können sowohl Informationen über die Daten durch univariate Datenanalyse der Einzeleigenschaften als auch Informationen über die Zusammenhänge der beiden untersuchten Eigenschaften gewonnen werden.

Bivariate Datensätze lassen sich sehr gut mittels der Kontingenztafel darstellen. Hierbei werden Ausprägungen ( $f = 1, \dots, F$ ) der ersten Merkmals-eigenschaft in die erste Spalte eingetragen und die Ausprägungen ( $g = 1, \dots, G$ ) der zweiten Merkmals-eigenschaft in die erste Zeile (Abbildung 12). In die Tabelle werden nun die ermittelten Daten als absolute Häufigkeit eingetragen. Die Randsummen (Zeilen- und Spaltensumme) zeigen jeweils die Gesamtzahl der Beobachtungen einer einzelnen Merkmalsausprägung an.

Die Kontingenztafel dient dazu, Daten tabellarisch darzustellen und mögliche Zusammenhänge zwischen den untersuchten Eigenschaften zu erkennen.

Bivariate Daten können auch grafisch als Streudiagramm abgebildet werden. Hierbei wird je eine Merkmalsvariable als x-Achse und die andere als y-Achse abgetragen.

In Abbildung 13 ist eine Prozessausbeute gegen die Temperatur dargestellt. Der Prozess des Hersteller B besitzt bei jeder Temperatur die höhere Ausbeute.

Für Bivariate Datensätze können neben den bereits beschriebenen Darstellungsformen auch verschiedene Modelle der Regression als strukturprüfende Datenanalyse berechnet werden. Die folgenden drei Modelle sind von großer Bedeutung:

- Lineare Regression
- Polynomische Regression
- Logarithmische Regression

Da die Berechnung der verschiedenen Regressionsmodelle im Prinzip gleich erfolgt, wird exemplarisch die Ermittlung einer linearen Regression durchgeführt.

Bevor mit der Berechnung des Regressionsmodells begonnen werden kann, muss als erstes je eine Merkmalsvariable als abhängige und unabhängige Variable definiert werden. Abbildung 14 zeigt die Abhängigkeit der Regressionsgeraden bei unterschiedlicher Definition der abhängigen und unabhängigen Variablen für den gleichen Datensatz. Die beiden Geradengleichungen lassen sich nicht nach der anderen Variablen auflösen, um diese zu berechnen.

Für die Ermittlung der Regressionsgeraden wird als erstes die lineare Regressionsfunktion nach folgender Form für den bivariaten Fall abgeschätzt:

$$\hat{y} = b_0 + b_1 \cdot x_k$$

- $\hat{y}$  = Schätzung der abhängigen Variablen
- $b_0$  = konstantes Glied (y-Achsenabschnitt)
- $b_1$  = Regressionskoeffizient
- $x_k$  = unabhängige Variable (k = 1, 2, ..., K)

Es gilt:  $b_1 = \frac{\Delta \hat{Y}}{\Delta X}$

Ziel der Datenanalyse ist es, eine lineare Regressionsfunktion zu finden, für die die Abweichungen der Messwerte von der Geraden möglichst klein sind. Um die Abweichungen zu minimieren wird die Methode der kleinsten Quadrate angewandt:

$$\sum_{k=1}^K e_k^2 = \sum_{k=1}^K [y_k - (b_0 + b_1 \cdot x_k)]^2 \rightarrow \min!$$

$$b_1 = \frac{K \cdot (\sum x_k \cdot y_k) - (\sum x_k) \cdot (\sum y_k)}{K \cdot (\sum x_k^2) - (\sum x_k)^2}$$

mit

Die Residualgröße  $e_k$  (=Abweichungen der einzelnen Messwerte) wird wie folgt berechnet:

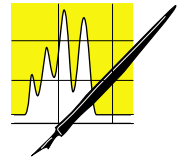
$$e_k = y_k - \hat{y}_k$$

- $\hat{y}_k$  = ermittelter Schätzwert von y für  $x_k$
- $y_k$  = Messwert

Nach der Bestimmung der Regressionsfunktion muss diese noch mittels Bestimmtheitsmaß oder statischen Tests auf ihre Tauglichkeit überprüft werden. Die Auswertung von Datensätzen mittels der linearen Regression kann für folgende drei Fälle durchgeführt werden:

- **Ursachenanalyse** (Wie stark ist der Einfluss einer Variablen auf die abhängige Variable?)
- **Wirkungsprognose** (Wie verändert sich die abhängige Variable bei Änderungen der unabhängigen Variablen?)
- **Zeitreihenanalyse** (Wie verändert sich die abhängige Variable im Zeitverlauf und somit ceteris paribus auch in der Zukunft?)

CLB



AUFSÄTZE

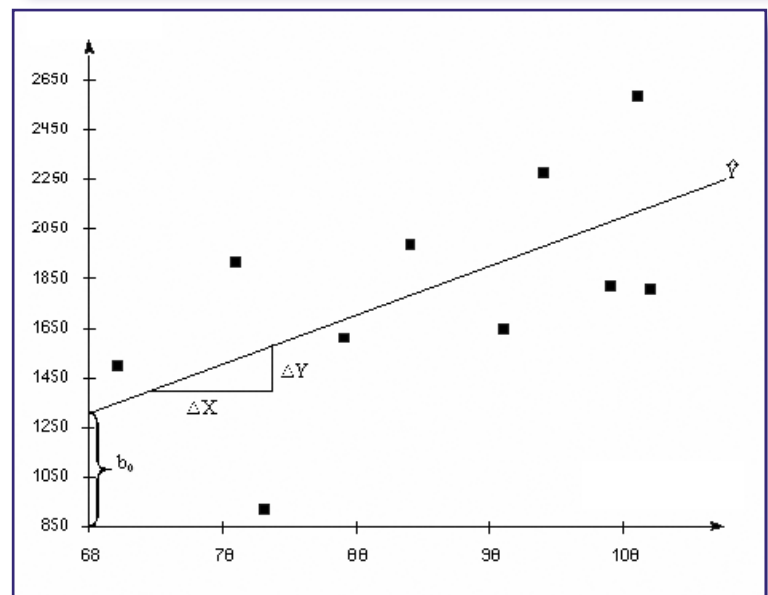
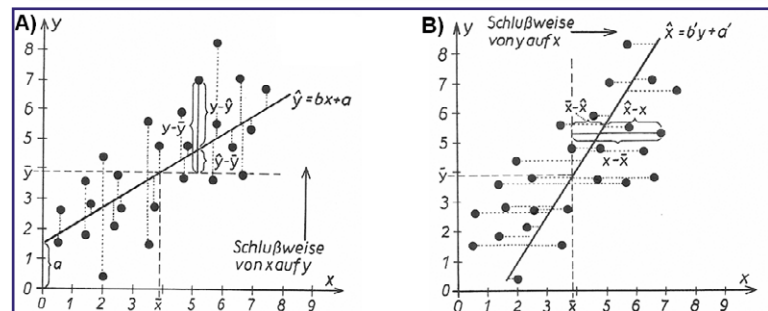
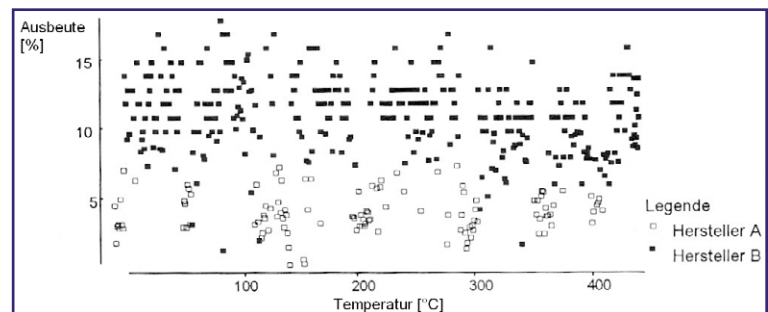
Von oben nach unten: Abbildung 12: Kontingenztafel.

Abbildung 13: Streudiagramm.

Abbildung 14: Einfluss der Wahl der abhängigen und unabhängigen Variablen auf die Regressionsgeraden.

Abbildung 15: Beispieldaten für die lineare Regression.

		Klassen von Y				Zeilen- summe
		B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	...	B <sub>G</sub>	
Klassen von X	A <sub>1</sub>	H <sub>11</sub>	H <sub>12</sub>	...	H <sub>1G</sub>	Z <sub>1</sub>
	A <sub>2</sub>	H <sub>21</sub>	H <sub>22</sub>	...	H <sub>2G</sub>	Z <sub>2</sub>
	...			...		...
	A <sub>F</sub>	H <sub>F1</sub>	H <sub>F2</sub>	...	H <sub>FG</sub>	Z <sub>F</sub>
	Spalten- summe	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	...	S <sub>G</sub>	n



## Mit Automatisierung in die Routine

Michael Petri, Sipplingen

Das Verhalten von Elementen in der Umwelt hängt von ihrer Bindungsform beziehungsweise ihrer Spezies ab. So ist die Oxidationsstufe eines Elementes oder die Bindung in organischen oder anorganischen Komplexen für die Mobilität des Elementes in der Umwelt von entscheidender Bedeutung, das heißt für die Löslichkeit, Adsorption oder Ausfällung und Sedimentation eines Elementes. Ebenso ist die Spezies von großer Wichtigkeit für die Reaktivität und biologische Wirkung eines Elementes in Organismen (Aufnahme, Toxizität, Metabolisierung, Einlagerung, Ausscheidung) [1]. Das Wissen über Elementspezies und deren Kreisläufe in natürlichen Systemen ist immer noch sehr lückenhaft, zumal die Geo- und Biochemie der Elemente oft sehr komplex ist und viele Spezies nur in sehr geringen Konzentrationen vorkommen. Aber erst die Speziesanalytik ermöglicht eine genaue Abschätzung der Risiken von Elementen für Umwelt und Gesundheit. Allerdings bestimmen viele Analysemethoden nur den Gesamtgehalt der Elemente, sind nicht empfindlich genug oder sind aufgrund der notwendigen Probenvorbereitung viel zu aufwendig [1].

Die Kopplung flüssigchromatographischer Verfahren mit der ICP-MS (HPLC-ICP-MS) ist einer der leistungsfähigsten Nachweisverfahren zur Spezifikation vieler biochemisch- und umweltrelevanter Elemente [2]. Allerdings hat eine Speziesanalytik mit der HPLC-ICP-MS bisher selten den Schritt aus dem Forschungslabor einer Universität in die Routineanalytik eines Dienstleistungslabors geschafft. Die Kommunikationsprobleme zwischen zwei selbständigen und hochentwickelten Systemen, das Chromatographiesystem auf der einen Seite und die ICP-MS als Detektor auf der anderen Seite, haben die für Routinelaboratorien wichtige Automation bisher erschwert wenn nicht sogar verhindert. Dabei hat die Kopplung der HPLC mit der ICP-MS aufgrund des großen Leistungsspektrum beider Verfahren große Vorteile: sie verbindet bei geeigneter Auswahl von Trennsäule und Eluenten die hohe Trennleistung der chromatographischen Verfah-

ren mit der massenspezifischen und daher element-spezifischen Detektion der ICP-MS bei gleichzeitig hoher Nachweisstärke.

### Instrumentelles

Im Betriebs- und Forschungslabor des Zweckverbandes Bodensee-Wasserversorgung wird seit einigen Jahren eine automatisierte HPLC-ICP-MS-Kopplung erfolgreich eingesetzt. Die HPLC-ICP-MS-Kopplung besteht aus folgenden Gerätekomponten: ICP-MS ELAN 6100 (Perkin-Elmer/Sciex), Serie 200 Bio LC-Pumpe (Perkin-Elmer), Serie 200 Bio Autosampler (Perkin-Elmer), ELAN- und Chromera-Software (Perkin-Elmer).

Der Auslass der Trennsäule wird mit dem Zerstäuber der ICP-MS einfach über eine PTFE-Kapillare verbunden. Da der Zerstäuber keine Probleme hat mit den Flussraten der chromatographischen Trennung (0,5 bis 1,2 mL/min), kann auf eine komplizierte Interface-Kopplung verzichtet werden. Zur Steigerung der Empfindlichkeit kann statt einem Crossflow-Zerstäuber mit Scott-Sprühkammer ein Meinhard-Zerstäuber mit Cyclon-Sprühkammer eingesetzt werden. Alle Geräte (ICP-MS, Autosampler und HPLC-Pumpe) werden über einen PC mit entsprechender Software gesteuert.

Somit kann die HPLC-ICP-MS als ein automatisiertes Analysensystem zur direkten, schnellen und empfindlichen Bestimmung beispielsweise von Iodid, Iodat, Iodessigsäure, Bromid und Bromat in wässrigen Proben verwendet werden. In iod- und bromhaltigen Oberflächen- und Grundwässern werden bei einer oxidativen Trinkwasseraufbereitung mit Ozon und anschließender Desinfektion mit Chlor neben verschiedenen organischen auch anorganische Desinfektionsnebenprodukte wie Bromat oder Iodat gebildet [3-6]. Da Bromat, das aus Bromid bei einer Trinkwasseraufbereitung mit Ozon entstehen kann, unter Krebsverdacht steht, wird mit der neuen TrinkwV 2001 ab Januar 2003 erstmals ein Grenzwert für Bromat von 25 µg/L eingeführt der am 01.01.2008 auf 10 µg/L abgesenkt wird.

Ohne eine aufwendige Probenaufbereitung oder Aufkonzentrierung liegen, bei einem Injektionsvolumen von 500 µL, die Bestimmungsgrenzen für Iodid, Iodat und Iodessigsäure bei 0,2 µg/L, für Bromat bei 0,5 µg/L und für Bromid bei 1,0 µg/L. Lediglich eine Filtration der Probe über einen 0,45 µm-Spritzenfil-



### Der Autor

Dipl.-Ing (FH) Michael Petri studierte an der Fachhochschule Fresenius in Wiesbaden und absolvierte zusätzlich ein Aufbaustudium zum Fachingenieur für Analytik und Spektroskopie an der Universität Leipzig. Derzeit ist Michael Petri als Laborleiter für die Gruppe „chemische Analytik“ im Betriebs- und Forschungslabor des Zweckverbandes Bodensee-Wasserversorgung tätig.

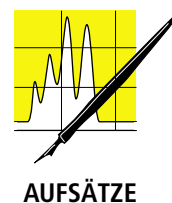
ter ist notwendig, um bei partikelhaltigen Proben das chromatographische System zu schützen. Erhöhte Matrixbelastungen zum Beispiel durch Chlorid oder Sulfat in der wässrigen Probe können zwar die Leistung der chromatographischen Trennung verschlechtern, haben aber nur einen geringen Einfluss auf die Detektion mit der ICP-MS. Ebenso erhöht die massenselektive und dadurch elementspezifische Detektion mit der ICP-MS deutlich die Sicherheit bei der Zuordnung der Analyten, vor allem wenn sich durch die Probenmatrix die Retentionszeiten der Analytionen verändern.

## Ausblick

Mit einer umfassenden Automatisierung der HPLC-ICP-MS-Kopplung wird endlich der Schritt von einer Anwendung in wenigen Forschungslaboratorien zu einer Routineapplikation möglich sein, um damit der HPLC-ICP-MS den Stellenwert in der Analytik zu geben, der ihr gebührt: als eines der leistungsfähigsten Nachweisverfahren zur Elementspezifikation. Die Vielzahl an flüssigchromatographischen Trennverfahren und auch die Möglichkeit zusätzlich zerstörungsfreie Detektoren (zum Beispiel UV/VIS, FLU) zwischen Säulenausgang und Zerstäuber einzubinden, schaffen die Voraussetzung für eine nahezu unerschöpfliche Anzahl von Applikationen und Anwendungsbereichen, wie auch der Einsatz zur Bestimmung von Chrom- (Cr-III, Cr-VI), Arsen- (As-III, As-V), Selen- (Se-IV, Se-VI) oder Eisenspezies (Fe-II, Fe-III) in wässrigen Proben zeigt [7,8].

CLB

- [7] Sacher, F., Raue, B., Klinger, J. und Brauch, H.-J.: Simultaneous determination of Cr(III) and Cr(VI) in ground and drinking waters by IC-ICP-MS. Intern. J. Environ. Anal. Chem. 74, 191-201 (1999).
- [8] Petri, M., Raue, B., Sacher, F. und Brauch, H.-J.: Einsatz der IC-ICP-MS-Kopplung zur Elementspeziation in der Wasseranalytik. Posterbeitrag bei der 71. Jahrestagung der Wasserchemischen Gesellschaft - Fachgruppe der Gesellschaft Deutscher Chemiker in Bad Mergentheim, Kurzreferate Berlin 2005.



AUFsätze

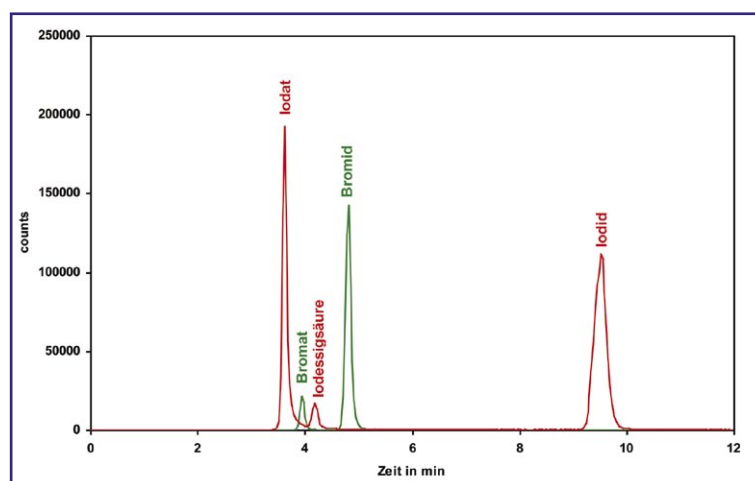


Abbildung 1: ELAN 6100 mit HPLC-Kopplung im Betriebs- und Forschungslabor des Zweckverbands Bodensee-Wasserversorgung.

## Literatur

- [1] Günther, K. und Weber, G.: Elementspeziesanalytik: Ein Überblick, in: Günzler, H. (Hrsg.): Analytiker Taschenbuch Nr. 20, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 71-103 (1998).
- [2] Vanhaecke, F. und Köllensperger, G.: Detection by ICP-Mass Spectrometry, in: Cornells, R., Crews, H., Caruso, J. und Heumann, K.: Handbook of Elemental Speciation: Techniques and Methodology, John Wiley & Sons New York, 281-312 (2003).
- [3] Petri, M., Wilker, M., Stabel, H.-H. und Gilbert, E.: Bildung bromhaltiger Desinfektionsnebenprodukte nach Chlorung von Bodenseewasser in Abhängigkeit von Aufbereitungsschritten und der Bromidkonzentration, Acta hydrochim. hydrobiol. 25, 319-328 (1997).
- [4] Haag, W. R. und Hoigné, J.: Ozonation of Bromide-Containing Waters: Kinetics of Formation of Hypobromous Acid and Bromate, Environ. Sci. Technol. 17, 261-267 (1983).
- [5] Bichsel, Y. und von Gunten, U.: Oxidation of Iodide and Hypoiodous Acid in the Disinfection of Natural Waters, Environ. Sci. Technol. 33, 4040-4045 (1999).
- [6] Sacher, F., Raue, B. und Brauch, H.-J.: Trace-level determination of bromate in drinking water by IC/ICP-MS, in: Fielding, M. und Farrimond, M. (Hrsg.): Disinfection by-products in drinking water. The Royal Society of Chemistry, Cambridge 1999.

Abbildung 2: Chromatogramme der Massen  $m/z$  79 (-) und  $m/z$  127 (-) eines Kalibrierstandards (Iodat 10  $\mu\text{g/L}$ , Bromat 10  $\mu\text{g/L}$ , Iodessigsäure 0,5  $\mu\text{g/L}$ , Bromid 50  $\mu\text{g/L}$  und Iodid 10  $\mu\text{g/L}$ ). Säule: Dionex IonPac AS16HC mit Vorsäule Dionex IonPac AS16GC, Injektionsvolumen 500  $\mu\text{L}$ , Eluent: 35 mmol/L NaOH, Eluentenfluss: 0,9 mL/min.



## Mit HPLC-MS Abbauprodukte erkennen

Wolfram Seitz und Walter H. Weber, Langenau

Die Gruppe der iodierten Röntgenkontrastmittel (RKM) steht seit Mitte der 90er Jahre des vergangenen Jahrhunderts aufgrund ihres Eintrags in die aquatische Umwelt und ihrer dortigen Persistenz in der Diskussion. RKM sind sehr gut wasserlösliche Substanzen, die in der medizinischen Diagnostik zur gezielten Darstellung von Blutgefäßen eingesetzt werden und eine äusserst niedrige Humantoxizität aufweisen. Typische Applikationsmengen liegen im Bereich von einhundert Gramm des jeweiligen Kontrastmittels. Nach der Anwendung werden die RKM innerhalb weniger Stunden über den Urin nahezu vollständig ausgeschieden und gelangen über das Abwasser und die Kläranlagen in die als Vorfluter genutzte Oberflächengewässer. Bei der Abwasserreinigung werden sie nur unvollständig entfernt [1]. Die gefundenen Konzentrationen von RKM und anderen pharmazeutischen Rückständen im ng/L-Bereich werden derzeit als für den Menschen unbedenklich eingestuft. Forschungsbedarf wird jedoch hinsichtlich der Optimierung von Prozessen zur Abwasserreinigung und Trinkwassergewinnung mit dem Ziel einer verbesserten Entfernung von organischen Spurenstoffen gesehen [2]. Bisher nur wenig berücksichtigt wurde dabei die Bildung von Abbau- und Oxidationsprodukten, für deren Erkennung jedoch spezielle analytische Verfahren erforderlich sind.

Gut wasserlösliche organische Spurenstoffe werden heute meist unter Verwendung von HPLC-MS-Verfahren in Wasser nachgewiesen. Für den Nachweis weniger ng/L ist meist ein vorhergehender Anreicherungsschritt erforderlich, der i.d.R. durch eine Festphasen-Extraktion erreicht werden kann. Die hierfür eingesetzten Analysensysteme bestehen aus einem Hochleistungsflüssigkeitschromatographen (HPLC) und einem Massenspektrometer (MS). Aufgrund der größeren Selektivität und Nachweisstärke werden hierfür tandem-massenspektrometrische (MS/MS) Systeme wie Triple-Quadrupole oder Ionenfallen

gegenüber den einfachen massenspektrometrischen Detektoren bevorzugt eingesetzt.

Der Vorteil der Bestimmung von Spurenstoffen durch die Detektion von Massenübergängen (MS/MS), bestehend aus Vorläufer- und Fragmentionen, liegt in der hohen Selektivität und dadurch erhöhten Sicherheit bei der Identifikation der nachzuweisenden Substanzen. Der geringere Signaluntergrund dieses Verfahrens gewährleistet zudem ein verbessertes Signal-zu-Rausch-Verhältnis (S/N) und hierdurch niedrigere Nachweisgrenzen. Die hohe Selektivität des Verfahrens bedingt jedoch im Gegenzug auch, dass nur bestimmte Einzelstoffe detektiert werden können, für die zuvor gezielt eine Bestimmungsmethode entwickelt werden musste. Eine Erkennung von unbekanntem Abbau- oder Oxidationsprodukten ist mit Hilfe dieser MS/MS-Verfahren nicht möglich.

Die iodspezifische Analytik stellt hierzu einen alternativen Ansatz dar. Das Verfahren beruht auf der Detektion der in der Ionenquelle des Massenspektrometers gebildeten negativ geladenen Iodidionen und ermöglicht auf diese Weise unter anderem den Nachweis von iodierten RKM [3]. Im Unterschied zur hochselektiven MS/MS-Detektion kann dabei durch die gezielt verringerte Selektivität des Verfahrens eine Vielzahl verschiedener iodhaltiger Substanzen wie beispielsweise Abbau- oder Oxidationsprodukte der RKM nachgewiesen werden. Es muss jedoch von einem vergleichsweise niedrigeren S/N-Verhältnis ausgegangen werden. Vor kurzem wurde in Analogie zur iodspezifischen Analytik die selektive Detektion von bromorganischen Substanzen mittels HPLC-MS beschrieben [4]. Des Weiteren lässt sich mit Hilfe von ICP-MS-Verfahren (Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry) eine elementspezifische Detektion von iodierten RKM erreichen [5]. Ein Vorteil der iodspezifischen Analytik mittels HPLC-MS ist jedoch die einfache Übertragbarkeit der bestehenden HPLC-Methoden.

Im Folgenden wird der Einsatz der iodspezifischen Analytik am Beispiel der RKM (Abbildung 1) hinsichtlich anreicherungsfreier Bestimmung der Substanzen in Abwasser und der Erfassung von iodhaltigen Abbau- und Oxidationsprodukten sowie der Iodspezies Iodid und Iodat beschrieben.

### Iodspezifische Analytik

Für die chromatographische Trennung der RKM kam eine Umkehrphase (Phenomenex Luna C18(2), 250 x 4,6 mm, 5 µm) und ein Gradient bestehend aus Wasser und Acetonitril mit Zusätzen von Ammoniumformiat und Ameisensäure oder Ammoniumacetat zum Einsatz. Um



Seitz



Weber

#### Die Autoren

**Wolfram Seitz** studierte Chemie an der Hochschule Aalen und promovierte derzeit in Zusammenarbeit mit der University of Surrey (England) im Betriebs- und Forschungslaboratorium des Zweckverbandes Landeswasserversorgung (LW) auf dem Gebiet der Wasseranalytik und Wasserchemie. **Dr. Walter Weber** studierte an den Universitäten Clausthal-Zellerfeld und Stuttgart Chemie sowie Lebensmittelchemie und promovierte anschließend an der Universität Hohenheim in Organischer Chemie. Nach einigen Jahren als Leiter der Zentralen Messabteilung der CVUA Sigmaringen leitet er seit 1990 das Betriebs- und Forschungslaboratorium der LW.

eine ausreichende Retention der sehr polaren RKM zu gewährleisten begann der Gradient mit lediglich 5 % an Acetonitril im Fließmittel.

Das HPLC-System (Agilent Technologies 1100 Series) ist mit einem Triple-Quadrupol-Massenspektrometer (Applied Biosystems/MDS Sciex API 4000 Qtrap) verbunden. Zur iodspezifischen Detektion wurde eine Elektrospray-Ionenquelle im negativen Modus verwendet. Registriert wurden im Single Ion Mode (SIM) die Massenpuren des Iodids ( $m/z = 127$ ) und des Iodats ( $m/z = 175$ ). Die Vorgänge bei der induzierten In-Source-Fragmentierung zur iodspezifischen Detektion der RKM sind in Abbildung 2 schematisch dargestellt.

Neben RKM wurden Iodid und Iodat ebenfalls mittels HPLC-MS detektiert, wobei im Fall des Iodats die Möglichkeit der Messung verschiedener Massenübergänge besteht, die durch mehrmalige Sauerstoffabspaltung erklärt werden können (Vorläuferion:  $m/z = 175$ ; Fragmentationen:  $m/z = 159, 143, 127$ ). Auf diese Weise ist eine hochselektive Messung von Iodat im MS/MS-Modus in Analogie zu vielen organischen Spurenstoffen möglich. Abbildung 3 zeigt ein Chromatogramm der simultanen Analyse von Iodat, Iodid und des nicht-ionischen RKM Iomeprol. Die ionischen Iodspezies Iodid und Iodat konnten selbst auf der verwendeten Umkehrphase chromatographisch getrennt werden, wobei dieses gute Ergebnis unwahrscheinlich erschien, da die Ionenchromatographie für die Trennung von Ionen die Methode der Wahl darstellt.

## Untersuchungsergebnisse

Die iodspezifische Analytik durch negative Elektrospray-Ionisation und anschließender massenspektrometrischer Detektion des Iodids konnte ergänzend zur gezielten Bestimmung der RKM mittels HPLC-MS/MS im positiven Modus eingesetzt werden. Die Untersuchungen wurden im Rahmen eines Pilotvorhabens zur erweiterten Behandlung von biologisch gereinigtem Abwasser mittels Pulveraktivkohle durchgeführt [6]. Eine Anreicherung der Wasserproben war aufgrund der hohen Empfindlichkeit des Massenspektrometers in beiden Fällen nicht erforderlich.

Die gefundenen Konzentrationen können im Zulauf der Kläranlage bis zu  $50 \mu\text{g/L}$  (12h-Mischproben) betragen und werden im Verlauf der konventionellen Abwasserreinigung um 30 bis 70 % reduziert [7]. Die Ergebnisse des Pilotvorhabens machten deutlich, dass eine erweiterte Behandlung mittels Pulveraktivkohle eine zusätzliche Verminderung der Konzentrationen um bis zu 75 % im Fall der RKM ermöglicht.

Der Vergleich der hochselektiven Detektion von iodierten RKM mittels Massenübergängen (Detektionsmodus: Multiple Reaction Monitoring MRM) durch die HPLC-MS/MS-Methode mit der iodspezifischen Detektion in biologisch gereinigtem Abwasser ist in Abbildung 4 dargestellt. Es sind die fünf untersuchten RKM Iopamidol, Iohexol, Iomeprol, Amidotrizoesäure und Iopromid sowie einige Isomere sowohl im hochselektiven MS/MS-

Modus zu erkennen und ebenfalls mittels iodspezifischer Detektion ohne Anreicherung nachweisbar. Des Weiteren können im Chromatogramm der Iodid-Massenspür weitere höchstwahrscheinlich iodhaltige Verbindungen erkannt werden. Beispielsweise könnte es sich hier um Abbauprodukte der RKM handeln, die während der biologischen Reinigung des Abwassers gebildet wurden.

Grundsätzlich kann festgehalten werden, dass hochselektive Verfahren wie die MS/MS-Detektion eine geringere Empfindlichkeit aufweisen als die weniger selektiven Verfahren unter Verwendung von einzelnen Massenpuren. Jedoch ist das für die Nachweisstärke eines Verfahrens ausschlaggebende S/N-Verhältnis bei der MS/MS-Detektion deutlich höher. Grund ist hierfür das äußerst niedrige Grundrauschen. Es zeigte sich, dass beide Verfahren für den Nachweis von RKM im unteren  $\mu\text{g/L}$ -Bereich geeignet sind. Die Nachweisgrenzen der

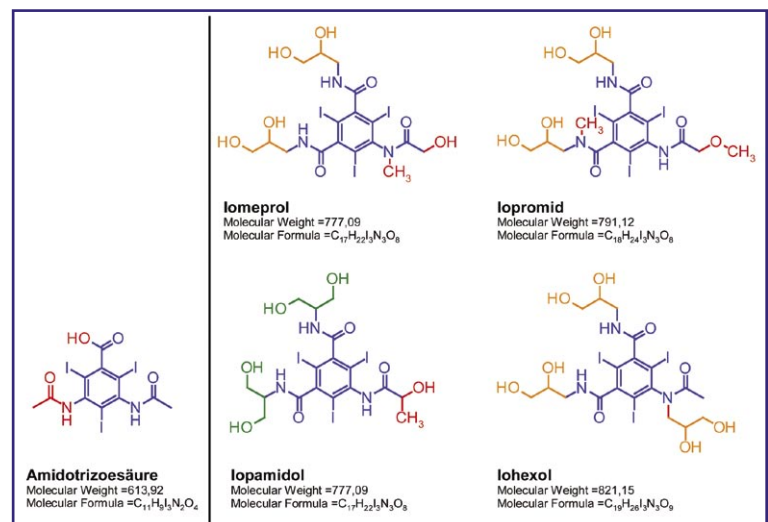
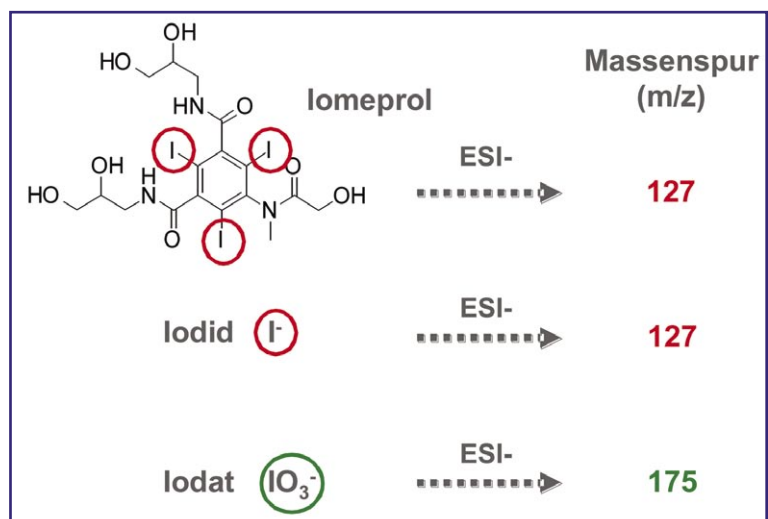


Abbildung 1: Strukturformeln von ionischen (links) und nicht-ionischen (rechts) iodierten Röntgenkontrastmitteln mit gemeinsamer Grundstruktur (blau) und unterschiedlichen Gruppen (rot, orange und grün).

Abbildung 2: Induzierte In-Source-Fragmentierung bei der negativen Elektrospray-Ionisation (ESI) als Voraussetzung für die iodspezifische Detektion von Iomeprol sowie schematische Darstellung der Detektion von Iodid und Iodat.



iodspezifischen Analytik liegen bei etwa  $1 \mu\text{g/L}$ , wohingegen mittels MS/MS-Detektion Nachweisgrenzen von  $0,1 \mu\text{g/L}$  für RKM anreicherungs-frei möglich sind.

Zu den weiteren Einsatzmöglichkeiten der iod-spezifischen Analytik gehört die Erkennung von iodhaltigen Transformationsprodukten bei der oxidativen Behandlung von RKM. Im Falle der Ozonbehandlung des nicht-ionischen RKM Iomeprol konnten Iodat [8] sowie weitere bisher unbekannte Oxidationsprodukte nachgewiesen werden. Weiterhin wird durch die Oxidation mit UV-Be-strahlung das organisch gebundene Iod in Iodid überführt, welches ebenfalls mit Hilfe der iod-spezifischen Analytik nachgewiesen werden konnte.

## Ausblick

Mit Hilfe der iod-spezifischen Analytik unter Verwen-dung von HPLC-MS-Systemen ist es möglich, bisher unbekannte iodhaltige Abbau- oder Oxidationsprodukte von beispielsweise RKM zu erkennen. Durch den Einsatz weiterführender analytischer Untersuchungsmethoden

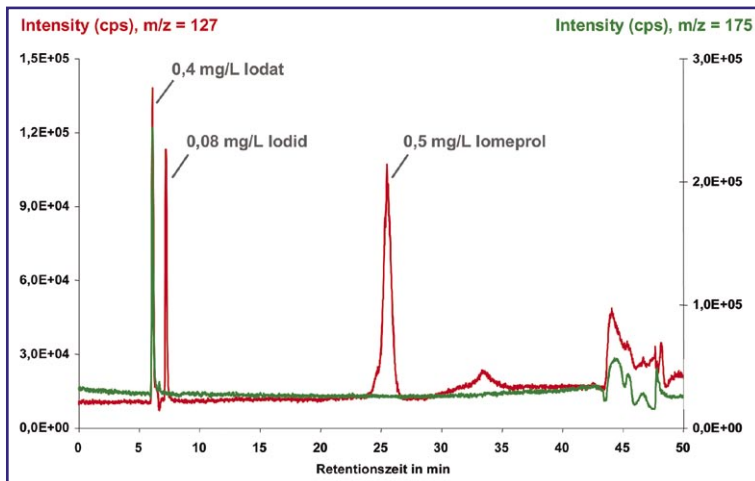
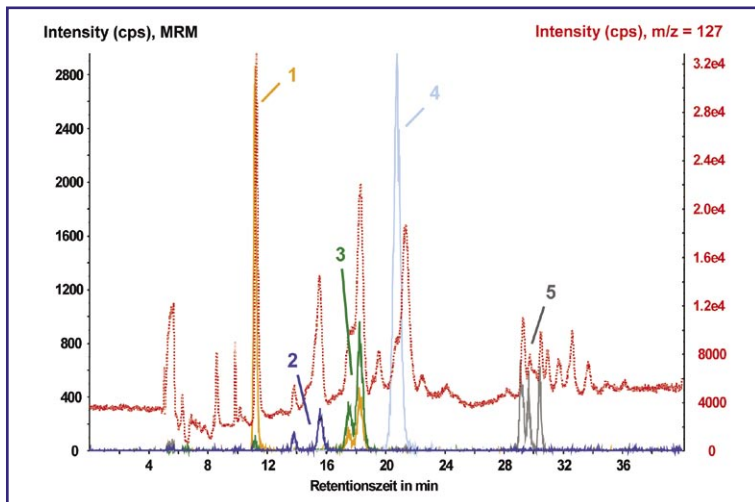


Abbildung 3: Bestimmung von Iodat und Iodid sowie des RKM Iomeprol mittels HPLC-MS in Wasser.

Abbildung 4: Bestimmung von iodierten Röntgenkontrastmitteln in Kläranlagen-ablauf mit HPLC-MS/MS-Detektion (MRM-Modus) und iod-spezifischer Detektion: Iopamidol (1), Iohexol (2), Iomeprol (3), Amidotrizoesäure (4) und Iopromid (5).



kann im Anschluss eine nähere Charakterisierung der als iodhaltig erkannten Transformationsprodukte erfolgen.

## Zusammenfassung

Die Erkennung von unbekanntem Abbau- oder Oxidati-onsprodukten von organischen Spurenstoffen gestaltet sich als analytisch schwierig, wobei die häufig einge-setzten HPLC-MS/MS-Verfahren zur gezielten Bestim-mung der Einzelstoffe hierfür als ungeeignet angesehen werden können. Die iod-spezifische Analytik unter Ver-wendung der massenspektrometrischen Detektion von Iodid, welches bereits bei der Elektrospray-Ionisation im negativen Modus aus iodhaltigen Verbindungen gebil-det werden kann, stellt beispielsweise für die RKM und deren Transformationsprodukte ein aussichtsreiches Screening-Verfahren dar. Die iod-spezifische Analytik wurde ergänzend zur gezielten Bestimmung der RKM mittels HPLC-MS/MS in Abwasser eingesetzt. Eine An-reicherung der Wasserproben war aufgrund der hohen Empfindlichkeit des Massenspektrometers in beiden Fäl-len nicht erforderlich. Weiterhin ist eine massenspektro-metrische Bestimmung der ionischen Spezies Iodid und Iodat ebenfalls möglich.

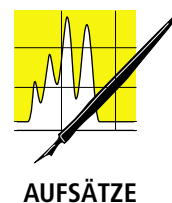
CLB

## Literatur

- [1] Ternes, T. A., Hirsch, R. (2000): Occurrence and behavior of X-ray contrast media in sewage facilities and the aquatic environ-ment, Environ. Sci. Technol. 34, 2741-2748.
- [2] W. Merkel (2004): Arzneimittelrückstände in der aquatischen Umwelt – Neue Herausforderungen an Abwasserreinigung und Trinkwasseraufbereitung?, GWF Wasser Abwasser, 145, 326-335.
- [3] Putschew, A., Jekel, M. (2003): Induced in-source fragmentati-on for the selective detection of organic bound iodine by liquid chromatography/electrospray mass spectrometry, Rapid Com-mun. Mass Spectrom., 17, 2279-2282.
- [4] Hütteroth, A., Putschew, A., Jekel, M. (2006): Natürlich gebil-dete organische Bromverbindungen: Selektive Detektion und Strukturinformationen mittels ESI negativ Ionisierung nach induzierter in-source Fragmentierung, Kurzreferate, 72. Jahres-tagung der Wasserchemischen Gesellschaft - Fachgruppe in der GDCh, Celle, 22.-24. Mai, ISBN 3-936028-39-7.
- [5] Sacher, F., Raue, B., Brauch, H.-J. (2005): Analysis of iodinated X-ray contrast agents in water samples by ion chromatography and inductively-coupled plasma mass spectrometry, J. Chromatogr. A, 1085, 117-123.
- [6] Metzger, S., Kapp, H., Seitz, W., Weber, W. H., Hiller, G., Süß-muth, W. (2005): Entfernung von iodierten Röntgenkontrast-mitteln bei der kommunalen Abwasserbehandlung durch den Einsatz von Pulveraktivkohle, GWF Wasser Abwasser 146, 638-645.
- [7] Seitz, W., Weber, W. H. (2006): unveröffentlichte Untersu-chungsergebnisse, Zweckverband Landeswasserversorgung.
- [8] Seitz, W., Jiang, J.-Q., Weber, W. H., Lloyd, B. J., Maier, M., Mai-er, D. (2006): Removal of iodinated X-ray contrast media during drinking water treatment, Environ. Chem., 3, 35-39.



# Kopplung der Planar-Chromatographie mit der Massenspektrometrie



Gertrud Morlock, Hohenheim

Für viele Analytiker ist die Planar-Chromatographie in fordernden Situationen eine solide Lösung für schwierige Aufgabenstellungen. Die Flexibilität hinsichtlich der Detektion und Chromatographie zeigt sich immer wieder als Stärke der Planar-Chromatographie. Sie erweist sich als sinnvolle Routine-Analytik für einen hohen Proben-durchsatz, wenn dringender Handlungsbedarf binnen kürzester Zeit gefragt ist. Die Kopplung der bewährten, wirtschaftlichen Planar-Chromatographie mit der Massenspektrometrie bietet hierbei zusätzliche Sicherheit und wird gezielt und zeitsparend immer dann eingesetzt, wenn die chromatographische Suche erfolgreich war. Ob Brot, Milch, Fleisch oder Fertiggerichte: Immer wieder findet man Stoffe in Lebensmitteln, die da nicht hineingehören - so in jüngster Zeit die Kontaminante ITX (Isopropylthioxanthon) in Milch, Joghurt und Fetten. Um bei etwaigen künftigen akuten Qualitätsproblemen eine effektive Methode zur Verfügung zu haben, zumal sich die Planar-Chromatographie als relativ Matrix-tolerantes Verfahren bewährt und die Kopplung mit einem selektiven Detektor zeitsparend ermöglicht, überzeugt diese Methode Analytiker von heute. Im Lebensmittelchemischen Institut der Universität Hohenheim wird das Kopplungsverfahren für die unterschiedlichsten Fragestellungen eingesetzt.

## Neuartige Kopplungsmöglichkeiten

Die Kopplung der Säulenchromatographie mit der Massenspektrometrie (MS) ist eine bewährte, etablierte Technik – für die Planar-Chromatographie fehlte ein entsprechendes Kopplungsglied, da dieses offene, planare Verfahren eine instrumentelle Herausforderung an die Kopplung stellte. Erst in den letzten Jahren wurden unterschiedliche Ansätze mit Nachdruck verfolgt, die inzwischen mit Erfolg angewendet werden. Diese Kopplungsansätze können hauptsächlich in zwei Kategorien eingeteilt werden: Einerseits werden Verfahren benutzt, die zur Desorption und Ionenbildung einen Photonenstrahl (IR-Laser [1], MALDI (IR/UV-Laser) [2], Diodenlaser gefolgt von APCI [3]), einen Ionenstrahl (SIMS [4]), einen Atomstrahl (FAB) oder ein Electrospray (Desorptions-Electrospray-Ionisierung (DESI [5]) einsetzen und andererseits Kopplungen, die mit Lösungsmitteln die Analyten online vom Adsorbens extrahieren, so über einen Mikrosprung gefolgt von Electrospray-Ionisierung (ESI [6]) oder über Extraktorkopf-basierte Systeme [7]. Gemein ist allen die unlängst mögliche schnelle massenselektive Absicherung

positiver Ergebnisse – eine wichtige progressive Ergänzung der Hochleistungs-Dünnschicht-Chromatographie (HPTLC). Jedoch ist die Quantifizierung der Analyten über HPTLC/MS bisher nur mit Stabilisotopen-markierten Substanzen [8] oder internem Standard [3] gezeigt worden, denn eine reproduzierbare Desorption, Ionisierung und Fokussierung ins MS ist nach wie vor eine instrumentelle Herausforderung, ebenso wie eine empfindliche Detektierbarkeit auf Kieselgel-Glasplatten, der wichtigsten Platte der quantitativen HPTLC. Nachfolgend werden drei aussichtsreiche Kopplungsansätze in den Vordergrund gerückt.

## HPTLC/ESI-MS(/MS)

2004 wurde ein neues Gerät entwickelt, das eine effektive Kopplung der HPTLC mit der MS erlaubt [7]. Im Vergleich zu den diversen bisher aufgezeigten Kopplungsansätzen bietet der sogenannte „ChromeXtraktor“ entscheidende Vorteile in seiner Praktikabilität und einfachen, minimalistischen Einbindung in vorhandene LC/MS-Systeme. Das Herzstück des Extraktors ist ein Edelstahl-Stempel, der einerseits mit der HPLC-Pumpe und andererseits mit dem Einlass des Massenspektrometers verbunden ist. Die interessierende HPTLC-Zone wird innerhalb der Schneidefläche des Stempels positioniert, extrahiert und mittels MS analysiert. Innerhalb einer halben Minute wird das Massensignal einer vollständig extrahierten Zone erhalten (Abbildung 1).

Neben dem ursprünglich ringförmigen Stempel (ID 4 mm), wurde ein neuer Stempel mit einer ovalen Schneidefläche (4 x 2 mm) eingesetzt, der speziell zur Extraktion bandförmiger Zonen angefertigt wurde und somit der Zonengeometrie der quantitativen HPTLC besser angepasst ist. Die unterschiedlichen Stempel wurden miteinander verglichen, wobei der ovale Stempel eine größere Selektivität und der runde eine verbesserte Detektierbarkeit ermöglichte [9]. Die Ortsauflösung war je nach verwendeten Extraktorkopf 2 mm bzw.

## Die Autorin

Dr. Gertrud Morlock studierte und promovierte an der Universität des Saarlandes am Lehrstuhl für Umwelttoxikologie und Hydrochemie (Prof. Dr. H. Jork) und am Lehrstuhl für Instrumentelle Analytik – Umweltanalytik (Prof. Dr. H. Engelhardt). Nach mehreren Jahren als Leiter des Analytischen Labors bei CAMAG und als Scientific Consultant, ist die Autorin seit 2004 wissenschaftliche Assistentin im Institut für Lebensmittelchemie an der Universität Hohenheim und Herausgeberin des CBS, CAMAG Bibliography Service.



4 mm. Die Detektionsgrenzen liegen im pg-Bereich. Zum Beispiel lag die Bestimmungsgrenze (LOQ) von Harman, einem karzinogenen heterocyclischen aromatischen Amin (HAA), unter 20 pg/Zone (HPTLC/ESI-MS/MS [10]) oder bei ITX, einem Photoinitiator, bei 100 pg/Zone (HPTLC/ESI-MS [11]).

Der Extraktor war zunächst aufgrund der erforderlichen Systemdichtigkeit auf die Extraktion von Aluminiumfolien beschränkt. Auf Glasplatten leckte Eluent aus der fixierten Zone oder die Glasplatte zerbrach durch den erhöhten Druck. Durch eine Modifikation [12] kann die Extraktion nun auch von Glasplatten mit polaren und mittelpolaren Schichten eingesetzt werden, ein großer Vorteil im Rahmen der quantitativen HPTLC. Zudem wurde die Anwendbarkeit dieses Gerätes auf Platten mit Schichtdicken von 100  $\mu\text{m}$  erweitert, indem die Ringschneide im Stempelkopf verkürzt wurde. Solche Schichten sind vor allem in der Spurenanalytik von Vorteil.

#### HPTLC/DART-MS

Eine weitere Variante ist die Kopplung der HPTLC mit DART (Direct Analysis in Real Time). Diese neuartige Ionisierungsquelle, die in der Umgebungsluft unter Atmosphärendruck arbeitet, wurde 2005 auf der Pittcon eingeführt [13]. Sie nutzt einen angeregten Helium-Gasstrom, der mit der Umgebungsluft protonierte Wassercluster bildet, welche die Ladung auf die Analyten übertragen. Inwieweit diese Technik für die quantitative HPTLC einsetzbar ist, wurde in ersten Untersuchungen geklärt [14]. Hierzu wurde die HPTLC-Platte innerhalb bzw. am Rande einer Bahn oder eines Substanzfensters (Substanzen mit gleichem  $R_f$ -Wert)

geschnitten. Durch bewegtes Hineinhalten der Analytzone in den Gasstrom konnte der jeweils protonierte Molekularpeak bzw. das Natrium-Addukt registriert werden, vorausgesetzt die Substanz war direkt auf der Schnittkante positioniert (Abbildung 2).

Innerhalb von Sekunden wird bei dieser Kopplung das Massenspektrum einer Substanz auf den unterschiedlichsten Schichten registriert. Die Empfindlichkeit wurde im unteren ng-Bereich am Beispiel von ITX gezeigt. Die Ortsauflösung war besser als 7 mm. Geringere Ortsauflösungen wurden nicht getestet, bedingt durch die manuelle Positionierung. Der analytische Response und die Reproduzierbarkeit waren sehr stark von der korrekten Positionierung der HPTLC-Platte in den Gasstrom der Ionenquelle abhängig. Durch die Verwendung von Stabilisotopen-markierten Standards konnte die manuelle Positionierung korrigiert werden. Eine spezielle automatisierte Plattenhalterung ist zurzeit in Bearbeitung.

Vergleicht man diese neuartige Kopplung mit dem Extraktorkopf-basierten System, so ist die LOQ bei letzterem besser, da die gesamte Substanzzone erfasst und extrahiert wird. Bei HPTLC/ESI-MS betrug die LOQ von ITX 100 pg/Zone, bei HPTLC/DART-TOF-MS 1 ng/Zone. Die Reproduzierbarkeit (RSD  $\pm 4\%$  und  $\pm 7\%$ ) war bei beiden vergleichbar gut, jedoch erforderte HPTLC/DART-TOF-MS bisher den Einsatz von internen Standards zur Korrektur (Positionierung). Der analytische Response zeigte ein Bestimmtheitsmaß  $R^2$  von 0.9892. Der Vergleich verdeutlichte, dass die Reproduzierbarkeit, der analytische Response und die Empfindlichkeit der HPTLC/DART-MS-Kopplung stark von der manuellen Positionierung abhängen und bisher die Güte des Extraktorkopf-basierten Systems nur

Abbildung 1:  
Das Karzinogen Ethylcarbamat wurde mit dem Fluorophor Xanthylol in-situ auf der HPTLC-Platte derivatisiert; die Masse des Natrium-Addukts von Xanthylethylcarbamat  $m/z$  292  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  wurde innerhalb einer halben Minute durch HPTLC/ESI-MS bestätigt.

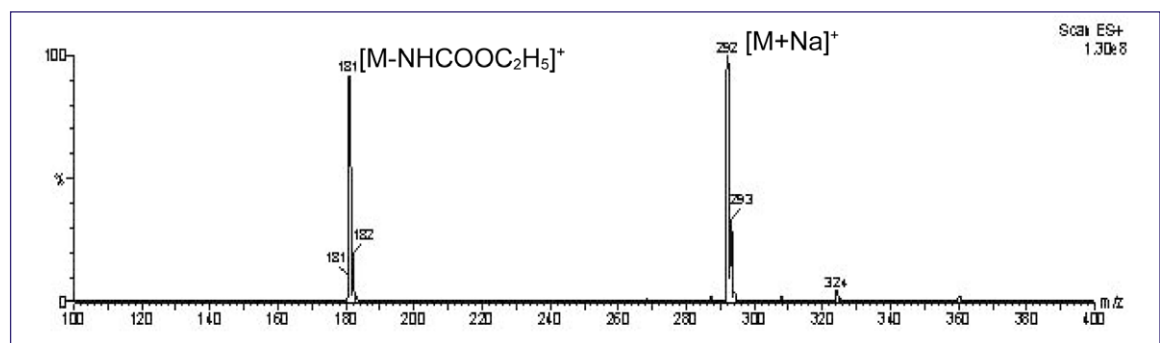
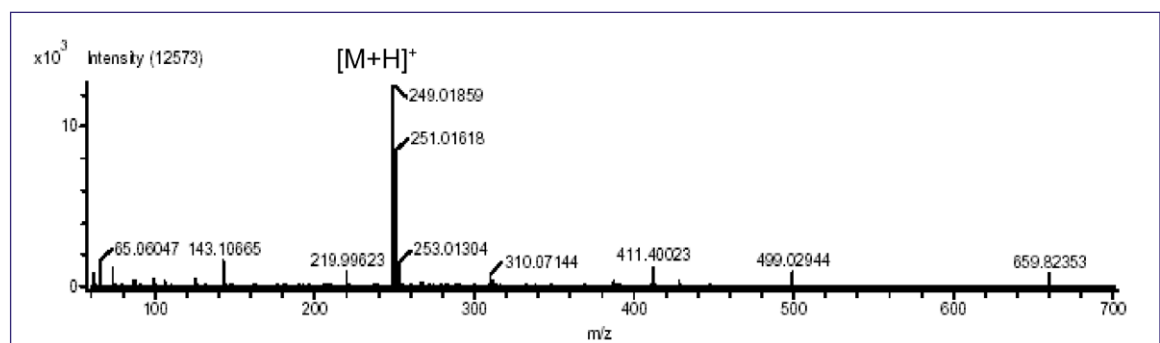


Abbildung 2:  
HPTLC/DART-TOF liefert das Massenspektrum innerhalb von Sekunden; hier der protonierte Molekularpeak von Linuron ( $m/z$  249  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ), einem Herbizid.



dann erreichen, wenn man einen internen Standard zur Positionskorrektur einsetzt. Eine Plattenhalterung zur korrekten Positionierung oder sogar zum Scannen eines HPTLC-Streifens sind weitere Ansätze, um das hohe Potential der neuen HPTLC/DART-MS-Kopplung auszuschöpfen.

#### HPTLC/APGD-TOF-MS

Annähernd vergleichbar funktioniert die Kopplung der HPTLC mit der APGD (Atmospheric Pressure Glow Discharge), einer einfachen Ionenquelle die einen Plasmastrom unter Atmosphärendruck nutzt, um die Analyten zu desorbieren und ionisieren. Direkt nach dem Einführen der Substanzzone in den Plasmastrahl erhält man das Massensignal (Abbildung 3). Analog zu HPTLC/DART-TOF-MS musste die Platte entlang der Bahn oder des Substanzfensters geschnitten werden. Die Ortsauflösung bedingt durch den Plasmastrahlkonus war besser als 2,5 mm. Durch den Einsatz einer Plattenhalterung oder auch eines Isotopen-markierten Standards konnte hier die Präzision und der analytische Response verbessert werden [15].

#### Anwendungen

Das Extraktkopf-basierte System nach Luftmann hat sich bereits aufgrund seiner Präzision und Empfindlichkeit im Nachweis vielfältig bewährt, wie zum Beispiel zur Bestätigung bzw. Absicherung des erstmals in einer chilenischen Weizenernte gefundenen Fusariumtoxins Deoxynivalenol [16]. Auch eine neue planar-chromatographische Methode zur Simultan-Quantifizierung von

Koffein, Ergotamin und Metamizol in festen Arzneiformen nutzt die massenselektive Absicherung [17]. Weitere Anwendungen exemplarisch:

#### Lebensmittel-Kontaminante ITX in betroffenen Lebensmitteln

Isopropylthioxanthon (ITX) wurde als Photoinitiator in UV-härtenden Offset-Druckfarben eingesetzt, mit denen z. B. Mehrschichtverbunde oder Kunststoffbecher außenseitig bedruckt wurden. Durch Migration durch den Packstoff oder durch Abklatsch beim Transport gelangte ITX auf die Lebensmittelkontaktseite und von dort in das Lebensmittel. Im November 2005 wurde es in Spuren in Baby-Milchprodukten nachgewiesen; als Folge wurden weit über 30 Millionen Liter Milch in vier europäischen Ländern zurückgezogen. Druckfarben für Lebensmittelverpackungen unterliegen keiner speziellen Gesetzgebung, sollten aber das Lebensmittel nicht gesundheitsgefährdend kontaminieren (EC Nr. 1935/2004). Allerdings gibt es nur vereinzelt Studien über ITX, i.e. bis dato zu wenige für eine abschließende gesundheitliche Bewertung [18].

Zur Bestimmung von ITX in Lebensmitteln wurde bisher keine analytische Methode veröffentlicht, obwohl einige Methoden basierend auf GC-MS, HPLC-MS HPLC-FLD/DAD existieren. Vor diesem Hintergrund wurde eine schnelle quantitative Screening-Methode auf Basis der HPTLC entwickelt [11], die einen hohen Probendurchsatz erlaubt - 36 Trennungen benötigten 7 min Laufzeit (Abbildung 4). Die Nachweisgrenze für ITX lag bei 64 pg/Zone auf der Platte – in Butterfett bei 1 µg/kg. Die Wiederholprä-



**AUFsätze**

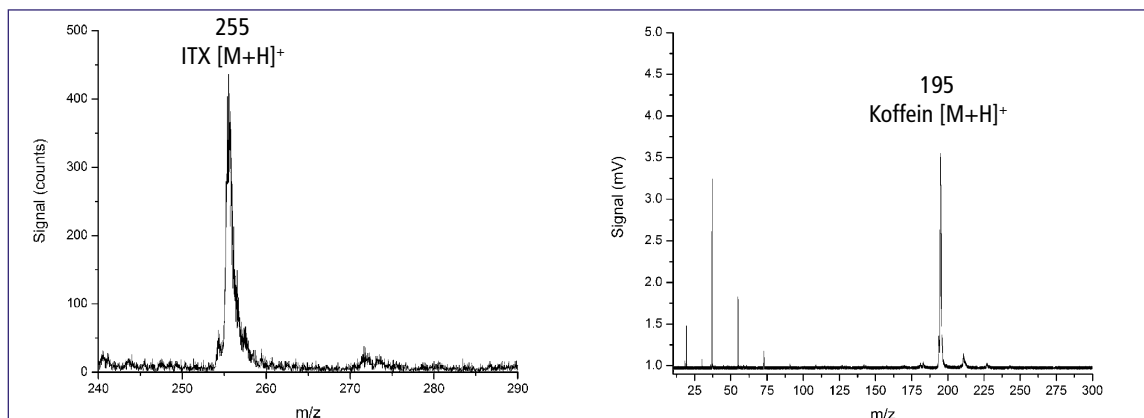
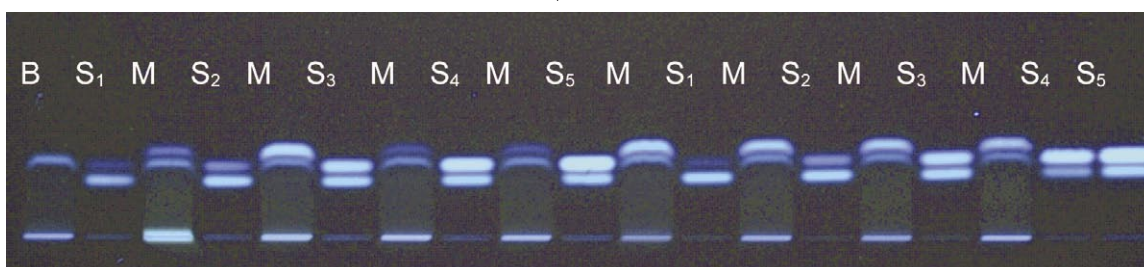


Abbildung 3: In Sekundenschnelle erhält man das HPTLC/APGD-TOF-MS-Spektrum von ITX bei m/z 255 [M+H]<sup>+</sup> (links) und Koffein bei m/z 195 [M+H]<sup>+</sup> (rechts)

Abbildung 4: Bestimmung von ITX (h<sub>Rf</sub> 26) in Milch mit HPTLC/FLD, korrigiert über den internen Standard DTX (Diethylthioxanthon, h<sub>Rf</sub> 20); Dokumentation eines Plattenausschnittes bei UV 254/>400 nm; Bahnbelegung: B: Blindprobe (Milch dotiert mit DTX), S1-S5: verschiedene Standardkonzentrationen; die Verschiebung des h<sub>Rf</sub>-Wertes bei den Milchproben (M) ist Matrix-bedingt.



zision der ITX-Bestimmung (n = 9) betrug  $\pm 1.1\%$ . In dotierten Proben, wie Milch, Joghurt, Sojaöl und Margarine (je 20 oder 50 und 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), wurden Variationskoeffizienten (je n = 4) zwischen  $\pm 1.0\%$  und  $\pm 6.4\%$  ermittelt. Positive Ergebnisse wurden mittels MS im SIM-Modus (Selected Ion Monitoring) abgesichert (Abbildung 5).

Simultane Analyse  
wichtiger Wirkstoffe in 'Energy drinks'

In den letzten 10 Jahren wuchs die Nachfrage nach so genannten 'Energy Drinks' und 'Sport Drinks' unter Studenten, Athleten und sportlich aktiven Personen aufgrund ihrer Energie-spendenden Eigenschaften.

Abbildung 5: Absicherung der Ergebnisse mittels HPTLC/ESI-MS (SIM bei  $m/z$  255  $[\text{M}+\text{H}]^+$  und 277  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ) von je 3 dotierten Joghurtproben (Peak 1-3: 100 ppb/kg, Peak 4-6: 20 ppb/kg); daneben Standardzonen S und Blindwert B.

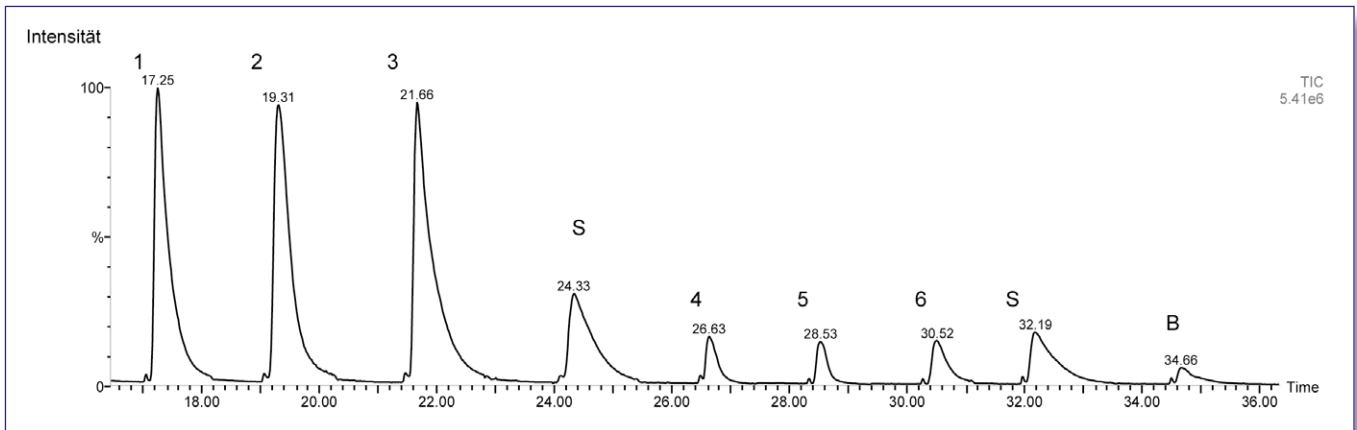
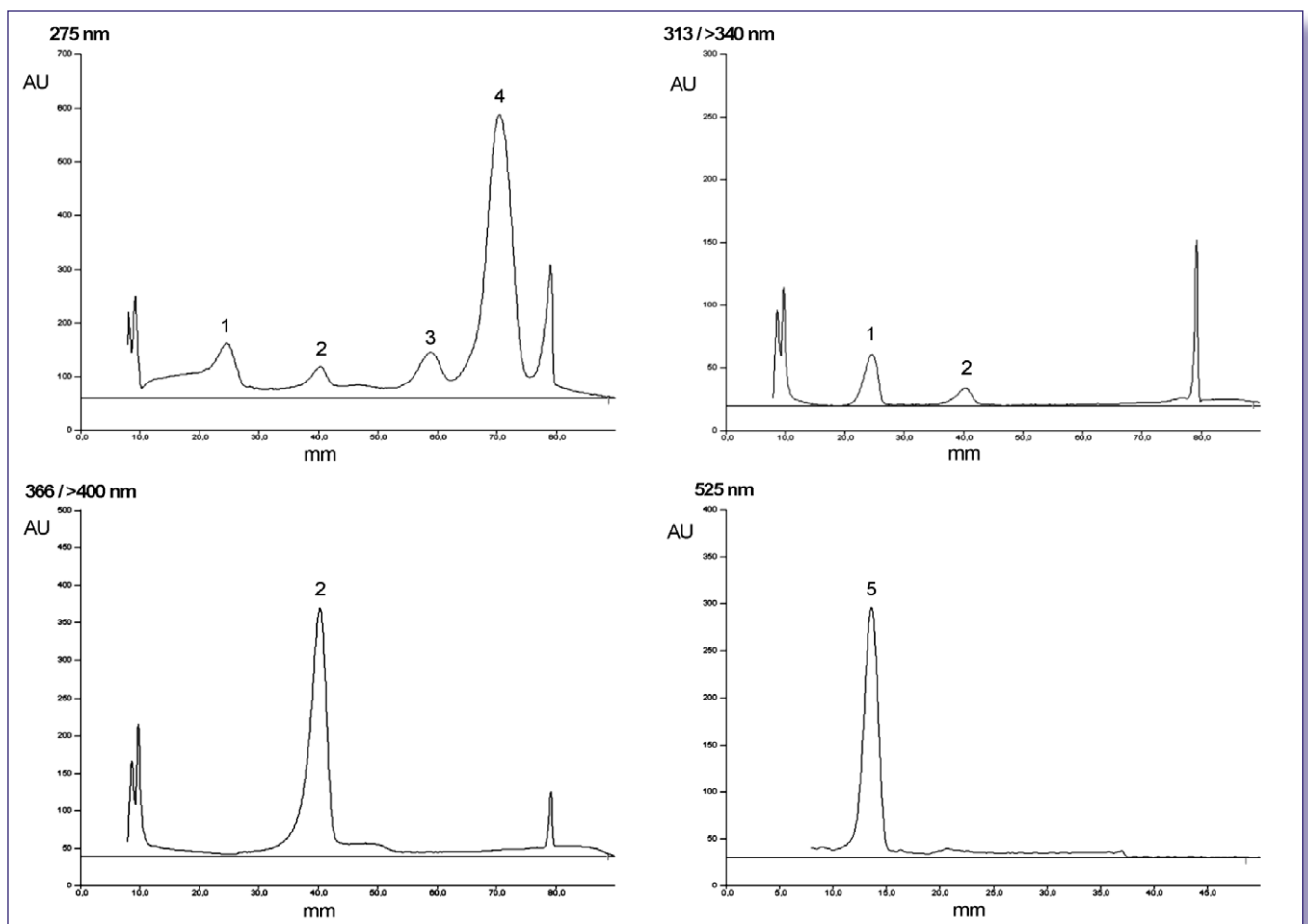


Abbildung 6: Multiple Detektion einer Energy Drink-Probe durch MWL(Mehrwellenlängen)-Messung einer einzigen Bahn bei verschiedenen Wellenlängen im Absorptions- und Fluoreszenzmodus: bei 275 nm Koffein (4), bei 313/>340 nm Pyridoxin (1), bei 366/>400 nm Riboflavin (2) und nach Tauchen in Ninhydrin-Reagenz bei 525 nm Taurin (5); nicht dargestellt ist die Messung bei 261 nm für Nicotinamid (3).



Die Industrie erwartet fast eine Verdopplung des Verbrauchs von 2004 bis zum Jahre 2009. Basis dieser Getränke sind wasserlösliche Vitamine, Kohlenhydrate, Glucuronolacton, Koffein und Taurin. Eine analytische Methode, die gleichzeitig die wichtigsten Wirkstoffe bestimmt, war von großem Interesse, zumal nur Methoden für die Bestimmung einzelner Wirkstoffe existierten. Daher wurde eine high-throughput HPTLC-Methode entwickelt, die simultan Riboflavin (Vitamin B2), Pyridoxin (Vitamin B6), Nicotinamid, Koffein und Taurin mittels HPTLC-UV/VIS/FLD quantifiziert und die entsprechenden Molekülmassen mittels HPTLC-ESI/MS bestätigt [19]. Durch die stationäre Speicherung der getrennten Zonen auf der HPTLC-Platte ist eine multiple Detektion und simultane Auswertung der wichtigsten Wirkstoffe möglich (Abbildung 6). Die Absorbanzmessung für Nikotinamid und Koffein erfolgt bei 261 nm und 275 nm, die Fluoreszenzmessung für Riboflavin und Pyridoxin bei 366/>400 nm und 313/>340 nm und - nach post-chromatographischer Derivatisierung (Tauchen) mit Ninhydrin-Reagenz - die Absorbanzmessung für Taurin bei 525 nm.

Die Kalibrierfunktionen (linear oder polynom) zeigen ein Bestimmtheitsmaß  $R^2 > 0.999$ . Die insgesamten Wiederfindungsraten über 3 Dotierniveaus lagen zwischen 81 % und 106 %. Die Wiederholpräzision (RSD) über 3 Dotierniveaus lag zwischen  $\pm 3.6$  % und  $\pm 7.4$  % für Riboflavin,  $\pm 2.8$  % und  $\pm 6.3$  % für Nicotinamid,  $\pm 2.5$  % und  $\pm 4.4$  % für Koffein,  $\pm 2.1$  % und  $\pm 2.9$  % für Taurin und  $\pm 0.5$  % und  $\pm 4.0$  % für Pyridoxin.

### Heterocyclische aromatische Amine in Fleisch

Zur Gruppe der heterocyclischen aromatischen Amine (HAA), die beim Braten und Grillen von Fleisch und Fisch im unteren  $\mu\text{g}/\text{kg}$ -Bereich entstehen, zählen über 20 Verbindungen. Sie werden bei hohen Temperaturen in komplexen Reaktionen aus den Vorstufen Kreatinin,

Aminosäuren und reduzierenden Zuckern gebildet und sind als mutagen und cancerogen im Tierversuch einzustufen. 15 dieser Substanzen werden üblicherweise mit RP-HPLC mit kombinierter UV/DAD- und fluorimetrischer Detektion bestimmt. Unter üblichen Zubereitungsbedingungen von Fleisch und Fisch entstehen allerdings überwiegend fünf Verbindungen: PhIP (2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridin), MeIQx (2-amino-3,8-dimethylimidazo-[4,5-f]chinoxalin), 4,8-DiMeIQx (2-amino-3,4,8-trimethylimidazo[4,5-f]chinoxalin, Norharman (9H-pyrido[3,4-b]indol) und Harman (1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indol).

Zur schnellen, kostengünstigen Quantifizierung der fünf Hauptvertreter, zwecks effektiver Risikoabschätzung hinsichtlich der Verbraucherbelastung, wurde ein planar-chromatographisches Verfahren entwickelt. Unter Verwendung der automatischen Entwicklungskammer (ADC 2, CAMAG) findet die Trennung unter kontrollierten und standardisierten Bedingungen statt. Die Quantifizierung erfolgt mittels TLC-Scanner simultan durch Absorptions- und Fluoreszenzmessung. Die Methode wurde hinsichtlich der Parameter Wiederholbarkeit, Vergleichbarkeit, Laufstreckenreproduzierbarkeit, Nachweis-/Bestimmungsgrenze, Selektivität, Linearität und Robustheit erfolgreich validiert [20]. Die Absicherung positiver Funde erfolgt über HPTLC/ESI-MS (Abbildung 7).

### Ausblick

Neuartige Kopplungsverfahren in der Planar-Chromatographie ermöglichen die Massenbestätigung von Substanzzonen auf der HPTLC-Platte in sekundenschnelle. Im Vergleich zu anderweitig diskutierten Kopplungsansätzen erlauben sie die Aufnahme von Massenspektren im unteren ng-Bereich bis hin zum pg-Bereich auf Kieselgel-Schichten, dem bedeutendsten Trennmittel in der Planar-Chromatographie. Nach erfolgter chromatogra-

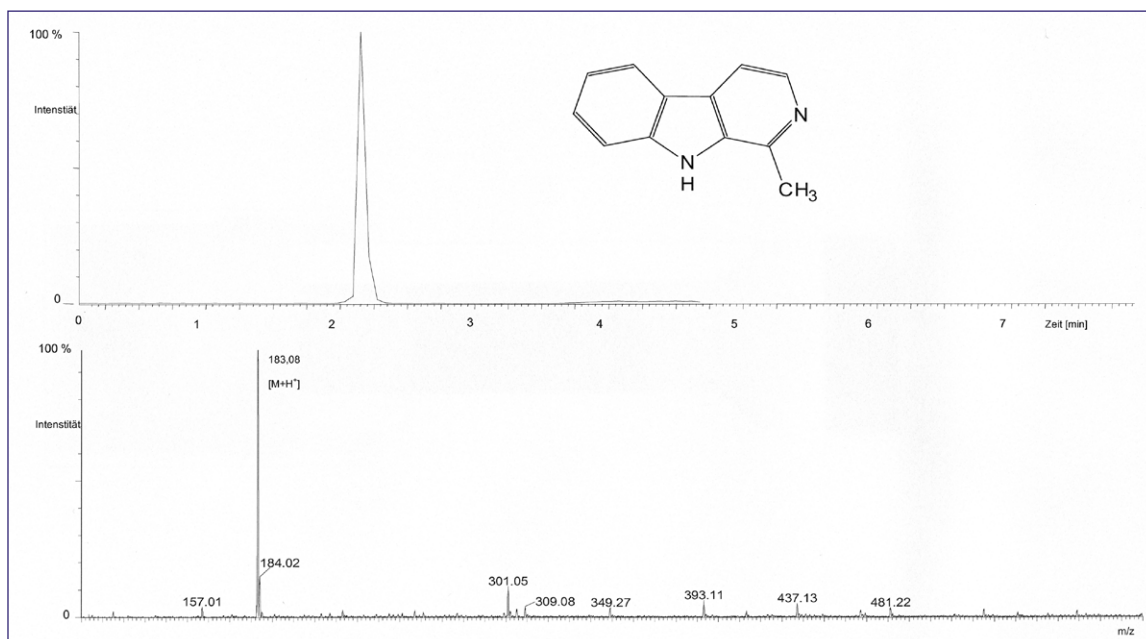


Abbildung 7: TIC-Elutionsprofil der Harmanzone (oben) und das entsprechende Massenspektrum (HPTLC/ESI-MS) von Harman ( $m/z$  183  $[M+H^+]$ ) (unten).

phischer Auswertung können gezielt, d.h. nur dort, wo erforderlich, die Massenspektren aufgenommen werden. Der wirtschaftliche Vorteil liegt in diesem Fall in der stationären Speicherung der getrennten Substanzen auf der HPTLC-Platte begründet. Die heutzutage erreichbaren standardisierten Chromatogramme durch automatisierte Entwicklungskammern mit Feuchtekontrolle, die große Flexibilität hinsichtlich der Chromatographie und Detektion (Wirkungsdetektion, multiple Detektion) rücken diese Methode wieder verstärkt in den Vordergrund als effektives analytisches Verfahren. **CLB**

#### Danksagung

Dank der Landesstiftung Baden-Württemberg für die gewährte Förderung (Projekt-Nr. P-LS-E2/25), an Prof. Dr. Wolfgang Schwack für die sehr guten Arbeitsbedingungen im Institut für Lebensmittelchemie sowie an Dr. Heinz Hauck und Dr. Dagmar Leiss (Merck, Darmstadt), Dr. Heinrich Luftmann (Universität Münster) und Dr. Konstantinos Natsias (CAMAG, Berlin) für die instrumentelle Unterstützung.

#### Literatur

- [1] Fanibanda, T., Milnes, J., Gormally, J. (1994): Thin-layer chromatography mass-spectrometry using infrared-laser desorption, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* 140, 127-132
- [2] Dreisewerd, K., Kolbl, S., Peter-Katalinic, J., Berkenkamp, S., Pohlentz, G. (2006): Analysis of native milk oligosaccharides directly from thin-layer chromatography plates by matrix-assisted laser desorption/ionization orthogonal-time-of-flight mass spectrometry with a glycerol matrix, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 17, 139-150
- [3] Peng, S., Edler, M., Ahlmann, N., Hoffmann, T., Franzke, J. (2005): A new interface to couple thin-layer chromatography with laser desorption/atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry for plate scanning, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 19, 2789-2793
- [4] Orinák, A., Vering, G., Arlinghaus, H.F., Andersson, J.T., Hałas, L., Orináková, R. (2005): New approaches to coupling TLC with TOF-SIMS, *J. Planar Chromatogr. - Modern TLC* 18, 44-50
- [5] Van Berkel, G.J., Ford, M.J., Deibel, M.A. (2005): Thin-layer chromatography and mass spectrometry coupled using desorption electrospray ionization, *Anal. Chem.* 77, 1207-1215
- [6] Kertesz, V., Ford, M.J., Van Berkel, G.J. (2005): Automation of a surface sampling probe/electrospray mass spectrometry system, *Anal. Chem.* 77 (22), 7183-7189
- [7] Luftmann, H. (2004): A simple device for the extraction of TLC spots: direct coupling with an electrospray mass spectrometer, *Anal. Bioanal. Chem.* 378, 964-968
- [8] Ford, M.J., Deibel, M.A., Tomkins, B.A., Van Berkel G.J. (2005): Quantitative thin-layer chromatography/mass spectrometry analysis of caffeine using a surface sampling probe electrospray ionization tandem mass spectrometry system, *Anal. Chem.* 77, 4385-4389
- [9] Jautz, U., Morlock, G. (2006): Comparison of two different plunger heads of an extractor-based device for coupling of planar chromatography with mass spectrometry, in Vorbereitung
- [10] Jautz, U., Morlock, G. (2006): Efficacy of planar chromatography coupled to (tandem)mass spectrometry for employment in trace analysis, *J. Chromatogr. A*, A 1128, 244-250
- [11] Morlock, G., Schwack, W. (2006): Determination of isopropylthioxanthone (ITX) in milk, yoghurt and fat by HPTLC-FLD, HPTLC-ESI/MS and HPTLC-DART/MS, *Anal. Bioanal. Chem.* 385, 586-595
- [12] Alpmann, A., Morlock, G. (2006): Improvement of online coupling of planar chromatography with electrospray mass spectrometry: Extraction of zones from glass plates, *Anal. Bioanal. Chem.*, DOI 10.1007/s00216-006-0692-y [13] Cody, R.B., Laramée, J.A., Dupont Durst, H. (2005): Versatile new ion source for the analysis of materials in open air under ambient conditions, *Anal. Chem.* 77, 2297-2302
- [14] Morlock, G., Ueda, Y. (2006): New hyphenation of planar chromatography with direct analysis in real time mass spectrometry, in Einreichung
- [15] Morlock, G., Andrade, F., Hieftje G. (2006) Coupling of planar chromatography with atmospheric pressure glow discharge mass spectrometry, in Vorbereitung
- [16] Vega-Herrera, M., Madariaga, R., Aranda, M., Morlock, G. (2006): Application of HPTLC/MS: Confirmation of deoxynivalenol presence in Chilean wheat, in Einreichung
- [17] Aranda, M., Morlock, G. (2006): Simultaneous analysis of caffeine, ergotamine and metamizol in solid pharmaceutical formulation by HPTLC/UV/FLD with mass confirmation by online HPTLC/ESI-MS, *J. Chromatogr. Sci.*, in Druck
- [18] European Food Safety Authority, Pressemitteilung vom 09.12.2005
- [19] Aranda, M., Morlock, G. (2006): Simultaneous determination of riboflavin, pyridoxine, nicotinamide, caffeine and taurine in energy drinks by planar chromatography-multiple detection with confirmation by electrospray ionization mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*, DOI 10.1016/j.chroma.2006.07.018
- [20] Jautz, U., Morlock, G. (2006): Validation of a new planar chromatographic method for quantification of heterocyclic aromatic amines in meat, *Anal. Bioanal. Chem.*, in Druck.

### Die Landesstiftung Baden-Württemberg

Dieses Projekt wird von der Landesstiftung Baden-Württemberg gGmbH gefördert. Im Rahmen des aktiven Verbraucherschutzes hat die Stiftung das „Forschungsprogramm Nahrungsmittelsicherheit“ ins Leben gerufen. Mit diesem Programm werden gezielt Forschungsprojekte von Universitätsinstituten, Forschungseinrichtungen oder Untersuchungsämtern mit Sitz in Baden-Württemberg gefördert, die dazu beitragen, schnell, sicher und dabei kostengünstig Gesundheitsrisiken zu minimieren, die aus unerwünschten Stoffen und Organismen in Nahrungsmitteln erwachsen. Bereits erzielte Ergebnisse findet man in der Broschüre „Forschungsprogramm Nahrungsmittelsicherheit“ ([www.landesstiftung-bw.de/publikationen/files/sr-17\\_nahrungsmittelsicherheit.pdf](http://www.landesstiftung-bw.de/publikationen/files/sr-17_nahrungsmittelsicherheit.pdf)).

Zweck der Stiftung ist die Förderung von Wissenschaft und Forschung, Bildung und Erziehung, Kunst und Kultur, der Religion, der Völkerverständigung, der Entwicklungshilfe, des Umwelt-, Landschafts- und Denkmalschutzes, des Heimatgedankens sowie die Förderung der Jugendhilfe, der Altenhilfe, des öffentlichen Gesundheitswesens, des Wohlfahrtswesens und des Sports.

# Ein neues und effektives Werkzeug zur Methodenoptimierung in der HPLC



Stefan Lamotte, Rainer Brindle, Klaus D. Bischoff, Leonberg

Die Optimierung von HPLC Methoden kann auf verschiedene Arten durchgeführt werden. Einige Anwender nehmen einfach die Trennsäule, die gerade greifbar ist und optimieren die mobile Phase. Dabei werden pH-Wert, Art des organischen Anteils (Methanol, Acetonitril), Art der Pufferkomponente (Phosphat, Acetat), Steilheit und Form des Gradientenprofils, sowie die Temperatur variiert und optimiert. Manchmal wird auch vor dieser Optimierung der mobilen Phasen zunächst ein „Screening“ von verschiedenen Säulen vorgeschaltet, d.h. stationäre Phasen mit unterschiedlichen Oberflächenmodifizierungen und somit Selektivität (C18, Phenyl, C18 mit eingebundener polarer Gruppe) werden mittels eines schnellen Gradienten vorgetestet. Die Säule mit den besten Trennergebnissen wird dann in einem weiteren Schritt zur Optimierung der Trennung herangezogen. Auf dem Markt erhältlich sind auch verschiedene Methodenoptimierungsprogramme. Nach entsprechenden Vorversuchen (unterschiedliche Steilheit von Gradienten bei unterschiedlichen pH Werten oder Temperaturen) wird ein Vorschlag für die „idealen Trennbedingungen“ unterbreitet. Diese Software unterstützte Methodenentwicklung ist zwar sehr hilfreich, führt jedoch auch nicht in allen Fällen zum Ziel.

## POPLC\*

In der POPLC (**Phase OPTimized Liquid Chromatography**) wird ein völlig neuer Ansatz zur Optimierung chromatographischer Trennungen verfolgt. Nach einer groben Optimierung der mobilen Phase erfolgt die Trennung maßgeblich über die Kopplung verschiedener stationärer Phasen mit unterschiedlicher Selektivität. Da die Retentionszeiten der einzelnen Analyten auf den unterschiedlichen stationären Phasen jeweils additiv sind, kann die Selektivität der Trennung hervorragend über die Zusammensetzung der stationären Phase gesteuert werden. Den theoretischen Hintergrund zur POPLC bietet das von Sz. Nyiredy entwickelte Prisma Modell, das zur Optimierung von mobilen Phasen v.a. in der Dünnschichtchromatographie und Normalphasen HPLC Anwendung findet [1]. Das Prismamodell ist graphisch in Abbildung 1 dargestellt. Die Schenkel des Prismas stellen die Retentionsstärke der unterschiedlichen stationären Phasen dar. Die optimale Retentionsstärke für den jeweiligen Analyten liegt auf der Fläche, die durch die Punkte A, B und C aufgespannt wird. Jeder dieser Punkte kann durch die entsprechende Kombination der einzelnen stationären Phasen erreicht werden. Technisch wird dies

am einfachsten durch ein segmentiertes Säulensystem, wie es in Abbildung 2 gezeigt ist, realisiert.

## Die Methode

Die praktische Vorgehensweise bei der Methodenentwicklung mittels POPLC läuft folgendermaßen ab:

Zunächst muss eine mobile Phase gefunden werden, bei der alle Komponenten der Mischung bei einem maximalen  $k$  Wert von 15 von der C18 Säule eluiert werden. Dazu wird eine 20 mm lange Trennsäule in das System eingebaut und die mobile Phase so eingestellt, dass die zuletzt von der Trennsäule eluierende Verbindung nach spätestens 2 Minuten den Detektor erreicht hat. Je nach Eigenschaften der Proben müssen der mobilen Phase entsprechende Modifizier zugesetzt werden.

Ist die mobile Phase gefunden, werden mit dieser alle Basismessungen isokratisch durchgeführt. In dem POPLC Basis Kit befinden sich fünf verschiedene stationäre Phasen.

## Die Autoren

**Klaus Bischoff** hat im Chemischen und Veterinäruntersuchungsamt in Sigmaringen Chemielaborant gelernt und arbeitet bereits seit 1974 auf dem Gebiet der HPLC bei der Firma Knauer in Berlin. 1980/81 gründete er die Bischoff Analysentechnik und -geräte GmbH. Seit nunmehr 25 Jahren ist er Geschäftsführer des mittelständischen und weltweit agierenden Unternehmens.

**Dr. Stefan Lamotte** studierte Chemie an der Universität des Saarlandes in Saarbrücken und beschäftigte sich in seiner Diplomarbeit bei Prof. Dr. H. Jork mit der Dünnschichtchromatographischen Bestimmung von Pestiziden. Nach seiner Promotion über schnelle HPLC bei Prof. Dr. Dr. h.c. H. Engelhardt, 1998, nahm er die Position als Leiter der Abteilung Säulen und stationäre Phasen bei der Bischoff Analysentechnik und -geräte GmbH ein.

**Dr. Rainer Brindle** studierte Chemie an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen. In seiner Diplom- und Doktorarbeit bei Prof. Dr. K. Albert, beschäftigte er sich mit der Synthese und Festkörper-NMR-spektroskopischen Charakterisierung von stationären Phasen für die HPLC. Seit 1997 leitet er die F&E-Abteilung für stationäre Phasen bei der Bischoff Analysentechnik und -geräte GmbH.

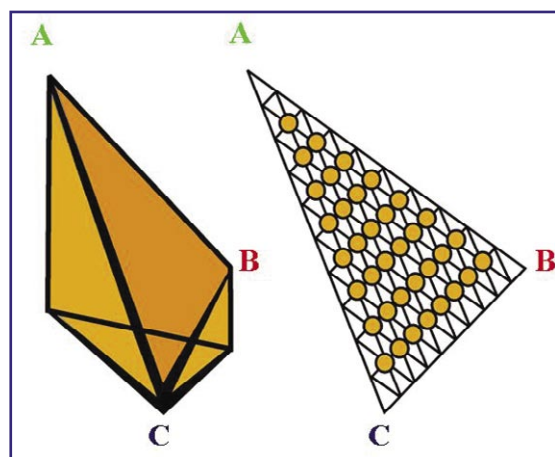


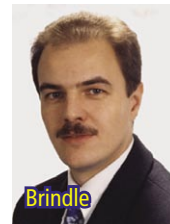
Abbildung 1: Das Prisma-Modell.



Bischoff



Lamotte



Brindle

\* POPLC ist ein eingetragenes Warenzeichen der Fa. Bischoff Analysentechnik und -geräte GmbH



Abbildung 2 (oben): Das segmentierte POPLink Säulensystem.

Diese wurden so gewählt, dass ihre Selektivität möglichst unterschiedlich ist. In der Literatur wird häufig der Begriff „orthogonale Selektivität“ verwendet, obwohl streng genommen die Selektivität der einzelnen stationären Phasen nicht völlig orthogonal, sondern lediglich stark unterschiedlich ist. Dies bedeutet: Die unterschiedlichen stationären Phasen gehen mit den jeweiligen Analyten unterschiedlich starke Wechselwirkungen ein (hydrophobe, pi-pi, Elektronenakzeptor und Elektronendonator Wechselwirkungen). Diese Wechselwirkungen sind für jede stationäre Phase bei den jeweiligen Analyten unterschiedlich, wodurch es auf

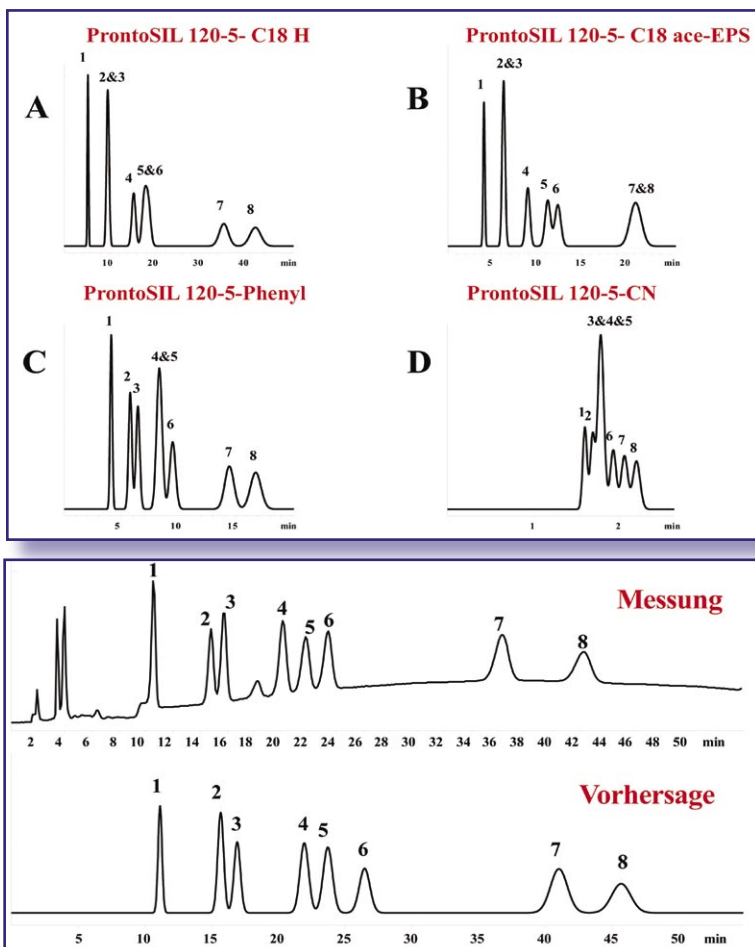
den verschiedenen stationären Phasen zu unterschiedlich langen Retentionszeiten kommt. Dies nutzt die POPLC aus, um die Selektivität der Trennung gezielt zu steuern. Die fünf stationären Phasen des Basis Kits sind: C18, C18 mit eingebundener polarer Gruppe, Phenyl, C30 und Cyano. Ist nun die mobile Phase festgelegt, so wird auf jeder dieser Trennsäulen eine Basismessung durchgeführt, d.h. das zu trennende Gemisch wird unter den gleichen Bedingungen auf die fünf verschiedenen Trennsäulen injiziert und die Retentionszeit der einzelnen Komponenten bestimmt. Diese Retentionszeiten werden in die Optimierungssoftware übertragen, die dann die optimale Säulenzusammensetzung ermittelt. Die Software berechnet dabei alle Kombinationsmöglichkeiten der verwendeten stationären Phasen und sortiert diese je nach geforderter Aufgabenstellung entweder nach bester Auflösung zwischen zwei kritischen Peakpaaren oder nach bester Auflösung innerhalb einer bestimmten Analysenzeit. Bei fünf verschiedenen stationären Phasen, die in Segmente der Länge 10 mm unterteilt werden können, gibt es bei einer möglichen Gesamtlänge der Trennsäule von 250 mm beispielsweise 142 505 Kombinationsmöglichkeiten. Aus all diesen Möglichkeiten wird nun die beste Zusammensetzung der stationären Phase ausgewählt. Diese kann nun für weitere Optimierungen der mobilen Phase als idealer Ausgangspunkt herangezogen werden, sofern die Trennung nicht schon optimal sein sollte.

## Beispiele

Das Beispiel der Trennung der Triazine verdeutlicht die Vorteile der POPLC. Das Gemisch bestehend aus Prometon (1), Simetryn (2), Ametryn (3), Prometryn (4), Terbutryn (5), Simazin (6), Atrazin (7) und Propazin (8) kann auf keiner der einzelnen stationären Phasen getrennt werden. Auf allen Säulen kommt es zu Koelutionen (siehe Abbildung 3). Misst man die einzelnen Retentionsdaten und gibt diese in die POPLC Optimizer Software ein, so erhält man als Vorschlag eine Säulenzusammensetzung bestehend aus 180 mm Phenyl, 60 mm Cyano und 60 mm einer C18 Säule mit eingebundener polarer Gruppe. Vergleicht man die Vorhersage mit dem real gemessenen Chromatogramm (siehe Abbildung 4) so kann eine gute Übereinstimmung festgestellt werden. Die Abweichung zwischen real gemessenen Retentionszeiten und Vorhersage ist in allen Fällen kleiner als 3%. Die Reihenfolge in der die einzelnen Segmente der optimierten POPLC Säule zusammengebaut werden ist unter isokratischen Bedingungen und wenn „sauber“ chromatographiert wird egal. „Sauber chromatographiert“

Abbildung 3 (links Mitte): Die Trennung eines Triazingemisches auf 3 unterschiedlichen stationären Phasen. Säulenzänge: jeweils 100 x 3.0 mm; mobile Phase: Acetonitril/Wasser 50:50 (v/v); Fluß: 0,5 ml/min; Detektion: UV.

Abbildung 4 (links unten): Die Trennung des Triazingemisches auf der optimierten POPLC Säule bestehend aus 60 mm ProntoSIL 120-5-C18 ace-EPS, 180 mm ProntoSIL 120-5-Phenyl, 60 mm ProntoSIL 120-5-CN im Vergleich zur Vorhersage der Optimierungsoftware. Säulenzänge: 300 x 3.0 mm; mobile Phase: Acetonitril/Wasser 50:50 (v/v); Fluß: 0,5 ml/min; Detektion: UV.





bedeutet in diesem Zusammenhang: Die Probe wird in der mobilen Phase oder einem Lösemittel mit niedrigerer Lösemittelstärke gelöst. Wird die Probe in einem stärkeren Lösemittel gelöst, so kann es sein, dass die Analyten nicht aus dem Injektionspfropfen heraus diffundieren können, und somit mit einer stationären Phase, die nur eine geringe Retentionskraft hat nicht in Wechselwirkung treten können. In einem solchen Fall wäre ein großer Unterschied in der Retentionszeit aufgrund der unterschiedlichen Reihenfolge der einzelnen Säulensegmente feststellbar. Daher empfiehlt es sich stets die stationäre Phase mit der höchsten Retentionskraft am Säulenkopf einzubauen.

Ein großer Vorteil der POPLC besteht auch darin, dass in vielen Fällen auf eine Gradientelution verzichtet werden kann, da der Gradient quasi auf der Säule generiert wird. Isokratische Elutionsbedingungen erlauben neben dem Einsatz von Detektoren die im Gradientbetrieb nicht einsetzbar sind, wie RI, elektrochemischer Detektor und Leitfähigkeitsdetektor, auch durchweg konstante Elutionsbedingungen, was bei der Verwendung eines massenspektroskopischen Detektors gleiche Ionisierungsbedingungen und damit eine bessere Quantifizierung zur Folge hat. Ferner kann bei der Verwendung eines optischen Detektors der Eluent im Kreis gefördert werden, was Lösemittel und gleichzeitig Entsorgungskosten spart. Ein schönes Beispiel der Übertragung einer Gradientmethode zu einer isokratischen Methode ist im Folgenden dargestellt. Hierbei handelt es sich um 33 Verbindungen, die in Kläranlagenzuläufen vorkommen. All diese Verbindungen sind chemisch sehr stark unterschiedlich. Alle Substanzklassen (Säuren, Basen und Neutralsubstanzen) sind darin enthalten. Folglich verhalten diese sich, wie in Abbildung 5 gezeigt, auf den verschiedenen stationären Phasen völlig unterschiedlich bezüglich ihrer Retention. Bei einer solchen großen Vielzahl an Analyten ist es manuell - ohne Hilfe von Software - fast unmöglich eine Trennung zu optimieren. Daher konnte durch Einsatz der POPLC Optimizer Software durch einfache Eingabe der Retentionszeiten eine Optimierung erzielt werden. Als ideale Trennsäule stellte sich in diesem Fall eine Kombination aus klassischer C18-Phase, C18 Phase mit eingebundener polarer Gruppe und Phenyl von 3:2:1 heraus. Auch hier konnte durchgehend für alle Analyten eine Abweichung kleiner 5% zwischen Vorhersage und Messung erzielt werden. Die optimierte isokratische Trennung im Vergleich zu der Gradiententrennung ist in Abbildung 6 dargestellt. Neben einer kürzeren Analysenzeit ist bei der isokratischen Trennung auch keine

Reequilibration der Trennsäule notwendig, was eine zusätzliche Zeitersparnis mit sich bringt.

## Fazit

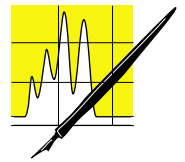
POPLC stellt eine völlig neue Möglichkeit dar chromatographische Trennungen zu optimieren. In vielen Fällen kann dabei auf Gradientelution verzichtet werden. Zusammen mit den Optimierungsstrategien für die mobile Phase (Prisma Modell [1] und Software gestützte Lösungen) gibt die POPLC dem Anwender die Möglichkeit auch sehr komplexe Trennungen zu optimieren. **CLB**

## Danksagung:

Die Autoren danken Prof. Dr. Sz. Nyiredy, Budakálasz, Ungarn für die großartige Idee das Prisma Modell zur Berechnung der optimalen stationären Phase zu verwenden. Ferner gilt unser Dank Dr. H. Zobel für die Messung der Triazine und Dr. W. Schulz und W. Seitz für die LC/MS/MS Messungen der Abwasser Analyten. Weitere Informationen zur POPLC unter: <http://www.poplc.de/> erhältlich.

## Literatur

- [1] Sz. Nyiredy, K. Dallenbach-Tölke, O. Sticher, Journal of Planar Chromatography, 1, 1988, 336 f



## AUFSÄTZE

Abbildung 5: Das Retentionsverhalten der unterschiedlichen Analyten im Abwasser auf den verschiedenen stationären Phasen.

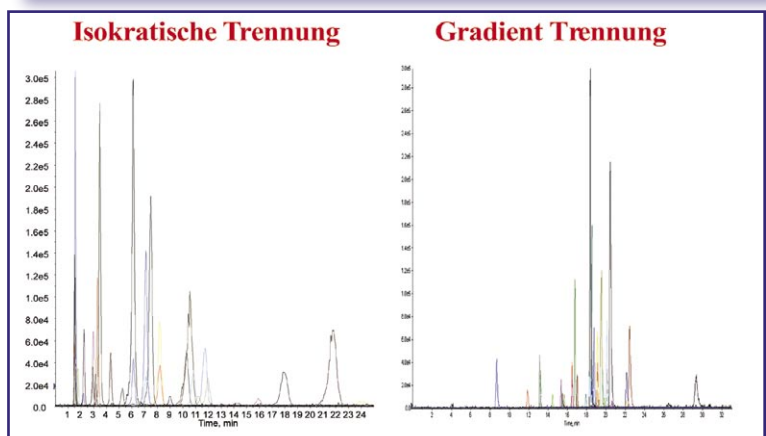
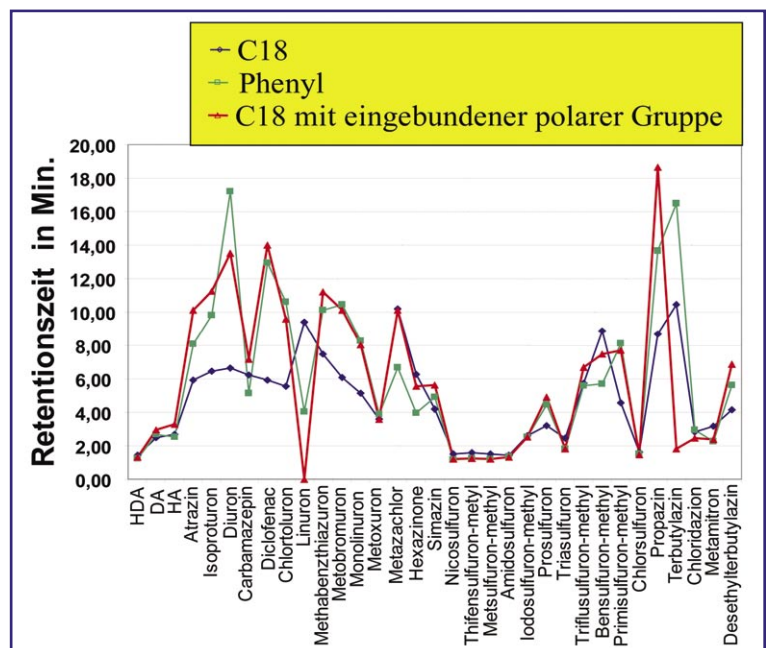


Abbildung 6 (rechts unten): POPLC/MS/MS Trennung von 33 Analyten, die im Abwasser vorkommen.  
**Isokratische POPLC Methode:** Säule: 120 x 3.0 mm; ProntoSIL 120-5-C18 SH:ProntoSIL 120-5-C18 ace-EPS: ProntoSIL 120-5-Phenyl 1:3:2; Fluß: 0.6 ml/min; mobile Phase: 50 % Eluent A: 5 mM NH<sub>4</sub>OAc; 50 % Eluent B: MeOH + 5 mM NH<sub>4</sub>OAc; Injektion: 10 µl; Temperatur: 25°C.  
**Gradient Methode:** Säule: 250 x 4.6 mm Luna C18 (2); mobile Phase: Eluent A: 5mM NH<sub>4</sub>OAc; Eluent B: MeOH + 5mM NH<sub>4</sub>OAc; Gradient: 4 min 35%B, 12 min 80%B, 25 min 80%B, Fluß:0.6 ml/min, Injektion: 10 µl, Temperatur: 25°C

# Purge-und-Trap-GC/MS mit neuer Normung

Uwe Böhland, Schwerin

Die Aqua Service Schwerin GmbH (AQS) setzt die Purge und Trap (PUT) – Technik seit 15 Jahren zur Bestimmung von flüchtigen organischen Verbindungen (VOC's) in der Wasser- und Umweltanalytik ein. Die Technik erlaubt, gekoppelt mit GC/MS-Systemen, empfindliche Routine-messungen sowie eine Screeninganalytik auf VOC's im unteren ppt-Bereich. Die Verabschiedung der DIN EN ISO-Norm 15680 [1] gibt der Anwendung dieser Technik neue Impulse.

Die PUT-Technik findet seit Anfang der 70er Jahre in der Wasseranalytik verstärkte Anwendung [2][3][4]. Durch die Kopplung mit GC/MS-Systemen ergeben sich vielfältige Anwendungsmöglichkeiten im gesamten Bereich der Umweltanalytik. Die fortgeschrittene Automatisierung der PUT-Systeme ermöglicht die Multikomponentenanalyse großer Probenreihen.

Im Bereich der Wasseranalytik ergeben sich durch die Forderungen der Trinkwasserverordnung (TrinkwV)[5] breite Anwendungsmöglichkeiten für die PUT-Analytik auf leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe (LHKW) wie Haloforme, Lösemittel, Vinylchlorid (VC) und die benzolhalogenen Verbindungen (BETX).

## Vergleich der Purge-und-Trap (PUT)- und Headspace (HS)-Technik

Im Gegensatz zur häufig eingesetzten HS-Technik (statische HS) handelt es sich bei PUT um einen dynamischen Extraktionsvorgang, der nicht von einem „Verteilungskoeffizienten“ abhängig ist.

Durch eine Variation des Probenvolumens (5-25ml) und der Purgedauer sowie der Probenaufgabemenge (split/splitlos) kann der Arbeitsbereich leicht angepasst werden. Bestimmungsgrenzen von 0,1 -10 ng/l werden erreicht. Die Blindwertbeeinflussung durch Luft (Laborluft) im Probengefäß entfällt, da keine überstehende Gasphase im Probengefäß erforderlich ist. Eine thermische Belastung der Zielverbindungen in der wässrigen Phase und der Ablauf unerwünschter Reaktionen werden ausgeschlossen. Es gelangt kein

### Der Autor

Uwe Böhland studierte an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg und absolvierte seine Diplomarbeit im Bereich der anorganischen Synthesechemie. Seit 1990 leitet er das chemische Trinkwasserlabor der Aqua Service Schwerin GmbH und beschäftigt sich mit der organischen Spurenanalytik (GC, HPLC) im Wasser- und Umweltbereich.



Wasser auf die GC-Trennsäule und in den massenselektiven Detektor, was der Reproduzierbarkeit und Langlebigkeit des Trennsystems zugute kommt. Ein interner Standard kann automatisch vor dem Purgvorgang zugesetzt werden (Kalibrierung über das Gesamtverfahren).

## Purge-und-Trap Technik

Das Prinzip der PUT-Analyse gliedert sich in drei Hauptschritte, die Purge-Phase (Extraktion und Adsorption), die Desorptionsphase (Analytentransfer) und die Ausheizphase – Rekonditionierung (Trap-Bake-Mode)

Abbildung 1: Verteilungsverhalten der Analyten in der Gasphase (HS und PUT).

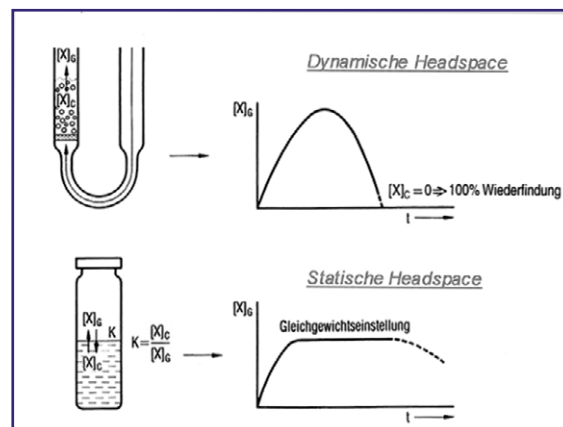
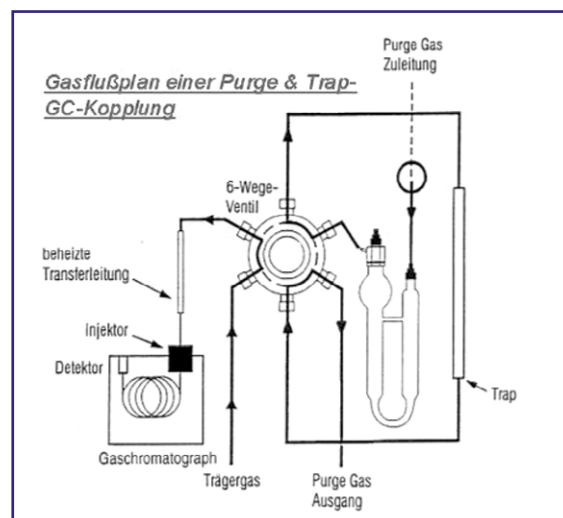


Abbildung 2: Gasflussplan PUT-GC/MS-Kopplung.



## 1. Purge-Phase

In der Purge Phase werden die Analyten (VOC's) in speziellen Gefäßen (Spagern) mittels fein verteiltem Purgegas (Helium oder Stickstoff) aus der Probe ausgeblasen (Purge) und auf die Adsorptionsfalle (Trap) überführt und angereichert. Als Trap-Trägermaterialien werden häufig Tenax [6] und Vocarb [7] eingesetzt. Für den Purgevorgang stehen verschiedene Techniken und Sparger zur Verfügung (frit sparger, needle sparger, needle sweep sparger). Um eine ausreichende Purge-Effizienz zu erreichen, wird standardmäßig mit einem Purgefluss von 40 ml/min und einer Purgezeit von 11 min gearbeitet.

## 2. Desorptionsphase

Die thermische Desorption erfolgt in Abhängigkeit vom Trapmaterial bei 180°-250°C nach dem backflush-Prinzip und einer Desorptionszeit von 2-4 min. Ein Desorp-Pre-heat-Schritt der Trap verbessert die Desorptionsgeschwindigkeit und die Peakform. Restfeuchtigkeit kann zum Beispiel durch ein „Moisture-Control-System“ (MCS) zurückgehalten werden.



Ein Desorp-Pre-heat-Schritt der Trap verbessert die Desorptionsgeschwindigkeit und die Peakform. Restfeuchtigkeit kann zum Beispiel durch ein „Moisture-Control-System“ (MCS) zurückgehalten werden.

Abbildung 3: Purge und Trap Concentrator 3000 (Tekmar).

## 3. Ausheiz-Phase

Durch ein 4 bis 10-minütiges Ausheizen (Bake-Mode) wird die Trap von eventuellen Rückständen befreit und für die nächste Analyse vorkonditioniert.

## Purge-und-Trap GC/MS-Kopplung

Die Vorteile der PUT-Technik lassen sich durch eine direkte Kopplung mit einem GC/MS-System gezielt nutzen und die Selektivität und Sensitivität weiter erhöhen. Kapillarsäulen mit einem ID von 0,25-0,53 mm und einer Belegung von 1-3  $\mu\text{m}$  wie zum Beispiel DB-624 sind für eine Trennung geeignet. Eine Kryofokussierung (-20 bis -150°C) im Injektor ermöglicht eine ungesplittete Aufgabe der Analyten und verbessert die Peakform [8].

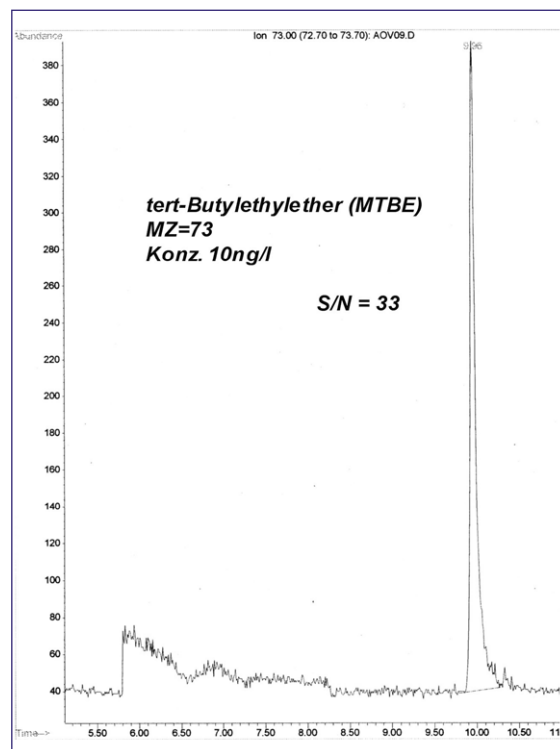


Abbildung 5: Chromatogramm Massenspur 73amu (MTBE).

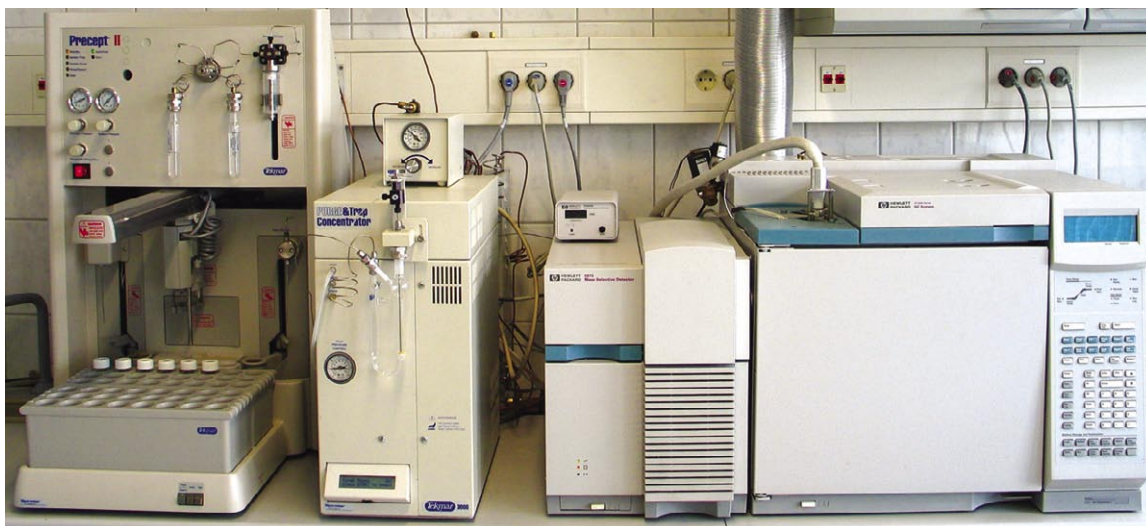


Abbildung 4: PUT-GC/MS-System zur Bestimmung von VOC's aus Wasser nach DIN EN ISO 15680.



## Analytik von VOC's aus Wasser

Die durch die U.S. EPA (Environmental Protection Agency) seit Anfang der 80er Jahre veröffentlichten Methoden (524,624, etc.) [9][10][11] zur PUT-Analyse von VOC's aus Wasser fanden 1993 mit dem Entwurf der DIN 38407/F19 ihre Umsetzung in der deutschen Normung. Im Jahr 2003/2004 wurde die DIN EN ISO 15680 verabschiedet und findet in Europa zunehmend Beachtung und Anwendung.

Das von uns eingesetzte System zur Bestimmung der VOC's aus Wasser besteht aus 3 Modulen.

1. Probengeber „Precept II“ (Tekmar)

2. PAT-Concentrator 3000 (Tekmar)

3. GC/MS – GC 6890 / MSD 5973 (Agilent)

Der Probengeber „Precept II“ kann mit 48 Stück der 42ml-Standard-Vials bestückt werden und überführt das gewünschte Probenvolumen (5 ml oder 25 ml) in den PUT-Concentrator 3000, welcher mit einer Vocarb 3000 Trap (Supelco) arbeitet.

Nach dem PUT-Vorgang werden die VOC's über eine beheizte (150 bis 200°C) Transferline in das GC/MS-System zur Trennung und Quantifizierung überführt.

Die Identifizierung der 61 Zielverbindungen erfolgt über die relativen Retentionszeiten ( $\pm 0,2\%$ ),

Abbildung 6: Auflistung und Klassifizierung aller 61 Verbindungen („Magic 60“).

	Klassifizierung	RT	A	B	C	D	E	F
1	Dichlordifluormethan F12	5,91	x					
2	Chlormethan	6,34			x	x		
3	Vinylchlorid	6,65				x		
4	Brommethan	7,33			x			
5	Chlorethan	7,52				x		
6	Trichlorfluormethan F11	7,96	x					
7	1,1-Dichlorethen	8,78		x				
8	Dichlormethan	9,46				x		
9	trans-1,2-Dichlorethen	9,87		x		x		
10	MTBE	9,96						x
11	1,1-Dichlorethan	10,45		x		x		
13	cis-1,2-Dichlorethen	11,26				x		
12	2,2-Dichlorpropan	11,27				x		
14	Bromchlormethan	11,61		x	x			
15	Chloroform	11,68		x	x			
16	1,1,1-Trichlorethan	12,01		x				
17	Tetrachlormethan	12,24		x				
18	1,1-Dichlorpropen	12,27				x		
19	Benzol	12,54						x
20	1,2-Dichlorethan	12,55		x		x		
21	Trichlorethen	13,5		x				
22	1,2-Dichlorpropan	13,84		x				
23	Dibrommethan	14,05			x			
24	Bromdichlormethan	14,24			x			
25	trans-1,3-Dichlorpropen	14,97				x		
26	Toluol	15,56						x
27	cis-1,3-Dichlorpropen	15,88				x		
28	1,1,2-Trichlorethan	16,21		x				
29	Tetrachlorethen	16,52		x				
30	1,3-Dichlorpropan	16,54				x		
31	Dibromchlormethan	16,94			x			
32	1,2-Dibrommethan	17,18						x
33	Chlorbenzol	18,08					x	

	Klassifizierung	RT	A	B	C	D	E	F
34	1,1,1,2-Tetrachlorethan	18,2		x				
35	Ethylbenzol	18,25						x
36	m-Xylol	18,47						x
37	p-Xylol	18,47						x
38	o-Xylol	19,24						x
41	Bromoform	19,63			x			
40	Isopropylbenzol	19,95						x
42	1,1,2,2-Tetrachlorethan	20,49				x		
45	Brombenzol	20,58					x	
43	1,2,3-Trichlorpropan	20,59		x				
44	n-Propylbenzol	20,76						x
47	2-Chlortoluol	20,95					x	
46	1,3,5-Trimethylbenzol	21,09						x
48	4-Chlortoluol	21,15					x	
49	tert.-Butylbenzol	21,73						x
50	1,2,4-Trimethylbenzol	21,82						x
51	sec.-Butylbenzol	22,15						x
56	1,3-Dichlorbenzol	22,38					x	
52	p-Isopropyltoluol	22,41						x
53	1,4-Dichlorbenzol	22,54					x	
55	n-Butylbenzol	23,18						x
54	1,2-Dichlorbenzol	23,24					x	
57	1,2-Dibrom-3-Chlorpropan	24,63				x		
58	1,2,4-Trichlorbenzol	26,18					x	
59	Hexachlorbutadien	26,51				x		
60	Naphthalin	26,67						x
61	1,2,3-Trichlorbenzol	27,18					x	

A: Freone  
 B: Chlorierte Lösungsmittel  
 C: Haloforme und Halone  
 D: Halogenierte Aliphaten  
 E: Halogenierte Aromaten  
 F: BTEX und Benzinbestandteile

#### Purge- and Trapbedingungen:

Ausblaszeit: 11 min  
Aufheiztemperatur:  
Vor Desorption: 245°C  
Desorption: 2 min bei 250°C  
Ausheizen: 4 min bei 260°C  
Purge ready Temperatur: <30°C  
Adsorptionstrap: Vocarb 3000 (Supelco)  
Purge flow : 40 ml/min  
Purge Time: 11min  
Purge Ready Temp: <30°C  
Dry purge time: 0 min  
Desorb time: 2min  
Bake time: 4min  
Desorb Preheat Temp: 245°C  
Desorb Temp: 250°C  
Bake Temp: 260°C  
MCS Bake Temp: 300°C  
3000 Line Temp: 150°C

Trennsäule: DB 624, 60 m, 0,32 mm ID  
Filmdicke: 1,8µm  
Trägergas: Helium  
Temperaturprogramm: 35°C (5 min)  
20°C/min auf 50°C  
7°C/min auf 150°C  
10°C/min auf 200°C  
(5 min)  
MS-Bedingungen: EI-Scanmodus (35-270amu)  
(MSD5973)

die relativen Intensitäten, beziehungsweise die Massenspektren und Bibliothekssuche bei unbekanntem Verbindungen.

Die Quantifizierung läuft über eine interne Standardkalibrierung (IS1=1,4-Difluorbenzol und IS2=Chlorbenzol-d5). Pentafluorbenzol und 1,4-Dichlorbenzol-d4 dienen als Systemmonitoring-Substanzen.

#### Zusammenfassung:

Die PUT-Untersuchung auf VOC`s nach DIN EN ISO 15680 [1] stellt eine geeignete Alternative zur häufig angewandten Untersuchungsmethode mittels statischer Headspaceanalytik dar [10].

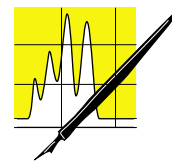
Die Vorteile der Methode liegen vor allem in der Unabhängigkeit vom Verteilungskoeffizienten der Analyten sowie der luft- und wasserfreien Überführung der Analyten in das Trenn- und Detektionssystem. Mit dem vorgestellten PUT-GC/MS-Analysensystem kön-

nen eine Vielzahl relevanter flüchtiger Verbindungen verschiedener Verbindungsklassen analysiert werden. Es werden Bestimmungsgrenzen von 0,1-10ng/l erreicht.

Die Selektivität und Sensitivität sowie die vollständige Automatisierbarkeit machen das Untersuchungsverfahren im Umwelt- und Wasserbereich zu einer geeigneten Methode für die Bestimmung flüchtiger organischer Verbindungen im ppt- und ppb-Bereich. **CLB**

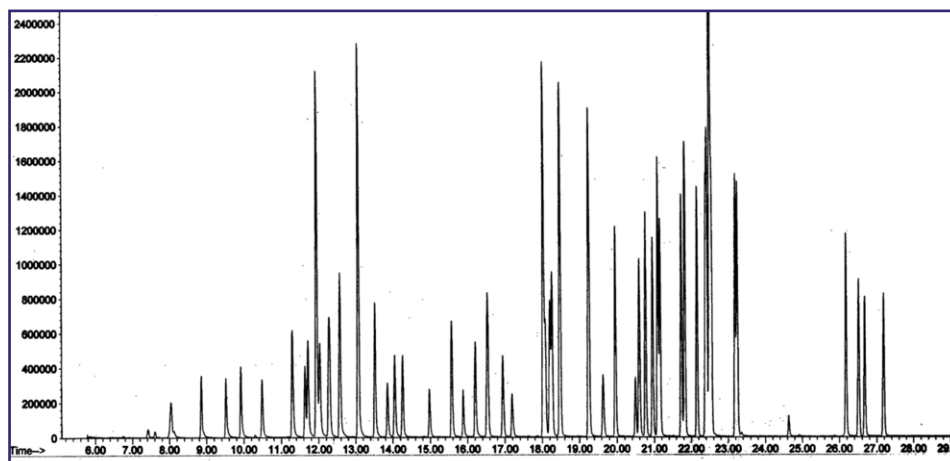
#### Literatur

- [1] Deutsches Institut für Normung [2004] DIN EN ISO 15680:2004:Gaschromatographische Bestimmung einer Anzahl monocyclischer aromatischer Kohlenwasserstoffe Naphthalin und einiger chlorierter Substanzen mittels Purge- und-Trap-Anreicherung und thermischer Desorption (F19)
- [2] Bellar, T. A.; Lichtenberg, J.J.:J. Amer. Water Works Assoc. 66 (1974) 739
- [3] Kopfler, F.C.; Melton, R. G.; Lingg, R.D.; Coleman, W.E.: in Keith, L.H. (Hrsg): Identification and analysis for organic pollutants in water, Ch. 6. Ann Arbor: Ann Arbor Science Publ. Inc. 1976
- [4] Thomason, M.; Shoults, M.; Bertsch, W.: Chromatogr. 158(1978) 437
- [5] Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch – TrinkwV 2001, Trinkwasserverordnung Vom 21. Mai 2001, BGBl. I Nr. 24 vom 28.5.2001 S. 959; 25.11.2003 S. 2304
- [6] MacLeod G. u. Ames, J.M.: Comparative Assessment of the Artefact Background on Thermal Desorption of Tenax GC and Tenax TA, J. Chromatogr. 355, 393-398 (1986)
- [7] Betz, W. R. u. Firth M.C.: Monitoring Volatile, Semivolatile and Non Volatile Organic Compands in Enviromental Semples Using Multi-Bed Adsorbent Tubes Supelco Park, Bellefonte, PA 16823-0048 (USA) (1989)
- [8] Lendero, L. Gerstel, E.u. Gerstel, J.: The Alternative Injektion Technique for GC-Capillaries: Automated Cooled Injektion. 8. Internat. Symp. On Capillary Chrom., Riva del Garda, Italy, 1. Buch 342-351 (1987)
- [9] Purgables-Method 524.2 EPA-Test Method Rev. 3.0 (1989)
- [10] Purgables-Method 624. EPA-Test Method (Juli 1982)
- [11] Purge-and-Trap for Aqueous Samples Method 5030C-EPA-Test Method Rev. 3 (2003)



AUFSÄTZE

Abbildung 7: Chromatogramm der 61 Analyten und Internen Standards (Trennsäule DB 624).



# Analysis of dissociated organo-phosphorus pesticides

Jens Dahlmann, Kristin von Czapiewski, Darmstadt; André Schreiber, Concord/Canada; Friedrich Werres, Mülheim/Ruhr; Werner Engewald, Leipzig

## Abstract

An anion exchange high performance liquid chromatographic method with mass spectrometric detection was developed for the trace analysis of dissociated organophosphorus herbicides, glufosinate, glyphosate, 3-methylphosphinicpropionic acid (MPPA), as well as aminomethyl-phosphonic acid (AMPA), the major metabolite of glyphosate in water samples. Time consuming and laborious enrichment, clean up, and derivatisation can be fully omitted by using this method. Due to the high sensitivity of the mass spectrometer employed in this study a limit of quantification (LOQ) for the investigated compounds of 0.1 µg/L can be achieved allowing direct analysis of surface and drinking water in correspondence with the European guideline for water quality.

## Introduction

Glyphosate [(N-phosphonomethyl)glycine] is a broad-spectrum, non-selective, post-emergence herbicide used for weed and vegetation control. The structure of glyphosate is given in Figure 1. Its main degradation product is aminomethylphosphonic acid (AMPA). The determination of both compounds in the low concentration range (0.1–1 µg/L) is difficult mainly because of their high polarity and solubility in water. The pKa values for glyphosate in aqueous solution correspond to the proton dissociation

reactions shown below. The values for pK1, pK2 and pK3 are 2.27, 5.58 and 10.25 respectively. There is an interest in sensitive analytical methods for the monitoring of this herbicide in water. A recently published review article summarizes the investigations for the detection of phosphonic and amino acid group-containing pesticides [1]. Especially precolumn derivatization with 9-fluorenylmethylchloroformate (FMOC) was applied to determine glyphosate, AMPA and glufosinate in water during the recent years [2 and 3]. These ionic compounds have also been determined in water by liquid chromatography with mass spectrometry (LC/MS) after derivatization with FMOC, achieving quite low detection limits and quantitative recoveries at low concentrations [4 and 5]. The use of gas chromatography coupled to MS (GC/MS) [6] or tandem MS (GC/MS/MS) [7] has also been described for the determination of glyphosate and AMPA residues in water. Often, an extensive sample treatment is required to reach low concentration levels in water. Due to the amphoteric character of glyphosate and AMPA, both anionic and cationic resins have been used for preconcentration and clean-up purposes [6–9].

The aim of the present paper is now to fully omit laborious enrichment steps as well as derivatisation of the compounds of interest by using anion exchange high performance liquid chromatographic method in line with a highly sensitive mass spectrometric detection to enable quantification of glyphosate, glufosinate, MPPA and AMPA at a concentration as low as 0.1 µg/L in water samples.

## Materials and Methods

### Chemicals

Glufosinate, glyphosate, 3-methylphosphinicpropionic acid (MPPA), as well as aminomethyl-phosphonic acid (AMPA) standards (Pestanal) were obtained from Sigma-Aldrich, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Munich, Germany. The standards were dissolved in methanol/water (50:50, v:v). The stock standard solution was diluted with methanol/water (50:50, v:v) to the measured concentrations ranging from 1000 µg/mL–0.1 µg/L.

Methanol and water for liquid chromatography obtained from VWR International GmbH, Darmstadt Germany were gradient grade. Citric acid and trimethylamine we-

### The Authors

**Dr. Kristin von Czapiewski** and **Dr. Jens Dahlmann** are support specialists at Applied Biosystems in Darmstadt. Dahlmann received his PhD at the University of Jena; title: „Analytik und Strukturaufklärung cyanobakterieller Hepatoxine“. He wrote already in CLB in issue 02-2003 on „LC/MS von Algen- und Cyanobakterientoxinen“. Czapiewski received her PhC at the University of Cologne; title: „Untersuchungen zu Emissionen von flüchtigen organischen Verbindungen aus Biomasseverbrennung“. **Prof. Dr. Werner Engewald** studied in Leipzig, received his PhD there in 1968 and is now Professor for Analytical Chemistry. He chairs the working group of Separation Science of the German Chemical Society (Gesellschaft Deutscher Chemiker GDCh). **Dr. Friedrich Werres** received his PhD at the University of Bochum. Since 1986 he works at the „IWW Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasser“ in Mülheim/Ruhr, responsible for the organic-chemical analytic. **Dr. André Schreiber** was support specialist at Applied Biosystems in Darmstadt and is now application chemist at MDS Sciex in Ontario, Canada.



re obtained from Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Munich, Germany. Nitrogen for the electrospray source and for the collision cell of the LC/MS/MS system was obtained from AirLiquide, Frankfurt/Main, Germany. All chemicals were at least analytical grade.

### Sample material

Surface water samples were collected from a pond located in the industrial area of Darmstadt, Germany as well as from the river "Ruhr" close to the city of Mülheim, Germany. All field samples were taken from 0.5 m water depth.

### Sample preparation

Aqueous samples were filtered using 0.25 µm PTFE syringe filters (Roth, Karlsruhe, Germany). The extracts were directly subjected to LC/MS/MS analysis.

### LC/MS/MS determination of the individual toxins

LC separation of dissociated organophosphorus herbicides was performed with a Shimadzu Integrated System SCL 10 Avp, Pump LC 10 Advp, autosampler SILHTA and oven CTO10Acvp (all Shimadzu, Duisburg, Germany). The chromatographic separation was carried out on an IonPac AS11-HC Anion-Exchange Column, 2 x 50 mm (Dionex, Idstein, Germany) using gradient elution (Table 1). The injection volume ranged from 10 to 60 µL.

MS measurements were performed using an API 4000TM LC/MS/MS system equipped with a Turbo V TM source operating in electrospray mode (Applied Biosystems/MDS Sciex, Concord, Canada). Methanol with a flow rate of 200 µL/min was added to the eluate from the LC column (post column addition) and after mixing transferred to MS ion source. The eluate mixture was evaporated by heated nitrogen, 650 °C, 70 psi. Nitrogen was also used as nebulizer gas at 50 psi. The ionization voltage of the ESI source was set to -4200 V.

The MS system was operated in negative Multiple Reaction Monitoring (MRM) mode to give highest sensitivity and selectivity. All ion depending parameters are summarized in Table 2.

### Linearity, Repeatability, Precision and Limit of Quantification

The repeatability and linearity of the LC/MS/MS method were examined by injecting a series of solutions containing different concentrations of glufosinate, glyphosate, 3-methylphosphinopropionic acid (MPPA), as well as aminomethylphosphonic acid (AMPA). Each analyte solution was injected 10 times. The limits of quantification for the different pesticides were calculated

Table 1: Eluent composition and gradient used for the LC setup (anion exchange chromatography).

Step	Total Time (min)	Flow Rate (µl/min)	A (%)	B (%)
0	0.00	300	0.0	100.0
3	1.00	300	10.0	90.0
4	5.00	300	30.0	70.0
5	7.00	300	30.0	70.0
6	8.00	300	0.0	100.0
7	15.00	300	0.0	100.0

Mobile Phase A: HPLC grade water. Mobile Phase B: 100 mM citric acid in water, pH adjusted to 11.0 with triethylamine. Post column addition by means of a t-piece of methanol was used. Flow 0.2 µl/min.

Table 2: Individual parameter settings for the used mass transitions in MRM mode on the API 4000TM LC/MS/MS system.

Analyte name	DP	1. MRM	CE	2. MRM	CE
AMPA	-50	110/81	-18	110/63	-34
MPPA	-50	151/107	-22	151/63	-34
Glyphosate	-45	168/63	-32	168/81	-20
Glufosinate	-51	180/85	-26	180/63	-52

from the chromatograms, at a signal-to-noise-ratio of > 10:1.

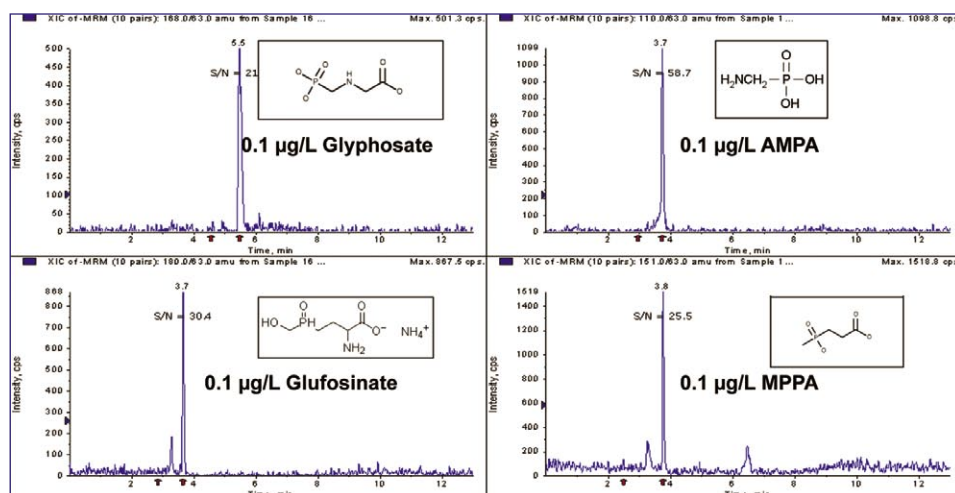
Quantitative determination of the compounds under investigation was carried out by comparing peak areas in sample chromatograms with the corresponding peak areas obtained from pesticide standards (external calibration).

## Results and Discussion

Glyphosate [(N-phosphonomethyl)glycine] is a broad-spectrum, non-selective, post-emergence herbicide used for weed and vegetation control. Observations from pesticide analyses in various laboratories showed



Figure 1: Spiked surface water sample, glyphosate, AMPA, glufosinate, and MPPA, each 0.1 µg/L, 10 µl inj. The chemical formulas and signal/noise values are given in each pane.



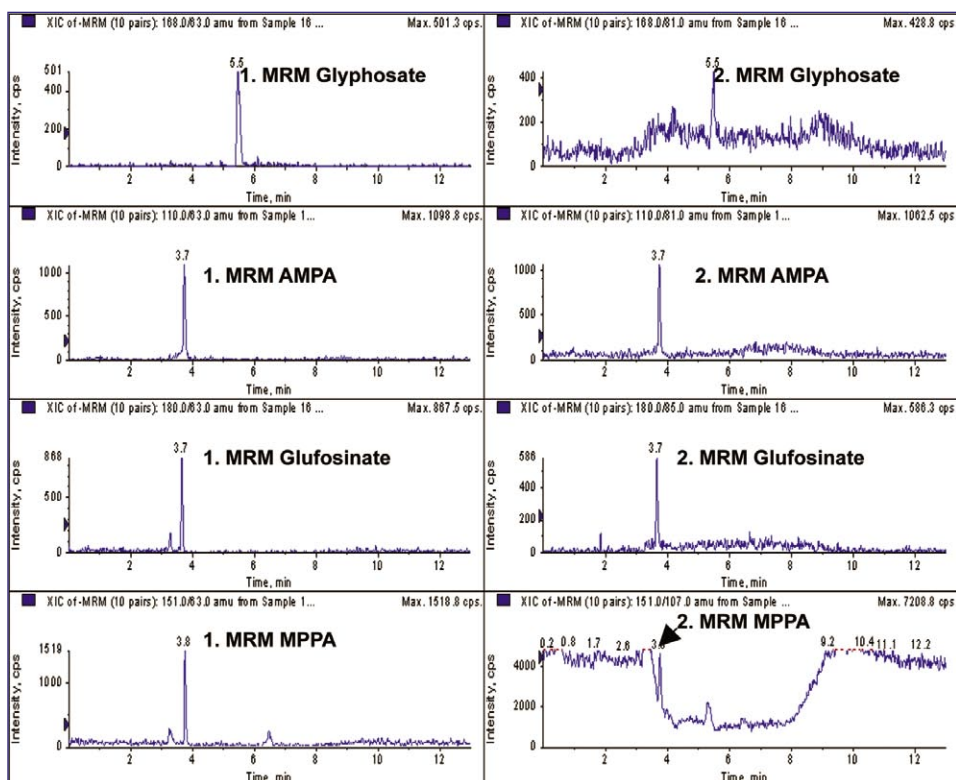


Figure 2: Spiked surface water sample, glyphosate, AMPA, glufosinate, and MPPA, each 0.1  $\mu\text{g/L}$ , 10  $\mu\text{l}$  inj. The qualifier MRM is given in addition to the quantifier.

that surface water often contains dissociated organophosphorus herbicides. The determination of these compounds in the low concentration range (0.1-1  $\mu\text{g/L}$ ) is difficult mainly due to their high polarity and solubility in water. The presented anion exchange high performance liquid chromatographic (HPLC) method in line with a highly sensitive mass spectrometric (MS) detection allows determination of glufosinate, glyphosate, 3-methylphosphinopropionic acid (MPPA), and aminomethyl-phosphonic acid (AMPA) in the low concentration range (0.1  $\mu\text{g/L}$ ) without enrichment and/or derivatisation steps.

The pesticides of interest were retained on the stationary phase of the LC column and mainly separated from matrix compounds. Thus, ion suppression of analytes by matrix was not observed. A distinction of the individual compounds under investigation is possible by the different MRM transitions (Figure 2). By using volatile buffers for the anion exchange chromatography (citric acid and triethylamine) a direct coupling to MS/MS is possible.

Table 3: Results from determination of standard deviation and variation coefficient of the reproducibility, in percent (% CV) for glyphosate (0.1  $\mu\text{g/L}$  to 1000  $\mu\text{g/L}$ ). The other three analytes AMPA, glufosinate, and MPPA showed CV < 5 %. The number of repeated injections was 10 for each concentration.

Concentration	0.1 $\mu\text{g/L}$	1 $\mu\text{g/L}$	10 $\mu\text{g/L}$	100 $\mu\text{g/L}$	1000 $\mu\text{g/L}$
Mean	0.11	0.92	9.6	98.3	1002
Low	0.11	0.86	9.3	97.1	997
High	0.12	0.98	10.1	99.9	1006
Std. Dev.	0.01	0.04	0.2	0.90	2.8
% CV	3.6	4.8	2.3	0.9	0.3

The relatively high concentration of citric acid is needed for the chromatographic set-up but not decreasing the ion yield in the electrospray ion source. However, the maximum concentration of citric acid never exceeds 30 mM after mixing with the second eluent. The post column addition of methanol enhances the sensitivity due to the dilution of buffer salts. An increased organic content of the eluent also gives better ion yields within electrospray ionization. Matrix interferences may hamper quantification. Thus, a second qualifier is always monitored for glufosinate, glyphosate, MPPA, and AMPA to verify or falsify positive results. This qualifier is also monitored with sufficient signal intensity at the LOD of 0.1  $\mu\text{g/L}$ . Working in the low concentration range always demands minimization of carry-over effects in the autosampler or on the LC column. However, injection of solvent blanks is recommended after measuring high concentrated samples. Fortunately,

no carry-over could be observed. The method was applied in the determination of dissociated organophosphorus herbicides in various surface water samples and in drinking water. A surface water sample obtained from the river "Ruhr" with a high matrix burden is shown in Figure 3.

When a new IonPac AS11-HC column is installed the stationary phase should be equilibrated with a mixture of eluent A and B (50:50, v:v) for about two hours prior to analyse standards and samples.

#### Method calibration and validation

Table 3 lists the statistical parameters for the determination of the investigated pesticides. For all compounds, correlation coefficients are provided to illustrate the linearity of the calibration curves regarding the calibration range from 0.1  $\mu\text{g/L}$  to 1000  $\mu\text{g/L}$  in matrix (Figure 4). The mean values of the peak areas, and their relative standard deviations (RSD) demonstrate the good precision and repeatability of the method. Most RSDs were less than 5 %. The limit of quantification (LOQ) of the different organophosphorus herbicides was determined to be 0.1  $\mu\text{g/L}$  in spiked surface water. The used injection volume for all standards and samples was 10  $\mu\text{L}$ . The injection volume can be increased to 100  $\mu\text{L}$  with minor peak broadening.

This allows to monitor dissociated organophosphorus herbicides according to the European guideline for water quality [10] where 0.1  $\mu\text{g/L}$  is indicated at the maximum concentration of each individual toxin. The absolute limit of detection (LOD, signal-to-noise-ratio of > 3:1) on the



API 4000 TM LC/MS/MS system can be determined with 0.02 µg/L by using the described method.

## Conclusion

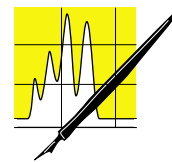
The presented method for determination of several organophosphorus herbicides proved to be a powerful tool for environmental analysis of surface waters as well as the analysis of these compounds in drinking water. The water samples can be injected directly into the LC/MS/MS system, and a single chromatographic run last only 12 minutes. Time consuming and laborious enrichment, clean-up, and derivatisation can be fully omitted by using this method. **CLB**

## Acknowledgement

The authors thank Yuriko Ozeki and Joaquim Soares-Granja (Applied Biosystems, Japan and France) for scientific co-operation.

## References

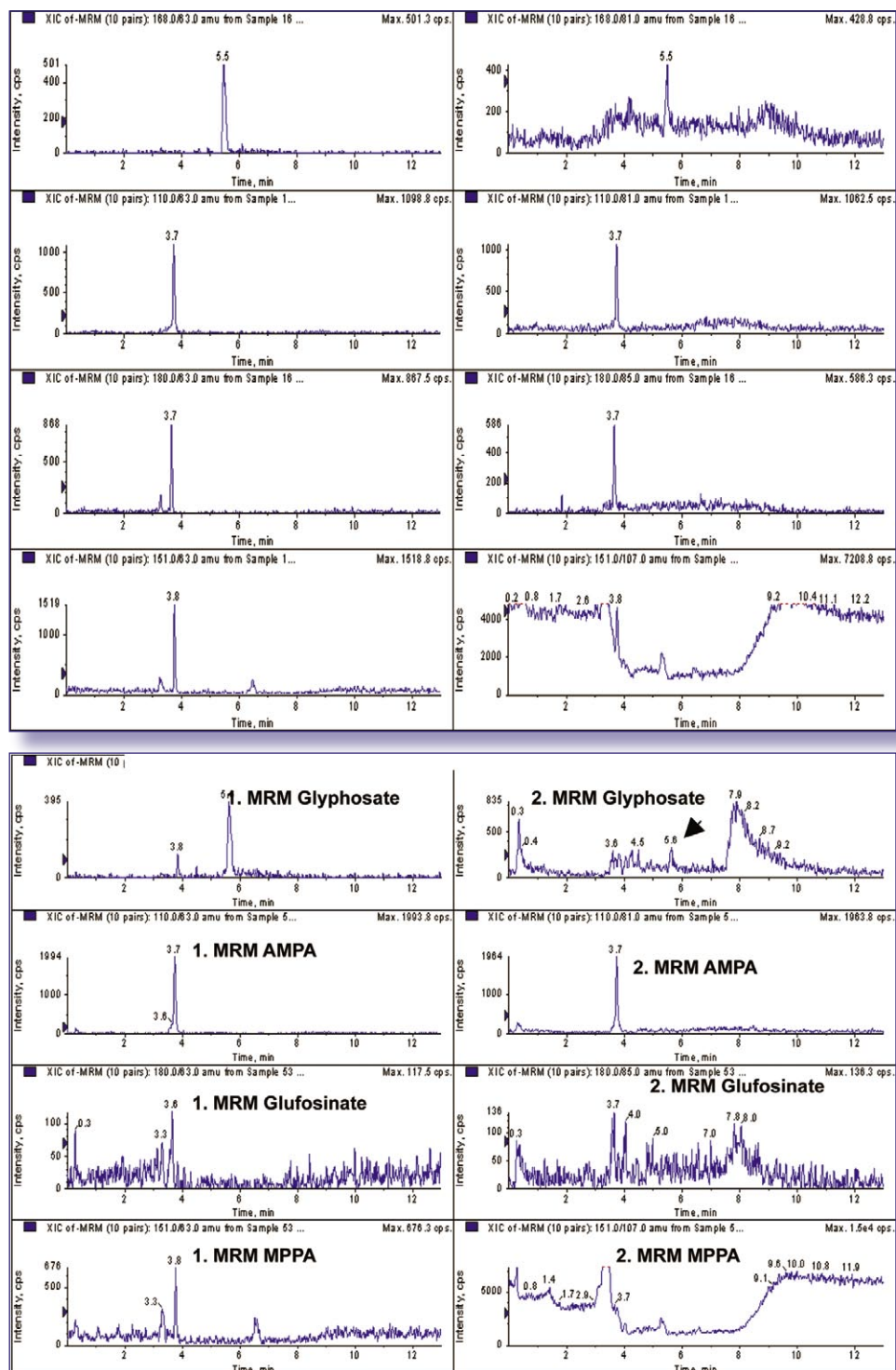
- [1] C. D. Stalikos and C. N. Konidari. J. Chromatogr. A 907 (2001), p. 1.
- [2] J.V. Sancho, F. Hernández, F.J. Lopez, E.A. Hogendoorn, E. Dijkman and P. Van Zoonen. J. Chromatogr. A 737 (1996), p. 75.
- [3] G. Zhong-Xian, C. Qiantao and Y. Zhaoguang. J. Chromatogr. A 1100 (2005), p. 160.
- [4] L. Grey, B. Nguyen and P. Yang. J. AOAC Int. 84 (2001), p. 1770.
- [5] E.A. Lee, A.P. Strahan, E.M. Thurman, Methods of analysis by the U.S. Geological Survey Organic Geochemistry Research Group, Open-File Report 01-454, U.S. Department of the Interior, U.S. Geological Survey, Lawrence, KS, 2002.
- [6] E. Börjesson and L. Torstensson. J. Chromatogr. A 886 (2000), p. 207.
- [7] A. Royer, S. Beguin, J.C. Tabet, S. Hulot, M.A. Reding and P.Y. Communal. Anal. Chem. 72 (2000), p. 3826.
- [8] E. Mallat and D. Barceló. J. Chromatogr. A 823 (1998), p. 129.
- [9] J. Patsias, A. Papadopoulou and E. Papadopoulou-Mourkidou. J. Chromatogr. A 932 (2001), p. 83.
- [10] ECC Council Directive 80/778/ECC, Off. J. European Communities, No. L 229, August 30, 1980, p 11.



**AUFsätze**

Figure 3: Real sample of the river "Ruhr", Germany: Glyphosate 0.1 µg/L, AMPA 0.6 µg/L, Gufosinate and MPPA below LOD.

Figure 4 (below): Calibration curve for glyphosate (upper left), glufosinate (upper right), MPPA (lower left), and AMPA (lower right) in drinking water, conc. 0.1 µg/L to 1000 µg/L, 10 injections per concentration.



# Anreicherungsfreie LC-MS-Analytik im Ultra-Spuren-Bereich

Wolfram Seitz, Wolfgang Schulz und Walter H. Weber, Langenau

Die organische Spurenanalytik mittels Massenspektrometrie (MS) hat sich innerhalb der letzten 50 Jahre im Bereich der Gas- und Flüssigkeitschromatographie (GC und HPLC) zu einem unverzichtbaren Instrument der modernen Analytik entwickelt. 1953 wurden die heute weit verbreiteten Quadrupol- und Ionenfallen-Massenfilter von Wolfgang Paul (Nobelpreis 1989) erfunden [1]. Bereits 1956 waren die ersten GC-MS-Systeme verfügbar, die es erlauben leicht flüchtige organische Verbindungen selektiv zu detektieren [2]. Die Kopplung der flüssigen Phase der HPLC mit dem Hochvakuum des Massenspektrometers gestaltete sich deutlich schwieriger. Doch schon 1968 wurde die hierzu notwendige technische Grundlage der Atmosphärendruck-Ionisation von Dole und anderen beschrieben [3]. Jedoch erst Ende der 1980er Jahre erkannte John Fenn (Nobelpreis 2002) die Einsatzmöglichkeit der Elektrospray-Ionenquelle für Biomoleküle [4]. Anschließend hat die HPLC-MS eine rasante Entwicklung durchlaufen, über Stationen wie beispielsweise das orthogonale Elektrospray bis zu immer empfindlicheren Systemen, die es heute für viele Anwendungen ermöglichen, eine anreicherungsfreie Analytik im Ultra-Spuren-Bereich zu betreiben.



Schulz



Seitz



Weber

## Die Autoren

**Wolfram Seitz** studierte Chemie an der Hochschule Aalen und promovierte derzeit in Zusammenarbeit mit der University of Surrey (England) im Betriebs- und Forschungslaboratorium des Zweckverbandes Landeswasserversorgung (LW) auf dem Gebiet der Wasseranalytik und Wasserchemie.

**Dr. Wolfgang Schulz** arbeitete nach abgeschlossenem Chemiestudium an der Hochschule Aalen und anschließendem Studium der Physik an der Universität Stuttgart seit 1988 im Umweltlabor der wave GmbH in Stuttgart als technischer Laborleiter. Dr. Schulz promovierte an der Universität Lüneburg im Fachbereich Umweltwissenschaften und ist seit 2005 im Betriebs- und Forschungslaboratorium der LW als Laborleiter tätig.

**Dr. Walter Weber** studierte an den Universitäten Clausthal-Zellerfeld und Stuttgart Chemie sowie Lebensmittelchemie und promovierte anschließend an der Universität Hohenheim in Organischer Chemie. Nach einigen Jahren als Leiter der Zentralen Messabteilung der CVUA Sigmaringen leitet er seit 1990 das Betriebs- und Forschungslaboratorium der LW.

## Direkt- und Verbundverfahren

Derzeit werden polare organische Spurenstoffe wie beispielsweise Pestizide, pharmazeutische Wirkstoffe sowie Röntgenkontrastmittel üblicherweise als Einzelstoffe mittels HPLC und massenspektrometrischer Detektion nach einer Aufkonzentrierung durch Festphasen-Extraktion (Verbundverfahren) im ng/L-Bereich bestimmt [5, 6]. Da die Anreicherung der Spurenstoffe aus Wasser zeit- und kostenintensiv ist und sich zudem bei sehr wasserlöslichen Verbindungen wie im Falle des Acrylamids als schwierig erweist, wurden im Betriebs- und Forschungslaboratorium der Landeswasserversorgung (LW) Verfahren zum anreicherungs-freien Nachweis dieser Stoffe im Ultraspurenbereich entwickelt. Hierzu kam ein hochempfindliches Triple-Quadrupol-Massenspektrometer (Applied Biosystems/MDS Sciex API 4000 Qtrap) zum Einsatz, welches über eine Elektrospray-Ionenquelle an das Flüssigchromatographie-System (Agilent Technologies 1100 Series) gekoppelt wurde. Als Eluenten fanden Mischungen aus Wasser, Acetonitril bzw. Methanol mit Zusätzen von Ameisensäure, Essigsäure oder Ammoniumacetat als Ionisierungshilfsmittel Verwendung. Bei der Flüssigchromatographie wurden verschiedene Umkehrphasen (Phenomenex Luna, Synergi oder Trentec Reprosil) mit Flussraten von 0,2 bis 0,6 mL/min eingesetzt.

Zur Detektion der Substanzen werden Massenübergänge (MS/MS) aus Vorläufer- und Fragmentationen genutzt, die eine hohe Selektivität des Verfahrens gewährleisten. Als allgemein anerkannt gilt, dass eine Substanz unter Verwendung von zwei Massenübergängen sicher identifiziert werden kann.

Bei der so genannten anreicherungs-freien oder auch direkten Analytik wird auf die Probenextraktion verzichtet (Direktverfahren), wobei die Wasserproben nahezu unmittelbar nach der Probenahme und dem Transport in das Labor analysiert werden können [7]. Für eine Injektion kommen lediglich 100  $\mu$ L Wasserprobe zum Einsatz. Abbildung 1 zeigt die Gegenüberstellung des Direktverfahrens mit dem Verbundverfahren. Die Vorteile des Direktverfahrens sind:

- Verkürzte Analysenzeit: Einsparung von ca. einem Tag für Probenvorbereitung

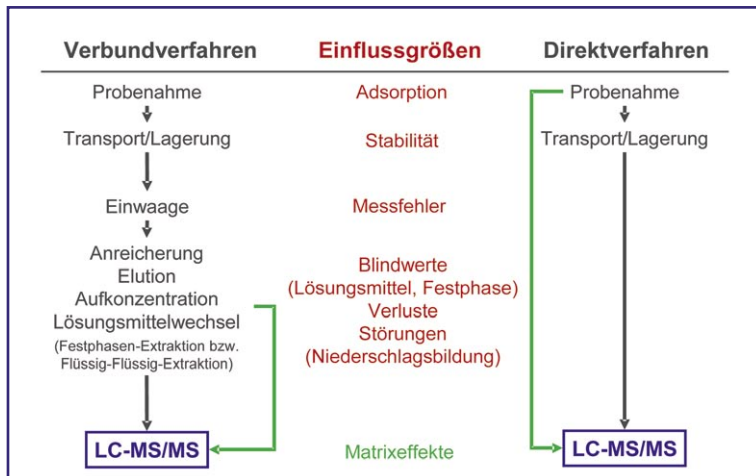


Abbildung 1: Vergleich von analytischen Direkt- und Verbundverfahren mittels HPLC-MS/MS.

- Verbesserte Robustheit aufgrund von weniger notwendigen Analysenschritten
- Analyse von schwierig zu extrahierenden Substanzen möglich (Beispiele sind Acrylamid oder iodierter Röntgenkontrastmittel)
- Eigenständiges Verfahren ermöglicht die analytische Absicherung von positiven Befunden
- Verringerte Transportkosten aufgrund von geringen erforderlichen Probenvolumina

Ein weiterer Vorteil des Direktverfahrens ist neben der Vereinfachung der HPLC-MS-Methoden (Verzicht auf die Probenvorbereitung und dadurch Reduzierung von Kosten), die Minimierung von Matrixeffekten bei der Messung, die bei herkömmlichen Verfahren i.d.R. aufwendig durch eine matrixangepasste Kalibrierung oder Standardaddition kompensiert werden müssen.

Es handelt sich hierbei um multiplikative Effekte, wobei koeludierende Probenbestandteile die Empfindlichkeit der Ionisation der HPLC-MS/MS-Messung beeinflussen können. Es sind signalverstärkende oder signalunterdrückende Effekte möglich. Die Konzentrationen der Substanzen, die in ihren chemischen Eigenschaften den Analyten sehr ähnlich sind, sind in angereicherten Wasserproben meist größer. Die Wahrscheinlichkeit einer gegenseitigen Beeinflussung dieser Probenbestandteile bei der Ionisation ist somit erhöht. Beim Direktverfahren wird im Unterschied hierzu die gering konzentrierte Wasserprobe untersucht.

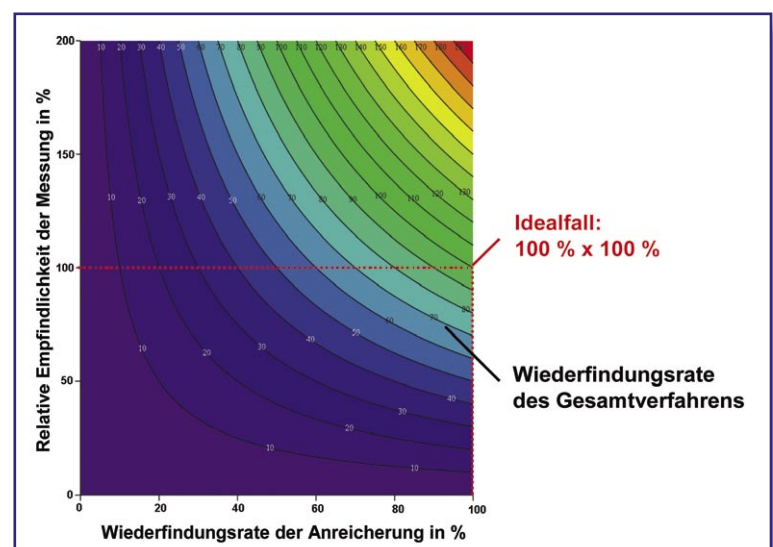
Die Wiederfindungsrate des Gesamtverfahrens ergibt sich im Fall von Verbundverfahren aus dem Produkt der Wiederfindungsrate der Anreicherung und der relativen Empfindlichkeit der Messung (Abbildung 2). Die Ursache für eine niedrige Wiederfindungsrate kann somit auch ein signalunterdrückender Effekt bedingt durch die Probenmatrix sein. Lösungen für die geschilderte Problematik sind neben der Möglichkeit einer matrixangepassten Kalibrierung die Aufreinigung der Probe bzw. des Probenextrakts oder deren Verdünnung mit matrix- und analytfreiem Lösungsmittel, was jedoch eine ausreichend hohe Empfindlichkeit des Analysensystems erforderlich macht.

## Anwendungen der anreicherungs-freien Analytik

Mit Hilfe der Kombination aus Flüssigchromatographie und hochempfindlicher massenspektrometrischer Detektion können verschiedenste organische Spurenstoffe nachgewiesen werden. Beispiele sind Arznei- und Röntgenkontrastmittel, Pestizide wie Triazine und Hydroxytriazine, Sulfonylharnstoffe sowie Acrylamid. Letzteres kann durch den Einsatz von Flockungshilfsmitteln bei der Wasseraufbereitung in das Trinkwasser eingetragen werden. Viele der genannten Substanzen können anreicherungs-frei mittels HPLC-MS/MS bestimmt werden. In Abbildung 3 ist ein Chromatogramm des anreicherungs-freien Nachweises von Atrazin und mehreren Abbauprodukten mit einer Konzentration von 100 ng/L exemplarisch dargestellt.

Nachweisgrenzen von 10-25 ng/L sind beim Direktverfahren häufig möglich, wobei diese stark von

Abbildung 2: Abhängigkeit der Wiederfindungsrate des Verbundverfahrens HPLC-MS/MS nach Festphasen-Extraktion von der Wiederfindungsrate der Anreicherung und der relativen Empfindlichkeit der Messung.



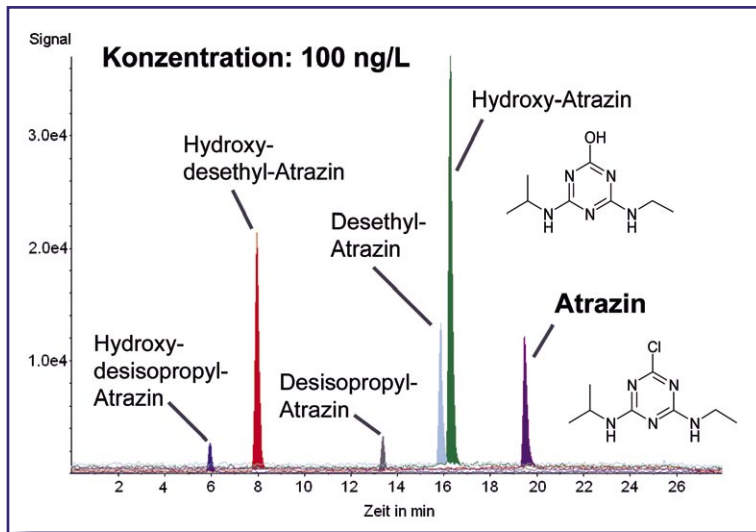


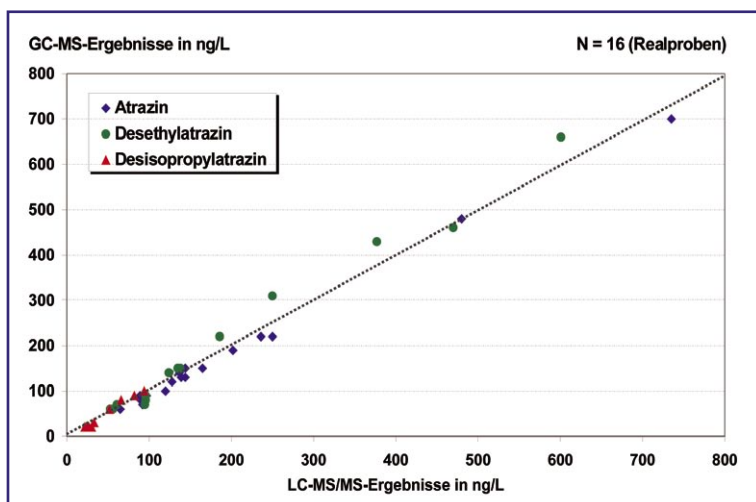
Abbildung 3: Anreicherungsfree Detektion/L von Atrazin und ausgewählten Abbauprodukten in Wasser mittels HPLC-MS/MS.

der Ionisierbarkeit der Substanzen abhängig sind. In Einzelfällen lassen sich selbst Konzentrationen im einstelligen ng/L-Bereich anreicherungsfree detektieren. Im Falle weniger gut zu ionisierender Substanzen wie den Röntgenkontrastmitteln liegen die Nachweisgrenzen jedoch bis zu einer Dekade höher [7]. Weiterhin sind mit Hilfe sehr empfindlicher HPLC-MS/MS-Systeme und einem zusätzlichen Anreicherungsschritt Nachweisgrenzen unterhalb von 1 ng/L prinzipiell möglich.

### Untersuchungsergebnisse

Die anreicherungsfree Analytik wurde zur Bestimmung von Atrazin und seinen Hauptabbauprodukten Desethyl- und Desisopropylatrazin sowie den hydroxylierten Abbauprodukten in verschiedenen Grundwasserproben eingesetzt. Parallel hierzu konnten im Falle

Abbildung 4: Vergleich des Direktverfahrens mittels HPLC-MS/MS mit dem Verbundverfahren GC-MS nach Festphasen-Extraktion anhand verschiedener Grundwasserproben.



der nicht-hydroxylierten Substanzen die ermittelten Analysenergebnisse mit Hilfe des klassischen Verfahrens unter Verwendung der GC-MS-Technik nach Anreicherung bestätigt werden. Die Ergebnisse des Direktverfahrens und des Verbundverfahrens sind in Abbildung 4 gegenübergestellt.

Des Weiteren kann die anreicherungsfree Analytik aufgrund der stark verkürzten Analysendauer zur zeitnahen Überwachung der Wasserressourcen bei der LW eingesetzt werden. Im Wasserwerk Langenau wird neben verschiedenen Grundwasservorkommen auch aus der Donau entnommenes Rohwasser über mehrere Stufen zu Trinkwasser aufbereitet. Das Rohwasser benötigt vom Pumpwerk an der Donau bis ins Wasserwerk ca. 4-5 Stunden. Innerhalb dieser kurzen Zeit ist es dennoch möglich die Untersuchung auf organische Spurenstoffe mit Hilfe der anreicherungsfree HPLC-MS/MS-Analytik durchzuführen. Abbildung 5 zeigt die Ganglinie von zwei Arzneimittelwirkstoffen in der Donau. Die Ergebnisse machen deutlich, dass bestimmte organische Spurenstoffe permanent im Rohwasser enthalten sind. Nach der Wasseraufbereitung, die einen Ozonungs- und Aktivkohlefiltrationsschritt umfasst, waren die Rückstände der pharmazeutischen Substanzen jedoch nicht mehr nachweisbar.

### Ausblick

Die Analytik von polaren organischen Spurenstoffen mittels HPLC-MS/MS hat in den letzten Jahren deutlich an Bedeutung gewonnen. Es ist davon auszugehen, dass beim Vorhandensein entsprechend empfindlicher Analysensysteme die Direktverfahren den bisher eingesetzten Verbundverfahren, die einen Extraktionsschritt umfassen, zukünftig vorgezogen werden.

### Zusammenfassung

Die sichere und schnelle Bestimmung polarer organischer Spurenstoffe wie beispielsweise von Pestiziden, pharmazeutischen Wirkstoffen sowie Röntgenkontrastmitteln oder Acrylamid spielt für die Trinkwasserversorgung eine wichtige Rolle. Derzeit werden diese Spurenstoffe üblicherweise mit Hilfe eines Verbundverfahrens bestehend aus HPLC und tandemmassenspektrometrischer Detektion (MS/MS) nach einer Aufkonzentrierung durch Festphasen-Extraktion bis in den unteren ng/L-Bereich bestimmt. Durch die gesteigerte Empfindlichkeit moderner Analysensysteme ist heute in vielen Fällen ein anreicherungsfree Nachweis (Direktverfahren) im Ultra-Spuren-Bereich möglich. Ein Vorteil des Direktverfahrens ist neben der Vereinfachung der Methodik durch den Verzicht auf die Probenvorbereitung die Minimierung von Matrixeffekten bei der Messung, die bei herkömmlichen Verfahren i.d.R. aufwendig durch eine matrixangepasste Kalibrierung oder Standardaddition kompensiert werden müssen. Es ist davon auszugehen, dass beim Vorhandensein entsprechend empfindlicher Analysen-

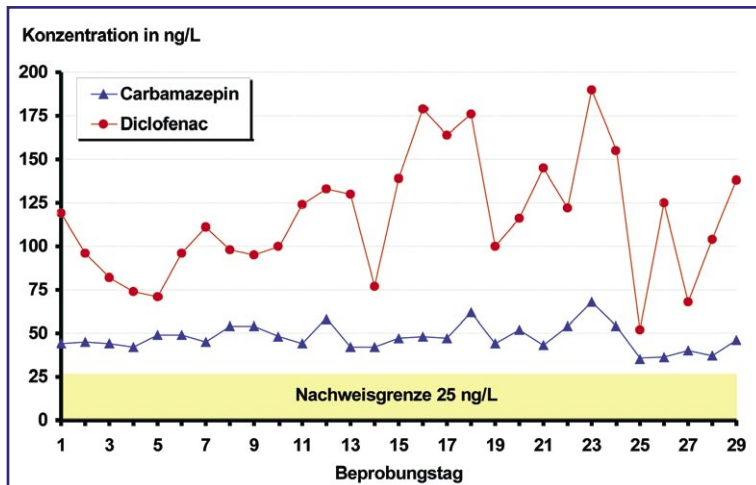


Abbildung 5: Ganglinie von zwei Arzneimittelwirkstoffen in der Donau (Beprobungszeitraum: 21.11-23.12.2005).

systeme die Direktverfahren den bisher eingesetzten Verbundverfahren, die einen Extraktionsschritt umfassen, zukünftig vorgezogen werden.

CLB

#### Literatur

- [1] Paul W., Steinwedel H. Z. (1953): A new mass spectrometer without magnetic field, Z. Naturforsch., 8A, 448-450.
- [2] Gohlke R. S., McLafferty F. W. (1993): Early gas chromatography/mass spectrometry, J. Amer. Soc. Mass. Spec., 4, 367-371.
- [3] Dole M., Mack L. L., Hines R. L., Mobley R. C., Ferguson L. D., Alice M. B. (1968): Molecular beams of macroions, J. Chem. Phys., 49, 2240-2249.
- [4] Fenn J. B., Mann M., Meng C. K., Wong S. F., Whitehouse C. M. (1989): Electrospray Ionization for Mass Spectrometry of Large Biomolecules, Science, 246, 64-71.
- [5] Reupert, R., Brausen, G. (2004): Bestimmung relevanter Arzneimittelwirkstoffe in Gewässern. CLB Chemie in Labor und Biotechnik 55 (3), 88-91.
- [6] Seitz, W., Weber, W.H., Flottmann, D., Schulz, W. (2004): Iodierte Röntgenkontrastmittel in Oberflächen-, Grund- und Trinkwasser, CLB Chemie in Labor und Biotechnik 55 (12), 456-460.
- [7] Seitz, W., Schulz, W., Weber, W. H. (2006): Novel applications of highly sensitive liquid chromatography/mass spectrometry/mass spectrometry for the direct detection of ultra-trace levels of contaminants in water, Rapid Commun. Mass Spectrom., 20, 2281-2285.



Der Jahrgang 2005 ist komplett.

CLB-Einbanddecken 2005 sind noch verfügbar.  
CLB-Einbanddecken 2006 können jetzt vorbestellt werden.

Jede Einbanddecke kostet 11,80 Euro (+MWSt. und Versand).

Richten Sie Ihre Bestellung per e-Mail an [service@clb.de](mailto:service@clb.de) oder per Fax an die Faxnummer 06223 9707 41.

# LC-MS-MS – ein neues analytisches Fenster für polare Spurenstoffe in Wasser

Christian Zwiener, Karlsruhe

Wasser ist eine unersetzliche und lebensnotwendige Ressource und bedarf deshalb eines besonderen Schutzes. Viele anthropogene Aktivitäten hinterlassen jedoch ihre „Spuren“. Diese sichtbar zu machen und zu verfolgen erfordert eine leistungsfähige Analytik, die sich durch Selektivität, Sensitivität und die Möglichkeit zur Identifizierung auszeichnen sollte. Zudem besteht vermehrtes Interesse neben den ursprünglichen Kontaminanten auch deren Transformationsprodukte und Metaboliten zu erfassen, da über diese Produkte wesentliche Erkenntnisse über das Verhalten von Kontaminanten in der aquatischen Umwelt und in der Wassertechnologie erhalten werden können. Dabei erweist sich die organische Massenspektrometrie gekoppelt mit leistungsfähigen chromatographischen Trennverfahren als unverzichtbares Werkzeug für die Analyse von Grund-, Oberflächen- und Trinkwässern. Die Anwendungen der LC-Tandemmassenspektrometrie soll an zwei Beispielen aus dem Themenbereich Grundwasserkontamination und Desinfektionsnebenprodukte der Wasseraufbereitung erläutert werden. Diese zeigen die Bestimmung von Metaboliten im Grundwasser ehemaliger Gaswerksgebiete und den Nachweis von Carbonylverbindungen als Desinfektionsnebenprodukte der Wasseraufbereitung.

## Wasser als Ressource

Wasser ist neben der Luft und dem Boden ein Kompartiment der Umwelt in das stoffliche Belastungen eingetragen und in dem sie transportiert und transformiert werden können. Deshalb spielt Wasser bei allen internationalen und nationalen Vereinbarungen und Gesetzen zum Erhalt der Umwelt eine zentrale Rolle wie dies anhand der Umweltziele der europäischen Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) deutlich wird. Die Erhaltung einer ausreichenden Wasserqualität ist daher eine unabdingbare Voraussetzung

### Der Autor

Priv.-Doz. Dr. Christian Zwiener ist promovierter Diplom-Chemiker und seit 2005 Privatdozent am Engler-Bunte-Institut der Universität Karlsruhe. Er lehrt in den Fächern Chemie, Wasserchemie und Wassertechnologie. Seine Forschungsinteressen liegen im Bereich der Analytik und des Verhaltens von organischen Spurenstoffen in der aquatischen Umwelt und in der Wassertechnologie. Als Schwerpunkte sind Arzneimittelrückstände, Desinfektionsnebenprodukte und organische Kontaminanten im Untergrund zu nennen. Im Jahre 2001 wurde Herr Zwiener mit dem Forschungspreis der Wasserchemischen Gesellschaft in der GDCh ausgezeichnet.



zung für dessen Nutzung. Dementsprechend spielt eine nachhaltige – d.h. eine auf lange Sicht mit den natürlichen Ressourcen in Einklang stehende – Nutzung eine bedeutende Rolle. Ein besonderer Schutz gebührt dem Grundwasser, das in Deutschland eine der bedeutendsten Ressourcen für die Trinkwasserversorgung darstellt. Eine Überwachung des Grundwassers setzt die Verfügbarkeit entsprechend sensibler und selektiver analytischer Methoden und Instrumente voraus. Denn nur was analytisch messbar und damit erfassbar ist, kann reguliert und qualitativ verbessert werden. Dies gilt auch für die Wasseraufbereitung, die mit Hilfe physikalischer und chemischer Prozesse aus dem der natürlichen Ressource entnommenem Rohwasser beispielsweise Trinkwasser herstellt. Bedingt durch Oxidation und Desinfektion treten bei der Wasseraufbereitung Transformationsprodukte natürlicher und anthropogener Substanzen auf, die identifiziert und überwacht werden müssen. Als populärstes Thema ist hier das Auftreten der sogenannten Desinfektionsnebenprodukte (DNP) zu nennen, deren Vertreter bislang nur zu circa 50 % identifiziert werden konnten.

## Grundwasserkontaminanten in Altlasten

Eine Gefährdung des Grundwassers geht beispielsweise von Teerölrückständen ehemaliger Gaswerksgebiete aus. Grundwasserproben dieser Altlasten enthalten oft eine Vielzahl polyaromatischer (PAK), sowie N-, O- und S-heterozyklischer Kohlenwasserstoffe. Natürlich ablaufende mikrobiologische Prozesse tragen häufig zur Umwandlung und zum Abbau von Schadstoffen bei, das als *Natural Attenuation (NA)* bezeichnet wird. Die Wirkung von NA ist eine kostengünstige Alternative zu anderen Sanierungsmaßnahmen und wird bei Vorliegen der geeigneten Voraussetzungen und Rahmenbedingungen häufig genutzt. Voraussetzung für die Anwendung von NA ist die Anwesenheit von prinzipiell biologisch abbaubaren Kontaminanten und eine entsprechende mikrobiologische Aktivität, die zu einer Verringerung der Schadstoffmasse führt. Das begleitende analytische Monitoring sollte in der Lage sein eine weitere Schadstoffausbreitung zu kontrollieren und möglichst die *in-situ* ablaufenden biochemischen Abbauprozesse anhand von Indikatoren nachzuweisen. Zur Zeit werden bei einem Monitoring häufig nur die unpolaren Hauptkontaminanten berücksichtigt. Polare Kontaminanten und vor allem die beim Bioabbau gebildeten Metaboliten bleiben meist unberücksichtigt. Doch sind dies gerade die Verbindungen, die sich durch

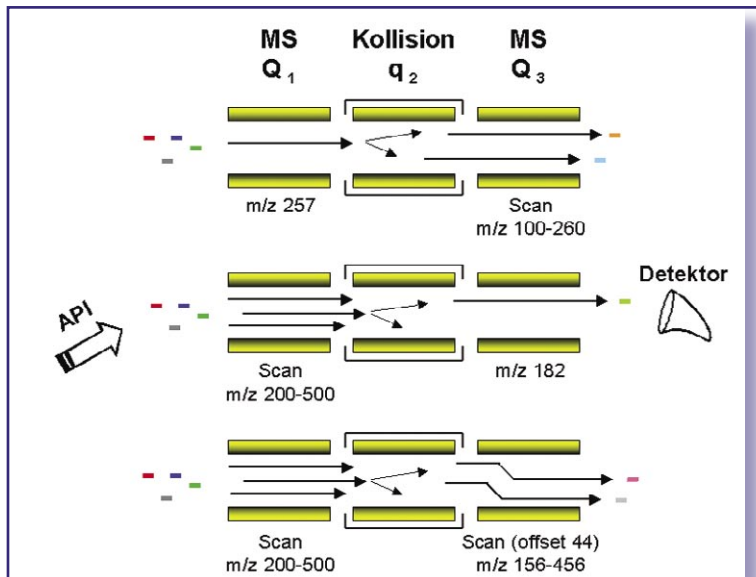


Abbildung 1: Tandemmassenspektrometrische Experimente mit einem Tripelquadrupol-Gerät nach Atmosphärendruck-Ionisation (API). Oben: Produktionenscan zur Aufnahme eines CID-Massenspektrums von Naphthyl-2-methyl-bernsteinsäure ( $m/z$  257); Mitte: Precursorionenscan für das Fragment  $m/z$  182, zur Bestimmung der Verbindungen, die das Fragment  $m/z$  182 bilden; Unten: Scan für den Neutralverlust der Masse 44 ( $\text{CO}_2$ ) zur Bestimmung der Verbindungen, die sich durch die Abspaltung eines Neutralteilchens auszeichnen.

eine erhöhte hydrogeologische Mobilität auszeichnen und somit eine Verlängerung der Schadstoffbahn verursachen können. Eine erhebliche Erweiterung des analytischen Horizonts für polare Analyten wurde in letzter Zeit vor allem durch die Verfügbarkeit und die verstärkte Anwendung moderner LC-MS-Methoden in der Wasseranalytik erreicht [1-3].

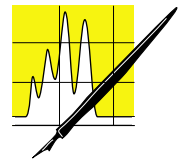
Die Selektivität und Sensitivität der LC-Tandemmassenspektrometrie (MS-MS) mit Elektrosprayionisation (ESI) lässt sich erfolgreich für polare Metabolite zur direkten Messung wässriger Proben einsetzen. Generell stehen bei Tripelquadrupol-Geräten verschiedene Typen tandemmassenspektrometrischer Experimente zur Verfügung. Dabei werden der erste und der dritte Quadrupol ( $Q_1$  und  $Q_3$ ) als Massenfilter, der zweite als Kollisionszelle ( $q_2$ ) für die kollisionsinduzierte Fragmentierung (CID) verwendet (Abbildung 1). Der Produktionenscan (PIS) erlaubt die Aufnahme von CID-Massenspektren (Abbildung 1 oben). Der Precursorionenscan (Prec), oder Vorläuferionenscan, ermöglicht die Bestimmung von Verbindungen, die sich durch die Bildung eines gemeinsamen Fragments (z.B.  $m/z$  182) und damit durch gemeinsame Strukturmerkmale auszeichnen (Abbildung 1 Mitte). Ähnliches gilt für den Neutralverlustscan (NLS), der Verbindungen anzeigt, die während des CID den Verlust eines Neutralteilchens (z.B.  $\text{CO}_2$  von aromatischen Säuren) aufweisen (Abbildung 1. unten). Für die Targetanalytik, d.h. der quantitativen Bestimmung bekannter Analyten, werden charakteristische, möglichst intensive Massenübergänge verwendet, die im *Multiple-Reaction-Monitoring-Mode* (MRM) gemessen werden, bei dem sowohl  $Q_1$  als auch  $Q_3$  jeweils für eine bestimmte Zeit (dwell time) auf geeignete  $m/z$ -Paare (z.B.  $m/z$  257 –  $m/z$  169 für Naphthyl-2-methyl-bernsteinsäure) eingestellt werden. Der

intensivste Massenübergang wird dabei meist zur quantitativen Bestimmung des Analyten verwendet, während mindestens ein weiteres Fragment zur Absicherung der Identität des Analyten verwendet wird.

len für die Absicherung der Identifizierung häufig weitere intensive Fragmentationen, so dass die Retentionszeiten der Analyten wieder in den Vordergrund rücken müssen. Für die direkte Bestimmung der aromatischen Säuren aus Grundwässern konnten ohne vorherige Probenanreicherung Nachweisgrenzen kleiner als  $0,1 \mu\text{g/L}$  erreicht werden [2].

Da die Ionenausbeute der Analyten während des Elektrospray-Prozesses stark durch weitere geladene Matrixkomponenten beeinflusst wird, ist die quantitative Bestimmung mit ESI-MS nur bei ausreichender Trennung der Analyten von Matrixkomponenten verlässlich. Die Unabhängigkeit der Messergebnisse von der Probenmatrix kann für diese Methode am Beispiel der Bestimmung von 1-Hydroxy-2-naphthoesäure in kontaminiertem Grundwasser verdeutlicht werden. Die Regressionsgeraden der Standardaddition und der externen Kalibrierung zeigen vergleichbare Steigungen und führen damit auch zu vergleichbaren Ergebnissen (Abbildung 5, [2]).

Im NLS lässt sich die Fragmentierung über die  $\text{CO}_2$ -Abspaltung auch zum Screening für weitere unbekannte Säuren verwenden. Dabei wurden wertvolle Hinweise für das Auftreten weiterer z.T. reduzierter Naphthoesäure-derivate erhalten. Allerdings muss beim NLS, je nach Umfang des gescannten Massenbereichs, eine geringere Messempfindlichkeit berücksichtigt werden, da pro Massen-



AUFSÄTZE

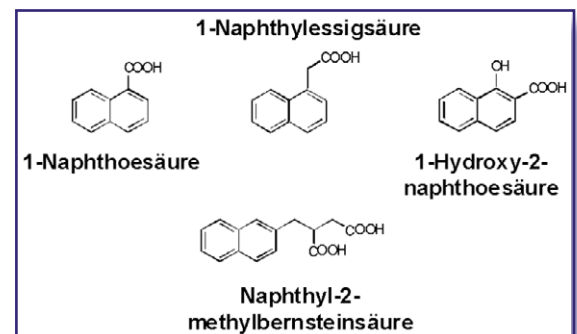
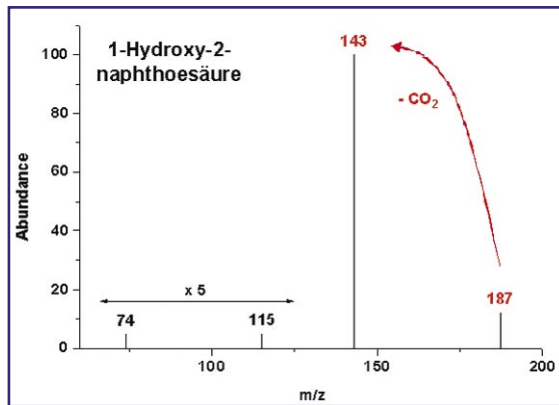


Abbildung 2: Strukturformeln aromatischer Säuren.

Abbildung 3: CID-Massenspektrum von 1-Hydroxy-2-naphthoesäure mit intensivem Neutralverlust von  $\text{CO}_2$ .



einheit eine kürzere Messzeit (dwell time) zur Verfügung steht und damit weniger Ionen zum Detektor gelangen.

### Desinfektionsnebenprodukte der Wasseraufbereitung

Desinfektionsnebenprodukte (DNP) bilden sich bei der Wasseraufbereitung durch Reaktion von chlorhaltigen und oxidierenden Chemikalien mit natürlichen organischen Wasserinhaltsstoffen (NOM, natural organic matter) und mit anthropogenen Spurenstoffen. Die Trihalogenmethanverbindungen (THM) sind die populärsten Vertreter der DNP nach Chlorung, neben halogenierten Essigsäuren, Acetonitrilen und einer Reihe weiterer Organohalogenverbindungen. Die LC-MS eignet sich hier besonders für die Bestimmung und Identifizierung polarer DNP, einem Bereich mit noch bedeutenden Wissenslücken. Dies soll hier beispielhaft für Carbonylverbindungen und deren polare Derivate gezeigt werden, die nach Chlorung und Ozonung auftreten können [6, 7].

Für Carbonylverbindungen wurde die altbekannte Derivatisierung mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (DNPH) ausgewählt. Die DNPH-Derivate erweisen sich bei der ESI als gut ionisierbar und lassen sich über charakteristische CID-Fragmente einfach selektieren (Abbildung 6) [8, 9]. Dabei lässt sich das gemeinsame Strukturmerkmal des Derivatrestes und damit die Bildung gemeinsamer

Abbildung 4: MRM-Chromatogramm eines Standardgemisches.

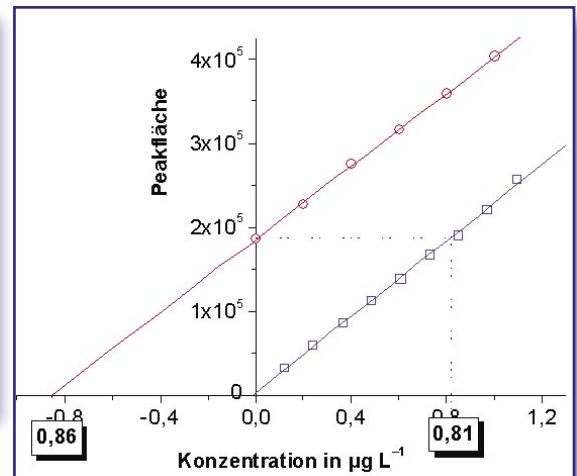
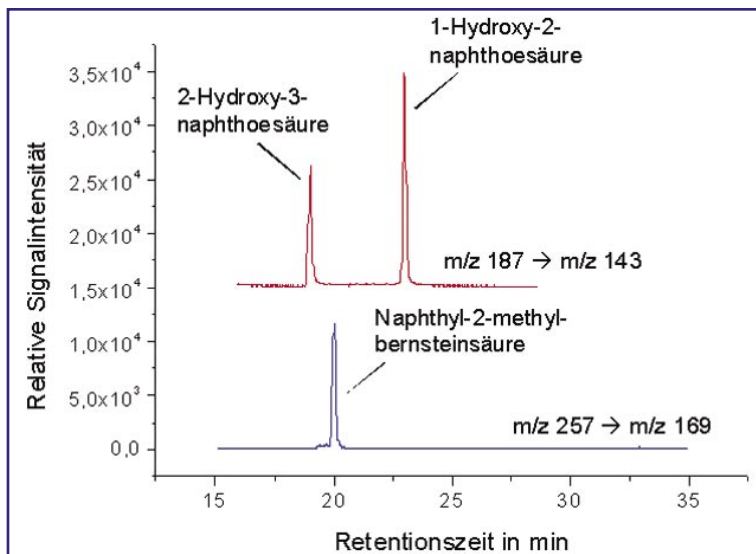


Abbildung 5: Vergleich der Analysenergebnisse für 1-Hydroxy-2-naphthoesäure nach Standardaddition (rot) und nach externer Kalibrierung (blau).

Fragmente für die Selektion der DNPH-Derivate über Precursorionenscans ausnutzen. Aldehyde lassen sich dementsprechend über das Fragment bei  $m/z$  163, Dicarbonyle und Hydroxycarbonyle bei  $m/z$  182 und Carbonylverbindungen generell bei  $m/z$  152 detektieren. Die Chromatogramme mit den Precursorionenscans für  $m/z$  163 und  $m/z$  152 verdeutlichen dies (Abbildung 7). Für unbekannte Verbindungen wird zunächst nur das Masse-zu-Ladungsverhältnis ( $m/z$ ) für das Molekülion bzw. das Pseudomolekülion erhalten (Peaks 3, 5 u. 6 in Abbildung 7). Weitere Informationen können aus Produktionenscans und dem Vergleich des massenspektrometrischen Verhaltens mit ähnlichen Substanzen herangezogen werden. An dieser Stelle wünscht man sich oft weitere Informationen aus der hochauflösenden Massenspektrometrie (HRMS) oder der Kernresonanzspektroskopie (NMR), was im Einzelfall aus Gründen der geringen Konzentrationen bzw. Substanzmasse eine besondere Herausforderung darstellt.

### Zusammenfassung und Ausblick

Zusammenfassend stellt die LC-MS-MS ein wirkungsvolles Instrument für das Grundwassermonitoring von vor allem polaren Substanzen und Metaboliten dar. Die niedrigen Nachweisgrenzen ermöglichen die direkte Bestimmung polarer aromatischer Säuren aus wässrigen Proben. Tandemmassenspektrometrische Experimente wie der Neutralverlustscan ermöglichen ein Screening auf weitere unbekannte aromatische Säuren. Die erhaltenen Daten dienen als Basis für die weitere Bewertung und für die Abschätzung der natürlichen Schadstoffverminderung (Natural Attenuation) von Altlasten.

Für die Beurteilung von Transformationsprozessen in der Wasseraufbereitung konnte die LC-MS-MS erfolgreich zur Bestimmung von polaren und apolaren Carbonylen eingesetzt werden. Die Carbonyle wurden nach vorhergehender Derivatisierung der Elektrosprayionisation (ESI) zugänglich gemacht. Gemeinsame Fragmentationen, die durch die gemeinsamen Strukturmerkmale der



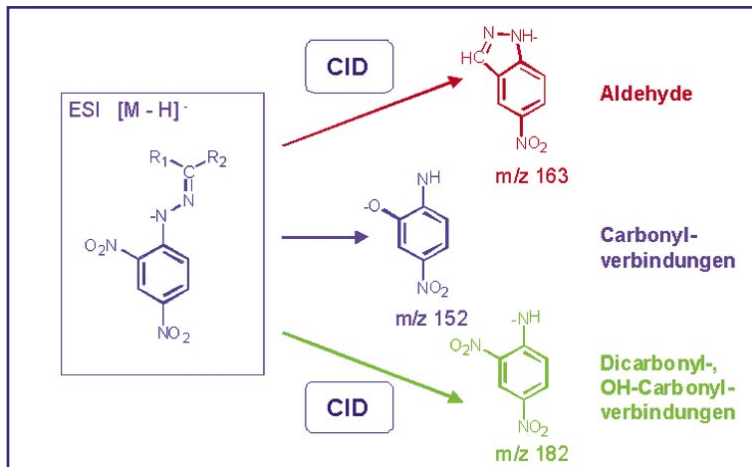


Abbildung 6: Bildung typischer Fragmente der DNPH-Derivate von Carbonylverbindungen.

Derivate gebildet werden, können für ein Screening auf unbekannte Carbonylverbindungen eingesetzt werden. Dieses Prinzip kann auch für Verbindungen mit weiteren funktionellen Gruppen angewendet werden und liefert damit ein effizientes Werkzeug zur Bestimmung unterschiedlicher Substanzklassen in einem weiten Polaritätsbereich. Damit wurden die Grundlagen geschaffen, einen tieferen Einblick in die Prozesse der Wasseraufbereitung zu erhalten und dadurch deren Optimierung und Überwachung effizienter zu gestalten.

Auf dem Gebiet der Identifizierung und Bestimmung von unbekanntem Verbindungen in der Umwelt sind die Daten der MS-MS-Kopplung allein oft nicht ausreichend, um das Puzzle vollständig zu lösen. Hier hilft beispielsweise die Kombination der MS-MS mit der akkuraten Massenbestimmung weiter. Die Summenformeln der Molekülonen als auch die von Fragmenten lassen sich über die akkuraten Massen mit Q-TOF-Geräten (Quadrupol-Time-of-Flight-Kopplung) ermitteln, für die eine zunehmende Bedeutung in diesem Bereich prognostiziert werden kann. Auch für FT-ICR-MS-Geräte (Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance) sind aufgrund ihrer ultrahohen Auflösung ( $m/\delta m > 100\,000$ ) viele Anwendungen in der Umweltanalytik denkbar.

Ein weiterer Wunsch bei vielen umweltanalytischen Anwendungen ist neben dem analytischen Nachweis eines Schadstoffs die Aussage über mögliche biologische Wirkungen. Unter dem Stichwort der wirkungsbezogenen Analytik wird sicher die LC-MS-MS als komplementäre Methode zur Substanzidentifizierung eine nicht unbedeutende Rolle spielen.

CLB

#### Literatur

- [1] C. Zwiener, F.H. Frimmel, LC-MS Analysis in the Aquatic Environment and in Water Treatment – a Critical Review, Part I: Anal. Bioanal. Chem. 2004, 378, 851-861. Part II: Anal. Bioanal. Chem. 2004, 378, 862-874.
- [2] G. Ohlenbusch, C. Zwiener, R. Meckenstock, F.H. Frimmel, Identification and Quantification of Polar Naphthalene Derivatives in Contaminated Groundwater of a Former Gas Plant Site by Liquid-Chromatography-Electrospray Ionization Tandem Mass

Spectrometry, J. Chromatogr. A, 2002, 967, 201-207.

[3] C. Zwiener, S.D. Richardson, Analysis of DBPs in drinking water by liquid chromatography/mass spectrometry and related mass spectrometric techniques. Trends Anal. Chem. 2005, 24, 613-621.

[4] H.R. Beller, Metabolic indicators for detecting in situ anaerobic alkylbenzene degradation. Biodegradation, 2000, 11, 125-139.

[5] E. Annweiler, A. Materna, M. Safinowski, A. Kapler, H.H. Richnow, W. Michaelis, R.U. Meckenstock, Anaerobic degradation of 2-methylnaphthalene by a sulfate-reducing enrichment culture. Appl. Environ. Microbiol. 2000, 66, 5329-5333.

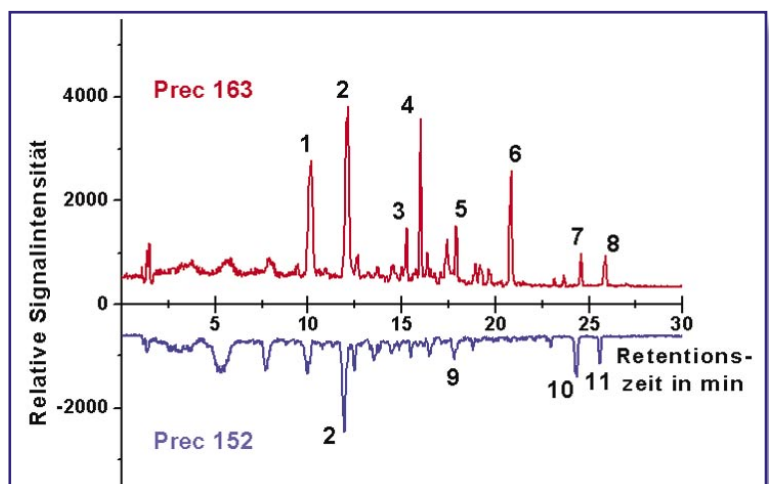
[6] S. D. Richardson, A. D. Thruston, T. V. Caughran, P. H. Chen, T. W. Collette, T. L. Floyd, K. M. Schenck, B. J. Lykins, G.-R. Sun, G. Majetich, Identification of New Ozone Disinfection Byproducts in Drinking Water. Environ. Sci. Technol. 1999, 33, 3368-3377.

[7] R. Paode, G. L. Amy, S. Krasner, S. Summers, E. W. Rice, Formation and removal of aldehydes and BOM. J. Am. Water Works Assoc. 1997, 89, 79-93.

[8] C. Zwiener, T. Glauner, F.H. Frimmel, Method optimization for the determination of carbonyl compounds in disinfected water by DNPH derivatization and LC-ESI-MS-MS. Anal. Bioanal. Chem. 2002, 372, 615-621.

[9] C. Zwiener, T. Glauner, F.H. Frimmel, Liquid Chromatography/Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry and Derivatization for the Identification of Polar Carbonyl Disinfection By-products. In: I. Ferrer, E.M. Thurman (Eds.), Liquid Chromatography/Mass Spectrometry, MS/MS and Time-of-Flight MS – Analysis of Emerging Contaminants. ACS Symp. Series, Vol. 850, Chapter 21, pp 356-375, Am. Chem. Soc. and Oxford University Press, Washington, 2003.

Abbildung 7: Precursorionenscan für m/z 163 (Aldehyde) und m/z 152 (alle Carbonylverbindungen); 1 Formaldehyd; 2 Acetaldehyd; 3 m/z 347; 4 4-Hydroxybenzaldehyd; 5 m/z 445; 6 m/z 465, m/z 467; 7 Nonanal; 8 Decanal; 9 3-Pentanon; 10 Nonanon; 11 Decanon.



# Exakte Massenbestimmung mit TOF-LC/MS

Jürgen Wendt, Waldbronn

Flugzeit-Massenspektrometer (Time-of-flight MS) wurden Ende der vierziger Jahre entwickelt. Durch direkte Kopplung mit einem HPLC-System, unter Einbindung von AP-Ionisierungstechniken, sowie durch die deutlich verbesserte Massenauflösung und -genauigkeit wird die TOF-Technologie heute verstärkt zur Analytik von kleinen und großen Molekülen eingesetzt. Dieser Artikel gibt einen Überblick über den Aufbau und die Funktionsweise des Agilent 6210 Time-of-Flight LC/MS-Systems, stellt die Möglichkeiten der externen und internen Kalibrierung sowie der Datenakquisition dar und zeigt anhand von Beispielen mögliche Anwendungsbereiche auf.

## Aufbau und Funktionsweise

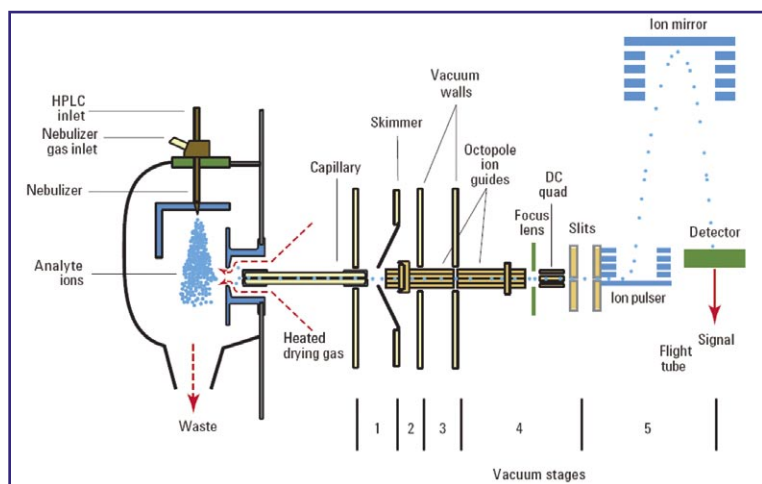
Der schematische Aufbau des LC/MSD TOF-Systems zeigt Abbildung 1. Die direkte Kopplung mit dem LC-System erfolgt mittels eines API-Interfaces. Folgende Quellentypen können hierzu verwendet werden: API-ES, APCI, APPI, AP-MALDI und die Multimode-Quelle. Für spezielle Anwendungen im Bereich der Proteinanalytik können auch eine Nanospray-Quelle und ein Chip Cube MS Interface installiert werden.

Die bei Atmosphärendruck gebildeten Ionen wandern mit Hilfe eines Potentialgefälles durch die nicht beheizte Kapillare in den ersten Vakuumbereich des Systems. Über einen Skimmer wird ein Großteil des noch vorhandenen

Trocknungsgases (Stickstoff-Moleküle) abgetrennt. Durch Anlegen einer Spannung zwischen dem Ende der Kapillare und dem Skimmer können in den TOF-Messzyklus auch CID-Experimente integriert werden. Die danach angeordneten Octopole unterstützen als „Ion-Guides“ den Ionen-transport in Richtung Massenfilter.

Eine Ion Focus Linse und ein DC Quadrupol fokussieren den Ionenstrahl, bevor dieser mittels einer am Pulsor angelegten Hochspannung orthogonal in das ein Meter lange Flugrohr abgelenkt wird. In diesem Bereich herrschen Druckverhältnisse von  $10^{-7}$  Torr, um Zusammenstöße der Ionen mit Restmolekülen zu verhindern. Durch ein am oberen Ende des Flugrohres plaziertes zweistufiges elektrostatisches Reflektrom (Ion Mirror) kommt es zu einer Flugumkehr der Ionen. Weiterhin wird durch diese Anordnung die Flugzeit unabhängig von der anfänglichen Orts- und Energieverteilung der Ionen gemacht. Die reflektierten Ionen treffen dann auf den TOF-Detektor. Dieser besteht aus einer Mikrokanalplatte (MCP) in Kombination mit einem Scintillator und einem Photomultiplier. Das Funktionsprinzip ist in Abbildung 2 zusammengefasst. Als Datenaufnahmesystem dient ein Analog-to-Digital Konverter.

Abbildung 1: Schematischer Aufbau eines LC/MSD TOF-Systems.



### Der Autor

Dr. Jürgen Wendt studierte an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz und absolvierte seine Diplom- und Doktorarbeit in Bereich der Metallorganik. Seit 1989 ist er Applikationschemiker bei Hewlett-Packard bzw. Agilent Technologies.

## Externe und interne Kalibrierung, Datenakquisition [1]

Nach dem Verlassen der Ionenoptik erhalten die Ionen bei der orthogonalen Ablenkung die gleiche kinetische Energie. Ionen verschiedener  $m/z$ -Werte besitzen aber unterschiedliche Geschwindigkeiten und erreichen daher den Detektor zu unterschiedlichen Zeiten. Die Flugzeit des Ions ist eine direkte Funktion der Masse ( $m/z$ -Wert) des Ions.

$$m = (2E / l^2) \cdot t^2 \quad (1)$$

$m$  = Masse bzw.  $m/z$ -Wert

$E$  = kinetische Energie

$l$  = Fluglänge

$t$  = Flugzeit

Da die kinetische Energie (Pulsor) und die Fluglänge (thermische Ausdehnung des Flugrohres ist vernachlässigbar) als konstant angesehen werden können, ergibt sich folgende Beziehung:

$$m = A \cdot t^2 \quad (2)$$

$A$  = Instrumentenkonstante

Nach dieser Gleichung führt eine Verdopplung der Masse zu einer vierfach längeren Flugzeit. In der Praxis muss allerdings noch eine Verzögerungszeit  $t_0$  berücksichtigt

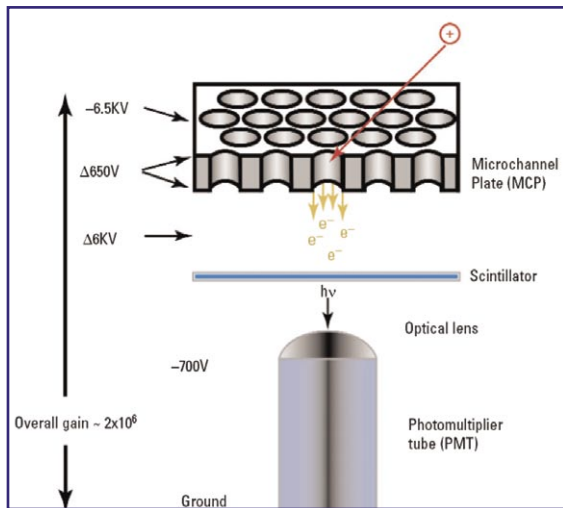


Abbildung 2: Aufbau und Funktionsprinzip des TOF-Detektors.

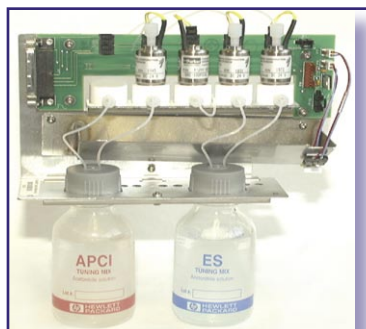
werden, die von der gemessenen Flugzeit  $t_m$  abgezogen werden muss. So vergeht bei der orthogonalen Ablenkung eine geringe, aber doch messbare Zeit, bevor die Ionenpakete den elektrischen Impuls spüren. Weiterhin vergeht auch vom Auftreffen eines Ions auf der Mikrokanalplatte bis zur Erzeugung eines digitalisierten Wertes durch den AD-Konverter eine messbare Zeit. Diese beiden zeitlichen Beiträge werden zur Verzögerungszeit (Delay-Time)  $t_o$  zusammengefasst und müssen von der gemessenen Flugzeit  $t_m$  abgezogen werden.

$$t = t_m - t_o \quad (3)$$

Daraus ergibt sich für die Bestimmung der exakten Masse folgende Beziehung:

$$m = A \cdot (t_m - t_o)^2 \quad (4)$$

Zur Bestimmung von  $A$  und  $t_o$  muss daher eine externe Kalibration durchgeführt werden. Dazu wird während des Kalibrationsvorganges (Optionen: Autotune, Quicktune, Checktune und Calibration) über das Calibration Delivery System (Abbildung 3a) ein Tunemix mit bekannten  $m/z$ -Werten infundiert. Zunächst werden durch eine nichtlineare Regression Anfangswerte für  $A$  und  $t_o$  bestimmt, die dann in einem zweiten Rechenschritt mittels eines Polynoms höherer Ordnung weiter optimiert werden. In der Regel sollten nach der externen Kalibration die



Abweichungen von den theoretischen Werten um bzw. unter 1 ppm liegen (Abbildung 3b).

Die Langzeitstabilität eines TOF-Systems wird durch Wärmeabstrahlungen im Bereich des Pulsers negativ beeinflusst. Für den Routinebetrieb wird deshalb während der Datenerfassung zusätzlich eine interne Kalibrierung (Reference Mass Correction) durchgeführt. Dazu werden über einen zusätzlichen Referenzsprayer (Abbildung 4a) kontinuierlich Referenzmassen zugeführt und damit die Werte für  $A$  und  $t_o$  reoptimiert. Jedes aufgenommene Spektrum wird mit einem eigenen Wertepaar korrigiert und somit geringste Variationen der TOF-Hardware ausgeglichen. Der Algorithmus für diese Korrektur erfordert, dass eine der Referenzmassen unter 330 amu liegt, während die zweite Masse 500 amu höher sein sollte als die erste.

Vom Hersteller wird für die Analytik von kleinen Molekülen ein Referenzmix mit den  $m/z$ -Werten 121,0509 und 922,0098 zur Verfügung gestellt (Abbildung 4b), wobei keine Einstellung auf die zu untersuchende Analytkonzentration vorzunehmen ist.

### Anwendungen und Einsatzmöglichkeiten

Das LC/MSD TOF System zeigt routinemäßig eine Massengenauigkeit kleiner 2 ppm (mit Internal Referencing) und eine Massenauflösung im Bereich kleiner Moleküle von ca. 5000-6000. Dies führt zu einer hohen chromatographischen Selektivität, die zu einer signifikanten Ausblendung von Matrixeffekten führt. Abbildung 5a zeigt das Totalionenchromatogramm einer Tomatenprobe [2], die mit mehreren Insektiziden (0,125 mg/kg) gespickt wurde. Die extrahierten Ionenspuren für Imidacloprid, Acetamiprid und Thiacloprid sind zum Vergleich darunter dargestellt (Abbildung 5b). Durch Vorgabe eines Extraktionsfensters von 0,02 amu lassen sich Interferenzen durch Matrix weitgehend ausblenden.

Ein weiterer Vorteil der TOF-Technologie besteht in der Möglichkeit, Analyten mittels der empirischen Formel zu

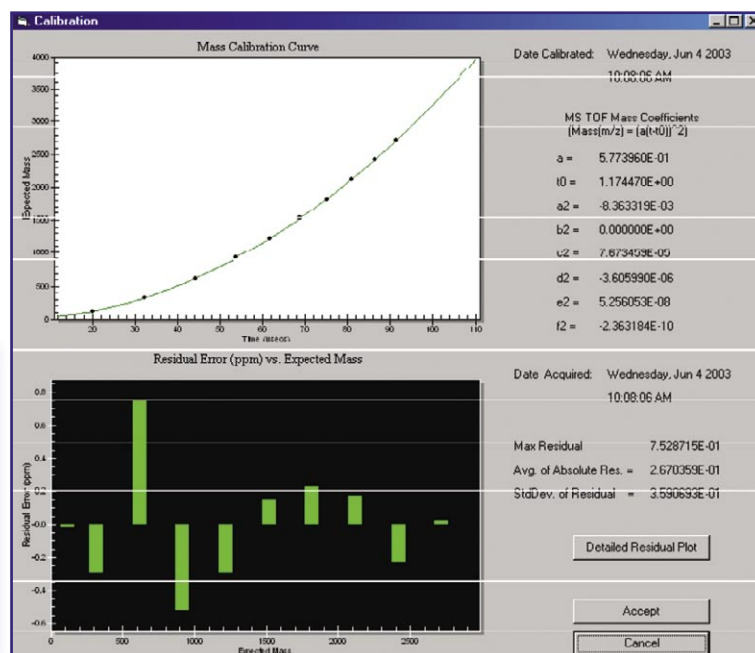
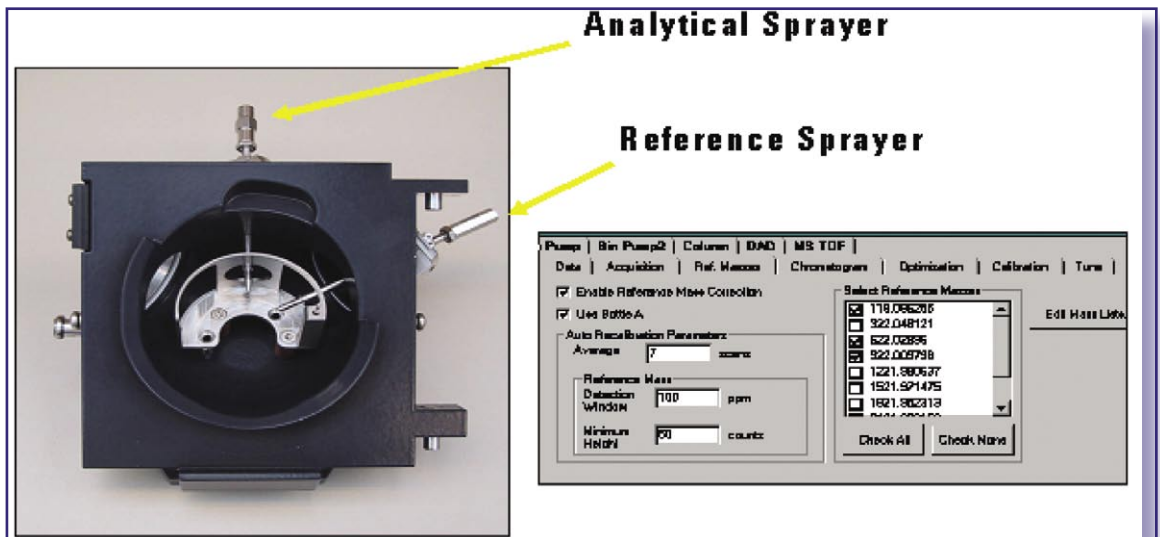


Abbildung 3a (ganz links): Calibrant Delivery System. Abbildung 3b (links): Kalibrationskurve nach externer Kalibrierung.

Abbildung 4a (rechts):  
Modifizierte  
ESI-Quelle mit  
Referenzsprayer.  
Abbildung 4b  
(ganz rechts):  
Reference Mass  
Correction.  
Einstellungen in  
der Software.



bestätigen bzw. zu identifizieren. Dazu können eigene, in Microsoft Excel erstellte Datenbanken benutzt werden. Im Gegensatz zu MS/MS-Spektrenbibliotheken werden bei einer TOF-Datenbank keine spektralen Daten benötigt. Als Eingabewerte sind die Summenformel, die exakte Masse und der Name des Analyten zu spezifizieren. Die chromatographische Retentionszeit ist optional. Durch Einbindung der Datenbank in eine Data Analysis Methode lassen sich automatisiert Empirical Formula Confirmation Reports [3] erzeugen (Abbildung 6). Diese Vorgehensweise zum Screening von „Non-Targeted Compounds“ wird in letzter Zeit verstärkt in der Rechtsmedizin, Lebensmittelüberwachung und Umweltanalytik eingesetzt.

Neben Einsatzmöglichkeiten im qualitativen Bereich kann ein LC/MSD TOF System auch zur Quantifizierung der identifizierten Substanzen herangezogen werden. Der als Daten-Aufnahmesystem eingesetzte Analog-to-Digital Converter zeigt dabei deutliche Vorteile gegenüber dem früher sehr häufig eingesetzten Time-to-Digital-Converter. So liegt der dynamische Bereich des ADCs in der Regel bei  $10^3$ .

### Zusammenfassung

TOF LC/MS wird seit Jahren verstärkt für viele analytische Fragestellungen eingesetzt. Gründe hierfür sind:

Abbildung 5a: TIC  
einer gespiketen  
Tomatenprobe.

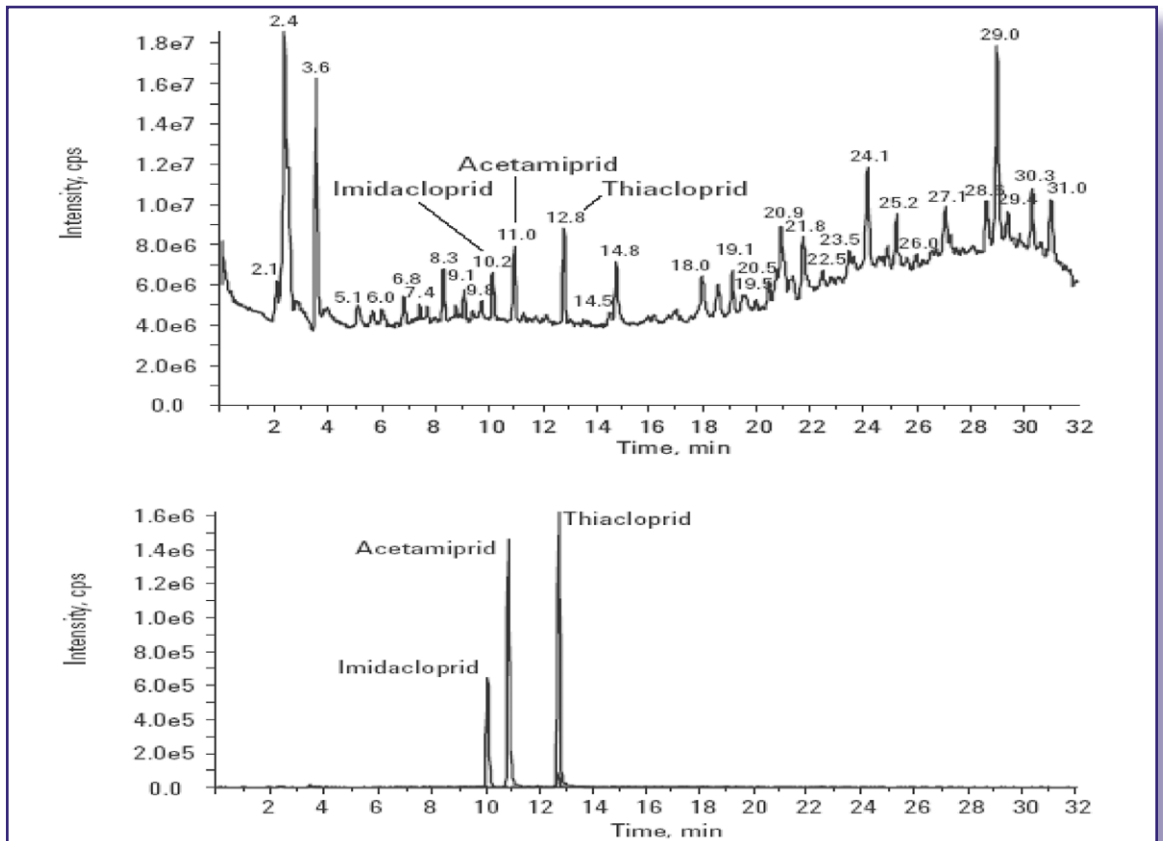
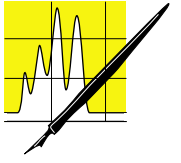
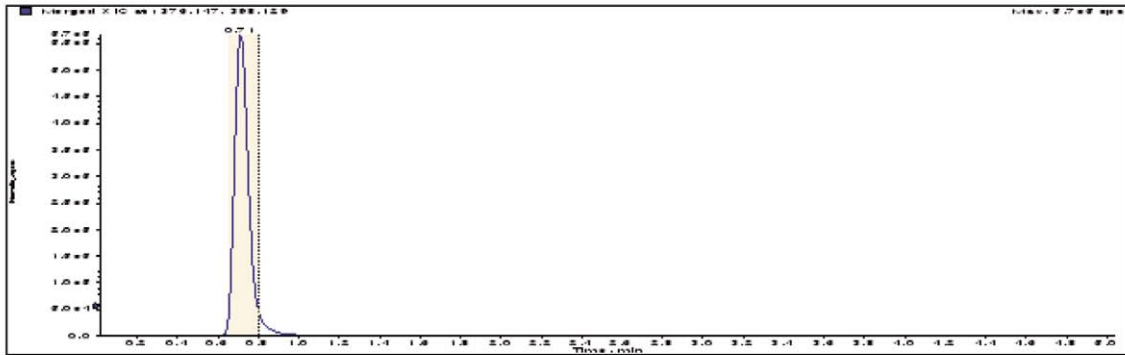


Abbildung 5b: EICs von  
Imidacloprid,  
Acetamiprid und  
Thiacloprid.

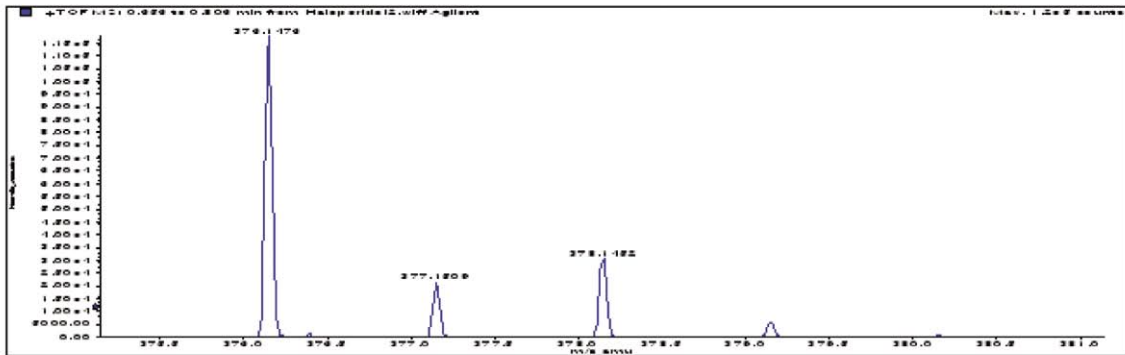
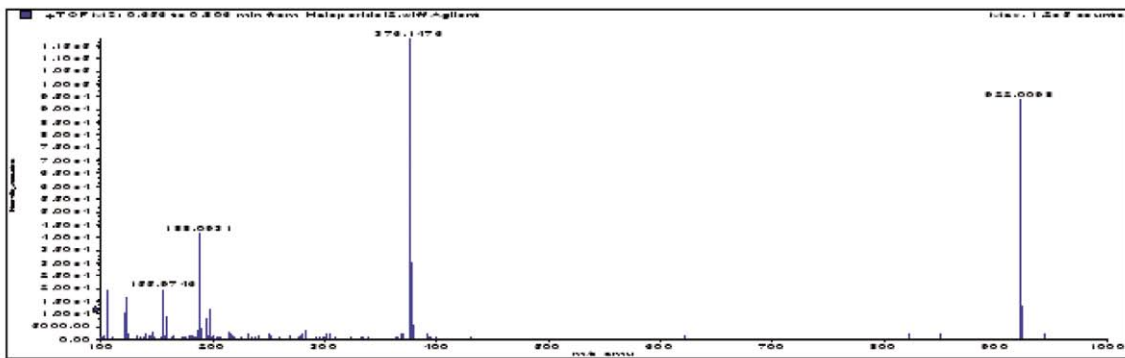


AUFSÄTZE

Sample Name: Haloperidol\_Q1 Sample Location: Vial 32 Sample Id: Operator:  
 Data File Name: d:\PE Sciex Data\Projects\rechtsmedizin\Data\Haloperidol2.wiff Acq Time: August 14 2006, 04:21:00 PM  
 Method: D:\ofd\data\methods\wfa\_etc.an\wfa.xml



Merged XIC, Period#: 1 Experiment#: 1



Formula	Compound name	Mass	Peak RT (min)	Peak area	Description
C21H23NClF02	Haloperidol	376.14014	0.71	2.77358 E6	--

Species	Abundance (counts)	Ion Mass	Measured Mass	Error (mDa)	Error (ppm)	Ret. Time Error (min)
[M+H] <sup>+</sup>	117962.17	376.14741	376.14755	0.14173	0.38	--

Abbildung 6: Empirical Formula Confirmation Report für Haloperidol.

- Einfache Methodenerstellung (FullScan Acquisition, keine Übergänge zu definieren)
- Exakte Masse kann zur Bestimmung und Identifizierung von Analyten herangezogen werden. Dabei können sehr effektiv Datenbanken eingesetzt werden, zu deren Erstellung keine Voruntersuchungen (spektrale Daten) benötigt werden.
- Quantifizierung ist über einen Bereich von drei Zehnerpotenzen möglich.  
 Zu beachten ist, dass durch den Aufnahme-modus (Full-Scan) die Nachweisempfindlichkeit geringer ist als bei MS<sup>n</sup>-Systemen.

CLB

Literatur:

- [1] Time-of-Flight Mass Spectrometry, Agilent Technologies Technical Overview 5989-0373N (2003)
- [2] Identification of Unknown Pesticides in Food Using Both LC/MSD TOF and IonTrapMSn , Agilent Technologies Application Note 5989-1924N (2005)
- [3] Automated Empirical Formula Confirmation using the Agilent LC/MSD TOF, Agilent Technologies Application Note 5989-0625EN (2005)

# Festphasenextraktion im Handumdrehen automatisieren

Guido Deußing, Neuss

Anwender wissen ein Lied davon zu singen: Festphasenextraktionen (SPE) über handelsübliche Kartuschen manuell durchzuführen, kostet Zeit, Geduld und oft sehr viel Nervenkraft. Insbesondere dann, wenn Wiederfindung und Wiederholbarkeit zu wünschen übrig lassen: Verließ die Konditionierung adäquat? War das Sorbens trocken gelaufen oder die Flussrate des Eluenten zu hoch? Oder wurde vielleicht eine Kartusche verwechselt? Entspannter, zeitsparender und reproduzierbarer verläuft die SPE über handelsübliche Kartuschen, lässt sich der Vorgang automatisieren. Der GERSTEL-MultiPurposeSampler MPS macht's möglich – dank seines neuen SPE-Moduls. Beleg hierfür liefert der Nachweis des Wirkstoffs Chloramphenicol (Teil 1) sowie der Aflatoxine B1, B2, G1 und G2 (Teil 2).

## Teil 1: Nachweis Chloramphenicol

In Lebensmitteln tierischen Ursprungs, die aus Drittländern nach Europa eingeführt wurden, fanden Kontrolleure in den letzten Jahren zunehmend Rückstände verbotener Antibiotika. Für Aufsehen sorgten unter anderem Funde des Wirkstoffs Chloramphenicol (CAP), dem der Verdacht anhaftet, das Erbgut des Menschen zu schädigen, die Entstehung von Krebserkrankungen zu begünstigen und die Blutbildenden Zellen des Knochenmarks irreversibel zu schädigen.

Der Nachweis von CAP erfolgt in aller Regel mit der LC/MS: „Wie empfindlich die Methode ist, hängt entscheidend von der Probenvorbereitung ab. Selbst bei hochselektivem LC-MS/MS-Methoden kann ein extremer Matrix-Untergrund zu einer unzulänglichen Quantifizierung führen“, sagt Dr. Norbert Helle, Applikationsexperte und Inhaber der TeLA GmbH, einem Auftragslabor aus Bremerhaven.

### Der Autor

Guido Deußing, Dipl.-Ing. 1989 – 1994 Studium des Chemieingenieurwesens, Studienschwerpunkt Instrumentelle Analytik; 1994 Wissenschaftlicher Mitarbeiter im Deutschen Bundestag; 1995 – 1997 Redaktionelles Volontariat an einer Publikumszeitschrift; 1998 Stipendiat (Wissenschaftsjournalist) des Verbandes der Chemischen Industrie (VCI) in Verbindung mit Aufhalten in verschiedenen namhaften wissenschaftlichen Redaktionen sowie in der Fachpressestelle eines deutschen, international tätigen Chemiekonzerns; 1998 – 2002 Seminarleiter an der Akademie der Bayerischen Presse; 2001 – 2003 Dozentur an der Fachhochschule Gelsenkirchen im Fachbereich Maschinenbau, Studiengang: Journalismus, Technik-Kommunikation; seit 1997 freier Journalist und Autor.



## Festphasenextraktion als Mittel der Wahl

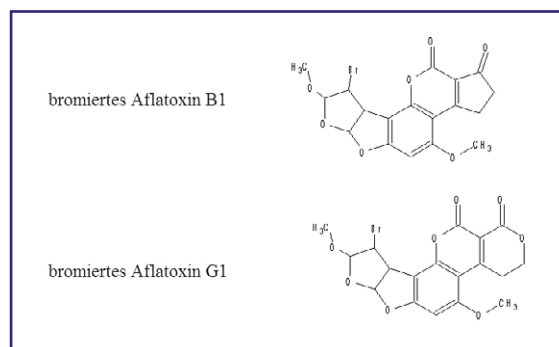
Als Probenvorbereitungstechnik der Wahl im Vorfeld chromatographischer Trennungen erweist sich im Fall der CAP, wie im Übrigen in einer Vielzahl anderer Applikationsbeispiele etwa aus den Bereichen Lebensmittel, Umwelt oder Pharma, die Extraktion über ein festes Sorbens: Die Festphasenextraktion beziehungsweise die Solid Phase Extraction (SPE) hat sich in den letzten 25 Jahren zu einem der wirkungsvollsten Werkzeuge entwickelt, mit dem sich unterschiedlichste Verbindungen in Spuren oder in präparativem Maßstab isolieren und aufreinigen lassen.

Allerdings haften manuellen SPE-Techniken über handelsübliche Kartuschen einige gravierende Nachteile an“, erklärt Dr. Norbert Helle. Der Anwender müsse nicht nur sehr viel Zeit und Geduld aufbringen, um eine SPE durchzuführen. Wiederfindung und Wiederholbarkeit könnten zudem extremen Schwankungen unterliegen, da deren Qualität erheblich abhängen von der Erfahrung des Anwenders im Umgang mit dieser Art der Probenbearbeitung. Helle: „Entspannter, zeitsparender und reproduzierbarer verläuft die SPE über Kartuschen, wird der Vorgang automatisiert.“

## SPE-Modul für mehr Komfort und Sicherheit

Der GERSTEL-MultiPurposeSampler MPS 2 mit SPE-Option erlaubt die Automatisierung der Festphasenextraktionen über handelsübliche Standardkartuschen. Ralf Bremer, technischer Geschäftsführer von GERSTEL: „Die Station vereinfacht die SPE und reduziert den sonst üblichen Zeitbedarf erheblich, weil sich sämtliche Schritte automatisieren und optimal ver-

Abbildung 1: Bromierte Aflatoxine G1 B1.



schachteln lassen.“ Die Injektion erfolgt online und wahlweise in ein GC- oder LC-System. Dank automatisierter Flüssigkeitszugabe resultieren eine exakte und reproduzierbare Dosierung, konstante Flussraten und der Transfer definierter Volumina. Da die Elution unter Druck und die Überführung des Eluenten mittels einer Einmal-Kanüle in ein geschlossenes Vial erfolgen, verläuft der Extraktionsprozess verlustfrei und sauber. Kontaminationen, etwa aus der Laborluft, treten nicht auf, weil es sich um ein geschlossenes System handelt: Konditionierung, Extraktion und Elution der Kartuschen erfolgen auf ein und demselben Tray, ohne Transport der Kartuschen. Ralf Bremer: „Da sich die SPE-Station des MPS für die Aufnahme handelsüblicher SPE-Kartuschen eignet, lassen sich bewährte manuelle Methode direkt auf den MPS übertragen, automatisieren und komfortabel aus der ChemStation von Agilent Technologies heraus steuern, Probenvorbereitungsschritte, wie Verdünnen, Mischen, Zudosieren von Standards oder Derivatisieren inklusive.“

#### Selbst komplexe Proben in der Hälfte der Zeit

In der Weise verfuhr auch Dr. Norbert Helle: „Wir haben den MPS mit SPE-Modul zum Nachweis von Chloramphenicol (CAP) aus Lebensmitteln tierischen Ursprungs eingesetzt und unter Praxisbedingungen mit Erfolg getestet.“ Wie wohl der Einsatz von SPE-Kartuschen generell gute Ergebnisse liefert, konstante Arbeitsbedingungen vorausgesetzt, habe der MPS mit SPE-Option auf ganzer Linie überzeugt. Norbert Helle: „Für Chloramphenicol ergaben sich relative Standardabweichungen von 2,0 % für die Probenvorbereitung im MPS und 2,2 % für die manuelle Vorgehensweise. Die Wiederfindungsrate lag bei 92 % (MPS) beziehungsweise 90 % (manuell).“

Allerdings habe vor allem eines dafür gesprochen, die SPE-Analysen künftig ausschließlich mit dem MPS durchzuführen. Helle: „Selbst komplexe Proben lassen sich in nahezu der Hälfte der sonst üblichen Zeit komfortabel und sicher abarbeiten.“

#### Teil 2: Nachweis Aflatoxin B1, B2, G1, G2

Die LC/MS nach vorangegangener Festphasenextraktion (SPE) erweist sich immer auch dann als Mittel der Wahl, wenn in Rohstoffen oder Lebensmitteln, insbesondere solchen, die für die Herstellung von Arzneimitteln und Babynahrung bestimmt sind, Mykotoxine, sicher und sensitiv bestimmt werden sollen. Das garantiert die Einhaltung der vom Gesetzgeber festgelegten Nachweisgrenzen.

Während das eigentliche Probenhandling im Vorfeld der LC/MS-Analyse in der Regel nur begrenzt Spielraum für Optimierung bietet, lassen sich zuverlässige und verwertbare Messergebnisse in weniger als der Hälfte der bisher üblichen Zeit erreichen, wird die Festphasenextraktion automatisiert.

#### Natürliches Karzinogen birgt große Gefahr

Mykotoxine sind Gifte, die beim Stoffwechsel bestimmter Schimmelpilze entstehen, und denen, wie es unter anderem das Niedersächsische Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (Laves) beschreibt: eine chronische und akute Toxizität zugeschrieben wird, hervorgerufen durch unter anderem krebserzeugende, erbgutverändernde und hormonaktive Eigenschaften, die insbesondere für Säuglinge und Kleinkinder schädlich sind.

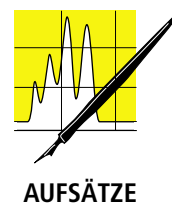
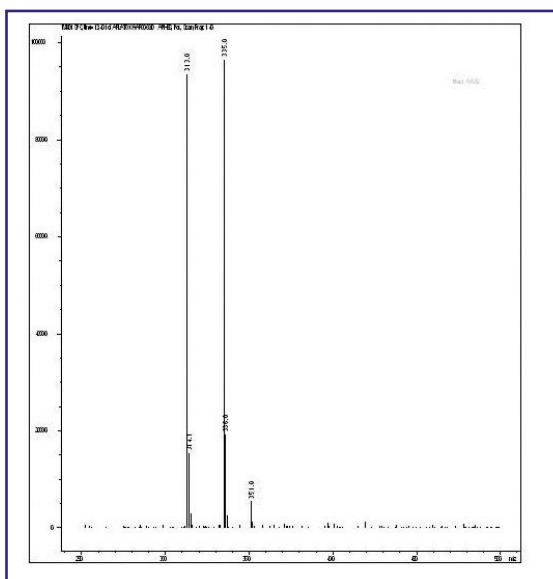


Abbildung 2: MPS-SPE: GERSTEL-MultiPurposeSampler MPS mit SPE-Option.

Abbildung 3: Massenspektrum: Monobromierte Aflatoxine zeigen längere retentionszeiten als nicht-bromierte Verbindungen, was in einer besseren Trennung der vier Aflatoxine resultiert und zu einer deutlichen Minimierung von Interferenzen durch Matrixbestandteile führt.



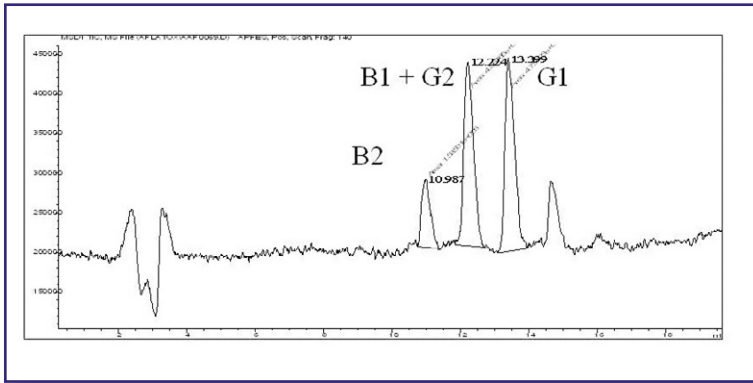


Abbildung 4: MS-Scan: Die Derivatisierung der Aflatoxine B1 und G1 führt zu einer signifikant besseren MS-Response verbunden mit einem charakteristischen Brom-Muster im Massenspektrum. Die Nachweisgrenze für alle untersuchten Aflatoxine liegt unter 0,01 µg/kg.

Wissenschaftlich beschrieben wurden bislang mehr als 300 Mykotoxine, die von rund 250 Schimmelpilzarten gebildet werden können. Für die Lebensmittelsicherheit bedeutend sind allerdings nur wenige Mykotoxine beziehungsweise Schimmelpilze, etwa die der Gattung *Aspergillus flavus* und *Aspergillus parasiticus*, die vor allem unter feucht-warmen Bedingungen auf öl- und stärkehaltigen Samen, Erd-, Wal- und Haselnüssen, Pistazien, Mandeln, Feigen, Kokos, Obst, Getreide, Reis, Mais und Soja sowie in Trockenfrüchten und Gewürzen gedeihen. Die vom *Aspergillus flavus* und *Aspergillus parasiticus* produzierten Aflatoxine B1, B2, G1 und G2 sowie M1, zählen zu den wirksamsten Mykotoxinen überhaupt, wobei vom Aflatoxin B1 die größte Gefahr ausgeht aufgrund seines krebserregenden Potenzials.

Das Risiko einer akuten Vergiftung durch hohe Mykotoxinkonzentrationen ist aufgrund der allgemein guten Lebensmittelqualität in Deutschland laut Laves

eher niedrig. Anders verhalte es sich etwa in Afrika und Asien, wo der Verzehr verschimmelter Erdnüsse oder Maisprodukte, bedingt durch schlechte Wachstums-, Lagerungs- und Transportbedingungen, immer wieder zu akuten Aflatoxin-Vergiftungen mit Todesfällen führte; die letale Aflatoxin-Dosis für einen Erwachsenen liegt laut Literatur bei 1 bis 10 mg pro Kilogramm Körpergewicht.

#### Ubiquitäre Verteilung bedingt Höchstwerte

„Die Mykotoxinkontamination von Lebens- und Futtermitteln ist ein weltweites Problem. Die UN Food and Agriculture Organization (FAO) schätzt, dass bis zu 25 % der Weltproduktion von Nahrungsmitteln mit Mykotoxinen kontaminiert sind. Etwa 20 % der Cerealien der EU enthält messbare Mengen Mykotoxine. Über die Wirkung geringer Mengen oder einer Mischung von Mykotoxinen, vor allem bei lebenslanger Aufnahme, liegen dagegen kaum Erkenntnisse vor“, heißt es auf der Homepage des Bayerischen Staatsministeriums für Umwelt, Gesundheit und Verbraucherschutz. Aufgrund der Gesundheitsgefährdung, die von Schimmel ausgeht, und seiner natürlichen ubiquitären Verbreitung, hat der Gesetzgeber Grenzbeziehungsweise Höchstwerte für Mykotoxine im Bereich weniger Mikrogramm pro Kilogramm (µg/kg) festgelegt:

Unter anderem gelten für Erdnüsse, Schalenfrüchte, Trockenfrüchte und Getreide, die für den direkten Verzehr oder als Lebensmittelzutat vorgesehen sind, zulässige Höchstmengen von 2 µg/kg Aflatoxin B1 beziehungsweise 4 µg/kg als Summenwert für B1, B2, G1 und G2. Der Wert für Aflatoxin M1 in Milch darf 0,05 µg/kg nicht überschreiten. Bei Nahrungsmitteln für Säuglinge und Kleinkinder begrenzt die Diätverordnung die zulässige Menge an Aflatoxin B1 auf 0,05 µg/kg, die für M1 auf 0,025 µg/kg.

Abbildung 5: Wiederfindung und Wiederholbarkeit der Bestimmung von Chloramphenicol in Garnelenfleisch mit manueller bzw. automatisierter Probenvorbereitung.

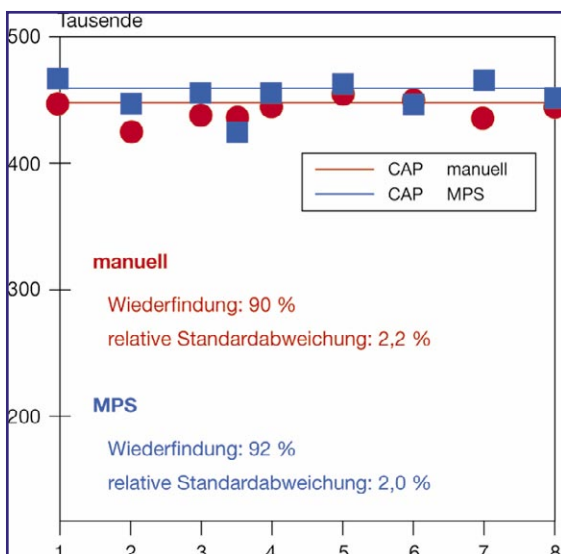
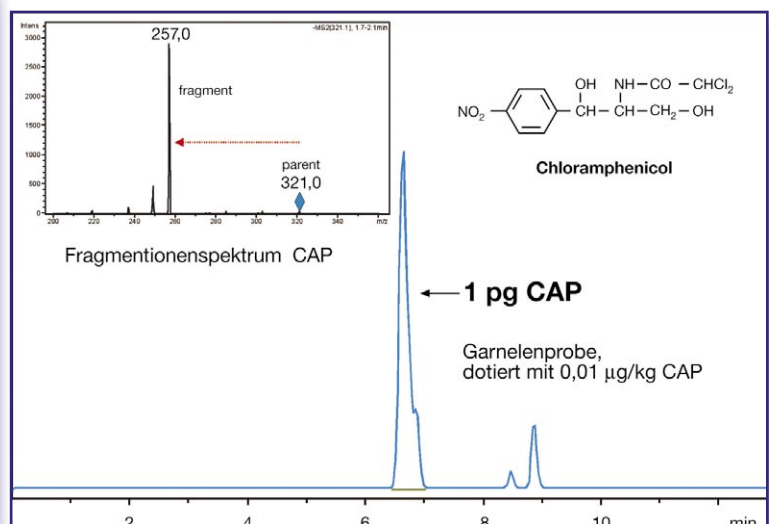
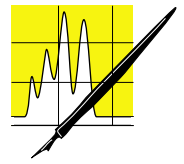


Abbildung 6: Detektion eines CAP-Rückstandes von 0,01 µg/kg in einer Garnelenprobe nach automatisierter SPE auf dem GERSTEL-MultiPurposeSampler MPS.







## AUFSÄTZE

- MOVE** — Transport des Probenwials in die SPE-Walposition, Transport der Kartusche in den Schritten SPE Waste
- A >> 5+6** — Konditionieren der Kartusche mit 4 mL MeOH und 4 mL H<sub>2</sub>O, Tropfgeschwindigkeit: 50 µL/s
- A >> 7** — Aufnahme von 4 mL Probe auf die Kartusche, Tropfgeschwindigkeit: 50 µL/s
- A >> 8+9** — Spülen der Kartusche mit 1 mL H<sub>2</sub>O und 2 mL MeOH/H<sub>2</sub>O (1:10), Tropfgeschwindigkeit 50 µL/s
- SPE -> SHIFT** — Transport des Schlitze mit der Kartusche von der SPE-Waste- zur SPE-Walposition
- A >> 10** — Elution des CAPs mit 3 mL MeOH/H<sub>2</sub>O (1:1), Tropfgeschwindigkeit: 30 µL/s
- WAIT** — 30 Sekunden warten zum Abtropfen des Eluenten
- MOVE** — Transport der Kartusche zum Abfallgefäß
- SPE -> SHIFT** — Abwerfen der Kartusche
- MOVE** — Transport des Probenwials in das 2-mL-Wal-Tray

Abbildung 7: Probenvorbereitung per Mausclick: SPE-Methode zum Nachweis von CAP durchgeführt auf einem Sampler der GERSTEL-MPS-Familie. Ergebnis: 50-prozentige Zeitersparnis.

## LC/MS für den sicheren und sensitiven Nachweis

Mittel der Wahl zum sicheren und sensitiven Nachweis von Aflatoxinen ist die LC/MS nach vorangegangener spezifischer Festphasenextraktion (SPE) beziehungsweise Affinitätschromatographie, was die Einhaltung der vom Gesetzgeber festgelegten Nachweisgrenzen gewährleistet. „Während das eigentliche Probenhandling im Vorfeld der LC/MS-Analyse von Aflatoxinen nur begrenzt Spielraum für Optimierung bietet“, erklärt Dr. Norbert Helle, „lassen sich zuverlässige und verwertbare Messergebnisse in weniger als der Hälfte der bisher üblichen Zeit erreichen, wenn die Immunoaffinitätschromatographie an Festphasen-Kartuschen automatisiert wird.“

Dr. Norbert Helle hat eine LC/MS-Methode zum Nachweis der Aflatoxine B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> und G<sub>2</sub> in Lebensmitteln, die zum Beispiel für Pistazien, Paprikagewürz und verschiedene Früchte geeignet ist, entwickelt, bei der die Aflatoxine B<sub>1</sub> und G<sub>1</sub> nach Aufreinigung mittels Immunoaffinitätschromatographie über Einwegkartuschen bromiert, sprich derivatisiert werden und schließlich ein Aliquot der Probe auf die LC-Säule aufgegeben wird.

„Sämtliche Schritte der Probenvorbereitung, von der Zugabe des internen Standards über die SPE und Derivatisierung bis zur Probenaufgabe, verlaufen voll automatisiert“, erklärt der Applikationsexperte und ergänzt: „Durch die software-gesteuerte Verschachtelung von Probenvorbereitung und Analyse besteht zu keinem Zeitpunkt das Risiko etwa eines Substanzverlustes oder unerwünschter chemischer Reaktionen, weil sämtliche Schritte der Probenvorbereitung, einschließlich Derivatisierung, sozusagen just-in-time erfolgen.“

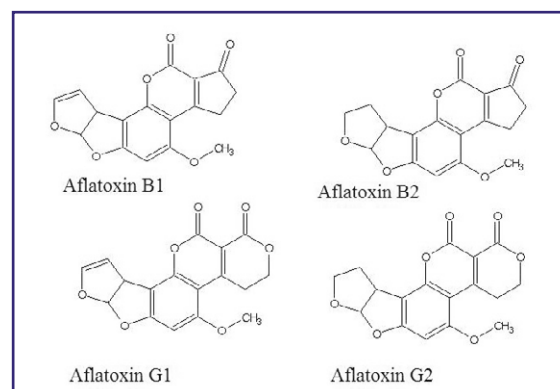
Schneller und empfindlicher: Niedrigste Nachweisgrenzen in kürzerer Zeit erreichen

Zur Derivatisierung versetzte der Chemiker den Probenextrakt mit einer Lösung elementaren Broms in Chloroform. Dr. Norbert Helle: „Dibromierte Komponenten waren nicht zu detektieren.“ Den Ergebnissen nach zu urteilen, sagt der Applikati-

onsexperte, zeigen die erhaltenen monobromierten Aflatoxine längere Retentionszeiten in der Umkehrphasenchromatographie als nicht-bromierte Verbindungen, was unter anderem in einer besseren Trennung der vier Aflatoxine resultiert. Auch wird eine deutliche Minimierung von Interferenzen durch Matrixbestandteile beobachtet. Wichtiger noch sei die Tatsache: die Derivatisierung führe zu einer signifikant besseren MS-Response verbunden mit einem charakteristischen Brom-Muster im Massenspektrum, letztlich der Grund, sagt Dr. Norbert Helle, „warum wir die Nachweisgrenze für alle untersuchten Aflatoxine unter 0,01 µg/kg senken konnten.“

Helle gelangte zudem sehr viel schneller zu sensitiven, sicheren und aussagekräftigen Ergebnissen, als es herkömmlich der Fall sei: „Während die manuelle Aufarbeitung der Kartuschen bei acht Proben alles in allem rund vier Stunden erfordert“, erklärt der Wissenschaftler, „betrug der Zeitaufwand unter Einsatz des MultiPurposeSamplers MPS mit SPE-Option für die gleiche Anzahl an Proben gerade einmal 80 bis 95 Minuten, in Abhängigkeit von der verwendeten Kartusche. Das bedeutet eine Zeitersparnis von weit über 50 Prozent.“ **CLB**

Abbildung 8: Strukturformeln der Aflatoxine B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> und G<sub>2</sub>. Aflatoxine sind fluoreszierende, heterozyklische Verbindungen, bestehend aus einer Dihydro- oder Tetrahydrofuranofuran-Einheit, die mit einem substituierten Cumarin-Ring verbunden ist.



Andreas Seubert, Marburg und Andrea Wille, Herisau (Schweiz)

Die Ionenchromatographie (IC) ist als wichtigstes Werkzeug zur Bestimmung kleiner Anionen und Kationen nicht mehr aus der Wasseranalytik wegzudenken. Die meisten Aufgabenstellungen kann sie mit der gebräuchlichen Leitfähigkeitsdetektion problemlos erschlagen, aber in der jüngeren Vergangenheit hat sich unter bestimmten Randbedingungen der Einsatz leistungsfähigerer Detektoren als notwendig erwiesen. Wenn diese besonderen Anforderungen eine sichere Identifizierung des Analyten selbst oder eines seiner Elemente, eine Ablinderung von Koelutionen durch mehrdimensionale Detektion oder die Absenkung der Nachweisgrenzen für wenig leitfähige aber zumindest ionisierbare Analyten bedeuten, ist die Massenspektrometrie (MS) der Detektor der Wahl. Dabei kann zwischen Element-MS in Form der ICP-MS mit zwischengeschalteter elementspezifischer Ionisierungsquelle und der direkten Ionisierung aus der Lösung heraus im Sinne der Molekül-MS unterschieden werden. Moderne Elektrospray-Ionenquellen eignen sich dabei hervorragend für leicht ionisierbare oder permanent ionische Analyten.

## Einleitung

Auf Trennungen basierende Analysetechniken wie die Chromatographie sind ohne eine weitere als Detektion eingesetzte Technik nicht als vollständige, quantifizierende Analysenmethode einsetzbar. Die Wahl des Detektionsprinzips wird dabei von den Anforderungen des gewählten Trennprinzips und von den Eigenschaften der Analyten, der Matrix und nicht zuletzt des Eluenten bestimmt. Für die IC lautet die Antwort auf die Frage nach dem Detektor in der Regel „Leitfähigkeitsdetektion“.



### Die Autoren

**Prof. Dr. Andreas Seubert** studierte in Hannover Chemie. Er promovierte und habilitierte sich dort. Thema seiner Habilitation war „Einsatzgebiete der On-line-Kopplung HPLC-Atom-spektrometrie in der Elementanalytik. Er ist jetzt Professor für Analytische Chemie an der Philipps-Universität Marburg. Von 2002 bis 2006 war er Vorstand des Arbeitskreises „Mikro- und Spurenanalyse der Elemente und Elementspezies“ (A.M.S.El.).

**Dr. Andrea Wille** ist Product Manager IC & Hyphenated Techniques, Competence Center Ion Chromatography, Metrohm AG, Oberdorfstr. 68, 9100 Herisau (Schweiz).



Für eine selektivere und zugleich empfindlichere Detektion bietet sich die MS als Detektionsprinzip an. Bedingt durch extrem niedrige Untergründe und vergleichsweise effiziente Ionisierungsverfahren lassen sich routinemäßig Nachweisgrenzen im  $\mu\text{g/L}$  bis  $\text{ng/L}$ -Bereich erzielen.

Die Besonderheiten der IC-ICP-MS und der IC-MS liegen in der Verwendung der IC als einer speziellen LC-Variante. Die IC eignet sich hervorragend zur Trennung permanent oder partiell anionischer und kationischer Verbindungen und setzt hierfür zumeist permanent ionische stationäre Phasen ein. Diese erlauben im Gegensatz zur Umkehrphasen-LC (RP-LC) eine Verwendung großer Probenvolumina oder sogar den Einsatz von Anreicherungsäulen.

## Die Ionenchromatographie als das besondere Element der IC-MS und IC-ICP-MS

Die IC dient als Ionenaustauschchromatographie bevorzugt zur Trennung kleiner Anionen und Kationen. Die Elution basiert dabei im Wesentlichen auf gleichionischer Verdrängung, wobei für Kationen auch Komplexbildung in Frage kommt. Der zur Trennung benötigte Ionenaustauscher lässt sich auch dynamisch durch Zugabe eines Ionenpaarreagenzes erzeugen. Als stationäre Phase wird dann eine Umkehrphase mit hoher Retention für den unpolaren Anteil des Ionenpaarreagenzes eingesetzt. Diese als Ionenpaarchromatographie bezeichnete Variante ist in ihrem Verhalten der RP-LC sehr ähnlich und bietet oftmals die besten Trennleistungen. Nachteilig ist die limitierte Probenmenge, die zur Vermeidung einer drastischen Störung der Gleichgewichte auf der Trennstrecke injiziert werden darf.

Aus Sicht der Molekül-MS bietet die IC einige interessante Möglichkeiten, beinhaltet zugleich aber auch systembedingte Nachteile gegenüber der RP-LC. Die Verdampfung des Eluenten ist ein sicherlich kritischer Punkt. Durch die Desolvatisierung der Lösungsmitteltröpfchen entstehen bei nichtflüchtigen Puffern Ablagerung auf dem Einlasssystem des Massenspektrometers. Auch wenn moderne Geometrien dieses Problem ablindern, besteht doch der latente Wunsch nach komplett flüchtigen Eluenten. Ein weiterer Punkt ist die Entladung der Analytionen durch Eluentbestandteile. So unterdrücken gängige Eluenten wie Nitrat praktisch komplett die Bildung von Analytanionen. Beide Probleme lassen sich durch Ver-

wendung klassischer IC-Elutionssysteme in Verbindung mit einem Suppressor lösen.

Die IC-Systeme für die IC-MS- und IC-ICP-MS-Kopplung bestehen standardmäßig aus einer Hochdruckpumpe, einem Injektionsventil und einer Trennsäule. Im Fall der IC-MS Kopplung wird häufig zur Vermeidung von Ionisationsproblemen gerade bei Verwendung des „Negativ Ion Mode“ ein chemischer Suppressor eingesetzt. Dieser erlaubt die Integration eines Leitfähigkeitsdetektors zur Systemkontrolle und zur Aufspürung von Ionisationsproblemen. Die Ionisierungsausbeute einzelner Analyten in der IC-MS kann durch koeluiierende Bestandteile der Probe erheblich beeinflusst werden. Dieser Suppressor kann z. B. ein packed-bed Typ wie das Metrohm Suppressor Modul MSM II sein. Er zeichnet sich neben seiner Druckstabilität besonders durch seine völlige Lösungsmittelbeständigkeit aus. Auch ist durch das Säulenprinzip die Suppression und damit die Entfernung nichtflüchtiger Bestandteile vollständiger als dies bei membranbasierten Suppressoren der Fall ist.

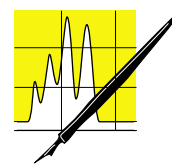
### Die MS-Detektion für kleine Moleküle

Die Molekül-MS war lange Zeit nicht kompatibel zur Flüssigkeitschromatographie. Hauptgrund hierfür waren Probleme bei der Überführung einer Flüssigkeit in das Hochvakuum eines Massenspektrometers. Beim spontanen Verdampfen der Flüssigkeit entstehen große Gasvolumina, mit denen gängige Vakuumsysteme überfordert waren. Weiterhin interessiert bei einer Kopplung mit der LC nur ein sehr geringer Anteil der einzubringenden Flüssigkeit, nämlich der Analyt. Die Unterscheidung zwischen Analyt und Eluent gelingt in der IC-MS durch gezielte Ionisierung des Analyten, ohne dabei auch den Eluent für das Massenspektrometer sichtbar zu machen. Dies gelingt für die RP-LC wiederum erheblich einfacher als für die IC. Der Durchbruch für die Anbindung von Molekül-MS an die IC stellt die Entwicklung der Elektrosprayionisation (ESI) dar. Mit Hilfe der ESI und ihrer Derivate wie APCI (Atmospheric Pressure Chemical Ionisation) oder Ionspray lassen sich heutzutage ionische Analyte gut in Massenspektrometer überführen.

Während die LC-MS-Kopplung gut etabliert ist, steckt die IC-MS noch in den Kinderschuhen. Probleme sind eine stark eingeschränkte Eluentwahl (zumeist auf chemische Suppression angewiesen) durch Störungen in der Ionenquelle, Beeinflussung der Ionisierungsausbeute durch koeluiierende Substanzen sowie extreme Empfindlichkeitsunterschiede je nach Analyt und Betriebsmodus. Auf der Habenseite ist eine bemerkenswert hohe Selektivität durch Registrierung des  $M^+$  bzw.  $M^-$ -Signals und eine in günstigen Fällen hohe Empfindlichkeit zu nennen [2].

Für IC-MS Systeme werden bislang einfache Quadrupol-Massenspektrometer eingesetzt. Die Verwendung von  $MS^n$ -Techniken in der IC-MS ist im Anfangsstadium (EPA 332.0), der Einsatz hoch-

auflösender Massenspektrometer bei den aktuellen Fragestellungen zumeist noch nicht notwendig. Ein wichtiges Merkmal der Massenspektrometer in der IC-MS ist deren hohe Ionisierungsausbeute und Transmission für kleine Ionen.



AUFSÄTZE

### Die elementspezifische Detektion mittels ICP-MS

Die atomspektrometrischen Methoden auf Basis des induktiv gekoppelten Argon-Plasmas (ICP) erlauben die empfindliche Bestimmung fast aller Elemente in einer fast uneingeschränkten Bandbreite von gasförmigen, flüssigen und festen Matrices. Die wichtigsten Bauteile eines ICP sind in der Abbildung 1 gezeigt.

Im ICP liegen die meisten Elemente bedingt durch die hohen Temperaturen auf der einen Seite und durch das Vorliegen einer hohen  $Ar^+$ -Ionenkonzentration auf der anderen Seite praktisch ausschließlich als einfache

Abbildung 1: Aufbau eines ICP-MS-Systems für die Kopplung mit der Ionenchromatographie. Wichtigste Anpassungspunkte sind die Wahl von Zerstäuber und Zerstäuberammer..

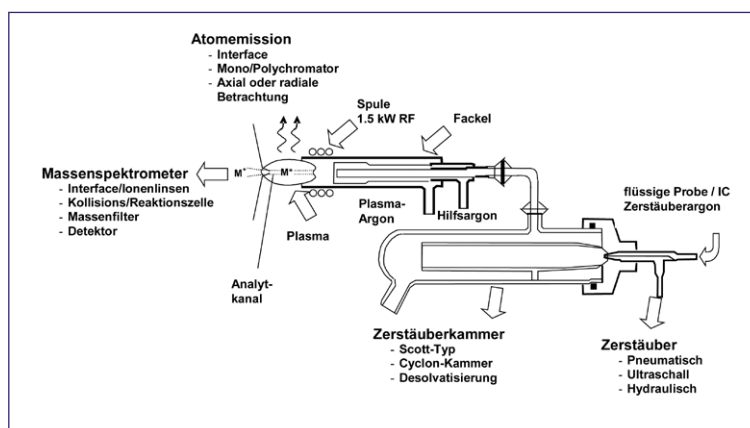
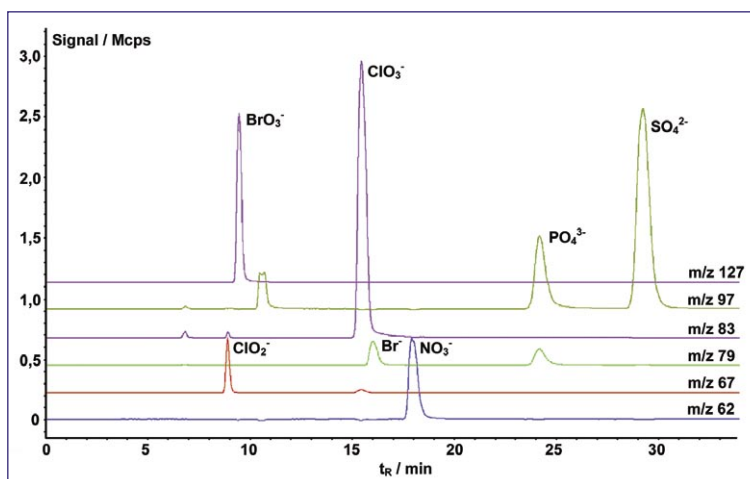


Abbildung 2: IC-MS-Chromatogramm eines 10 mg/L Standards der Standardanionen Bromid, Nitrat, Phosphat und Sulfat mit den Oxohalogenide Bromat, Chlorit und Chlorat; Säule: Metrosep A Supp 5 - 250; Eluent: 3,2 mmol/L  $Na_2CO_3$  + 1,0 mmol/L  $NaHCO_3$  (0,7 ml/min); ESI: 13 L/min  $N_2$ , 350 °C; Agilent MSD: SIM neg., Fragmentor: 70 V..



geladene Ionen vor. Deren Trennung ermöglicht zu meist der Quadrupol-Massenfilter des ICP-MS mit einer Auflösung von 0,2 bis 0,5 amu. Alternative Massenfilter sind doppelt-fokussierende Massenspektrometer mit entweder hoher Auflösung oder exzellenter Transmission und die Flugzeitmassenspektrometer, der großer Vorteil in der auf den Startzeitpunkt der Messung bezogenen simultanen Registrierung des gesamten Massenspektrums.

Die Leistungsfähigkeit aller ICP-MS Instrumente wird durch die Transmission des Interfaces und des Massenanalysators, durch die Untergrundzählrate ausgelöst durch Restgas und Photonen sowie durch Störungen entstehend aus Molekül- und doppelt geladenen Ionen bestimmt.

An diesem Punkt setzt ebenfalls die IC-ICP-MS-Kopplung an [1]. Entsteht die Molekülionenstörung aus der Probe und lassen sich die Elemente mittels IC separieren, so ist das Problem gelöst. Ein Beispiel ist die Bestimmung von Arsen-Verbindungen mit IC-ICP-MS. Die Interferenz des  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ -Molekülions, entstehend aus dem in praktisch allen Proben vorhandenem Chlorid, auf dem einzigen Arsen-Isotop  $^{75}\text{As}$  wird elegant umgangen. Aber auch bei der Bestimmung von Brom und Chrom treten Molekülioneninterferenzen auf, die gelöst werden müssen. Die neueste Generation von quadrupolbasierten ICP-MS-Geräten bietet hierfür eine Kollisionszelle an (manchmal auch Reaktionszelle, Hexapole oder Oktopole genannt, je nach Hersteller), die der Energiefokussierung der Ionen und der Zerstörung von Molekülionen dient. Diese Zelle beeinflusst die Transmission der Ionen und zerstört bzw. entlädt Molekülionen. Dieses Feature wird in der Kopplung IC-ICP-MS bedeutsam, wenn keine chromatographische Separation der Störung möglich ist.

## Anwendungen der IC-MS und IC-ICP-MS-Kopplung im Vergleich

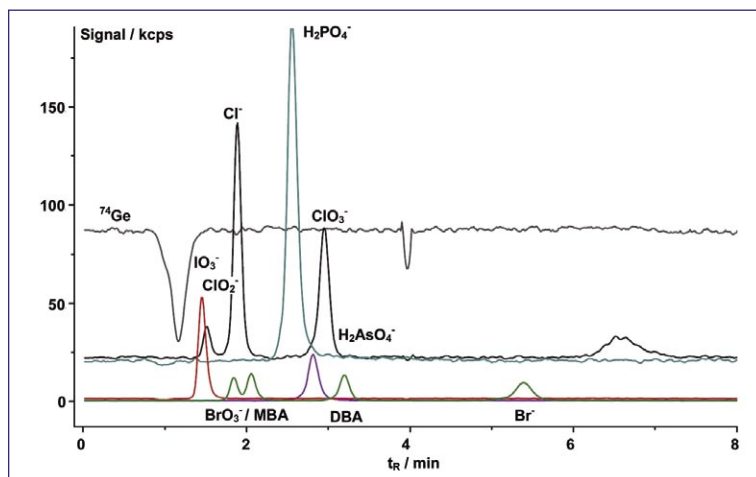
Die IC-MS-Kopplung wird eingesetzt, wenn niedermolekulare und ionische Bestandteile empfindlich und selektiv detektiert werden sollen. Diese Vorteile kommen in der Trinkwasseranalytik bei der Bestimmung von Oxohalogeniden wie Perchlorat [2] und Bromat [3], bei synthetischen Komplexbildnern oder bei Halogenoessigsäuren zum Tragen.

Weiterhin wird sie in der klinischen und biochemischen Forschung zur Bestimmung von organischen Säuren, Aminen oder Zuckern [4], in der Pharmaindustrie zur Peak-Identifizierung und Reinheitsuntersuchungen, in der Petrochemie zur Bestimmung von Indikatorsstoffen sowie in der Lebensmittelindustrie, der Galvanik, der Naturstoffanalytik und der Umweltanalytik benutzt.

Typische Nachweisgrenzen der IC-MS-Kopplung für ionische Analyten liegen im ng/L-Bereich und sind damit erheblich niedriger als bei herkömmlichen IC-Detektoren. Die Interpretation der Massenspektren gestaltet sich im Falle kleiner Moleküle ob der Randbedingungen der IC meist einfach. Zur Peakidentifizierung tragen neben dem  $\text{M}^+$ -Peak die Retentionszeit, Daten aus der Leitfähigkeitsdetektion, die Isotopenmuster, die Interpretation von Molekülfragmenten und auch die beobachtete Addukt- und Oligomerbildung bei.

Die Applikationen der Online Kopplung IC-ICP-MS ranken sich in der Regel um ein Zielelement, welches mit ICP-MS eindeutig und hochempfindlich zu bestimmen ist. Im Trinkwasserbereich erfasst die IC-ICP-MS die Bestimmung von Iod und Brom-Spezies, die Speziation von Metallen und Halbmetallen wie Chrom, Zinn, Arsen und Antimon. Wichtige Elemente kleiner Anionen wie Chlor, Schwefel und Phosphor sind eher unempfindlich, wobei die instrumentelle Ausstattung des ICP-MS wichtig ist.

Abbildung 3: IC-ICP-MS-Chromatogramm eines Multistandards der Anionen Iodat (10 µg/L), Arsenat (20 µg/L), Bromid und Bromat (30 µg/L), Mono- und Dibromacetat (50 µg/L), Phosphat (300 µg/L), Chlorid (400 µg/L) sowie Chlorit und Chlorat (2 mg/L); Säule: TEA-Latex-Ionenaustauscher; Eluent: 40 mmol  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , pH 6 (1,0 ml/min).



### Oxohalogenidanalyse in Trinkwässern und Lebensmitteln

Im Trinkwasserbereich ist die Bestimmung von Bromat ob seiner potentiell krebserzeugenden Wirkung von Bedeutung. In Abbildung 2 ist das IC-MS-Chromatogramm einer Mischung aus Standardanionen und Oxohalogeniden gezeigt, in der Abbildung 3 ein entsprechendes Chromatogramm für die IC-ICP-MS. Ein Methodenvergleich für die Bromat-Bestimmung im Spurenbereich zeigte, dass die IC-MS-Kopplung mit einer Nachweisgrenze im einstelligen ng/L-Bereich zu den empfindlichsten IC-Detektionssystemen gehört. Eine ähnliche Nachweisgrenze liefert die IC-ICP-MS bei besserer Reproduzierbarkeit der Messungen. Bei der Analyse von Iodspezies, wie sie zur Geschmackskontrolle nach der Ozonisierung von Tafelwässern notwendig wird, erzielt die IC-ICP-MS niedrigere Nachweisgrenzen. Hauptproblem bei der Iodspeziesanalytik ist allerdings die Wahl einer passenden Eluent/Trennsäule-Kombination zur

Vermeidung von Speziesumwandlungen und Adsorptionen.

Perchlorat wird als Oxidationsmittel in Raketentreibstoffen, in Sprengstoffen und in der Galvanikindustrie eingesetzt. Untersuchungen haben gezeigt, dass sich Perchlorat im Wasser anreichert. Die Auswirkungen des Perchlorats auf den Menschen sind noch nicht ausreichend bekannt, sicher ist jedoch die hemmende Wirkung auf die Iodaufnahme in der Schilddrüse. Die Nachweisgrenze für Perchlorat in der IC-MS ist mit 20 ng/L ca. 2 Größenordnungen niedriger als bei konventioneller IC. In Abbildung 4 ist die Analyse eines Grundwassers auf Perchlorat mit IC-MS gezeigt. Die IC-MS Methode dient mittlerweile routinemäßig zur Aufdeckung von Grundwasserkontaminationen durch Sprengstoffrückstände. Im Fall chlorhaltiger Anionen ist die IC-ICP-MS aufgrund einer niedrigen Empfindlichkeit für Chlor gegenüber der IC-MS nicht konkurrenzfähig. Die erzielbaren Nachweisgrenzen liegen leicht oberhalb der Leitfähigkeitsdetektion.

### Analyse von Aminen

Kleine aliphatische Amine wie Methylamine oder Ethanolamine werden als organische Neutralisationsmittel oder Puffersubstanzen eingesetzt. Sie finden auch als korrosionshemmende Substanzen ihre Anwendung. Die Analyse erfolgt nach Auftrennung auf einer Kationenaustauschsäule. Als Eluent werden organische Säuren an Stelle von Mineralsäuren verwendet. Ein Einsatz der IC-ICP-MS für die Amin-Analytik ist nicht sinnvoll.

### Komplexbildner

Bei der Bestimmung von Komplexbildnern kommt die Orthogonalität der beiden Methoden zum Tragen. In der IC-MS werden die Komplexbildner anhand ihrer Massenspektren identifiziert und quantifiziert, die IC dient der Trennung zur Vermeidung von Störungen und Interferenzen [5]. In der IC-ICP-MS werden die Komplexbildner in Metallchelate-Komplexe umgesetzt und diese über IC getrennt. Die Quantifizierung geht dann über das Metallion, die Identifizierung des Komplexbildners über die Retentionszeit in der IC.

### Zuckeranalyse mittels IC-MS-Kopplung

Kohlenhydrate sind eine weitere Klasse von Molekülen, die mit IC-MS-Kopplung bestimmt werden können. Aufgrund ihrer Polarität können sie als Anion oder als Neutralkmolekül getrennt werden. Im letzteren Fall wird eine Ionenausschlussssäule verwendet. Hier können neben den Zuckern auch Zuckeralkohole, Alkohole und organische Säuren in einem chromatographischen Lauf bestimmt werden. Die getrennten undissoziierten Kohlenhydrate werden nach der Säule durch inverse Suppression in ihr Lithium- oder Natriumsalz überführt. Dieser Vorgang findet im Suppressor statt, der kontinuierlich mit Alkaliionen belegt wird. Die Alkaliaddukte

der Kohlenhydrate sind sehr stabil und können sehr empfindlich detektiert werden.

## Zusammenfassung und Perspektiven

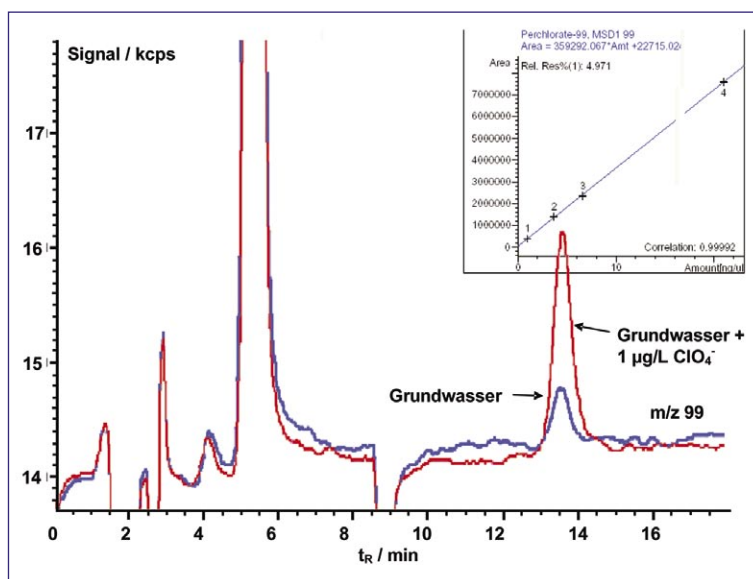
Die Anbindung eines Massenspektrometers an die IC eröffnet interessante Applikationen im Lebensmittel- und Umweltbereich. Hier kombiniert sich die überlegene Trennleistung der IC für kleine Ionen und kleine stark hydrophile Moleküle mit der hohen Empfindlichkeit und Selektivität der MS. Wenn ein Element als Besonderheit des Analyten genutzt werden kann, wie z.B. bei der Analyse von Oxohalogeniden oder bei der Elementspeziesanalyse, dann ist die Element-MS in Form der ICP-MS der Detektor der Wahl. Die Chromatogramme werden einfacher und leichter interpretierbar, enthalten aber keine über die Trennung hinausgehende Molekülinformation. Dieser Nachteil wird durch exzellente Reproduzierbarkeiten und extrem niedrige Nachweisgrenzen für viele Applikationen kompensiert.

In der Weiterentwicklung müssen die aktuell zumeist einfach zusammengesetzten Applikationen auf beiden Seiten verbessert werden. Dies bezieht sich auf die Wahl des Trennsystems bestehend aus Säule und Eluent in der IC und auf die Ausgestaltung des Massenspektrometers in Bezug auf Interface und Massenfilter. **CLB**

### Literatur

- [1] A Seubert, Trends Anal. Chem. 20 (2001) 274-287
- [2] J Mathew, J Gandhi, J Hedrick, J Chromatogr A 1085 (2005) 54-59
- [3] A Seubert, G Schminke, M Nowak, W Ahrer, W Buchberger, J Chromatogr A 884 (2000) 191-199
- [4] B Paull, L Barron, J Chromatogr A 1046 (2004) 1 - 9
- [5] TP Knepper, A Werner, G. Bogenschütz, J Chromatogr A 1085 (2005) 240-246

Abbildung 4: IC/MS-Chromatogramm eines Grundwassers; Säule: Metrosep A Supp 5-100; Eluent: 30 mmol/L NaOH + 30 % Methanol (0,8 ml/min); ESI: 10 L/min N<sub>2</sub>, 320 °C; Agilent MSD: SIM neg., Fragmentor: 140 V; Peak 1: original Grundwasser: 0,35 µg/L Perchlorat (99 m/z), Peak 2: Grundwasser aufgestockt mit mit 1 µg/L Perchlorat.





VARIAN

BTEX- und LHKW-Analytik wässriger Proben mit GC/MS

# Ohne zeitaufwendige Anreicherungsverfahren

Achim Sieveritz, Georg Kneer, Darmstadt

Durch Abfälle und Abwässer, sowie durch Unfälle sind flüchtige chemische Verbindungen in die Umwelt gelangt, die unsere Wasserökosysteme gefährden können. Da es nahezu unmöglich ist, den Eintrag dieser potenziell toxischen bzw. cancerogenen Verbindungen rückgängig zu machen, wird der Erfassung dieser VOC-Konzentrationen (VOC = volatile organic compound), auch aufgrund zunehmend verschärfter behördlicher Auflagen, mehr und mehr Aufmerksamkeit gewidmet. Unter VOC versteht die Weltgesundheitsorganisation (WHO) organische Substanzen mit einem Siedebereich von 50-260 °C. Dazu zählen z.B. Verbindungen wie Alkane, Alkene, Aromaten (Benzol etc.), halogenierte Kohlenwasserstoffe, Terpene, Aldehyde und Ketone. Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der qualitativen und quantitativen Bestimmung von LHKWs (leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe) und BTEX (Benzol, Toluol, Ethylbenzol und Xylole) mittels GC/MS. Der besondere Vorteil der dargestellten Analytik ist der Verzicht auf zeitintensive Anreicherungs-schritte und die einfache und schnelle Qualifizierung und Quantifizierung der entsprechenden Verbindungen.



Abbildung 1: Varian GC/MS-System Saturn 2100 mit CTC-CombiPAL.

## Ergebnisse und Diskussion

Quadrupol-GC/MS-Systeme (massenselektive Detektoren) für die VOC-Analytik sind in Ihrer Nachweisempfindlichkeit limitiert. Einige Gerätehersteller versuchen, die Problematik durch Anreicherungs-schritte zu umgehen. Dabei werden die zu untersuchenden Verbindungen in einer Falle (Trap) adsorbiert und nach erfolgter Anreicherung



Sieveritz

### Die Autoren

**Achim Sieveritz** ist staatl. gepr. Chemietechniker und war in den letzten Jahren als Produktspezialist für GC/MS-Systeme bei Varian Deutschland tätig. Er ist jetzt Verkaufingenieur für GC/MS-, LC/MS- und  $\mu$ GC-Produkte bei der Varian Deutschland GmbH, Darmstadt.

**Dr. Georg Kneer** ist Vertriebsleiter für Massenspektrometrie im Bereich Analytical Instruments bei der Varian Deutschland GmbH, Darmstadt.



Kneer

## Apparativer Aufbau und Geräteparameter

- Varian GC/MS-System Saturn 2100
- Split/Splitless-Injektor
- Varian FactorFour™ Kapillar-GC-Säule
- VF 624, 60 m \* 0.32 mm \* 1.8  $\mu$ m df
- Headspace-Autosampler CombiPAL der Fa. CTC
- Varian MS-Workstationsoftware

desorbiert und auf die Säule gegeben. Auch Mehrfach-Headspace-Extraktion-und-Trap (PHET), d. h. der mehrfache Druckaufbau im Headspace-Gefäß und die anschließende wiederholte Anreicherung in der Trap werden angewandt. Diese Methoden sind zwar mit einer Verbesserung der Nachweisempfindlichkeit verbunden, jedoch oftmals mit Fehlern behaftet bzw. fehleranfällig.

Eine zweite Variante ist die Kryofokussierung in einem PTV Injektor. Diese ist sehr kosteninten-

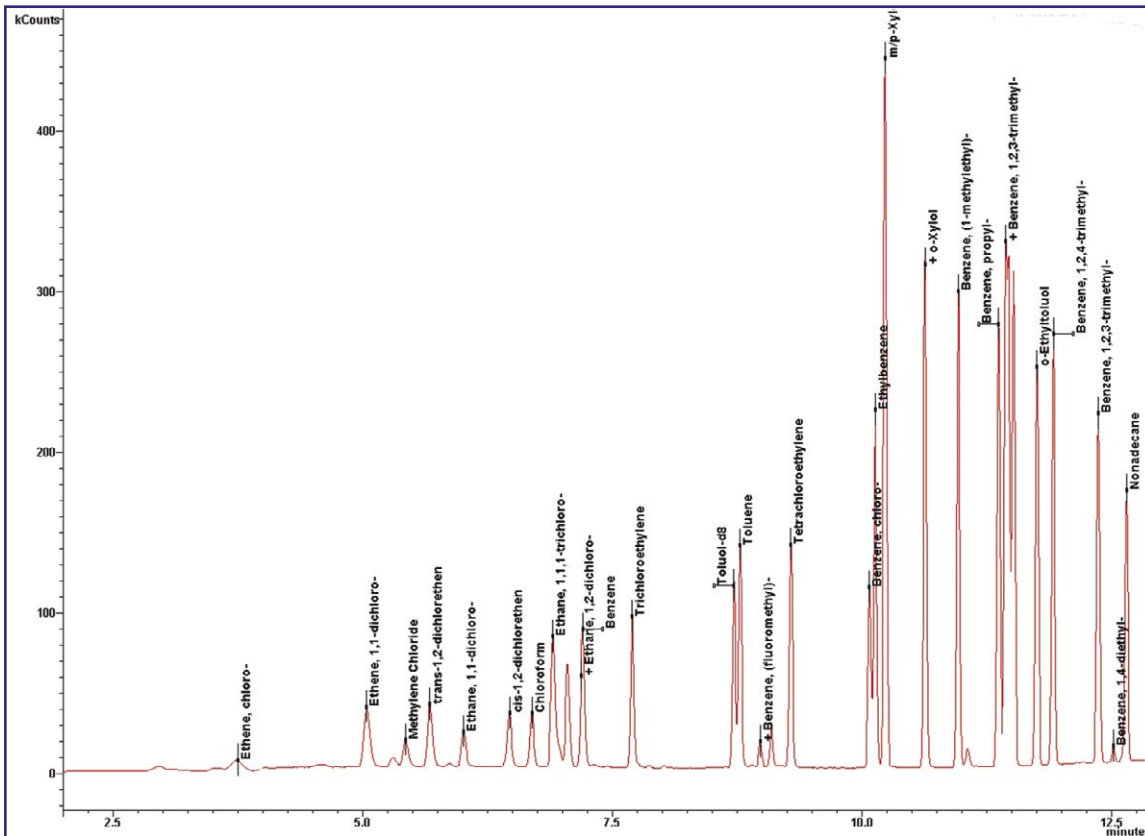


Abbildung 2: Chromatogramm einer Probe mit BTEX und LKHWS.

siv, da sie große Mengen an flüssigem Stickstoff benötigt.

Um Empfindlichkeit zu gewinnen, nutzen single-quadrupol-basierende, massenselektive Detektoren, das Single-Ion-Monitoring (SIM). Dabei werden lediglich Massenspuren von charakteristischen Ionen aufgenommen und für die Quantifizierung herangezogen. Diese Methodik hat den Nachteil, dass mit sehr vielen einzelnen Zeitsegmenten gearbeitet werden muss und keine Aufnahme vollständiger Massenspektren erlaubt.

Das von Varian verwendete GC/MS-Analysesystem ist auf die o. g., teilweise zeit- und kostenintensiven, Ionenpräparationstechniken nicht angewiesen. Dies begründet sich darin, dass die „Full-Scan“-Empfindlichkeit einer Varian-Ionenfalle mit der von Single-Quadrupolsystemen im SIM-Modus vergleichbar ist. Für die quantitative Analyse mit der Varian-Ionenfalle werden auch hier signifikante Ionen herangezogen, wobei die Identifizierung des jeweiligen Analyten jedoch durch das Gesamtspektrum erfolgt.

Bei der beschriebenen Methodik wird im einfachsten Fall ein Varian Saturn 2100, bestehend aus dem CP3900 Gaschromatographen mit dem Ionenfallen-Massenspektrometer, verwendet. Als Autosampler wird der CombiPAL Headspace-Sampler der Firma CTC genutzt. Die Steuerung und Auswertung erfolgt mithilfe der Varian MS-Workstation-Software.

Ausschnitt von der Abbildung 2: Quantifizierung von Vinylchlorid.

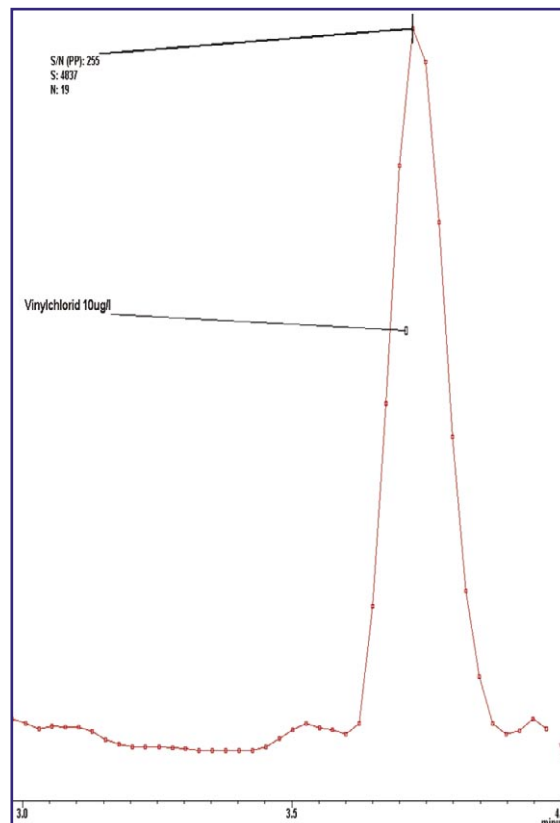


Abbildung 3:  
Kalibrierkurve  
für Vinylchlorid  
(s. „Ethene,  
chloro-“ in der  
Peaktabelle bzw.  
Chromatogramm),  
 $r^2 = 0.9999$ .

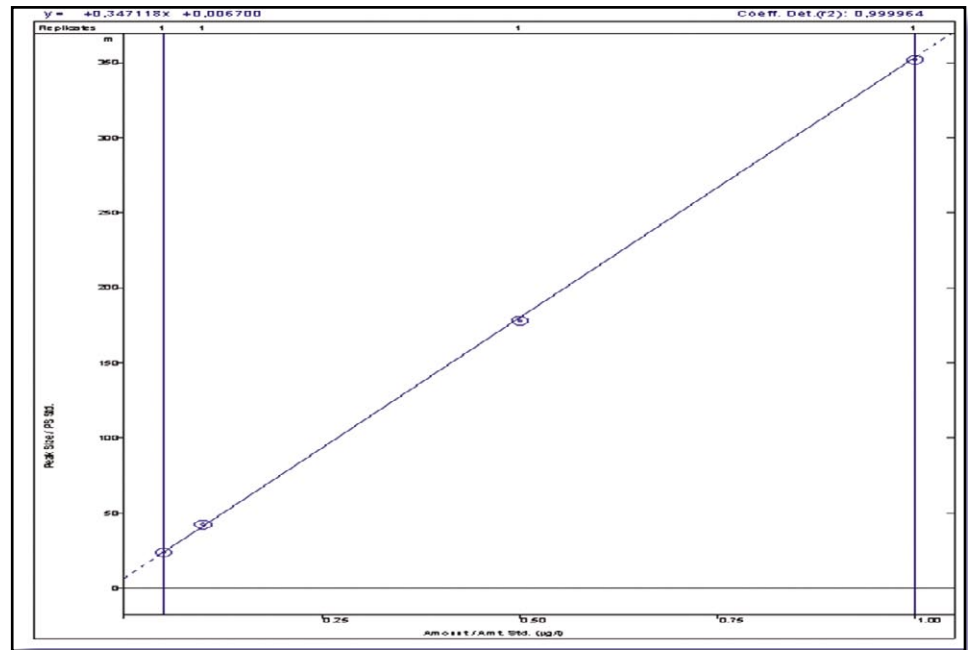


Tabelle 1: Peak-  
und Verbindung-  
stabelle.

Retenzzeit	Verbindung	Quant. Ion
8.673 IS	Toluol-d8	98.0
3.702	Ethene, chloro-	62.0
4.999	Ethene, 1,1-dichloro-	61.0
5.389	Methylene Chloride	49.0
5.628	trans-1,2-dichlorethen	61.0
5.965	Ethane, 1,1-dichloro-	63.0
6.423	cis-1,2-dichlorethen	61.0
6.650	Chloroform	83.0
6.859	Ethane, 1,1,1-trichloro-	97.0
7.007	Carbon Tetrachloride	117.0
7.163	Benzene	78.0
7.143	Ethane, 1,2-dichloro-	62.0
7.655	Trichloroethylene	95.0
8.735	Toluene	91.0
9.050	Ethane, 1,1,2-trichloro-	97.0
9.244	Tetrachloroethylene	166.0
10.031	Benzene, chloro-	112.0
10.088	Ethylbenzene	91.0
10.188	m/p-Xylene	91.0
10.586	o-Xylol	91.0
10.589	Styrene	104.0
10.921	Benzene, (1-methylethyl)-	105.0
11.324	Benzene, propyl-	91.0
11.404	m/p-Ethyltoluol	105.0
11.476	Benzene, 1,3,5-trimethyl-	105.0
11.709	o-Ethyltoluol	105.0
11.871	Benzene, 1,2,4-trimethyl-	105.0
12.324	Benzene, 1,2,3-trimethyl-	105.0

### Probenvorbereitung und Probenaufgabe

10 mL der wässrigen Probe werden unbehandelt in ein Headspace-Probengefäß gegeben und bei 80 °C für 30 min thermostatisiert.

Anschließend werden mit der Hamilton Gasspritze 2.5 mL der angereicherten Gasphase entnommen und eingespritzt.

Die Abbildung 2 zeigt ein beispielhaftes Chromatogramm und die Tabelle 1 die dazugehörige Peaktabelle.

Besonders kritisch bei der vorliegenden Analytik ist die Quantifizierung von Vinylchlorid (siehe Bildausschnitt von Abbildung 2).

Die erforderliche Nachweisgrenze für Vinylchlorid von 0.5 µg/L entsprechend der Trinkwasserverordnung (TVO) werden mit dem Varian Saturn 2100 problemlos erreicht bzw. wie im vorliegenden Beispiel um ein Vielfaches übertroffen (0.05 µg/L). Die Abbildung 3 zeigt die entsprechende Kalibrierkurve.

### Schlussfolgerung

Mit dem Varian Saturn 2100 steht ein Massenspektrometer zur Verfügung, mit dem die Analytik gemäß TVO selbst bei kritischen Parametern wie Vinylchlorid leicht und sicher durchführbar ist. Dieses System verzichtet auf zusätzlichen kostspieligen Zubehöraufwand und benötigt keine zeitaufwendigen Anreicherungsverfahren. **CLB**



# Ultraschnelle und hochauflösende Flüssigchromatographie: Grundlagen, Anwendungen, Grenzen

**SHIMADZU**  
Solutions for Science  
since 1875

Jochen Türk, Regina Römling, Duisburg

Wissenschaftlich betrachtet ist die Zeit eine fundamentale, messbare Größe, die zusammen mit dem Raum das Kontinuum bildet, in das jegliches Geschehen eingebettet ist. Für die moderne Industriegesellschaft ist die Zeit frei nach dem Sprichwort „Zeit ist Geld“ eher eine ökonomische Größe, auch wenn die Maßeinheit noch nicht Euro oder Dollar ist. Es ist also nicht verwunderlich, dass die effiziente Ausnutzung der verfügbaren Zeit auch im Labor immer wichtiger wird. Dabei können Fast LC-Säulen helfen.

Analog zur Entwicklung der Gaschromatographie hin zur Fast GC und Fast GC-MS sind in der Flüssigchromatographie ultraschnelle und/oder hochauflösende Trenntechniken in ihren verschiedenen Erscheinungsformen und Namen aktuell in aller Munde. Der Grund für die rasante Entwicklung dieses speziellen Anwendungsbereichs der HPLC ist, dass heute kurze Trennsäulen, gefüllt mit kleinen Partikeln in guter Qualität und hoher ‚Batch to Batch‘-Reproduzierbarkeit von verschiedenen Herstellern zur Verfügung stehen. Die theoretischen Grundlagen sind dagegen schon lange bekannt: Bereits 1975 diskutierte Halász in einem Artikel mit dem Titel „Ultimate Limits in High Performance Liquid Chromatography“ die Verwendung von stationären Phasen mit 1  $\mu\text{m}$  Partikeldurchmesser [1]. Allerdings war man damals weder in der Lage, entsprechende Materialien in ausreichender Qualität herzustellen, noch die HPLC Systeme entsprechend zu optimieren.

Trotz zahlreicher theoretischer Betrachtungen in der Fachliteratur bleiben viele Fragen auf der Anwenderseite offen: Wie praxistauglich sind die unterschiedlichen Konzepte zum Beispiel bei matrixbelasteten Proben in der Spurenanalytik? Welche Kopplungstechniken sind sinnvoll? Kann man die Vorteile dieser Technik nur mit Spezialsystemen ausnutzen? Können diese Systeme neben der Fast LC auch für die existierende Routineanalytik eingesetzt werden? Und wie robust ist das Ganze?

Hier sollen die wichtigsten Rahmenbedingungen für den praktischen Einsatz der modernen Fast LC-Säulen zusammengefasst, einige praktische Aspekte diskutiert und durch Beispiele veranschaulicht werden.

## Was ist ultraschnelle HPLC?

Subjektiv fällt sicher eine Verkürzung einer HPLC-Analyse von 50 Minuten auf unter 5 Minuten unter diesen Begriff. Trennungen in weniger als einer Minute sind in der HPLC unbestritten ultraschnell. Heute fasst man üb-

licherweise die Verwendung von kurzen Reversed Phase-Säulen mit Innendurchmessern zwischen 2 und 4,6 mm gefüllt mit kleinen porösen oder unporösen Partikeln unter diesen Oberbegriff. Denn im Gegensatz zu klassischen Materialien wird bei Partikeln mit einem Durchmesser kleiner 2,5  $\mu\text{m}$  die Trenneffizienz durch eine Erhöhung der Flussrate über den optimalen Bereich hinaus kaum beeinträchtigt. Diese Beobachtungen werden in der bekannten van Deemter Kurve [2] beschrieben. Diese zeigt die Abhängigkeit der Bodenhöhe einer Säule von der linearen Strömungsgeschwindigkeit. Bei hohen Flussraten steigt die Bodenhöhe, entsprechend sinkt die Trenneffizienz, weil der Stoffaustausch zwischen mobiler und stationärer Phase schlechter wird. Der Partikeldurchmesser wird dabei im Quadrat wirksam. Daher ist dieser unerwünschte Effekt umso geringer, je kleiner der Partikeldurchmesser ist (Abbildung 1).

Da mit kleineren Teilchen wesentlich höhere Bodenzahlen erreicht werden, liefert eine kürzere Trennsäule die gleiche Trenneffizienz wie eine lange Trennsäule mit größeren Teilchen. Die Peaks werden zudem deutlich schmaler und höher, was automatisch die Empfindlichkeit erhöht. Dieser Nebeneffekt ist natürlich von besonderem

## Die Autoren

**Regina Römling**, Diplom-Chemikerin, studierte Chemie an der Westfälischen-Wilhelms-Universität Münster. 1990-1995 war sie wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Universitätsklinik Münster. Seit 1996 ist sie als Produktspezialistin für HPLC-Analytik bei Shimadzu Europa GmbH tätig.

**Jochen Türk**, Diplom-Chemiker studierte Chemie an der Universität Dortmund. Seit 2001 ist er Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Energie- und Umwelttechnik e. V. (IUTA). Seit 2003 ist er Laborleiter im Bereich Umweltmedizin / Analytik. Forschungsschwerpunkt: Bestimmung von organischen Schadstoffen und Pharmazeutika im Arbeits- und Umweltschutz mittels GC/MS und LC-MS/MS.

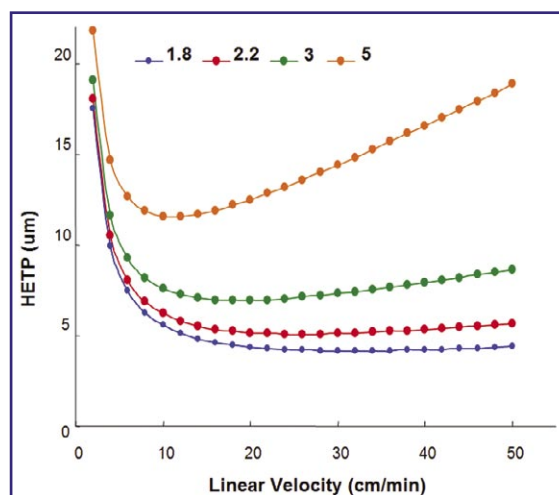


Abbildung 1: Van Deemter Kurven für verschiedene Partikelgrößen (in  $\mu\text{m}$ ).





Abbildung 3:  
Shimadzu LC-20A  
Prominence mit  
Rackchanger

Interesse für die Spurenanalytik, zum Beispiel im Bereich der Wasseranalytik. Um die hohe Trennleistung dieser Säulen optimal auszunutzen, ist allerdings eine Anpassung des verwendeten HPLC Systems notwendig. Bei der Entscheidung, wie weit

diese Optimierungen gehen müssen, sollten in jedem Fall zunächst die angestrebten Ziele definiert werden.

### Hoher Druck oder hoher Probendurchsatz?

Im Zusammenhang mit ‚Fast LC‘ ist neben den kleinen Partikeldurchmessern oft auch von den hohen Betriebsdrücken die Rede, die dafür unbedingt notwendig seien. Der hohe Gegendruck der Säulen mit kleinen Partikeln ist jedoch eigentlich ein unerwünschter Nebeneffekt. Dieser erreicht meist erst bei der Verwendung längerer Säulen mit kleinem Innendurchmesser und hohem Anteil extrem kleiner Partikel Bereiche, die die Grenzen eines konventionellen HPLC Systems überschreiten. Wenn das eigentliche Ziel ein hoher Probendurchsatz, also eine kurze ‚Cycle Time‘ ist, so kann durch intelligente Kombination von Säulenlänge, Partikelgröße, Flussrate und Temperatur auch ein ‚normales‘ HPLC System verwendet werden.

Shim-Pack XR-ODS Säulen für die ‚Fast LC‘ eignen sich besonders für einen Einsatz in Standard HPLC Systemen. Mit einer Partikelgröße von  $2,2\ \mu\text{m}$  und einer schmalen Korngrößenverteilung ist die Bodenzahl vergleichbar mit Säulen mit den ‚Sub  $2\ \mu\text{m}$ ‘ Partikeln. Der angegebene

Partikeldurchmesser bezeichnet immer das Maximum der Größenverteilung der verwendeten Partikel. Die Breite der Größenverteilung selbst hat jedoch auch einen entscheidenden Einfluss auf die Güte der Packung einer Säule und damit auf die Trennleistung. Ein Beispiel für eine extrem kurze ‚Cycle Time‘ mit einer XR-ODS Säule kombiniert mit einem Prominence HPLC System ist in Abbildung 2 gezeigt. Durch die extrem schnelle Injektionsroutine des Probengebers können drei Analysenzyklen (Injektion & Gradientenelution) eines Standardgemisches in 90 Sekunden durchgeführt werden.

### Gerätetechnische Voraussetzungen

Die Verwendung von extrem schnellen Gradienten erfordert zunächst ein geringes Verweilvolumen (Dwell Volume). Darüber hinaus ist die Minimierung des ‚Extra Column Totvolumens‘ inklusive Detektorzelle notwendig, um die schmalen Peakbreiten und die damit verbundene hohe Auflösung nach der Säule nicht zu verlieren. Ein binäres Gradientensystem der Prominence Serie von Shimadzu (Abbildung 3) kann ausgestattet mit einer kleinen Mischkammer und einer Detektorzelle mit kleinem Volumen, durch durchgängige Verwendung von Kapillaren mit  $100\ \mu\text{m}$  Innendurchmesser und die Reduzierung des maximalen Injektionsvolumens auf  $40\ \mu\text{l}$  für die ultraschnelle, hochauflösende HPLC eingesetzt werden. Eine weitere Reduzierung der Innendurchmesser könnte je nach Art der Proben die Robustheit beeinträchtigen und erhöht den Rückdruck des Systems zusätzlich. Nicht immer ist die extremste Lösung auch die praktikabelste.

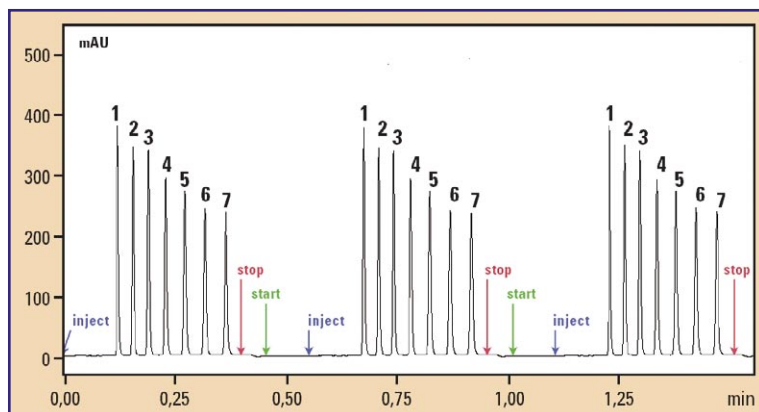
Die Gradienten müssen schnell und reproduzierbar geformt werden. Dies erfordert eine exakte Pumpensteuerung und kleine effiziente Mischer. Die hochdruckseitige Gradientenmischung ist hier einem quarternären Niederdruckgradienten vorzuziehen. Wenn die Probe es erlaubt, kann durch eine Säulentemperatur von zum Beispiel  $65^\circ\text{C}$  die Analysenzeit weiter verkürzt, die Empfindlichkeit erhöht und zusätzlich der Gesamtdruck im System reduziert werden.

Schnelle, schmale Peaks erfordern eine hohe Datenaufnahmefrequenz und einen extrem schnellen Detektorresponse. Für die in Abbildung 4 gezeigte Trennung eines Pestizidgemisches mit Halbwertbreiten von unter einer Sekunde werden Datenaufnahmeraten von mindestens 40 Hertz benötigt. Auch bei einer ausreichend hohen Sammelrate kann ein zu träge eingestellter Detektor die eigentlich hervorragende Auflösung ‚verbergen‘ (Abb. 4a).

Es gibt noch weitere Möglichkeiten, den Probendurchsatz durch die Gerätetechnik zu erhöhen: Bei Analysenzeiten von wenigen Minuten sollte auch der Probengeber eine schnelle Injektionsroutine besitzen. Dies darf aber natürlich keine Kompromisse in Bezug auf Reproduzierbarkeit und Verschleppungsfreiheit zur Folge haben. Systeme, die mit zwei binären Gradientenpumpen, entsprechenden Schaltventilen und zwei identischen Säulen ausgestattet sind, erlauben die Durchführung der Gradiententrennung auf einer Säule parallel zur Spül- und Equilibrierphase der anderen Säule.

Abbildung 2: Drei Trennungen in 90 Sekunden.

Säule: Shim-Pack XR ODS  $30 \times 3\ \text{mm}$ ,  $2,2\ \mu\text{m}$ ; Druck: max. 22 MPa; Mobile Phase: Wasser/Acetonitril (60 % bis 80 % in 0,4 min); Fluss: 3 ml/min; Temperatur:  $80^\circ\text{C}$ ; Detektion: UV@ 245 nm; Injektion:  $4\ \mu\text{l}$ .. Peaks: 1: Acetophenon; 2: Propiophenon; 3: Butyrophenon; 4: Balenophenon; 5: Hexanophenon; 6: Heptanophenon; 7: Octanophenon.



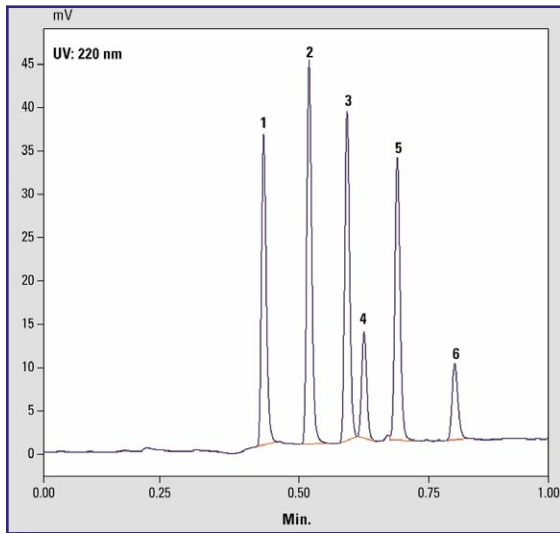


Abbildung 4: Fast LC Trennung eines Pestizidstandards (Ehrenstorfer Standard 31).

Säule: Shim-Pack XR ODS 50 x 2 mm, 2,2  $\mu\text{m}$ ; Druck: max. 27 MPa; Mobile Phase: Wasser/Acetonitril (45 % bis 80 % in 0,6 min); Fluss: 0,8 ml/min; Temperatur: 55°C; Detektion: UV@ 220 nm; Injektion: 0,5  $\mu\text{l}$  Ehrenstorfer PSM 31. Peaks: 1: Desethylatrazin; 2: Simazin; 3: Atrazin; 4: Metazachlor; 5: Terbutylazin; 6: Metolachlor.

### Fast LC-MS/MS

Auch bei den Kopplungstechniken können abhängig von der Zielsetzung viele Analysen verkürzt werden. Allerdings begrenzen die geringen Peakbreiten hier die mögliche Anzahl der MS-Experimente. Ein Beispiel für eine einfache Optimierung einer MS/MS Analyse von drei Flavonoiden von 20 Minuten auf unter 2 Minuten Analysenzeit ist in Abbildung 5 gezeigt. Obwohl hier nur 6 Fragmente mit dem minimalen Intervall von 10 ms gemessen werden, ergibt sich damit eine ‚MS Cycle Time‘ von 90 ms pro Datenpunkt und damit gerade elf Datenpunkte bei einer Sekunde Peakbreite. Für Multikomponentenmethoden wie zum Beispiel die Analyse von 150 Pestiziden nach Alder et al. [4] sind daher ultraschnelle LC Trennungen nicht ideal.

Auch mit modernen MS-Softwarefunktionen wie ‚Scheduled MRM‘ (Applied Biosystems/MDS Sciex) kann eine Peakbreite unter zwei Sekunden bei ko-eluierenden Peaks problematisch sein. Die Funktion ‚Scheduled MRM‘ sorgt dafür, dass nicht alle im Chromatogramm erwarteten Fragment-Übergänge gleichzeitig gemessen werden. Die Software bestimmt automatisch, abhängig von den erwarteten Retentionszeiten, welche Übergänge im betreffenden Zeitfenster liegen können, und nur diese werden gemessen. Für den Fall, dass im betreffenden Fenster mehrere Substanzen gleichzeitig eluieren, wird zusätzlich eine maximale ‚MS Cycle Time‘ vorgegeben, an die die Messintervalle der einzelnen Übergänge automatisch angepasst werden. So werden immer genug Datenpunkte pro Peak erzeugt.

Ein weiteres Beispiel aus der Rückstandsanalytik ist die Bestimmung von Sulfonamiden mittels LC-MS/MS. In den letzten Jahren wurden Arzneimittelrückstände

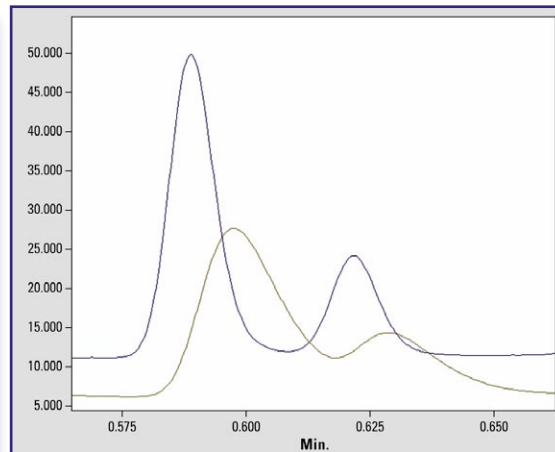


Abbildung 4a: Auswirkung der Detektoransprechzeit auf die Auflösung von Atrazin und Metazachlor. Identische Analysebedingungen (Datenaufnahmerate 50 Hz).

Blau: Detektor Response 0,02 Sekunden; grau: Detektor Response 0,5 Sekunden.

aus human- und veterinärmedizinischen Anwendungen entlang des Abwasserpfades bis zur Trinkwasseraufbereitung sowie in Böden, Wirtschaftsdüngern und Einsatzprodukten bei der Biogasproduktion gefunden. Zum Nachweis von Sulfonamiden in Gülle wurde die Methode von Pfeifer et al. [5] unter Fast LC-MS/MS Bedingungen getestet. Ein negativer Einfluss durch die starke Matrixbelastung der Gülleproben auf die Säulenperformance konnte nicht beobachtet werden. Inklusiv der (bei stark matrixbelasteten Proben) notwendigen Spülschritte sowie Reequilibrierung des Systems konnte bei einer chromatographischen Trennung innerhalb von 2,7 Minuten die Gesamtanalysenzeit von 15 auf 5 Minuten reduziert werden.

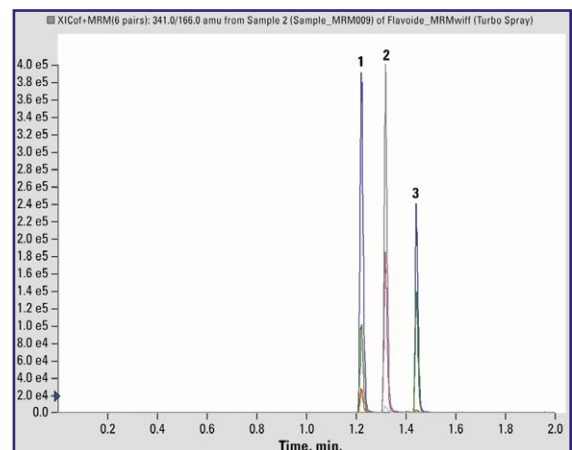
Die Grenzen der Methodenoptimierung liegen bei einer Analysenzeit von 3,5 Minuten. In Abbildung 7 sind neben einem wässrigen Standard (a), ein Matrix-Standard (b), ein Blindwert (c) sowie eine Realprobe (d) dargestellt. Als interner Standard wird  $^{13}\text{C}_6$ -Sulfamethazin verwendet.

Abgesehen davon, dass man

Abbildung 5: LC-MS/MS Analyse von drei Flavonoiden.

Säule: Shim-Pack XR-ODS 2 x 30 mm, 2,2  $\mu\text{m}$ ; Druck: max. 19 MPa; Mobile Phase: 0,1% Ameisensäure / 0,1% Ameisensäure in Acetonitril (10% bis 95% in 1 min); Fluss: 0,6 ml/min; Temperatur: 30°C; Injektion: 5  $\mu\text{l}$ ; Detektion Tandem MS 6 +MRM: 355/179, 355/235, 355/299, 341/165, 341/221 & 341/285 amu (API 2000, Applied Biosystems/MDS Sciex).

Peaks: 1: Isoxanthohumol: 355/179, 355/235 & 355/299; 2: 8-Prenylnaringenin: 341/165, 341/221 & 341/285; 3: Xanthohumol: 355/179, 355/235 & 355/299. (In Zusammenarbeit mit W. Lohmann, Arbeitsgruppe Prof. Dr. Uwe Karst, Anorganisch-Chemisches Institut, Westfälische Wilhelms-Universität Münster.)



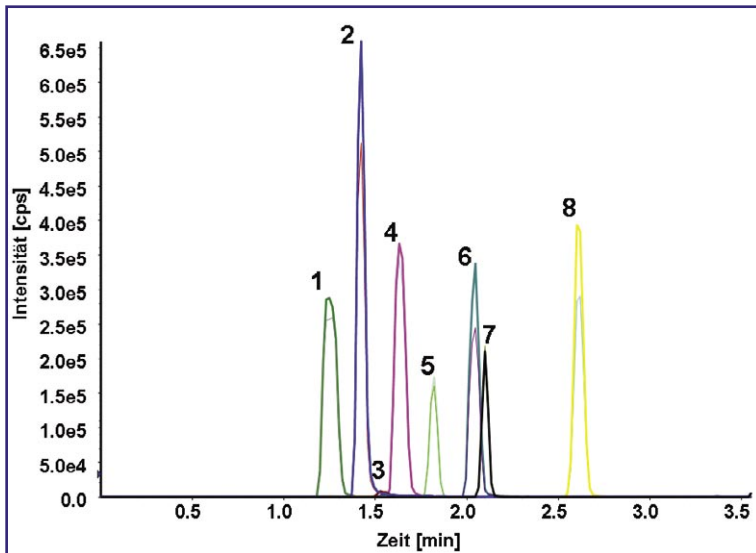
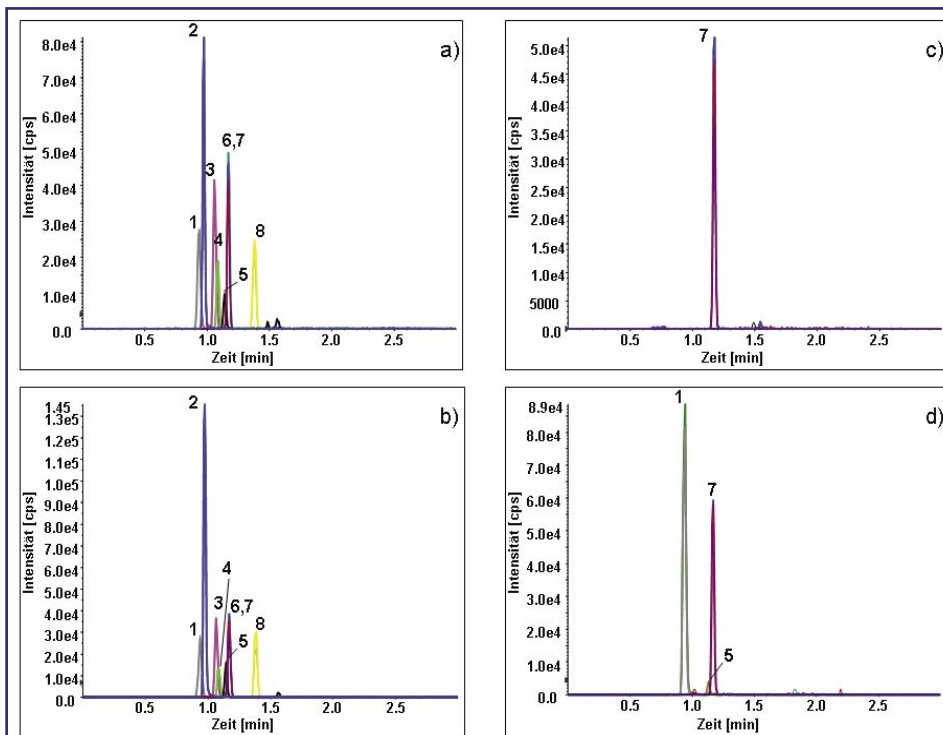


Abbildung 6: LC-MS/MS Analyse von Sulfonamiden und Trimethoprim. Säule: Shim-Pack XR-ODS 3 x 50 mm, 2,2 µm; Druck: max. 16 MPa; Mobile Phase: 2 mM  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  in 0,1% Ameisensäure / 0,1% Ameisensäure in Acetonitril (Stufengradient: 0 min 5 % B, 0,1 min 10% B, 1,7 min 15 % B); Fluss: 0,8 ml/min; Temperatur: 60 °C; Injektion: 20 µl; Detektion Tandem MS, 16 MRM mit 60 ms dwell time (3200 Q TRAP®, Applied Biosystems/MDS Sciex). Peaks: 1: Sulfadiazin: 251/156 & 251/92 amu, 2: Trimethoprim: 291/230 & 291/123 amu, 3: N<sup>4</sup>-Acetylsulfadiazin: 293/134 & 293/65 amu, 4: Sulfamerazin: 265/156 & 265/92 amu, 5: N<sup>4</sup>-Acetylsulfamerazin: 307/134 & 307/65 amu, 6: Sufamethazin 279/186 & 279/124 amu, 7: N<sup>4</sup>-Acetylsulfamethazin: 321/186 & 321/134 amu, 8: Sufamethoxazol 254/156 & 254/92 amu.

Abbildung 7: LC-MS/MS Analyse von Sulfonamiden und Trimethoprim a) wässriger Standard, b) Matrix-Standard, c) Blindwert mit internem Standard, d) Realprobe.

Säule: Shim-Pack XR-ODS 3 x 50 mm, 2,2 µm; Druck: max. 19 MPa; Mobile Phase: 2 mM  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  in 0,1% Ameisensäure / 0,1% Ameisensäure in Acetonitril (Stufengradient: 0 min 5 % B, 0,1 min 15% B, 1,3 min 50 % B, 1,7 min 100 % B); Fluss: 1,0 ml/min; Temperatur: 60 °C; Injektion: 20 µl; Detektion Tandem MS, 18 MRM mit 20 ms dwell time (3200 Q TRAP®, Applied Biosystems/MDS Sciex). Peaks: 1: Sulfadiazin: 251/156 & 251/92 amu, 2: Trimethoprim: 291/230 & 291/123 amu, 3: Sulfamerazin: 265/156 & 265/92 amu, 4: N<sup>4</sup>-Acetylsulfamerazin: 307/134 & 307/65 amu, 5: N<sup>4</sup>-Acetylsulfamethazin: 321/186 & 321/134 amu, 6: Sufamethazin 279/186 & 279/124 amu, 7: <sup>13</sup>C<sub>6</sub>-Sufamethazin 285/186 & 285/98 amu, 8: Sufamethoxazol 254/156 & 254/92 amu.



mit der Reduzierung der Peakbreite die Zahl der im MS/MS Modus simultan messbaren Qualifier und Quantifier begrenzt, sollte in der Rückstandsanalytik immer auch die Robustheit der Methode bei matrixhaltigen Proben bei der Optimierung berücksichtigt werden.

## Fazit

Die Fast LC und LC-MS bietet in vielen Anwendungsbe-  
reichen weitreichende Möglichkeiten zur Steigerung des  
Probendurchsatzes. Der Einstieg in diese Technologie ist  
dabei nicht zwingend mit hohen Investitionen in neue  
Geräte verknüpft. Für viele Anwender wird es sich loh-  
nen, zunächst die bestehenden Systeme zu optimieren.  
So kann schrittweise getestet werden, welche Säulen  
und Partikeldimension für die betreffende Applikation  
am besten geeignet sind. Auch der Parameter Temperatur  
sollte dabei berücksichtigt werden. Neben der Reduzie-  
rung des Säulengegendrucks bei höheren Temperaturen  
sind bei Ausnutzung des Temperaturbereichs von 15  
bis 80 °C vielfältige Optimierungsmöglichkeiten ge-  
geben. Mit dem erweiterten Temperaturbereich von bis zu  
200 °C sind weitere sehr interessante Fast-LC Trennun-  
gen möglich [6]. Neben einer Standard HPLC werden  
hierfür lediglich ein modifizierter Säulenofen sowie  
temperaturstabile HPLC Säulen, z. B. auf Metalloxidbasis  
oder der Shimadzu Pathfinder Technologie, benötigt.

Letztlich soll ja die erreichte Ver-  
kürzung der Analysenzeit nicht mit  
Einschränkungen bei Robustheit und  
Flexibilität bezahlt werden. Darüber  
hinaus ist in vielen Fällen nicht die  
chromatographische Trennung der  
zeitbestimmende Faktor, sondern  
zum Beispiel die Probenvorbereitung.  
Es ist daher nicht immer ratsam, die  
Trennung bis zum chromatogra-  
phisch Machbaren zu beschleuni-  
gen, damit nicht in am Ende John  
Steinbeck Recht behält, von dem der  
Ausspruch stammt: „Man verliert die  
meiste Zeit damit, dass man Zeit ge-  
winnen will“.

CLB

## Literatur

- [1] I. Halász et al., J. Chromatogr., 112 (1975) 37.
- [2] J. J. van Deemter et al., Chem. Eg. Sci. 5 (1956) 271.
- [3] D. D. Jerkovitch et al., LCGC North America, 21 (2003) 7.
- [4] L. Alder et al., Mass Spectrometry Reviews, 25-6 (2006) 838.
- [5] Pfeifer et al., Rapid Commun Mass Spec-  
trom, 16 (2002) 663.
- [6] T. Teutenberg et al., J Chromatogr. A,  
1114 (2006) 89.

# Grundlagen der Trennung in der schnellen Gaschromatographie

Hans-Ulrich Baier, Ute Potyka, Duisburg

In den letzten Jahren haben sich schnelle GC-Methoden als tauglich für die Routineanalytik herausgestellt. Hierbei haben sich insbesondere Methoden durchgesetzt, die Kapillarsäulen mit reduziertem Innendurchmesser sowie reduzierter Filmdicke verwenden. Das Ziel ist es die Zykluszeit, möglichst unter Beibehaltung der Auflösung, deutlich zu reduzieren. Die Entwicklung der Fast-Kapillarsäulen – Säulen mit einer Länge von 10-15m, einem Innendurchmesser  $\leq 0,15$  mm und einer Filmdicke von üblicherweise  $0,1 \mu\text{m} \leq 0,4 \mu\text{m}$  – hat direkte Anforderungen an die GC-Parameter zur Folge. Das gaschromatographische System muss, angefangen von der Injektion bis zur Detektion einige Anforderungen erfüllen, um die Trenneffizienz der Säulen auch tatsächlich nutzbar zu machen.

## Säulenparameter und Auflösung

Die Überlegungen bei der Wahl der stationären Phase in der Fast GC unterscheiden sich nicht von den grundsätzlichen Überlegungen für Standardmethoden, da die Trennung auch in diesem Fall nach Siedepunkt und Polarität erfolgt. Inzwischen gibt es die meisten stationären Phasen auch für die Fast-Kapillarsäulen und die Auswahl der Säule wird je nach Polarität der Analyten getroffen.

Wichtig für die Auswahl der richtigen Säule sind neben der stationären Phase die Dimensionen Länge, Innendurchmesser und Filmdicke. Als ein Ziel der schnellen Chromatographie gilt der Erhalt bzw. die Verbesserung der Auflösung. Da die Auflösung in der Gaschromatographie nur mit der Wurzel der Säulenlänge zunimmt, sich gleichzeitig aber die Analysenzeit verdoppelt, macht es Sinn eher kurze Säulen (10 – 15 m) einzusetzen.

Mit zunehmender Retentionszeit werden die Peaks in einem Chromatogramm im Allgemeinen immer breiter und niedriger. Der Grund hierfür liegt in der Diffusion der Analytenmoleküle in beliebiger Richtung zur Vorzugsrichtung des Trägergases in mobiler und stationärer Phase. Wird nun der Innendurchmesser der Kapillarsäulen kleiner, kann bei einem bestimmten Phasenverhältnis die Diffusion in der stationären Phase vernachlässigt werden. In diesen Fällen nimmt die Trenneffizienz der Kapillarsäule mit Abnahme des Innendurchmessers proportional zu, die Auflösung wird besser.

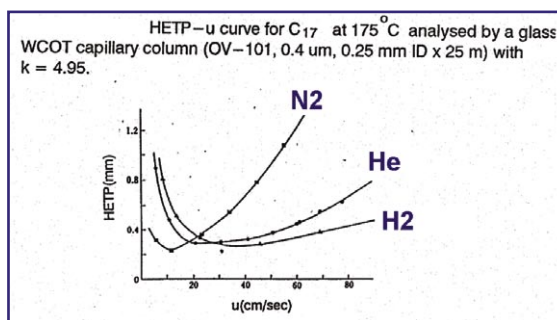


Abbildung 2: Fast GC und Trägergeschwindigkeit. Van Deemter-Kurven der Trägergase Stickstoff, Helium und Wasserstoff.

Die Filmdicke geht linear in die Auflösung ein und sollte so klein wie möglich gewählt werden. Da jedoch die Aufnahmekapazität von Kapillarsäulen mit geringerer Filmdicke abnimmt und Säulen mit dünnem Film schnell überladen werden können, muss die Filmdicke im Einzelfall an die Applikation angepasst werden. Eine weitere Möglichkeit eine Säulenüberladung zu vermeiden ist die Probenaufgabe bei hohem Split, was einen zusätzlichen positiven Einfluss auf die Anfangsbreite der Peaks hat. Für die meisten Anwendungen können Filmdicken von  $0,1 - 0,4 \mu\text{m}$  eingesetzt werden.

Abbildung 1 zeigt die Chromatogramme eines Grobtest-Mix, der zunächst auf einer Standardsäule (DB 5; 30m Länge x 0,25 mm Innendurchmesser (ID) x  $0,25 \mu\text{m}$  Filmdicke (DF) und anschließend mit einer Fast-Säule gleicher stationärer Phase (RTX-5; 10 m x 0,1 mm ID x  $0,4 \mu\text{m}$  DF) analysiert wurde. Im Bereich zwischen 12 und 13 Minuten bzw. 1,25 und 1,5 Mi-

## Die Autoren

Dipl.-Chem. Dr. **Ute Potyka** studierte Chemie an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. 1998 promovierte sie an der Medizinischen Universitätsklinik auf dem Gebiet der Metabolismusforschung mit stabilen Isotopen. Seit 1999 ist sie Produktspezialistin für GC/GCMS der Shimadzu Europa GmbH

Dipl.-Phys. Dr. **Hans-Ulrich Baier** studierte Physik, schrieb Dissertation auf dem Gebiet der Analytik von chemischen und elektronischen Eigenschaften der Isolator-III/V-Verbindungs-Halbleitergrenzflächen und promovierte 1991. Seit 1992 ist er bei der Shimadzu Europa GmbH tätig. Als Produktspezialist für die GC/GCMS arbeitet er seit 1997.



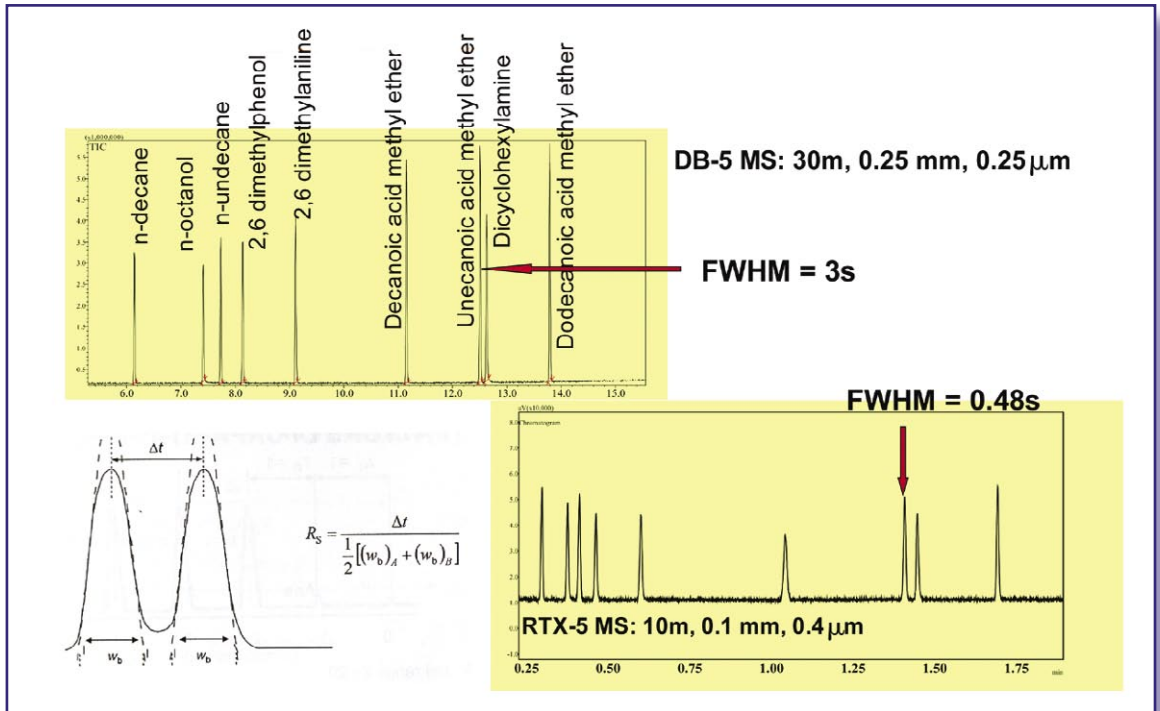


Abbildung 1: Oben: Chromatogramm des Grobtests auf einer DB 5 (30 m, 0,25 mm, 0,25μm); Split 1:50, 140 °C für 1 min, 10 °C/min auf 280 °C 2min, He 50 cm/s. Grobtest: n-Dekan, 2-Oktanol, n-Undekan, 2,6-Dimethylphenol, 2,6-Dimethylanilin, Dekansäure-Methylester, Undekansäure-Methylester, Dicyclohexylamin, Dodecansäure-Methylester. Unten: Chromatogramm des Grobtests (Verdünnung 1:100) auf einer RTX-5 (10 m, 0,1 mm, 0,4μm) Split 200:1, H<sub>2</sub> 120 cm/s; 140 °C, 60 °C/min bis 280 °C.

nuten liegt das Trennproblem, das mit der Fast-Säule in der 8-fachen Zeit und besserer Auflösung getrennt werden kann. Die bessere Auflösung ist auf die drastische Verschärfung der Peaks (die Halbwertsbreite der Peaks nimmt von 3 auf 0,48 Sekunden ab) zurückzuführen.

Um diese geringen Peakbreiten zu erhalten ist ein weiterer Parameter, die Wahl des Trärgases, von großer Bedeutung. Der Zusammenhang zwischen der Art des Trärgases, der Höhe der theoretischen Böden (HETP) und damit dem Auflösungsvermögen der Säule, sowie

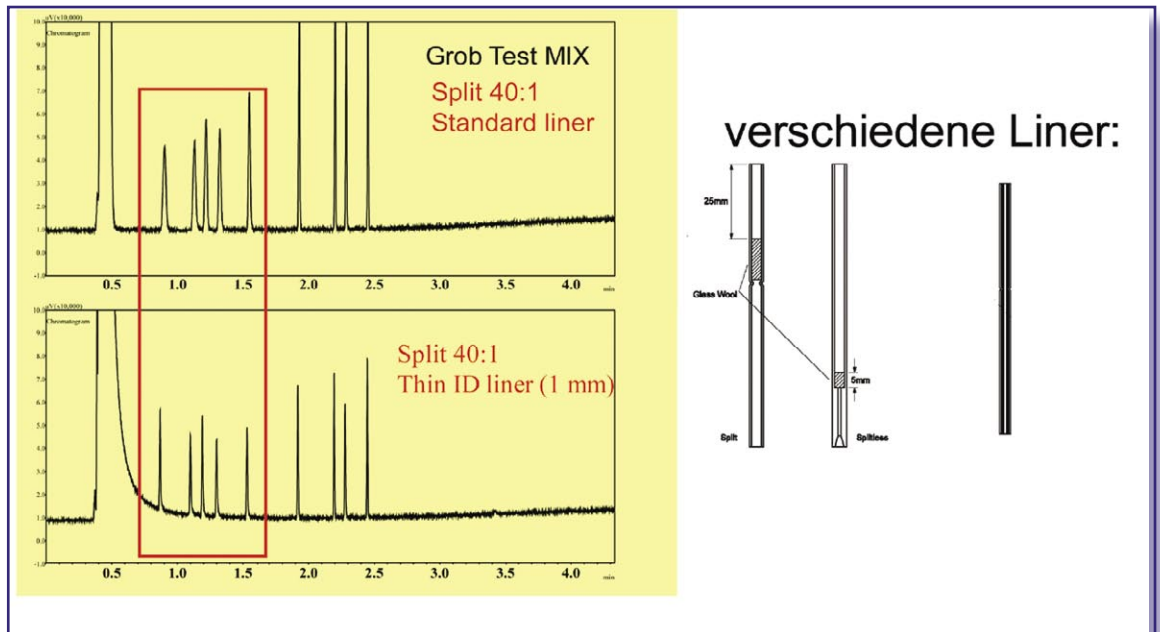
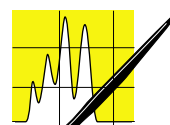


Abbildung 3: Effekt des kleineren Linervolumens auf die Peakform: Chromatogramm eines Grobstandards. Oben: Liner mit 4 mm Innendurchmesser. Unten: Liner mit 1 mm Innendurchmesser. In beiden Fällen Split 1:40, Lineare Trägergasgeschwindigkeit 40 cm/s, 140 °C, mit 60 °C/min auf 280 °C. (H.-U Baier and Luigi Mondello: Fast GC Grundlagen und Anwendungen (Kapitel in „Schnellmethoden zur Beurteilung von Lebensmitteln und ihren Rohstoffen“ Behrs Verlag 2004)).

Aspekte in der Fast GC	Anforderungen an den Gaschromatographen
Schneller Probentransfer im Linier	Schneller Autosampler, großer Split oder Druckpulsinjektion
Hoch konzentrierte Proben	Hohes Splitverhältnis
Kleine Innendurchmesser	Großer dynamischer Bereich des Säulenkopfdruckes (ideal bis ca. 10 bar)
Druckänderung durch Temperaturprogramm	Lineare Trägergasgeschwindigkeit sollte durch Druckprogrammierung konstant bleiben („constant linear velocity mode“)
Hohe Trenneffizienz	Hohe lineare Heizraten i. Vgl zur Standard-GC
Nach der Analyse	Schnelle Ofenkühlung
Schmale Peaks	Hohe Datenaufnahmefrequenz, hohe Scangeschwindigkeit, kurze Detektortotzeit



AUFSÄTZE

der Geschwindigkeit des jeweiligen Trägergases lässt sich besonders anschaulich durch die van Deemter-Kurven der Gase (Abbildung 2) darstellen. Aus den Daten geht eindeutig hervor, dass Wasserstoff das am besten geeignete Trägergas ist. Im Vergleich zu den Kurven für Helium und Stickstoff ist die Kurve für Wasserstoff zu höheren Trägergasgeschwindigkeiten [u] verschoben und zeigt einen wesentlich geringeren Anstieg. Das hat zur Folge, dass die Geschwindigkeit für Wasserstoff stark erhöht werden kann, ohne dass das Auflösungsvermögen der Säule beeinträchtigt wird. Die Daten in der Abbildung wurden mit einer Säule mit 0,25 mm ID aufgenommen. Verringert sich wie bei den Fast-Kapillaren nun der Innendurchmesser wird die Situation noch günstiger, da sich die Steigung der Kurven bei höherer Geschwindigkeit mit abnehmendem ID verringert. Man kann also ohne großen Verlust an Trenneffizienz eine höhere Trägergasgeschwindigkeit oberhalb des van Deemter-Minimums wählen.

Während einer Analyse reduziert sich die lineare Trägergasgeschwindigkeit, wenn ein Temperaturprogramm gefahren und der Kopfdruck konstant gehalten wird. Der Grund dafür ist die Viskosität des Trägergases, die mit steigender Temperatur zunimmt. In diesem Fall verschlechtert sich die Trenneffizienz und die Analysenzeit nimmt zu. Verfügt der GC über eine Druckprogrammierung kann die lineare Trägergasgeschwindigkeit über den gesamten Temperaturbereich konstant gehalten und die optimale Trennleistung der Säule ausgenutzt werden. Diese Überlegungen führen direkt zu den Anforderungen an das gaschromatographische System.

## Anforderungen an die Gerätetechnik

Die diskutierten Grundlagen haben direkte Konsequenzen auf die Anforderungen an die GC-Parameter, die für die Injektion, Trägergaspneumatik, Heizung, Ofenkühlung und Detektion relevant sind.

In Abbildung 1 wurde für das Fast Chromatogramm eine lineare Trägergasgeschwindigkeit von 120 [cm/

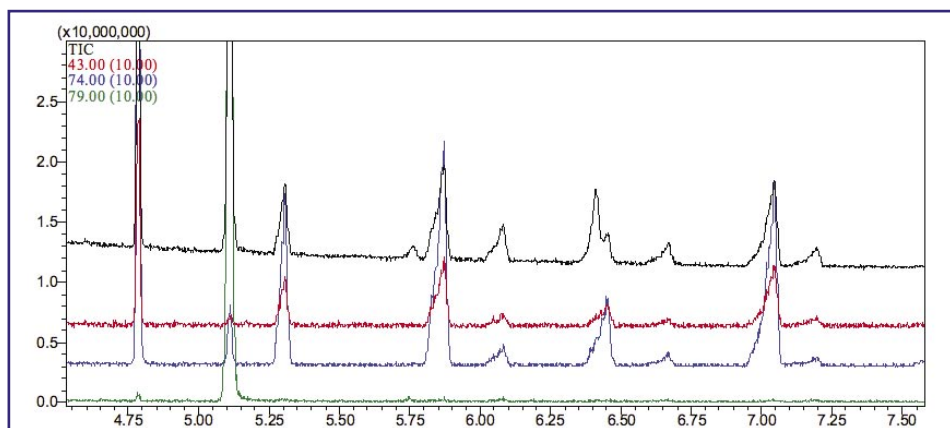
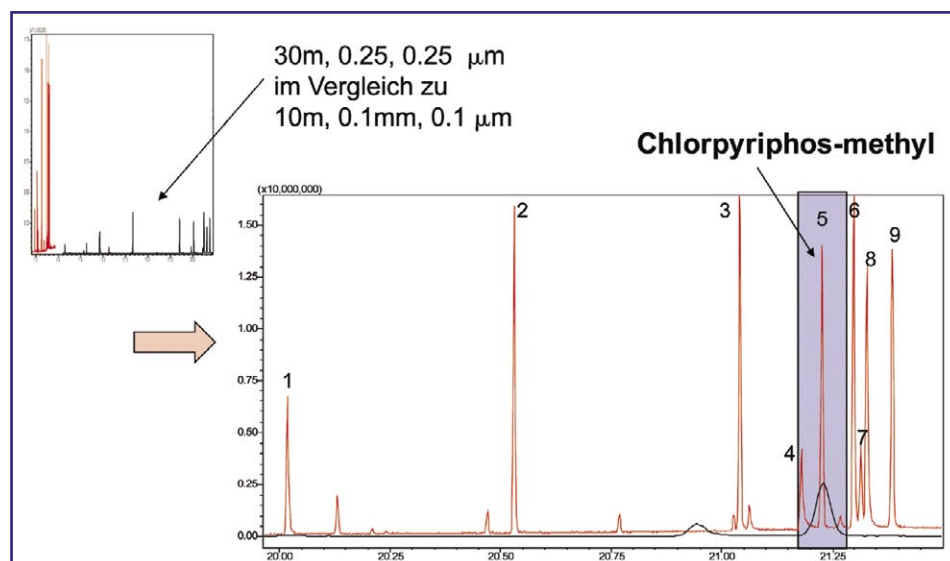


Abbildung 4: Überladung einer Fast-Kapillarsäule (10 m, 0,1 mm, 0,1µm), Beisp.: Fettsäuremethylester-Standard.

Abbildung 5: Vergleich der Peakbreiten am Beispiel des Chlorpyriphos-methyl. Chromatogramm schwarz: Pestizidstandard gemessen auf einer DB 5MS (30 m, 0,25 mm, 0,25µm); Chromatogramm rot: Pestizidstandard gemessen auf einer RTX-5 (10 m, 0,1 mm, 0,1µm).



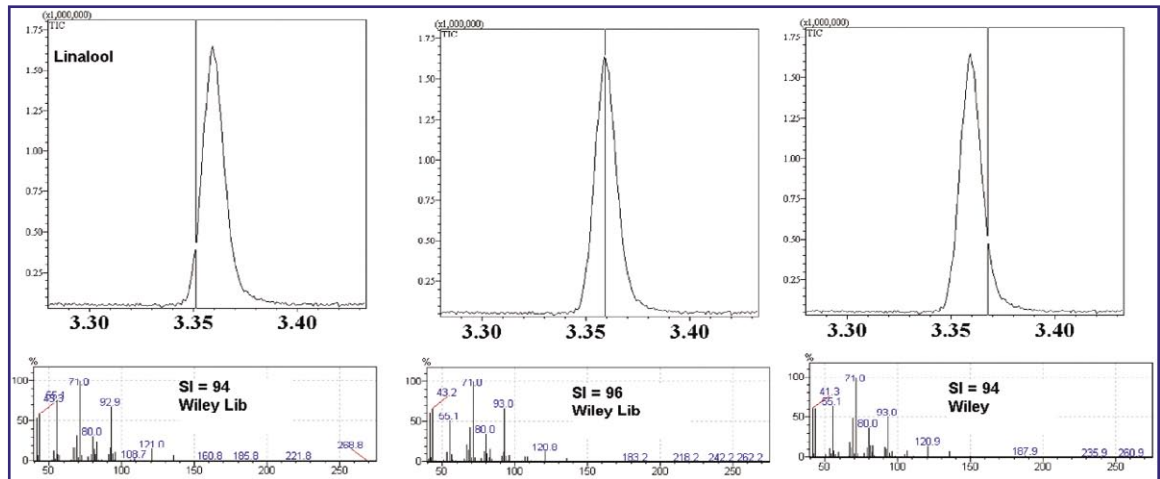


Abbildung 7: Spektrenqualität an verschiedenen Stellen eines Linalool-Peaks, gemessen auf einer RTX-5 (10 m, 0,1 mm, 0,1 $\mu$ m), mit einer Datenaunahmerate von 20 Hz, Massenbereich : 30 – 450 amu. Die Peakbreite (FWHM) beträgt 0,6 s.

sec] gewählt. Daraus ergibt sich ein Anfangsdruck von 502 Kpa bei einer Anfangstemperatur von 140 °C. Der Gaschromatograph GC-2010 hält die Geschwindigkeit über das Temperaturprogramm (60 °C/min bis 280 °C) konstant („constant linear velocity mode“). Dazu wird der Säulenkopfdruck automatisch angepasst und der Endwert liegt bei 660 Kpa bei 280 °C. Die Abkühlzeit von 280 °C auf 140 °C liegt unter 2 Min, so dass eine Zykluszeit von unter 4 Min. erreicht werden kann.

### Injektion in der Fast-GC

Bei der Probenaufgabe mit einem Split/Splitlos-Injektor sind 2 Parameter, der Proben transfer im Injektor

und die Aufnahmekapazität der Säule, besonders zu beachten.

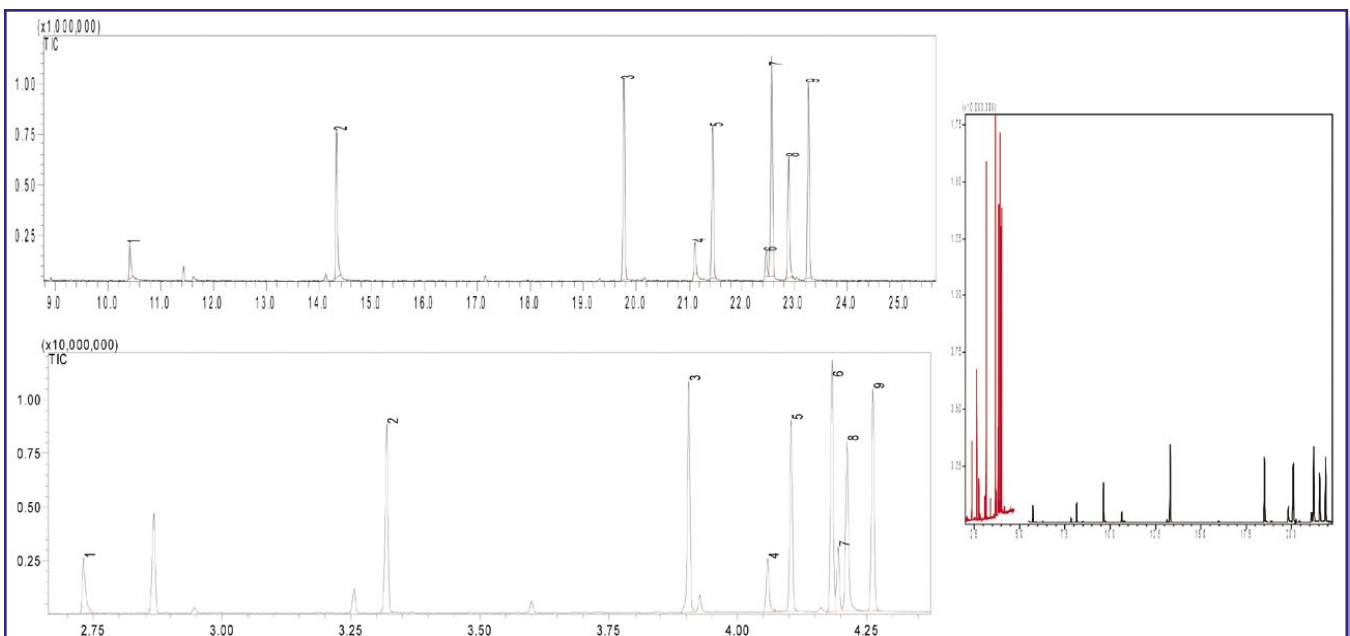
Der Proben transfer bei der Fast-Chromatographie muss hinreichend schnell sein, ein zu langsamer Transfer der Probe auf den Liner führt zu einer Peakanfangsbreite, die sich negativ auf die gesamte Trennung auswirkt. Eine zu langsame Probenaufgabe ist durch eine Verbreiterung der Peaks insbesondere bei den Niedersiedlern am Anfang des Chromatogramms zu erkennen (Abbildung 3, oben). Eine Möglichkeit den Proben transfer im Liner zu erhöhen ist das Arbeiten mit höherem Split. Durch den Splitfluss wird der Gesamtfluss im Liner um den Anteil des Splits erhöht, die Probe gelangt schneller durch den Liner auf die

Abbildung 8: Chromatogramme eines Pestizidstandards (1. Dichlorphos, 2. Methacrifos, 3. Dimpylate, 4. Phosphamidon, 5. Chlorpyrifos-methyl, 6. Fenitrothion, 7. Pirimiphos-methyl, 8. Malathion, 9. Chlorpyrifos);

Oben: Standardsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 $\mu$ m); Split 1:10, Trägergasgeschwindigkeit 40 cm/s; 50 °C für 1min, mit 10 °C/min auf 150 °C, mit 5 °C auf 230 °C

Unten: Fast-Säule (10 m, 0,1 mm, 0,1 $\mu$ m) Split 1:10, Trägergasgeschwindigkeit 50 cm/s; 60 °C für 1min, mit 60 °C/min auf 280 °C

Mitte: Beide Chromatogramme übereinander gelegt zum direkten Vergleich der Analysendauer und der Peakhöhen.





Säule, wo sie je nach Temperatur und Filmdicke wieder refokussiert wird. Durch schnellen Proben transfer und Fokussierung können auch für niedrigsiedende Komponenten gute Peakformen erreicht werden.

Besonders ungünstig ist die Situation, wenn aufgrund der geringen Probenkonzentration mit kleinem Split oder Splitlos gemessen werden muss. Der Proben transfer ist langsam, der Liner wird nur mit dem Fluss, der demjenigen am Säulen anfang entspricht, gespült. In diesen Fällen kann die Peakbreite durch die Wahl eines Liners mit kleinem Innendurchmesser (Erhöhung der Durchflußgeschwindigkeit) verbessert werden (Abbildung 3, unten). Eine weitere Möglichkeit bietet die Druckpulsinjektion, die bei Splitlos-Injektionen eingesetzt wird, sofern es die Hardware zulässt. Bei der Druckpulsinjektion wird für die kurze Zeit des Proben transfers vom Liner auf die Säule ein im Vergleich zum Analysendruck höherer Druck eingestellt. Damit wird die Geschwindigkeit des Gasstroms erhöht und die Zeit des Proben transfers reduziert.

Die Aufnahmekapazität der Fast-Säulen ist aufgrund der geringen Filmdicke niedriger als bei einer Standardsäule und es kann schnell zur Überladung kommen. Typische Überladungseffekte wie das „Fronting“ des Peaks (Abbildung 4) sind schon bei recht geringen Probenmengen zu beobachten. Diese asymmetrische Verbreiterung der Peakform führt häufig zu einer schlechteren Trennung der Peaks und Problemen mit der Reproduzierbarkeit. Hier hilft die drastische Erhöhung des Splitverhältnisses.

## Die Detektion scharfer Peaks – Datenaufnahmefrequenz

Die zu erwarteten Peakbreiten, oftmals kleiner als 0,5 s, stellen auch an den Detektor hohe Anforderungen. In Abbildung 5 ist der Unterschied der Peakform zwischen dem Pestizid Chlorpyrifos-methyl gemessen auf einer Standard- und einer Fast-Säule durch das Über einanderlegen der Chromatogramme sehr anschaulich dargestellt. Die Peaks werden sehr schmal und der Detektor muss schnell genug sein, um genügend Datenpunkte auf diesen scharfen Peaks zu erhalten. Bei der Fast-GCMS kommt zumeist das Quadrupol-MS als der am weitesten verbreitete massenspektrometrische Detektor in Kopplung mit der GC zum Einsatz. Die Geschwindigkeit des Quadrupols wird durch das Zusammenspiel mehrerer Parameter bestimmt. Eine wichtige Rolle spielt der Massenbereich, der zur Identifizierung der Komponenten gewählt wird. Neben dem Massenbereich wird die Anzahl der Scans pro Sekunde festgelegt, also die Anzahl der Datenpunkte, die pro Sekunde aufgenommen werden sollen. Um eine hohe Anzahl Datenpunkte auf einem scharfen Peak zu erreichen, benötigt der Detektor eine hohe Scangeschwindigkeit. Aber dieser Parameter bestimmt nicht allein wie viele Datenpunkte auf einem Peak gemessen werden können. Entscheidend ist die Totzeit des De-

tektors, also die Zeit die der Detektor nach einem Scan benötigt, um wieder messbereit zu sein. Die maximal zu erreichende Datenaufnahmefrequenz ergibt sich aus beiden Parametern, Scangeschwindigkeit und Totzeit (Interscan RF set up time) des Detektors.

## Qualität der MS-Spektren

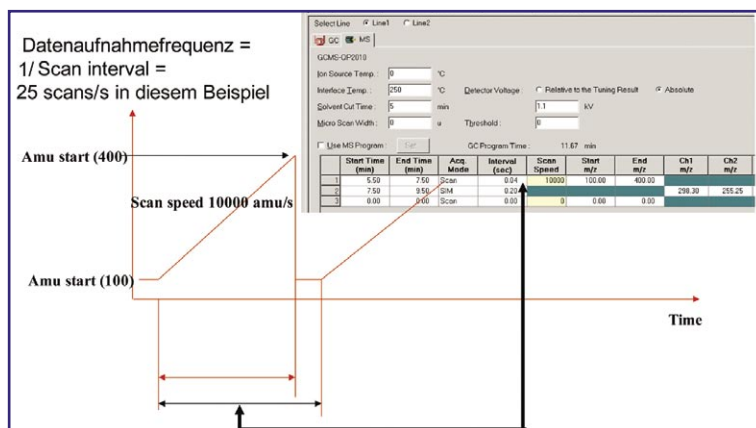
Ist die Anzahl der Datenpunkte auf einem Peak zu gering, wird die Form des Peaks nicht korrekt wiedergegeben. Dies beeinflusst die Reproduzierbarkeit und als Folge natürlich auch die quantitative Genauigkeit. Auch die Qualität der Bibliothekssuche leidet, wenn die Datenaufnahmefrequenz nicht hoch genug ist. Die Übereinstimmung mit den in der Bibliothek hinterlegten Spektren ist nicht gut und die Identifizierung der Substanzen nicht sicher. Abbildung 7 zeigt das potentielle Allergen Linalool, aufgenommen mit einer Fast-Säule und einer hohen Datenaufnahmerate von 20 Scans/sec. Die Spektrenqualität bleibt über den gesamten Peak konstant und ergibt eine sehr gute Übereinstimmung mit den Bibliotheksspektren.

## Fazit

Für viele Labore ist die Steigerung des Probedurchsatzes durch Verkürzung der Analysenzeit ein durchaus interessantes Thema, oft fehlt es paradoxerweise an der Zeit schnelle Methoden zu entwickeln und zu validieren. Dabei ist die Entwicklung und Optimierung einer schnellen gaschromatographischen Methode nicht so kompliziert, wenn einige wichtige Aspekte wie Injektionsgeschwindigkeit, Säulenkapazität und Datenaufnahmefrequenz beachtet werden. Voraussetzung dafür ist ein GC bzw. GCMS, das hinsichtlich der Druck- und Temperaturregelung sowie der wählbaren Detektoreinstellungen der modernen Gerätetechnik entspricht. In vielen Anwendungsbereichen lässt sich so neben der Effektivität auch die Empfindlichkeit der Analyse steigern, da die Peaks schmaler und damit höher werden (Abb. 6).

CLB

Abbildung 6: Einfluss der Detektorparameter Scangeschwindigkeit und RF Setup Time (Detektortotzeit) auf die Datenaufnahmefrequenz bei der Fast-GCMS.



## Ein GC-MS-Verfahren für die ISO-Normung\*

Friedrich Werres, Mülheim an der Ruhr

Mit der Festphasenextraktion (solid-phase extraction, SPE) lassen sich zahlreiche organische Spurenstoffe sehr wirkungsvoll aus der wässrigen Phase extrahieren und für die instrumentelle Analytik (GC oder HPLC) vorbereiten. Problematisch gestaltet sich jedoch ihr Einsatz im Bereich der Analytik stark partikulär belasteter Flusswässer, Kläranlagenabläufe oder Abwässer, da die verwendeten mit Adsorbens gefüllten Kartuschen meist zur Verstopfung neigen. Ältere Verfahren basieren auf dem Prinzip der Flüssigextraktion (liquid-liquid extraktion, LLE). Der größte Nachteil der LLE ist ihr Verbrauch großer Mengen organischer Lösungsmittel für die Extraktion der Wasserprobe. Durch Einsatz von Extraktionsscheiben, mit denen in einem gemeinsamen Verfahrensschritt sowohl die in der Wasserprobe gelöst vorliegenden Inhaltsstoffe als auch die an den Partikeln gebundenen Stoffe erfasst werden können, lassen sich die Vorteile beider Verfahren vereinen.

Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) kommen insbesondere in den Umweltmatrices Steinkohleruß, Steinkohleteer sowie in einer Reihe von Mineralölprodukten (Schneidöle, Paraffindestillate) vor. PAK besitzen sowohl natürliche, als auch anthropogene Quellen für ihre Entstehung. So entstehen sie als ständiges Nebenprodukt bei der Bildung aller fossilen Brennstoffe wie Erdöl, Braun- und Steinkohle durch Inkohlung von Biomasse aber auch bei Stoffwechselprozessen von Pflanzen und Bakterien. Die Verarbeitung von Rohprodukten zu Benzin, Mitteldestillaten, schwerem Heizöl, Bitumen oder Steinkohleteer führt teilweise zu erheblichen Anreicherungen von PAK. Darüber hinaus werden sie in beträchtlichen Mengen bei jeder Art unvollständiger Verbrennung (Steinkohleverbrennung, Koksherstellung, Kompost- und Abfallverbrennung) gebildet.

PAK werden chemische Verbindungen genannt, deren Grundgerüst aus mehreren kondensierten Benzolringen besteht. Die Gruppe umfasst einige hundert Verbindungen von denen zahlreiche Vertreter als krebserzeugend (karzinogen) eingestuft werden.

Die in Deutschland gültige Trinkwasserverordnung 2001 (TrinkwV), die ab Januar 2003 in Kraft getreten ist, hat die Grenzwerte für PAK noch weiter verschärft. Für vier besonders relevante Stoffe liegt der Summengrenzwert nun bei  $0,1 \mu\text{g/l}$  (vorher  $0,2 \mu\text{g/l}$ ) und für Benzo(a)pyren wurde in der Anlage II, Teil 2 erstmals ein eigener sehr niedriger Grenzwert von  $0,01 \mu\text{g/l}$  eingeführt. Die Richtlinie

2000/60/EG des Europäischen Parlaments und des Rates zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik, die vor allem unter dem Namen Wasserrahmenrichtlinie (WRRL), bzw. im englischen Sprachraum unter Water Framework Directive (WFD), bekannt ist, rechnet zu den wichtigsten Schadstoffen diejenigen Stoffe und Zubereitungen oder deren Abbauprodukte, deren karzinogene oder mutagene Eigenschaften erwiesen sind. In der WRRL werden daher die PAK im Anhang X unter den „prioritär gefährlichen Stoffen“ gelistet.

Innerhalb der Stoffgruppe nimmt die biologische Abbaubarkeit mit zunehmender Anzahl kondensierter Ringsysteme ab. Mehrkernige Aromaten (> 4 Ringe) werden daher kaum noch, oder nur noch sehr langsam, abgebaut. PAK besitzen fast ausnahmslos eine geringe Wasserlöslichkeit, was zu einer erhöhten Geoakkumulationstendenz führt. Naphthalin, das lediglich aus zwei kondensierten Benzolringen besteht, besitzt im Vergleich zu den mehrkernigen Aromaten eine deutlich bessere Wasserlöslichkeit ( $30 \text{ mg/l}$ ) gefolgt von Acenaphthylen und Acenaphthen, die mit Werten zwischen  $3,5 \text{ mg/l}$  und  $4 \text{ mg/l}$  auch noch vergleichsweise löslich sind. Die übrigen Stoffe, insbesondere die 4- bis 6-kernigen Verbindungen lösen sich in Wasser nur noch außerordentlich schlecht (weniger als ein Mikrogramm je Liter). Auf Grund ihrer niedrigen Wasserlöslichkeit und der damit einhergehenden hohen Sorptionstendenz ist die Mobilität der PAK im Grundwasserleiter ziemlich eingeschränkt. Stark zur Adsorption neigende Stoffe wie PAK werden daher in natürlichen Oberflächengewässern in der Regel nicht oder nur in sehr niedrigen Konzentrationen gefunden, da sie sich im Sediment bzw. an Schwebstoffen anlagern. Durch diesen Vorgang wird zwar dem Wasser zunächst die Schadstofffracht entzogen, jedoch darf die von den partikulär gebundenen Stoffen ausgehende biologische Verfügbarkeit im Porenwasserraum nicht unterschätzt werden (Sedimenttoxizität).

### Stand der Normung

Die nationalen, aber auch internationalen Normen beschreiben ausschließlich Verfahren, die auf dem Prinzip der HPLC mit einer nachgeschalteten Fluoreszenzdetektion (FL) basieren. In einem Fall wird auch ein dünnenschichtchromatographisches Verfahren auf der Basis der HPTLC beschrieben, dass in Deutschland jedoch eher selten Anwendung findet.



#### Der Autor

Dr. Friedrich Werres studierte Chemie an der Ruhr-Universität Bochum und promovierte am Lehrstuhl für Organische Chemie. Seit 1986 ist er Mitarbeiter des IWW Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasser in Mülheim an der Ruhr. Er leitet dort die organisch-chemische Analytik.

\* Gekürzte Version des Artikels, der bereits in CLB 06-2006, Seiten 208-212 erschien (mit Abbildungen und dem Literaturverzeichnis). Er erscheint hier zur thematischen Abrundung. Den Ursprungsartikel als PDF findet man unter [www.clb.de](http://www.clb.de).

Ferner handelt es sich ausnahmslos um Verfahren, die im Rahmen der Probenvorbereitung die Flüssigextraktion (LLE) vorschreiben.

Die Fluoreszenzangeregung in Kombination mit der HPLC eignet sich auf Grund der hohen Fluoreszenzaktivität kondensierter aromatischer Verbindungen, wie sie die PAK darstellen, prinzipiell sehr gut zur Detektion und ist außerordentlich empfindlich. Andererseits ist die stoffliche Unterscheidung einzelner PAK und somit die Absicherung des analytischen Befundes allein durch die Beobachtung und den Vergleich von Retentionszeiten mit denen entsprechender Vergleichsstoffe möglich. Die Verfahren haben bei der Untersuchung weniger belasteter Wässer oder gar Trinkwässer ihre Stärke und lassen sich mit einer vergleichsweise kostengünstigen instrumentellen Ausrüstung durchführen. Jedoch kann bei einer entsprechend höheren Matrixbelastung der zu untersuchenden Probe mitunter die exakte Identifizierung und Quantifizierung einzelner PAK durch Überlagerungseffekte stark gestört werden.

In der Literatur sowie in zahlreichen „Hausmethoden“ wird seit mehreren Jahren die Kapillargaschromatographie in Verbindung mit der inzwischen sehr stark weiterentwickelten Massenspektrometrie (GC-MS) als empfindlichere und sicherere Alternative zur HPLC-FL beschrieben. Da einerseits die höhere Trennleistung der GC im Vergleich zur HPLC eine bessere stoffliche Auftrennung ermöglicht, und andererseits das massenspektrometrische Fragmentmuster eine sicherere Detektion zulässt, eignet sich das Verfahren ganz besonders für Wässer mit höherer Matrixbelastung.

### Fortschritte der Technik und Automatisierung

Die Festphasenextraktion ist heute stärker verbreitet, als die Flüssigextraktion, die sehr kosten- und zeitintensiv ist. Eine vielversprechende Lösung der Festphasenextraktion stellen speziell entwickelte reversed-phase Extraktionsscheiben dar, die bei geringem Lösungsmiteinsatz eine vollständig automatisierte Extraktion auch stark partikulär belasteter Wässer erlauben, da sie nicht zur Verstopfung neigen. Im Rahmen der internationalen Normung von Analyseverfahren für die Wasseranalytik physikalisch-chemischer Parameter (ISO/TC 147/SC 2) beschäftigt sich die Arbeitsgruppe WG 19 mit der Erarbeitung eines Normungsverfahrens zur Bestimmung von PAK mittels GC-MS in partikulär stark belasteten Wässern (Oberflächenwasser, Abwasser). Das Verfahren soll auf halogenhaltige Lösungsmittel möglichst vollständig verzichten. Es wurde beschlossen, dass von den Mitgliedsländern die Festphasenextraktion mittels Extraktionsscheiben im Rahmen der Probenvorbereitung geprüft wird und im Falle ihrer Eignung zur Aufnahme in das Verfahren vorgeschlagen werden soll. IWW (D) hat neben zwei weiteren Institutionen entsprechende Versuche für die Matrix Flusswasser angeboten und zwischenzeitlich zahlreiche Experimente durchgeführt. Vorversuche zeigten, dass sich Bakerbond Speedisk Kartuschen von 47 mm Durchmesser mit einer reversed-phase C18 Packung für die Probenvorbereitung am besten eigneten. Sie erforderten keine vorgeschaltete Filtration der Wasserprobe und keine getrennte Behandlung der Schwebstofffracht. Das Verfahren

ließ sich mit geeigneten Geräten vollständig automatisieren und ermöglichte die gemeinsame Erfassung der im Wasser gelösten und am Schwebstoff gebundenen Stoffe in einem einzigen Arbeitsablauf.

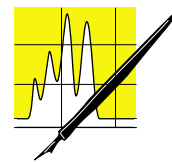
### Validierungsexperimente

Die gewonnenen Ergebnisse aus umfangreichen Experimenten zur Probenvorbereitung und instrumentellen Analytik zeigen, dass sich die 16 PAK entsprechend der EPA-Liste mit einem GC-MS Verfahren nach Festphasenextraktion mit Extraktionsscheiben sehr empfindlich und weit unterhalb des Grenzwertes der Trinkwasserverordnung erfassen lassen. Bezogen auf das Gesamtverfahren und ausgehend von einem Liter Wasser liegen die Bestimmungsgrenzen für die untersuchten Stoffe jeweils zwischen  $0,001 \mu\text{g/l}$  und  $0,005 \mu\text{g/l}$ . Die Probenvorbereitung mittels RP-C18 Speedisk Kartuschen ist sehr effektiv und im Vergleich zur Flüssigextraktion mit nur wenigen Millilitern eines organischen Lösungsmittels durchführbar. Auch wird durch den Einsatz von Automaten für die Festphasenextraktion sowie für eine eventuell notwendige Lösungsmittelaufkonzentrierung viel Zeit gespart und die Verfahrensreproduzierbarkeit ganz erheblich verbessert. Die Extraktion der im Wasser gelösten PAK erfolgt mit hohen Wiederfindungsraten, die in der Regel zwischen 90 und 100 % liegen.

Das Verfahren eignet sich ganz besonders für stark partikulär belastete Wässer. Die Extraktion der PAK aus der partikulären Fracht führt bei Verwendung von Aceton als Lösungsmittel zu besonders hohen Extraktionsausbeuten. Der Extraktionsschritt läuft vollständig automatisiert und zeitgleich mit dem Elutionsschritt des Adsorbens ab. Vorteilhaft ist hierbei die unbegrenzte Mischbarkeit von Aceton mit Wasser, wodurch das Eindringen des Lösungsmittels in die Mikroporen der Partikel verbessert wird und auch dann möglich ist, wenn die mit Sediment bzw. Schwebstoff beaufschlagte Extraktionsscheibe nach dem Trocknungsschritt noch eine gewisse Restfeuchte aufweist. Hierdurch wird eine höhere Extraktionsausbeute erreicht, als dies mit unpolaren Lösungsmitteln oder Lösungsmittelgemischen (z. B. Hexan mit 5 bis 10 % Ethylacetat) möglich ist. Wird Aceton verwendet, ist eine anschließende Lösungsmitteltrocknung nicht erforderlich, so dass das Eluat unmittelbar gaschromatographisch vermessen werden kann.

Es wurden zahlreiche Versuche mit Flusswasserproben durchgeführt, die mit natürlichem Sediment aufgestockt waren. Die Aufstockmengen lagen zwischen 250 mg und 1000 mg je Liter Wasserprobe. In keinem Fall kam es hierbei zu einer Verstopfung der Extraktionsscheiben. Die Durchflussgeschwindigkeit der Wasserproben von 50 ml/min konnte stets eingehalten werden. Alle Versuche wurden mindestens 4 mal durchgeführt. Aus den Ergebnissen konnte jeweils eine gute Verfahrenslinearität und Reproduzierbarkeit errechnet werden. Für die Wiederholuntersuchungen wurden Variationskoeffizienten  $CV_r$  zwischen 2 % und 9 % erhalten. Die aufsummierten Einzelbeträge aus den Versuchen mit 250, 500 und 750 mg Sedimentzugabe stimmen unter Berücksichtigung der Messunsicherheit recht gut mit den Vorgabewerten überein.

CLB



AUFsätze

# „Das dreckige Dutzend von Stockholm“

Wolfgang Hasenpusch, Universität Siegen

Zusammen mit acht Insektiziden und dem Fungizid Hexachlorbenzol stehen polychlorierte Biphenyle und polychlorierte Dibenzodioxine und -Furane auf der Verbotsliste der Stockholmer Konvention vom 22. Mai 2001. Das UN-Abkommen trat drei Jahre später mit der Unterzeichnung von Frankreich als 50. Staat in Kraft. Der Ratsbeschluss vom Oktober 2004 genehmigt das Stockholmer Übereinkommen über zunächst zwölf persistente organische Schadstoffe im Amtsblatt der Europäischen Union vom 31.07.2006 abschließend. Die als „Dreckiges Dutzend“ bekannt gewordenen organischen, schwer in der Natur abbaubaren Gifte stehen in dem dringenden Verdacht zudem krebserzeugend, ergutverändernd und fruchtschädigend zu wirken. In der Stockholmer Konvention war man sich über ein weltweites Verbot zur Herstellung, Vertrieb und Anwendung einig. Was aber sind das für „höllische“ Substanzen, die nur mit nichtssagenden Trivialnahmen selbst in den Rechtsvorschriften auftauchen? Warum fällt es so schwer, auf diese Substanzen ganz zu verzichten?

## 1. Die Stoffe des „Dreckigen Dutzends“

Bei den zwölf persistenten Stoffen, die auch als POPs von „persistent organic pollutants“ bezeichnet werden, handelt es sich um die folgenden Verbindungen in alphabetischer Reihenfolge:

- **Aldrin** (Hexachlor-hexahydro-dimethano-naphthalin,  $C_{12}H_8Cl_6$ ),
- **Chlordan** (Octachlor-tetrahydro-metano-indan,  $C_{10}H_6Cl_8$ ),
- **Dieldrin** (Hexachlor-epoxy-octahydro-dimethano-naphthalin,  $C_{12}H_8Cl_6O$ ),
- **DDT** (Dichlor-Diphenyl-Trichlorethan,  $C_{14}H_9Cl_5$ ),
- **Endrin** (Hexachlor-epoxy-octahydro-endodimethano-naphthalin,  $C_{12}H_8Cl_6O$ ),
- **Heptachlor** (Heptachlor-tetrahydro-methano-inden,  $C_{10}H_5Cl_7$ ),

### Der Autor

Prof. Dr. Wolfgang Hasenpusch, beschäftigt in der Chemischen Industrie als Referent für Sicherheit und Umwelt, hält darüber hinaus eine Honorar-Professur an der Universität Siegen in Industrieller Anorganischer Chemie mit den Schwerpunkten Innovationsmanagement, Recycling und Bionik. Das weite Spektrum an bearbeiteten Themen resultiert aus der vielfachen Dozenten-Tätigkeit am Deutschen Institut für Betriebswirtschaft, den Schulen der Berufsgenossenschaft Chemie sowie Universitäten.



- **Hexachlorbenzol** (HCB,  $C_6H_6$ ),
- **Mirex** (Dodecachloro-cyclobutano-pentalen,  $C_{10}Cl_{12}$ ),
- **PCB** (Polychlorierte Biphenyle,  $C_{12}H_nCl_m$ ),
- **PCDD** (PolyChlorierte DibenzDioxine,  $C_{12}H_nCl_mO_2$ ),
- **PCDF** (PolyChlorierte DibenzOFurane,  $C_{12}H_nCl_mO$ ),
- **Toxaphen** (Chloriertes Dimethyl-methylen-norbornan, Gemisch,  $C_{10}H_8Cl_8$ ).

Diese chlorierten Gefahrstoffe reichern sich alle in der Natur und in unseren Nahrungsketten an. Sie sind im Wasser zwar mit bis zu einigen Milligramm/ Liter recht schwerlöslich, in großen Gewässern können sich diese Stoffe jedoch erheblich verteilen. Aufgrund der relativ hohen Dichte sinken diese Stoffe zunächst auf den Boden von Gewässern.

Als Gefahrensymbole finden zumeist Totenkopf und das Symbol für „umweltgefährlich“ ihre Anwendung. Dieldrin sowie die Polychlorierten Diphenyle und „Dioxine“ sind allerdings sehr giftig, während Chlordan nur als gesundheitsschädlich eingestuft wird. Alle Verbindungen stehen in Verdacht, CMR-Stoffe (Cancerogen, Mutagen, Reprotoxisch) zu sein. Die früheren Maximalen Arbeitsplatz-Konzentrationen (MAK-Werte) lagen bei  $0,5 \text{ mg/m}^3$  und darunter. Über weitere physikalisch-chemische Eigenschaften gibt die Tabelle 1 nähere Auskunft. Die Struktur-Formeln der besagten zwölf Verbindungen bzw. Verbindungsgruppen sind den Abbildungen 1-12 zu entnehmen.

## 2. Eigenschaften, Gefährdung und Einsatz

Der Übersichtlichkeit halber seien die zwölf Stoffe nur kurz beschrieben. Besonders über die Insektizide, die polychlorierten Biphenyle und die große Gruppe der „Dioxine“ mit ihren 210 Kongeneren (zusammen gebildete Verbindungen als Gemisch) sind zahlreiche Publikationen in den Print-Medien und im Internet zu finden.

### 2.1 Aldrin

Aldrin ist ein Insektizid das gegen Termiten, Heuschrecken und Drahtwürmer Einsatz fand. Von Lebewesen wird die giftige Verbindung in das sehr giftige Dieldrin umgewandelt, indem die freie Doppelbindung mit Sauerstoff in ein Epoxid überführt wird. Die als Reinstanz fast farb- und geruchlose Verbindung kam als braun-kristalline Masse oder Pulver mit harzartigem Geruch in den Handel.

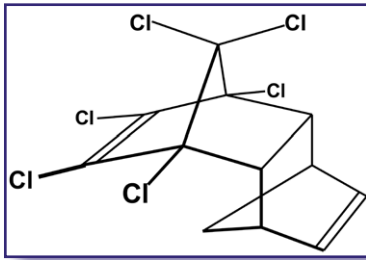


Abbildung 1: Aldrin  
(1R,4S,5S,8R)-1,2,3,4,10,10-Hexachlor-1,4,4a,5,8,8a-hexahydro-1,4:5,8-dimethano-naphthalin, (C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>6</sub>).

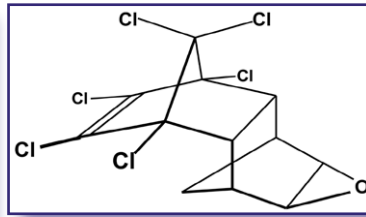


Abbildung 3: Dieldrin  
1,2,3,4,10,10-Hexachlor-1R,4S,4a S,5R,6R,7S,8S,8aR,-octahydro-6,7-epoxy-1,4:5,8-dimethano-naphthalin, (C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>6</sub>O).

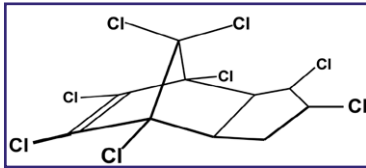


Abbildung 2: Chlordan  
1,2,4,5,6,7,8,8-Octachlor-2,3,3a,4,7,7a-hexahydro-4,7-methano-inden, (C<sub>10</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>8</sub>).

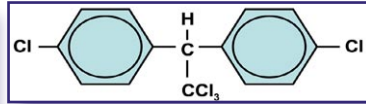


Abbildung 4: DDT  
1,1-p,p'-DichlorDiphenyl-2,2,2-Trichlorethan.  
Insektizid, hergestellt aus Chlorbenzol und Trichlor-acetaldehyd.  
M = 354,49; Smp.: 108,5-109°C; Sdp.: 260°C  
kristallisiert aus Alkohol in Nadeln; unlöslich in Wasser.



AUFSÄTZE

### 2.3 Dieldrin

Dieldrin fand als Boden-Insektizid und gegen verschiedene krankmachende Organismen seinen Einsatz. Besonders ist die Fisch-Giftigkeit von Dieldrin hervorzuheben. Die Halbwertszeit im gemäßigten Klima beträgt an die fünf Jahre.

In den USA wurde Ende der 1950-iger Jahre eine groß angelegte Kampagne gegen die Feuerameisen mit Dieldrin begonnen. Doch schon 1959 stoppte der Staat Alabama das „Fire ant Program“, da ein erhebliches Fisch-, Vogel- und Wildsterben einsetzte. Florida folgte ein Jahr später. In den „Ameisen-Ausrottungsgebieten“ starben einige Tierarten ganz aus.

Dieldrin besteht aus farblos bis hellgelben Kristallen von Naphthalin-artigem Geruch.

### 2.4 DDT

Dichlor-diphenyl-trichlorethan, kurz DDT, wirkt gegen Insekten als Kontakt- und Fraßgift. Es wird seit Anfang der 1940-iger Jahre weltweit in besonders belasteten Gebieten eingesetzt. Wie bei kaum einem anderen Insektizid wird der Einsatz einem Abwägungs-Prozess unterworfen: Mit dem DDT konnten die Malaria-Infektionen von 100 Millionen Kranken 1952 in Indien fast vollständig unterbunden werden. 1961 zählte man nur noch 50 000 Erkrankungen. Durch die Resistenzen der Malaria-Mücken stieg die Zahl der Malaria-Erkrankten in Indien wieder auf eine halbe Million (1970) und gar 30 Millionen (1977) an. Heute sind

Tabelle 1 (Daten aus Wikipedia und Römpp):

Persistente organische Schadstoffe									
	Verbots-Stoff	CAS-Nr.	M	Smp.	Sdp.	D	Toxizität	Entwickler	Einsatz
1	Aldrin	309-00-2	364,9	104		1,54	LD <sub>50</sub> (oral, Ratte): 46 mg/kg	1948 J. Hyman Co./ Shell	Boden-Insektizid
2	Chlordan	57-74-9	409,8	104-107		1,61	LD <sub>50</sub> (oral, Ratte): 460 mg/kg	1944 J. Hyman Co.	Boden-Insektizid
3	Dieldrin	60-75-1	380,9	175-177	Z.	1,75	LD <sub>50</sub> (oral, Ratte): 38 mg/kg	1948 J. Hyman Co.	Pflanzenschutz.
4	DDT	50-29-3	354,5	109		1,55	LD <sub>50</sub> (oral, Ratte): 113 mg/kg	1939 P. Müller, Geigy AG	Breitband-Insektizid
5	Endrin	72-20-8	380,9	226-230		1,77	LD <sub>50</sub> (oral, Ratte): 7 mg/kg	1951 J. Hyman Co.	Breitband-Insektizid
6	Heptachlor	76-44-8	373,3	95-96		1,57	LD <sub>50</sub> (oral, Ratte): 100 mg/kg	1943 Velsicol Chem. Corp.	Kontakt-Insektizid
7	Hexachlorbenzol	118-74-1	284,8	229	322	2,04	LD <sub>50</sub> (oral, Ratte): 10 g/kg	keine Angabe	Pflanzenschutz.
8	Mirex	2385-85-5	545,5	485		?		keine Angabe	
9	Polychlorierte Biphenyle		189-499			1,2-1,6		keine Angaben	Transformatoröl, Kühlmittel, Weichmacher
10	Chlorierte Dibenzodioxine						LD <sub>50</sub> (oral, Meersch.): 0,6µg/kg	nur ungewollte Nebenprod.	75 Congenere
11	Chlorierte Dibenzofurane						LD <sub>50</sub> (oral, Meersch.): 0,6µg/kg	nur ungewollte Nebenprod.	135 Congenere
12	Toxaphen	8001-35-2	414	65-95	Z.	1,66	LD <sub>50</sub> (oral, Ratte): 80 mg/kg	Hercules Inc., USA	Pflanzenschutz.

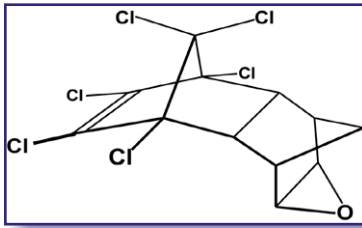


Abbildung 5: Endrin (stereo-isomer zu Dieldrin)  
1,2,3,4,10,10-Hexachlor(1R,4S,4aS,5S,6,7R,8R,8aR)-octahydro-1,4:5,8-dimethano-naphthalin, (C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>6</sub>O).

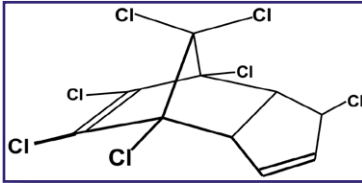


Abbildung 6: Heptachlor  
1,4,5,6,7,8,8-Heptachlor-3a,4,7,7a-tetrahydro-1H-4,7-methano-inden, (C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>Cl<sub>7</sub>).

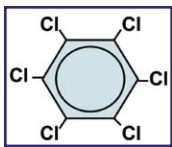


Abbildung 7:  
Hexachlorbenzol,  
C<sub>6</sub>Cl<sub>6</sub>  
M = 284,76;  
Smp.: 227-9; D =  
2,044.

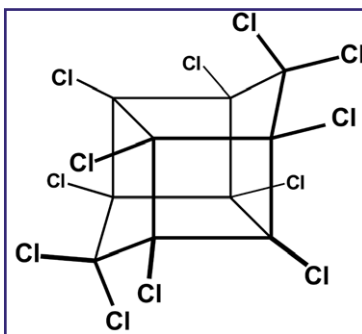


Abbildung 8: Mirex  
1,1a,2,2,3,3a,4,5,5a,5b,6-Dodecachloro-1,3,4-methano-Cyclobutan-pentalen,  
C<sub>10</sub>Cl<sub>12</sub>.

Besprühungen mit DDT wieder mit Auflagen in einigen Gebieten erlaubt.

Hergestellt hatte das DDT der österreichische Chemiker Othmar Zeidler bereits 1874. Als der Schweizer Paul Hermann Müller 1939 die insektizide Wirkung des DDT entdeckte, atmeten die von Ungeziefer, wie Kartoffelkäfer, Läuse, Malaria-mücken, betroffenen Gebiete auf. 1948 erhielt er den Nobelpreis für Medizin.

1962 veröffentlichte die amerikanische Biologin Rachel Carson ihr Buch „Silent Spring“ (Stummer Frühling) und machte damit breite Bevölkerungsschichten auf die verheerenden Nebenwirkungen dieses „Wundermittels“ aufmerksam. Es folgten heftige Debatten zwischen Gegnern und Befürwortern. 1972 erfolgten dann Verbote in USA und in Deutschland. In Holzschutzmitteln war es in den Gebieten der DDR bis 1991 im Einsatz.

DDT kommt in Form farbloser wachsartiger Kristalle in den Handel, ist brennbar und riecht typisch. Der Schmelzpunkt liegt bei 109°C. In Wasser ist DDT praktisch unlöslich. Versprüht an Wände und Türen wird es mit organischen Lösungsmitteln und bleibt dann etwa ein halbes Jahr wirksam.

## 2.5 Endrin

Das Insektizid Endrin wurde vor allem im Getreide- und Baumwollanbau sowie zur Bekämpfung von Mäusen eingesetzt. Es ist ein starkes Nervengift, wie auch sehr giftig für aquatische Lebewesen. Mit dem stärker im Körper anreicherndem Dieldrin hat es eine stereo-isomere Epoxid-Struktur und kann sich im Boden mit einer Halbwertszeit von bis zu 12 Jahren recht lange halten. Die gelb-braunen Kristalle strömen einen phenolartigen Geruch aus. Obwohl der Schmelzpunkt bei 200°C liegt, verfügt das sehr giftige Endrin mit 10 Pa über einen recht hohen Dampfdruck bei 20°C.

## 2.6 Heptachlor

Das nach Kampfer riechende wachsartige Heptachlor wurde als Kontakt-Insektizid und Fraßgift eingesetzt. Auch bei der Bekämpfung von Termiten, Boden-Insekten und Malaria-Mücken fand es seinen Einsatz. Beim Menschen führt es zu Leberschäden und Störung des zentralen Nervensystems. Die Halbwertszeit im Boden kann bis zu zwei Jahren betragen.

Die relativen Dichten der chlorierten Naphthaline nehmen linear in Relation zum Molekulargewicht zu (Abbildung 13). Aber auch die chlorierten Insektizide mit annähernd gleicher Grundstruktur weisen ein lineares Dichte-Molekulargewichts-Verhältnis auf (Abbildung 14). Damit sind auch die Dichten andere Chlorierungsstufen zugänglich, ohne alle Einzelnen Spezies isolieren und vermessen zu müssen.

## 2.7 Hexachlorbenzol

Vor dem Zulassungsverbot 1981 in Deutschland fand es seinen Einsatz als Getreidebeize und der Bekämpfung von Pilzkrankungen. Es war als farbloses kristallines Pulver erhältlich. Schmelzpunkt und Dichte liegen mit 229°C und 2,044g/cm<sup>3</sup> relativ hoch.

Für die direkte Benzol-Chlorierung bedarf es eines Katalysators (FeCl<sub>3</sub>) sowie Temperaturen von 230°C. Ein anderer Syntheseweg verlief über Hexachlorcyclohexan (Lindan) bei erhöhter Temperatur in Gegenwart von Chlor-Gas.

Auch bei dem chlorierten Benzol liegen die relativen Dichten in Bezug zum Molekulargewicht auf einer geraden, der sich selbst das unsubstituierte Benzol fügt (Abbildung 15). Bei dem symmetrisch aufgebauten Tetrachlorbenzol scheint die Orientierung im Kristallgitter eine besondere Verdichtung zuzulassen, so dass die Dichte hier etwas höher liegt.

## 2.8 Mirex

Gegen Feuerameisen, Blattschneiderameisen und Termiten wurde das Insektizid Mirex eingesetzt. Ferner diente dieser farb- und geruchlose Stoff mit seiner durchchlorierten würfelförmigen Molekülstruktur als Flammenschutzmittel.

Es wirkt schädigend auf Leber sowie Immun- und Hormonsystem. Besonders giftig zeigt sich diese für Menschen nur als gesundheitsschädlich eingestufte Verbindung jedoch für Krustentiere. Als Halbwertszeit werden Werte um zehn Jahre angegeben.

## 2.9 Polychlorierte Biphenyle

Bis in die 1980-iger Jahre befanden sich die PCB u. a. in Transformatoren, Kondensatoren (auch in alten Leuchtstoffröhren!), Hydraulikanlagen wie auch in Lacken, Dichtungsmassen und Kunststoffen als Weichmacher. Es existieren 209 Isomere, von denen aber

nur etwa ein Viertel in den käuflichen Mischungen vorhanden war.

Sie haben den Vorteil, dass sie thermisch und chemisch stabil, schwer entflammbar, nicht leitend und hydrophob sind. Sie haben daher auch eine breite Anwendung gefunden.

Nach einer Massenvergiftung 1968 in Japan, wurden PCB letztlich 1989 weltweit ganz verboten.

Die gelblichen, fast geruchlosen Flüssigkeiten bewirken chronische Erkrankungen mit den Symptomen Chlorakne, Haarausfall und Hyperpigmentierung, können Wachstumsentwicklungen stören und hormonell bedingte Schäden hervorrufen.

Als Folge von Unfällen und unsachgemäßer Entsorgung sind PCB bereits in der Antarktis sowie in der Muttermilch nachweisbar.

Durch Oxidation der PCB können die entsprechenden polychlorierten Dibenzofurane entstehen (Abbildung 9).

PCB reichern sich über die Nahrungskette: Luft/ Boden → Futterpflanze → Nutztier → Mensch besonders im Menschen an. Im Fettgewebe befinden sich aufgrund des lipophilen („fettfreundlich“) Verhaltens der PCB-Kongenerere die höchsten Konzentrationen. Analysen der vergangenen Jahre zeigen die Belastungen unserer Nahrungsmittel in mg PCB/ kg: Aal bis 6,5 – Fisch (Rhein) 1,0 – Wurstfett 0,7 – Butterfett 0,1.

Aus Japan (1968) und Taiwan (1979) wurden Massenvergiftungen nach Verzehr von Reisöl und anderen mit hohen PCB-Konzentrationen kontaminierten Lebensmitteln gemeldet.

Verfolgt man die relativen Dichten der PCB, so liegen sie nicht auf einer Geraden in Relation zu ihrem Molekulargewicht, sondern bilden eine harmonische Kurve, auf der sich auch das unsubstituierte Diphenyl sowie das ebenfalls mit zwei Benzolringen ausgestattete DDT einordnen (Abbildung 16).

## 2.10 Polychlorierte Dibenzodioxine

Ins Bewusstsein der Öffentlichkeit gelangten die chlorierten Dioxine erstmals durch die Verunreinigungen in den Entlaubungsmitteln („Agent Orange“), die Ende der 1960iger Jahre in Vietnam von den Amerikanern eingesetzt wurden.

Der giftigste Vertreter unter den 75 Kongeneren trat am 10. Juli 1976 durch Explosion eines überhitzten Kessels des Pflanzenschutzmittel-Herstellers ICMESA (Hoffmann - La Roche) im norditalienischen Ort Seveso aus.

Auch das Kieselrot, ein Rückstand aus der Kupfergewinnung, das deutschlandweit als Belag für Sport und Tennisplätze vermarktet wurde, enthält sehr hohe Dioxin-Werte.

Chlorierte Dibenzodioxine wurden nie gezielt industriell hergestellt. Sie entstehen bei einer Vielzahl von thermischen Prozessen: beim Zigaretten-Rauchen, überm Kaminfeuer, besonders jedoch bei Papier-Bleichen mit Chlor, Herstellung von Pflanzenschutz-

mitteln sowie bei metallurgischen Prozessen. Die optimale Temperatur für die Bildung der „Dioxine“ liegt im Bereich von 250 bis 400°C.

Aber auch Vulkan-Ausbrüche führen zu erhöhten Dioxin-Konzentrationen, so dass es überall auf der Welt anzutreffen ist. Angereichert wird es in Nahrungsmitteln mit hohem Fett-Gehalt, wie Seefisch und Speise-Fetten.

Die Toxizität der 16 häufigsten Kongenerere der chlorierten Dibenzodioxine und -furane werden zum Seveso-Dioxin mit dem Faktor 1,0 in Relation gesetzt und zu einem Gesamt Toxizitäts-Äquivalenzwert addiert.

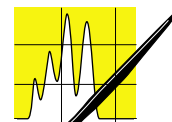
Nach der 17. Verordnung zum Bundesimmissionschutzgesetz, das die Abfallverbrennung im Focus hat, wird ein Grenzwert von 0,1 Nanogramm/ Norm-m<sup>3</sup> Abluft gefordert.

Dioxide sind über Jahre beständig. Über Photo-Reaktionen und bakterielle Reaktionen werden sie nur langsam abgebaut. In die Umwelt werden die Dioxine, gebunden an Feinstaubpartikeln, verteilt.

Ein spektakulärer Attentats-Versuch mit Dioxinen über das Essen erfolgte 2004 offenbar bei dem damaligen Oppositionsführer und heutigem Präsidenten der Ukraine Viktor Juschtschenko. Die Wirkungsweise in Form der Chlorakne zeichnet noch heute sein Gesicht.

## 2.11 Polychlorierte Dibenzofurane

Die polychlorierten Dibenzofurane treten mit maximal 135 Kongeneren mit den entsprechenden Dibenzodioxinen gemeinsam auf. Üblicherweise werden sie zusammen mit Toxizitäts-Äquivalenten belegt und der Einfachheit halber in Summe als „Dioxine“ bezeichnet. Entstehung, Verteilung und



AUFSÄTZE

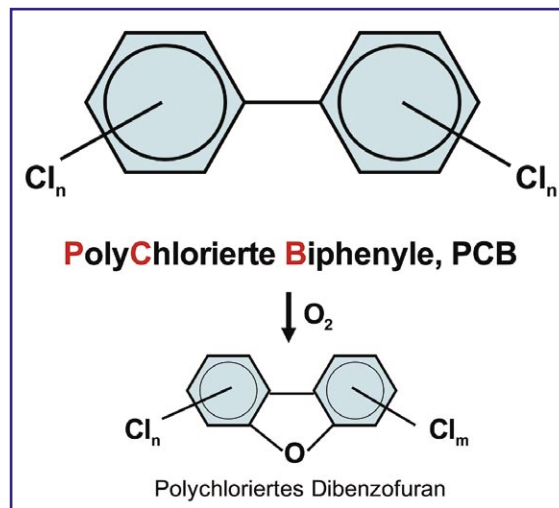


Abbildung 9: Polychlorierte Biphenyle.

Abbildung 10: Polychlorierte Dibenzodioxine.

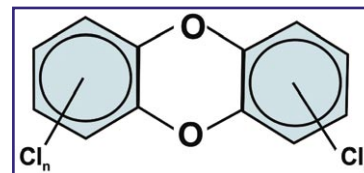


Abbildung 11: Polychlorierte Dibenzofurane.

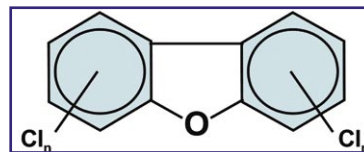
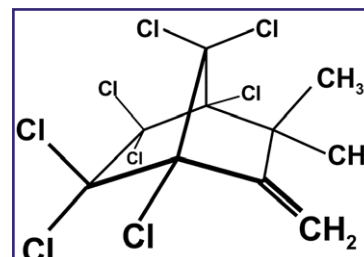


Abbildung 12: Toxaphen  
Chloriertes 2,2-Dimethyl-3-methylen-norboman, z.B. C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>8</sub>. Gemisch verschieden chlorierter Spezies.



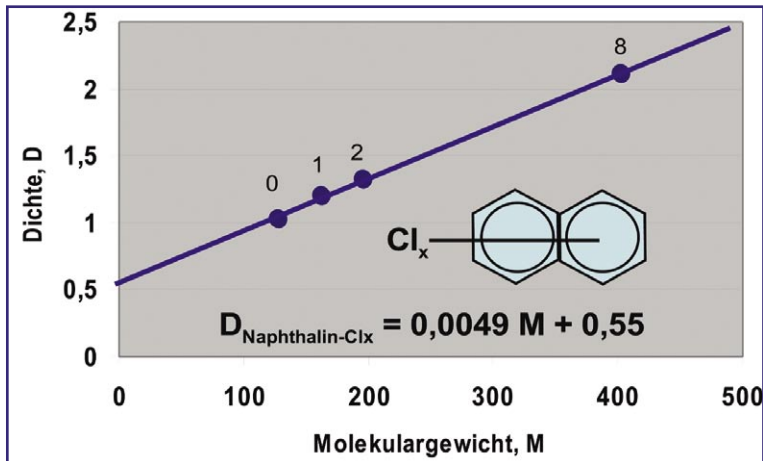


Abbildung 13: Dichte von Naphthalin und der Chlornaphthaline im Verhältnis zum Molekulargewicht.

Auswirkungen sind vergleichbar mit den Dioxin-Derivaten.

### 2.12 Toxaphen

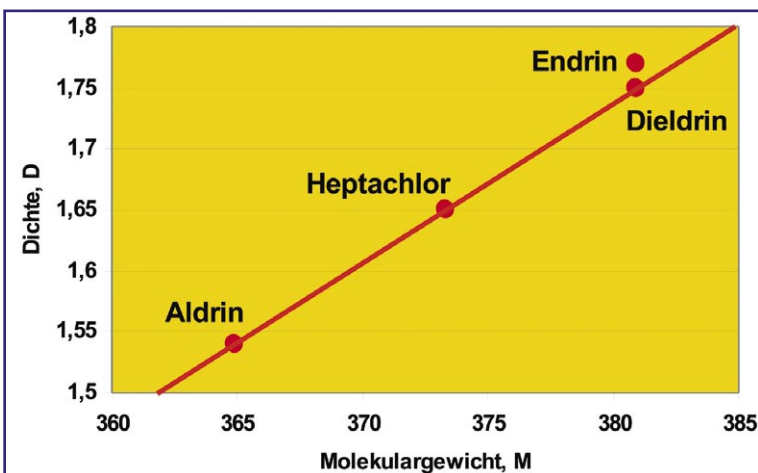
Das Pestizid Toxaphen besteht aus einer Mischung von verschiedenen chlorierten Bornanen, Bornenen und Camphenen. Es wurde seit 1945 von der Hercules Inc., USA, unter „Hercules 3956“ vertrieben. Es zählte zu den weit verbreiteten Pestiziden: bis 1993 kamen weltweit etwa 1 Mio. t Toaphen zum Einsatz. In der Bundesrepublik Deutschland wurde sein Einsatz beim Anbau von Getreide, Früchten und Gemüse seit 1971 verboten, nachdem sich die krebserzeugenden, erbgutverändernden und fruchtschädigenden Eigenschaften herausstellten.

## 3. Schäden des „Dreckigen Dutzends“

Auf die weltweit registrierten Schäden wurde bereits zum Teil bei der Darstellung der zwölf Einzelsubstanzen und Substanz-Gruppen hingewiesen.

Allen chlorierten Verbindungen gemein ist das hohe Risiko für Krebs- und Erberkrankungen sowie ihre hohe Beständigkeit in der Natur. Was bei der Entwicklung der Schädlingsbekämpfungsmittel einst aufgrund der lang anhaltenden Wirkdauer als Vorteil

Abbildung 14: Lineare Beziehung zwischen Dichte und Molekulargewicht bei strukturähnlichen Insektiziden.



gesehen wurde, offenbart sich durch die Anreicherungen in Nahrungsketten zu schädlichen Folgen für den Menschen als Nachteil.

Das Hinterhältige dieser zwölf chlorierten Verbindungen zeigt sich an den Dioxinen. Sie entstehen möglicherweise bei Chlorierungsreaktionen als Begleitstoffe, an die wir bei den Synthesen, Verarbeitungen und Behandlungen gar nicht denken.

Besondere Aufmerksamkeit fordern Verbrennungsprozesse in Behältnissen aus Buntmetall, wie beispielsweise Kupfer, Kobalt, Nickel, bzw. wenn sich diese Metalle im Verbrennungsgut befinden, etwa als Draht-, Farbpigment- oder Elektronik-Abfall.

Große Abfallverbrennungen unterliegen gesetzlichen Regelungen, wie sieht es jedoch mit dem Abflämmen von Farbschichten aus, dem Schweißen von chlorhaltigen Kunststoffen, sowie chemischen Reaktionen mit Chlor und Benzol, Diphenyl, Naphthalin, Indan, aromatenhaltigen Indikatoren, usw. aus?

Wie verhalten sich die Derivate, die neben dem Chlor auch Brom enthalten? Sie werden in der Regel mit dem Massenspektrometer, der üblichen Nachweismethode nach Anreicherungs-Prozeduren, nicht detektiert.

Die Schäden für Mensch und Umwelt durch die zitierten zwölf größten Übeltäter zeigten sich seit Jahrzehnten als verheerend. Wie viele ähnliche und analoge Stoffe haben sich hinter der unheilvollen Wirkung dieser zwölf „Delinquenten“ verborgen?

Und warum bedurfte es ein halbes Jahrhundert mit Millionen von Opfern, bis tief greifende Maßnahmen und Kontrollen greifen?

## 4. Warum weiterhin Ausnahmen?

Die Chemie steht auch auf dem Feld der Schädlingsbekämpfung noch vor großen Aufgaben. Das Stockholmer Abkommen ist dann notgedrungen auch nichts weiter als ein Kompromiss: Artikel 3 gibt sich neben dem Verbot auch mit Verringerungen in der Herstellung dieser Stoffe zufrieden. Im Artikel 4 folgen die Randbedingungen für Ausnahmen, begleitet von einer Liste mit spezifischen Ausnahme-Regelungen:

- **Aldrin** darf lokal als Insektizid verwendet werden, Chlordan ebenfalls.
- **Dieldrin** kann für landwirtschaftliche Maßnahmen erlaubt werden.
- **Hexachlorbenzol** darf weiterhin als gezieltes Zwischenprodukt auftreten und als Lösungsmittel für Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel eingesetzt werden.
- **Mirex** ist als Termiten-Vernichtungsmittel weiterhin auf Antrag erlaubt.
- Für **Polychlorierte Biphenyle** werden schließlich entschlossene Anstrengungen angemahnt, größere Mengen zu vermeiden.
- Beim **DDT** ist von dem schwerwiegenden Abwägungsprozessen in Entwicklungsländern auch derzeit



in den Medien zu erfahren: Malaria z.B. ist derzeit mit alternativen Mitteln noch nicht hinreichend beherrschbar.

Die Vereinten Nationen veröffentlichten eine Liste mit alternativen Pestiziden. Eine Studie zur Bewertung dieser 60 Alternativstoffen, „Beyond POPs“ kam zu dem Urteil: „Hier werden giftige Pestizide durch andere giftige Pestizide ersetzt“ [1].

Walter Klöpffer und Martin Scheringer sehen die 12er-Liste aus Stockholm als kleinsten gemeinsamen Nenner, deren Auswahl weder systematisch noch rein naturwissenschaftlich begründbar ist [2]. Die Produktion, der Vertrieb und die Anwendung dieser 12 Stoffe unterliegen ohnehin bereits in vielen Industriestaaten einem Verbot. Die Liste wäre noch wesentlich zu erweitern, beispielsweise durch Hexachlorcyclohexan, Hexabrom-biphenyl und polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK).

Das Umweltbundesamt in Berlin hat eine umfangreiche Zusammenstellung von Literatur-Zitaten mit Kurzzinhaltsangaben verfasst [3]. Entscheidende alternative Insektizide und Behandlungs-Methoden sind dort jedoch auch nicht zu finden.

Martin Kohler von der Eidgenössischen Materialprüfungs- und Forschungsanstalt, EMPA, präsentierte 2005 anlässlich einer Jubiläumsveranstaltung des „Center of Excellence in Analytical Chemistry“ an der ETH Zürich einen Vortrag über Langzeitgifte (POPs) als neue Herausforderung in der Umweltanalytik [4]. Dabei sind vor allem als alternative Stoffe zunehmend im Einsatz befindlichen bromierten Verbindungen ins Visier zu nehmen.

Daneben werden verschiedene Anstrengungen unternommen, Überschüsse in der Ausbringung von Pflanzenschutzmitteln zu vermeiden, beispielsweise durch computergestützte Berechnungen und Neuentwicklungen an Feldspritzgeräten [5].

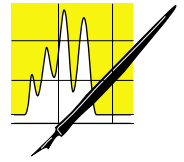
Bleibt noch festzuhalten, dass ein rigoroses Verbot der 12 Stockholmer Stoffe neben den Entwicklungsländern auch von den Ostblockstaaten vorerst nicht einhaltbar ist, da vergleichbare Alternativen fehlen.

Umweltverbände sehen derzeit auch keine politischen Anreize, Alternativstoffe zu entwickeln [6]: Genehmigungsverfahren sollten nachhaltige Produkte stärker favorisieren, anstatt nur an der Optimierung des Handlings von offen gehandhabten, sehr giftigen Verbindungen zu arbeiten. Auch der Ersatz weniger gefährlicherer Insektizide und anderer in die Natur eingebrachten Langzeitgifte bedürfe einer wirkungsvolleren Regulierung.

In der Entwicklung alternativer Mittel zur Schädlingsbekämpfung scheint es also noch deutlichen Forschungs- und Handlungsbedarf zu geben. Denn von den schädlichen Auswirkungen der Dauergifte werden wir alle mehr und mehr betroffen sein, wenn nicht bald durchgreifende Abhilfe geschaffen wird. Die Stockholmer Konvention ist da ein beachtenswerter aber letztlich doch bescheidener Anfang. **CLB**

#### Literatur

- [1] www.pan-germany.org/presse/2001/press-pop.htm: „Gefährliche Alternativen zu Dauergiften“, Hamburg, 23.05.2001.
- [2] Klöpffer, W. und M. Scheringer, Z. Umweltchem. Ökotox. 12(6) (2000) 307-309.
- [3] Umweltbundesamt IV, (2000) „Persistent Organic Pollutants, POPs“ aus den Daten-Banken ULIDAT, UFORDAT, URDB.
- [4] Kohler, M., Jubiläums-Veranstaltung 10 Jahre CEAC, ETH Zürich, 26.09.2005.
- [5] 53. Pflanzenschutz-Tagung, 16. bis 19. 09. 2002, Bonn.
- [6] Greenpeace, Chemical Reaction, Epha Environment Network, BUND: „Chemikalien außer Kontrolle – Für eine EU-Chemikalienpolitik zum Schutz von Gesundheit und Umwelt“ (2003).



**AUFSÄTZE**

Abbildung 15: Dichte von Benzol und der Chlorbenzole im Verhältnis zum Molekulargewicht.

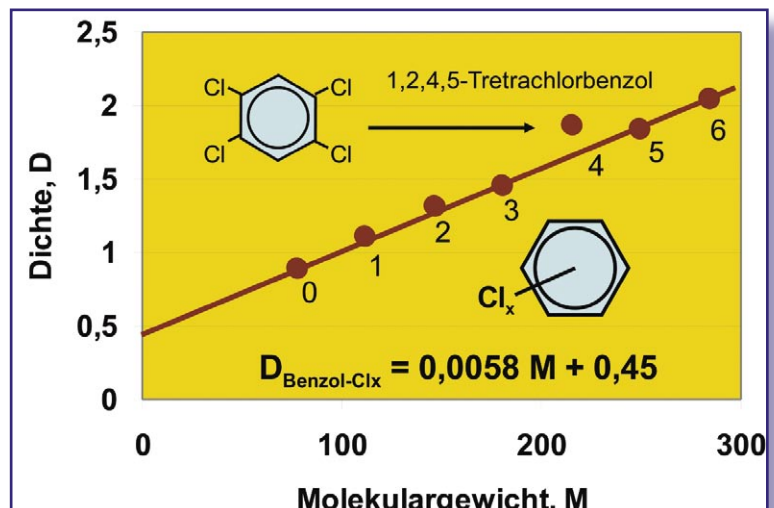
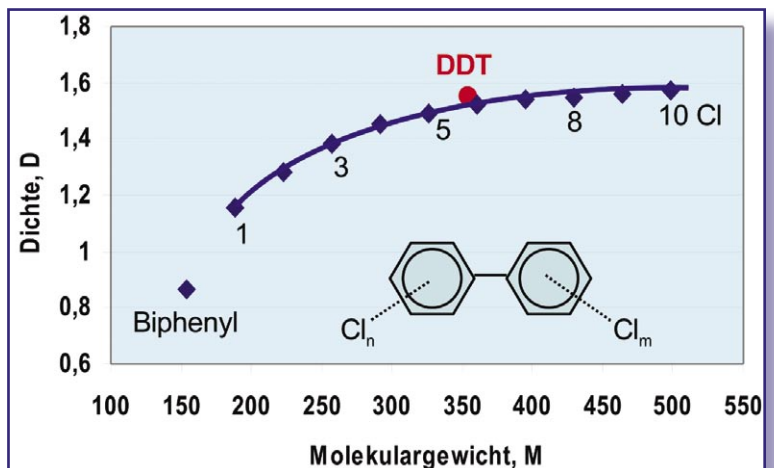


Abbildung 16: Abflachende Dichte mit zunehmendem Chlorgehalt der polychlorierten Biphenyle, PCB.



## Langwelliges Licht mit Hilfe von Molekülen in kurzwelliges umwandeln Ein neuer Weg zu effizienten Solarzellen aufgezeigt

**E**in neuartiges Verfahren, das langwellige Photonen („Lichtteilchen“) niedriger Energie in kurzwellige Photonen höherer Energie umwandelt, wurde von einem Forscherteam des Max-Planck-Instituts für Polymerforschung in Mainz und dem Sony Materials Science Laboratory in Stuttgart entwickelt. Durch die geschickte Kombination zweier lichtaktiver Substanzen konnten die Wissenschaftler erstmals gewöhnliches Licht, wie etwa Sonnenlicht, so manipulieren, dass sich die Energie der Photonen bestimmter Wellenlängen addierte (Physical Review Letters, 4. Oktober 2006). Vergleichbares gelang bislang nur mit Laserlicht hoher Energiedichte. Der hier erzielte Erfolg könnte den Grundstein für eine neue Generation effizienterer Solarzellen legen.

Der Wirkungsgrad heutiger Solarzellen ist unter anderem dadurch beschränkt, dass sie den langwelligen, energiearmen Teil des Sonnenlichts nicht verwerten können. Ein Verfahren, das die geringe Energie der Lichtteilchen (Photonen) des langwelligen Bereichs erhöht und damit ihre Wellenlänge verkürzt, würde auch die

bislang verlorenen Teile der Lichtenergie für Solarzellen nutzbar machen. Dies könnte ihre Effizienz drastisch erhöhen. Entsprechendes erreicht man bislang nur mit Laserlicht hoher Energiedichte, das unter bestimmten Bedingungen zwei energiearme Photonen zu einem energiereichen vereinigt, quasi in einer Photonenfusion.

Die Wissenschaftler des Max-Planck-Instituts für Polymerforschung und des Sony Materials Science Laboratory sind hierbei einen entscheidenden Schritt weiter gekommen. Mit dem entwickelten Verfahren gelang es ihnen erstmals, Photonen aus gewöhnlichem Licht zu paaren und damit die Wellenlänge zu verändern. Sie nutzten zwei Substanzen (Platinoctaethylporphyrin und Diphenylanthracen), deren Lösung langwelliges, grünes Licht einer gewöhnlichen Lichtquelle in kurzwelliges, blaues Licht umwandelt. Analog zu den Vorgängen im Laserlicht werden auch hier Photonen gepaart, aber auf andere Weise.

Während bei der Manipulation mit Laserlicht ein Molekül zwei Photonen aufnimmt, was nur im regelrechten „Photonenbombardement“ eines Laserstrahls wahrscheinlich ist, empfangen die

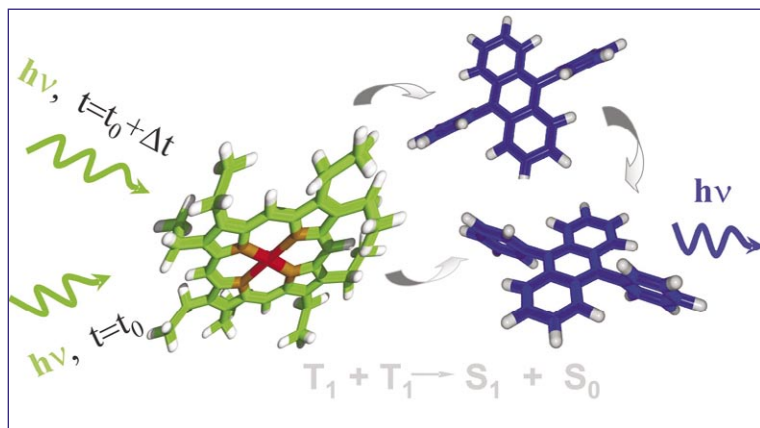
Photonen aus den gesamten Bereich des Sonnenspektrums addieren.

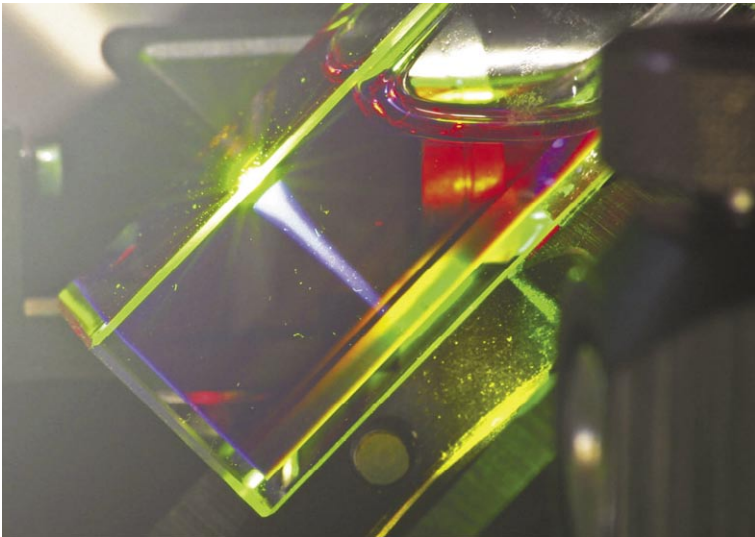
Die beiden von den Forschern als „Photonenvermittler“ entwickelten Substanzen haben ganz unterschiedliche Eigenschaften. Während die eine als „Antenne“ für grünes Licht dient (Antennen-Moleküle), paart die andere die Photonen, macht also aus zwei energiearmen, grünen Photonen ein energiereiches, blaues Photon, und sendet es als Emitter aus (Emitter-Molekül).

Im Detail geschieht folgendes: Zunächst nimmt das Antennen-Molekül ein grünes, energiearmes Photon auf und gibt es als Energiepaket an das Emitter-Molekül weiter. Beide Moleküle speichern die Energie nacheinander in so genannten angeregten Zuständen. Anschließend reagieren zwei der Energie-beladenen Emitter-Moleküle miteinander, wobei das eine Molekül sein Energiepaket auf das andere überträgt. Danach ist ein Molekül im energiearmen Grundzustand. Das andere hingegen erreicht einen sehr energiereichen Zustand, der das doppelte Energiepaket speichert. Dieser Zustand zerfällt rasch wieder unter Aussendung des großen Energiepakets in Form eines blauen Photons. Obwohl dieses Lichtteilchen kurzwelliger und energiereicher ist als das anfangs eingestrahlte grüne Licht, wird unterm Strich keine Energie erzeugt, sondern vielmehr wird die Energie von zwei Photonen auf eines vereint.

Chemisch spannend ist der Vorgang, da für eine effiziente Energieübertragung die Moleküle fein aufeinander abgestimmt sein müssen und weder Antennen- noch Emitter-Molekül auf Schleichwegen ihre Energie verlieren dürfen. So galt es für die Forscher, ein Antennen-Molekül zu synthetisieren, das langwelliges Licht absorbiert und dieses so lange speichert,

Schematische Darstellung der Energieübertragungen. Das Antennen-Molekül (grün mit rotem Platin) empfängt die grünen Photonen ( $h\nu$  = Lichtenergie) und überträgt sie auf die Emitter-Moleküle (blau). Anschließend wird ein blaues Photon ausgesendet (Bilder: Max-Planck-Institut für Polymerforschung).





Versuchsaufbau zum Nachweis der veränderten Wellenlänge. Das in die Lösung eingestrahle grüne Licht tritt nach der Umwandlung als blaues Licht wieder aus.

dass die Energie auf einen Emitter übertragen werden kann. Dafür eignete sich nur eine komplexe, metallorganische Verbindung, die ein Platinatom in einem ringförmigen Molekül enthält. Das Emitter-Molekül wiederum muss in der Lage sein, die Energiepakete der Antenne zu übernehmen und diese zu halten, bis ein weiteres angeregtes Emitter-Molekül für die anschließende Photonenfusion gefunden ist.

Da auf diese Weise bislang ungenutzte Anteile des Sonnenlichts für Solarzellen verwertbar gemacht werden, bietet dieses Verfahren den idealen Ausgangspunkt für effizientere Solarzellen, hoffen die Wissenschaftler. Um diesen Prozess zu optimieren und einer Anwendung näher zu bringen, erproben sie neue Substanzpaare für weitere Farben des Lichtspektrums und versuchen, diese in eine Polymermatrix zu integrieren. *AJ*

## Geruch beim Berühren von Metallen Ursache sind Hautsubstanzen

**D**er typische metallische Geruch beim Berühren von eisenhaltigen Münzen, Werkzeugen und anderen Gegenständen ist nicht wie bisher vermutet durch verdampftes Metall verursacht, sondern durch organische Moleküle aus der menschlichen Haut.

Bei dieser Art menschlichen Körpergeruches wirkt das Eisen (ähnlich wie Kupfer) nur als Katalysator zur Abspaltung von geruchsstarken organischen Hautbestandteilen. Ein anderer bekannter knoblauchartiger Geruch beim Ätzen von phosphorhaltigem Gusseisen und Stahl mit Säuren ist nicht wie bisher ange-

nommen durch das Gas Phosphorwasserstoff verursacht, sondern durch Organophosphor-Verbindungen. Einem deutsch-amerikanischen Forscherteam gelang diese Widerlegung bisheriger Irrtümer. Die Forschungsergebnisse, an denen Wissenschaftler der Virginia Polytechnic Institute and State University (Virginia Tech), der Universität Leipzig und des Umweltforschungszentrums Leipzig-Halle (UFZ) beteiligt waren, könnten beispielsweise Wasserexperten helfen, Kundenbeschwerden über den „metallischen“ Geruch von Trinkwasser zu klären – oder metallische Altlasten im Boden zu finden.

## Proteine, Gene und Hormone

**Autismus** ist eine genetisch bedingte Störung der Gehirnentwicklung, an der mindestens drei oder mehr Gene beteiligt sind. Wissenschaftler des Deutschen Krebsforschungszentrums identifizierten bei autistischen Kindern eine Mutation auf dem X-Chromosom, die das ribosomale Protein L10 (RPL10) betrifft. RPL10 wird besonders stark in Bereichen wie dem Hippokampus exprimiert, wo Lernen, Gedächtnis, soziale und affektive Funktionen lokalisiert sind. Ein funktionsgestörtes RPL10 könnte für die mangelhafte Differenzierung von Nervenzellen und unzureichende Ausbildung von Nervenzellverbindungen während der Gehirnentwicklung verantwortlich sein.

**Sobald der Tabakswärmer *Manduca sexta*** wilden Tabak anfrisst, fließen Photosyntheseprodukte aus den Blättern vermehrt in die Wurzel. Wissenschaftler der Max-Planck-Institute in Jena und Golm bei Potsdam haben herausgefunden, dass Fettsäurekonjugate im Raupenspeichel diese Notfallmaßnahme in der befallenen Pflanze auslösen.

**Bei einigen Formen der Myasthenie** ermüden die Muskeln bei Belastung schnell, weil die Signalübertragung an den Synapsen gestört ist, und weil die Synapsen der Betroffenen weniger differenziert ausgebildet und kleiner als normal sind. Ein internationales Team an der University of Oxford berichtet, dass Defekte im Gen Dok-7 einige dieser Leiden verursachen. So kann eine exakte Diagnose und entsprechende Beratung angeboten werden, bevor Symptome auftreten.

**Zahlreiche Bakterien pumpen Antibiotika** aus ihren Zellen und werden so gegen Antibiotika resistent. Forscher der Universitäten Zürich und Konstanz haben den Bauplan einer solchen Antibiotika-Pumpe aufgedeckt. Gelingt es, einen Hemmstoff zu entwickeln, könnten die Pumpen blockiert werden und die Bakterien würden wieder empfindlich für Antibiotika.

**Das Genom des Bakteriums *Sorangium cellulosum*** wurde von Wissenschaftlern der Saar-Uni entschlüsselt. Das Bakterium ist ein wichtiger Produzent pharmazeutisch hochwirksamer Substanzen, beispielsweise Epothilone, die als Krebsmedikamente kurz vor der Markteinführung stehen. Ein Forschungsprojekt, das die Herstellung dieser Substanzen in besserer Qualität und größerer Menge ermöglichen soll, wird jetzt vom BMBF gefördert.

**Für die Diagnose der Schizophrenie** gibt es bislang keinen eindeutigen Test, nur klinische Interviews und Beobachtungen. Eine Behandlung beginnt dadurch oftmals erst dann, wenn sich die Krankheit bereits klar manifestiert hat. Mit der Entdeckung von Biomarkern, in diesem Fall unterschiedlicher Werte für Glukose und Energiestoffwechselprodukten im Nervengewebe von gesunden und erkrankten Menschen, gelang Wissenschaftlern der Universitäten Köln, Cambridge und London erstmals ein messbarer Nachweis der Schizophrenie-Erkrankung.

## Eine Fülle von Daten und Anregungen



Stavros Kromidas (Hrsg.): *HPLC richtig optimiert. Ein Handbuch für Praktiker*. XXIX + 781 Seiten; WILEY-VCH Verlag, Weinheim; ISBN: 3-527-31470-9; 119 Euro.

Dr. Stavros Kromidas ist vielen HPLC-Neulingen und -Praktikern durch seine Seminare und Bücher bestens bekannt. Das vorliegende umfangreiche Werk hat er nicht nur konzipiert, sondern er hat die von ihm erbetenen Beiträge von 62(!) Autoren seinem Konzept untergeordnet, wobei für das eine oder andere Kapitel mehrere Autoren verantwortlich zeichnen.

Das Buch besteht aus fünf Teilen, die hier genannt werden sollen; in Klammern steht jeweils die Anzahl der Seiten: 1. Grundsätzliches zur Optimierung in der HPLC (154), 2. Die Charakteristika der Optimierung in einzelnen HPLC-Modi (374), 3. Kopplungstechniken (58), 4. Computer-unterstützte Optimierung (64), 5. Anwender berichten (76); hinzu kommen ein Anhang (26) und das Stichwortverzeichnis (29). Die Optimierung in den einzelnen HPLC-Modi macht also etwa die Hälfte des Buches aus.

So wie bei einer Synthese in der organischen Chemie bzw.

deren Umsetzung in den Techniks- oder Produktionsmaßstab versucht wird, ein möglichst reines Produkt in hoher Ausbeute möglichst kostengünstig unter bestmöglicher Schonung der Umwelt herzustellen, versucht jeder Entwickler einer HPLC-Methode, die besten Werte für die Methodenparameter zu finden, um ein Maximum an zuverlässigen Informationen kostengünstig und umweltschonend zu gewinnen – das Buch zeigt, wie es gemacht wird.

Im ersten Teil des Buches wird der Leser zunächst mit den notwendigen Begriffen vertraut gemacht, z. B. Auflösung, Trennfaktor, Retentionsfaktor, Selektivität und Gradientenmodus, aber auch mit ersten Optimierungsmöglichkeiten wie 2-Tage-Methode oder 5-Schritte-Modell. Danach wird der Stoff mit „Schnelle Gradienten“, „Selektivitätsänderung in der RP-HPLC mithilfe des pH-Wertes“, „Auswahl des richtigen pH-Wertes“, „Optimierung der Auswertung ...“ sowie „Gütekennwerte der Kalibration und Messunsicherheit ...“ schon spezieller. Erfreulicherweise helfen viele Abbildungen, den

**Bücher haben  
Ehrgefühl. Wenn man  
sie verleiht, kommen  
sie nicht wieder zurück.**

Theodor Fontane (1819-98),  
deutscher Erzähler

Text noch verständlicher zu machen. Interessierten Anfängern wird es gelingen, diesen Teil, der schon ein kleines Lehrbuch für ist, durchzuarbeiten.

Für den Hauptteil des Buches sollte der Leser eine gewisse Erfahrung mitbringen, um ihn gewinnbringend verarbeiten zu

können. Hier werden die Optimierungsmöglichkeiten in der RP-HPLC, Normalphasen-Chromatographie, Gelpermeations-Chromatographie, Gelfiltration, Affinitätschromatographie, bei Enantiomertrennungen in der HPLC sowie in der Mikro- und Nano-LC behandelt. Bei diesem Teil wird deutlich, wie umfassend das Werk angelegt ist. Im RP-HPLC-Bereich lernt der Leser z. B. Selektivitätskarten, Selektivitätsplots und Selektivitätshexagone kennen und kann sich mit der Anwendung der Chemometrie auf diesem Gebiet vertraut machen.

Bei den Kopplungstechniken kommen neben immunchromatographischen Kopplungen und der zweidimensionalen Chromatographie natürlich die LC-MS-, aber auch die LC-NMR-Kopplung zur Sprache. Bei der Computer-unterstützten Optimierung werden die Software-Pakete DryLab und ChromSword vorgestellt und es wird gezeigt, wie mit HEUREKA eine Methodenentwicklung in der HPLC multifaktoriell durchgeführt werden kann. Mehrere Anwenderberichte befassen sich mit speziellen Fragestellungen, so Proteomforschung, Robustheit in der RP-HPLC, komplexe Proben sowie Charakterisierung von Chemikalien-Bibliotheken. Der Anhang schließlich schildert die Clusteranalyse und enthält eine Reihe von Dendrogrammen.

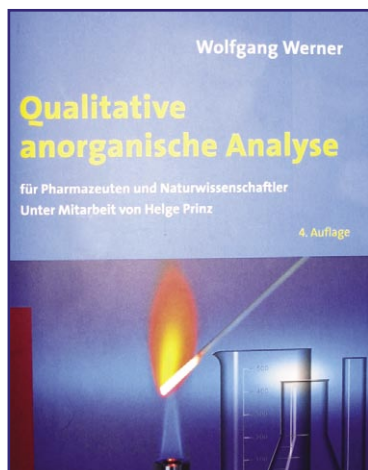
Chromatographiker erhalten durch das Werk eine Fülle von Daten und Anregungen, die es ihnen ermöglichen werden, ihre HPLC-Methoden besser als bisher zu optimieren, so dass sich die Anschaffung dieses Buch schnell amortisieren wird. Sicherlich wäre bei diesem rechenintensiven Gebiet die Beifügung einer CD-ROM mit Beispielrechnungen, farbigen Grafiken und Demoverisionen der vorgestellten diversen Software vom Leser freudig aufgenommen worden.

Reinhold Ellmer

## Ein Lehrbuch „aus der Praxis für die Praxis“

Wolfgang Werner: Qualitative anorganische Analyse. Für Pharmazeuten und Naturwissenschaftler. Unter Mitarbeit von Helge Prinz. 4. Auflage; 309 Seiten; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 2006; ISBN 3-8047-2264-4; 29,00 Euro.

In der neu bearbeiteten 4. Auflage des bewährten Lehrbuches zur qualitativen, anorganischen, pharmazeutischen Analytik wurden eine Reihe von Aktualisierungen und Ergänzungen vorgenommen, so beispielsweise der neue Abschnitt „Maßnahmen bei Unfällen und Bränden“. Wie auch in der vorhergehenden Auflage, fällt dem Leser der enge Kontakt der Autoren mit der täglichen Praxis von Studenten im qualitativ-anorganischen Praktikum auf. Maßgebend für das Buch ist, dass für den Anfänger das Nach-



arbeiten der Versuche zur Analyse von Kationen und Anionen gelingt. Es liegt aber keineswegs ein reines „Kochbuch“ vor, sondern auch eine Einführung in die Theorie der anorganischen Arzneistoff- und Arzneimittel-Analytik. CS

## „Unser täglich Brot“ und mehr



Georg Schwedt: Was ist wirklich drin? Produkte aus dem Supermarkt. 231 Seiten; Wiley-VCH Verlag Weinheim, 2006; ISBN: 3-527-31437-7; 24,90 Euro.

Was Sie schon immer über ihre Lebensmittel wissen wollten.... Der Chemiker Georg Schwedt entschlüsselt und erklärt in diesem Werk zahlreiche Alltagsphänomene rund um die Produkte, die wir

Tag für Tag kaufen, essen und benutzen: Lebensmittel, Kosmetika sowie Wasch- und Putzmittel.

In der Einleitung werden zum einen die Personen vorgestellt, die den Leser durch das Buch begleiten, zum anderen werden einige grundlegende Bemerkungen über das Lebensmittelrecht und die Produktkennzeichnungen gemacht. Weiter gliedert sich der Inhalt des Buches chronologisch in: Supermarktprodukte am frühen Morgen, Frühstück, Einkauf, Mittagessen, Zwischenmahlzeit, Abendessen, Ausgehen und Schlafengehen. Angefügt sind noch aktuelle Literaturhinweise, historische Werke zur Warenkunde, eine Liste der vorgestellten Produkte und das Register.

Georg Schwedt räumt in diesem Buch mit Vorurteilen auf, weist aber auch auf versteckte Gefahren und bedenkliche Zusatzstoffe hin, die sich in Lebensmitteln und Kosmetika befinden können. Der Leser wird auf unterhaltsame Art informiert und lernt eine Menge über die Warenwelt. Sehr empfehlenswert für uns alle. CS

## Krebs: Mechanismen und Möglichkeiten

- **Das Zervixkarzinom** ist die zweithäufigste Krebserkrankung bei Frauen nach dem Mamma-Karzinom. Weil einige Arten Humaner Papillomviren bei fast 100 Prozent der Zervixkarzinomfälle nachgewiesen wurden, konnte ein Impfstoff entwickelt werden, der etwa Anfang 2007 auf den Markt kommen wird.

- **Die Heilungserfolge bei Lungenkrebs** sind immer noch schlecht. Bei einem Teil der Patienten kommt es trotz vollständiger operativer Entfernung des Tumors zu erneuten bösartigen Geschwülsten oder zu Fernmetastasen. Wissenschaftler des Universitätsklinikums Münster (UKM) haben Gene identifiziert, die das Risiko einer Metastasenbildung beeinflussen. Nun wird ein Genchip entwickelt, der die gleichzeitige Analyse von bis zu 250 Genen ermöglicht. Mit Hilfe eines solchen Gen-Checks könnte dann schnell und zuverlässig das individuelle Risiko einer Metastasenbildung und die jeweiligen Heilungschancen vorhergesagt werden.

- **Proteinkinasen** sind an der Krebsentstehung beteiligt. Inzwischen wurden die ersten Medikamente entwickelt, die Proteinkinasen hemmen. Im Rahmen einer von der Klinik für Tumorbiologie in Freiburg geleiteten klinischen Studie an Patienten mit Bauchspeicheldrüsenkrebs wird an zehn Zentren in Deutschland, Österreich und der Schweiz ein neuer Wirkstoff namens BI 2536 geprüft, der die Polo-like-Kinase (PLK) hemmt.

- **Tumore** können nur wachsen und sich verbreiten, wenn sie eine entsprechende Blutzufuhr aufbauen können. SOX18 ist ein Gen, das für die Bildung von Blutgefäßen von entscheidender Bedeutung ist. Wissenschaftler der University of Queensland in Australien haben ein Gen identifiziert, welches das Wachstum von Tumoren stoppt, indem deren Blutzufuhr blockiert wird. In weiteren Schritten wollen die Wissenschaftler nun ein Medikament entwickeln, welches die Auswirkungen der Mutationsform des SOX18 Gens im Menschen nachahmen kann.

- **Um Medikamente gegen Krebs** zielgerichtet einsetzen zu können, muss zunächst der Gen-Defekt im Tumor nachgewiesen werden. Forscher der Harvard Medical School, Cambridge, USA, haben eine Methode entwickelt, mit der die jeweilige Mutation hochsensitiv nachgewiesen werden kann. Dazu vermehren die Wissenschaftler ausgewählte Gen-Abschnitte aus dem Tumor und bestimmen anschließend ihre Bausteine. Durch die hohe Rate dieser DNS-Sequenzierung können auch kleinste Gen-Defekte sichtbar gemacht werden. Mit diesem Verfahren lassen sich Mutationen in Gewebe mit einem Tumoranteil von unter einem Prozent nachweisen. Das neue Verfahren ermöglicht es, Krebs-Patienten in Zukunft nebenwirkungsärmer behandeln zu können. Denn die auf die Krebs-Gene gerichteten Medikamente zerstören spezifisch die Tumorzellen, gesundes Gewebe bleibt weitgehend verschont.



© 2006 Rolf Kickuth / Ans de Bruin

# CLB – Memory

Die CLB-Beilage für Ausbildung in Chemie, Labortechnik,

Chemietechnik, Biologie und Biotechnik

September / Oktober 2006

**Frauen in der betrieblichen Berufsausbildung:**

## **Seltener am Start, genauso oft am Ziel**

**B**etriebliche Ausbildungsplätze werden nicht im gleichen Umfang mit Männern und Frauen besetzt. Im Jahr 2005 waren nur 44 Prozent der westdeutschen und 40 Prozent der ostdeutschen Auszubildenden weiblich. Das zeigen Daten des IAB-Betriebspanels, einer jährlichen Befragung von 16000 Betrieben und Verwaltungen durch das Institut für Arbeitsmarkt- und Berufsforschung (IAB). Frauen stellen aber fast die Hälfte der Absolventen und haben insgesamt die gleichen Übernahmekancen wie Männer. Weiterhin werden Frauen immer noch schlechter bezahlt als ihre männlichen Kollegen, so eine Online-Befragung des WSI-Tarifarchivs.

Die Betriebe bilden Frauen vor allem in den Bereichen aus, in denen auch viele Frauen beschäftigt sind. Dies sind insbesondere die Dienstleistungs- und Serviceberufe sowie der Verwaltungsbereich. Bei der Mehrzahl dieser Berufe sind die späteren Aufstiegs- und Verdienstmöglichkeiten eher gering. Im Verarbeitenden Gewerbe und im IT-Bereich sind Frauen dagegen stark unterrepräsentiert.

Das Muster „Wo Frauen arbeiten, werden Frauen ausgebildet“ zeigt sich auch bei den Betriebsgrößen. In West- wie Ostdeutschland sind weibliche Auszubildende in kleinen Betrieben unter zehn Beschäftigten überproportional

vertreten. Hier spiegelt sich die unterschiedliche Verteilung auf die Berufe wider: Die von Frauen stark besetzten Dienstleistungsberufe sind häufig in kleineren, die technischen Berufe vielfach in Mittel- und Großunternehmen zu finden.

Frauen schließen die betriebliche Ausbildung häufiger ab als Männer. In Westdeutschland stellen sie fast die Hälfte der Absolventen. Auch im Osten holen Frauen auf. Ihr Anteil an allen Absolventen liegt dort aber nur bei 43 Prozent.

Beim Übergang in Beschäftigung streuen die Übernahmekquoten nach Beruf, Branche und Betriebsgröße relativ stark. Auch regionale Unterschiede sind zu beobachten: Im Osten werden nur 46 Prozent, im Westen dagegen 56 Prozent aller Auszubildenden übernommen. In der Summe betrachtet haben Männer und Frauen gleiche Übernahmekancen nach einer betrieblichen Ausbildung.

Bei den schulischen Ausbildungen stellen Frauen die Mehrheit: Berufsfachschulen und andere Formen der schulischen Ausbildung sind im IAB-Betriebspanel nur zum Teil erfasst. Um ein vollständiges Bild zu erhalten, muss man diese Ausbildungsart aber mitberücksichtigen. Immerhin ist fast jede vierte Berufsausbildung eine schulische Ausbildung, wie die IAB-Bildungsgesamtrechnung zeigt. Da Frauen bei den schulischen Ausbildungen mit annähernd 60 Prozent vertre-

ten sind, steigt der Anteil der Frauen an den Auszubildenden in der Gesamtbetrachtung von gut 40 auf knapp unter 50 Prozent.

In einer Online-Befragung des WSI-Tarifarchivs, an der sich inzwischen rund 60000 Arbeitnehmerinnen und Arbeitnehmer beteiligt haben, zeigt sich, dass das durchschnittliche Monatseinkommen von Frauen rund 22,5 Prozent unter dem der Männer liegt. Hierzu zwei herausgegriffene Beispiele:

- Eine Chemikerin verdient monatlich im Durchschnitt rund 3980 Euro brutto und liegt damit rund 850 Euro unter dem Verdienst ihrer männlichen Kollegen.

- Auch bei den Webdesignern liegen die Frauenverdienste mit 2652 Euro deutlich unter denen der Männer mit 3228 Euro.

Was sind die Gründe? Vielfach können die kürzere Berufserfahrung und häufigere Berufsunterbrechung, die geringere Zahl von Führungspositionen für Frauen und die partiell noch geringere Qualifikation einen Teil Gehaltsunterschiede erklären. Hinzu kommt aber auch eine nach wie vor existierende Lohndiskriminierung bei Frauen. Das WSI-Tarifarchiv in der Hans-Böckler-Stiftung hat unter [www.frauenlohnspiegel.de](http://www.frauenlohnspiegel.de) einen neuen Informationsservice für Frauen gestartet, mit Lohn- und Gehalts-Checks zu über 130 Berufen und zahlreichen weiteren Informationen, Hinweisen und Links zum Thema „Frau und Beruf“.

## Basisinformationen zu Biomass-to-liquid (BtL)

# Die 2. Generation der Biokraftstoffe

**B**tL(Biomass-to-liquid)-Kraftstoffe sind synthetische Kraftstoffe aus Biomasse. Sie zählen zu den Biokraftstoffen der 2. Generation, die heute noch nicht auf dem Markt sind. Aufgrund ihrer positiven Eigenschaften werden sie die Biokraftstoffe der 1. Generation wie reines Pflanzenöl, Biodiesel und Bioethanol in den kommenden Jahren voraussichtlich allmählich ablösen (siehe auch Seite 325: Boom der Bio-Rohstoffe).

### Wie werden BtL-Kraftstoffe hergestellt?

Die heutigen, aus Erdöl, Erdgas oder Kohle gewonnenen Kraftstoffe bestehen aus Kohlenwasserstoffen, organischen Verbindungen aus Kohlenstoff und Wasserstoff, die im Laufe der Erdgeschichte über Millionen von Jahren aus tierischer und pflanzlicher Biomasse entstanden sind. Eine Neubildung von Erdöl, Erdgas und Kohlen wird in geschichtlichen Zeiträumen nicht erfolgen. Wenn die vorhandene

moderne Verkehrsstruktur weiter genutzt werden soll, bedarf es deshalb technischer Lösungen, die die Herstellung von Kohlenwasserstoffen aus Biomasse im industriellen Maßstab ermöglichen.

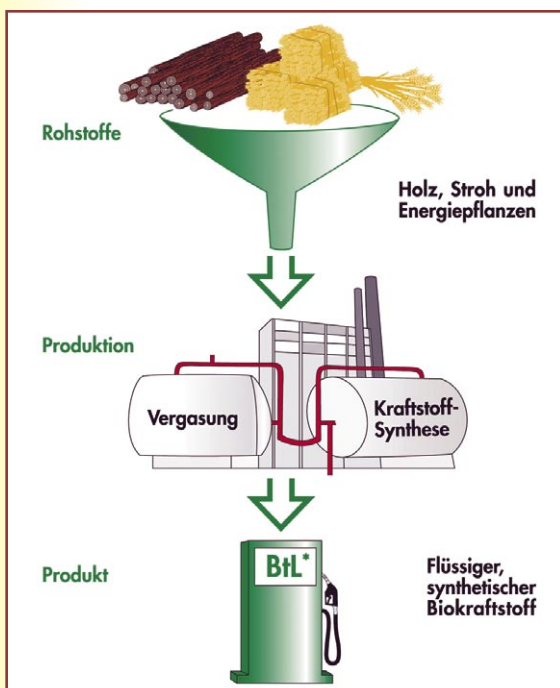
Die in der Biomasse enthaltenen organischen Verbindungen sind zum Großteil sehr komplex. Pflanzliche, tierische oder menschliche Organismen können sie biochemisch in Energie umwandeln, als Kraftstoff sind sie jedoch nur nach einer drastischen Veränderung und Vereinfachung der molekularen Struktur nutzbar. Außerdem wirken Verbindungen wie Stickstoff, Sauerstoff oder Schwefel, die für das biologische Leben wichtige Spurenstoffe sind, in technischen Verbrennungsprozessen störend und erzeugen unerwünschte Abgasemissionen.

Um das Ziel dieser Umwandlung zu vergleichsweise „einfachen“ Kohlenwasserstoffen, wie sie Otto- oder Dieselmotoren enthalten, zu erreichen, sind technisch verschiedene Verfahrenswege denkbar. Die BtL-Herstellung geht einen einfachen, aber hoch wirksamen Weg: Die komplexen Moleküle der Biomasse werden bei hohen Temperaturen und gegebenenfalls unter Druck in ihre Bestandteile zerlegt, womit, sozusagen im Zeitraffer, das Gleiche erreicht wird, was bei der Bildung fossiler Brennstoffe über Jahrmillionen stattgefunden hat. Aus den

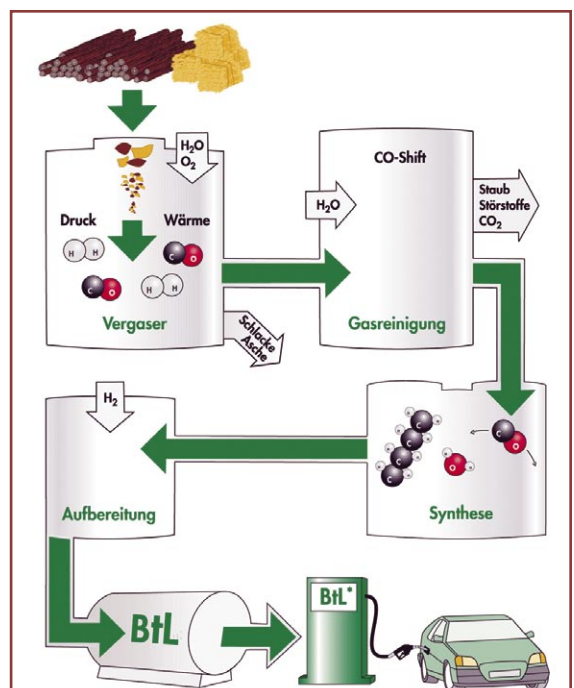
einzelnen Bestandteilen wird dann das Synthesegas, eine Mischung von CO und H<sub>2</sub>, gebildet. Die für die Kohlenwasserstoffsynthese nicht benötigten Elemente wie Stickstoff oder Schwefel bilden eigene Verbindungen, die sich vom Synthesegas abtrennen lassen. Als Syntheseverfahren stehen zum Beispiel die Fischer-Tropsch(FT)-Synthese oder die Methanol-to-Synfuels(MtS)-Synthese zur Verfügung.

Im folgenden sind noch einmal die einzelnen Schritte der BtL-Herstellung vereinfacht aufgeführt: Die Biomasse wird in einen Vergasungsreaktor eingetragen und unter Zuführung von Wärme, Druck und einem Vergasungsmittel, zum Beispiel Sauerstoff, zu einem Synthesegas umgesetzt. Dieses setzt sich vor allem aus Wasserstoff, Kohlenmonoxid und Kohlendioxid zusammen. Nach einer Gasreinigung und -konditionierung werden aus CO und H<sub>2</sub> Kohlenwasserstoffe synthetisiert, die man zum BtL-Kraftstoff weiter verarbeiten kann.

Biomasse-to-Liquid: das Herstellungsprinzip.  
Quelle: Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V. (FNR).



Biomasse-to-Liquid: der Produktionsprozess.





Dieser hat, je nach Verfahren, die Eigenschaften von Diesel- oder Ottokraftstoffen und kann ohne Anpassungen in der bestehenden Fahrzeugflotte eingesetzt werden.

Der Einsatz von Biomasse für die Herstellung von Synthese-Kraftstoffen ist eine neue Entwicklung. Synthese-Kraftstoffe auf Kohle-Basis (Coal-to-liquid, CtL) werden jedoch schon seit langem hergestellt, die erste Produktion im industriellen Maßstab fand in Deutschland bereits ab 1927 statt. Als Rohstoff wurde Braunkohle genutzt, mit der über das Bergius-Pier-Verfahren das „Leunabenzin“ bei der IG Farben produziert wurde. Die heute angewandte Fischer-Tropsch-Synthese stammt ebenfalls aus Deutschland, sie war 1925 am Kaiser-Wilhelm-Institut für Kohleforschung entwickelt worden. Seit den achtziger Jahren des letzten Jahrhunderts werden auch Kraftstoffe auf Erdgasbasis (Gas-to-liquid, GtL) hergestellt.

Heutige Anlagen für GtL- und CtL-Kraftstoffe werden von der Mineralölindustrie unter anderem in Südafrika, Katar und Malaysia betrieben. Auch China mit seinem rapide wachsenden Kraftstoffbedarf und großen Kohlevorkommen setzt zurzeit auf die CtL-Route und will zwei Anlagen mit einer Jahresleistung von 60 Millionen Tonnen Kraftstoff bauen lassen.

### Technische Eigenschaften

Allen Synthesekraftstoffen gemeinsam ist, dass ihre Eigenschaften bei der Herstellung und der anschließenden Aufarbeitung genau eingestellt, also maßgeschneidert werden können. Damit sind sie modernen Motorenkonzepten optimal anpassbar und ermöglichen eine effiziente und vollständige Verbrennung mit geringen Abgasemissionen.

Auch die heute gültigen Kraftstoffnormen DIN EN 228 für Otto- und DIN EN 590 für Dieselkraftstoff sind mit BtL-Kraftstoffen problemlos einzuhalten. Damit kann die derzeit existierende Fahrzeugflotte und die heutige Verteilungsinfrastruktur für Kraftstoffe

ohne Anpassungen weiterverwendet werden.

### CO<sub>2</sub>-Minderung

Im Gegensatz zu GtL- und insbesondere zu CtL-Kraftstoffen versprechen BtL-Kraftstoffe aufgrund ihrer pflanzlichen Rohstoff-Basis ein großes CO<sub>2</sub>-Minderungspotenzial. Das Treibhausgas wird bei ihrer Verbrennung nur in der Menge frei, in der es die Pflanzen zuvor im Wachstum gebunden haben. Berücksichtigt werden muss jedoch der Energieverbrauch, der zur Herstellung der Kraftstoffe notwendig ist. Wird er aus fossilen Quellen gedeckt, entstehen hierdurch zusätzliche CO<sub>2</sub>-Emissionen, so dass die CO<sub>2</sub>-Bilanz nur annähernd positiv ist.

### Erträge

Für die Herstellung nutzbar ist ein sehr breites pflanzliches Spektrum. Es reicht von eigens angebauten Energiepflanzen über Wald- oder Schnellwuchsholz bis hin zu Reststoffen wie Stroh und Restholz. Organische Abfälle sind ebenfalls einsetzbar. Außerdem können nicht nur einzelne Inhaltsstoffe oder Pflanzenteile, sondern

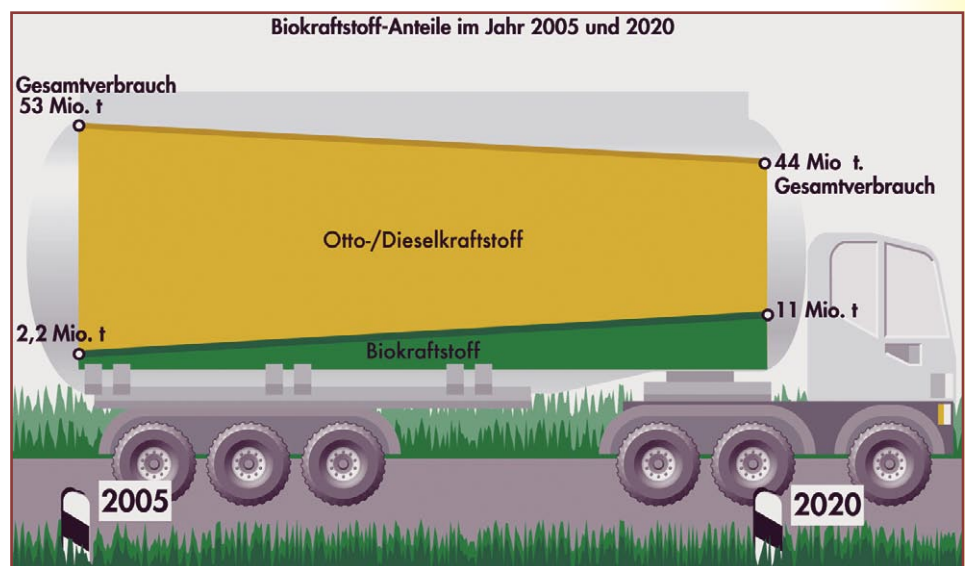
die gesamten Pflanzen verwertet werden. Dadurch sind die Erträge pro Flächeneinheit bei BtL-Kraftstoffen deutlich größer als bei den Biokraftstoffen der ersten Generation, für deren Herstellung zum Beispiel nur das Öl oder der Zucker genutzt wird.

Nach Schätzungen der FNR können mit den Rohstoffen von einem Hektar Ackerfläche rund 3900 Liter BtL-Kraftstoff erzeugt werden.

Zwei im Auftrag des Bundesumweltministeriums erstellte Biomasse-Potenzialstudien gehen davon aus, dass im Jahr 2020 bis zu 3,5 Millionen, 2030 bis zu 4,4 Millionen und 2050 bis zu sechs Millionen Hektar der Ackerflächen in Deutschland für den Energiepflanzenanbau zur Verfügung stehen. Mit 3,5 Millionen Hektar lassen sich zum Beispiel etwa 25 Prozent des für 2020 angenommenen Kraftstoffverbrauchs hierzulande decken, wenn ein Konversionsgrad der BtL-Produktion von 50 Prozent zu Grunde gelegt wird. Der Konversionsgrad bezeichnet den Energieanteil der Rohstoffpflanzen, der nach der Umwandlung in Form von Kraftstoff nutzbar ist.

**Biokraftstoff-Potenzial in Deutschland:** Der Kraftstoffverbrauch in Deutschland wird in Zukunft voraussichtlich abnehmen: Während er 2005 noch bei 53 Mio. Tonnen lag, schätzen ihn Experten für das Jahr 2020 auf nur noch 44 Mio. Tonnen. Gleichzeitig stehen immer größere Flächen für den Energiepflanzenanbau bereit, 2020 können es bis zu 3,5 Mio. Hektar sein. Würde diese Fläche für die Erzeugung synthetischer BtL-Kraftstoffe genutzt, ließen sich damit knapp 11 Mio. Tonnen oder rund 25 Prozent unseres Kraftstoffbedarfs decken.

Quelle: Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V. (FNR). Nach Angaben: BMELV, MWV, BMF. Stand: 2006.



### Aus der Bildungslandschaft

- Die TU Berlin hat eine erste systematische Qualifizierung in den Bereichen **Wissenschaftsmarketing und Wissenschaftskommunikation** entwickelt und als Masterstudiengang aufgelegt. Der internationale Abschluss „**Master of Science-Communications and Marketing**“ wird innerhalb eines viersemestrigen Abendstudiums erworben, das ohne Einschränkung für den beruflichen Alltag berufsbegleitend absolviert werden kann. Das Weiterbildungsstudium richtet sich vorrangig an Interessenten, die bereits einen Diplom-, Master- oder Bachelor-Abschluss haben und eine mindestens einjährige Berufserfahrung vorweisen können. Zugelassen werden aber auch Bewerberinnen und Bewerber ohne Hochschulabschluss, sofern sie eine qualifizierte Tätigkeit als Fach- und Führungskraft in wissenschaftlichen Einrichtungen oder verwandten Bereichen ausgeübt haben ([www.tu-servicegmbh.de/master](http://www.tu-servicegmbh.de/master)).

- **Physik** ist weiterhin ein gefragtes Studienfach: Die Gesamtzahl der Studienanfänger hat gegenüber dem Vorjahr um knapp fünf Prozent auf 8 880 zugenommen. Das Ausbildungsspektrum wird dabei immer facettenreicher, denn mittlerweile entscheiden sich über 20 Prozent der Anfänger für ein Bachelor- oder Master-Curriculum oder für einen interdisziplinären Studiengang mit physikalischem Schwerpunkt. Gleichzeitig ist die Zahl der Absolventen mit Diplomabschluss um rund 18 Prozent gestiegen. Dies berichtet die Mitgliederzeitschrift der Deutschen Physikalischen Gesellschaft (DPG) in ihrer aktuellen Ausgabe (Physik Journal 5 (2006), 8/9).

- Der neue Masterstudiengang „**Computational Neuroscience**“, den Technische Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin und die Charité gemeinsam tragen, wird am 1. November 2006 mit einer Einführungsveranstaltung offiziell gestartet. Der bundesweit einzigartige Studiengang beschäftigt sich mit der Funktionsweise des menschlichen Gehirns und den Möglichkeiten, die gewonnenen Erkenntnisse für technische und biomedizinische Entwicklungen zu nutzen. Der auf zwei Jahre angelegte, englischsprachige Studiengang vereint Informatik, Physik und Mathematik mit Neurowissenschaften, Biologie und Medizin. Etwa die Hälfte der zehn Studienplätze wird an Studierende aus dem Ausland vergeben.

- Eine **prozessorientierte Qualitätssicherung für Studium** und Lehre zu entwickeln, war das Ziel eines Projekts, dessen Ergebnisse jetzt vorliegen. Neben der Qualitätssicherung von Studienangeboten sollten auch die internen Organisations- und Entscheidungsstrukturen verbessert werden, um die zur Verfügung stehenden Mittel effizienter und effektiver einzusetzen. Beteiligt an dem zweijährigen Projekt, das vom Bundesbildungsministerium gefördert wurde, waren die Universitäten Bayreuth und Bremen, die Fachhochschulen Erfurt und Münster, das Akkreditierungsinstitut ACQUIN e.V. und die Hochschulrektorenkonferenz (HRK).

## Fleisch, Milch und Eier kaum belastet

### Jede 500. Probe beanstandet

**F**leisch, Milch, Eier und Honig sind nur in geringem Umfang mit Rückständen von Tierarzneimitteln sowie hormonell oder antibakteriell wirksamen Substanzen belastet. Zu diesem Ergebnis kommt das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) nach der Auswertung von Untersuchungsdaten. Wie im Jahr 2004 wies auch 2005 lediglich jede 500. untersuchte Probe tierischer Herkunft Rückstandsgelalte oberhalb der gesetzlichen Normen auf.

Bei den Untersuchungen werden sowohl unverarbeitete tierische Lebensmittel wie auch Proben lebender Tiere analysiert. Im Jahr 2005 wurden in Deutschland 407 360 Untersuchungen an 49 679 Tieren oder tierischen Erzeugnissen durchgeführt. Die Bundesländer haben damit die Zahl der Untersuchungen gegenüber 2004 um 16 Prozent erhöht. Darüber hinaus wurden über 250 000 Tiere mittels eines Schnelltests auf antibakteriell wirksame Stoffe untersucht. Insgesamt wurde auf 706 Stoffe geprüft.

Bei einem von 483 untersuchten Mastschweinen wurde Nandrolon gefunden. Nachuntersuchungen des betroffenen Betriebs ergaben dort keine Hinweise auf eine illegale Anwendung des Hormons.

Bei Tests auf Tierarzneimittelrückstände wurde festgestellt, dass im Jahr 2005 in jeder 400. untersuchten Probe die vorgeschriebenen

Höchstmengen für Antibiotikarückstände überschritten wurden (34 von 13 551 Proben). Betroffen sind Chloramphenicol, Metronidazol, Lasalocid und Nicarbazin.

In 5 von 7225 untersuchten Schweine- und Rinderproben wurden die entzündungshemmenden, verbotenen Arzneimittel Phenylbutazon, Diclofenac und Dexamethason gefunden.

Schlachttiere und tierische Erzeugnisse wurden auf Rückstände von Umweltkontaminanten wie Schwermetalle und chlororganische Verbindungen geprüft. Bei Wildschweinen wurden bei 5 von 47 Proben DDT-Konzentrationen über der gesetzlichen Höchstmenge festgestellt. Ausserdem wurde in einer von 60 Wildschweinproben beta-HCH (Hexachlorcyclohexan) und bei einer anderen gamma-HCH (Lindan) nachgewiesen. Von 466 Rinderproben war eine mit PCB oberhalb der Höchstmenge belastet. Eine Überschreitung der Rückstandshöchstmengen für Cadmium wurde bei sieben Proben festgestellt (7 von 1749 Proben). Bei vier Prozent der untersuchten Forellen und rund zwei Prozent der untersuchten Karpfen wurde Malachitgrün festgestellt, ein Desinfektionsmittel, dessen Anwendung in der EU in Aquakulturen verboten ist, die der Lebensmittelgewinnung dienen. Bis auf eine Probe waren in allen 153 untersuchten Eierproben Dioxine nachweisbar. Bei einer Probe wurde die Höchstmenge überschritten.

Die Beanstandung von Lebensmitteln erfolgt nach dem Lebensmittelrecht. Für die Kontrollen sind die Bundesländer verantwortlich. Die Lebensmittel- und Veterinärüberwachung überprüft vor Ort im Schlachthof, in landwirtschaftlichen Betrieben, im Tierbestand und kontrolliert auch die betrieblichen Aufzeichnungen. Auch von Futter und Wasser können Proben genommen werden. Der Nachweis verbotener Stoffe führt zur Sperrung des Betriebes oder dazu, dass Tiere nicht mehr transportiert oder an andere Betriebe abgegeben werden dürfen. Betriebe, die gegen das bestehende Recht verstoßen haben, stehen für einen bestimmten Zeitraum unter verstärkter Kontrolle. Je nach Schwere des Verstoßes werden Straf- beziehungsweise Ordnungswidrigkeitenverfahren eingeleitet.

# Qualitative Analyse – Trennungsgänge

## Vorproben, Löseversuche und Aufschlüsse

**1** Für die Vorprobe „Erhitzen im Glühröhrchen“ benötigt man

**A** mindestens ein Gramm Substanz.

**B** einen Abzug.

**C** mindestens fünf Milliliter Substanz.

**D** ein einseitig abgeschlossenes Glasrohr.

**E** ein Wasserbad.

**2** Entsteht bei der Vorprobe aus Aufgabe 1 violettes Gas, kann die zu prüfende Substanz Folgendes enthalten:

**A** Permanganate.

**B** Arsenverbindungen.

**C** Nitrat und reduzierende Stoffe.

**D** Iodid und oxidierende Stoffe.

**E** Oxalat und organische Stoffe.

**3** Die Vorprobe aus Aufgabe 1 zeigt ein weißes Sublimat. Welche Verbindung kann vorliegen?

**A** Quecksilber-Halogenid.

**B** Arsentrioxid.

**C** Ammonium-Salze.

**D** Cyanide.

**E** Sulfide.

**4** Bei der Vorprobe „Erhitzen mit Schwefelsäure“ gibt man zu der Probe im Reagenzglas zunächst

**A** konzentrierte Schwefelsäure und verdünnt mit Wasser.

**B** verdünnte Schwefelsäure und wartet eine mögliche Gasentwicklung ab.

**C** konzentrierte Schwefelsäure und erhitzt über der Flamme.

**D** verdünnte Schwefelsäure und erhitzt im Wasserbad.

**E** destilliertes Wasser und tropft dann Schwefelsäure hinzu.

**5** Welche Verbindungen können sich beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure durch Gasentwicklung bemerkbar machen?

**A** Carbonate

**B** Chloride

**C** Sulfide

**D** Sulfite

**E** Nitrite

**6** Welches ist eine sinnvolle Reihenfolge für Löseversuche?

**A** Wasser – HCl verd. – H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> konz. – HCl/HNO<sub>3</sub> – H<sub>2</sub>S

**B** Wasser – Chlorwasserstoffsäure – Chlorige Säure – Schwefelsäure – Schwefelwasserstoffsäure

**C** Wasser – HCl verd. – HCl konz. – HNO<sub>3</sub> verd. – HNO<sub>3</sub> konz. – Königswasser

**D** H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – HNO<sub>3</sub> – Königswasser – HClO<sub>4</sub> – HCl

**E** Wasser – H<sub>2</sub>S – HCl – H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – HNO<sub>3</sub> – H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> – HF

**7** Welchen Aufschluss können Sie verwenden, wenn Sie Silicate in der zu prüfenden Substanz vermuten?

**A** Soda-Pottasche-Aufschluss

**B** Freiburger Aufschluss

**C** Saurer Aufschluss

**D** Oxidierender Aufschluss

**E** Reduzierender Aufschluss

**8** Bei Löseversuchen bleibt ein selbst in Königswasser unlöslicher Rest; die Phosphorsalzperle färbt sich grün; die Schmelze mit Natriumcarbonat und Kaliumnitrat löst sich klar. Welche Verbindung könnte die zu prüfende Substanz enthalten?

**A** BaCO<sub>3</sub>

**B** ZnS

**C** TiO<sub>2</sub>

**D** PbS

**E** Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

**9** Welche Substanz, beziehungsweise Substanzkombination verwendet man für Schmelzaufschlüsse?

**A** KOH

**B** NaOH

**C** H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

**D** Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

**E** Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und KNO<sub>3</sub>

**10** Warum verwendet man beim Soda-Pottasche-Aufschluss eine Mischung von Natrium- und Kaliumcarbonat und nicht eines der Salze alleine?

**A** Das Gemisch hat oxidierende Eigenschaften.

**B** Das Gemisch hat einen höheren Schmelzpunkt.

**C** Das Gemisch hat einen niedrigeren Schmelzpunkt.

**D** Das Gemisch hat ätzende Eigenschaften.

**E** Das Gemisch hat reduzierende Eigenschaften.

**11** Nach welchem Prinzip funktioniert ein Aufschluss, bei dem Gase frei werden?

**A** Konzentrationsänderung

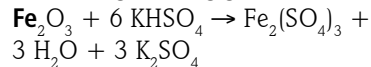
**B** Gefrierpunktniedrigung

**C** Prinzip von Le Chatelier

**D** Gleichgewichtsverschiebung

**E** Siedepunktniedrigung

**12** Um welchen Aufschluss handelt es sich, wenn folgende Reaktionsgleichung gilt:



**A** Freiburger Aufschluss.

**B** Oxidationsschmelze.

**C** Saurer Aufschluss.

**D** Abrauchen mit Schwefelsäure.

**E** Basischer Aufschluss.

**13** Für welche Substanzen verwendet man unter Umständen einen Natrium-Aufschluss?

**A** Edelmetalloxide (z.B. Ag<sub>2</sub>O).

**B** Einfache Anionen (z.B. Chlorid).

**C** Komplexe Anionen (z.B. Sulfat).

**D** Schwermetalloxide (z.B. Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>).

**E** Legierungen (z.B. Bronze).

### Lösungen zu Seite M64 (CLB 08/2006):

1 B, D, E; 2 A, C, D; 3 A, C, D;  
4 B; 5 A, B, C; 6 D; 7 C; 8 B,  
C, D; 9 A, D, E; 10 C; 11 A,  
D; 12 E; 13 B, E; 14 D; 15 A.

(Alle Lösungen zu Seite M72  
finden Sie in CLB 10/2006  
sowie auf [www.clb.de](http://www.clb.de))

# CLB

Chemie in Labor und Biotechnik

Die beliebten Fragen aus dem CLB-Memory gibt es ab sofort als Buch (244 Seiten mit ca. 80 Abbildungen; ISBN 3-9810449-0-8). Hier stehen Antworten und ausführliche Erläuterungen dazu. Die Themen werden zudem durch einen geschichtlichen Rückblick und Randinformationen in einen Gesamtzusammenhang eingeordnet. Karikaturen von Ans de Bruin lockern die harte Arbeit beim Lösen der Fragen auf.

Preis je Buch: 24,50 Euro incl. MWSt. und Versand.

## Alles Repetito – oder was???

Maren Bulmahn • Rolf Kickuth

Dieses Buch gibt Einblicke in die Chemie und angrenzende Naturwissenschaften in Form von Einführungen in verschiedene Gebiete, Fragen und den dazugehörigen Antworten. Es wendet sich an alle, die Grundlagenwissen festigen wollen. Oberstufenschüler mit Schwerpunkt Chemie/Naturwissenschaften, Auszubildende, Schüler an technischen Fachschulen und auch Studenten in den ersten Semestern von Chemie und Biologie, insbesondere auch in den Bachelor-Studiengängen, können Gelerntes wiederholen und vertiefen, aber auch Neues erfahren. Wer seit Jahren im Labor steht, dem macht es Spaß, sein Wissen kurzweilig zu überprüfen und auf dem neuesten Stand zu halten. So haben es die CLB-Leser berichtet, die diese Art von Fragen aus der Zeitschrift kennen. Über 100 Abbildungen und Tabellen erleichtern das Verständnis des Textes; gelegentlich unterbricht ein Comic den Ernst des Stoffes.

ISBN 3-9810449-0-8



9 783981 044904

Bulmahn  
Kickuth

Alles Repetito – oder was???

Rubikon

## Alles Repetito – oder was???

fragt der Bachelor die Laborantin



Maren Bulmahn • Rolf Kickuth

## Abo-Bestellcoupon

- JA, ich möchte die CLB abonnieren. Ich erhalte als persönlicher Abonnent die CLB zunächst für ein Jahr (=12 Ausgaben) zum Preis von 91,35 Euro zzgl. Versandkosten (Inland: 12,80 Euro, Ausland: 23,20 Euro). Das Abonnement verlängert sich automatisch um ein weiteres Jahr, wenn es nicht bis acht Wochen vor Ende des Bezugsjahres gekündigt wird.

Datum / 1. Unterschrift

Name / Vorname

Widerrufsrecht: Diese Vereinbarung kann ich innerhalb von 20 Tagen beim Agentur und Verlag Rubikon Rolf Kickuth, Bammertaler Straße 6–8, 69251 Gaiberg, schriftlich widerrufen. Zur Wahrung der Frist genügt die rechtzeitige Absendung des Widerrufs. Gesehen, gelesen, unterschrieben. Ich bestätige die Kenntnisnahme des Widerrufsrechts durch meine 2. Unterschrift.

Straße / Postfach

Land / PLZ / Ort

Datum / 2. Unterschrift

Telefon oder e-Mail

## FAX-Hotline: 06223-9707-41

Für 91,35 Euro pro Jahr (incl. 7 % MWSt., zzgl. Versandkosten) erhalten Sie als persönlicher Abonnent monatlich die CLB mit dem MEMORY-Teil (Firmenabos nach Staffelpreis; siehe [www.clb.de](http://www.clb.de)).

**Dazu als Abogeschenk das CLB-Buch  
Alles Repetito – oder was???**

## One Click Titration – einfache, effiziente und sichere Titrationslösungen

Die One Click Titration sorgt für maximale Effizienz bei der Erledigung täglicher Aufgaben. Auf dem persönlichen „Home Screen“ können spezielle Tastenkombinationen festgelegt werden, um manuelle (zum Beispiel Bürettenspülungen) oder automatisierte Prozesse (zum Beispiel Methoden oder Probenserien) mit nur einem Tastendruck zu starten.

Die neuen intelligenten Büretten werden mittels RF-ID automatisch erkannt, die Titriermittel-Daten automatisch im Setup gespeichert. Zusätzliche Dosiereinheiten können dank der „Hot Plug & Play“ Funktionalität und einem Magnetmechanismus einfach installiert werden. Probenwechsler oder Waagen werden ebenso einfach integriert. Die zuverlässige Überwachung von Ressourcen wie Titranten, Sensoren, Standards und Blindwerten sowie die automatische Überprüfung der Peripheriegeräte vor Analysebeginn gewährleistet eine sichere Titration.

Intelligente Navigationseigenschaften, Aufgabenschaltflächen, die aktuelle Analyse-Informationen anzei-

gen, und der Home Screen stehen für Benutzerfreundlichkeit und Sicherheit. Die Benutzerverwaltung ermöglicht die Einrichtung von bis zu 30 individuellen Benutzerprofilen.

Neben USB- oder CAN Busanschlüssen gehören Ethernet, RS-232 und TTL-Anschlüsse zur Grundausstattung. Dies ermöglicht einerseits alle von Windows CE unterstützten Drucker, andererseits auch ältere Geräte ohne zusätzliche Hardware anzuschließen sowie die einfache Integration in Netzwerke.

Der T50, ein Ready-to-go-System, ist das Richtige für Anwender, die ein einfach zu bedienendes, robustes und leistungsstarkes System mit dem Fokus auf Zuverlässigkeit und schnelle Resultate wünschen.

Der Allrounder T70 bietet Multitasking und ein flexibles Methodenkonzept. Wer ein erweiterbares, flexibles System sucht, das einfach an die aktuellen und zukünftigen Bedürfnisse angepasst werden kann, liegt hier richtig.

Das Spitzenmodell T90 bietet zusätzlich die Möglichkeit der Parallel-Titra-

tion, Programmierung von bedingten Funktionen und Seriensequenzen. Er sorgt für hohen Bedienkomfort und Automatisierungsgrad, selbst bei komplexen Analysen.

Mettler-Toledo GmbH  
35396 Gießen  
Tel +49 (0)641 507 321  
Fax +49 (0)641 507 128  
[www.mt.com/titration](http://www.mt.com/titration)



## Mikrowellenbeschleunigtes Laborsystem für die schnelle Peptid-Synthese

Proteine beziehungsweise Peptide können auf einfachem Wege synthetisch in Forschungslaboratorien hergestellt werden.

Eine solche Peptid-Produktion wird schneller als mit konventionellen Systemen mit dem neuen Synthesizer Discover SPS von CEM vorgenommen. Die organischen Reaktionen laufen bei Verwendung von Mikrowellenenergie in Bruchteilen von Minuten ab, anstelle von Stunden, wie es bei der traditionellen Merrifield-Methode üblich war. Mit der heutigen Technik sind wir das erste Mal in der Lage, Mikrowellenenergie für den vollständigen Prozess der Peptidsynthese einzusetzen (Koppelungen und Spaltungen).

Das System Discover SPS ermöglicht nicht nur eine höhere Ausbeute, sondern erbringt auch noch ein sauberes Peptid als jemals zuvor.

Besonders schwierige Sequenzen

mit langkettigen Peptiden lassen sich im Discover SPS gut darstellen. Zudem werden gegenüber der klassischen Merrifield-Technik Racemisierungen in der Mikrowelle unterdrückt.

CEM Mikrowellen-Labortechnik GmbH  
47475 Kamp-Lintfort  
Tel +49 2842 9644 0  
Fax +49 2842 9644 11  
[www.cem.de](http://www.cem.de)



## Vielseitig einsetzbare Mörsermühle



Die Mörsermühle „pulverisette 2“ ist geeignet zum universellen Feinmahlen von anorganischen und organischen Proben aus der Chemie, Pharmazie

und von Lebensmitteln für die Analyse, Qualitätskontrolle und Materialprüfung. Das Mahlen von trockenen Proben oder von Feststoffen in Suspension gehört ebenso zu den Einsatzgebieten wie die Herstellung und Homogenisierung von Pasten und Cremes im Labormaßstab.

Bei einer Aufgabegröße von 6 - 8 mm und einer Aufgabemenge von 30 - 150 ml kann (materialabhängig) eine Endfeinheit von 10 -20  $\mu\text{m}$  erreicht werden.

Die Mahlprobe wird ähnlich wie in einem Handmörser durch Druck und Reibung zwischen Pistill und Mörserschale zerkleinert. Die Mörserschale wird durch einen Getriebemotor gedreht und treibt das frei drehbar gelagerte Pistill durch Reibung mit an. Der Andruck des Pistills an die Mörserwand erfolgt sowohl in horizontaler als auch in vertikaler Richtung. Die durch vorgespannte Federn aufgebrachten Andruckkräfte sind ohne Werkzeug einstellbar, genau ablesbar und somit absolut reproduzierbar. Zur Probenvorzerkleinerung sind spezielle Pistilleinstellungen vorgesehen, bei denen das Pistill ohne direkten Kontakt zum

Mörserboden arbeitet. Die Mörserschale ist staubdicht abgeschlossen, so dass verlustfrei gemahlen werden kann. Sogar die Zugabe von Flüssigkeiten (beispielsweise Stickstoff) direkt in den laufenden Prozess ist möglich.

Leistungsmerkmale im Überblick:

- Entnahme und Einbau von Mörserschale und Pistill ohne Werkzeuge
- präzise einstell- und ablesbare Pistill-Andruckkräfte auch während der Mahlung
- reproduzierbare Pistilleinstellung ohne Werkzeug
- sichere Bajonett-Schnellbefestigung der Mörserschale
- auswechselbare Mahlgarnituren (7 verschiedene Materialien erhältlich)
- Vorzerkleinerungseinstellung für grobe Proben
- Einbringung von Zusatzstoffen in den laufenden Prozess
- visuelle Kontrolle der Mahlung
- Folientastatur mit Digitaluhr

Fritsch GmbH  
55743 Idar-Oberstein  
Tel 06784 70146  
Fax 06784 7011  
www.fritsch.de

## P16 – der neue Stylus-Profilier von KLA-Tencor

Ab sofort sind die neuen Profilmeter P-16 und P-16OF (open frame) verfügbar und ersetzen die Vorgängermodelle P-15 und P-15OF. Ihre Haupteinsatzgebiete sind die automatische Stufenhöhenmessung, die Bestimmung von Oberflächenformen (Topografie) und die Rauigkeits- und Welligkeitsmessung bei einer Vielzahl von Materialien und Oberflächen.

Die neue Analysesoftware Apex 2D und Apex 3D verfügt über ein inter-

aktives grafisches Nutzer-Interface in mehreren Sprachen. Ein Berichtsgenerator erstellt Mess- und Analyseberichten; die neuesten ISO-Standards sind berücksichtigt. Die bisherige, bereits umfangreiche Liste von Parametern für Stufenhöhe, Rauigkeit und Welligkeit wurde erweitert. Stress, Bearing-Ratio, Abstände, Ebenheit, Volumen, Dichte und Peak-Count-Verteilung können berechnet und Toleranzgrenzen für die statistische Prozesskontrolle gesetzt werden. Sequencing gehört zur Standardkonfiguration.

Für Anwender mit hohen Anforderungen an Durchsatz und Produktivität steht ein Productivity Package zur Verfügung; es umfasst ein 1000-Site-Sequencing-Modul und automatische Mustererkennung.

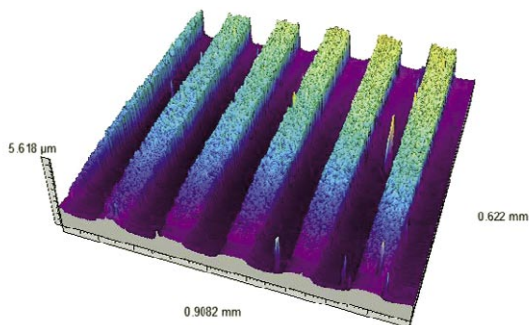
Der Sensor mit seiner geringen Masse gestattet schnelles Scannen, eine konstante Auflagekraft während

der Messung, wählbare Samplingraten bis 1 kHz, eine sehr gute Auflösung (sub- $\text{\AA}$ ) sowie Wiederholgenauigkeit.

Das konkurrenzlose Design des Probentisches mit den mechanisch entkoppelten Antriebsspindeln und dem 12" optischen Flat als gemeinsamer Referenz für die x- und y-Achse wurde beibehalten. Es macht sich in besonders niedrigem Rauschen und hoher Wiederholgenauigkeit über den ganzen 200-mm-Fahrbereich bemerkbar.

Die Dual-View-Video-Optiken (Draufsicht und Sicht von der Seite) arbeiten mit motorisiertem Zoom und wählbaren Objektiven.

L.O.T.-Oriel GmbH & Co. KG  
64293 Darmstadt  
Tel 06151 8806 497  
Fax 06151 8806 64  
www.LOT-Oriel.com/de



## Pumpen von KNF Flodos, individuell modifizierbar

Die Abteilung Prozess-Analytik von Mettler-Toledo, der größte Hersteller von Wägeninstrumenten und Anbieter von Lösungen für die Flüssigkeitsanalyse, hat zwei Liquiport Flüssigkeits-Pumpen von KNF Flodos für ihre Maschinen erworben.

Thomas Würtz, Ingenieur bei Mettler-Toledo, erklärt: „Die relevanten Maschinen können 8 bis 10 Jahre eingesetzt werden, die Pumpen sind mehrere Stunden pro Tag im Betrieb, um den kontinuierlichen Fluss zwischen verschiedenen Bädern zu gewährleisten. Deshalb ist Haltbarkeit für uns ein wichtiges Argument. Wir haben KNF Flodos Pumpen schon in anderen Projekten zu unserer vollsten Zufriedenheit eingesetzt.“

Ein weiterer Vorteil der Liquiport Pumpen ist die elektronische Kontrolle der flow rate, während unsere früher benutzten Pumpen nur mechanisch eingestellt werden konnten.

KNF Flodos konnte die Pumpen sogar speziell für uns modifizieren, so dass unsere Pumpen automatisch starten, sobald die Maschine gestartet wird.

Deshalb werden wir demnächst auch die letzten Originalpumpen durch Liquiport-Pumpen ersetzen.“

KNF Flodos AG,  
CH-6210 Sursee, Schweiz  
Tel +41 (0)41 925 00 25  
Fax +41 (0)41 925 00 37



## Femtogrammnachweis mit flexibler Triple-Quadrupol MS

Das 320-MS von Varian hat einen Massenbereich von bis zu 2000 u und ist damit zur Identifizierung einer Vielzahl von Verbindungen geeignet. Das Instrument ermöglicht es dem Anwender, zwischen LC- (Flüssigchromatographie) und GC- (Gaschromatographie) Anwendungen zu wechseln. Das 320-MS ist als Triple-Quadrupol-MS oder Single-Quadrupol-MS verfügbar, welches sich später auf ein Triple-Quadrupol-MS aufrüsten lässt.

Die Leistung und Flexibilität des Instruments wird auf weniger als 72 cm Laborbank realisiert und ist damit substanzial kleiner als andere konkurrierende Systeme. Zusätzlich bietet das 320-MS Komplettpaket eine neue Version der Varian-MS-Workstation-Software (Version 6.8), zudem neu entwickelte, für die LC/MS optimierte, HPLC-Pumpen und Detektoren, Gaschromatographen nach Industriestandard und eine umfassende Linie von Chromatographiesäulen inklusive Varian Pursuit HPLC-Säulen und Factor Four GC-Säulen.

Nutznießer sind pharmazeutische, Life-Science-, toxikologische und Umwelt-Labore. Umweltwissenschaftler nutzen LC/MS/MS und GC/

MS/MS, um Verunreinigungen im Trinkwasser, Abwasser und Erdboden nachzuweisen, zu bestätigen und zu quantifizieren. MS kann ebenso für Lebensmittel- oder landwirtschaftlichen Applikationen genutzt werden, um Pestizidrückstände und Lebensmittelinhaltsstoffe zu qualifizieren, als auch für pharmazeutische Anwendungen zur Bestimmung von Drogenmetaboliten in Blut und Urin.

Durch mehrere technische Neuerungen konnte die Gesamtempfindlichkeit gesteigert werden. Ein hervorragendes Detektordesign bietet 20fach besser Empfindlichkeit für negative Ionen, als die meisten auf einer Konversions-Dynode basierenden Systeme am Markt. Zusätzlich bieten das zum Patent angemeldeten SelecTemp und SelecFlow robustere Nutzung und einfachere Methodenentwicklung. SelecTemp charakterisiert die elektronische Steuerung der atmosphärischen Druck-Ionisation (Atmospheric Pressure Ionization, API), durch Steuerung der Temperaturverteilung, um während der gesamten LC-Trennung ein ideales Trocknungsgas zu realisieren. SelecFlow ergänzt die SelecTemp Eigenschaft durch die elektronische

Steuerung des API-Gasdrucks. Dies ermöglicht zuverlässige Nutzung und sichert lange Betriebszeiten.

Das Varian 320-MS ist die aktuellste Einführung in der Varian-Produktlinie für Massenspektrometrie-Geräte, welche bereits Single- und Triple-Quadrupol-, Ionenfallen- und Fourier-Transform-Massenspektrometer (FT-MS) anbietet.

Varian Deutschland GmbH  
64289 Darmstadt  
Tel 06151 7030  
Fax 06151 703237  
www.varianinc.com



## Materialverdampfung mit Nd:YAG-Lasern

Wird mit einem Laser Materie ablatiert, spricht man von Laserverdampfung oder auch von PLD (Pulsed Laser Deposition) bei einem gepulsten Laser.

Die laserinduzierte Plasmabildung mit einem Nd:YAG-Laser ist Grundlage für viele Anwendungen unterschiedlicher Ausrichtung.

- Abscheidung einer dünnen Schicht auf einem Substrat
- Entfernen einer Oberflächenschicht/-lage
- Oberflächenbearbeitung oder -strukturierung
- Oberflächenveränderung z.B. Einbringen von neuer Substanzen über eine entsprechende Gasatmosphäre
- Erzeugung und spektroskopischer Nachweis von metastabilen Substanzen
- Synthese von neuen Materialien

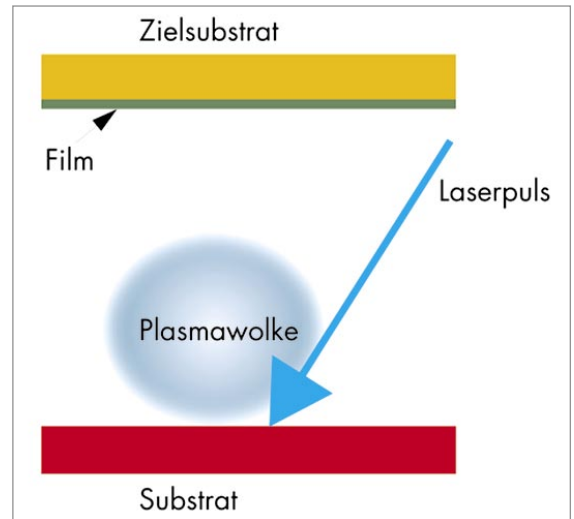
(Cluster, Nanopartikel, Nanoröhren)

- Probenpräparation für weitere Untersuchungen (MS, FT-IR, ...)
- Plasmaspektroskopie für analytische Anwendungen (LIBS)

Nd:YAG-Laser sind die ideale Strahlquelle für Laserverdampfung. Die Pulse haben eine hohe Energie, verbunden mit einer kurzen Pulslänge. Es resultiert eine hohe Spitzenleistung, die für die Plasmaerzeugung notwendig ist.

Auch sind die Laser über ein breites Leistungsband kommerziell verfügbar.

Hervorzuheben ist die besondere Flexibilität hinsichtlich der Wellenlänge. Neben der Grundwellenlänge bei 1064 nm im NIR sind über Frequenzkonvertierung auch Emissionen im VIS und UV leicht zugänglich (532 nm, 355 nm oder 266 nm).



L.O.T.-Oriel GmbH & Co. KG  
 64293 Darmstadt  
 Tel 06151 8806 497  
 Fax 06151 8806 64  
 www.LOT-Oriel.com/de

## Zukunftsweisend – RoHS-Richtlinie vorzeitig umgesetzt

Obwohl es schon seit längerem das Ziel ist, „umweltfreundliche“ Artikel herzustellen, ist der Antrieb zu dieser umweltverträglichen Produktion erst in den letzten Jahren von einem Kundenwunsch zu einer gesetzlichen Anforderung geworden. Da immer mehr elektrische und elektronische Produkte erschwinglich werden und deren Lebensdauer sinkt, wurde es unumgänglich, dieses Thema gesetzgeberisch zu berücksichtigen.

Hierzu hat der Gesetzgeber die RoHS-Richtlinie (RoHS= Restriction of Hazardous Substances, deutsch= Beschränkung gefährlicher Substanzen) eingeführt. Die RoHS-Direktive der EU und ihre deutsche Umsetzung ElektroG, trat zum 01. Juli 2006, beziehungsweise für Endgeräte in der Industrie bis Anfang 2010, in Kraft.

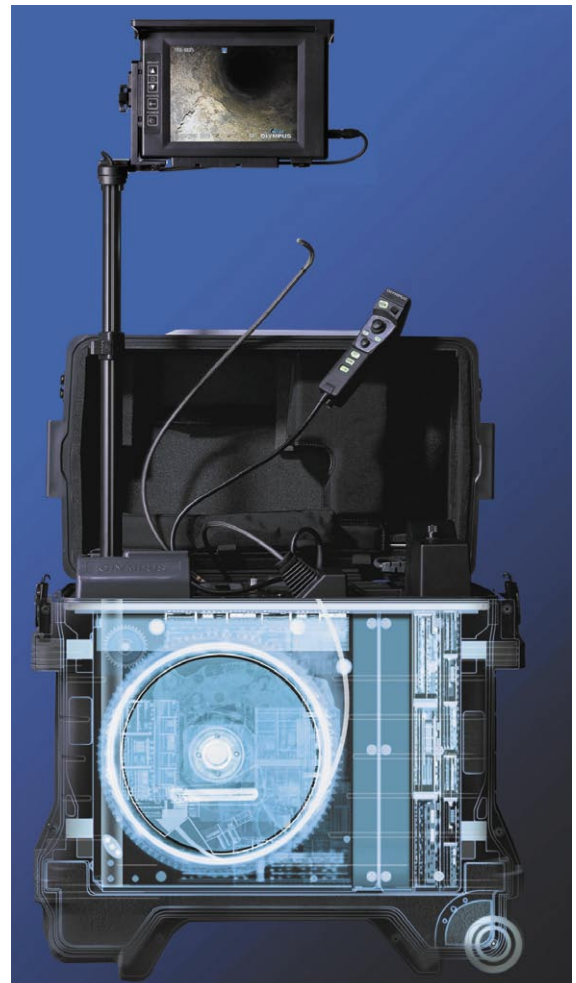
Zukunftsweisend hat der Geschäftsbereich Olympus Industrie Endoskopie zu Beginn des Jahres 2006 auch noch nicht betroffene Geräte und Systeme der neuen Generation, bereits auf die Vorgaben der RoHS-Richtlinie umgestellt. Das bedeutet, dass in den Geräten bereits 4 Jahre vor dem gesetzlichen festgelegten Termin (Beginn 2010) alle gefährlichen Sub-

stanzen beschränkt oder gar nicht eingesetzt werden. Zu diesen zählen: Blei, Quecksilber, Cadmium, sechswertiges Chrom, Polybromierte Biphenyle (PBB) und Polybromierte Diphenylether (PBDE). Ziel der Richtlinie ist die Angleichung nationaler Gesetze, der Gesundheitsschutz sowie die umweltgerechte Verwertung und Beseitigung von Elektro- und Elektronikartikeln.

Olympus bleibt damit seinem Kerngedanken treu, der besagt: „Aus Respekt für die Natur sowie die Sicherheit und Gesundheit der Menschheit, durch seine technischen Entwicklungen und durch die Einführung von umweltverträglichen Geschäftspraktiken, zum Wiederaufbau einer gesunden Umwelt und einer Gesellschaft, in der nachhaltige Entwicklung möglich ist, beizutragen.“

Bild rechts: Bereits RoHS Konform – das neue IPLEX II Videoskopssystem.

Olympus Deutschland GmbH  
 20097 Hamburg  
 Tel 040 23773 402  
 Fax 040 23 08 17  
 www.olympus.de





## ANALYSEN

Analytische Laboratorien  
Prof. Dr. H. Malissa u. G. Reuter GmbH  
Postfach 1106, D-51779 LINDLAR  
Tel. 02266 4745-0, Fax 02266 4745-19

Ilse Beetz  
Mikroanalytisches Laboratorium  
Postfach 1164, D-96301 Kronach  
Industriestr. 10, D-96317 Kronach  
Tel. 09261 2426, Fax 09261 92376

## ARBEITSSCHUTZARTIKEL



Roth GmbH + Co. KG  
Postfach 10 01 21  
D-76231 Karlsruhe  
Tel. 0721 56060

## CHEMIKALIEN



Roth GmbH + Co. KG  
Postfach 10 01 21  
D-76231 Karlsruhe  
Tel. 0721 56060

**GERBU** Biotechnik GmbH  
Am Kirchwald 6, D-69251 Gaiberg  
Tel. 06223 9513 0, Fax: 06223 9513 19  
www.gerbu.de, E-mail: gerbu@t-online.de

## DEUTERIUMLAMPEN



0 61 51/88 06-0  
Fax 0 61 51/89 66 67  
www.LOT-Oriel.com

## DICHTUNGSSCHEIBEN AUS GUMMI MIT AUFVULKANISIERTER PTFE-FOLIE

GUMMI WÖHLEKE GmbH  
Siemensstr. 25, D-31135 Hildesheim  
Teletex 5 121 845 GUMWOE  
Tel. 05121 7825-0

## FTIR-SPEKTROMETER-ZUBEHÖR



0 61 51/88 06-0  
Fax 0 61 51/89 66 67  
www.LOT-Oriel.com

## GEFRIERTROCKNER

Zirbus technology  
D-37539 Bad Grund  
Tel. 05327 8380-0, Fax 05327 8380-80  
Internet: http://www.zirbus.de

## GEFRIERTROCKNUNGSANLAGEN



Martin Christ GmbH  
Postfach 1713  
D-37507 Osterode/Harz  
Tel. 05522 5007-0  
Fax 05522 5007-12



Steris GmbH  
Kalscheurener Str. 92  
D-50354 Hürth/Germany  
Tel. 02233 6999-0  
Fax 02233 6999-10

## HOHLKATHODENLAMPEN



0 61 51/88 06-0  
Fax 0 61 51/89 66 67  
www.LOT-Oriel.com

## KÜHL- UND TIEFKÜHLGERÄTE



Föhrenstr. 12  
D-78532 Tuttlingen  
Tel. 07461 705-0, Fax 07461 705-125  
www.hettichlab.com  
info@hettichlab.com



Kendro Laboratory Products GmbH  
Herausstr. 12-14, D-63450 Hanau  
Tel. 01805 536376 Fax 01805 112114  
www.kendro.de, info@kendro.de

## KÜVETTEN

Hellma GmbH & Co. KG  
Postfach 1163  
D-79371 Müllheim  
Tel. 07631 182-0  
Fax 07631 135-46  
www.hellma-worldwide.com  
aus Glas, Spezialgläser, Quarzgläser

## LABORCHEMIKALIEN



Roth GmbH + Co. KG  
Postfach 10 01 21  
D-76231 Karlsruhe  
Tel. 0721 56060

## LABOREINRICHTUNGEN



**köttermann**  
Das Systemlabor

Köttermann GmbH & Co KG  
Tel. 05147 976-0 Fax 05147 976-844  
www.koettermann.de,  
systemlabor@koettermann.de

## LABOREINRICHTUNGEN

Wesemann GmbH & Co. KG  
Postfach 1461, D-28848 Syke  
Tel. 04242 594-0, Fax 04242 594-222  
http://www.wesemann.com

## LABORHILFSMITTEL



Roth GmbH + Co. KG  
Postfach 10 01 21  
D-76231 Karlsruhe  
Tel. 0721 56060

## LABOR-SCHLÄUCHE UND -STOPFEN AUS GUMMI

GUMMI WÖHLEKE GmbH  
Siemensstr. 25, D-31135 Hildesheim  
TeleTex 5121845 GUMWOE  
Tel. 05121 7825-0

## LABORZENTRIFUGEN, KÜHLZENTRIFUGEN



Föhrenstr. 12  
D-78532 Tuttlingen  
Tel. 07461 705-0, Fax 07461 705-125  
www.hettichlab.com  
info@hettichlab.com



Kendro Laboratory Products GmbH  
Herausstr. 12-14, D-63450 Hanau  
Tel. 01805 536376 Fax 01805 112114  
info@kendro.de, www.kendro.de



Sigma Laborzentrifugen GmbH  
Postfach 1713  
D-37507 Osterode/Harz  
Tel. 05522 5007-0  
Fax 05522 5007-12

## LEITFÄHIGKEITS-MESSGERÄTE



HANNA Instruments  
Deutschland GmbH  
Lazarus-Mannheimer-Straße 2-6  
D-77694 Kehl am Rhein  
Tel. 07851 9129-0 Fax 07851 9129-99

Große  
Anzeigen zu  
teuer? Hier  
kostet ein  
Eintrag nur  
6 Euro pro  
Zeile, ein  
Millimeter  
pro Spalte  
3 Euro!

## MIKROSKOPE



**Labor- und Routine-  
Mikroskope  
Stereolupen und  
Stereomikroskope**

Helmut Hund GmbH  
Postfach 1669 · 35526 Wetzlar  
Telefon: (0 64 41) 20 04-0  
Telefax: (0 64 41) 20 04-44

OLYMPUS OPTICAL CO.  
(EUROPA) GMBH  
Produktgruppe Mikroskope  
Wendenstr. 14-18  
D-20097 Hamburg  
Tel. 040 237730  
Fax 040 230817  
email: microscopy@olympus-europa.com

## OPTISCHE TAUCHSONDEN

Hellma GmbH & Co. KG  
Postfach 1163  
D-79371 Müllheim  
Tel. 07631 182-0  
Fax 07631 135-46  
www.hellma-worldwide.com  
aus Glas, Spezialgläser, Quarzgläser

## PARTIKELANALYSE



## PH-MESSGERÄTE



HANNA Instruments  
Deutschland GmbH  
Lazarus-Mannheimer-Straße 2-6  
D-77694 Kehl am Rhein  
Tel. 07851 9129-0 Fax 07851 9129-99

## REINIGUNGSMITTEL FÜR LABORGLAS



Roth GmbH + Co. KG  
Postfach 10 01 21  
D-76231 Karlsruhe  
Tel. 0721 56060

## SAUERSTOFF-MESSGERÄTE



HANNA Instruments  
Deutschland GmbH  
Lazarus-Mannheimer-Straße 2-6  
D-77694 Kehl am Rhein  
Tel. 07851 9129-0 Fax 07851 9129-99

## STERILISATOREN

Zirbus technology  
D-37539 Bad Grund  
Tel. 05327 8380-0, Fax 05327 838080  
Internet: <http://www.zirbus.de>

## TEMPERATUR-MESSGERÄTE

Amarell GmbH & Co KG  
D-97889 Kreuzwertheim  
Postfach 1280  
Tel. 09342 9283-0  
Fax 99342 39860



## TEMPERATUR-MESSGERÄTE



HANNA Instruments  
Deutschland GmbH  
Lazarus-Mannheimer-Straße 2-6  
D-77694 Kehl am Rhein  
Tel. 07851 9129-0 Fax 07851 9129-99

## THERMOMETER

Amarell GmbH & Co KG  
D-97889 Kreuzwertheim  
Postfach 1280  
Tel. 09342 9283-0  
Fax 99342 39860



## VAKUUMKONZENTRATOREN

Zirbus technology  
D-37539 Bad Grund  
Tel. 05327 8380-0, Fax 05327 838080  
Internet: <http://www.zirbus.de>

## Produkte der Vorausgaben

### Robotersystem SP 1000

Mit dem Laborroboter können vollautomatisch Messungen wie BSB, pH-Wert, ISE, Titrationsen, Leitfähigkeit und Trübung nebeneinander erfolgen. [www.skalar.com](http://www.skalar.com)

### Magnetdosierpumpen

Vielfältige Steuerfunktionen rund um das Dosieren von Flüssigkeiten übernimmt der in Magnetdosierpumpen integrierte Prozess-Timer. [www.prominent.de](http://www.prominent.de)

### Katalog 2007 digital

Von Klaus Ziemer gibt es zum ersten Mal einen digitalisierten Katalog 2007. [www.ziemer-chromatographie.de](http://www.ziemer-chromatographie.de)

### Schnelles Screening von Medikamentenkandidaten

Die neue Software „LihtSight“ beschleunigt die Entwicklung von Medikamenten. <http://europe.applied-bioscience.com>

### Kontrolle der Pipettierung

Die neue PoolSafe Option (Te-Pool-Safe) erhöht Sicherheit für alle Pooling Applikationen in Blutbanken für die molekulare Diagnostik. [www.tecan.com](http://www.tecan.com)

### KNF's neue Laborpumpe

Die neue KNF N 838.18 Labor-Vakuumpumpe ist eine von 50 verschiedenen Pumpen für den Laborgebrauch. [www.knf.de](http://www.knf.de)

### Neuer Camsizer

Der neue Camsizer macht die Partikelanalyse wesentlich schneller und wirtschaftlicher. [www.retsch-technology.de](http://www.retsch-technology.de)

### Continuous-Flow Analysatoren

Es gibt eine neue Generation CFA-Systeme, die nasschemische Analysen durchführen. [www.skalar.com](http://www.skalar.com)

### microRNA Assays

Applied Biosystems erweitert sein Angebot an TaqMan MicroRNA assays mit nahezu 300 assays für Zelldifferenzierung, Entwicklungsbiologie, Stammzellen- und Krebsforschung. <http://europe.applied-bioscience.com>

### Tensiometer

Das Sigma 702 ist ein Stand-alone-Tensiometer zur automatischen Messung der Ober- und Grenzflächenspannung nach der Wilhelmy- oder DuNouy-Methode. [www.LOT-Oriel.com/de](http://www.LOT-Oriel.com/de)

Große Anzeigen zu teuer? Hier kostet ein Eintrag nur 6 Euro pro Zeile, ein Millimeter pro Spalte 3 Euro!

### In memoriam Dr. Ognian Serafimov

Nach mehrjähriger schwerer Krankheit verstarb am 5. Oktober 2006 Dr. Ognian Serafimov im Alter von 63 Jahren. Nach dem Studium der Chemie an der Universität Freiburg und anschließender Promotion an der Universität Konstanz war Dr. Serafimov von 1977 bis 2003 als Lehrer in der BTA-Ausbildung am Berufskolleg für biologisch-technische Assistenten in Überlingen tätig. Neben dem Aufbau dieses damals neu eingerichteten Ausbildungszweiges widmete er sich gleichzeitig internationalen UNESCO-Projekten, die der naturwissenschaftlichen Ausbildung junger Menschen dienten. 1985 initiierte Dr. Serafimov die Gründung des Berufsverbandes für biologisch-technische Assistenten, 1990 wurde ihm der Friedrich-Stomeyer-Preis für besondere Leistungen auf dem Gebiet des Unterrichts an Schulen von der Gesellschaft Deutscher Chemiker verliehen. 2005 wurde Dr. Serafimov zum Ehrenmitglied des VBTA ernannt. Zudem war er engagiertes Mitglied der European Initiative in Biotechnology and Education (EIBE). Viele Leser von CLB kennen ihn als Autor und redaktionellen Mitarbeiter.

Dr. Serafimov unterstützte den Verband bis zu seiner krankheitsbedingten Pensionierung als Regionalbeauftragter. Er war für den Verband immer ein kompetenter Ansprechpartner, der mit viel Engagement die Notwendigkeit einer berufsständischer Interessenvertretungen für BTA's vertrat.

Wir werden Dr. Serafimov stets als unermüdlichen Förderer der naturwissenschaftlichen Ausbildung und Mentor unseres Verbandes in dauerhafter Erinnerung behalten.

Thomas Wittling  
1. Vorsitzender

Verband  
biologisch-technischer  
Assistenten

Rolf Kickuth  
CLB



# VORMERKEN!

## 12. - 14. März 2007 in Düsseldorf

*Heinrich Heine*

HEINRICH HEINE  
UNIVERSITÄT  
DÜSSELDORF

**InCom 2007**

SYMPOSIUM & EXPOSITION

**LifeCom 2007**

SYMPOSIUM & EXPOSITION

- herausragende Einzelsymposien mit eingeladenen Vortragenden über Laserspektroskopie, Massenspektrometrie, Gaschromatographie, HPLC, NMR, Optische Mikroskopie, Bioquality, Mikrofluidik, Elektrochemie, Proteindesign, Funktionelle Genomik/siRNA, Stammzellen, Biochips, Brain-Computer-Interface
- umfangreiche Industrieausstellung
- anwendungsorientierte Firmensymposien und -seminare
- mitreißende Experimentalvorträge von Prof. Dr. Viktor Obendrauf und Prof. Dr. Georg Schwedt
- Wettbewerbsarbeiten „Jugend lehrt“, Podiumsdiskussion „Chemieberufe“ und und und...

**NEWS  
ANALYTIK**

**ONLINE-STELLENMARKT**

### **Die Stellenbörse für Wissenschaftler und Techniker im Labor.**

- 150.000 Seitenabrufe monatlich
- kostenloser wöchentlicher E-Mail-Newsletter mit 2.200 Abonnenten
- kostenlose Veröffentlichung von Stellengesuchen
- kostenlose Veröffentlichung von Stellenangeboten an Universitäten und gemeinnützigen Forschungseinrichtungen
- Unternehmen inserieren Ihre offenen Stellen schon ab **99,- Euro**

Weitere Informationen und zahlreiche aktuelle Ausschreibungen finden Sie online unter <http://www.analytik-news.de>