



Analytische Chemie

**Ferrocencarbonsäurechlorid als hochselektives Derivatisierungsmittel
für Hydroxyverbindungen zur Analyse mittels Gaschromatographie mit
Atomemissions- und massenselektivem Detektor (GC-AED und -MSD)**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften

im Fachbereich Chemie und Pharmazie

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

Frank A.H. Wasinski

aus

Münster

- 2004 -

Dekan:	Prof. Dr. J. Leker
Erster Gutachter:	Prof. Dr. J.T. Andersson
Zweiter Gutachter:	Prof. Dr. U. Karst
Tag der mündlichen Prüfung(en):	27.10.2004 (Hauptfach Analytische Chemie)
	22.10.2004 (Nebenfach Physikalische Chemie)
	28.10.2004 (Nebenfach Organische Chemie)
Tag der Promotion:	29.10.2004

„Es gibt eine Theorie, die besagt, wenn jemals irgendwer genau rausfindet, wozu das Universum da ist und warum es da ist, dann verschwindet es auf der Stelle und wird durch etwas noch Bizarreres und Unbegreiflicheres ersetzt....“

... Es gibt eine andere Theorie, nach der das schon passiert ist.“

Douglas Adams, „Das Restaurant am Ende des Universums“

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
2 Aufgabenstellung.....	3
3 Vorkommen und Bedeutung von Phenolen.....	4
3.1 Erdöl.....	4
3.1.1 Destillate des Erdöls.....	5
3.1.2 Benzin und Diesel.....	6
3.1.3 Phenole in Erdöldestillaten.....	9
3.2 Kohle und Kohleprodukte.....	10
3.3 Kurzübersicht über Phenole in Kohle, Öl und Folgeprodukten.....	11
3.4 Hydroxy-PAH.....	11
3.5 Chlorphenole.....	11
3.6 Nitrophenole.....	12
3.7 Endokrine Modifier.....	12
4 Stand der Technik in der Phenolanalytik.....	14
4.1 Derivatisierung.....	17
4.1.1 Derivatisierung in wäßriger Matrix.....	18
4.2 Rohöle und Destillate.....	19
4.2.1 Bestimmung von Summenparametern.....	19
4.2.2 Bestimmung individueller Phenole.....	19
4.2.3 Ferrocenhaltige Derivatisierungsreagenzien.....	21
5 Gaschromatographie – Theorie und Technik.....	25
5.1 Injektoren.....	25
5.1.1 Das Kaltaufgabesystem	25
5.1.1.1 Lösungsmittelausblendung mit dem KAS.....	26
5.1.1.2 Large Volume Injection mit dem KAS.....	26
5.2 Der Atomemissionsdetektor (AED).....	28
5.2.1 AED Modell Agilent G2350A.....	28
5.2.2 Vorteile des Atomemissionsdetektors.....	31
5.3 Der massenselektive Detektor.....	32
5.3.1 Ionisierung.....	32
5.3.2 Massenfilter.....	33
5.3.3 MS-Meßmodi zur Selektivitätssteigerung.....	34
5.3.4 Vorteile des massenselektiven Detektors.....	36
6 Geräteoptimierung.....	37
6.1 Optimierungen am GC-FID.....	37
6.1.1 Optimierung der Splitlos-Split-Injektion.....	37
6.2 Optimierungen am GC-AED für Fe 302.....	39
6.2.1 Spektrometerjustierung.....	39
6.2.2 Optimierung der Eisenemission.....	42
6.2.3 Optimierung der Injektion am GC-AED.....	45
6.2.4 Verringerung der Strukturabhängigkeit des Response.....	52
6.2.5 Vergleich der Nachweisgrenzen am AED.....	55
6.3 Optimierung der Injektion am GC-MSD.....	56

6.4 Zusammenfassung.....	56
7 Allgemeine und vorbereitende Experimente.....	58
7.1 Synthese von Ferrocencarboxylderivaten.....	58
7.1.1 Chlorphenol-Ferrocenderivate.....	59
7.1.2 Mononitrophenol-Ferrocenderivate.....	60
7.1.3 N-Phenylferrocencarboxamid.....	60
7.1.4 Ferrocenderivate von Hydroxy-PAH.....	61
7.1.5 Ferrocenester endokrin wirksamer Phenole.....	62
7.1.6 Ferrocenderivate von Dihydroxyverbindungen.....	63
7.2 Löslichkeit von FCC und DMAP	64
7.3 Aufarbeitung mittels SPE-Glaskartuschen.....	65
7.4 Zusammenfassung.....	66
8 Untersuchungen mittels GC-FID.....	68
8.1 GC-Gängigkeit der synthetisierten Standards.....	68
8.2 Technisches Nonylphenol.....	68
8.3 Zusammenfassung.....	70
9 GC-AED für Phenole aus Erdöldestillaten.....	71
9.1 Schweizer Treibstoffproben.....	71
9.1.1 Anpassung der Derivatisierungsmethode.....	72
9.1.2 Qualitative Untersuchungen	73
9.1.3 Bestimmung von C0- bis C3-Methylphenolen.....	74
9.1.3.1 Auswahl eines internen Standards für Quantifizierungszwecke.....	74
9.1.3.2 Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes.....	75
9.1.3.3 Bestimmung von C0- bis C3-Methylphenolen.....	80
9.1.3.4 Korrelationsanalyse der bestimmten Phenolkonzentration.....	85
9.1.3.5 Vergleich mit LC-MS-Untersuchungen.....	90
9.2 Phenolgehalt in Abhängigkeit vom Entschwefelungsgrad.....	96
9.3 Zusammenfassung.....	98
10 Versuche mit wäßriger Probenmatrix.....	102
10.1 Membranextraktion.....	103
10.2 Derivatisierung in wäßriger Phase.....	109
10.2.1 Ferrocenylmethylchloroformat.....	109
10.2.2 Ferrocencarbonsäureanhydrid.....	109
10.3 Zusammenfassung.....	110
11 Untersuchung des Potentials der Ferrocene für GC-MS.....	111
11.1 Analyse der Massenspektren.....	111
11.1.1 Elektronenstoßionisierung (GC-EI-MS).....	111
11.1.1.1 Aromatische Ferrocenderivate.....	111
11.1.1.2 Aliphatische Ferrocenderivate.....	116
11.1.2 Chemische Ionisierung (GC-CI-MS).....	117
11.2 Eignung für spezielle MS-Detektionsmodi.....	119
11.2.1 Kombination von Meßmodi.....	121
11.3 Auswahl von Standards für die GC-MS.....	123
11.4 Zusammenfassung.....	124
12 GC-EI-MS für Phenole in Realproben.....	127
12.1 Light Coker.....	129
12.2 Anthracenöl.....	131

12.3 SRM 1580 Shale Oil.....	133
12.4 Schweröl SCR2 Heavy.....	135
12.5 Bunker C.....	138
12.6 Zusammenfassung.....	138
13 GC-EI-MS zum Screening von Alkoholen in Realproben.....	140
13.1 Zusammenfassung.....	143
14 Zusammenfassung.....	144
15 Summary.....	148
16 Literaturverzeichnis.....	149
17 Anhang.....	153
17.1 Abkürzungsverzeichnis (AKV).....	153
17.1.1 Allgemeine Abkürzungen (Allg. Abk.).....	153
17.1.2 Chemikalien und Lösungsmittel.....	155
17.1.3 Analyten und deren Ferrocenderivate.....	156
17.1.3.1 Alkohole.....	156
17.1.3.2 Phenole.....	156
17.1.3.3 Halogenhaltige Phenole.....	158
17.1.3.4 Stickstoffhaltige Aromaten.....	158
17.1.3.5 Hydroxy-PAH.....	158
17.2 Rf -Werte synthetisierter Referenzsubstanzen.....	159
17.3 Verwendete Chemikalien.....	160
17.3.1 Gase	161
17.4 Geräte und -parameter.....	162
17.4.1 GC-Kapillarsäulen.....	162
17.4.2 GC-FID-System.....	162
17.4.3 GC-AED-System.....	162
17.4.4 GC-MSD-System.....	163
17.4.5 Meßprogramme.....	164
17.4.5.1 GC-MSD.....	164
17.4.5.2 GC-AED.....	164
17.5 Umrechnungsfaktoren.....	164
17.6 NMR-Daten der synthetisierten Mononitrophenolderivate.....	165
17.6.1 2-Nitrophenol-Ferrocencarbonsäureester.....	165
17.6.2 3-Nitrophenol-Ferrocencarbonsäureester.....	165
17.6.3 4-Nitrophenol-Ferrocencarbonsäureester.....	166
17.7 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV).....	166
17.7.1 Vorbereitung von Materialien und Chemikalien.....	166
17.7.2 AAV: Synthese von Ferrocencarbonsäurechlorid	166
17.7.3 AAV: Synthese von Ferrocencarboxyderivaten.....	167
17.7.4 AAV: Probenaufarbeitung von Kraftstoffen zur qualitativen Analyse.....	168
17.7.5 AAV: Probenaufarbeitung von Kraftstoffen zur quantitativen Analyse.....	168
17.8 Programmroutine zur Korrelationsanalyse mit MatLab.....	168
17.9 Einzelkonzentrationen der Phenole in schweizer Kraftstoffen.....	171
18 Danksagung.....	174

1 Einleitung

Die moderne Analytik hat sich zu einer Schlüsseltechnologie entwickelt, die zur unverzichtbaren Basis vieler bedeutender Forschungsgebiete geworden ist. In besonderem Maße gilt dies für den Bereich der 'Life Sciences', deren rasante Entwicklung ohne neu entwickelte Analysemethoden wie z.B. die MALDI¹-Massenspektrometrie nicht möglich wäre. Aber auch viele andere Gebiete sind auf immer nachweisstärkere und selektivere Analysemethoden angewiesen. Diese sollen zudem immer preiswerter und schneller werden, um mehr Proben in kürzerer Zeit bewältigen zu können.

Diese Anforderungen führen zu einer stetigen Weiterentwicklung und Automatisierung der Meßgeräte. Ein aktuelles Beispiel hierfür ist die Technik der *Fast GC*, die in einigen Fällen durch kleinste Säulendurchmesser und extreme Aufheizraten die Meßzeit für ein Gaschromatogramm von einer halben Stunde auf wenige Minuten senken konnte [1].

Viele Fragestellungen lassen sich trotz dieser Fortschritte jedoch nur dann lösen, wenn bereits in der Probenvorbereitung Schritte zur Verbesserung der Analytik integriert werden.

Dazu ist vor allem die Derivatisierung geeignet: Definitionsgemäß versteht man hierunter eine chemische Umsetzung der Analyten, um ihre Eigenschaften für die Analyse zu verbessern. Eine Veränderung der Polarität beispielsweise kann für Extraktionen oder chromatographische Trennungen vorteilhaft sein. Ein anderes Ziel der Derivatisierung kann auch die Verbesserung der Detektion sein. Dies kann durch Markierung mit einer gut zu detektierenden chemischen Gruppe geschehen.

Die Möglichkeiten der Derivatisierung wurde anschaulich von *Rolfes* demonstriert, der zur Bestimmung von Phenolen in Rohöl die Analyten mit Ferrocencarbonsäurechlorid (FCC) umgesetzt hat. Somit erhält jedes Analytmolekül ein Eisenatom. Dieses läßt sich nach gaschromatographischer Trennung mit einem Atomemissionsdetektor im eisenselektiven Modus erfassen. Mit dieser Methode kann mit einem Minimum an Probenvorbereitung höchste Selektivität (> 1 : 4 Mio. gegenüber Kohlenstoff) und sehr niedrige Nachweisgrenzen (50 fg Fe/s) erreicht werden. Neben der Detektion wird darüberhinaus auch die chromatographische Trennung wesentlich verbessert, da die Polarität der Derivate erheblich niedriger als die der Phenole ist.

1 „Matrix Assisted Laser Desorption and Ionization“, eine besonders schonende Ionisierungstechnik

Mit dieser Methode konnten 24 C₀-C₃-Alkylphenole in Erdöl bestimmt werden.

Im Rahmen einer Diplomarbeit zeigten sich darüberhinaus erste Hinweise für eine besondere Eignung der Derivate für die Untersuchung mittels GC-MSD [2]. Auch wenn dieser Detektor für Quantifizierungen weniger geeignet ist, liefert er durch die Massenspektren wertvolle Strukturinformationen, in günstigen Fällen auch die Molekülmasse. Dies ist ein entscheidender Vorteil bei der Untersuchung von Proben mit unbekannter Zusammensetzung.

In der Flüssigchromatographie mit elektrochemischer Vorsäulenbehandlung und massenselektiver Detektion (HPLC-MS) konnten Ferrocenderivate ebenfalls selektiv detektiert werden, allerdings bleiben Trennleistung und Nachweisgrenzen deutlich hinter den Möglichkeiten der GC zurück [3], [4].

Davon abgesehen wurden Ferrocene bisher nur selten für Derivatisierungen benutzt. Dabei gibt es zahlreiche weitere Fragestellungen, die ebenfalls von der Derivatisierung mit einem Ferrocenreagenz profitieren könnten: So ist bisher wenig über Phenole in Erdöl- und Kohledestillaten bekannt. Insbesondere vor dem Hintergrund immer aufwendigerer Entschwefelungstechniken für Treibstoffe stellt sich hierbei auch die Frage, inwieweit das Phenolmuster in Kraftstoffen dadurch mit verändert wird.

Viele Phenole und artverwandte Hydroxyverbindungen sind darüberhinaus umweltrelevant, weil sie nicht nur giftig, sondern auch krebserregend sein können. Dies gilt nicht nur für Alkylphenole, sondern auch für Chlor- und Nitrophenole, hydroxylierte polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (Hydroxy-PAH) und Hydroxybiphenyle (Phenylphenole). Darüber hinaus wurde in den letzten Jahren bei bestimmten Phenolen sowie einigen anderen Verbindungen auch eine pseudohormonelle Wirksamkeit entdeckt. In der Umwelt sind diese Stoffe persistent und bioakkumulierend, so daß sie auch über längere Zeiträume ein Gefahrenpotential darstellen können.

Trotzdem sind viele Hydroxyverbindungen von großem technischem Nutzen und können aus vielen natürlichen und anthropogenen Quellen freigesetzt werden. Daraus ergibt sich ein unmittelbarer Bedarf an leistungsfähigen Analysemethoden für Phenole und damit verwandte Stoffe.

2 Aufgabenstellung

Die vorliegende Arbeit verfolgt das Ziel, das Potential von Ferrocenreagenzien als Derivatisierungsmittel für die Gaschromatographie weiter auszuschöpfen. Im einzelnen ergeben sich dabei folgende Aufgabenfelder:

- Erweiterung der Anwendung auf andere Probenmatrices, insbesondere Treibstoffe;
- Erweiterung des Analytenspektrums auf weitere umweltrelevante Phenole und verwandte Verbindungen;
- Untersuchung des Potentials für den massenselektiven Detektor.

Als neue Probenmatrices sollen nach Möglichkeit Treibstoffe wie Benzin und Diesel, Kohledestillate, sowie wäßrige Proben für die Derivatisierung mit einem Ferrocenreagenz zugänglich gemacht werden. Dabei soll auch eine Methode zur Untersuchung der Auswirkung von Raffinationsprozessen, wie z.B. der Entschwefelung durch katalytische Hydrierung, geschaffen werden.

Als weitere umweltrelevante Analyten sind vor allem Chlorphenole, Nitrophenole, hydroxylierte polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe und endokrin wirksame Phenole von Bedeutung. Diese sollen als Ferrocenstandards synthetisiert werden und zusammen mit den bisherigen Alkylphenolstandards zur Untersuchung der Detektionseigenschaften im GC-AED und -MSD dienen. Dieser Teil kann somit als analytische Grundlagenforschung angesehen werden.

Im Rahmen dieser Aufgaben sollen auch die Parameter der analytischen Geräte optimiert werden. Dies ist vor allem für das während dieser Arbeit neu angeschaffte GC-AED-System von entscheidender Bedeutung.

Anhand ausgewählter Realproben sollen die Möglichkeiten der weiterentwickelten Derivatisierungsmethode erprobt werden, Erkenntnisse über Vorkommen und Verteilungsmuster von Phenolen gewinnen zu können.

3 Vorkommen und Bedeutung von Phenolen

Phenole stammen sowohl aus natürlichen als auch aus anthropogenen Quellen. Für viele technische Synthesen werden sie in großem Maßstab industriell erzeugt. Ebenfalls bedeutsam ist auch die Freisetzung und Pyrogenese² bei der Verbrennung von organischem Material. Deshalb soll zunächst auf das natürliche Vorkommen von Alkylphenolen in Rohöl und Kohle eingegangen werden, sowie ausführlich auf daraus gewonnene Produkte, insbesondere Treibstoffe. Anschließend werden Chlor- und Nitrophenole, Hydroxy-PAHs und endokrin wirksame Substanzen diskutiert. Dabei werden ausschließlich Derivate mit kleinerem Molekulargewicht berücksichtigt, da z.B. Polyphenole und andere hochmolekulare Substanzen nicht GC-gängig sind.

3.1 Erdöl

Rohöl ist durch Sedimentation abgestorbener Organismen und anschließenden Einfluß von Mikroorganismen, Druck und Temperatur über Zeiträume von Millionen von Jahren entstanden. Im Rohöl lassen sich neben aliphatischen und aromatischen Kohlenwasserstoffen auch Phenole nachweisen, deren Auftreten durch Kontakt mit Wasser und Gestein wesentlich beeinflusst wird.

Wegen der sehr langen Lagerzeit und den Lagerungsbedingungen können die zunächst gebildeten Verbindungen in vielfältiger Weise umgewandelt werden. So werden insbesondere Substanzen, die zunächst als kinetisch bevorzugte Reaktionsprodukte gebildet wurden, zu den thermodynamisch stabileren Isomeren umgewandelt. Während der Lagerzeit können aber auch geologische Prozesse, die auf das Muttergestein einwirken, einen Einfluß auf das darin enthaltene organische Material haben. Das flüssige Rohöl kann außerdem durch Poren im Gestein wandern, weshalb es selten am Ort seiner Entstehung, der primären Lagerstätte, zu finden ist, sondern fast immer aus einer sekundären Lagerstätte gefördert wird. Dies ist eine Stelle in einer undurchlässigen Gesteinsschicht, in der sich das Öl sammelt. Bei seiner Wanderung durch das Gestein kann es mit Grundwasser in Kontakt kommen. Durch katalytischen Einfluß des Gesteins kann es hier zu einer vermehrten Phenolbildung kommen, andererseits können diese Verbindungen aber auch am Gestein adsorbiert oder durch das Wasser ausgewaschen werden. Da Phenol wesentlich hydrophiler

2 Griech. „Feuergewalt“, d.h. durch Verbrennungsprozesse erzeugt

ist als Alkylphenole, läßt sich das jeweilige Konzentrationsverhältnis zur Abschätzung der Wanderungsdistanz des Rohöls durch das Gestein heranziehen.

3.1.1 Destillate des Erdöls

Die in den Rohstoffen enthaltenen Phenole sind auch in daraus gewonnenen Produkten wiederzufinden. Aus Erdöl werden u.a. die in Tabelle 1 genannten typischen Destillationsfraktionen gewonnen.

Tabelle 1: Siedefraktionen der Erdöldestillation [5], [6], [7]

<i>Klasse</i>	<i>Unterklassen</i>	<i>Siedebereich [°C]</i>	<i>C-Kettenlänge</i>
Gase	Propan, Propen, Butan		3 - 4
Petrolether		40 - 70	5 - 6
Leichtöl	Leichtbenzin	70 - 90	6 - 10
	Mittelbenzin	90 - 150	
Mittelöl	Schwerbenzin	140 - 180	9 - 12
	Petroleum	170 - 250	
	Kerosin	150 - 250	
Schweröl	Diesel, Heizöl	240 - 300	12 - 20
	Schmieröl	> 300	
Paraffin		> 300	> 20
Bitumen	(Rückstand)		

Die Siedegrenzen und Fraktionsbezeichnungen sind jedoch nicht einheitlich, bedingt durch Unterschiede im Raffinationsprozeß. Deshalb finden sich auch die in Tabelle 2 angeführten Bezeichnungen.

Tabelle 2: Siedefraktionen der Erdöldestillation [8]

<i>Fraktion</i>	<i>Siedebereich [°C]</i>
Light Naphtha	-1 - 150
Gasoline	-1 - 180
Heavy Naphtha	150 - 205
Kerosene	205 - 260
Stove Oil	205 - 290
Light Gas Oil	260 - 315
Heavy Gas Oil	315 - 425

<i>Fraktion</i>	<i>Siedebereich [°C]</i>
Lubricating Oil	> 400
Vacuum Gas Oil	425 - 600
Residuum	> 600

Die im Rohöl vorhandenen Phenole sind zunächst in den Fraktionen zu erwarten, die ihrem Siedepunkt entsprechen. Die durch Destillation erhaltenen Fraktionen werden durch Prozesse wie Vakuumdestillation oder Cracken weiter aufbereitet, um Reinheit und Ausbeute zu steigern. Im folgenden soll zunächst allgemein auf die Gewinnung von Benzin und Diesel in der Raffinerie eingegangen werden.

3.1.2 Benzin und Diesel

Benzin oder „Ottokraftstoff“ ist ein Gemisch aus Kohlenwasserstoffen mit fünf bis zwölf Kohlenstoffatomen pro Molekül (C_5 - C_{12}). Diesel hingegen besteht aus C_{12} - bis C_{20} -Kohlenwasserstoffen. Diese Treibstoffe werden aus den Destillaten des Rohöls gewonnen.

Benzin und Diesel lassen sich jedoch nur zu einem geringen Anteil durch Destillation aus dem Rohöl gewinnen, beispielsweise zu nur etwa 15 % bei Benzin. Zur Ausbeuteerhöhung werden deshalb weitere Verarbeitungsschritte eingesetzt, insbesondere Cracking, Reforming, Coking und Polymerisierung. Von steigender Bedeutung ist auch die Entschwefelung. Bei der Abfüllung des fertigen Kraftstoffs werden außerdem Additive zugemischt. Diese sollen bestimmte Eigenschaften des Kraftstoffs gezielt beeinflussen, z.B. das Verbrennungsverhalten. Diese wichtigen Raffinierungsschritte werden nun kurz erläutert.

Cracken

Beim *Cracken* soll ein Abbau höhermolekularer Kohlenwasserstoffe zu solchen mit gewünschter Größe erreicht werden. Dies läßt sich durch Einwirkung hoher Temperaturen von bis zu 900 °C unter Luftabschluß erreichen. Dabei zerbrechen größere Moleküle, allerdings kommt es durch Radikalreaktionen auch zur Bildung höhermolekularer Verbindungen bis hin zum Koks. Um diese unerwünschten Nebenreaktionen zurückzudrängen und um Energie zu sparen, werden Katalysatoren auf Basis von Aluminium-, Molybdän- und Magnesiumsilikat, oder auf Zeolithbasis eingesetzt. Damit reduziert sich die Reaktortemperatur auf ca. 700 °C. Als weiteres Verfahren ist das sog.

Hydrocracking bedeutsam, bei dem Wasserstoff unter hohem Druck von bis zu 200 bar sowie Temperaturen von unter 500 °C mit den Kohlenwasserstoffen reagiert. Hierbei werden Kontaktkatalysatoren eingesetzt, z.B. aus einer Ni-Mo-Legierung. Großer Vorteil des Hydrocrackings ist die Möglichkeit, den gewünschten Molekulargewichtsbereich mit großer Ausbeute einstellen zu können. Nachteil ist der Verbrauch an kostenintensivem Wasserstoff.

Polymerisierung

Bei der Polymerisierung sollen kleinere Moleküle zu größeren verbunden werden. So können z.B. kurzkettige Alkene, die beim Cracken als Nebenprodukte anfallen, bei 150 °C und 50 bar oligomerisiert werden. Diese Reaktion ist somit das Gegenstück zum Cracken.

Coking

Das Coking ist ein pyrolytischer Prozeß, bei dem hochmolekulare Verbindungen unter Temperatureinfluß flüchtige Bestandteile abspalten. Als Rückstand wird Petrolteer gewonnen, der u.a. als Elektrodenmaterial in der Aluminiumgewinnung Verwendung findet.

Reforming

Nicht nur die Molekülgröße spielt für die Verwendbarkeit von Kraftstoffen eine Rolle, sondern auch der Verzweigungsgrad und der Anteil an cyclischen und insbesondere aromatischen Verbindungen. Diese Parameter lassen sich durch das sogenannte Reforming einstellen. Hierbei arbeitet man mit Edelmetall-Katalysatoren. An der Oberfläche des Katalysators können kurzzeitig adsorbierte Moleküle leichter isomerisieren, cyclisieren, oder auch aromatisiert werden. Wird als Katalysator Platin verwendet, spricht man auch von „Platforming“.

Besondere Bedeutung hat das Reforming für die Einstellung der Oktan- oder Cetanzahl, die ein Maß für die Klopfestigkeit der Treibstoffe ist. Das sog. Klopfen eines Motors tritt auf, wenn ein Teil des eingespritzten Kraftstoff-Luft-Gemisches nicht durch den Zündfunken, sondern durch die der Flammenfront vorauseilenden Druckwelle gezündet wird. Man erhält durch diese Selbstzündung dann zwei Brandherde im Zylinder, deren Fronten aufeinanderprallen und dadurch das Klopfgeräusch verursachen. Dies verringert die Effizienz und Lebensdauer der Maschine beträchtlich. Hochverzweigte Kohlenwasserstoffe

haben eine geringere Klopfneigung als unverzweigte. Als Maß für die Klopfestigkeit von Benzenen dient die Oktanzahl, wobei n-Heptan definitionsgemäß die Oktanzahl 0 besitzt, während 2,2,4-Trimethylpentan (Isooctan) die Oktanzahl 100 zugeschrieben wird. Aromaten und Cycloalkane sind ebenfalls besonders klopfest.

Bei Dieselmotoren ist dagegen die Fähigkeit zur Selbstzündung unabdingbar für das Funktionieren, hier wird deshalb eine andere Kenngröße, die Cetanzahl (CZ) definiert. Cetan (= n-Hexadecan) hat einen Wert von CZ=100, für 1-Methylnaphthalin wird CZ=0 festgesetzt. Entgegengesetzt zur Oktanzahl haben hier also unverzweigte Verbindungen einen hohen Zahlenwert. Bei zu niedriger CZ verbrennt der Großteil des eingespritzten Kraftstoffs schlagartig mit großem Zündverzug, was als „Nageln“ bezeichnet wird. Auch dies führt zu unvollständiger Verbrennung und starker Belastung des Motors.

Entschwefelung

Schwefel ist normalerweise nur zu wenigen Prozent im Erdöl enthalten, aber für Treibstoffe besonders bedeutsam. Als „Katalysatorgift“ kann es die Oberfläche von Katalysatoren im Raffinerieprozeß sowie bei der katalytischen Reinigung von Ottomotor-Abgasen blockieren. In diesem Zusammenhang spricht man auch von einer „Vergiftung“ des Katalysators. Außerdem wirken Sulfatkristallite im Abgas als Kondensationskeime für die Bildung von Rußpartikeln, die ein hohes krebserregendes Potential aufweisen. Neben der Einführung von Partikelfiltern für Dieselmotore sollen deshalb auch immer schärfere Grenzwerte für den Schwefelgehalt in Kraftstoffen für eine Verringerung der Rußemissionen sorgen. Ab 2005 gilt beispielsweise ein Grenzwert von 10 ppm für Diesel in Europa.

Diese Anforderungen stellen eine große Herausforderungen an die Raffinerien dar und erfordern die Entwicklung neuer Verfahren. Die zur Zeit wichtigste Technik ist die Hydroentschwefelung, bei der Schwefel aus Heteroverbindungen mit Wasserstoff zu H₂S umgesetzt wird. Durch gleichzeitige Absättigung von Olefinen kommt es aber auch zu einer Reduktion der Oktanzahl, weshalb in der Katalysatorforschung an schwefelselektiven Katalysatoren gearbeitet wird. Weitere Wege zur Entfernung des Schwefels können über selektive Adsorption oder bakteriellen Abbau führen. Eine gute Übersicht zu diesem Thema findet sich in [9].

Additive

Additive sind Zusätze, die am Ende des Raffinationsprozesses zugegeben werden und bestimmte Eigenschaften des Kraftstoffs gezielt einstellen sollen. Hierzu gehört die Gewährleistung der Fließ- und Schmierfähigkeit sowie der Lagerstabilität, Verhinderung von Korrosion im Motor, Vermeidung von Rußbildung, Stabilisierung gegen das Ausfallen bestimmter Komponenten (z.B. sog. WASA gegen Wachsflocken) oder gegen bakteriellen Befall, um nur einige Beispiele zu nennen. Ein bekanntes Additiv ist das in der Vergangenheit verwendete Tetraethylblei, das als Antiklopfmittel zugegeben wurde. Diese Substanz ist jedoch giftig und krebserregend. Darüberhinaus sind Bleiverbindungen Katalysatorgifte. Durch Fortschritte in der Motoren- und Kraftstofftechnik kann hierauf aber seit einigen Jahren verzichtet werden.

Heute gebräuchliche Additive sind z.B. Methyl-*tert*-butylether (MTBE) und andere Sauerstoffverbindungen als Antiklopfmittel oder Ferrocen zur Rußvermeidung beim Diesel. Sterisch gehinderte Phenole können die sog. „Gum“-Bildung verhindern. Darunter versteht man die Bildung hochmolekularer, harzartiger Ablagerungen, die Oberflächen verkleben und Kraftstofffilter verstopfen können. Sie entstehen durch Reaktion von Treibstoffbestandteilen wie z.B. Alkenen mit Sauerstoff. Diese Reaktionen verlaufen über radikalische Zwischenstufen, so daß Radikalfänger wie sterisch gehinderte Phenole oder aromatische Amine die Lagerfähigkeit von Treibstoffen beträchtlich erhöhen.

3.1.3 Phenole in Erdöldestillaten

Wegen ihres Vorkommens in Erdöl sind Alkylphenole auch in daraus gewonnenen Treibstoffen zu finden. Der Phenolgehalt im Treibstoff wird zunächst durch die Destillation bestimmt. Darüberhinaus werden die Phenole auch durch andere Raffinationsprozesse beeinflusst. Ein Beispiel hierfür ist der Abbau durch Hydrierung [8]. Das Ausmaß dieser Reaktionen wird aber sicherlich durch Substituenten am aromatischen System beeinflusst. Außerdem stellt sich die Frage, welchen Einfluß die immer wichtiger werdenden Entschwefelungsprozesse auf das Phenolmuster haben. Hierüber ist bisher jedoch noch wenig bekannt.

Weiterhin können bestimmte Phenole durch Additivierung dem Treibstoff gezielt beigemischt werden. Außerdem kann durch gezieltes Mischen unterschiedlicher Destillate

(„verschneiden“) das Phenolmuster im Treibstoff verändert werden.

3.2 Kohle und Kohleprodukte

Kohle entsteht durch geologische Prozesse aus sedimentiertem Pflanzenmaterial [10]. Kohle wird entweder zur Energieerzeugung verbrannt oder zur Gewinnung von Koks und Kohlenwasserstoffen genutzt [6].

Verkokung

Kohle kann durch Erhitzen unter Luftabschluß bei ca. 800-1300 °C zu kohlenstoffreichem Koks veredelt werden. Dabei werden Kohlenmonoxid und flüchtige Kohlenwasserstoffe frei. Letztere können als leicht brennbares „Stadtgas“ genutzt werden. Der Koks findet im Hochofenprozeß Verwendung.

Kohlen(tee)destillation

Steinkohle kann bei 900 °C bis 1200 °C einer trockenen Destillation unterzogen werden, um daraus Kohlenwasserstoffe zu gewinnen. Als Rückstand erhält man Koks, als Destillat den Steinkohlenteer. Der Rohteer kann wiederum destillativ getrennt werden. Als Fraktionen werden so *Carbolöl* (180 bis 210 °C), *Naphthalinöl* (210 bis 230 °C), *Waschöl* (230 bis 290 °C) und *Anthracenöl* (300 bis 400 °C) gewonnen. Diese Produkte dienen als Rohstoff für unterschiedliche Produkte und Synthesen.

Kohlehydrierung

Besonders im zweiten Weltkrieg wurde in Ermangelung an Erdöl „Kohlebenzin“ hergestellt. Dazu wurde das Verfahren nach Bergius-Pier angewandt, bei dem die Kohle mit Wasserstoff zu den erwünschten Kohlenwasserstoffen umgesetzt wurde. Alternativ kam auch die Fischer-Tropsch-Synthese zum Einsatz, bei der CO mit Wasserstoff umgesetzt wird. Diese Verfahren sind heutzutage aber aus ökonomischer und ökologischer Sicht nicht mehr sinnvoll und seien hier nur der Vollständigkeit halber erwähnt.

Phenole in Holz, Kohle und Kohleprodukten

Holz bildet die Basis für Kohle und enthält zu einem großen Teil Lignin. Dies ist ein komplexes Molekül mit phenolischen Untereinheiten. Deshalb ist es nicht verwunderlich, daß Phenole bei der Verbrennung von Holz und Kohle freigesetzt werden und sich auch in Kohleprodukten wiederfinden. Zum Teil entstehen sie auch pyrogenetisch, d.h. während des

Verbrennungsprozesses. Dabei entstehen vor allem Alkylphenole.

Am Rande sei die Problematik der Kokereiabwässer im Ruhrgebiet erwähnt, die den Fluß Emscher zum „dreckigsten Fluß Europas“ werden ließen. Die Emscher wird jetzt vollständig durch eine Kläranlage geleitet, um die Umweltschäden zu minimieren.

3.3 Kurzübersicht über Phenole in Kohle, Öl und Folgeprodukten

Kohle und Erdöl stellen eine bedeutende Quelle natürlicher Alkylphenole dar. Auch in daraus gewonnenen Produkten wie Benzin, Diesel und Kohledestillaten sind sie anzutreffen und können durch anthropogenen Einfluß freigesetzt werden. Für technische Parameter wie die Lagerfähigkeit von Treibstoffen können sie große Bedeutung haben und werden deshalb auch als Additiv zugesetzt. Es ist jedoch weitgehend unklar, in wieweit der Alkylphenolgehalt durch Raffinationsprozesse beeinflusst wird.

3.4 Hydroxy-PAH

Den Phenolen strukturell nah verwandt sind die hydroxylierten polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffe (Hydroxy-PAK oder -PAH). Diese besitzen ebenfalls eine Hydroxygruppe, zählen aber im Gegensatz zu den Phenolen zu den mehrkernigen Aromaten. Polycyclische Aromaten sind deshalb bedeutsam, weil sich viele dieser Verbindungen in die DNA einschieben können. Dieser auch „Interkalation“ genannte Vorgang führt bei der Replikation zu einer fehlerhaften Kopie der Erbinformation, was Mutationen bewirken kann [11]. Bei der Metabolisierung werden die PAHs jedoch enzymatisch durch die Monooxygenase *Cytochrom P450* hydroxyliert. Die gesteigerte Hydrophilie ermöglicht dann die renale Ausscheidung. Da die Phenole zum Teil auch gebunden vorliegen können, ist vor der Analyse eine saure oder enzymatische Hydrolyse erforderlich. Damit lassen sich Phenole auch aus Sulphaten oder Glucuroniden (Salz der Glucuronsäure) freisetzen.[12]. Aus dem Phenolgehalt im Urin läßt sich dann auf das Maß einer PAH-Exposition rückschließen [13]. Wegen dieser Bedeutung für die Arbeitsmedizin wurden auch zwei- bis vierkernige Hydroxy-PAH für diese Arbeit ausgewählt.

3.5 Chlorphenole

Neben ihrer technischen Bedeutung sind Phenole und andere ihnen verwandte Substanzen bedeutende Umweltgifte [14]. Dabei spielen Chlorphenole eine besondere Rolle, da sie sowohl bakterizid als auch fungizid wirksam sind. Aus diesem Grund werden sie als

Pflanzen- und Holzschutzmittel sowie als Additiv in vielen kommerziellen Produkten eingesetzt. Der bekannteste Vertreter dieser Substanzklasse ist das Pentachlorphenol (PCP). Dieses hat neben einer toxischen auch eine krebserregende Wirkung [15], [16]. Nach Bekanntwerden dieser Gefahren wurde der Einsatz von PCP als Holzschutzmittel in Deutschland 1981 verboten, und damit behandelte Deckenverkleidungen mußten unter Millionenkosten entsorgt werden. In der Lederproduktion wird es in der dritten Welt z.T. auch heute noch eingesetzt.

Darüber hinaus stellen Chlorphenole eine große Gefahr für aquatische Organismen dar .

Da chlorierte Phenole aber auch für viele andere Zwecke eingesetzt werden, sind sie fast ubiquitär anzutreffen. Wegen ihrer elektronenziehenden Substituenten unterscheiden sie sich in vielen ihrer Eigenschaften deutlich von Alkylphenolen, insbesondere durch höhere Wasserlöslichkeit.

3.6 Nitrophenole

Nitrophenole entstehen in der Atmosphäre durch photolytische Reaktion von Phenolen mit NO_x . Mit dem Niederschlag können sie dann in Böden und Gewässer eindringen [17], [18]. Außerdem sind sie im Grundwasser in der Nähe ehemaliger Munitionsfabriken anzutreffen [19] und können aus Herbiziden freigesetzt werden [20].

Wegen ihrer ausgeprägten Polarität unterscheiden sie sich von anderen Phenolen, weshalb sie auch interessante Modellanalyten sind.

3.7 Endokrine Modifier

Neben der Giftwirkung und des z.T. krebserregenden Potentials ist bei bestimmten Phenolen auch eine pseudohormonelle Wirkung festgestellt worden [21]. Diese verursacht nicht nur Fertilitätsstörungen verschiedenster Organismen, sondern wird auch mit Mutationen und einem erhöhten Krebsrisiko in Zusammenhang gebracht. Besonders fatal wirkt sich dabei aus, daß bereits extrem niedrige Konzentrationen einen Effekt auf den Organismus haben können. Substanzen mit solch hormoneller Wirksamkeit werden auch als *Endokrine Modifier* bezeichnet. Dazu gehören auch einige Phenole, insbesondere Hydroxybiphenyl, Octyl- und Nonylphenol. Letzteres wird zur Herstellung von Nonylphenolpolyethoxylaten verwendet, die als nichtionische Tenside eingesetzt werden. In

Kläranlagen wird hieraus wieder Nonylphenol abgespalten, das somit zu einer Gefahr für Oberflächengewässer wird. Alkylphenole sind zudem persistent und werden im Sediment akkumuliert. Somit stellen sie auch über lange Zeiträume hinweg ein Gefährdungspotential für Mensch und Umwelt dar.

Untersuchungen haben gezeigt, daß die hormonelle Wirksamkeit von Alkylphenolen von mehreren Bedingungen abhängt [21]:

- mindestens vier Kohlenstoffatome in der Alkylseitenkette,
- *para*-Substitution,
- keine sterische Hinderung der OH-Gruppe, z.B. durch Butylgruppen in *meta*-Stellung.

Der Grad der hormonellen Wirkung scheint dabei mit zunehmendem Verzweigungsgrad der Alkylseitenkette zu steigen. Dies läßt sich durch die strukturelle Ähnlichkeit zum Hormon Estradiol-17 β erklären (Abbildung 1).

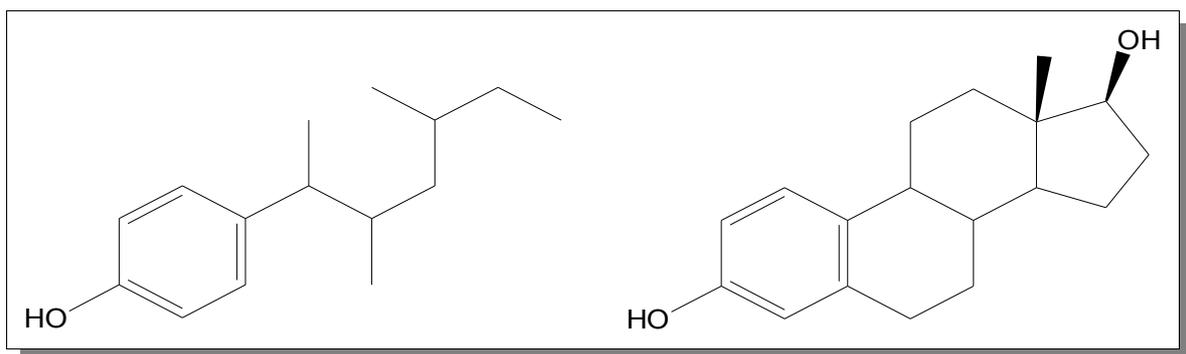


Abbildung 1: Struktur eines Nonylphenols (links) im Vergleich zu Estradiol-17 β (rechts)

Interessanterweise zeigen Hydroxyverbindungen mit kondensierten Aromaten wie z.B. Naphthol keine hormonelle Wirkung. Dies gilt jedoch nicht für substituierte Naphthole. Somit scheint auch hier das Vorhandensein aliphatischer Gruppen mitentscheidend für die hormonelle Wirkung zu sein.

Zur Synthese nichtionischer Tenside auf Nonylphenolpolyethoxylat-Basis wird ein Gemisch verschiedenster Strukturisomeren von Nonylphenol eingesetzt. Diese besitzen auf Grund des unterschiedlichen Verzweigungsgrades der Alkylseitenkette somit auch eine unterschiedliche hormonelle Wirksamkeit. Eine gute Übersicht über die Gefährdung durch hormonell aktive Chemikalien findet sich in [22].

4 Stand der Technik in der Phenolanalytik

Wegen der zuvor geschilderten Bedeutung der Phenole sind bereits zahlreiche Bestimmungsmethoden entwickelt worden. Die meisten dieser Methoden beinhalten drei Arbeitsschritte:

- Extraktion,
- Auftrennung, z.B. chromatographisch,
- Detektion.

Bei der Extraktion kann eine Anreicherung der Analyten, Abtrennung störender Matrixbestandteile, sowie ein Wechsel des Lösungsmittels erreicht werden.

Zur Auftrennung werden vereinzelt kapillarelektrophoretische, häufiger jedoch chromatographische Methoden eingesetzt. Bei Letzteren werden vor allem Schwerkraftsäulen-, Hochleistungsflüssig- und Gaschromatographie genutzt [23], [24].

In vielen Fällen kommt ein Derivatisierungsschritt hinzu, der je nach Reagenz vor oder nach der Extraktion erfolgt.

Besondere Bedeutung hat bei praktisch allen Bestimmungsmethoden die Extraktion, auf die deshalb hier näher eingegangen werden soll.

Extraktionsmethoden

Allgemein sind bei der Auswahl einer Extraktionsmethode mehrere Faktoren entscheidend, insbesondere:

- Natur der Analyten: Hydrophilie, Flüchtigkeit, Stabilität, Komplexbildung, pKs
- Natur der Matrix: wässrig oder nichtwässrig, Komplexität
- Analytkonzentrationen in der Probe
- Erwünschter Grad der Aufkonzentrierung
- Verfügbarkeit von Geräten für Probenaufarbeitung und Analyse
- Ökonomie: Zeit- und Personalbedarf, Automatisierbarkeit, Kosten
- Ökologie: Chemikalienverbrauch, Einsatz toxischer oder umweltgefährdender Stoffe

In jedem Fall muß die Extraktionsmethode auf die Art des zu verwendenden Analysengerätes abgestimmt werden (z.B. GC oder HPLC). Im Einzelnen ergeben sich folgende Aufgaben:

- Anreicherung der Analyten auf einen gut zu detektierenden Konzentrationsbereich,
- Verringerung der Komplexität der Matrix auf ein Niveau, das die Selektivität der Meßmethode nicht überfordert,
- Abtrennung von störenden Matrixbestandteilen.

Zur Erreichung o.g. Ziele werden unterschiedliche Extraktionsmethoden eingesetzt. Für feste Proben wird zumeist Soxhlet-Extraktion mit organischen Lösungsmitteln verwendet, in letzter Zeit auch mikrowellenunterstützte Lösungsmittlextraktion (MASE, z.B. in [25]). Dadurch lassen sich die benötigten Lösungsmittelmengen sowie der Zeitbedarf wesentlich reduzieren. Seltener findet auch Supercritical Fluid Extraction (SFE) Anwendung [26].

Bei den flüssigen Proben lassen sich wäßrige und nichtwäßrige unterscheiden. Zu Letzteren gehören vor allem Öle und Treibstoffe auf Kohlenwasserstoffbasis.

Typische wäßrige Proben sind Trink- und Abwasser, sowie biologische Proben. Traditionelle Methoden zur Extraktion von Phenolen ist die Wasserdampfdestillation (z.B. [15]), sowie die Flüssig-Flüssig-Extraktion (Liquid-Liquid-Extraction, LLE). Bekannte Referenzmethoden sind die Methoden Nr. 604 [27] und Nr. 3150C [28] der amerikanischen Umweltbehörde (Environmental Protection Agency, EPA). Damit lassen sich je nach Analyt Nachweisgrenzen von 0,2 bis 16,0 µg/l erreichen. Durch Derivatisierung mit Pentafluorbenzylbromid (PFBBBr) und Verwendung eines Elektroneneinfangdetektor (ECD) können diese auf 0,6 bis 2,2 µg/l abgesenkt werden. Der Aufwand für die Probenvorbereitung ist jedoch beträchtlich und besonders zeitintensiv.

Als Alternative zur LLE kann die Membranextraktion verwendet werden, bei der die beiden Phasen durch eine Membran voneinander getrennt sind, die jedoch die Analyten durchlässig ist (semipermeabel). Eine neue Entwicklung ermöglicht neuerdings eine automatisierte Membranextraktion durch integration in ein herkömmliches Autosamplersystem (Membrane Assisted Microextraction, MAME), was einer Verbreitung dieser Technik entgegenkommen dürfte [29].

Weit verbreitet sind außerdem Festphasenextraktionstechniken, insbesondere Solid Phase Extraction (SPE), Stirred Bar Sorptive Extraction (SBSE) und Solid Phase Microextraction (SPME). Letztere kann ebenfalls automatisiert mit einem Autosampler erfolgen und hat sich z.B. für das Screening von Abwässern bewährt [30], [31]. Die Nachweisgrenzen für Chlorphenole beispielsweise bewegen sich im Bereich von 0,1 bis 10 µg/l. Vor allem PCP und andere wenig lipophile Substanzen sind mit dieser Methode nicht gut zu erfassen, und Blindwerte von Bisphenol-A aus dem Faserträger können sich störend auswirken.

Die SBSE bringt im Vergleich zur SPME eine wesentlich größere Menge an Festphase zum Einsatz, was die Extraktionseffizienz verbessern kann. Die größte Verbreitung hat jedoch die SPE gefunden, da hier ein sehr breites Spektrum verschiedenster Phasenmaterialien verfügbar ist. Außerdem kann die Phasenmenge weitgehend frei gewählt werden. Zur Automatisierung stehen ebenfalls spezielle Geräte bereit. Diese Technik ermöglicht neben der Aufkonzentrierung auch die Integration von Schritten zum Abtrennen unerwünschter Probenbestandteile. Beispiele zu dieser Technik finden sich in [13], [32]. In [15] wird die SPE nach vorheriger Wasserdampfdestillation von Urinproben durchgeführt. Dabei können durch Verwendung eines GC-ECD Nachweisgrenzen von unter 0,03 µg/l für Chlorphenole erreicht werden, wobei die Methode aber auf Verbindungen mit mindestens drei Chloratomen im Molekül beschränkt ist.

Als Screeningmethode ist die Headspace-Technik interessant. Hier muß die Probe lediglich in speziellen Probenflaschen erhitzt werden, was automatisiert erfolgen kann. Da anschließend die Gasphase über der Flüssigkeit untersucht wird, entfallen weitere Probenvorbereitungsschritte. Diese Technik kann auch mit der SPME kombiniert werden [33]. Zur Quantifizierung muß hier jedoch für jeden Analyten eine aufwendige individuelle Kalibration erfolgen. Darüberhinaus sind Verluste durch den nennenswerten Dampfdruck der Analyten zu befürchten, und acidere Analyten sollten in der unpolaren SPME-Phase nur wenig löslich sein.

Oft werden auch verschiedene Extraktionsmethoden in Kombination eingesetzt. In [34] wird beispielsweise zur Analyse von Nonylphenolen (NP) aus Wasserproben zunächst eine automatisierte Wasserdampfdestillation mit anschließender Flüssig-Flüssig-Extraktion durchgeführt. Nach Abdampfen und Wechsel des Lösungsmittels wird der Extrakt mittels

Hochleistungsflüssigchromatographie mit Fluoreszenzdetektion (HPLC-FD) analysiert. Mit Hilfe einer Durchflußzelle mit Septum wird eine Probe aus der Fraktion entnommen, die die Nonylphenole enthält. Diese Probe wird in Large Volume Injection-Technik (LVI) in einen Gaschromatographen (GC) mit Kaltaufgabesystem (KAS) und Flammenionisationsdetektor (FID) eingebracht. Damit wird nun die Trennung verschiedener NP-Isomere ermöglicht. Der Aufwand der beschriebenen Methode ist erheblich und für einen Routinebetrieb wenig geeignet, auch wenn die meisten Schritte automatisierbar sind. Er illustriert jedoch anschaulich die Bedeutung der Probenvorbereitung für die Phenolanalytik.

Die Effektivität der Extraktion hängt stark von Konzentration und Natur der Analyten, Matrixbelastung und anderen Faktoren ab und kann stark schwanken. Dies läßt sich an den in Tabelle 3 angegebenen Wiederfindungsraten ablesen.

Tabelle 3: Wiederfindungsraten für in dieser Arbeit zitierte Extraktionsmethoden

<i>Lit.</i>	<i>Analyten</i>	<i>Methode</i>	<i>Wiederfindungsraten [%]</i>
[12]	C ₀ -C ₂ -Methylphenole	SPE	74 - 97
[13]	Monohydroxy-PAH	SPE	41 - 70
[35]	C ₀ -C ₂ -Methylph., Chlorph., Nitroph.	SPE	26 - 104
[36]	Chlorphenole	SPE	92 - 103
[37]	4-Alkylphenole	LLE	91 - 112

In der überwiegenden Zahl der Veröffentlichungen finden sich keinerlei Angaben zu den Wiederfindungsraten. Sind diese jedoch angegeben, dann wurden zumeist nur hohe Konzentrationen untersucht.

4.1 Derivatisierung

Eine besondere Bedeutung für die Analyse von Phenolen und anderen Alkoholen hat die Derivatisierung. Die Hydroxygruppe der Analyten kann dabei mit einer Vielzahl verschiedener Derivatisierungsreagenzien umgesetzt werden. Dabei wird bevorzugt eine Silylierung, Acylierung oder Alkylierung angewandt. Beispiele für entsprechende Reagenzien und deren Anwendung sind in Tabelle 4 angeführt.

Tabelle 4: Typische Derivatisierungsreagenzien für Phenole

Reaktion	Reagenz	Abkürzung	Literatur-Beispiel
Silylierung	Methyl- <i>tert</i> -Butyl-silyltrifluoracetamid	MTBSTFA	[35]
	Methyl-trimethyl-silyltrifluoracetamid	MSTFA	[38]
Acylierung	Trifluoressigsäureanhydrid	TFAA	[36]
Alkylierung	Pentafluorbenzylbromid	PFBBr	[27]
	Tetrabutylammonium(salze)	TBA	[37]

Ein bemerkenswertes Beispiel ist auch die Derivatisierung mit Pentafluorobenzylalkohol³ durch direktes Einleiten in die Ionenfalle eines modifizierten GC-MS-Systems [39]. Hierdurch kann jedoch keine Verbesserung der Chromatographie erreicht werden, und das MS-System dürfte schnell verschmutzen.

Durch die Derivatisierung wird im allgemeinen eine Verbesserung der chromatographischen und / oder Detektionseigenschaften erreicht.

4.1.1 Derivatisierung in wässriger Matrix

Eine Derivatisierung bereits in der wässrigen Probe hat den nicht zu unterschätzenden Vorteil, daß die Polarität der Analyten erheblich gesenkt wird. Dadurch vereinfacht sich die anschließende Extraktion, und auch die Entfernung eines Überschusses an Derivatisierungsreagenz kann bereits bei der Extraktion erfolgen. In jedem Fall muss dabei die Reaktionsgeschwindigkeit der Hydrolyse erheblich kleiner sein als die der Reaktion mit dem jeweiligen Analyten. Dies ist bei Anhydriden und Chloroformaten gegeben, nicht jedoch bei Säurechloriden. Beispiele zur Derivatisierung in wässriger Matrix finden sich in [36] und [40]. In [41] findet sich darüberhinaus ein guter Review über die Verwendung von Chloroformaten als Derivatisierungsmittel.

³ Pentafluorphenylmethanol, F₅C₆-CH₂OH

4.2 Rohöle und Destillate

4.2.1 Bestimmung von Summenparametern

Klassische Verfahren zur Bestimmung von Summenparametern bedienen sich der Titration [42]. Dabei werde jedoch auch Carbonsäuren erfaßt.

Andere Methoden versuchen eine Abschätzung über den Sauerstoffgehalt. Selektiver ist jedoch die Bestimmung der O-H-Valenzschwingung in der Infrarot-Spektroskopie. Diese Methode wird jedoch durch Wasser gestört [43].

Auch die Kernresonanzspektroskopie läßt sich zur Summenbestimmung nutzen, z.B. nach Markierung von Hydroxyverbindungen mit gut zu detektierenden Isotopen [44].

4.2.2 Bestimmung individueller Phenole

Bei der differenzierten Bestimmung einzelner Phenole muß in vielen Fällen eine Reduktion der Matrixkomplexität erfolgen. Hierzu dienen beispielsweise die Techniken der Rückextraktion, Festphasenextraktion und Ionenchromatographie. Zur Abtrennung der Phenole kann dabei auch deren vergleichsweise hohe Polarität bzw. Acidität genutzt werden.

Rückextraktion

Phenole sind schwache organische Säuren. Dies spiegelt sich auch in ihren Säurekonstanten (pK_a) wieder, die in Tabelle 5 zusammen mit den Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten (K_{ow}) angeführt sind. Letztere Angabe dient auch zur Abschätzung der Aufnahme von Giftstoffen in menschliches Gewebe [45].

Tabelle 5 : Säurekonstanten und Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten ausgewählter Phenole, aus den Substanzdatenblättern der Chemikalienhersteller entnommen

<i>Substanz</i>	<i>pKa</i>	<i>log Kow</i>
Phenol	10,0	0,3
4-Methylphenol	10,2	2,0
4-n-Nonylphenol	10,3	4,2
4-Nitrophenol	7,2	1,9
Pentachlorphenol	9,0	5,0

Phenole werden unter basischen Bedingungen deprotoniert und sind dann stark hydrophil. Unter diesen Bedingungen kann vereinfachend davon ausgegangen werden, daß sie im Oktanol-Wasser-System nicht mehr in die organische Phase wandern [46]. Deshalb lassen sie sich durch Flüssig-Flüssig-Extraktion mit einer Lauge aus einem Öl oder Treibstoff extrahieren. Durch Ansäuern des Extraktes werden die Phenole wieder deutlich lipophiler, so daß sie durch erneutes Ausschütteln mit z.B. n-Hexan in die organische Phase wandern [47]. Die eigentliche Bestimmung kann dann mittels Gaschromatographie erfolgen. Dieses Verfahren hat jedoch den Nachteil, daß die Effektivität der Extraktion von der Acidität der jeweiligen Verbindung abhängt.

Festphasenextraktion

Als Alternative zur Flüssig-Flüssig-Extraktion kann auch hier die Festphasenextraktion mit SPE-Kartuschen erfolgen. Dazu werden Phasen mit non-encapped RP-18-Material verwendet. Nach Aufgabe der Probe werden unpolare Bestandteile mit Petrolether von der Kartusche gespült. Die gewünschten Alkylphenole werden anschließend mit einer Methanol-Wasser-Mischung eluiert und mittels HPLC mit elektrochemischer Detektion untersucht. Wesentlich bessere Trennleistungen lassen sich jedoch nach Derivatisierung mit gaschromatographischen Techniken erreichen [48].

Ionenchromatographie

Zur Trennung von Phenolen von der Matrix kann auch die Ionenchromatographie genutzt werden. Hier wird wiederum die Acidität der Hydroxyverbindungen genutzt, z.B. in [49]. Anschließend wird mit Trifluoressigsäureanhydrid derivatisiert und mittels GC-MS identifiziert.

Phenolbestimmung in Treibstoffen

Gegenüber Kohle und Erdöl haben Treibstoffe den Vorteil, daß durch den Destillationsprozeß bereits eine Reduktion der Matrixkomplexität stattgefunden hat. Deshalb wird beispielsweise in [50] versucht, drei phenolische Antioxidantien in Düsentreibstoff ohne aufwendige Probenvorbereitung nachzuweisen. Dazu wird der Treibstoff lediglich verdünnt und direkt in eine HPLC-Anlage mit elektrochemischem Detektor injiziert. Allerdings sind die Nachweisgrenzen sehr hoch, und die Eignung für Realproben ist zweifelhaft, da ausschließlich Proben untersucht wurden, die mit hohen

Mengen der Analyten beaufschlagt („gespikt“) wurden. Insgesamt ist eine direkte Injektion Proben mit sehr geringer Matrixkomplexität vorbehalten. Da durch Mischung und Raffinationsprozesse die Komplexität der Zusammensetzung eines Treibstoffs auch erhöht werden kann, wird in den meisten Fällen die Anwendung von Extraktions- und Derivatisierungstechniken für diese Probenklasse unumgänglich sein. Ein Beispiel hierfür ist die in [51] vorgestellte Membranextraktionsmethode für Rohöle, Benzine und Diesel. Hier werden die Phenole durch selektive Migration durch die Membran in eine Acetonitril-Wasser-Phase hinein von unpolaren Matrixbestandteilen getrennt. Der anschließende Nachweis erfolgt durch HPLC mit elektrochemischer Detektion. Die Extraktionsausbeuten steigen dabei mit wachsendem Alkylierungsgrad. Deshalb ist diese Methode ausschließlich auf C₀- bis C₂-Phenole beschränkt. Außerdem coeluierten *para*- und *meta*-Kresol, sowie 2,4- und 2,5- Xylenol. Davon abgesehen ist die Methode wegen der automatisierten und einfachen Probenvorbereitung interessant. Damit gewonnene Erkenntnisse über Phenole in Rohölen und spanischen Treibstoffen sind in [52] veröffentlicht, worauf in einem späteren Kapitel dieser Arbeit noch Bezug genommen wird.

4.2.3 Ferrocenhaltige Derivatisierungsreagenzien

Eine Recherche in den „Chemical Abstracts“ ergab über 14.000 Veröffentlichungen über Ferrocene, aber nur circa 100 davon behandeln analytische Fragestellungen. Daß das Potential der Ferrocene in der Analytik bei weitem noch nicht erschöpft ist, zeigte *Rolfes* eindrucksvoll durch Bestimmung von C₀- bis C₃- Alkylphenolen in Rohölen durch direkte Derivatisierung der Öle mit Ferrocencarbonsäurechlorid (FCC) [53]. Die entwickelte Methode ist nicht nur hochselektiv und nachweisstark, sondern benötigt auch einen nur geringen Aufwand zur Probenaufarbeitung. Dies bietet ökonomische Vorteile und schließt zudem auch einige bedeutende Fehlerquellen wie bei sonst üblichen Extraktions- und Aufkonzentrierungsschritten aus.

Im Einzelnen umfaßt das Verfahren die im folgenden skizzierten Arbeitsschritte.

- Rohöl in Vial pipettieren oder einwiegen, mit Dichlormethan (DCM) verdünnen.
- Dimethylaminopyridin (DMAP) in DCM lösen und zupipettieren.
- Ferrocencarbonsäurechlorid (FCC) in DCM lösen und zupipettieren.

- 2 x 30 s Mikrowellenbestrahlung (500 W) zur Durchmischung.
- Abtrennen überschüssigen Reagenzes über 500 mg Alox-N-Schwerkraftsäule mit DCM als Laufmittel.
- Abdampfen des Lösungsmittels bei 40 °C im Heizblock bis fast zur Trockene.
- Aufnehmen in DCM : Pentan-Lösung 70 : 30 v/v.
- Abtrennen von Aliphaten über 500 mg Alox-N-Schwerkraftsäule mit DCM : Pentan-Lösung 70 : 30 v/v als Laufmittel, Elution mit reinem DCM.
- Abdampfen des Lösungsmittels bei 40 °C im Heizblock bis fast zur Trockene.
- Aufnehmen in 1,5 ml Toluol.
- Gaschromatographische Untersuchung mit AED.

Diese Methode kann auf Extraktionsschritte verzichten. Außerdem erfolgt das Abdampfen des Lösungsmittels erst nach der Derivatisierung, wodurch Verdampfungsverluste wegen der verringerten Flüchtigkeit vermieden werden. Durch die elementselektive Detektion des Eisens mit dem AED lassen sich sehr niedrige Nachweisgrenzen (ca. 50 fg Fe/s) erreichen. Durch die extrem hohe Selektivität ($> 1 : 4,5$ Mio. Fe vs. C) sind Interferenzen durch nichtderivatisierte Kohlenwasserstoffe praktisch ausgeschlossen. Mit dieser Methode wurden die in Abbildung 3 gezeigten 24 C₀-C₃-Alkylphenole erfolgreich bestimmt.

Wegen des weitgehend strukturunabhängigen Response des AED gelang die Quantifizierung mit Hilfe eines einzigen internen Standards auf Basis eines Fluoralkohol-ferrocencarbonsäureesters (F3EE, Abbildung 2).

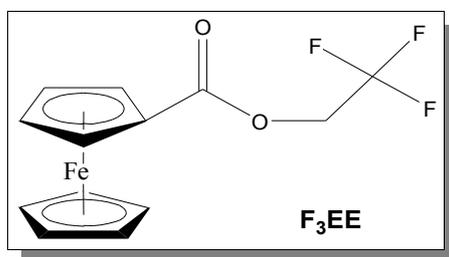


Abbildung 2: Quantifizierungsstandard F3EE

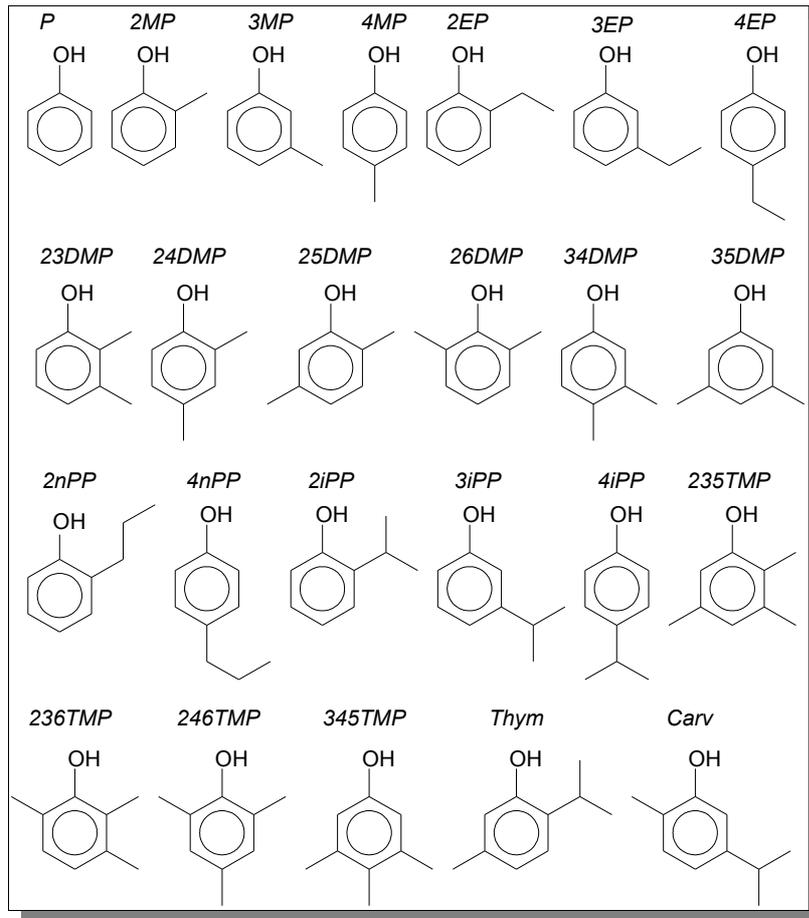


Abbildung 3: Mit FCC und AED bestimmte Alkylphenole in Rohölen [54]

In einer anderen Arbeit haben sich auch Quantifizierungsstandards auf Basis von Fluorphenolen bewährt (Abbildung 4).

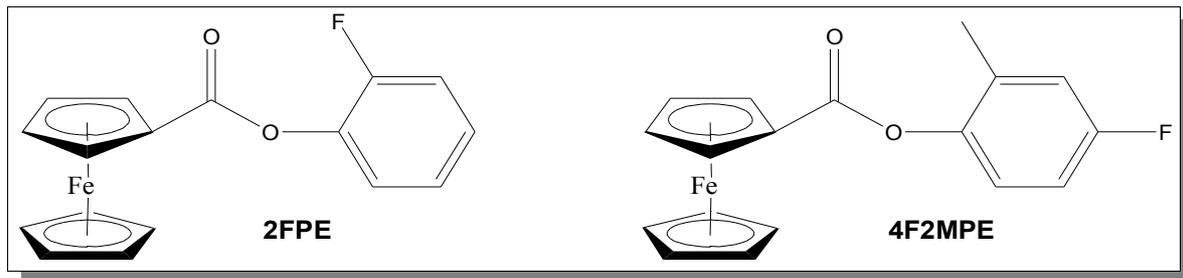


Abbildung 4: Quantifizierungsstandards 2FPE und 4F2MPE [55]

Diese sind den phenolischen Analyten ähnlicher und weniger flüchtig. Sie können jedoch nur eingesetzt werden, wenn eine Coelution mit Alkoholderivaten aus der jeweiligen Probe ausgeschlossen werden kann.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die Derivatisierung mit einem Ferrocenreagenz bei eisenselektiver Detektion mit dem GC-AED-System entscheidende Vorteile bietet:

- Nachweisgrenzen sind sehr niedrige
 - geringe benötigte Probenmenge erreichbar.
- Selektivität ist sehr hoch
 - einfache Probenaufarbeitung,
 - Verzicht auf Extraktionsmethoden.
- Siedepunkt der Derivate erhöht
 - verringert Verdampfungsverluste.
- Polarität der Derivate verringert
 - Sehr gute Peakformen ohne Tailing.

Bislang wurde die Derivatisierung mit Ferrocencarbonsäurechlorid jedoch ausschließlich auf Rohöle und Pyrolyseprodukte angewandt, nicht jedoch auf Treibstoffe und andere Probenklassen.

5 Gaschromatographie – Theorie und Technik

Die Gaschromatographie hat sich zu einem unverzichtbaren Instrument der modernen analytischen Chemie entwickelt. Sie ermöglicht eine sehr hohe Trennleistung und ist für Analyten geeignet, die sich unzersetzt verdampfen lassen. Eine breite Auswahl an Trennsäulen und die Verfügbarkeit sowohl unselektiver (wie Flammenionisationsdetektor FID) als auch selektiver Detektoren (wie Massenselektiver und Atomemissionsdetektor, MSD und AED) erlauben die Anpassung an verschiedenste analytische Aufgaben. Durch automatisierte Injektion mittels Autosampler ist darüberhinaus eine hohe Auslastung der Geräte und somit ein hoher Probendurchsatz möglich. Da diese Geräte einen hohen Bekanntheitsgrad aufweisen, sollen im folgenden nur die für diese Arbeit relevanten Hintergrundinformationen zusammengefaßt werden. Für weitere Informationen sei auf gängige Lehrbücher verwiesen, z.B. [56].

5.1 Injektoren

In der Gaschromatographie finden verschiedene Injektortypen Verwendung, insbesondere On Column-, Splitlos-Split-Injektoren und Kaltaufgabesysteme (KAS oder Programmable Temperature Vaporizer, PTV). Die ersten beiden Typen werden als bekannt vorausgesetzt, weshalb hier nur auf das Kaltaufgabesystem eingegangen wird.

5.1.1 Das Kaltaufgabesystem

Kaltaufgabesysteme (KAS) sollen die Vorteile der On Column-Injektoren mit denen der Splitlos-Split-Injektoren verbinden. Sie besitzen deshalb ebenfalls ein Injektorröhrchen, das jedoch erheblich kleiner ist als bei der Splitlos-Split-Technik. Die Injektion erfolgt hier bei einer Temperatur unterhalb des Siedepunktes des Lösungsmittels. Das Röhrchen wird danach kontrolliert aufgeheizt, wobei wiederum Lösungsmittel und Analyten in Reihenfolge ihrer Siedetemperaturen verdampfen und auf die Säule gelangen. Dadurch werden sie nicht den hohen Temperaturen des Splitlos-Split-Injektors ausgesetzt. Zusätzlich kann das Split-Ventil hier dazu benutzt werden, gezielt das Lösungsmittel aus dem Injektor abzulassen, während höhersiedende Analyten noch nicht verdampft sind. Danach wird das Ventil geschlossen und weiter aufgeheizt, um die Analyten auf die Säule zu überführen. Diese Lösungsmittelausblendung (LMA) kann einen positiven Effekt auf die Chromatographie haben, aber auch zur Injektion größerer Probenmengen benutzt werden

(Large Volume Injection, LVI; bis zu 1 ml Injektionsvolumen).

Bei Verwendung einer Injektorkühlung, z.B. mit Flüssig-CO₂ oder -N₂, kann der Injektor auch zum Ausfrieren von leichtflüchtigen Komponenten aus Gasproben oder aus einem Thermodesorptionssystem genutzt werden. Ein wesentlicher Vorteil des KAS ist die Injektion in den kalten Injektor, wodurch thermische Zersetzung und Diskriminierung durch unterschiedliche Verdampfungsgeschwindigkeiten in der Spritzennadel effektiv verhindert werden.

5.1.1.1 Lösungsmittelausblendung mit dem KAS

Injektionsvolumina bis etwa 5 µl bleiben als dünner Film an der Innenwand des Liners haften. Deshalb können diese Mengen mit höchstmöglicher Geschwindigkeit von bis zu 100 µl/s injiziert werden, sofern die Viskosität des Lösungsmittels dies zuläßt. Bei einer Injektortemperatur von mindestens 30 K unter dem Siedepunkt des Lösungsmittels kann dann durch kurzzeitiges Öffnen des Splitausgangs ein Großteil des Lösungsmittels abgelassen werden. Analyten mit einem Siedepunkt von mindestens 150 K über dem des Lösungsmittels verbleiben dabei nahezu quantitativ im Liner. Anschließend wird der Splitausgang wieder geschlossen, das KAS aufgeheizt und die Analyten so auf die Säule überführt. Diese Lösungsmittelausblendung bietet sich an, wenn das Lösungsmittel entweder für das Säulenmaterial oder den Detektor ungeeignet ist. Dies ist z.B. bei Injektion eines polaren Lösungsmittels auf eine apolare Säule der Fall, oder bei Verwendung eines chlorierten Lösungsmittels bei einem Elektroneneinfangdetektor (ECD). Darüberhinaus kann die Lösungsmittelausblendung auch die Chromatographie günstig beeinflussen, da das Lösungsmittel nicht mehr den Säulenfilm quellen und damit in seinen Retardationseigenschaften beeinflussen kann. Bei Verwendung in einem GC-AED-System wird außerdem die Kohlenstofflast des Plasmas verringert, was Rußbildung vermindert.

5.1.1.2 Large Volume Injection mit dem KAS

Will man größere Probenvolumina als 5 µl injizieren, dann würde bei sehr schneller Aufgabegeschwindigkeit die Probe als Flüssigkeitstropfen auf den Boden des Injektors gelangen und so verloren gehen, bzw. den Injektor kontaminieren. Um dies zu vermeiden, kann ein programmierbarer Autosampler die Flüssigkeit genau so schnell einspritzen, wie diese verdampft. Im übrigen wird wie bei der Lösungsmittelausblendung verfahren. Die

Berechnung der Verdampfungsgeschwindigkeit hängt vor allem vom Dampfdruck des Lösungsmittels, aber auch von weiteren Parametern ab und läßt sich gemäß Gleichung 1 näherungsweise berechnen [57]:

$$V_{inj} = \frac{M \times P_s}{\rho \times R \times T_a} \times \frac{P_a}{P_{inj}} \times F_{split}$$

Gleichung 1: Berechnung der Injektionsgeschwindigkeit zur Large Volume Injection

In dieser Gleichung bedeuten:

V_{inj}	Verdampfungs- = Injektionsgeschwindigkeit [ml/min]
M	Molekulargewicht des Lösungsmittels [g/mol]
P_s	Dampfdruck des LM bei KAS-Anfangstemperatur [Pa]
ρ	Dichte des LM [g/ml]
R	Gaskonstante $82,06 \text{ ml} \times 10^5 \text{ Pa/mol K}$
T_a	Umgebungstemperatur [K]
P_a	Umgebungsdruck [Pa]
P_{inj}	Injektordruck [Pa]
F_{split}	Splitfluß [ml/min]

Aus der Formel ist leicht ersichtlich, daß ein Absenken des Injektordrucks eine höhere Injektionsgeschwindigkeit zuläßt (Stopped Flow-Technik). Außerdem ist der Dampfdruck des Lösungsmittels bei hoher Temperatur ebenfalls erhöht, was nach der Formel ebenfalls günstig ist. Es empfiehlt sich eine Temperatur von mindestens 30 K unterhalb der Siedetemperatur des Lösungsmittels. Sollten dabei aber bereits Analyten verloren gehen, so ist die Temperatur abzusenken, jedoch höchstens bis knapp über den Gefrierpunkt des Lösungsmittels.

Der berechnete Wert gilt allerdings nur für optimale Bedingungen und vernachlässigt Abweichungen wie turbulente Strömungsanteile sowie die Verdampfungsenthalpie, die den Liner leicht abkühlt. Für praktische Zwecke sollte der theoretische Wert deshalb mit einem empirischen Faktor korrigiert werden.

Betrachtet man die Bedeutung der LVI im Kontext des gesamten Analysengangs, so bietet sie eine Alternative für andere Aufkonzentrierungsschritte wie z.B. Einengen im Stickstoffstrom. Sie bietet das Potential zur vollständigen Automatisierung, wodurch eine

exzellente Reproduzierbarkeit erreicht werden kann. Da das zur Lösungsmittelausblendung verwendete Trägergas wesentlich reiner ist als der zum Abblasen verwendete Stickstoff, wird auch die Kontaminationsgefahr durch Feuchtigkeit und andere Verunreinigungen im Gas verringert.

Insgesamt ist das Kaltaufgabesystem also ein schonender, diskriminierungsfreier und extrem vielseitiger Injektortyp, der auch zur Lösungsmittelausblendung und Large Volume Injection eingesetzt werden kann.

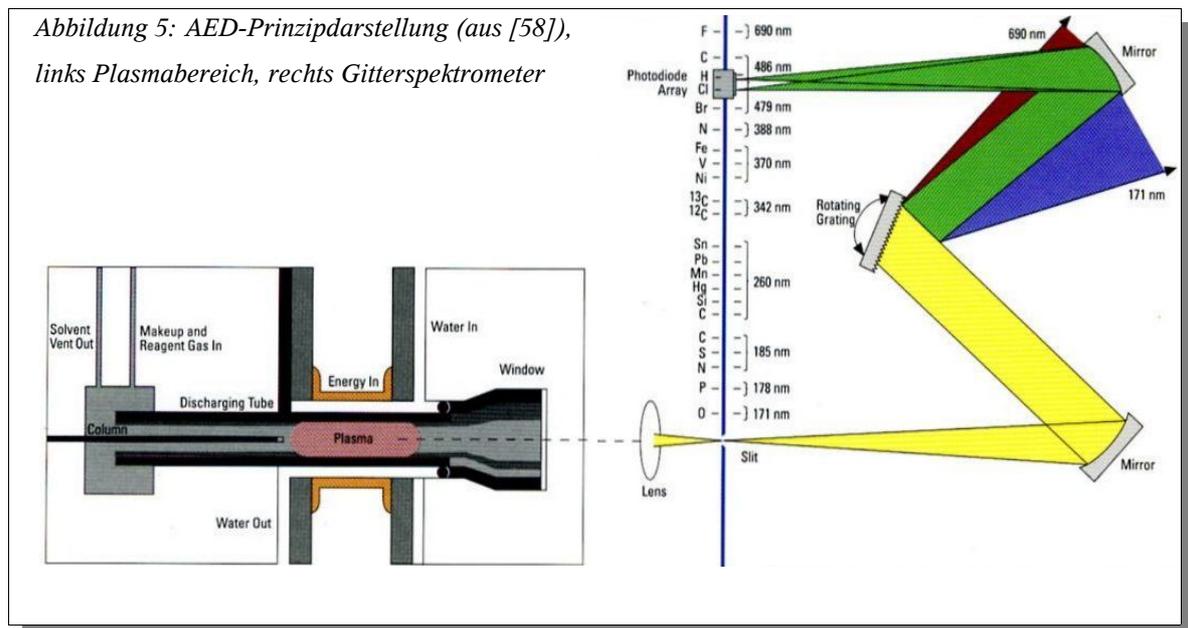
5.2 Der Atomemissionsdetektor (AED)

Der Atomemissionsdetektor bedient sich eines Plasmas, um die Analyten zu atomisieren und zur Lichtemission anzuregen. Bei dem hier verwendeten Modell wird dafür ein Helium-Mikrowellenplasma (MIP) verwendet. Dabei wird Helium nicht nur als Trägergas für die Gaschromatographie benutzt, sondern am Säulenende dem Eluatstrom auch zusätzlich beigemischt (sog. Makeup-Gas). Mittels Mikrowellenstrahlung wird nun soviel Energie eingetragen, daß ein ionisiertes Gas entsteht. Dabei werden Temperaturen von mehreren tausend Kelvin erreicht, so daß organische Moleküle vollständig in ihre Atome zerlegt werden. Diese nehmen dann soviel Energie auf, daß sie in einen angeregten Zustand gelangen. Die aufgenommene Energie wird bei der Relaxation in Form von elektromagnetischer Strahlung wieder abgegeben, wobei die Wellenlänge durch die Energiedifferenz zwischen angeregtem und Grundzustand definiert wird und elementspezifisch ist. Die Intensität des abgestrahlten Lichtes ist dabei direkt proportional zur Konzentration. Da die Analyten nacheinander aus der GC-Säule in das Plasma eluieren, resultieren elementspezifische Chromatogramme, deren Peakflächen zur Quantifizierung genutzt werden können.

5.2.1 AED Modell Agilent G2350A

Der für diese Arbeit verwendete AED besitzt als Kernstück ein dünnes Entladungsröhrchen (Discharge Tube) aus Quarz, das in einem Quarzmantelrohr steckt. Durch den Zwischenraum von wenigen Zehntelmillimetern strömt ein dünner Kühlwasserfilm mit hoher Geschwindigkeit (400 ml/min). In diese Anordnung wird über einen Hohlwellenleiter die Mikrowellenstrahlung eingekoppelt (sog. Beenacker-Cavity). In Abbildung 5 ist auf der linken Seite der Plasmabereich abgebildet, aus dem das Licht in das Spektrometer auf der

rechten Seite gelangt.



Am Eingang des Entladungsröhrchens wird in der sog. 'GasUnion' das Helium-Makeup-Gas sowie bis zu drei weitere Gase zugemischt, die die Emission optimieren sollen (siehe in der Abbildung: „Makeup and Reagent Gas In“). Dabei kommen vor allem Wasserstoff und Sauerstoff zum Einsatz. Ein Reagenzgas wie Methan kann eingesetzt werden, um Molekülemissionen zu erzeugen, die intensiver als Atomemissionen sein können. Dies ist z.B. bei der Messung von Stickstoff als CN der Fall (388 nm Moleküllinie). Das Helium Makeup Gas muß über einen sehr großen Flußratenbereich von 10 bis 400 ml/min präzise zu regeln sein, was sich nur mit einer manuellen Rückdruckregelung realisieren läßt. Allerdings kann der Fluß über ein elektrisches Schaltventil um eine konstante Menge erhöht werden (sog. 'Makeup High'-Ventil). Die drei anderen Gase hingegen können computergesteuert über elektronische Druckregleinheiten (Electronic Pressure Control, EPC) geregelt werden. Somit lassen sich verschiedene Elemente in einer Meßsequenz dann automatisiert messen, wenn für sie der gleiche Helium-Makeup-Fluß verwendet werden kann, oder wenn die Differenz durch Schalten des Makeup High-Ventils eingestellt werden kann. Andernfalls muß zwischen den Messungen manuell nachgeregelt werden. In vielen Fällen erfordert jedes Element seinen eigenen Parametersatz für die Gasflüsse bzw. -drücke, um optimale Emissionsbedingungen zu gewährleisten, ein Umstand, dem in dieser Arbeit besondere Rechnung getragen wird.

Die Detektion erfolgt mit einem Czerny-Turner-Gitterspektrometer in axialer Richtung. Das Spektrometer ist über eine Linse („Window“ in obiger Abb.) vom Plasmabereich getrennt, die durch einen Helium-Gasvorhang vor Verunreinigung durch Verbrennungsprodukte geschützt wird. Das spektral zerlegte Licht wird über Spiegel auf ein Photodiodenarray (PDA) mit 330 lichtempfindlichen Elementen so projiziert, das ein Fenster von 25 nm Breite aus einem Spektralbereich von 171 nm bis 837 nm erfasst werden kann [58]. Die Messung von Emissionen im UV-Bereich erfordert eine Spektrometerspülung mit Stickstoff, um störende Absorptionen durch Luftsauerstoff auszuschließen.

Die Schrittmotoren, die die Projektionsspiegel steuern, werden über Endschalter kalibriert. Zusätzlich werden kleinere Ungenauigkeiten durch Ausrichtung an verschiedenen Helium-Emissionswellenlängen ausgeglichen. Für viele Elemente kann eine weitere Feinkalibrierung durchgeführt werden, wenn eine Helium-Emissionslinie nicht weiter als 25 nm von der zu messenden Emissionslinie entfernt ist. Für bestimmte Elemente wie auch Eisen ist dies jedoch nicht der Fall, so daß es essentiell sein kann, die korrekte Projektion zu überprüfen und Spektrometerfehler auszuschließen. Nachweisgrenzen und Selektivität gegenüber Kohlenstoff sind beim AED stark elementabhängig, wie Tabelle 6 zeigt.

Tabelle 6: Nachweisgrenze und Selektivität des AED für verschiedene Elemente [58], [59]

Elementlinie [nm]	HP G2350A		HP 5921A	
	Nachweisgrenze [pg/s]	Selektivität vs. C	Nachweisgrenze [pg/s]	Selektivität vs. C
C193	0,6		0,2	
S181	0,6	37.000	1	20.000
N388	18,1	915.000		
N176	4,6	7.000	15	5.000
H486	1,2			
O171	43,4	18.000		
O777			50	30.000
Ni301	0,2	9.000.000	1	200.000
Fe302	0,1	4.600.000	0,05	35.000.000

Eisen hat somit bei den hier vorgestellten Elementen die beste Nachweisgrenze und zweitbeste Selektivität beim G2350A AED, wodurch eisenhaltige Derivatisierungsgrenzen für den AED geradezu prädestiniert sind. Allerdings wird auch deutlich, daß ausgerechnet Eisen mit dem alten Modell besser zu detektieren war. Ein genauerer Blick in Tabelle 7 zeigt außerdem, daß die Werte von Gerät zu Gerät stark schwanken können.

Tabelle 7: Standardabweichungen für Nachweisgrenze und Selektivität verschiedener Elemente am AED[59]

Elementlinie [nm]	HP G2350A		
	Standardabw. der Nachweisgrenze [%]	Standardabw. der Selektivität vs. C [%]	Anzahl getesteter Geräte (n)
C193	54	-	4
S181	30	k.A. ⁴	4
N388	56	59	4
H486	42	k.A.	4
O171	34	30	4
Ni301	31	14	3
Fe302	17	89	3

Auch beim Eisen sind Schwankungen zu beobachten, so daß eine Überprüfung der Leistungsfähigkeit des jeweiligen Gerätes sinnvoll erscheint.

Die Abhängigkeit der Signalhöhe von der Konzentration ist allerdings nur in erster Näherung linear. Untersuchungen haben gezeigt, daß ein beträchtlicher Einfluß der Struktur auf den Response auftreten kann, wobei die Ursache jedoch bisher unklar bleibt. Deshalb ist darauf zu achten, daß ein eventuell verwendeter interner Standard möglichst strukturähnlich zu den Analyten ist, um Unterschiede im Responseverhalten gering zu halten.

5.2.2 Vorteile des Atomemissionsdetektors

Der Atomemissionsdetektor bietet den einzigartigen Vorteil der elementselektiven Detektion. Sein Response ist (nahezu) linear, wodurch Quantifizierungen über einen einzigen internen Standards möglich werden. Nachweisgrenze und Selektivität sind dabei stark elementabhängig und für Eisen besonders günstig. Deshalb lassen sich z.B. Ferrocene nahezu störungsfrei und in sehr kleinen Konzentrationen detektieren.

⁴ k.A. = Keine Angabe

5.3 Der massenselektive Detektor

Der massenselektive Detektor (MSD) ist nach dem FID der wohl verbreitetste Detektor in der Gaschromatographie. Er zählt zu den selektiven Detektoren, da man neben der Retentionszeit auch Informationen über Strukturelemente der Analyten gewinnt. Diese Selektivität ist essentiell bei der Untersuchung unbekannter Stoffgemische, vor allem, wenn auf Datenbanken mit hunderttausenden von Referenzspektren zurückgegriffen werden kann. Es gibt dabei mehrere Typen von massenselektiven Detektoren, die sich vor allem in der Funktionsweise des Massenfilters unterscheiden. In jedem Fall erfolgt jedoch nach der Ionisation eine Selektion nach Masse-Ladungs-Verhältnis, und anschließend die Detektion der Ionen⁵. Damit die Ionen nicht durch Stöße mit anderen Molekülen verloren gehen, muß das gesamte Spektrometer ständig evakuiert sein. Es ist zu beachten, daß in der Massenspektrometrie im Grunde genommen nicht absolute Massen bestimmt werden, sondern immer das Masse- zu Ladungs-Verhältnis (m/z), auch wenn bei ausschließlich einfach geladenen Ionen vereinfachend oft nur der Begriff 'Masse' verwendet wird.

5.3.1 Ionisierung

In der GC-MS wird meist die Elektronenstoßionisierung (EI) angewandt, seltener auch Chemische Ionisierung (CI). Bei der EI wird mit einem erhitzten Rheniumdraht und einer Gegenelektrode ein Elektronenstrahl erzeugt. Gelangen Analytmoleküle in diesen Strahl, so werden durch Stöße Elektronen aus dem Molekül herausgeschlagen, wodurch positive Ionen entstehen. Die Wucht des Aufpralls ist jedoch oft so groß, daß es darüberhinaus auch zum Bruch von Bindungen kommen kann. Somit resultieren neben dem Molekülion (M^+) weitere, für den jeweiligen Analyten charakteristische Fragmentionen. Das Fragmentmuster ist bei EI sehr gut reproduzierbar, ein Vergleich mit Referenzspektren erlaubt deshalb eine sichere Identifikation. Aber auch wenn kein Vergleichsspektrum zur Verfügung steht, erhält man wertvolle Informationen, da bestimmte Strukturen im Molekül ein eigenständiges Zerfallsmuster aufweisen können. Wegen der 'harten', d.h. energiereichen Ionisierung kann es jedoch passieren, daß sich bei zu starker Fragmentierung der Molekülionenpeak nicht mehr ausmachen läßt und nur wenig charakteristische Fragmente kleiner Masse erhalten werden. Die Gefahr der Masseninterferenz steigt dadurch beträchtlich, was eine Identifikation stark erschwert.

5 Lediglich Ionen-Cyclotron-Resonanz-Geräten benutzen ein anderes Prinzip.

Aus diesem Grund ist manchmal eine 'weiche' Ionisation wünschenswert, die sich durch Chemische Ionisation (CI) realisieren läßt. Hier wird ein Reaktandgas in die Ionisierungskammer eingeleitet, das wiederum mit dem Elektronenstrahl beschossen wird. Die entstehenden Ionen reagieren dann mit den Analytmolekülen. Diese chemischen Reaktionen bringen wesentlich weniger Energie auf als der direkte Elektronenbeschuß, so daß die entstehenden Ionen erheblich stabiler sind und kaum fragmentieren. Dies ist günstig für die Bestimmung der Molekülmasse, und Masseninterferenzen werden weitestgehend unterdrückt. Zusätzlich wird die Selektivität oft erhöht, da die Reaktionen des Reaktandgases bei Vorhandensein bestimmter Strukturelemente im Molekül bevorzugt ablaufen können. Zur Massenselektivität der Detektion kommt hier also die chemische Selektivität hinzu, wodurch sich für bestimmte Analyten erheblich niedrigere Nachweisgrenzen durch ein besseres Signal-Rausch-Verhältnis (S/N) erreichen lassen. Nachteil ist jedoch die schlechte Reproduzierbarkeit der Ionisierungsbedingungen bei CI, so daß hier keine Datenbanken zum Spektrenvergleich angelegt werden können, was eine weite Verbreitung dieser Ionisierungsart bisher verhindert hat.

5.3.2 Massenfilter

Der Massenfilter hat die Aufgabe, die erzeugten Ionen nach ihrem Masse- zu Ladungsverhältnis (m/z) zu trennen. Man unterscheidet zwischen Sektorfeld-, (Triple-)Quadrupol-, Ionenfallen-, und Flugzeit-Massenspektrometern. Seit kurzem gibt es außerdem Ionen-Cyclotron-Resonanz-Massenspektrometer (ICR-MS), die jedoch ein eigenständiges Detektionsprinzip benutzen. In dieser Arbeit wurde ein GC-MS-System mit einer Ionenfalle verwendet, die deshalb genauer beschrieben werden soll.

Ionenfallen-MS

Die Ionenfalle (engl.: Ion Trap) stellt eine Art Kammer aus einer Ringelektrode und zwei dort hineinragenden konischen Endelektroden dar (Abbildung 6). Die Endelektroden besitzen eine Einlaß- und eine Auslaßbohrung. Diese verläuft in der z-Achse der Skizze und ist dort nicht eingezeichnet.

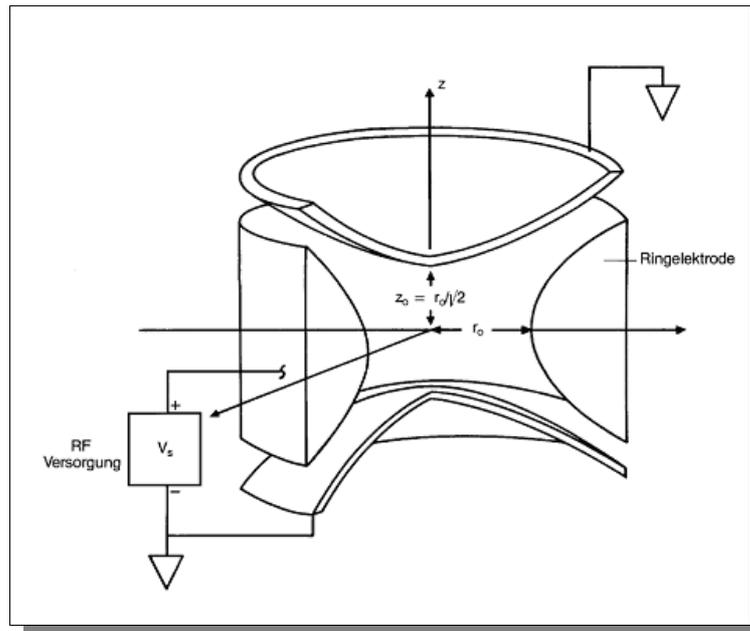


Abbildung 6: Die Ionenfalle im Querschnitt (aus [60]).

Die Ionen aus dem Eluatstrom werden durch elektrische Felder in die Kammer hinein geleitet. Durch Anlegen von elektromagnetischen Feldern werden Ionen mit passendem Masse-Ladungs-Verhältnis auf in sich geschlossene Bahnen gezwungen und dadurch in der Falle gespeichert. Anschließend werden die Felder so variiert, daß Ionen mit genau definiertem m/z -Wert die Kammer verlassen und zum Detektor gelangen können. Wie bei Triple-Quad-Geräten kann auch hier Helium als inertes Kollisionsgas eingeleitet werden, um eine weitere Fragmentierung der Ionen zu erreichen und Tandem-MS-Experimente durchzuführen. Dabei ergeben sich mehrere Möglichkeiten zur Selektivitätssteigerung, die im folgenden erläutert werden.

5.3.3 MS-Meßmodi zur Selektivitätssteigerung

Neben der universellen Meßmethode des Full Scans kann Selected- bzw. Single Ion Monitoring (SIM), oder ein Tandem-MS-Experiment durchgeführt werden, um die Selektivität zu steigern.

Selected- oder Single Ion Monitoring

Um die Selektivität zu steigern, bietet es sich an, nicht alle Ionen zu erfassen, sondern nur die bestimmte(n) Masse(n), die von Interesse ist (bzw. sind). Dadurch verbessert sich das Signal-Rausch-Verhältnis beträchtlich, was vor allem der Nachweisgrenze zu Gute kommt.

Ein Chromatogramm, das im SIM-Modus aufgenommen wurde, bezeichnet man auch als 'Massenspur'. Diese läßt sich auch aus einem Full Scan-Chromatogramm errechnen, indem nur die Summe der Ionen mit der gewünschten Masse in jedem Scanereignis gebildet und graphisch gegen die Zeit aufgetragen wird. Allerdings ist die Kapazität der Ionenfalle, also die Zahl der Teilchen, die darin gespeichert werden können, begrenzt. Somit steht nur in einem 'echten' SIM die volle Kapazität für das (oder die) interessierenden Teilchen zur Verfügung, so daß hier eine bessere Leistung erzielt wird als beim simulierten SIM auf Basis einer Full-Scan-Messung.

Tandem-MS

Ein großer Vorteil von Triple-Quad- und Ionenfallen-Geräten ist die schon erwähnte Möglichkeit zur Tandem-MS. Bei dieser Technik können Ionen aus dem ersten Ionisierungsschritt ausgewählt und weiter fragmentiert werden. Dabei unterscheidet man zwischen zwei Fragestellungen: Beim sog. Mutterionenscan wird untersucht, aus welchen Ausgangs- oder Mutterionen ein bestimmtes Fragment entstanden ist. Diese Möglichkeit bietet nur ein Triple-Quad-System: Dabei wird der letzte Quadrupol auf eine ganz bestimmte Masse geschaltet, während der erste den gesamten Massenbereich erfaßt.

Beim Tochterionenscan hingegen wird ermittelt, welche Fragmente ein bestimmtes Ausgangsion beim weiteren Zerfall bilden. Dies ist insbesondere bei der Aufklärung von Zerfallswegen interessant, oder zur Absicherung der Identifizierung unbekannter Substanzen. Dieser Meßmodus ist sowohl bei Triple-Quad- als auch IonTrap-Geräten anwendbar.

Die Ion Trap bietet den großen Vorteil, daß mit ihr nicht nur zwei Fragmentierungsschritte (also MS/MS) erfaßt werden können, sondern die Prozesse des Ionensammelns, Fragmentierens und Fragmentsammelns mehrmals hintereinander wiederholt werden können. Man spricht deshalb auch von MS^n , wobei n gleich der Anzahl an Wiederholungen ist (z.B. MS^3 für ein MS/MS/MS-Experiment). Da nach jedem Schritt die Restmenge an Teilchen sinkt, ist die Zahl möglicher Schritte in der Praxis auf drei bis fünf Wiederholungen beschränkt.

Simultanmessungen

Bei einer genügend hohen Meßfrequenz können die verschiedenen Meßmodi Full Scan, SIM und MS^n in beliebiger Kombination auch simultan in einem Lauf erfaßt werden, indem nach jedem nur Bruchteile einer Sekunde dauernden Meßzyklus in einen anderen Modus umgeschaltet wird. Dies erleichtert die Untersuchung unbekannter Proben erheblich, da im SIM- oder MS^n -Modus die gesuchten Analyten durch die hohe Selektivität leicht erkannt und anschließend im Full Scan Modus anhand ihres Massenspektrums sicher identifiziert werden können.

5.3.4 Vorteile des massensektiven Detektors

Die massenspektrometrische Detektion bietet mehrere Vorzüge für die gaschromatographische Analyse: so lassen sich Strukturinformationen aus dem Fragmentierungsmuster gewinnen, in günstigen Fällen z.B. das Molekulargewicht des Analyten. Dies ergibt auch zusätzliche Sicherheit bei der Peakzuordnung.

Bei Elektronenstoßionisierung (EI) können elektronische Spektrenbibliotheken verwendet werden. Bei Chemischer Ionisierung kann in vielen Fällen ein Selektivitätsgewinn verzeichnet werden, jedoch ist hier der Einsatz von Spektrenbibliotheken ausgeschlossen.

Mit einigen Gerätetypen sind darüberhinaus spezielle Meßmodi verfügbar, die einen weiteren Selektivitätsgewinn erlauben: Triple Quad-Geräte ermöglichen Tochter- und Mutterionenscans, sowie MS/MS-Experimente. Die Ionenfalle bietet hingegen neben Tochterionenscans die Möglichkeit von MS^n -Experimenten.

Mehrere Meßmodi lassen sich auch simultan in einem GC-Lauf kombinieren. Dadurch können ohne zeitlichen Mehraufwand universelle mit hochselektiven Meßmethoden kombiniert werden, wodurch auch chromatographische Störeinflüsse minimiert werden.

6 Geräteoptimierung

Die Neuanschaffung eines GC-AED mit Kaltaufgabesystem macht eine detaillierte Überprüfung und Optimierung der Geräteparameter notwendig. In diesem Zusammenhang wird auch die Funktion des GC-FID- und GC-Ion Trap-MSD-Systems für die Detektion von Ferrocenestern optimiert.

Für die Gaschromatographen standen Trennsäulen mit einer Methylsilikonphase mit 5 bzw. 50 Prozent Phenylanteil zur Verfügung. In [53] haben sich Säulenphasen mit 5 % Phenylanteil zur Auftrennung von Alkylphenolderivaten besonders bewährt. Diese zeigte auch bei den in dieser Arbeit untersuchten Analyten gute bis sehr gute Trenneigenschaften, weshalb sie bevorzugt eingesetzt wurde. Bei Coelutionen kann jedoch der zusätzliche Einsatz der Phase mit 50 % Phenylanteil Klärung bringen.

6.1 Optimierungen am GC-FID

Für die Detektion mit dem Flammenionisationsdetektor werden die im Anhang dokumentierten Standardeinstellungen angewandt. Damit sind hinreichend gute Detektionseigenschaften erreichbar, und eine aufwendige manuelle Umrüstung zwischen Meßserien mit unterschiedlichen Analytklassen entfällt.

6.1.1 Optimierung der Splitlos-Split-Injektion

Der GC-FID besitzt einen Splitlos-Split-Injektor, in den die Probe durch ein Septum mit einer Spritze injiziert wird. Um Adsorption oder Zersetzung an heißen Metalloberflächen zu vermeiden, befindet sich im Inneren ein Verdampfungsröhrchen aus Glas mit deaktivierter Oberfläche, auch Liner genannt. Der Liner besitzt i.d.R. am unteren Ausgang eine Einschnürung und ist mit einem Pfropf deaktivierter Glaswolle gefüllt. Die Glaswolle soll eine großflächige Verteilung der Probe bewirken, was die Verdampfung beschleunigt. Außerdem kann sie Tropfen an der Spritzennadel abstreifen, die sonst das Septum kontaminieren könnten. Feste Partikel und nichtverdampfbare Probenbestandteile werden so ebenfalls zuverlässig zurückgehalten, wodurch die Trennsäule geschont wird. Im allgemeinen finden Splitlos-Zeiten von ca. zwanzig Sekunden bis zu einer Minute Verwendung. Um die optimalen Bedingungen für die Untersuchung von Ferrocenderivaten zu ermitteln, wird für die folgenden Messungen eine äquimolare Lösung der Derivate von 2,2,2-Trifluorethanol (F3EE), 2-Fluorphenol (2FPE) und 4-Fluor-2-methylphenol

(4F2MPE), sowie Pentadeuterophenol (PDPE) verwendet (je 100 $\mu\text{mol/l}$ in Cyclohexan). Diese Substanzen können als interne Standards verwendet werden, weshalb ungünstige Injektionsbedingungen hier besonders kritische Auswirkungen hätten. Außerdem ist F3EE als mehrfach fluoriertes Alkoholderivat einer der leichtestflüchtigen Ferrocencarbonsäureester und kann bereits beim Einengen von Lösungen im Heizblock bei nur 40 °C zum Teil verloren gehen [2]. Bei der Injektion ist die Flüchtigkeit hingegen ein Vorteil. Wegen des beträchtlichen Unterschiedes zu den Phenolderivaten kann der Vergleich mit dieser Substanz somit eine zuverlässige Indikation beginnender Überführungsverluste gewährleisten.

Die o.g. Lösung wird bei Splitlos-Zeiten von 6, 10, 20, 30, 45 und 60 Sekunden injiziert. Zur Auswertung werden die Peakflächen auf den jeweiligen Wert bei 60 Sekunden normiert (Abbildung 7).

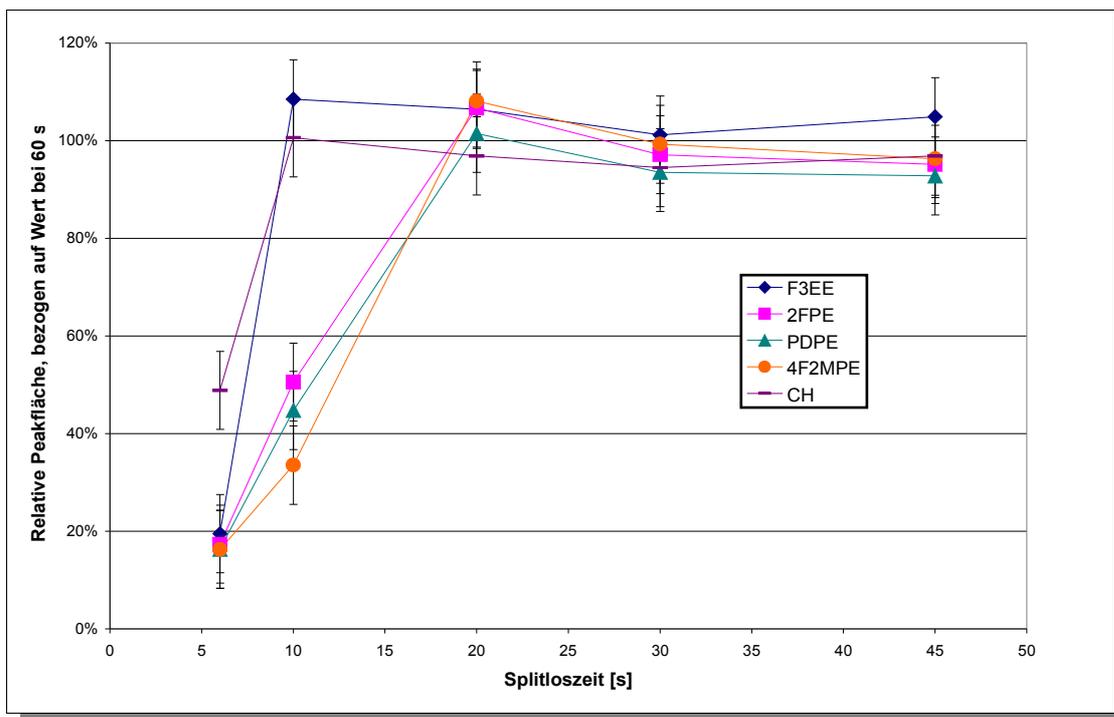


Abbildung 7: Effektivität der Überführung bei Variation der Splitlos-Zeit ($n=3$)

Die Grafik zeigt von 20 bis 60 Sekunden ähnlich gute Werte, die um etwa 10 Prozent um den jeweiligen Wert bei 60 Sekunden schwanken. Bei 10 Sekunden Splitlos-Zeit funktioniert die Überführung für F3EE und das Lösungsmittel Cyclohexan (CH) weiterhin gut, aber die Werte der Phenolderivate brechen deutlich ein. Bei 6 Sekunden kann selbst

das leichtflüchtige Lösungsmittel nicht mehr quantitativ auf die Säule überführt werden.

Um auch noch höher siedende Komponenten möglichst quantitativ auf die Trennsäule zu überführen und eine eventuelle Verzögerung der Verdampfung durch Matrixbelastung zu kompensieren, ist nach den vorliegenden Ergebnissen eine Splitlos-Zeit von 30 bis 60 s empfehlenswert. Für die weiteren Untersuchungen mit dem GC-FID wird deshalb die standardmäßige Einstellung von 60 s verwendet.

6.2 Optimierungen am GC-AED für Fe 302

Zu Beginn dieser Arbeit wurde das zuvor verwendete AED-Modell HP 5921 A durch ein neues System mit einem AED Modell Agilent G 2350 A ersetzt. Da sich beide Modelle in vielen technischen Details unterscheiden, können die zuvor benutzten Geräteparameter nicht ohne Anpassung weiterbenutzt werden. Darüberhinaus bestätigen viele AED-Nutzer [61], daß selbst zwischen zwei Geräten des selben Typs beträchtliche Unterschiede auftreten können, so daß in jedem Fall eine Optimierung für das jeweils verwendete Gerät notwendig ist. Zunächst wird von Standardeinstellungen für die Injektion ausgegangen und der Detektor optimiert. Danach werden die Injektionsbedingungen genauer untersucht und um spezielle Modi des KAS-Injektors erweitert, auf die später noch genauer eingegangen wird.

6.2.1 Spektrometerjustierung

Das in dieser Arbeit verwendete Gerät erfüllt zwar nach der Auslieferung die Spezifikationen des Herstellers, die jedoch nur die Elemente C, S, N, H, Cl, P und O umfaßt. Bei ersten Messungen von Ferrocenverbindungen werden jedoch Chromatogramme mit negativen Peaks erhalten. Eine genauere Untersuchung ergibt, daß das Signal des Untergrundes (Background) erheblich größer ist als das der Eisenemission. Dieser Effekt kann zwei Ursachen haben: Zum einen kann die Photodiode defekt sein, die die Emissionslinie mißt, oder das elementspezifische Licht wird falsch auf das PDA projiziert, so daß die Elementemission als Untergrundlicht interpretiert wird. Da das Gerät bei anderen Elementen keine Fehler zeigt, erscheint eine defekte Photodiode wenig wahrscheinlich. Um den tatsächlichen Fehler zu ermitteln, wird das eisenselektive Chromatogramm einer Lösung von 10 ng/ μ l Phenol-FCE in Cyclohexan bei gleichzeitiger Spektrenaufnahme gemessen. Das sog. 'Recipe' wird dabei als Spektrum zur Zeit Null im Chromatogramm

abgespeichert und legt die Gewichtung der Meßwerte der einzelnen Meßzellen fest; die Summe aller negativ gewichteten Werte bildet den Untergrund, die Summe der positiven Werte das Rohsignal der Emissionslinie. Durch Übereinanderlegen der graphischen Darstellungen von Spektrum und Recipe läßt sich eine eventuelle Abweichung der jeweils höchsten Punkte erkennen und ausmessen, was in Abbildung 8 dargestellt wird.

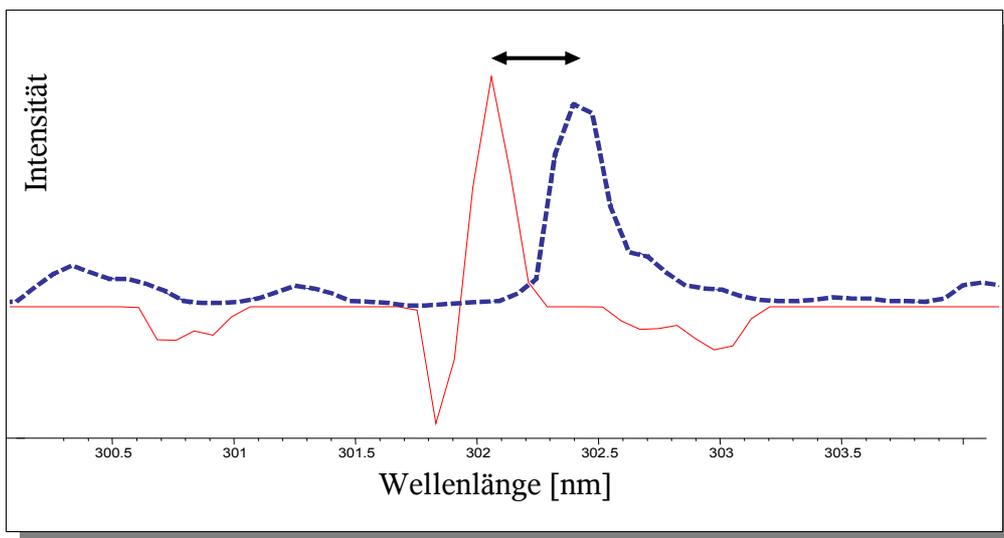


Abbildung 8: Abweichung der Eisen-Emissionswellenlänge (gestrichelt) zu Recipe

Wie deutlich zu sehen ist, wird die Eisenlinie auf die falschen Photozellen projiziert. Dieser Fehler kann durch Veränderung von Softwareparametern korrigiert werden. Dabei ist zu beachten, daß der gesamte Wellenlängenbereich, den das Spektrometer erfassen kann, in der Software in spektrale Fenster (sog. Frames) von 20 bis 25 nm Breite unterteilt wird. Die Linie Fe 302 beispielsweise fällt damit in das Fenster Nummer 300 von 288,4 bis 311,5 nm. Die nächstgelegene Heliumlinie liegt jedoch außerhalb dieses Bereichs bei 318,774 nm. Das Spektrometer richtet sich an dieser Linie aus und dreht dann die Antriebsmotoren um so viele Umdrehungen, daß der eigentliche Meßbereich exakt erreicht werden sollte. Durch Toleranzen in der Antriebsmechanik wird die tatsächliche Position beim verwendeten Gerät jedoch falsch angesteuert. Dies läßt sich prinzipiell auf zwei Wegen korrigieren: Entweder man kalibriert das Motordrehungs- zu Wellenlängenverhältnis neu, oder der Wert der Referenzwellenlänge kann um den Betrag der Abweichung korrigiert werden.

Für die Nutzungszwecke des Gerätes sind die relevanten Elemente Kohlenstoff, Schwefel, Wasserstoff, Sauerstoff, Eisen und Stickstoff. Da hiervon nur Eisen nicht nutzbar ist,

erscheint es hier sinnvoller, nur die Einstellungen für dieses Element zu verändern. Von dem Spektrometerfehler können auch folgende Emissionslinien betroffen sein: Ni 301, Sn 301 und 303, V 292, Sb 218, Te 208, ^{14}N 421, ^{15}N 420, sowie bei Gruppierung mit Sn 271 : C 264, Ge 265, Hg 254, Mn 259, Pb 261, Si 252 [62]. Sollten in Zukunft auch diese Elemente untersucht werden so ist dann auch eine individuelle Korrektur für das jeweilige spektrale Fenster durchzuführen.

Die Korrektur über Softwareparameter führt zu einer nahezu perfekten Abbildung der Elementemission auf die richtige Photodiode (Abbildung 9).

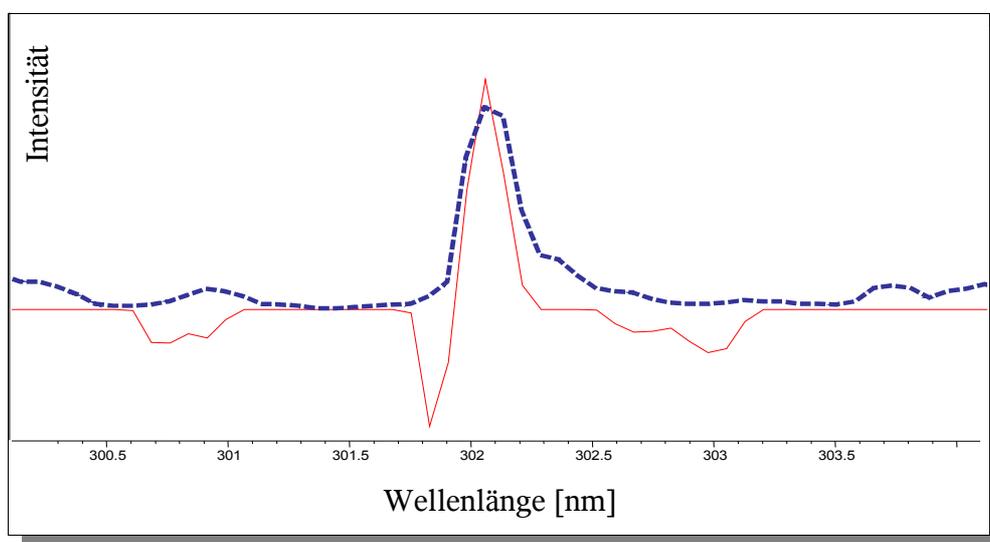


Abbildung 9: Emissionswellenlänge (gestrichelt) und Recipe nach Korrektur

Durch Alterung der Spektrometermechanik könnten erneute Fehlprojektionen auftreten. Deshalb ist es notwendig, die korrekte Projektion in regelmäßigen Abständen zu überprüfen, um optimale Meßbedingungen aufrecht zu erhalten. Für das verwendete Gerät wurde dies mindestens quartalsweise durchgeführt.

6.2.2 Optimierung der Eisenemission

Bei den folgenden Experimenten ist zu beachten, daß die Angaben z.T. nicht in SI-Einheiten erfolgen, sondern in der Einheit, die am Gerät verwendet wird. Bei Bedarf können sie mit den im Anhang angegebenen Umrechnungsfaktoren umgerechnet werden.

Helium als Makeup-Gas

Bei einem Wasserstoff- und Sauerstoffdruck von jeweils 20 psi wird der Heliumfluß von 230 bis 300 ml/min variiert und bei jeder Einstellung je dreimal eine Lösung von 10 ng/ μ l Phenol-FCE gemessen. Die höchste Intensität ergibt sich bei der optimalen Flußrate (Abbildung 10).

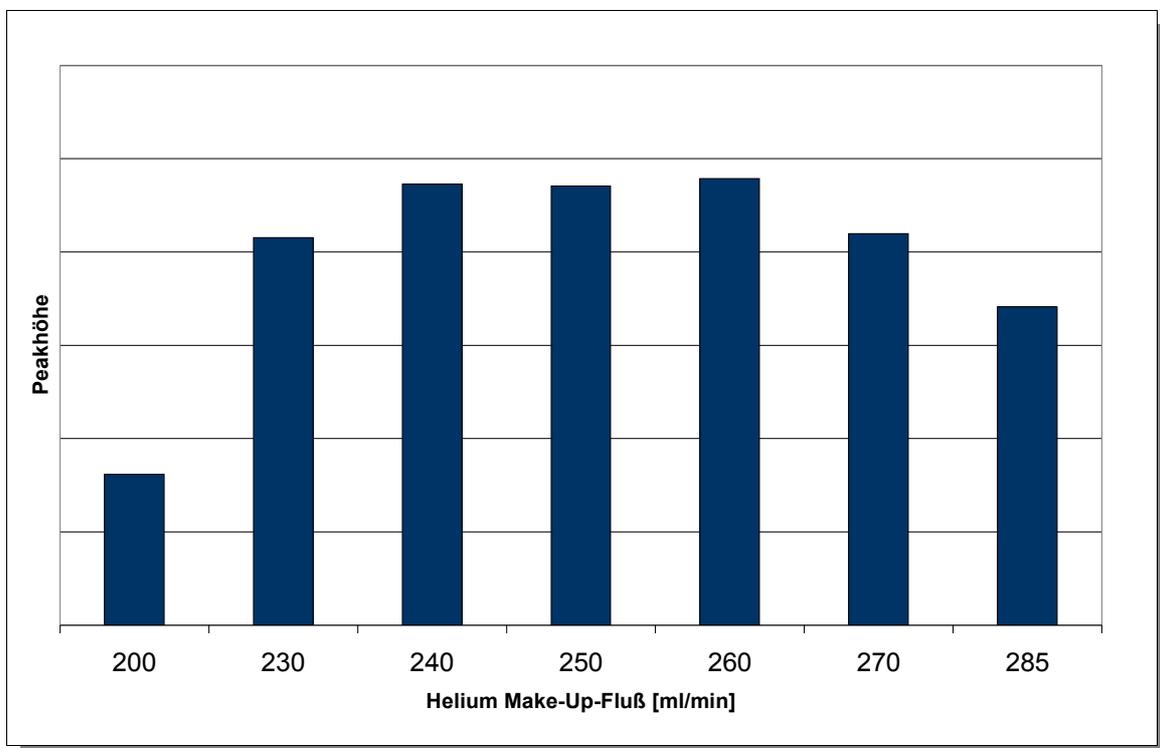


Abbildung 10: Emissionsintensität bei Variation des Helium-Flusses

In der Grafik ist deutlich ein Plateau bei 240 bis 260 ml/min zu erkennen. Deshalb wird ein Makeup-Fluß von 250 ml/min verwendet.

Wasserstoff und Sauerstoff

Bei der Suche nach optimalen Drücken für Wasserstoff und Sauerstoff kann davon ausgegangen werden, daß nur ein Maximum im Parameterraum existiert. Da bei anderen Geräten eine Zumischung beider Gase einen positiven Effekt auf die Emission hatte, ist eine glockenförmige Kurve in der dreidimensionalen Darstellung der Intensität in Abhängigkeit der beiden Reagenzgase zu erwarten. Eine einfache Abrasterung des Datenraumes wäre jedoch zu aufwendig, weshalb eine andere Strategie zur Annäherung an das Maximum gewählt wird. Zunächst wird eine Meßreihe entlang der Diagonalen der Basisfläche beschritten, das heißt daß H_2 - und O_2 -Druck gleichzeitig und in gleich großen Schritten variiert werden (Abbildung 11).

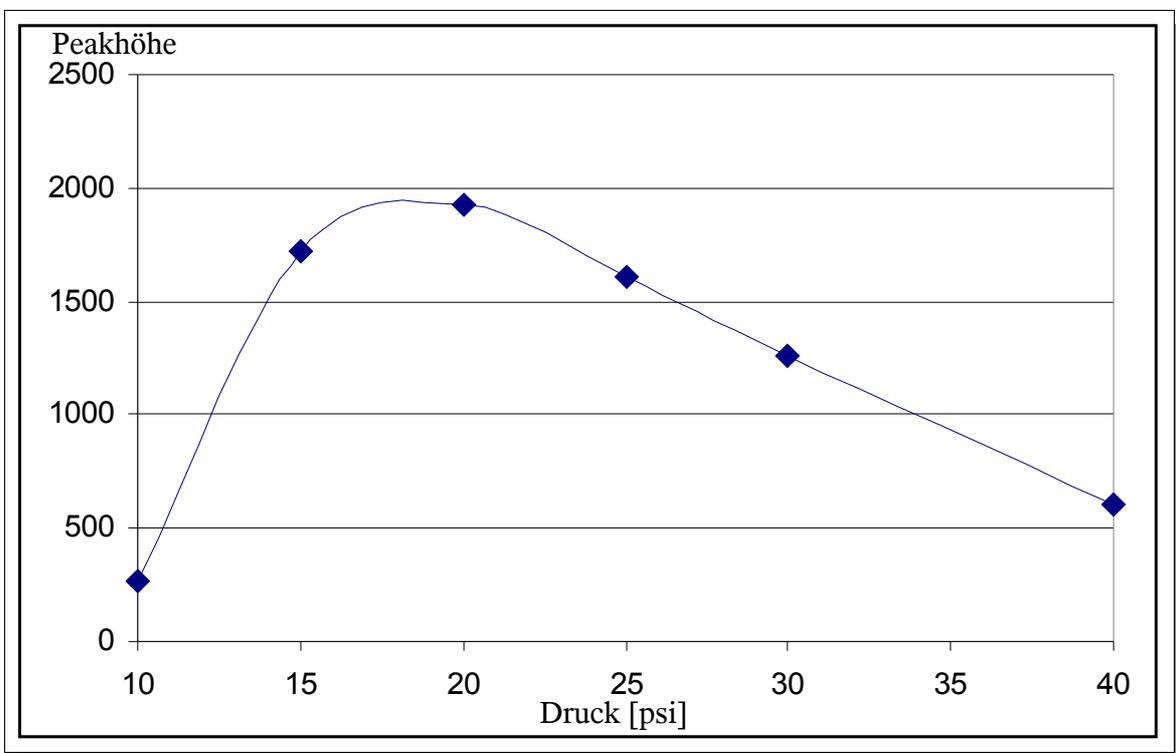


Abbildung 11: Emissionsintensität bei gleichzeitiger Variation von H_2 und O_2 [psi]

In der Grafik ist ein Maximum bei etwa 18 psi zu erkennen. Dies ist allerdings nur das Maximum entlang des gewählten Meßpfades, aber nicht notwendigerweise das Absolutmaximum. Um sich diesem weiter zu nähern, sind weitere Messungen nötig. Deshalb wird zunächst bei 18 psi Sauerstoffdruck der Wasserstoffdruck variiert (Abbildung 12).

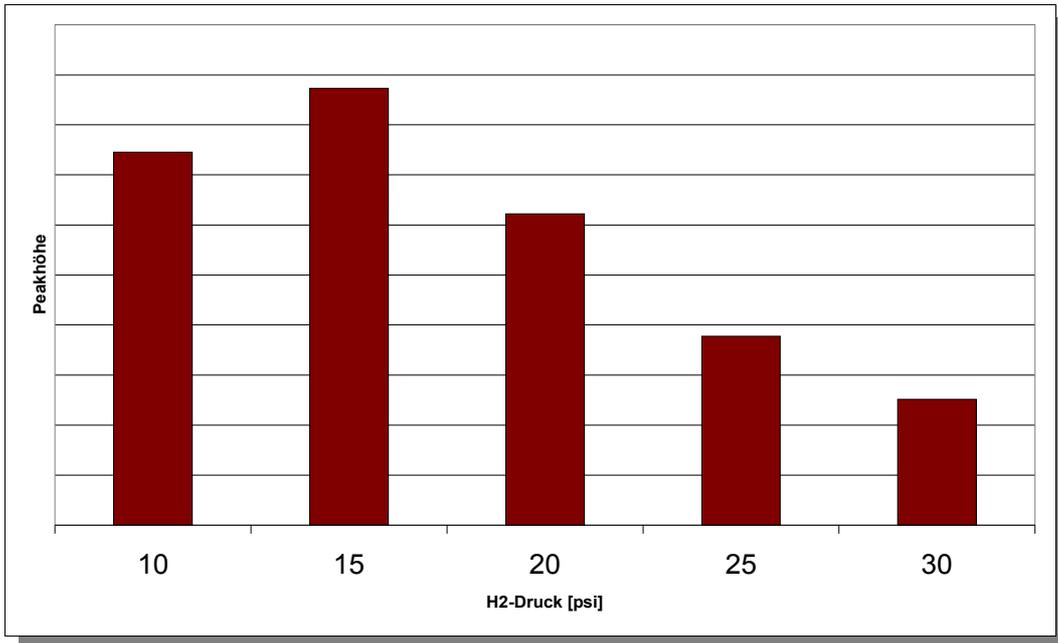


Abbildung 12: Emissionsintensität bei Variation des H₂-Drucks [psi]

Der optimale Wasserstoffvordruck liegt bei 15 psi.

Abschließend wird der Sauerstoffdruck variiert, wobei die zuvor ermittelten Werte für Wasserstoff und Helium konstant gehalten werden (Abbildung 13).

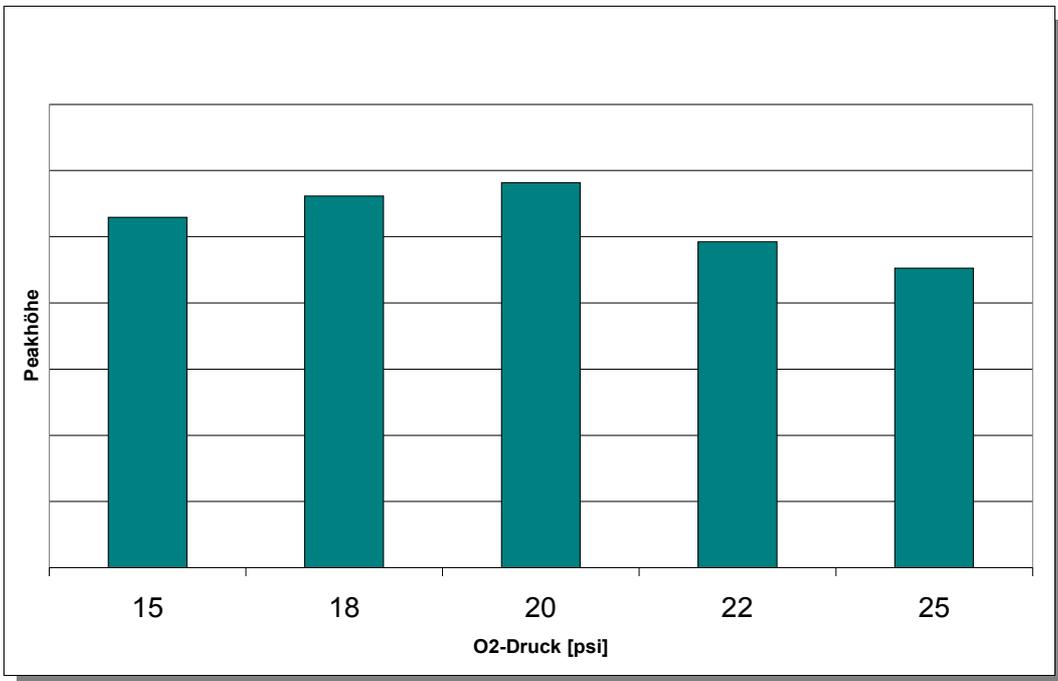


Abbildung 13: Emissionsintensität bei Variation des O₂-Drucks [psi]

Wie die Grafik zeigt, ist ein Sauerstoffvordruck von 20 psi optimal.

Die ermittelten Parameter werden als so gut erachtet, daß auf weitere Optimierungsschritte verzichtet wird. Die für alle folgenden Experimente verwendeten Werte sind in Tabelle 8 zusammengefaßt:

Tabelle 8: Optimierte Werte für die eisenselektive Detektion mit dem AED

He	O ₂	H ₂
250 ml/min	20 psi	15 psi

6.2.3 Optimierung der Injektion am GC-AED

Auswahl des KAS-Liners

Ebenso wie beim Splitlos-Split-Injektor wird auch beim KAS die Probe in einen Liner eingespritzt. Dieser hat jedoch deutlich kleinere Abmessungen, was einen Einfluß auf den Transfer der Analyten vom Injektor auf die Trennsäule haben kann. Während die Probe im Splitlos-Split-Injektor schlagartig verdampft, wird sie nach Injektion in den KAS zunächst als Flüssigkeitsfilm an der Wandung des Glasröhrchens gespeichert. Erst durch Aufheizen verdampfen die Probenbestandteile nach und nach, so daß kein schlagartiger Volumen- und Druckanstieg im Injektor auftritt. Deshalb kann das Linervolumen vergleichsweise klein bleiben, was schnelle Heizraten durch die kleine thermische Masse des Liners erlaubt.

Für kleine Injektionsvolumina von wenigen Mikrolitern kann ein Liner mit einer einzigen Einschnürung (engl. Baffle) verwendet werden, die ein Durchlaufen der Flüssigkeit bis in die Säule bzw. bis auf den Boden des Liners verhindert. Universeller ist jedoch ein Liner mit mehreren Einschnürungen, der durch die größere innere Oberfläche auch etwas größere Injektionsvolumina aufnehmen kann (bis zu ca. 20 µl). Bei stark kontaminierten Proben sowie zur LVI werden mit deaktivierter Glaswolle gefüllte Liner verwendet. Die Glaswolle kann aber auch die Verdampfung verzögern, was bei Optimierung der Injektionsparameter zu beachten ist. Außerdem sind die Schnitt- und Bruchkanten der Glasfasern nicht deaktiviert, so daß hier Absorption und Degradation verstärkt auftreten können.

Von Fa. Restek wird ein speziell beschichteter Liner mit Mehrfacheinschnürung angeboten, der eine geringere Oberflächenaktivität aufweisen und dadurch auch längere Standzeiten

ermöglichen soll (sog. Siltek[®]-Beschichtung). Ein zur Verfügung gestelltes Probeexemplar zeigte jedoch bei der Analyse von Ferrocenen keine nennenswerte Vorteile, da das Verdampfungsverhalten dieser Verbindungen unproblematisch zu sein scheint. Deshalb wurde für die in dieser Arbeit beschriebenen Experimente im allgemeinen ein herkömmlicher, mehrfach eingeschnürter Liner verwendet. Nur bei LVI und Lösungsmittelausblendung wurde mit Glaswolle gearbeitet.

Für die Optimierung am AED wurde ebenfalls die schon für den FID eingesetzte Lösung von je 10 µmol/l F3EE, 2FPE, PDPE und 4F2MPE in Cyclohexan (CH) benutzt.

KAS-Splitlos-Zeit

Zur Optimierung der Splitlos-Zeit wird o.g. Standardlösung bei Splitlos-Zeiten von 5 bis 60 Sekunden vermessen. Zur besseren Vergleichbarkeit sind in Abbildung 14 nicht die Peakflächen zu sehen, sondern die jeweiligen Prozentwerte, bezogen auf den Peakflächenwert bei 60 s Splitlos-Zeit.

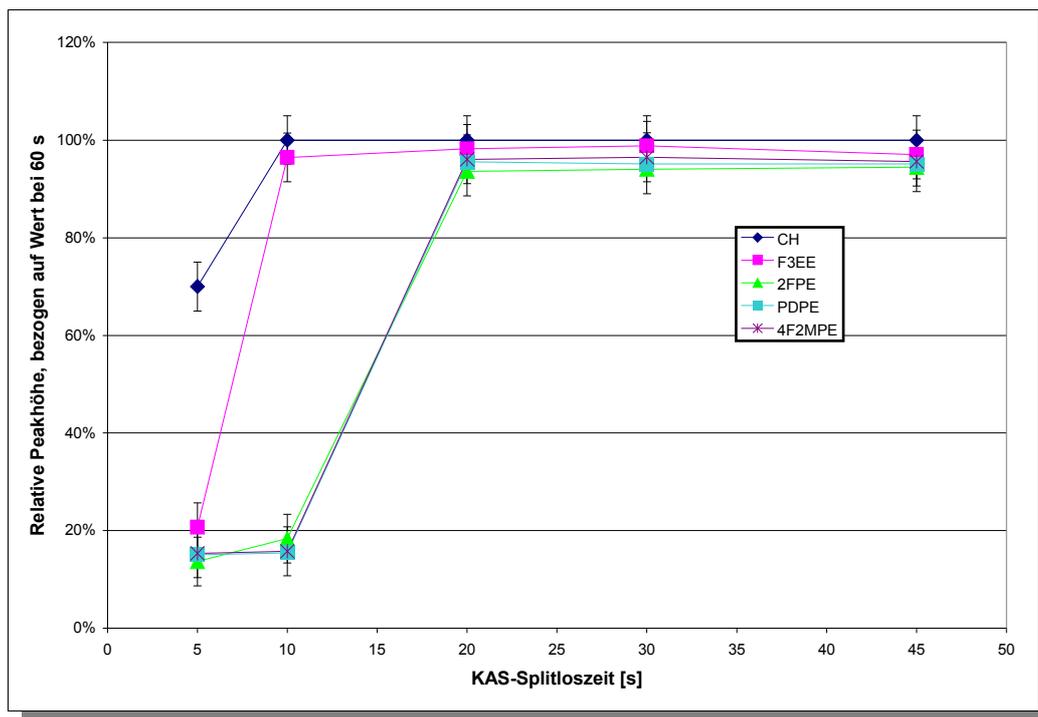


Abbildung 14: Effektivität der Überführung bei Variation der Splitlos-Zeit am KAS (n=3)

Bei Splitlos-Zeiten von 20 bis 60 Sekunden ist kein signifikanter Unterschied zu erkennen, die Überführung gelingt für alle Analyten nahezu gleich gut. Die Abweichungen sind dabei wesentlich geringer als beim GC-FID-System.

Bei unter 20 Sekunden sind die Werte der höhersiedenden Phenole deutlich verringert, während die Peaks von Lösungsmittel und F3EE noch weitgehend unbeeinflusst bleiben. Bei 5 Sekunden jedoch sind alle Analyten und sogar der Lösungsmittelpeak betroffen.

Das Experiment zeigt, daß 20 bis 60 Sekunden Splitlos-Zeit gleich gute Ergebnisse liefern. Für höhersiedende Analyten sowie durch Matrix belastete Proben sollte jedoch sicherheitshalber eine Splitlos-Zeit von mindestens 30 Sekunden gewählt werden.

KAS-Splitlos-Injektion mit Druckpuls (Pulsed splitless)

Die elektronische Drucksteuerung des Injektors ermöglicht eine Erhöhung des Gasdrucks während der Injektionsphase, um einen vollständigen Transfer der Analyten auf die Säule zu fördern. Nach dem Transfer wird der Druck wieder auf den Wert abgesenkt, der für den gewünschten Trägergasstrom notwendig ist. Üblicherweise wird während der Injektion ein Druck gewählt, der dem eineinhalb- bis zweifachen Säulenvordruck zu Beginn der chromatographischen Trennung entspricht. Um diesen Injektionsmodus zu evaluieren, wird der Standard einmal ohne Druckpuls und einmal mit einem Puls von 244,52 kPa bis 1,00 min nach Injektion vermessen. Der Säulenvordruck beträgt danach 148 kPa. Das Splitventil wird nach 1,00 min für einen Splitfluß von 20 ml/min geöffnet.

In den Chromatogrammen einer Lösung von F3EE, 2FPE, PDPE und 4F2MPE in Cyclohexan stimmen die Analytsignale in Retentionszeit, Peakhöhe und -form für beide Injektionsmodi sehr gut überein (Chromatogramme hier nicht gezeigt). Lediglich die Lösungsmittelpeaks differieren, wie aus Tabelle 9 zu entnehmen ist.

Tabelle 9: Retentionszeit und Peakbreite des Lösungsmittelpeaks bei Injektion mit und ohne Druckpuls

<i>Injektionsmodus</i>	<i>Retentionszeit [min]</i>	<i>Peakbreite [min]</i>
Pulslos	2,247	0,289
Mit Druckpuls	1,864	0,416

Der Druckpuls verursacht also eine frühere Elution, führt aber zu einem verbreiterten Lösungsmittelpeak. Dies ist zu beachten, wenn die Lösungsmittelausblendzeit des AED-Plasmas (!) möglichst kurz bemessen werden soll. Auf die Überführung der Ferrocenderivate auf die Säule oder deren chromatographische Trennung hat der Druckpuls jedoch keine Auswirkungen.

Injektionstiefe

Der Autosampler MPS2 erlaubt eine programmierte Einstellung der Einstichtiefe der Nadel in den Injektorkopf, was sich auf die Güte der Injektion auswirken kann. Deshalb wird eine Lösung von 10 $\mu\text{mol/l}$ F3EE, 2FPE, 4F2MPE, PDPE in Cyclohexan bei Einstichtiefen von 22 und 44 mm vermessen.

Peakform, -Höhe und -Fläche, sowie Retentionszeit werden von der Einstichtiefe nicht signifikant beeinflusst. Die Einstichtiefe hat also insgesamt keinen nennenswerten Effekt auf die Güte der chromatographischen Trennung, weshalb der Standardwert von 44 mm verwendet werden sollte.

Lösungsmittelausblendung und Large Volume Injection

Bei Lösungsmittelausblendung wird die gesamte Probe mit größtmöglicher Injektionsgeschwindigkeit aufgegeben, was bei Volumina bis 5 μl möglich ist. Die Aufgabe erfolgt bei geöffnetem Splitausgang und einer Temperatur von mindestens 30 K unter dem Siedepunkt des verwendeten Lösungsmittels. Dadurch soll das Lösungsmittel, das unter diesen Bedingungen einen merklichen Dampfdruck besitzt, mit dem Gasstrom ausgespült werden, während die schwerflüchtigen Analyten im Injektor verbleiben.

Für Cyclohexan ergibt sich bei 50 °C und 143 kPa Säulenvordruck bei 100 ml/min Splitfluß nach *Gleichung 1* eine Verdampfungsgeschwindigkeit von 0,988 $\mu\text{l/s}$.

Um den Korrekturfaktor für den theoretisch berechneten Wert der Injektionsgeschwindigkeit zu ermitteln, wird zunächst ein konstantes Injektionsvolumen von 5 μl bei variierender Ausblendzeit vermessen. Zur Auswertung wird die Peakfläche des Lösungsmittels pro Mikroliter Injektionsvolumen betrachtet. Da sich 5 μl nicht splitlos messen lassen, wird hierfür der Wert der Splitlos-Injektion von 1 μl als Vergleichswert angegeben. Dies ist in der Grafik als gestrichelte Linie kenntlich gemacht. Es ergibt sich die in Abbildung 15 abgebildete Kurve.

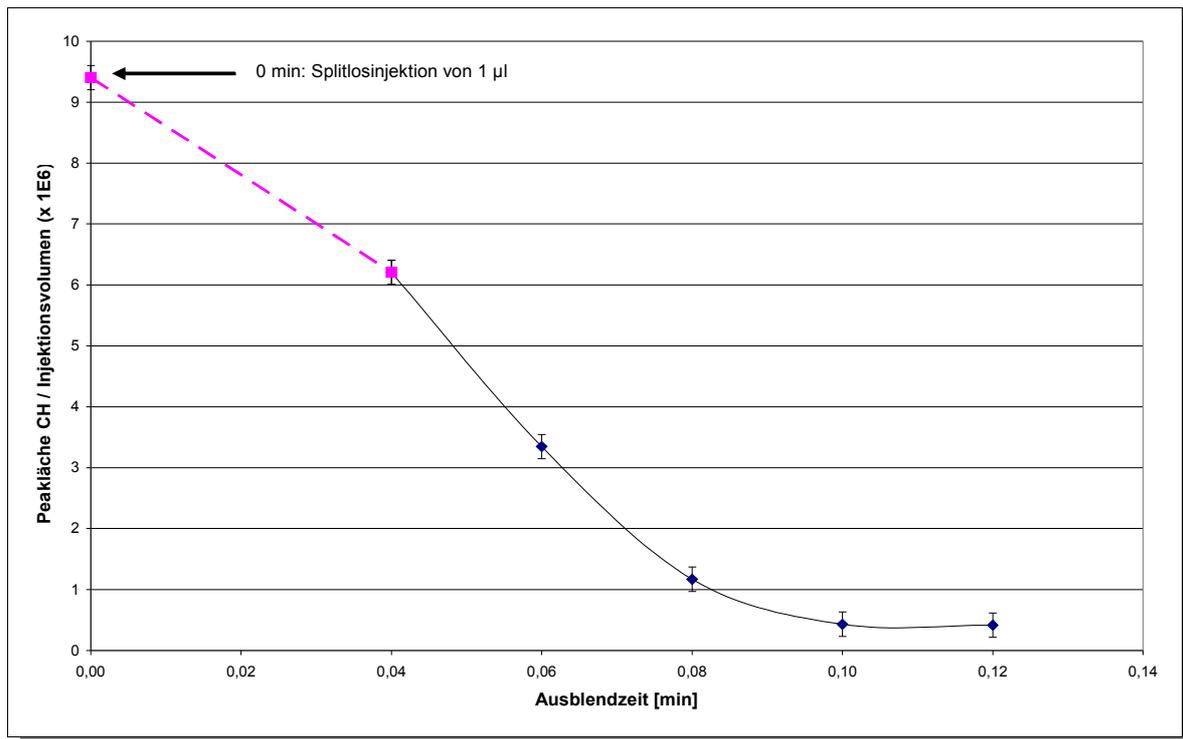


Abbildung 15: Lösungsmittelausblendung bei verschiedenen Ausblendzeiten (5 µl Cyclohexan)

Aus der berechneten, unkorrigierten Injektionsgeschwindigkeit sollte die Verdampfung nach 0,085 min abgeschlossen sein. In der Grafik ist das Einschwenken der Kurve auf ein Minimum jedoch erst ab 0,10 min erkennbar. Daraus ergibt sich ein Korrekturfaktor von 0,8. Dieser stimmt exakt mit dem in [57] für andere Analyten ermittelten überein.

Zu den berechneten Ausblendzeiten wird für die folgenden Experimente noch eine Äquilibrierungszeit von 0,01 min hinzuaddiert. Dies ergibt den in der Gerstel® MASTer-Software als „Purge Flow To Split Vent-Time“ einzutragenden Wert. Bei Volumina bis 5 µl wird mit Lösungsmittelausblendung gearbeitet, d.h. die gesamte Probe wird mit höchstmöglicher Geschwindigkeit injiziert (hier: 50 µl/s). Ab 10 µl muß LVI benutzt werden, wobei die Probenlösung (F3EE, 2FPE, PDPE, 4F2MPE in Cyclohexan) mit der Geschwindigkeit der Lösungsmittelverdampfung injiziert wird. Es werden die in Tabelle 10 angegebenen Messungen durchgeführt (Splitlos-Zeit je 1 min):

Tabelle 10: Parameter für verschiedene Injektionsmodi bei gleicher Stoffmenge

Modus	Inj. Volumen [μl]	Molarität [$\mu\text{mol/l}$]	Inj. Geschwindigkeit [$\mu\text{l/s}$]	Ausblendzeit [min]
LM-Ausblendung	1	10	0,00	0,03
	2	5		0,05
	5	2		0,11
Large Volume Inj.	10	1	0,79	0,22
Splitlos	1	10	50,00	0,00

Zuerst werden die Flächen des Lösungsmittelpeaks betrachtet, um die Vollständigkeit der Lösungsmittelentfernung zu begutachten. Zum Vergleich wird die LM-Peakfläche von 1 μl Cyclohexan bei splitloser Injektion herangezogen und damit die Peakfläche des Lösungsmittelpeaks bei Messung ohne Ausblendung interpoliert. Das Verhältnis von gemessener Peakfläche zu berechneter ergibt den Anteil an nicht ausgeblendetem Lösungsmittel, die Differenz zu 100 % die Effektivität der LMA bzw. LVI (Abbildung 16).

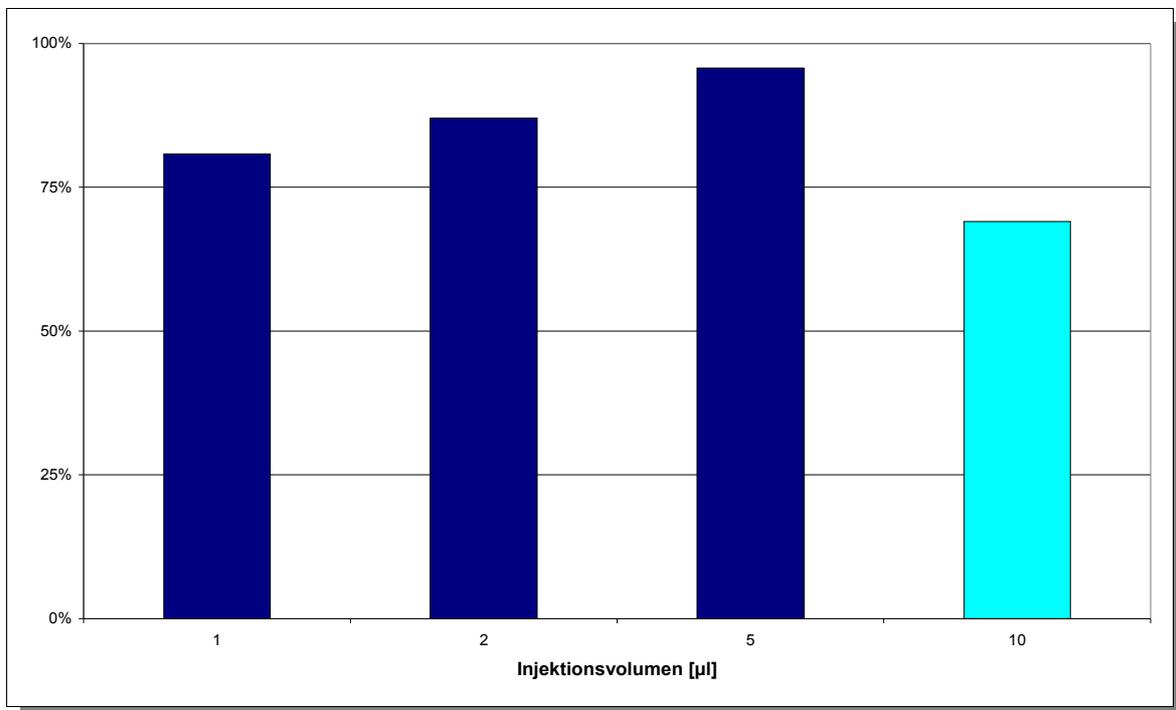


Abbildung 16: Effektivität [%] der LM-Ausblendung (1-5 μl) bzw. Large Volume Inj. (10 μl)

Bei Lösungsmittelausblendung wird der überwiegende Teil des Lösungsmittels erfolgreich entfernt. Interessanterweise ist die Peakfläche der Restmenge bei Lösungsmittelausblendung praktisch unabhängig vom Injektionsvolumen, was sich in einer steigenden Effektivität bei steigendem Injektionsvolumen niederschlägt.

Bei LVI von 10 μl ist die Abtrennung nicht so erfolgreich, hier werden lediglich etwa 70% ausgeblendet. Die Restmenge entspricht somit immerhin dem Peak von 3 μl bei splitloser Injektion. Dies zeigt deutlich, daß die Kalkulation der Ausblendzeit lediglich eine Näherungsrechnung ist und für jede Fragestellung kritisch überprüft werden muß.

In den (hier nicht gezeigten) Chromatogrammen ist im übrigen ein störendes Peakmuster einer homologen Reihe zu beobachten, dessen Intensität mit dem injizierten Volumen korrespondiert. Es könnte sich hierbei um Silane handeln, die aus dem Säulenmaterial oder von der Deaktivierung des Liners bzw. der darin enthaltenen Glaswolle stammen könnten. Entweder könnten diese durch das Lösungsmittel mobilisiert werden, oder bei der hier länger dauernden Injektion könnte Luft in den Injektor gelangen, die dann zu einem teilweisen Abbrand des Säulenfilms führt. Dieser Effekt ist bei eisenselektiver Detektion zwar nicht störend, bei massenselektiver Detektion besteht allerdings die Gefahr von Masseninterferenzen. Außerdem kann die Lebensdauer der Trennsäule leiden. Der tatsächliche Grund für dieses Phänomen konnte bisher nicht geklärt werden.

Um zu beurteilen, ob F3EE als Leichtflüchter unter den Ferrocenestern verloren geht, werden die Peakflächen der Analyten auf die von 4F2MPE normiert. Ebenso wird die Anzahl der Kohlenstoffatome pro Verbindung berücksichtigt, da der Response des FID linear hiervon abhängt. Die so ermittelten Werte sind in Abbildung 17 graphisch gegen das Injektionsvolumen aufgetragen.

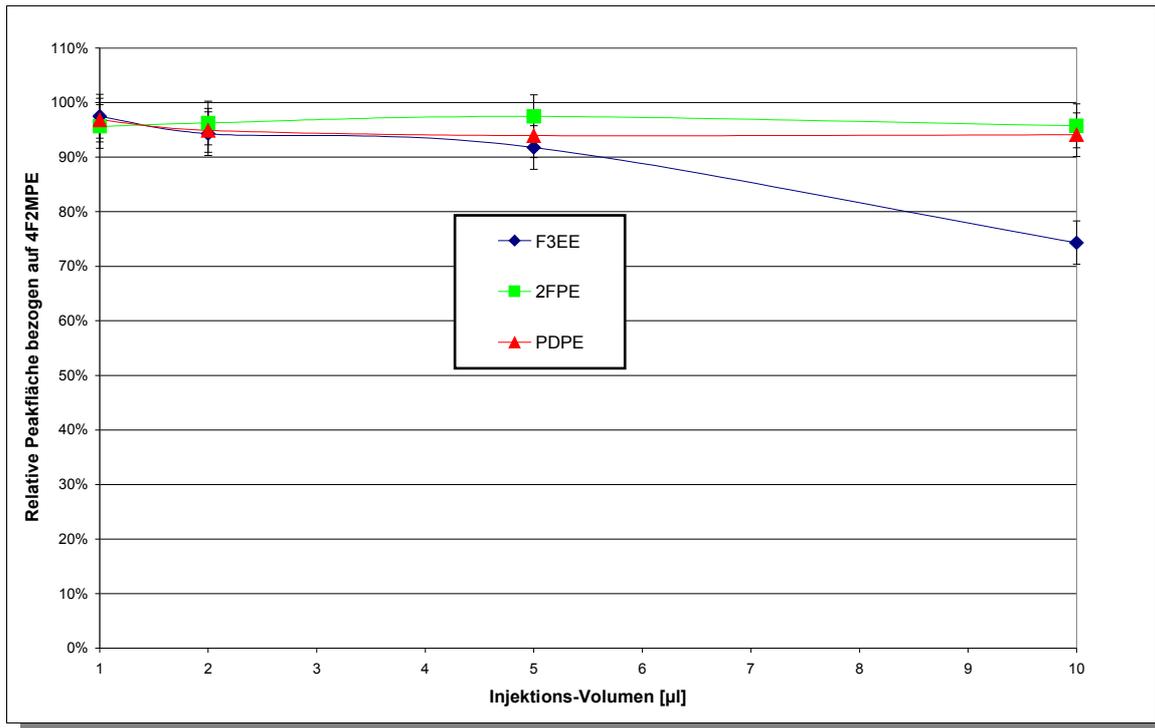


Abbildung 17: Peakfläche bei LVI (auf 4F2MPE und n_c normiert)

Es zeigt sich, daß bei Lösungsmittelausblendung (1-5 µl) die Überführung auf die Säule bei allen Analyten nahezu gleich gut funktioniert. Bei 10 µl LVI jedoch ist die Peakfläche von F3EE deutlich verringert, während die anderen Analyten unverändert gut überführt werden. Bei LVI kurzkettiger Alkoholderivate ist also Vorsicht geboten, während Phenolderivate hervorragend für LVI geeignet sind. Für die Quantifizierung von Phenolverbindungen können Standards auf Alkoholbasis dann natürlich nicht verwendet werden.

6.2.4 Verringerung der Strukturabhängigkeit des Response

Ferrocencarbonsäureester zeigen eine erstaunlich große Strukturabhängigkeit des Response. Dieser Effekt widerspricht der Theorie der Atomemission, nach der ein streng linearer Zusammenhang zwischen Konzentration und Intensität des emittierten Lichtes zu erwarten ist. Die Ursache für diese Abweichung ist trotz intensiver Untersuchungen bisher nicht bekannt [53]. In dieser Arbeit wird der Frage nachgegangen, ob bei zu großer Belastung des Plasmas mit Kohlenwasserstoffen die Atomisierung nicht mehr vollständig gewährleistet werden kann, so daß es eventuell zur Bildung von Eisencarbid oder ähnlich temperaturstabilen Eisenverbindungen kommt. Diese würden wahrscheinlich nicht mehr

zum Leuchten angeregt werden⁶, so daß es zu einem Minderbefund kommt. Für die Kohlenstoffemission wurde jedenfalls ein Einfluß des Sauerstoffgehalts auf den elementaren Response von Phenolen berichtet [63].

Deshalb soll untersucht werden, ob eine Erhöhung der Sauerstoffzumischung zum Säuleneluatstrom die Vollständigkeit der Verbrennung fördern und somit den Response steigen lassen kann. Wie bereits erwähnt, ist dann allerdings eine Reduktion der Emissionsintensität die Folge, was jedoch bei höheren Analytkonzentrationen akzeptabel sein könnte.

Zur Ermittlung der Abhängigkeit des Responses von der Sauerstoffzumischung wird folgendes Experiment durchgeführt: Eine Lösung von insgesamt 26 Phenolferrocenestern in Toluol wird mehrfach bei steigendem Sauerstoffdruck vermessen. Die Konzentrationen betragen je 1 mg/l. Helium Makeup-Fluß sowie Wasserstoffdruck werden während der Messungen konstant gehalten (250 ml/min bzw. 15 psi).

In Abbildung 18 sind die Peakflächen der einzelnen Analyten in Abhängigkeit vom Sauerstoffdruck aufgetragen. Da bei der verwendeten Säule (mit 50% Phenylgruppen) Coelutionen einzelner Peaks auftreten, werden deren Flächenwerte durch die Anzahl der coelutierenden Verbindungen geteilt. Deutlich sichtbar ist die starke Abhängigkeit der Peakfläche von der Höhe des Sauerstoffdrucks, mit zunehmendem Druck sinken die Peakhöhen kontinuierlich ab. Die Kurvenformen ähneln sich sehr, lediglich Peak 10 und 11 zeigen nennenswerte Abweichungen bei niedrigen Drücken.

Um genauer betrachten zu können, ob sich der Response einzelner Verbindungen bei steigendem Sauerstoffdruck ändert, sind in Abbildung 19 die Peakflächen auf die von 4nNPE normiert.

⁶ Genauer gesagt kann die *Eisen*emission nicht mehr angeregt werden.

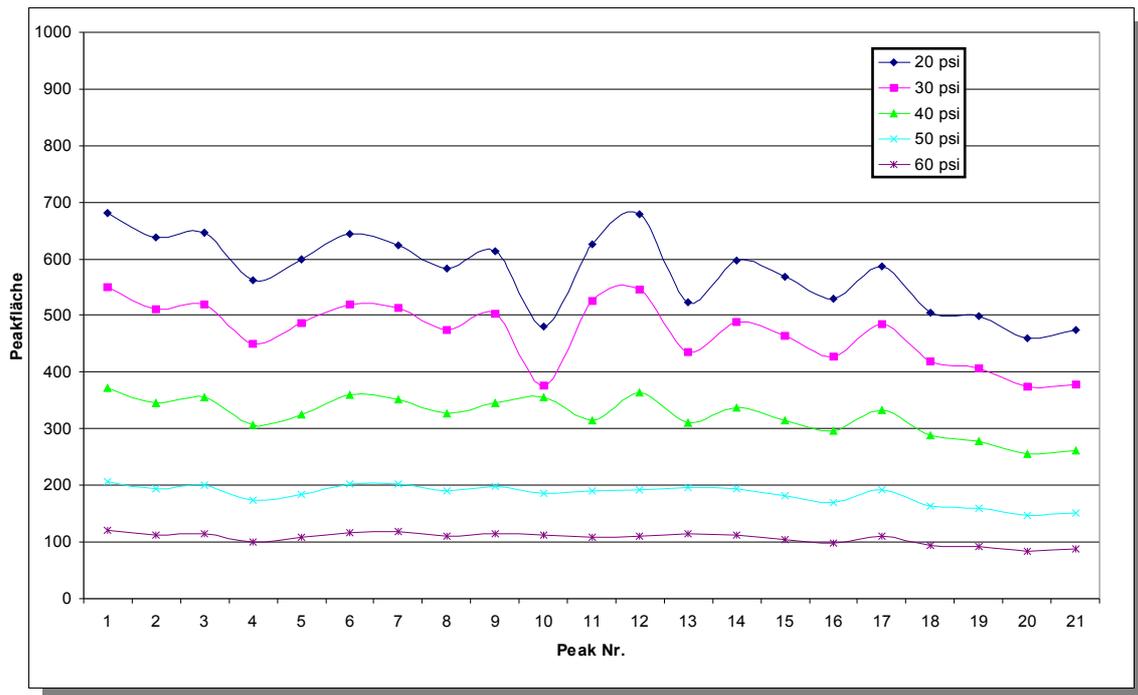


Abbildung 18: Peakfläche von APes in Abhängigkeit von pO₂ (Peak Nr. 1: P, 2: 2MP, 3: 3MP, 4: 4MP, 5: 2EP, 6: 2iPP, 7: 25DMP & 26DMP & 3EP, 8: 35DMP, 9: 24DMP & 2nPPE, 10: 4EP, 11: 23DMP & Thym, 12: 34DMP, 13: 246TMP, 14: 4iPP, 15: Carv, 16: 236 & 235TMP, 17: 4nPPE, 18: 4sBuP, 19: 345TMP, 20: 4nPeP, 21: 4nNPE); n=3.

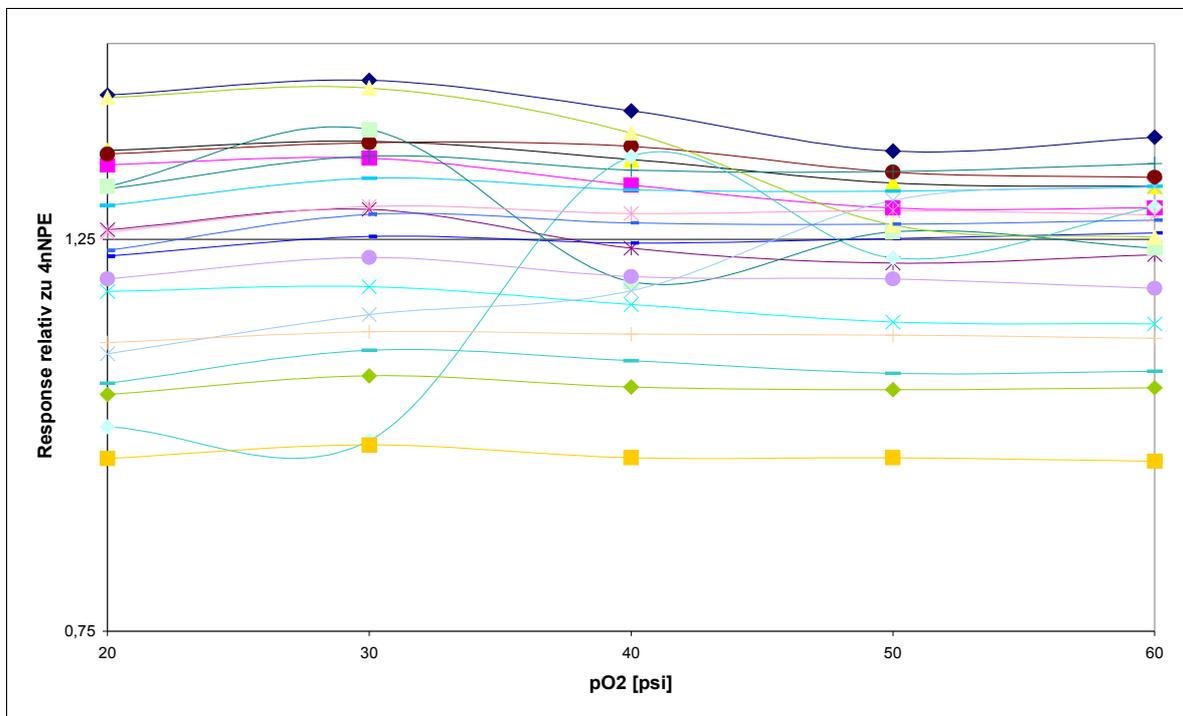


Abbildung 19: Response in Abhängigkeit von pO₂; auf 4nNPE normiert

Die Mehrzahl der Responsekurven verläuft waagrecht. Die Meßwerte, die diesem Verlauf nicht folgen, zeigen keinen einheitlichen Verlauf, so daß hier von statistischen Fehlern auszugehen ist. Insgesamt zeigt sich, daß der Verlauf der Responsekurven weitgehend unabhängig vom Sauerstoffdruck ist. Aus diesem Grunde wird weiterhin der zuvor ermittelte Sauerstoffdruck für eine maximal intensive Emission verwendet.

6.2.5 Vergleich der Nachweisgrenzen am AED

Mit dem für diese Arbeit verwendeten Gerät konnte mit den optimierten Parametern eine Nachweisgrenze von 50 fg/s für 2FPE, PDPE und 4F2MPE erreicht werden. *Rolfes* hat ebenfalls Werte für den HP5921A sowie einen G2350A einer anderen Arbeitsgruppe bestimmt [53]. All diese Werte sind in Tabelle 11 zusammengefaßt und Angaben des Herstellers gegenübergestellt:

Tabelle 11: Vergleich der Parameter und Nachweisgrenzen verschiedener AED-Geräte

Modell	Gerät	Reagenzgase (Fluß bzw. Druck)				NWG [fg Fe/s]
		He ⁷ [ml/min]	H ₂ [psi]	O ₂ [psi]	N ₂ / CH ₄ [psi]	
G2350A	verwendetes Gerät	250	15	20	0	50
	Herstellerangaben	k.A.	14	25	25	100
	<i>Rolfes</i>	225	30	30	0	20
<i>HP5921A</i>	<i>Rolfes</i>	200	5,2 bar	1,5 bar	0	18

Unglücklicherweise fehlt eine Herstellerangabe zum Helium Makeup-Fluß, doch hat gerade dieser Parameter größte Auswirkungen auf die Emission. Außerdem ist unverständlich, weshalb hier Methan in Stickstoff als Reagenzgas zugemischt wird. Dieses Gas wird normalerweise nur zur Erzeugung von Molekülemissionen verwendet, z.B. bei Messung der CN-Emission zur Bestimmung von Stickstoff. In allen anderen Fällen führt eine Methanbeimischung zu einer unerwünschten Mehrbelastung der Pneumatik durch Ruß.

⁷ Im Helium Makeup-Fluß sind je 30 ml/min 'Spectrometer window purge' für den Gasvorhang am Spektrometerfenster enthalten.

Die Werte für das alte Modell HP5921A sind nicht direkt mit denen für das Modell G2350A zu vergleichen, da hier durch Verwendung anderer Flußrestriktoren der gleiche *Gasvordruck* einen anderen *Gasfluß* bewirkt. Diese Werte sind deshalb nur der Vollständigkeit halber angegeben.

Im Vergleich fällt auf, daß die ermittelte Nachweisgrenze für das verwendete Gerät etwa doppelt so gut wie die Herstellerangabe ist. Die Werte des von *Rolfes* evaluierten Gerätes sind etwa fünfmal so gut wie die Sollvorgaben. Hierfür müssen Gerätevariationen verantwortlich sein, da die Gasflüsse individuell optimiert wurden.

6.3 Optimierung der Injektion am GC-MSD

An dieser Stelle wird nur die Optimierung der Injektionsbedingungen für das GC-Ion Trap-MS beschrieben. Die Optimierung der Detektion findet sich in einem eigenen Kapitel, in dem auch die massenspektrometrischen Charakteristika der Ferrocenderivate ermittelt werden.

Der GC-MSD besitzt einen Splitlos-Split-Injektor, der die gleichen Liner wie der GC-FID verwendet. Nach Herstellerangaben soll die Heizung jedoch besonders effektiv sein, weshalb die für den FID ermittelten Werte nicht direkt übernommen werden, sondern individuell überprüft werden. Dabei kann der Lösungsmittelpeak nicht mit erfaßt werden, da dieser den MSD überlasten würde. Ein Flammenionisationsdetektor steht hierzu, anders als beim GC-AED-System, leider nicht als Alternative zur Verfügung.

Zur Überprüfung wurde mit der bereits verwendeten Lösung von Ferrocenstandards gearbeitet. Die so erhaltenen Werte ähneln denen des GC-FID, so daß hier auf eine graphische Darstellung verzichtet werden kann. Ein besonderer Effekt, wie ihn der Hersteller verspricht, kann dabei nicht festgestellt werden. Insgesamt sind auch hier 20 Sekunden Splitlos-Zeit für einen vollständigen Transfer der Analyten auf die Säule ausreichend. Bei Realproben sollte zur Sicherheit eine Zeit von 30 Sekunden gewählt werden, da die Matrixbelastung die Verdampfung verzögern könnte.

6.4 Zusammenfassung

Die Installation eines neuen GC-AED-Systems mit KAS-Injektor und Autosampler machte eine umfangreiche Erprobung und Optimierung erforderlich. Im Zuge dieser Arbeiten

wurden auch die Injektionsbedingungen für GC-FID und GC-Ion Trap-MSD optimiert.

Die Arbeiten am AED offenbarten einen Spektrometerfehler, der speziell bei Eisen nicht automatisch durch das Gerät korrigiert werden kann. Deshalb war eine umfangreiche manuelle Korrektur von Softwareparametern erforderlich. Außerdem wurde deutlich, daß das Gerät mindestens quartalsweise mit der in diesem Kapitel beschriebenen Methode überprüft werden muß.

Die systematische Optimierung der Plasmagase Helium, Wasserstoff und Sauerstoff hat zu Nachweisgrenzen geführt, die halb so hoch wie die Herstellerangaben sind.

Es konnte außerdem gezeigt werden, daß die Strukturabhängigkeit des Responses sich nicht durch eine Erhöhung des Sauerstoffzustroms beeinflussen läßt. Dieses Ergebnis widerspricht der These, daß der Struktureinfluß durch eine unvollständige Verbrennung der Analyten im Plasma hervorgerufen werden könnte. Die endgültige Klärung dieses Phänomens bleibt jedoch weiterhin offen.

Die Evaluierung des Kaltaufgabesystems hat ebenfalls interessante Ergebnisse geliefert: So zeigten weder die Anwendung eines Druckpulses bei der Injektion noch eine Verringerung der Nadeleinstichtiefe in den Injektor einen Effekt auf die Peakform. Lediglich die Retentionszeit variierte geringfügig, was bei sehr kurzen Lösungsmittelausblendzeiten des GC-AED zu beachten ist.

Bei der Lösungsmittelausblendung mit dem KAS stimmen die experimentell ermittelten Ausblendzeiten exakt mit der Berechnung anhand von Literaturwerten überein. Sowohl Alkohol- als auch Phenolderivate sind sehr gut zur Lösungsmittelausblendung geeignet.

Bei Large Volume Injection von 10 µl Volumen kam es zu einer beginnenden Diskriminierung eines Alkoholstandards. Phenolderivate waren hiervon jedoch nicht betroffen. Somit sind Phenolderivate gut zur Large Volume Injection geeignet. Vor allem bei Derivaten kurzkettiger Alkohole scheint im Bedarfsfall eine individuelle Anpassung nötig zu sein, z.B. durch Anwendung sehr tiefer Injektionstemperaturen.

Die ermittelten Einstellungen gewährleisteten eine quantitative Überführung der Analyten auf die Trennsäule und bilden so eine sichere Basis für die nachfolgenden Experimente.

7 Allgemeine und vorbereitende Experimente

7.1 *Synthese von Ferrocencarboxyderivaten*

Die Synthese von Ferrocenderivaten als Reinsubstanzen ist sowohl zur Herstellung von Standards für die Chromatographie als auch zur Untersuchung der charakteristischen Fragmentierungsmuster im Massenspektrometer nötig. Dazu wurden repräsentative Vertreter folgender Analytklassen ausgewählt:

- Chlorphenole
- Nitrophenole
- Anilin
- Endokrin wirksame Phenolen
- Hydroxy-PAH
- Dihydroxyverbindungen

Diese wurden gemäß der im Anhang aufgeführten allgemeinen Arbeitsvorschrift umgesetzt. Die Reinheit wurde mit dem GC-FID sowie -AED überprüft und liegt in jedem Fall über 95 %, sofern nicht anders angegeben. Auf eine Bestimmung der Ausbeuten wurde bewußt verzichtet, da die Standards i.A. im Milligramm-Maßstab synthetisiert wurden, so daß eine Auswaagebestimmung nur mit inakzeptabel großem Fehler möglich wäre. Die Retentionsfaktoren (R_f) bei Dünnschichtchromatographie mit Kieselgel und Dichlormethan als Laufmittel sind im Anhang aufgeführt. Sofern nicht anders angegeben, fallen alle Produkte als tiefrote Kristalle an. Fein zermahlen erscheinen diese in stumpfem Orange.

7.1.1 Chlorphenol-Ferrocenderivate

Von den Chlorphenolen wurde je ein Vertreter der Cl₂- bis Cl₅-Phenole ausgewählt, außerdem alle drei Monochlor-Isomere (Abbildung 20). Die Abkürzung "FCE" in den Abbildungen steht dabei für "Ferrocenester".

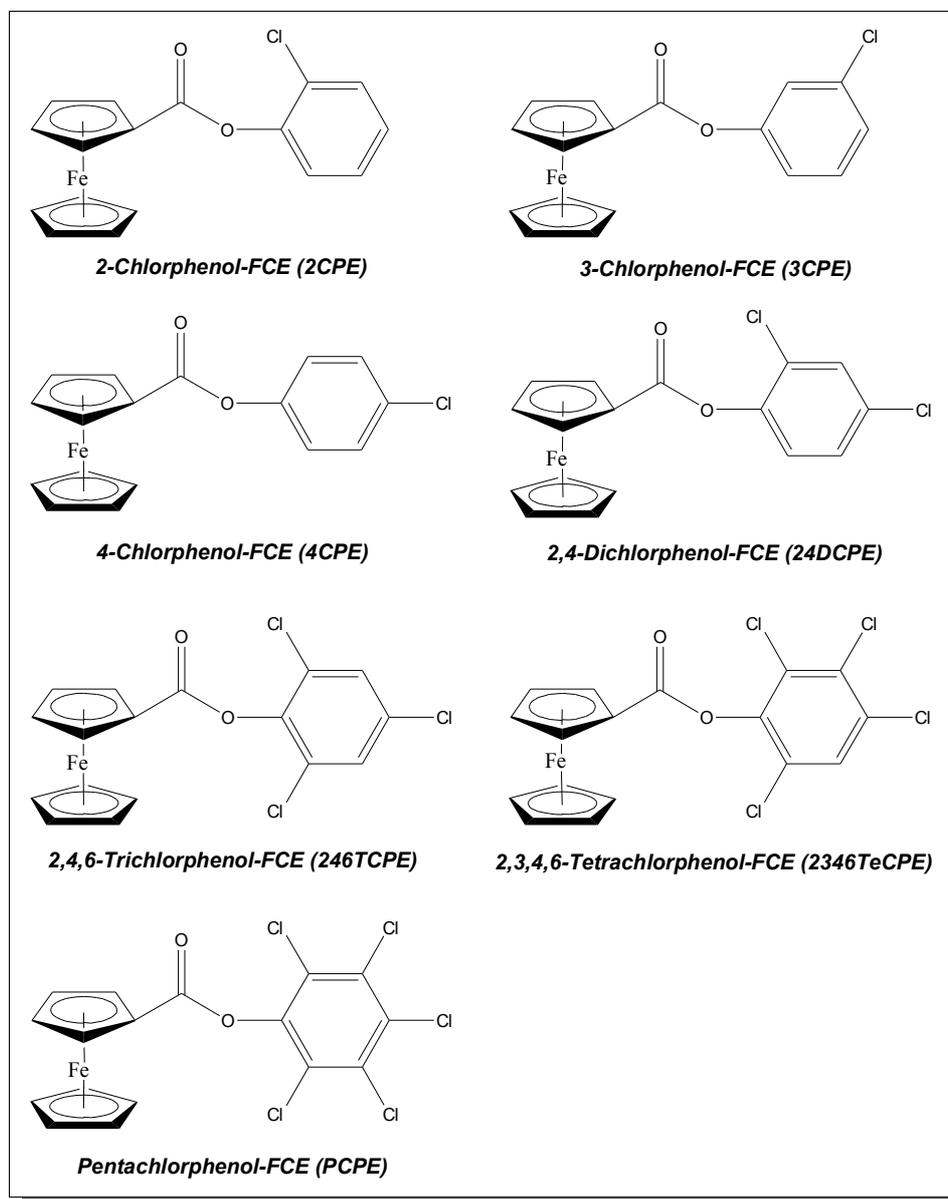


Abbildung 20: Synthetisierte Chlorphenolferrocenester (Cl₁-Cl₅-FCEs)

7.1.2 Mononitrophenol-Ferrocenderivate

Von allen drei Mononitrophenolen wurden die die korrespondierenden Ferrocencarbonsäureester synthetisiert (Abbildung 21).

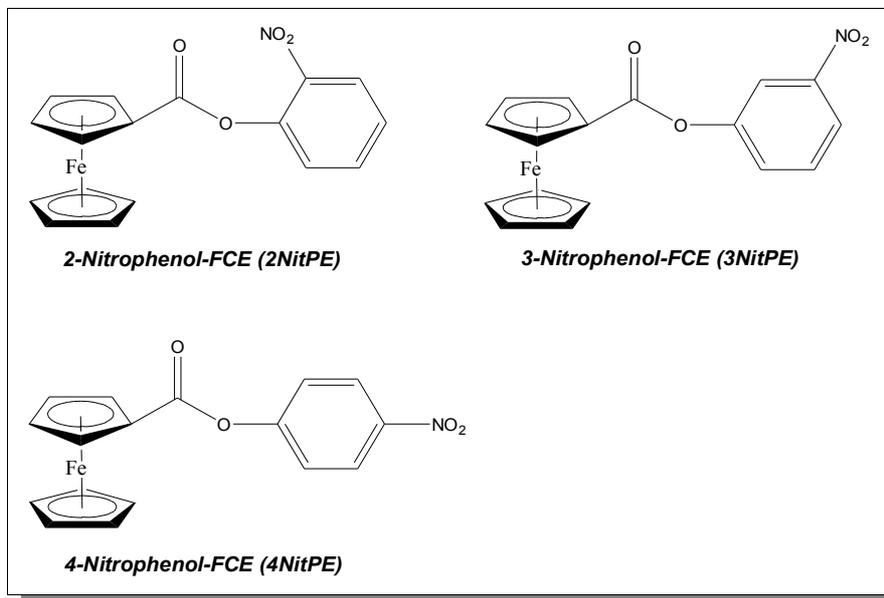


Abbildung 21: Synthetisierte Nitrophenolferrocenester

Die massenspektrometrischen Untersuchungen dieser Standards, auf die später noch näher eingegangen wird, ließen Zweifel an der Identität der Produkte aufkommen. Deshalb wurden von allen drei Produkten ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren aufgenommen. Die entsprechenden Daten sind im Angang aufgeführt und bestätigen die angenommene Struktur.

7.1.3 N-Phenylferrocencarboxamid

Um die prinzipielle Eignung von Ferrocencarbonsäurechlorid zur Derivatisierung von Aminen zu überprüfen, wurde das entsprechende Derivat von Anilin synthetisiert (Abbildung 22).

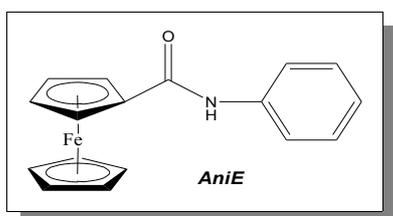


Abbildung 22: Synthetisierter Ferrocenstandard von Anilin
(N-Phenylferrocencarboxamid, AniE)

7.1.4 Ferrocenderivate von Hydroxy-PAH

Als Repräsentanten für hydroxylierte polycyclische Kohlenwasserstoffe wurde je eine zwei- bis vierkernige Verbindung ausgewählt und folgende Standards synthetisiert:

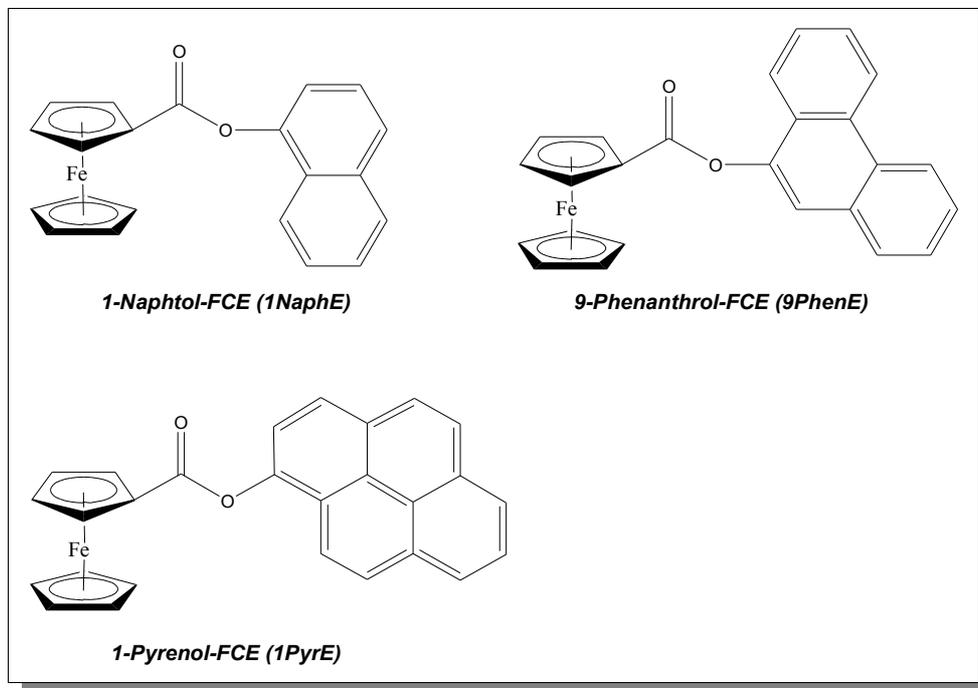


Abbildung 23: Synthetisierte Hydroxy-PAH-Ferrocenester

7.1.5 Ferrocenester endokrin wirksamer Phenole

Zu den endokrin wirksamen Substanzen gehören insbesondere Nonylphenol, *tert*-Octylphenol⁸ und Phenylphenol (Hydroxybiphenyl). Daraus wurden folgende Standards synthetisiert:

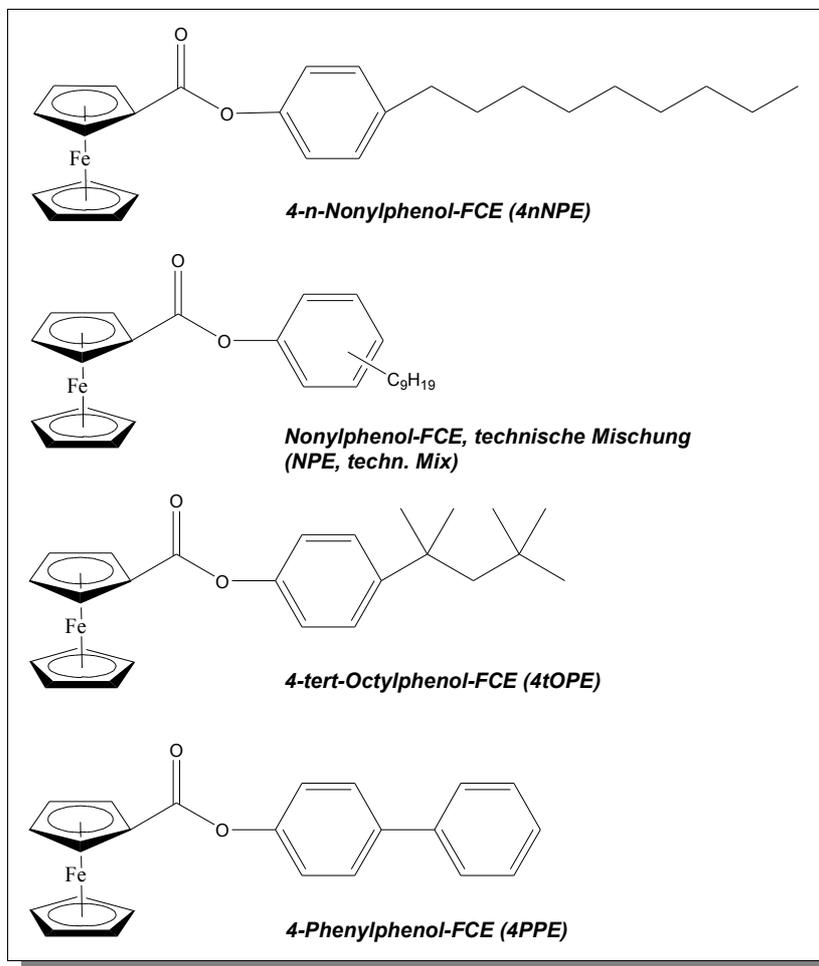


Abbildung 24: Synthetisierte Ferrocenester endokrin wirksamer Phenole

„Nonylphenolferrocencarbonsäureester (technische Mischung)“ ist ein Isomerengemisch von Alkylphenolen mit neun Kohlenstoffatomen in der Alkylseitenkette. Diese Mischung wird zur industriellen Synthese von Nonylphenolpolyethoxylaten eingesetzt, die als Detergenzien genutzt werden. Das daraus hergestellte Derivat fällt auf Grund seiner uneinheitlichen Zusammensetzung nicht kristallin, sondern als tiefrote, hochviskose Flüssigkeit an.

⁸ 4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)-phenol

7.1.6 Ferrocenderivate von Dihydroxyverbindungen

Prinzipiell sollten auch Dihydroxyverbindungen für die Derivatisierung mit FCC geeignet sein. Allerdings sind hier einige Probleme zu erwarten: Das Vorhandensein von zwei Hydroxygruppen kann bei unvollständigem Reaktionsumsatz zu bis zu drei verschiedenen Produkten führen. Insbesondere zur Quantifizierung müßte das genaue Produktverhältnis bekannt sein, was aber kaum reproduzierbar sein dürfte. Außerdem wird durch die verringerte Reaktionsausbeute auch die Nachweisgrenze verschlechtert. Darüberhinaus wird auch das Molekulargewicht und damit auch der Siedepunkt des Derivats durch die zweifache Ferrocengruppe sehr stark erhöht. Dies kann dazu führen, daß hierdurch die Grenze der GC-Gängigkeit schnell erreicht ist, so daß höhermolekulare Derivate nur noch mittels Hochtemperatur-GC zu erfassen wären.

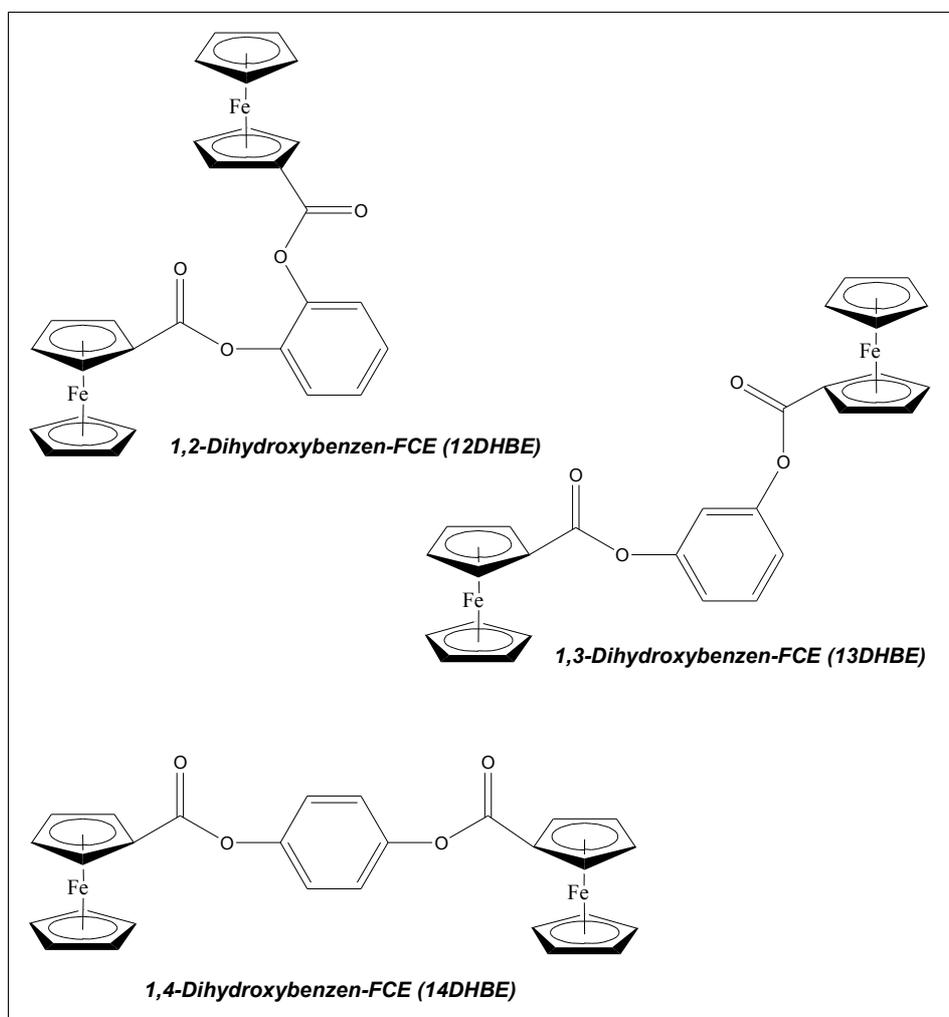


Abbildung 25: Synthetisierte Dihydroxybenzenferrocencarbonsäurediester

Dies stellt jedoch besondere Anforderungen an Säule und Gerät, weshalb in der Praxis nur selten Ofentemperaturen über 300 °C gewählt werden. Deshalb werden nur die drei Dihydroxybenzene aus dieser Verbindungsklasse ausgewählt und die entsprechenden Derivate synthetisiert (Abbildung 25). Diese stellen die kleinstmöglichen aromatischen Diferrocenester dar und sollten somit die beste GC-Gängigkeit dieser Verbindungsklasse aufweisen.

7.2 Löslichkeit von FCC und DMAP

Bisher fand für die Derivatisierung mit FCC ausschließlich Dichlormethan (DCM) als polar-aprotisches Lösungsmittel Verwendung. Dieses ist polar genug, um den FCC-DMAP-Komplex stabil in Lösung zu halten. DCM steht jedoch im Verdacht, krebserregend zu sein und zählt außerdem zu den chlorierten Lösungsmitteln, die in vielen Laboratorien zum Schutz von Mensch und Umwelt nicht mehr eingesetzt werden dürfen.

Darüber hinaus kann die Kombination der Derivatisierung mit anderen Techniken die Verwendung von alternativen Lösungsmitteln erfordern: So wird in der HPLC oft Acetonitril eingesetzt, und einige Extraktionsmethoden erfordern den Einsatz von organischen Lösungsmitteln, die mit Wasser mischbar sind. In diesen Fällen sollte zwar ein Wechsel des Lösungsmittels durch Abdampfen im Heizblock oder im Stickstoffstrom und anschließendes Aufnehmen im gewünschten Lösungsmittel möglich sein, jedoch ist dies ein zeitaufwendiger und verlustträchtiger Vorgang.

Es soll deshalb nach alternativen Lösungsmitteln als Ersatz für Dichlormethan gesucht werden. Dabei kommen prinzipiell nur organische Lösungsmittel in Betracht, die polar genug sind, um den FCC-DMAP-Komplex in Lösung zu halten. Deshalb wird folgendes einfaches Experiment durchgeführt:

Eine Spatelspitze FCC und DMAP werden jeweils in wenigen Tropfen verschiedener Lösungsmittel gelöst und Farbe und Trübung der Lösung beobachtet. Anschließend werden Lösungen von beiden Reagenzien im jeweils gleichen Lösungsmittel miteinander gemischt und erneut über mehrere Minuten beobachtet. Als Lösungsmittel werden Ethylacetat, Acetonitril, Aceton, Tetrahydrofuran und Diethylether eingesetzt. Die Beobachtungen sind in Tabelle 12 zusammengefasst.

Tabelle 12: FCC und DMAP in verschiedenen Lösungsmitteln

<i>Lösungsmittel</i>	<i>FCC</i>	<i>DMAP</i>	<i>FCC+DMAP</i>
Aceton	Orange, klar	Farblos, klar	Hellrot, Klar
Acetonitril			Hellrot, Klar
Diethylether			Hellrot, Trüb
Ethylacetat			Hellrot, Trüb
Tetrahydrofuran			Hellrot, Trüb *

* Bei THF wechselt die Farbe nach wenigen Minuten zu gelb, und die Flüssigkeit klart auf.

Das Auftreten einer Trübung zeigt, daß das betreffende Lösungsmittel den FCC-DMAP-Komplex nicht ausreichend zu Lösen vermag. Der rasche Farb- und Trübungswechsel bei THF ist durch eine Reaktion mit dem Lösungsmittel zu erklären. Somit sind von den getesteten Lösungsmitteln lediglich Aceton und Acetonitril alternativ zu Dichlormethan zu verwenden.

Bei späteren Versuchen war bei Verwendung von Aceton jedoch ein Blindwert in den Chromatogrammen zu beobachten, der mittels GC-MS als Ferrocenderivat des Enolats identifiziert wurde. Aus diesem Grund ist Aceton als alternatives Lösungsmittel ebenfalls nicht geeignet.

7.3 Aufarbeitung mittels SPE-Glaskartuschen

Um Fehlerquellen und den Zeitbedarf zur Probenvorbereitung zu minimieren, wird die Eignung von SPE-Glaskartuschen zur Abtrennung des Reagenzüberschusses nach der Derivatisierung geprüft. Hierfür wurden in [53] kleine Schwerkraftsäulen verwendet, die aus Pasteurpipetten hergestellt werden (sog. „Stummelsäulen“). Diese weisen aber mehrere Nachteile auf: Sie müssen aufwendig manuell gefertigt werden, haben eine gefährliche nadelförmige Spitze, können kein großes Volumen aufnehmen und sind für eine eventuelle Automatisierung nicht geeignet. Aus diesem Grund wird die Aufarbeitung auf SPE-Glaskartuschen umgestellt. Diese lassen sich ebenso wie Pasteurpipetten thermisch reinigen, sind mehrfach wiederverwendbar und handhabungssicher. Ihr größter Vorteil ist jedoch das größere Fassungsvermögen, da hierdurch die Zahl der verlustträchtigen Pipettierschritte wesentlich reduziert wird, und die im Vergleich zur Pasteurpipette wesentlich größere Öffnung das Aufgeben der Reagenzlösung auf die Säule erheblich

erleichtert. Hierdurch werden Überföhrungsverluste vermieden. Zusätzlicb bietet die Verwendung von standardisierten Kartuschen das Potential zur Automatisierung.

Aufgrund der veränderten Säulendimensionen muß jedoch überprüft werden, ob die Kapazität zur Entfernung des Reagenzüberschusses auch weiterhin ausreicht, und wie groß das nötige Elutionsvolumen ist. Dazu wird eine 3 ml SPE-Glaskartusche mit einer Teflonfritte versehen und mit 500 mg Alox-N (konditioniert bei 160 °C) gefüllt.

Damit sich die Füllung setzen kann, wird die Kartusche rundum abgeklopft. Anschließend wird die Kartusche mit einer zweiten Fritte versehen und festgedrückt. Vor Benutzung wird die Kartusche mit wenigen Millilitern Dichlormethan konditioniert.

Zur Überprüfung der Elution wird eine Lösung von 4-Nitrophenolferrocencarbonsäureester (4NitPE) und 4-*n*-Nonylphenolferrocencarbonsäureester (4nNPE) in Cyclohexan (CH) benutzt (je 1 g/l). Diese Analyten umfassen einen so weiten Polaritätsbereich, daß die hiermit gewonnenen Erkenntnisse auch auf andere Analyten übertragbar sind.

100 µl dieser Lösung werden auf die Kartusche pipettiert. Anschließend wird mit Dichlormethan eluiert. Das Eluat wird in Fraktionen von je einem Milliliter aufgefangen und am GC-FID vermessen.

Die gaschromatographische Untersuchung zeigt, daß 4nNPE bereits in den ersten zwei Fraktionen quantitativ eluiert. 4NitPE eluiert erwartungsgemäß erst später, und zwar in Fraktion Nr. 3 und Nr. 4. Aufgrund dieser Untersuchung sollte eine quantitative Elution der in dieser Arbeit genannten Ferrocenderivate bei Verwendung von 4,5 ml Dichlormethan gewährleistet sein.

7.4 Zusammenfassung

Insgesamt 21 neue Standards konnten erfolgreich synthetisiert werden. Darunter sind Derivate besonders umweltrelevanter Substanzen wie Chlor- und Nitrophenole, Hydroxy-PAH, sowie endokrin wirksame Substanzen. Zusätzlicb wurden die Derivate von Anilin sowie Dihydroxybenzenen hergestellt, um deren prinzipielle Eignung für die Derivatisierung mit FCC überprüfen zu können.

Die Derivate weisen sowohl elektronenziehende als auch -schiebende Substituenten am aromatischen Kern auf, und zwar in unterschiedlicher Anzahl und Stellung. Damit ist es möglich, den Einfluß von Substituenten auf Detektionseigenschaften zu ermitteln.

Die Reinsubstanzen dienen sowohl zur Herstellung von Standards für die Chromatographie, als auch zur Charakterisierung der massenspektrometrischen Eigenschaften. Letzteres ist auch die Basis zur Erstellung einer elektronischen MS-Spektrenbibliothek zur automatisierten Peakzuordnung.

Die durchgeführten Lösungsversuche zeigen die prinzipielle Eignung von Acetonitril als Lösungsmittel für die Derivatisierung. Auf diese Lösungsmittel kann ausgewichen werden, wenn beispielsweise Umweltschutzvorschriften den Einsatz von Dichlormethan verbieten, oder ausschließlich mit HPLC gearbeitet werden soll. Dabei ist jedoch zu beachten, daß Acetonitril giftig und krebserregend ist. Aceton kann zwar ebenfalls den FCC-DMAP-Komplex in Lösung halten, verursacht bei der Veresterung jedoch einen Blindwertpeak durch das Derivat des Enolats. Deshalb wurde in dieser Arbeit weiterhin DCM als Lösungsmittel verwendet.

Durch Umstellung der Aufreinigung auf 3 ml SPE-Glaskartuschen können mehr Proben parallel aufgearbeitet werden als bei Verwendung von Kleinsäulen auf Basis von Pasteurpipetten. Außerdem ist die Handhabung wesentlich einfacher und sicherer, was die Verlustgefahr während der Aufarbeitung deutlich verringert.

8 Untersuchungen mittels GC-FID

Der unselektive Flammenionisationsdetektor bietet sich zur Reinheitskontrolle und zur Untersuchung allgemeiner gaschromatographischer Eigenschaften an. Er wird hier deshalb zur Analyse der synthetisierten Standards verwendet, insbesondere auch für das derivatisierte technische Nonylphenol.

8.1 GC-Gängigkeit der synthetisierten Standards

Zur Untersuchung der GC-Gängigkeit wurden Lösungen der synthetisierten Ferrocenderivate in Cyclohexan (je 10 $\mu\text{mol/l}$) am GC-FID sowie GC-AED vermessen. Mit wenigen Ausnahmen war dabei eine ausreichende GC-Gängigkeit feststellbar. Diese Ausnahmen waren die Derivate der drei Dihydroxybenzene sowie das von Pyrenol. Diese Substanzen ließen sich unter normalen Bedingungen, d.h. bei Ofen- und Injektortemperaturen von bis zu 300 °C, nicht detektieren.

Der sog. „Septumlose Aufgabekopf“ des KAS-Injektors am AED-Systems läßt sich auch für Hochtemperaturanwendungen nutzen. Deshalb wurden die genannten Substanzen erneut am GC-FID des AED-Systems vermessen, diesmal allerdings mit einem Temperaturprogramm, das bis 340 °C heizt (statt 300 °C). Diese Temperatur ist die Grenze der Säulenbelastbarkeit, bei noch höheren Temperaturen würde der Säulenfilm abbrennen. Trotz dieser drastischen Bedingungen war kein Peak im Chromatogramm erkennbar. Dies läßt eine unzureichende Verdampfbarkeit oder thermische Zersetzung vermuten, in jedem Fall sind die genannten Substanzen unter den angewandten Bedingungen nicht GC-gängig.

8.2 Technisches Nonylphenol

Unter den synthetisierten Standards befindet sich auch ein derivatisiertes technisches Nonylphenol-Gemisch⁹. Da der Verzweigungsgrad der Alkylseitenkette maßgeblich für die hormonelle Wirkung von Nonylphenol mitentscheidend ist, ist eine möglichst vollständige chromatographische Auftrennung wünschenswert. Dies kann durch Derivatisierung erleichtert werden, da z.B. durch die Verringerung der Polarität der Analyten ein Tailing wirkungsvoll unterdrückt wird. Deshalb soll versucht werden, ob durch die Derivatisierung eine chromatographische Auftrennung der einzelnen Isomere eines Nonylphenolgemisches möglich ist. Dazu wird eine in Cyclohexan verdünnte Lösung des derivatisierten Standards

9 PESTANAL[®]

am GC-FID untersucht. Wegen der deutlich erhöhten Siedetemperaturen wird dabei ein speziell angepaßtes Ofentemperaturprogramm angewandt (Tabelle 13).

Tabelle 13: Ofenprogramm für Nonylphenolferrocenester

Temperatur [°C]	Haltezeit [min]	Aufheizrampe [°C/min]
60	1	40
285	5	2
300	5	-Ende-

Dieses Ofenprogramm dauert weniger als 25 Minuten und führt zu folgendem Chromatogramm (Abbildung 26):

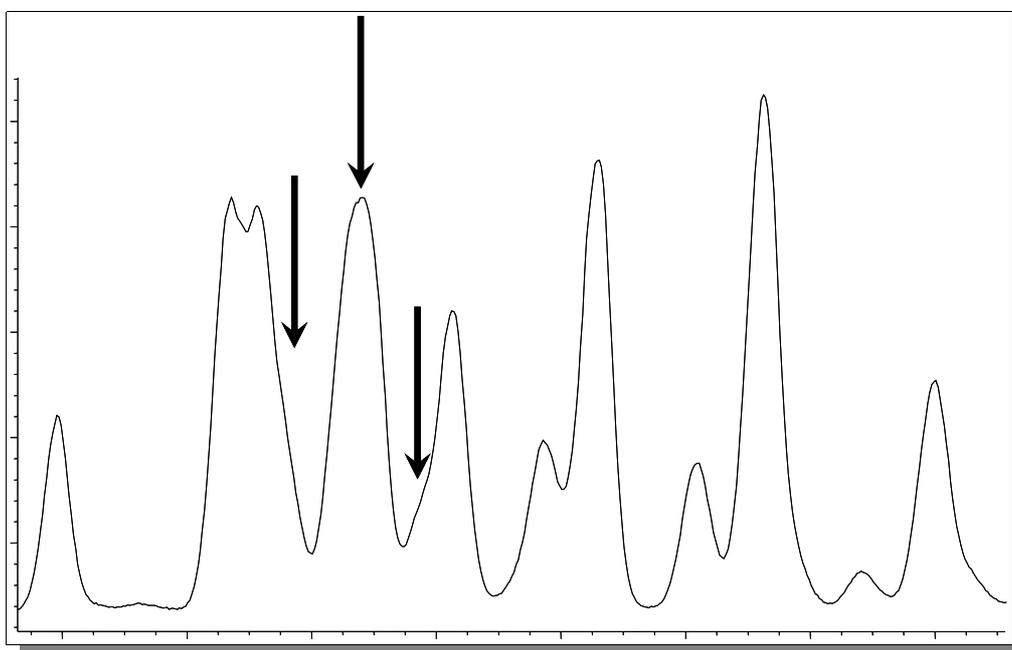


Abbildung 26: GC-FID-Chromatogramm (13,8-15,4 min.) von derivatisiertem technischen Nonylphenol (NPE); Pfeile zeigen Coelutionen

Nach Derivatisierung mit FCC tritt praktisch kein Tailing auf, und es sind mindestens vierzehn Peaks erkennbar. Diese sind teilweise gut aufgelöst, zum Teil liegen sie aber auch in Coelution vor. Bei genauer Betrachtung sind diese nur noch als Peakdeformation zu erahnen, was durch die Pfeile angedeutet wird.

Die Retentionszeit von 4nNPE ist deutlich größer als die der beobachteten Derivate und liegt deshalb außerhalb des Zeitfensters o.a. Chromatogramms. Damit kann ausgeschlossen werden, daß dieses Isomer im technischen Gemisch in nennenswerter Konzentration

vorhanden ist.

Weitere Peaks lassen sich nicht identifizieren, da entsprechende Nonylphenol-Isomere zur Herstellung geeigneter Standards kommerziell nicht erhältlich sind.

In einer anderen Arbeit [64] konnten elf Isomere nach Derivatisierung mit MTBSTFA erfolgreich getrennt werden. Die Methode wurde für die Analyse von Nonylphenolen in Lebensmitteln eingesetzt. Sie hat jedoch den großen Nachteil eines erheblichen Aufwandes für die Probenaufarbeitung (Wasserdampfdestillation und anschließende HPLC) und erfordert eine Large Volume Injektion mit Lösungsmittelausblendung, die für diese Arbeit nicht verfügbar war.

Die Verwendung alternativer Säulenmaterialien birgt darüberhinaus das Potential für eine nochmals verbesserte chromatographische Trennung der Ferrocenderivate, der Aufwand für diese Optimierung ist jedoch erst bei Vorhandensein weiterer Standards und für eine konkrete Anwendung lohnenswert, weshalb hier darauf verzichtet wird. Trotzdem ist die bereits erzielte chromatographische Trennleistung beachtlich, vor allem wenn man berücksichtigt, wie wenig sich die einzelnen Isomere voneinander unterscheiden.

8.3 Zusammenfassung

Die Untersuchungen mit dem GC-FID haben gezeigt, daß die meisten der synthetisierten Derivate sehr gut für die Gaschromatographie geeignet sind. Ausgenommen hiervon sind Verbindungen mit zwei Ferrocenresten, sowie Derivate von Hydroxy-PAH mit mehr als drei Kernen.

Außerdem konnte gezeigt werden, daß auch ein technisches Nonylphenol-Gemisch weitgehend aufgetrennt werden kann. Diese Möglichkeiten sind allerdings bisher auf Grund fehlender Standards nicht sinnvoll nutzbar. Sollten in Zukunft jedoch geeignete Standards verfügbar werden, bietet die Derivatisierung mit FCC ein großes Potential zur Erfassung dieser endokrin wirksamen Substanzen.

9 GC-AED für Phenole aus Erdöldestillaten

Wegen der Eingangs geschilderten Bedeutung der Phenole für Kraftstoffe auf Mineralölbasis liegt es nahe, die Leistungsfähigkeit der Derivatisierung mit FCC auch für diese Proben nutzbar zu machen. Wegen ihrer petrochemischen Herkunft besitzen diese Treibstoffe eine Zusammensetzung, die der von Rohöl in vielerlei Hinsicht ähnelt. Aufgrund dieser Ähnlichkeiten sollte die Probenvorbereitung nahezu unverändert beibehalten werden können. Da wenig über das Vorkommen der Phenole und deren Konzentrationsbereiche bekannt ist, sollen mehrere, möglichst unterschiedliche Proben von kommerziellen Kraftstoffen untersucht werden. Dies liefert die Basis zur weiteren Methodenentwicklung und liefert einen guten Überblick über die Variationsbreite der Phenolmuster und der Konzentrationsbereiche.

Darüberhinaus soll in einer zweiten Untersuchung der Frage nachgegangen werden, ob der Phenolgehalt durch Raffinationsprozesse verändert wird.

9.1 Schweizer Treibstoffproben

Zu diesem Zweck wurden von Herrn Dr. T. Schmidt (ETH Zürich, Schweiz) insgesamt 13 Treibstoffe dankenswerterweise zur Verfügung gestellt. Sie bestehen aus acht Benzin, fünf Dieseln und einem Zweitaktgemisch. Sie wurden von der schweizerischen Umweltbehörde EAWAG (Eidgenössische Anstalt für Wasserversorgung, Abwasserreinigung und Gewässerschutz) größtenteils an Tankstellen verschiedener Anbieter genommen. Einige Proben stammen jedoch direkt von Raffinerien und weisen einige Besonderheiten auf: Ein Benzin und ein Diesel sollen laut Etikettierung keine Additive enthalten, ein Diesel ist mit Ferrocen versetzt, und ein Benzin soll „sauerstofffrei“ sein. Ob sich die Angabe der Sauerstofffreiheit auf gelösten Sauerstoff, sauerstoffhaltige organische Verbindungen oder nur einige wenige, spezielle Substanzen bezieht, ist jedoch unklar. Die Bezeichnungen sowie Zusatzangaben zu besonderen Proben sind Tabelle 14 zu entnehmen. Die Bezeichnungskürzel richten sich dabei nach den Anfangsbuchstaben der englischen Typbezeichnungen (**F**uel, **D**iesel, **T**wo stroke).

Tabelle 14: Schweizer Treibstoffproben: Bezeichnung und Besonderheiten

<i>Typ</i>	<i>Probe</i>	<i>Besonderheit</i>	<i>Typ</i>	<i>Probe</i>	<i>Besonderheit</i>
Benzin	F1		Diesel	D1	
Benzin	F2		Diesel	D2	
Benzin	F3	„Ohne Additive“	Diesel	D3	„Ohne Additive“
Benzin	F4	„Sauerstofffrei“	Diesel	D4	„60 mg/l Ferrocen“
Benzin	F5		Diesel	D5	
Benzin	F6				
Benzin	F7		Zweitaktgemisch	T	

Die Proben werden nach Derivatisierung am GC-AED untersucht. Zusätzlich werden die Proben von G. Diehl im Arbeitskreis von Professor U. Karst mit Hilfe der HPLC-MS untersucht.

Im folgenden wird zunächst auf die Derivatisierungsmethode eingegangen, insbesondere auf die Umstellung auf Glaskartuschen. Danach erfolgt eine erste qualitative Betrachtung der Meßergebnisse. Dann wird durch Einsatz eines internen Standards eine semiquantitative Bestimmung ausgewählter Alkylphenole durchgeführt. Zuletzt erfolgt ein Vergleich mit den Ergebnissen der flüssigchromatographischen Untersuchungen.

9.1.1 Anpassung der Derivatisierungsmethode

Die Derivatisierung kann ebenso wie bei den Rohölen direkt in der Probe erfolgen. Auf eine vorherige Verdünnung sowie den Einsatz von Mikrowelleneinstrahlung zur Verflüssigung und Durchmischung kann hier jedoch verzichtet werden, da Treibstoffe dünnflüssig sind. Dadurch wird eine zuverlässige Durchmischung von Reagenzien und Probe bereits beim Zupipettieren sichergestellt.

Der Wasseranteil im Treibstoff ist ebenfalls zu vernachlässigen und wird durch einen Reagenzienüberschuß abgefangen. Die Aufreinigung mittels zweier Schwerkraftsäulen erscheint auch weiterhin günstig, um zunächst unverbrauchtes Reagenz und danach die Aliphaten abzutrennen.

Da wenig über die Konzentrationen von Phenolen in den Kraftstoffproben bekannt ist, kann das benötigte Probenvolumen nur abgeschätzt werden. Unter der Annahme von Maximalkonzentrationen im Bereich von Milligramm pro Liter werden zunächst 500 µl

gewählt. Diese Menge sollte intensive Signale ohne Überlastung der gaschromatographischen Systeme ermöglichen. Im Bedarfsfall kann diese Menge dann zur semiquantitativen Messung angepaßt werden.

9.1.2 Qualitative Untersuchungen

Bei jeder der untersuchten Proben lassen sich nach der Derivatisierung zahlreiche Ferrocenderivate nachweisen. Dabei sind große Unterschiede sowohl in der Komplexität als auch in den Peakhöhen zu beobachten. Die Zahl an detektierten Verbindungen ist so groß, daß es selbst beim hohen Trennvermögen der Gaschromatographie und der sehr hohen Selektivität der Derivatisierungsmethode zu Coelutionen kommt, insbesondere bei höheren Retentionszeiten. Diese sind vor allem bei Dieseln anzutreffen, wie der Vergleich der Chromatogramme einer derivatisierten Benzin- mit einer Dieselprobe zeigt Abbildung 27.

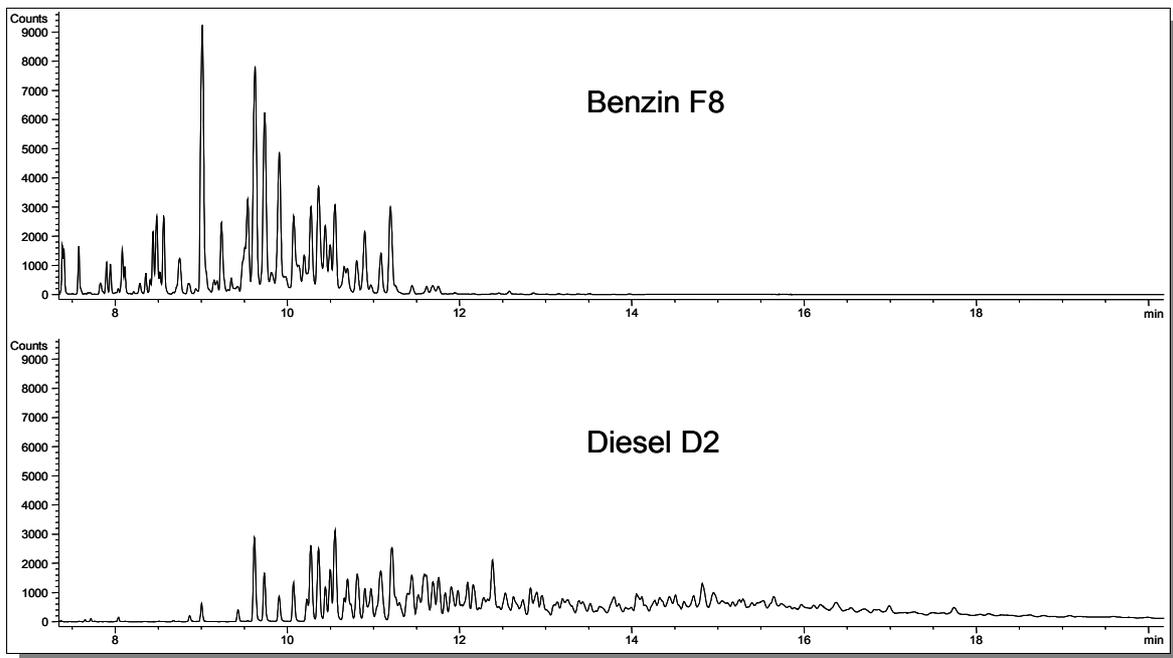


Abbildung 27: GC-AED-Chromatogramme von Benzin F8 und Diesel D2 (AED Fe302)

Geht man vereinfachend davon aus, daß eine späte Retentionszeit auch einen hohen Siedepunkt bedeutet, dann kann als genereller Trend eine Korrelation mit dem Siedebereich der Kraftstoffe festgestellt werden. Dies erklärt auch, daß der Retentionsbereich bei den Benzinen eine deutlich erkennbare obere Grenze aufweist. Bei Dieseln ist kein klarer Grenzbereich zu erkennen, hier geht die Signallinie bei fortschreitender Retentionszeit nur langsam der Nulllinie entgegen. Dies rührt daher, daß mit steigender Molekülgröße auch die

Zahl möglicher Isomere überproportional ansteigt. Dadurch kann sich die gleiche Stoffmenge auf einen breiten Bereich kleinerer Signale im Chromatogramm verteilen.

Die maximalen Peakhöhen in den Chromatogrammen sind bei Benzin oft fünf- bis zehnmal höher als bei Dieselproben. Benzin F3 „ohne Additive“ und F7 weichen jedoch von dieser Regel ab und enthalten nur wenige Phenole geringerer Konzentration.

Der Reagenzienüberschuß ist selbst bei den höchstkonzentrierten Proben mehr als fünfhundertfach. Während der Derivatisierung konnte deshalb eine Aufhellung der tiefroten Farbe des Reaktionsgemisches durch Verbrauch des FCC-DMAP-Komplexes nicht beobachtet werden. Diese Möglichkeit zur optischen Kontrolle ist somit ein weiterer Vorzug der Derivatisierungsmethode.

Zusammenfassend kann bereits jetzt festgestellt werden, daß die Methode gut für den Nachweis von Phenolen aus Kraftstoffen geeignet ist. Die gewählte Probenmenge hat sich dabei auf Anhieb bewähren können: Die Peakhöhen sind hoch, ohne daß es dabei zu einer Überladung der Säule oder des Plasmas kommt. Es empfiehlt sich aber auch hier die für Realproben allgemeingültige Regel, daß zuvor eine Überprüfung am GC-FID sinnvoll ist, um einen ersten Überblick über die Probe zu gewinnen und Schäden an komplexeren Detektoren zu vermeiden.

9.1.3 Bestimmung von C₀- bis C₃-Methylphenolen

9.1.3.1 Auswahl eines internen Standards für Quantifizierungszwecke

Quantifizierungen lassen sich wegen des (annähernd) strukturunabhängigen Response des AED mit nur einem einzigen Standard für alle Phenolferrocenester durchführen¹⁰. Hierzu sind vor allem Fluorphenolderivate geeignet, da sie den Analyten stark ähneln. Bei der Bestimmung von Phenolen, die bei der Verbrennung von Kohle und Biomasse freigesetzt werden, haben sich hierzu die Derivate von 2-Fluorphenol (2FPE) und 4-Fluor-2-Methylphenol (4F2MPE) bewährt [55]. Sie besitzen gegenüber Standards auf Basis von Fluoralkoholen den großen Vorteil, den Analyten ähnlicher zu sein, insbesondere was das Responseverhalten bei eisenselektiver Detektion mit dem AED anbelangt. Außerdem werden Fehler durch unterschiedliche Verdampfungsverluste auf Grund von

¹⁰ Jedenfalls solange Einflüsse durch Unterschiede im chromatographischen Verhalten vernachlässigt werden können.

Flüchtigkeitsunterschieden zwischen Analyt und Standard minimiert. Deshalb sollten nur in Ausnahmefällen die für Rohöle verwendeten Fluoralkoholderivate (z.B. F3EE) verwendet werden. Allerdings muß vor Auswahl des Standards die Gefahr von Coelutionen ausgeschlossen werden.

Bei der durchgeführten qualitativen Untersuchung sind in keinem Chromatogramm im Retentionszeitbereich zwischen den Peaks von PE und 2MPE weitere Verbindung zu erkennen, d.h. in dem Bereich, in dem auch 4F2MPE eluiert. Dies ist ein wesentlicher Unterschied zu vielen Rohölproben, bei denen regelmäßig längerkettige Alkoholderivate in diesem Bereich anzutreffen sind. Damit kann für die hier untersuchten Treibstoffe 4F2MPE als interner Standard für Quantifizierungszwecke eingesetzt werden, ohne daß Coelutionen mit Analytderivaten zu befürchten sind.

9.1.3.2 Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes

Da der AED einen nahezu strukturunabhängigen Response aufweist, ist es möglich, durch Integration über das gesamte Chromatogramm eine Bestimmung des Gesamtgehaltes selektiv detektierter Analyten durchzuführen. Dies soll am Beispiel der Diesel illustriert werden.

Die Individualkonzentrationen von Phenolen in Dieseln ist eher gering. Trotzdem ist die Komplexität der Chromatogramme so groß, daß bei späteren Retentionszeiten keine Peakauflösung mehr möglich ist. Die Basislinie ist dadurch in diesem Bereich stark erhöht. Dies ist vor allem auf die bereits erwähnte Vielzahl an Isomeren von höher alkylierten Phenolen zurückzuführen. Es ist deshalb möglich, daß auch Proben mit geringen *Einzelkonzentrationen* einen hohen *Gesamtphenolgehalt* aufweisen, der sich dann allerdings auf sehr viele Verbindungen verteilt. In solchen Fällen ist es unzureichend, nur einige ausgewählte Einzelverbindungen zu bestimmen. In der Literatur sind jedoch häufig nur C₀-C₂-Alkylphenole bestimmt worden (z.B. in [49], [51]), da höhermolekulare Alkylphenole vermutlich jeweils unter der Quantifizierungsgrenze lagen und somit nicht erfaßt wurden.

Nur wenn gleichzeitig auch der Gesamtgehalt bestimmt wird, kann eben die Bedeutung der bestimmten Einzelverbindungen korrekt eingeschätzt werden. Wegen des nahezu strukturunabhängigen Response des AED kann dies einfach durch Integration über den gesamten Bereich des Chromatogramms geschehen, in dem die Analyten eluieren.

Durch die sehr hohe Selektivität der Methode werden dabei praktisch ausschließlich Ferrocenderivate erfaßt, und es sind keine Störungen durch die Matrix zu erwarten. Es ist dabei jedoch zu beachten, daß die Genauigkeit durch methodische Grenzen limitiert wird: es werden nicht nur Phenole erfaßt, sondern auch langkettige Alkohole und weitere mit FCC derivatisierbare Analyten, wie z.B. primäre Amine. Letztere spielen aber glücklicherweise in Treibstoffen eine untergeordnete Rolle, so daß sie für die Bestimmung von Phenolen zu vernachlässigen sind.

Nicht erfaßt werden dagegen Analyten, die aufgrund eines zu hohen Siedepunktes nicht (rechtzeitig) eluieren. Aufgrund des begrenzten Siedebereiches von kommerziellen Treibstoffen ist diese Gefahr jedoch gering. Strukturabhängigkeiten des Responses sowie Unterschiede im Reaktionsumsatz bleiben hingegen unberücksichtigt. Außerdem haben Ungenauigkeiten in der manuellen Integration Auswirkungen auf das Gesamtergebnis.

Trotz der genannten Einschränkungen ist mit dieser Methode zumindest eine schnelle und gute Abschätzung des Gesamtphenolgehalts verschiedener Proben möglich. Ein großer Vorteil ist ebenfalls, daß hierzu keine zusätzlichen Messungen nötig sind.

9.1.3.2.1 Definition des Retentionszeit-Schwerpunktes r

Der molare Response des AED führt bei der Quantifizierung naturgemäß zu einer molaren Konzentrationsangabe. Bei der Bestimmung des Gesamtgehaltes durch Integration über das gesamte Chromatogramm ergibt sich dadurch folgendes Problem: Sollen die ermittelten Molaritäten in Konzentrationen der Einheit mg/l bestimmt werden, muß über Peaks zumeist unbekannter Verbindungen mit ebenso unbekanntem Molmassen integriert werden. Um eine wenigstens näherungsweise Berechnung trotzdem zu ermöglichen, muß ein durchschnittliches Molekulargewicht bestimmt werden, das für alle Analyten gleichgesetzt wird. In [53] wird zur Bestimmung von Alkylphenolen in Erdölen die Molmasse von (C₀-) Phenol (94,11 g/mol) als repräsentativer Durchschnittswert empfohlen.

Insbesondere für Diesel mit vielen höher siedenden Komponenten scheint diese Annahme jedoch nicht gerechtfertigt. Deshalb wird hier eine neuartige Methode beschrieben, die eine wesentlich genauere Bestimmung des durchschnittlichen Molekulargewichtes der Analyten ermöglicht. Dazu wird der Retentionszeit-Schwerpunkt r eingeführt, der sich wie folgt berechnet: Es wird grob vereinfachend davon ausgegangen, daß die Retentionszeit in erster

Linie vom Siedepunkt abhängig ist, und der Siedepunkt wiederum vom Molekulargewicht. Einflüsse z.B. durch die Art der stationären Phase sowie durch Wechselwirkungen, die den Siedepunkt mitbestimmen, müssen hierbei unberücksichtigt bleiben.

Dann läßt sich durch Vergleich mit den Retentionszeiten typischer, für die Probe charakteristischer Analyten mit bekanntem Molekulargewicht aus dem Retentionszeitschwerpunkt ein ungefährer "Molekulargewichtsschwerpunkt" zuordnen.

Zur Berechnung muß eine Liste aller Peakflächen (A) und Retentionszeiten (t_R) im Chromatogramm erstellt werden. Anschließend wird die Summe über alle Peakhöhen gebildet, sowie die Summe über das jeweilige Produkt von Peakhöhe und Retentionszeit. Aus diesen Werten läßt sich nun der Retentionsschwerpunkt r berechnen (Gleichung 2).

Gleichung 2: Definition des Retentionszeitschwerpunkts r

$$r = \frac{\sum_i t_i * A_i}{\sum_i A_i}$$

i : fortlaufende Peaknummer,
 t : Retentionszeit,
 A : Peakfläche

Die erforderlichen Daten lassen sich leicht mit Hilfe der automatischen Integrationsfunktion gängiger Chromatographieprogramme (z.B. HP ChemStation) gewinnen. Die so erhaltene Liste von Retentionszeiten und zugehöriger Peakflächen wird dann mit einem Tabellenkalkulationsprogramm weiter bearbeitet.

Bei der automatischen Integration müssen die Integrationsparameter so gewählt werden, daß als Basislinie der Peakflächen die Nulllinie des Detektorsignals definiert wird. Im eisenselektiven Modus des AED wird die Lage der Nulllinie nicht durch Säulenbluten beeinflusst, so daß sie als konstant für die gesamte Meßdauer angenommen werden kann. Deshalb kann als Basislinie für die Peakfläche der Signalwert zu Beginn der Messung gewählt werden, also zu einem Zeitpunkt, an dem noch kein Analyt eluiert. Die weiteren Integrationsparameter sind so anzupassen, daß eine gute Peakunterscheidung resultiert. Da im vorliegenden Fall Alkylphenole bestimmt werden sollen, ist mit dem Beginn der Integration erst kurz vor dem Peak des zuerst eluierenden Analyten zu beginnen, in diesem Fall Phenol-FCE. Wird ein interner Standard zur Quantifizierung eingesetzt, der innerhalb des Integrationsbereiches eluiert und dessen Beitrag zur Peakflächensumme nicht vernachlässigt werden kann, so ist dieser natürlich vor Berechnung von r aus der Datenliste

zu streichen.

Die Genauigkeit des berechneten durchschnittlichen Molekulargewichts wird durch verschiedene Fehlerquellen limitiert. So wird die Retentionszeit auch durch das verwendete Säulenmaterial beeinflusst, und der Response des Detektors ist nur in Grenzen strukturunabhängig. Matrixstörungen wie z.B. durch coeluiierende Alkoholderivate können die Bestimmung ebenfalls stören. Außerdem kommt es zum Beispiel bei Derivaten höherer Alkylphenole zu einer Überlappung der Retentionszeitbereiche. Grundvoraussetzung für die Zuordnung des Retentionszeitschwerpunktes zu einer Molekülmasse ist natürlich auch, daß eine hinreichende Anzahl repräsentativer Standards mit unterschiedlichem Molekulargewicht unter gleichen chromatographischen Bedingungen zuvor vermessen worden ist.

Trotz dieser prinzipiellen Einschränkungen ist dies die genaueste Möglichkeit, um die molaren Konzentrationswerte in Massengehalte umrechnen zu können. In jedem Fall ist sie aber wesentlich genauer als die Auswahl einer willkürlich geschätzten Molekülmasse.

9.1.3.2 Durchschnittliches Molekulargewicht in den Treibstoffproben

Die Anwendung des oben beschriebenen Berechnungsverfahrens ergibt für je einen repräsentativen Vertreter der unterschiedlichen Treibstoffklassen die in Tabelle 15 angeführten Werte:

Tabelle 15: Retentionszeitschwerpunkt r verschiedener Treibstoffproben

Treibstoffklasse	Probe	r [min]
Zweitaktgemisch	T	9,18
Benzin	F1	9,15
Diesel	D1	12,70

Ein Vergleich mit den Retentionszeiten der Derivate verschiedener C₀-C₃-Phenole zeigt, daß die Retentionszeiten bei der Zweitaktprobe sowie beim Benzin über der von Phenol-FCE (9,00 min) liegen, während sie beim Diesel sogar noch über der von 345TMPE liegt (12,38 min). Daraus ergibt sich, daß für Benzin- und Zweitaktproben die Molmasse eines C₁-Alkylphenols von 108 g/mol verwendet werden sollte. Wegen der Überlappung der Retentionszeitbereiche (siehe [53]) kann bei Dieseln die Molmasse auf C₃- oder C₄-Alkylphenol eingegrenzt werden. Deshalb wird die Molekülmasse eines C₃-Alkylphenols

(136 g/mol) als Berechnungsgrundlage gewählt. Damit errechnen sich die in Tabelle 16 angegebenen Konzentrationen.

Tabelle 16: Gesamtgehalt in Schweizer Treibstoffproben

<i>Benzine</i>			<i>Diesel und Zweitaktgemisch</i>		
<i>Probe</i>	<i>Molarität</i> [$\mu\text{mol/l}$]	<i>Konzentration</i> [mg/l]	<i>Probe</i>	<i>Molarität</i> [$\mu\text{mol/l}$]	<i>Konzentration</i> [mg/l]
F1	2570	280	D1	1170	160
F2	2090	230	D2	1470	200
F3	25	3	D3	970	130
F4	2670	290	D4	1020	140
F5	510	60	D5	430	60
F6	1050	115			
F7	105	10	T	490	50
F8	1020	110			

Die Genauigkeit wird durch Pipettierfehler, unvollständigen Reaktionsumsatz und Verluste bei der Probenaufarbeitung begrenzt. Diese Fehler werden auf jeweils unter 5% geschätzt. Den größten Einfluß haben jedoch Responseunterschiede, die laut [53] etwa 30% betragen. Damit läßt sich der Maximalfehler der Methode auf 45 Prozent abschätzen.

9.1.3.2.3 Vergleich der Gesamtphenolgehalte

Zum Vergleich ist der Gesamtgehalt der Treibstoffproben in Abbildung 28 dargestellt. Die Molaritäten zeigen eine große Schwankungsbreite von über zwei Dekaden bei den Benzinen (25 bis 2673 $\mu\text{mol/l}$), während sich die Diesel um kaum mehr als den Faktor drei voneinander unterscheiden (428 bis 1470 $\mu\text{mol/l}$). Überraschend ist die Tatsache, daß die Gesamtkonzentrationen bei den Dieseln durchaus vergleichbar zu der der meisten Benzine ist, obwohl die Einzelkonzentrationen der Phenole bei Dieseln wesentlich geringer sind. Das Zweitaktgemisch weist mit unter 500 $\mu\text{mol/l}$ einen eher geringen Gehalt auf. Es fällt auf, daß Benzin F3 "ohne Additive" die niedrigste Gesamtkonzentration aller gemessenen Proben aufweist (25 $\mu\text{mol/l}$). Probe F7 zeigt ebenfalls einen sehr niedrigen Gehalt von 104 $\mu\text{mol/l}$.

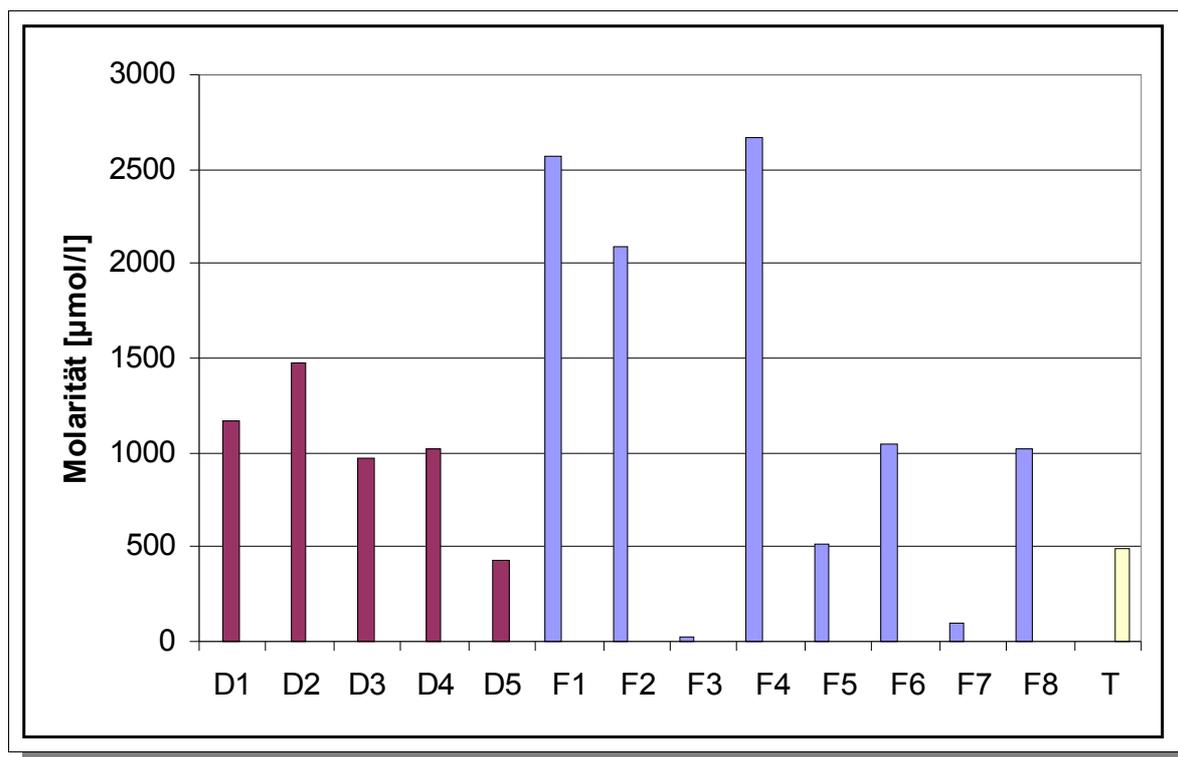


Abbildung 28: Gesamtgehalt, ermittelt durch Integration über das gesamte Chromatogramm [µmol/l]

9.1.3.3 Bestimmung von C₀- bis C₃-Methylphenolen

Mit Hilfe eines Retentionszeitstandards lassen sich Phenol, alle Kresole und Xylenole und vier der sechs Trimethylphenole bestimmen (235-, 236-, 246-, 345TMP). Die übrigen zwei Trimethylphenolisomere sind kommerziell leider nicht erhältlich. Für eine größere Sicherheit bei der Identifizierung der Peaks erfolgt die Messung auf zwei verschiedenen GC-Säulen mit 5 bzw. 50 % Phenylanteil.

Wie das Chromatogramm in Abbildung 29 zeigt, kommt es auf der GC-Säule mit 50 % Phenylanteil zur Coelution von 25- und 26DMPE, sowie von 235- und 236TMPE, während auf einer Säule mit 5 % Phenylanteil alle Standards basisliniengetreunt werden (Chromatogramm nicht gezeigt). Die Elutionsreihenfolge ist dabei identisch, wobei 26- vor 25DMPE eluiert, und 236- vor 235TMPE. Bei Auftreten von Coelutionen sind die Konzentrationen der jeweiligen Analyten in der Tabelle im Anhang als Summe angegeben.

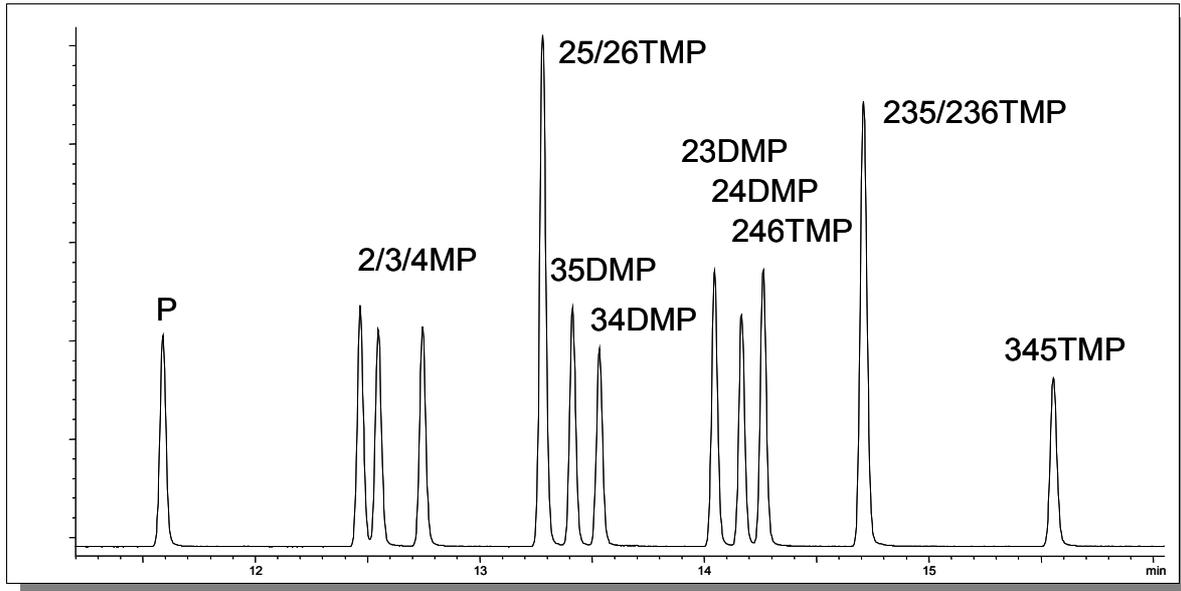


Abbildung 29: Eisenselektives Chromatogramm eines APE-Standards, Säule mit 50 % Phenylanteil

Auf Basis des internen Standards 4F2MPE ergeben sich die im Anhang angegebenen Einzelkonzentrationen. An dieser Stelle werden zunächst nur die jeweiligen Summehalte der C₀- bis C₃-Phenole betrachtet. Für die Benzine und das Zweitaktgemisch ergibt sich folgendes Bild (Abbildung 30):

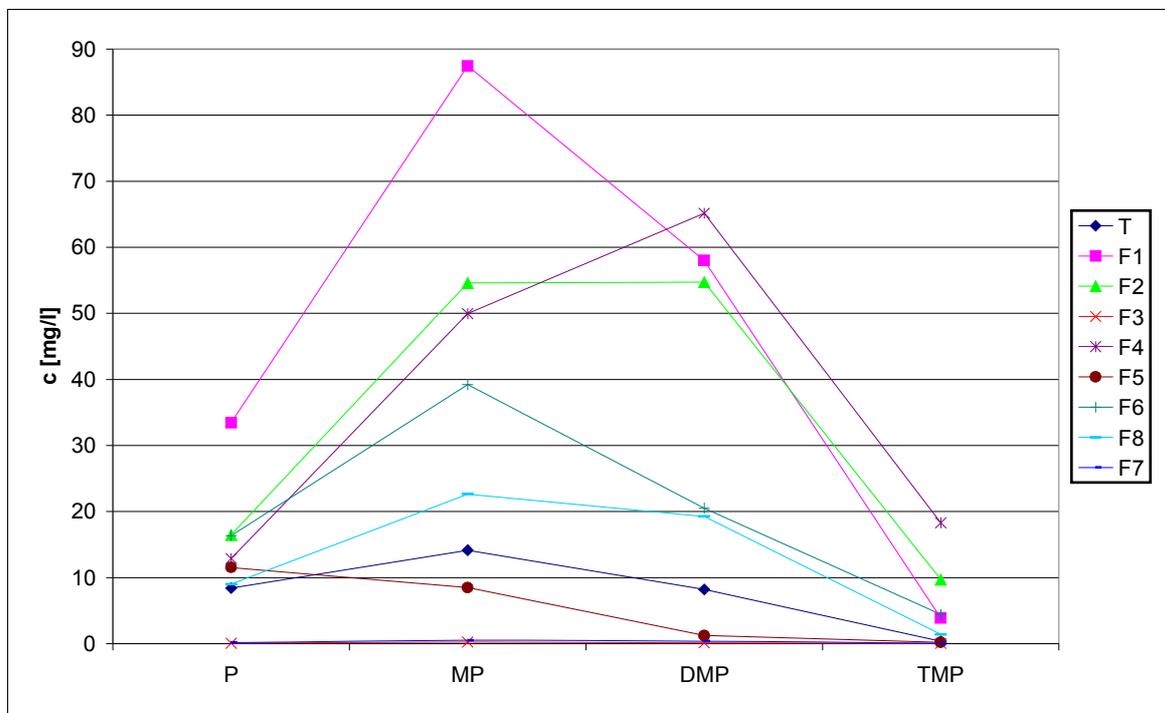


Abbildung 30: Summehalte an C₀- bis C₃-Phenolen in Benzinen und im Zweitaktgemisch

Deutlich zu sehen sind die bereits erwähnten geringen Konzentrationen in Probe F3 und F7. Bei den meisten übrigen Proben (F1, F2, F5, F6 und F8) läßt sich folgende Reihenfolge beobachten: $MP > DMP > P > TMP$. Eine Ausnahme hierzu bildet jedoch Probe F4 "sauerstofffrei", wo Dimethylphenole die Methylphenole überwiegen. Bei F5 stellt hingegen Phenol die höchste Konzentration. Das Zweitaktgemisch (T) zeigt einen ähnlichen Kurvenverlauf wie die Benzine, wobei die Konzentrationen eher niedrig sind.

Als nächstes werden die Werte für die Diesel dargestellt (Abbildung 31).

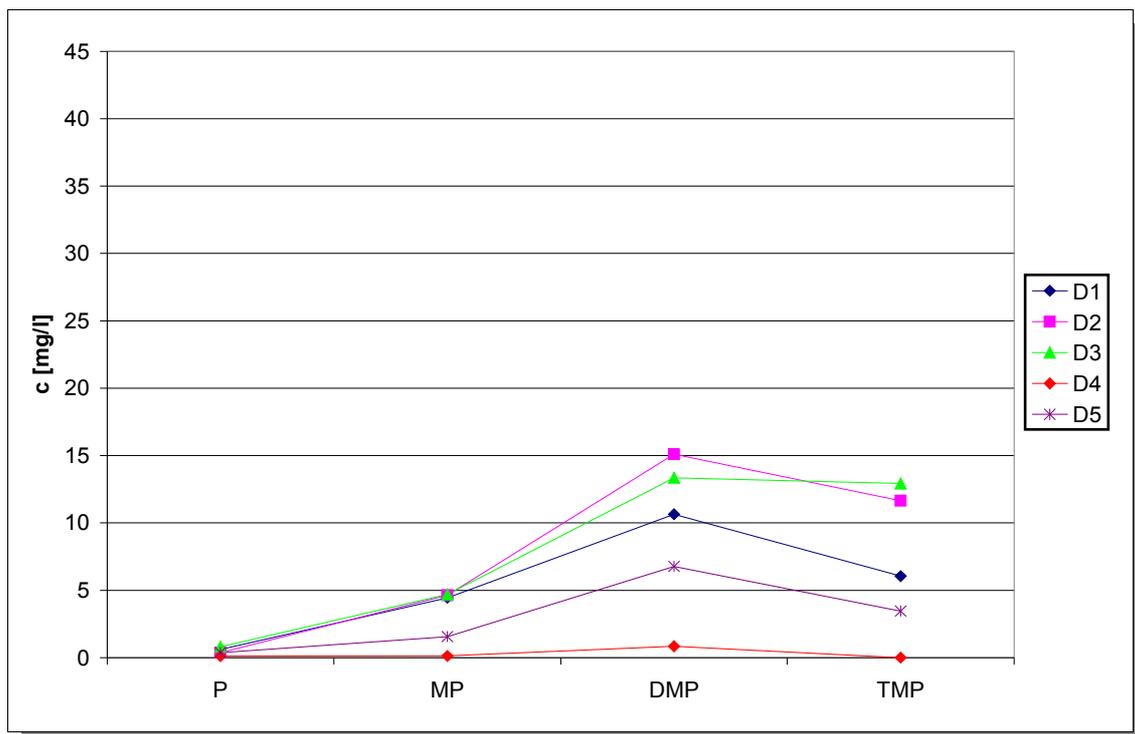


Abbildung 31: Summengehalte an C_0 - bis C_3 -Phenolen in Dieseln

Die Diesel erreichen in ihren höchsten Konzentrationen nur ein Viertel der Maximalgehalte der Benzinproben. Der Kurvenverlauf ist bei den Dieseln sehr homogen: $DMP > TMP > MP > P$. Es zeigt sich also auch hier die bereits bei der qualitativen Untersuchung der Diesel beobachtete Dominanz höher siedender Verbindungen.

Probe D4 zeigt insgesamt sehr niedrige Konzentrationen und enthält praktisch keine Trimethylphenole. Damit unterscheidet sie sich wesentlich von den anderen Dieseln.

Durch einfache Verhältnisbildung läßt sich aus den gewonnenen Daten der Anteil der C_0 - bis C_3 -Alkylphenole am Gesamtphenolgehalt bestimmen. Die berechneten Werte sind in

Abbildung 32 dargestellt.

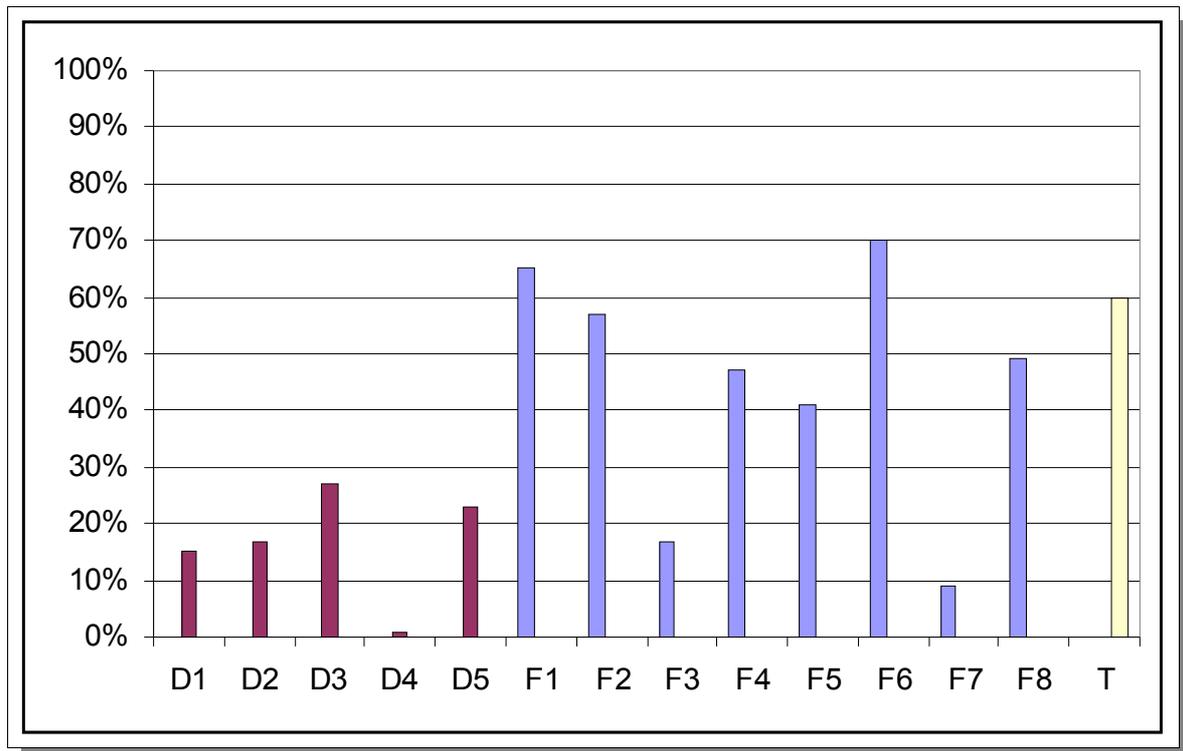


Abbildung 32: Anteil [%] der C_0 - bis C_3 -Alkylphenole am Gesamtgehalt

Die Grafik zeigt deutlich, daß die bestimmten C_0 - bis C_3 -Phenole bei den Benzinen und dem Zweitaktgemisch eine wesentlich höhere Bedeutung haben als bei den Dieseln. Eine Ausnahme bilden Benzine F3 "ohne Additive" und F7, bei denen jedoch die Gesamtkonzentrationen sehr niedrig sind, was sich negativ auf die Genauigkeit der Verhältnisbildung auswirken kann. Bei den Dieseln fällt wiederum Probe D4 "mit Ferrocen" auf, bei denen die bestimmten Phenole nur einen sehr geringen Beitrag zum Gesamtgehalt liefern. Es zeigt sich somit deutlich, daß eine Bestimmung nur einiger weniger Phenole nicht aussagekräftig für den Gesamtphenolgehalt sein kann. Insbesondere bei den Dieseln können die extrem zahlreichen und in geringer Einzelkonzentration vorliegenden Analyten keinesfalls vernachlässigt werden, so daß besonders hier auf die Integration über alle Analyten im Chromatogramm nicht verzichtet werden sollte.

9.1.3.3.1 Verhältnis von DMP zu P plus MP

In [52] wurde bei Untersuchung von C₀- bis C₂-Methylphenolen in Treibstoffen das Verhältnis von Dimethylphenolen zur Summe von Phenol und Methylphenolen betrachtet. Deshalb soll dieses Verhältnis auch für die hier untersuchten Proben gebildet werden. Die so berechneten Werte sind in Tabelle 17 zusammengefaßt.

Tabelle 17: Konzentrationsverhältnisse von DMP zu P plus MP bei Schweizer Treibstoffproben

<i>Benzine</i>		<i>Diesel und Zweitaktgemisch</i>	
<i>Probe</i>	<i>DMP / (P + MP)</i>	<i>Probe</i>	<i>DMP / (P + MP)</i>
F1	0,5	D1	2,1
F2	0,8	D2	3,0
F3	0,4	D3	2,4
F4	1,0	D4	3,4
F5	0,1	D5	3,5
F6	0,4		
F7	0,5	T	0,4
F8	0,6		

Damit ergibt sich im Vergleich zu den Befunden aus [52] folgendes Bild (Tabelle 18):

Tabelle 18: Vergleich der Verhältnisse von DMP zu P+MP mit Literaturwerten spanischer Treibstoffe

Probe	<i>Konzentrationsverhältnis DMP / (P + MP)</i>	
	Schweizer Treibstoffe	Spanische Treibstoffe [52]
Benzine	0,1 – 1,0	0,3 – 0,6
Diesel	2,1 – 3,5	≥ 1

Unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Meßmethoden und Proben stimmen die Ergebnisse gut überein und bestätigen sich gegenseitig in der Kernaussage, daß Phenol und Monomethylphenole bei Benzin dominieren, während bei Dieseln höher alkylierte Verbindungen überwiegen.

9.1.3.4 Korrelationsanalyse der bestimmten Phenolkonzentration

9.1.3.4.1 Theoretischer Hintergrund

Die Korrelationsanalyse ist ein mathematisches Verfahren zur Bewertung von Beziehungen in Datensätzen. Damit ist es ein wertvolles Werkzeug, um Ähnlichkeiten in Meßwertreihen von analytischen Proben aufzudecken. Betrachtet man den einfachen Fall, daß nur zwei Meßwerte pro Probe bestimmt wurden, so läßt sich eine Korrelationsanalyse nach folgendem Algorithmus durchführen:

1. Aufstellung einer zweidimensionalen Darstellung aller Meßwerte,
2. Entfernungsbestimmung aller Meßpunkte zueinander („Proximitätsmaße“).
3. Zusammenfassung von Punkten, die den geringsten Abstand zueinander haben, zu einer Gruppe („Fusionierung“).
4. Ersetzen der gruppierten Meßpunkte im Koordinatensystem durch den jeweiligen Schwerpunkt.

Dieses Verfahren wird solange wiederholt, bis nur noch zwei Gruppen übrig sind. Insgesamt erhält man eine hierarchische Gliederung der Proben in Form einer Baumstruktur. Darin sind Untergruppen umso ähnlicher zueinander, je weiter sie von der Wurzel entfernt sind. Dieser Baum kann als sog. Dendrogramm dargestellt werden: Die Äste des Baumes sind darin U-förmig verzweigt, und der Abstand der Basislinie des jeweiligen Astes zur „Krone“ des Baumes ist gleich dem Abstand der Meßwerte in der Korrelationsanalyse. Damit erhält man eine graphische Darstellung der Korrelationsanalyse, die ein leichtes Erkennen von Gruppen von Proben mit ähnlichen Meßwertmustern erlaubt.

Bei Untersuchungen mit mehr als zwei Meßwerten pro Probe ist der o.g. Algorithmus genauso anwendbar, allerdings erfolgt jetzt die Entfernungsbestimmung im n-dimensionalen Raum, wobei n gleich der Zahl der Meßwerte pro Probe ist¹¹.

Damit einzelne, hohe Konzentrationen bei der Mustererkennung nicht überbewertet werden, werden die Daten vorher normiert, d.h. in Relation zum höchsten Meßwert der jeweiligen Komponente gesetzt.

Zur Korrelationsanalyse können unterschiedliche mathematische Verfahren zur

¹¹ An der Darstellung im Dendrogramm ändert sich hierdurch nichts, dies bleibt auch jetzt zweidimensional.

Bestimmung von Abstand (Proximitätsmaß) und Schwerpunkt (Fusionierungsalgorithmus) herangezogen werden, auf die hier nicht näher eingegangen wird (s. hierzu [65], [66]).

Im jeweiligen Einzelfall müssen dann die geeignetsten Verfahren zur Korrelationsanalyse experimentell ermittelt werden. Dies macht deutlich, daß die Ergebnisse der Korrelationsanalyse kritisch zu hinterfragen sind und die Korrelationsanalyse einen erfahrenen Analytiker nicht ersetzen, sehr wohl aber unterstützen kann.

9.1.3.4.2 Durchführung und Ergebnisse der Korrelationsanalyse

Die ermittelten Konzentrationen der C₀-C₃-Alkylphenole in den Treibstoffproben wurden mit einem Tabellenkalkulationsprogramm erfaßt und in das Programm „MatLab“ importiert. Nach Normierung wurden mit der Software Korrelationsanalysen mit verschiedenen Proximitätsmaß- und Fusionierungsalgorithmen durchgeführt und in Dendrogrammen dargestellt. Dies geschah mit Hilfe einer Routine, die dankenswerterweise von Dr. Frauendorfer zur Verfügung gestellt wurde und im Anhang abgedruckt ist. Anschließend wurde überprüft, ob sich die Gruppierungen in den Dendrogrammen mit den zuvor ermittelten Ähnlichkeiten und Gemeinsamkeiten decken. Dabei hat sich die Distanzbestimmung nach *Mahalanobis* in Verbindung mit der *Ward*-Fusionierung als geeignetstes Verfahren herausgestellt. (Zu den Algorithmen s.a. [67].) Damit ergibt sich das in Abbildung 33 dargestellte Dendrogramm als graphische Repräsentation der Korrelationsanalyse der C₀-C₃-Alkylphenole in den untersuchten schweizer Treibstoffproben.

Betrachtet man den Distance measure-Wert von 0,5, der im Dendrogramm durch eine senkrechte Linie gekennzeichnet ist, so ergeben sich drei Gruppen:

- Probe D4
- restliche Diesel
- Benzine und Zweitaktgemisch

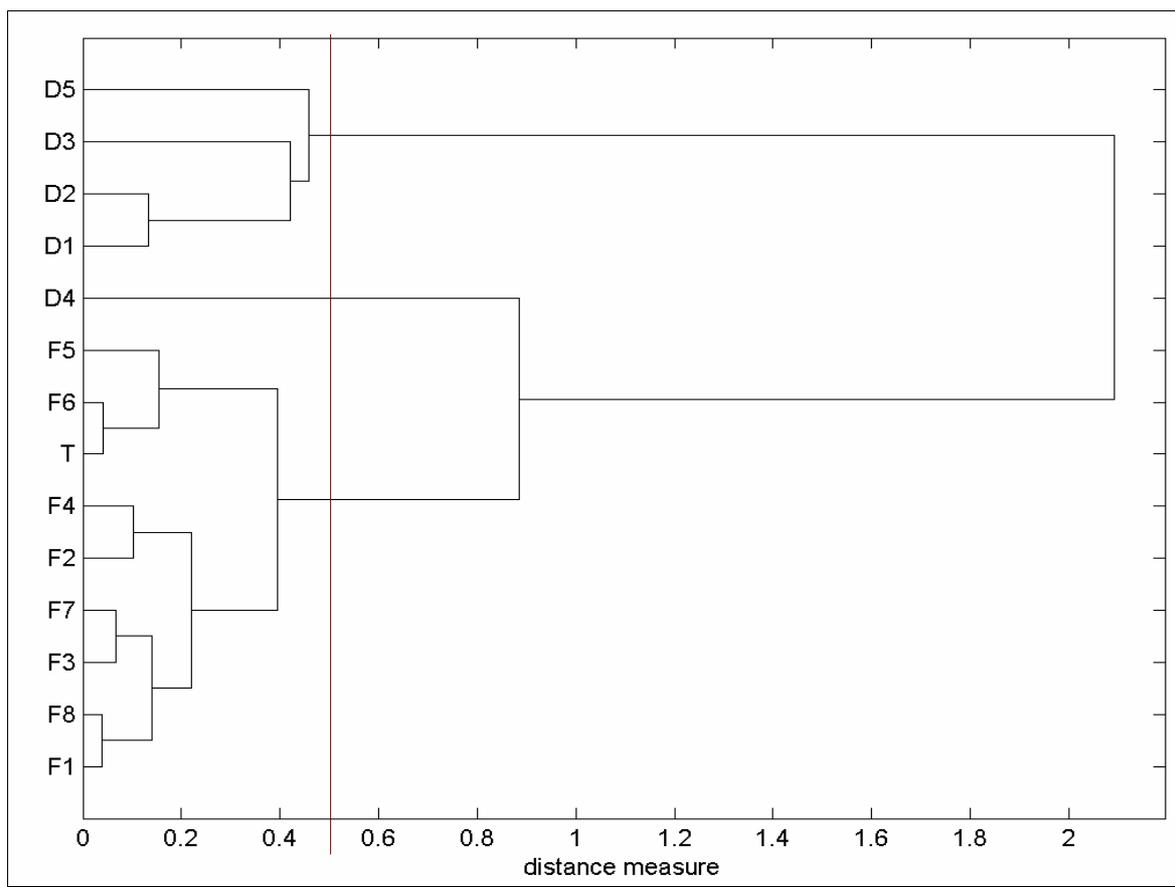


Abbildung 33: Dendrogramm der Korrelationsanalyse der Phenole in Schweizer Treibstoffproben

Daß Diesel D4 zu keiner der anderen Proben ähnlich ist, zeigt die bereits festgestellte Ausnahmestellung dieser Probe.

Insgesamt muß festgestellt werden, daß mit Hilfe der Phenolmuster keine Differenzierung zwischen Benzin und dem Zweitaktgemisch möglich ist. Diese Treibstoffe lassen sich aber mit der vorgestellten Methode sehr gut von den Dieseln unterscheiden. Darüberhinaus lassen sich Untergruppen beobachten. Innerhalb der Diesel sind dies Probe D1 und D2, die eine Untergruppe bilden, außerdem lassen sich T, F5 und F6 zusammenfassen, sowie die restlichen Benzine eine weitere Untergruppe bilden.

9.1.3.4.3 Überprüfung der Ergebnisse an Chromatogrammen

Im folgenden soll überprüft werden, in wie weit die Ergebnisse der Korrelationsanalyse durch Vergleich mit den entsprechenden Chromatogrammen bestätigt werden können. Dabei wurden in allen Fällen die im Anhang dokumentierten Meßbedingungen angewandt.

Betrachten wir zunächst die Chromatogramme der Diesel etwas genauer (Abbildung 34):

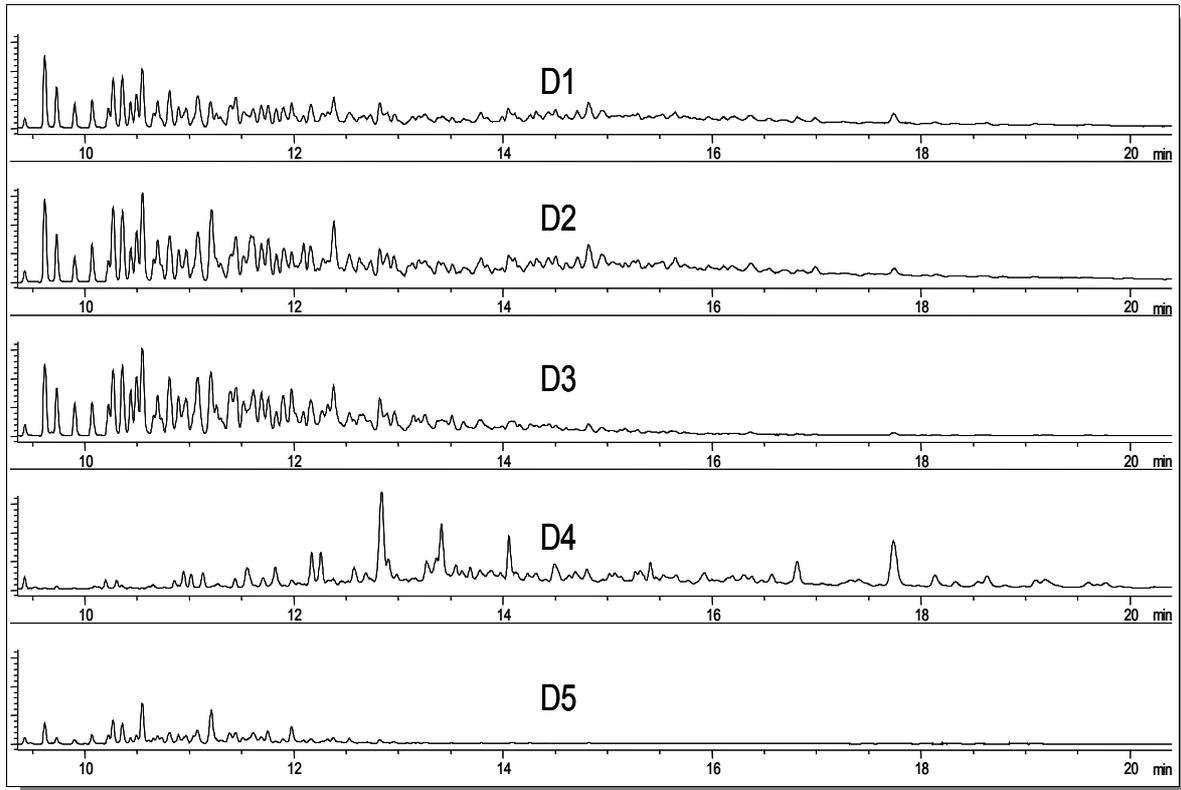


Abbildung 34: Eisenselektive Chromatogramme der Diesel (Säule VF-5ms)

In den Chromatogrammen ist eine große Ähnlichkeit der Proben D1 und D2 zu sehen, was auch zu dem kleinen Distance Measure-Wert führt. Probe D3 zeigt dazu ebenfalls ein sehr ähnliches Muster im ersten Drittel des Chromatogramms. Wegen der Abweichungen im hinteren Bereich fällt der Distance Measure aber größer aus.

Probe D5 weist ein Muster auf, daß nur in geringem Maße Ähnlichkeiten zu D1 bis D3 zeigt.

Probe D4 unterscheidet sich hingegen sehr stark von allen anderen Dieseln, was sowohl im distance measure als auch im Chromatogramm deutlich zu sehen ist.

Als nächstes verfolgen wir den Zweig im Dendrogramm, der die Benzine und das Zweitaktgemisch enthält.

Geht man hier weiter zu kleineren Werten, so bestätigt sich auch hier die bereits bei der Betrachtung der Summengehalte der C₀- bis C₃-Alkylphenole festgestellte nahe

Verwandtschaft des Zweitaktgemisches zu Benzin F6 (Abbildung 35):

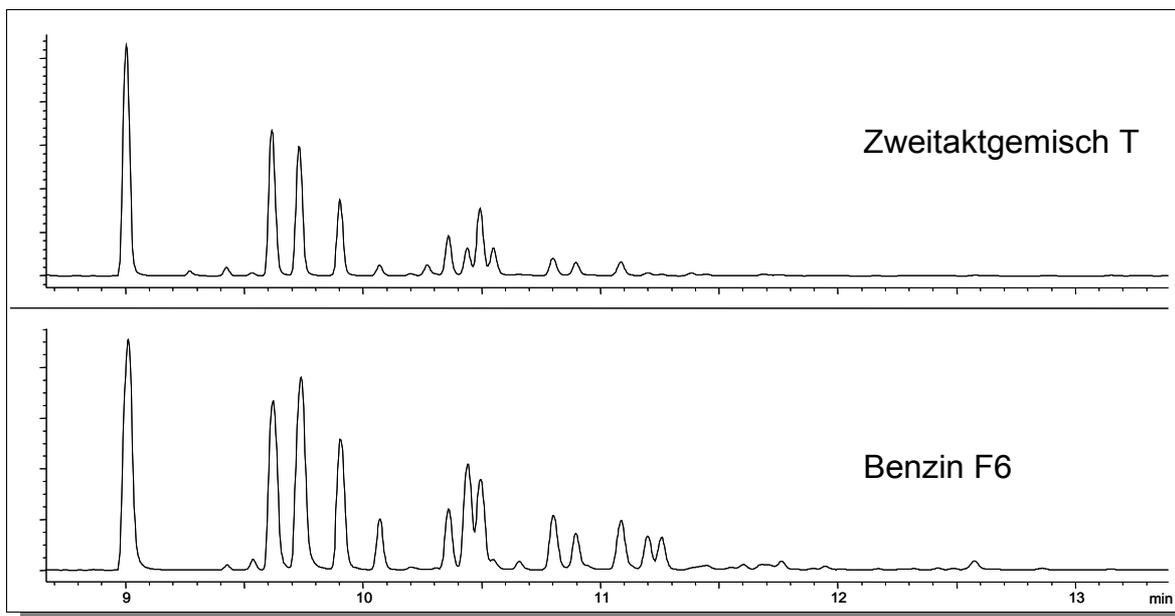


Abbildung 35: Eisenselektive Chromatogramme Zweitaktgemisch T (oben), Benzin F6 (unten)

Bei näherer Betrachtung sind jedoch auch deutliche Unterschiede zu sehen, vor allem wenn man Peakverhältnisse betrachtet, z.B. des zweit- und dritthöchsten Peaks. Bei höheren Retentionszeiten sind darüberhinaus beim Benzin einige Peaks zu beobachten, die beim Zweitaktgemisch nicht oder nur erheblich schwächer auftreten. Insgesamt kann von einer schwachen Ähnlichkeit zwischen Probe T und F6 gesprochen werden.

Außerdem zeigen die Proben F1 und F8 eine besonders nahe Beziehung, der Distance Measure ist hier der geringste im gesamten Dendrogramm. Diese Ähnlichkeit ist besonders gut durch Übereinanderlegen der Chromatogramme zu erkennen (Abbildung 36). Der Peak bei 14 Minuten, der bei F1, aber nicht bei F8 zu beobachten ist, gehört nicht zu den bestimmten C₀-C₃-Alkylphenolen. Seine Identität ist bislang ungeklärt.

Die Übereinstimmung in den Chromatogrammen von Probe F1 und F8 ist in weiten Teilen so groß, daß vermutet werden kann, daß zur Herstellung beider Benzine eine gemeinsame Fraktion als Ausgangsmaterial diente.

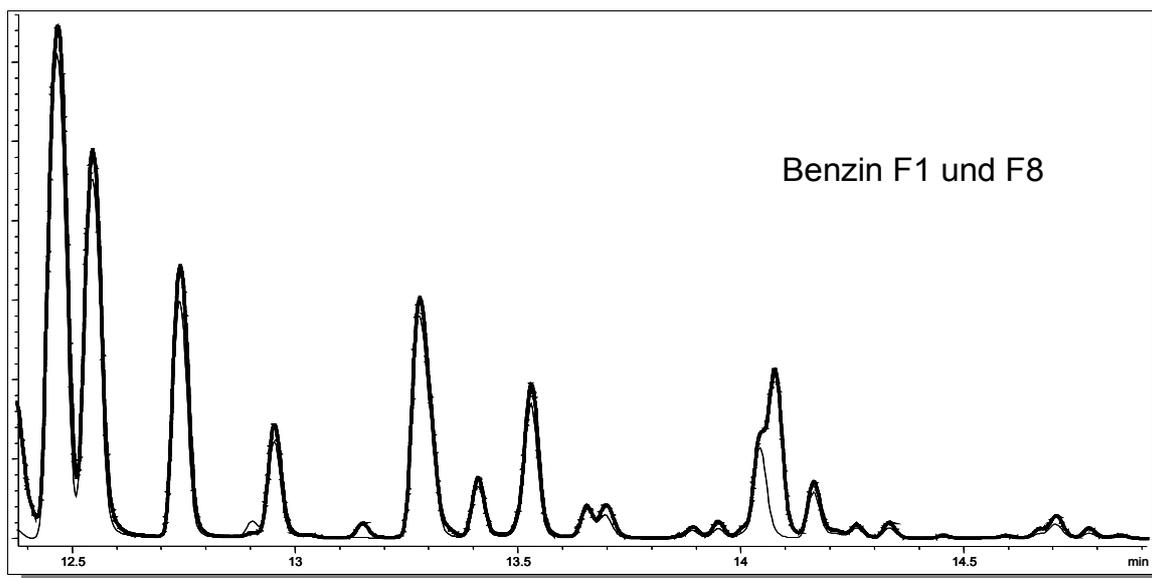


Abbildung 36: Übereinandergelegte eisenselektive Chromatogramme von Benzin F1 (dicke Linie) und F8

9.1.3.5 Vergleich mit LC-MS-Untersuchungen

Durch Kooperation mit dem Arbeitskreis von Prof. U. Karst wurde eine vergleichende Untersuchung der schweizer Treibstoffproben mittels Hochleistungsflüssigchromatographie mit massenselektiver Detektion (HPLC-MS) von G. Diehl durchgeführt [73]. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse sollen im folgenden kurz vorgestellt und mit denen der gaschromatographischen Messungen verglichen werden.

Die flüssigchromatographische Trennung erfolgte mit einer C18-Säule und Acetonitril als Laufmittel. Zur Verbesserung der Detektion wurde eine Nachsäulen-On-line-Oxidation der Ferrocenester mit Hilfe einer elektrochemischen Zelle durchgeführt, was die Detektion im MSD sowohl unter ESI- als auch unter APCI-Bedingungen erheblich verbessert [68], [4]. Die Treibstoffproben wurden unter LC/Elektrochemie/APCI(+)-MS-Bedingungen aufgenommen.

Als Grundlage der flüssigchromatographischen Untersuchung wurden alle für diese Arbeit aufbereiteten Proben verwendet, ausgenommen Benzin F5 und F6 sowie Diesel D5. Die Proben wurden durch Abdampfen bei 40 °C im Heizblock bis genau zur Trockene vom Lösungsmittel befreit. Anschließend wurden die Analyten in 1,5 ml Acetonitril wieder aufgenommen, um Kompatibilität zum HPLC-Laufmittel zu gewährleisten.

Ein Full Scan von Probe F8 ergab das in Abbildung 37 abgebildete Total ion current-

Chromatogramm:

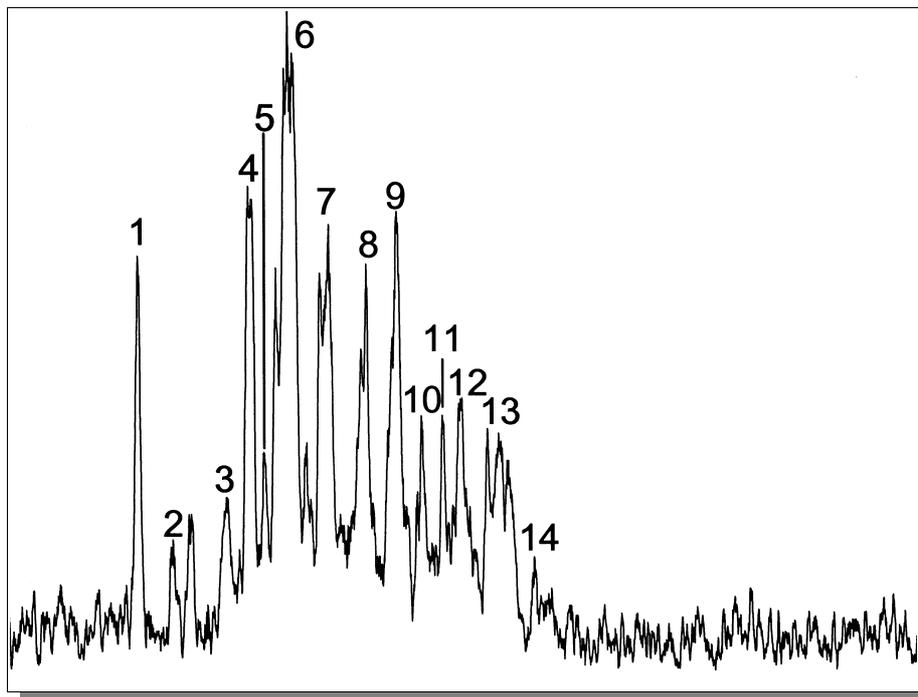


Abbildung 37: LC/El.Chem./APCI(+)-MS Full Scan Chromatogramm, aus [73]

Die Peaks wurden von G. Diehl an Hand der Molekülmassenpeaks den Derivaten folgender Analyten zugeordnet:

Tabelle 19: Peakzuordnung an Hand der Molekülmassenpeaks, aus [73]

Nr.	Analyt(klasse)	Nr.	Analyt(klasse)
1	Methanol	8	C3-, C4-Phenole, C6-Alkohole
2	Ethanol	9	C7-Alkohol
3	C3-Alkohole	10	C8-Alkohol
4	Phenol	11	C9-Alkohole
5	Methylphenole	12	C9-Alkohole
6	Methylphenole / C4-Alkohole	13	C10-Alkohole
7	C2-Phenole / C5-Alkohole	14	C10-Alkohole

Bei Betrachtung des Chromatogramms erkennt man ein hohes Grundrauschen, so daß für einige Verbindungen die Nachweisgrenze bereits unterschritten sein dürfte. Die chromatographische Trennleistung ist relativ gering und erlaubt keine Trennung nach Strukturisomeren, dafür aber eine Art Gruppentrennung nach Alkylierungsgrad. Für die

Interpretation ist jedoch die ausgeprägte Coelution von Alkohol- und Alkylphenolderivaten hinderlich. Diese Meßmethode ist also eher dazu geeignet, um einen groben Überblick über die zu analysierenden Proben zu gewinnen.

Aus diesem Grunde wurden die Massenspuren ausgewählter Alkohol- und Phenolderivate der Benzine und des Zweitaktgemisches generiert, um ein besseres Signal-Rausch-Verhältnis zu erreichen. Dadurch ließen sich Molekülmassenpeaks nachweisen, die gesättigten Alkoholen (bis C₁₁) sowie Alkylphenolen (bis C₅) mit gesättigten Seitenketten entsprechen. Außerdem fanden sich Molekülmassenpeaks, die von Alkylphenolen mit zusätzlichen Ringstrukturen oder Doppelbindungen in der Seitenkette herrühren könnten. Es wurden deutliche Hinweise auf Verbindungen mit ein bis sechs Doppelbindungsäquivalenten (DBÄ) gefunden, jedoch nicht solche mit drei DBÄ.

Ein Vergleich der Peakhöhen erlaubt ohne aufwendige Kalibrierung keine echte Quantifizierung. Da die Probenvolumina jedoch gleich sind, lassen sich durch Vergleich der Peakhöhen trotzdem größere Unterschiede in den Konzentrationen der einzelnen Proben zumindest abschätzen.

Benzinprobe F4 zeigte dabei besonders hohe Signale der Alkohole und Phenole.

Besonders niedrige Signale waren hingegen bei Benzin F3 („ohne Additive“) zu beobachten.

Die vier Dieselproben zeigten das Vorhandensein höhermolekularer Analyten, es wurden Alkohole bis C₈ und Alkylphenole bis C₁₅ detektiert. Auch hier ähnelten sich drei Proben (D1, D2, D3) in der Signalhöhe, die vierte (D4) weist deutlich geringere Konzentrationen auf. Die größten Signale wurden für C₄-Alkylphenole detektiert.

Als Besonderheit weist Probe D2 neben C₀- bis C₉-Alkylphenolen auch C₁₀- bis C₁₅-Alkylphenole auf, deren Derivate jedoch noch vor denen der C₈- oder C₉-AP eluieren. Dies spricht dafür, daß die höhermolekularen Analyten wesentlich kompaktere Molekülgeometrien in der Alkylseitenkette aufweisen, was zu früherer Elution und Überlappen der Retentionszeitbereiche führen kann.

Dies läßt sich auf dreierlei Weise erklären [73]:

- Beide Klassen könnten aus verschiedenen Rohstoffen stammen, aber ähnliche Siedebereiche aufweisen. Nach oder durch gemeinsame Destillation könnten sie dann im Produkt vereint („verschnitten“) worden sein.
- Alternativ könnte die Mischung an gestreckt-kurzen- und verzweigt-langkettigen AP auch bereits im Erdöl präsent gewesen sein.
- Eventuell liegen hier nicht (nur) Alkylphenole vor, sondern Alkohol- oder Naphtol-Derivate mit vier bis sieben DBÄ.

Diese Fragestellung läßt sich jedoch allein an Hand der durchgeführten Messungen nicht beantworten, hier könnten z.B. weitere Untersuchungen mit einem hochauflösenden Massenspektrometer weiterhelfen, das für die vorliegende Meßreihe aber leider nicht zur Verfügung stand. Die mit Hilfe der LC-Elektrochemie-MS gewonnenen Erkenntnisse sind in Tabelle 20 zusammengefaßt.

Tabelle 20: Alkohole und Alkylphenole, mit LC-Elektrochemie-MS bestimmt, aus [73]

<i>Probe</i>	<i>Bezeichnung gem. [73]</i>	<i>Alkohole</i>	<i>Alkylphenole</i>
F1	1	C ₁ -C ₇	C ₀ -C ₄
F2	3	C ₁ -C ₆	C ₀ -C ₅
F3 „ohne Additiv“	5	C ₁ -C ₃	C ₁
F4 „sauerstofffrei“	6	C ₁ -C ₄ , C ₁₁ -C ₁₄	C ₀ -C ₄ , C ₉
F7	4	C ₁ -C ₄	C ₁ -C ₃
F8	2	C ₁ -C ₁₁	C ₀ -C ₄
D1	9	C ₁ -C ₅ , C ₈	C ₀ -C ₁₃
D2	8	C ₁ -C ₅ , C ₈	C ₀ -C ₁₅
D3 „ohne Additiv“	11	C ₁ -C ₃	C ₁ -C ₈
D4 „mit Ferrocen“	10	C ₁ -C ₄	C ₀ -C ₈
T	7	C ₁ -C ₁₄	C ₀ -C ₂

Bei den Alkylphenolen fällt auf, daß nicht in allen Proben Phenol (C₀) nachgewiesen werden konnte (Benzine F4 „sauerstofffrei“ und F5, Diesel D3 „ohne Additiv“).

9.1.3.5.1 Vergleich der Ergebnisse von LC und GC

Vergleicht man die Ergebnisse der gaschromatographischen Untersuchung mit denen der Flüssigchromatographie [73], so sind einige Übereinstimmungen augenfällig:

Bei Probe F4 wurde mit beiden Methoden ein hoher Gehalt an Phenolen nachgewiesen. Dies ist insofern bemerkenswert, als daß diese Probe als „sauerstofffrei“ bezeichnet ist. Diese Kennzeichnung scheint sich also nicht auf Alkohole und Phenole zu beziehen.

Probe F3 „ohne Additive“ zeigte in beiden Fällen sehr niedrige Phenolgehalte. Dies wirft die Vermutung auf, daß Phenole im wesentlichen als Additiv in den Treibstoff gelangen könnten. Ein kommerzielles Benzin (F7) weist jedoch ebenfalls sehr niedrige Gehalte auf. Da diesem sicherlich Additive beigemischt wurden, muß die Frage offen bleiben, ob Phenole in Treibstoffen nahezu ausschließlich aus Rohöl entstammen oder in einigen Fällen eher als Additiv beigemischt werden. Dies könnte auch vom jeweiligen Hersteller abhängig sein.

Sehr interessant ist das Ergebnis der LC-Untersuchung, daß bei Dieseln der Schwerpunkt bei den C₄-Alkylphenolen liegt. Auch wenn die LC-MS-Methode nur eine Konzentrations*abschätzung* zuläßt, stimmt dieses Ergebnis innerhalb der Fehlergrenzen mit den Werten aus der Berechnung des Retentionszeitschwerpunkts r überein.

Mittels Flüssigchromatographie war in einigen Proben (F3, F7, D3) kein Phenol nachweisbar. Insbesondere bei Probe F3 „ohne Additiv“ sind mittels LC sogar keine anderen Alkylphenole außer Kresolen nachweisbar. In der GC zeigen sich jedoch auch Phenol und Dimethylphenole (Xylenole) sowie ein Trimethylphenol. Dies scheint zunächst ein Widerspruch zu sein, ist aber lediglich ein deutliches Beispiel für die wesentlich besseren Nachweisgrenzen der GC-Methode.

Insgesamt ist zu beachten, daß die dargestellten Ergebnisse der flüssigchromatographischen Untersuchung lediglich durch Auswertung von Massenspektren erfolgte. Erschwert wird die Interpretation auch durch das Fehlen von Standards vor allem höheralkylierter Phenole, die zum Großteil nicht kommerziell erhältlich sind. Da mit der HPLC aber keine Isomerentrennung erreichbar ist, würde dies eine sichere Zuordnung der Analyten auch nicht erleichtern. Insofern müssen diese Ergebnisse mit einer gewissen Vorsicht bewertet werden. Sie stimmen aber in wesentlichen Teilen mit den (genaueren) Ergebnissen der

gaschromatographischen Untersuchung überein, für die für eine sichere Zuordnung der Analyten Standards aller C₀- bis C₂-Alkylphenole sowie von vier der sechs C₃-Isomere verwendet werden konnten.

Der Nachteil der geringen Trennleistung ist jedoch gleichzeitig auch ein Vorteil: Bei der großen Trennleistung der GC-Methode kann bei größerer Alkylseitenkette die Zahl der Isomeren so groß sein, daß sie sich auf einen sehr breiten Retentionszeitbereich verteilen. Dadurch sinkt die Intensität der Einzelpeaks, so daß eine Differenzierung einzelner Analyten oft nicht mehr möglich ist. Bei der LC-Methode jedoch konzentrieren sich die Substanzen auf kleine Retentionszeitbereiche. Deshalb ist sie eine wertvolle Screeningmethode, die einen guten allgemeinen Überblick über Phenole in Treibstoffen gibt. Zudem ist es damit leicht möglich, auch höhermolekulare Verbindungen zu erfassen, die mittels GC nicht oder nur mit aufwendigen Hochtemperaturmethoden zugänglich wären. Zur Analyse niederer Alkylphenole, die vor allem in kommerziellen Treibstoffen eine wesentliche Bedeutung haben, ist jedoch die GC-Methode leistungsfähiger. Der wesentliche Vorteil ist dabei vor allem die Möglichkeit zur Quantifizierung. Insbesondere der (annähernd) strukturunabhängige Response des AED bietet hier den einzigartigen Vorteil der Bestimmung mit nur einem einzigen internen Standard. Andererseits hat eine massenspektrometrische Methode Vorteile bei der Identifikation unbekannter Verbindungen, für die eventuell überhaupt kein Standard verfügbar ist.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß sowohl die GC- als auch die LC-Methode individuelle Vor- und Nachteile besitzen und sich somit gegenseitig ergänzen. Während die LC-Methode ihre Stärken bei unbekanntem Substanzen sowie beim Screening bisher nicht untersuchter Proben hat, ist die GC-Methode zur detaillierten Untersuchung insbesondere von kürzerkettigen Alkylphenolen geeignet. Und nur mit ihr sind auch quantitative Bestimmungen möglich.

9.2 Phenolgehalt in Abhängigkeit vom Entschwefelungsgrad

Wegen der zunehmenden Bedeutung der Entschwefelung von Treibstoffen stellt sich die üFrage, inwieweit sich die katalytischen Prozesse auch auf andere Bestandteile wie Phenole auswirken. Denn sollte durch die Entschwefelung auch der Phenolgehalt verändern, so kann dies negative Effekte auf technische Parameter wie die Lagerstabilität haben. Dies müßte dann durch Zugabe geeigneter Additive wieder ausgeglichen werden.

Um die Auswirkungen der Entschwefelung zu ermitteln, wurden vier Proben aus der Benzinherstellung einer spanischen Raffinerie auf ihren Phenolgehalt hin untersucht. Diese Proben entstammen aus unterschiedlichen Stufen des Raffinerieprozesses:

Die erste Probe ist ein Gemisch verschiedener Destillate, die nicht hydriert wurden. Die Zusammensetzung ist Tabelle 21 zu entnehmen.

Tabelle 21: Zusammensetzung der nicht entschwefelten Probe

<i>Bestandteil</i>	<i>Gew. %</i>	<i>Bestandteil</i>	<i>Gew. %</i>
Light Atmospheric Gasoil (LAGO)	27	Light Cycle Oil (LCO)	30
Heavy Atmospheric Gasoil (HAGO)	18	Light Coker Gasoil (LCGO)	25

Aus diesem Ausgangsmaterial wurden die weiteren Proben durch mehrfache Hydrierung sukzessive entschwefelt. Deshalb werden die Proben im folgenden nach ihrer Entschwefelungsstufe bezeichnet (von Null bis Vier).

Sowohl Schwefel- als auch Stickstoffgehalt der Proben sind bekannt und können deshalb mit dem Phenolgehalt korreliert werden. Die Proben werden nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Derivatisierung von Benzinen aufgearbeitet (s. Anhang). Als interner Standard wird 2FPE eingesetzt. Die Messung erfolgt zunächst am GC-FID, um einen ersten Überblick über die Konzentrationsverhältnisse zu bekommen. Wegen des hohen Gehaltes in der Probe mit 18600 ppm Schwefel wird diese Lösung vor Injektion in den AED zehnfach mit Cyclohexan verdünnt. Die Messung am GC-AED erfolgt durch Injektion von 1 µl und Detektion im eisenselektiven Modus. Anschließend erfolgt die Bestimmung des Gesamtgehaltes an Phenol-Sauerstoff durch Integration über das gesamte Chromatogramm ab der Retentionszeit von Phenol. Dies hat den Vorteil, daß die Molmasse von Sauerstoff bekannt ist, was eine genaue Umrechnung in die Einheit *ppm* ermöglicht. Außerdem wird

durch diese Angabe eine direkte Vergleichbarkeit zu den Werten der Stickstoff- und Schwefelverbindungen gewährleistet. Bei diesem Verfahren werden länger-kettige Alkohole, deren Derivate ebenfalls in diesem Retentionszeitbereich eluieren könnten, miterfaßt und führen zu Mehrbefunden. Die so ermittelten Werte für Phenolsauerstoff sind in Tabelle 22 den Herstellerangaben für Schwefel und Stickstoff gegenübergestellt.

Tabelle 22: Wirkung der Entschwefelung auf S-, N- und Gesamtphenolgehalt

Entschwefelungsstufe	Herstellerangaben		Phenolsauerstoff (rechnerisch) [ppm]
	Schwefel [ppm]	Stickstoff [ppm]	
0	18600	820	950
1	550	508	70
2	145	117	26
3	26	47	12

Deutlich ist zu sehen, daß nicht nur der Schwefelgehalt von Stufe zu Stufe deutlich sinkt, sondern ebenfalls der Stickstoff- und Phenolgehalt. Um diese Wirkung der Entschwefelungsstufen im Raffinerieprozess auf die einzelnen Verbindungsklassen besser vergleichen zu können, wird die jeweilige Konzentration bei Stufe Null als 100 % gesetzt. In Abbildung 38 sind die Werte visualisiert.

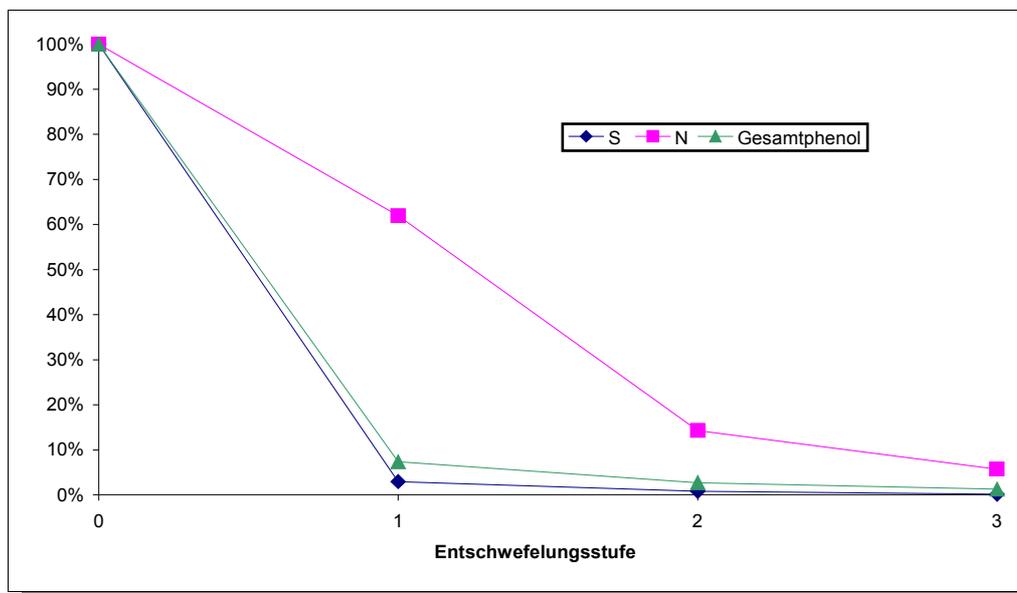


Abbildung 38: Gehalt an S, N und Phenolsauerstoff in Abhängigkeit von der Entschwefelungsstufe

Das Diagramm zeigt deutlich, daß der Stickstoffgehalt relativ kontinuierlich von Stufe zu Stufe reduziert wird. Die Reduktion von Schwefel und Phenolen verläuft hingegen parallel zueinander und findet zum überwiegenden Teil bereits auf der ersten Stufe statt, wo jeweils über 90 Prozent entfernt werden.

Ein ähnliches Verhalten wurde in [69] bei der Untersuchung der Hydrierung eines Kohledestillates beschrieben. Auch dort wurde festgestellt, daß organische Schwefelverbindungen schon bei relativ milden Hydrierbedingungen abgebaut werden, gefolgt von Sauerstoffverbindungen. Der Abbau von Stickstoffverbindungen war jedoch weniger einheitlich, was vor allem auf das sehr komplexe Muster unterschiedlichster Verbindungen in dem untersuchten Destillat zurückgeführt wurde. Darüberhinaus wurde unter drastischeren Bedingungen auch ein geringfügiger Abbau vor allem höherkondensierter Aromaten beobachtet.

Trotz der unterschiedlichen Matrices wurde also eine übereinstimmende Auswirkung des Hydrierprozesses auf Schwefel-, Stickstoff- und Sauerstoffverbindungen gefunden.

9.3 Zusammenfassung

Durch die in diesem Kapitel vorgestellten Arbeiten können jetzt auch Benzine, Diesel und Zweitaktgemische mittels FCC derivatisiert und am GC-AED untersucht werden. Dazu ist ein Probenvolumen von nur einem halben Milliliter ausreichend, um sowohl Einzelkonzentrationen ausgewählter Analyten, als auch den Gesamtgehalt bestimmen zu können.

Qualitative Untersuchungen

Die qualitativen Untersuchungen haben gezeigt, daß sich Benzine und Diesel deutlich in ihrem Phenolmuster unterscheiden, während das untersuchte Zweitaktgemisch weitestgehend den Benzinen ähnelt. Die Retentionszeitbereiche der Analyten korrespondieren dabei mit dem Siedebereich der Destillate: Benzine weisen früh eluierende Phenole mit relativ begrenztem Retentionszeitbereich auf, während Derivate aus den Dieselproben eher spät eluieren. Dabei ist die Komplexität der Dieselchromatogramme wesentlich höher, bedingt durch die größere Zahl möglicher Alkylphenol-Isomere. Die Trennleistung reicht zur Separierung von C₀- bis C₃-Alkylphenolen. Danach kommt es verstärkt zu Coelutionen bis hin zu nichtaufgelöster, komplexer Analytmatrix (engl.

“unresolved complex mixture“, UCM).

Das Vorhandensein von Ferrocen in Treibstoffen hat übrigens keine störenden Auswirkungen auf die Bestimmung von Ferrocenderivaten der Analyten, da es bei der Aufarbeitung zusammen mit den Aliphaten abgetrennt wird.

Quantitative Untersuchungen

Die quantitativen Bestimmungen sollen einen ersten Überblick über Vorkommen und Konzentrationsbereich von Alkylphenolen in Kraftstoffen bieten. Wegen des weitgehend strukturunabhängigen Response des AED konnte die Bestimmung der C₀- bis C₃-Phenole mit nur einem einzigen internen Standard erfolgen. Dazu konnte erfolgreich ein Fluorphenolderivat eingesetzt werden (4F2MPE). Zur Peakzuordnung dienten Retentionszeitstandards der C₀- bis C₃-Phenolderivate, ausgenommen 234- und 245TMP, da letztere kommerziell nicht erhältlich sind. Die Genauigkeit ist hinreichend gut für einen Überblick über Konzentration und Verteilung von Phenolen in Treibstoffen einzuschätzen und wird mit einem Fehler von unter 40 Prozent abgeschätzt.

Durch Integration über den gesamten Elutionszeitbereich der Alkylphenole ist eine näherungsweise Bestimmung des Gesamtphenolgehaltes möglich. Dies erfordert keinen zusätzlichen Meßaufwand, sondern kann auf Basis der automatisierten Integration der Chromatogramme zur Einzelgehaltsbestimmung ausgewählter Analyten erfolgen.

Zur Umrechnung des ermittelten molaren Gesamtgehaltes wurde ein neues Verfahren zur genaueren Bestimmung des durchschnittlichen Molekulargewichtes der Alkylphenole eingeführt. Dazu wird der sog. Retentionszeitschwerpunkt r definiert. Durch Vergleich mit Retentionszeiten von Alkylphenolstandards kann dann ein durchschnittliches Molekulargewicht zugeordnet werden.

Mit dieser Methode wurde für Benzin- und Zweitaktproben ein durchschnittliches Molekulargewicht entsprechend einem Monomethylphenol ermittelt, während bei Dieseln eher das Gewicht eines C₃- oder C₄-Phenols anzusetzen ist. Diese Ergebnisse wurden durch LC-MS-Untersuchungen bestätigt, auf die noch näher eingegangen wird.

Die Ergebnisse der semiquantitativen Bestimmungen zeigen im Gesamtgehalt bei Benzin eine sehr große Schwankungsbreite von über zwei Dekaden (ca. 25 bis über 2500 µmol/l).

Bei Dieseln wurden Gehalte von ca. 400 bis fast 1500 $\mu\text{mol/l}$ festgestellt. Die bestimmten C_0 - bis C_3 -Alkylphenole machen somit bei den Benzinproben bis zu 70 Prozent aus, bei Dieseln hingegen unter 30 Prozent. Damit ist erwiesen, daß die ausschließliche Bestimmung einiger ausgewählter Leitanalyten nicht aussagekräftig für den Gesamtphenolgehalt in Treibstoffen ist. Deshalb ist die gleichzeitige Bestimmung sowohl von Einzelkonzentrationen als auch des Gesamtgehalts von Phenolen in Treibstoffen aus nur einer einzigen Messung als ein wesentlicher Vorteil der entwickelten Methode zu sehen.

Interessant ist der sehr geringe Phenolgehalt bei einer Benzinprobe, die kein Additiv enthält. Dies wirft die Vermutung auf, daß Phenole vor allem als Additiv in den Treibstoff gelangen könnten. Dem steht jedoch der ebenfalls sehr geringe Gehalt in einem kommerziellen Treibstoff entgegen, dem sicherlich Additive beigemischt wurden.

Korrelationsanalyse

Die Korrelationsanalyse hat sich als wirksames Instrument zum Aufspüren von Ähnlichkeiten und Übereinstimmungen des Alkylphenolmusters von Treibstoffproben erwiesen. Damit wurde die Ähnlichkeit des Zweitaktgemisches zu einer Benzinprobe offenbart, ebenso wie eine weitgehende Übereinstimmung in weiten Teilen der Chromatogramme zweier Benzinprobe. Bei letzteren kann deshalb vermutet werden, daß bei ihrer Herstellung eine gemeinsame Fraktion mit hohem Beitrag zum Phenolgehalt verwendet wurde. In diesem Fall zeigen die entwickelte Methode also ihr Potential als "Fingerprint"-Analyten zur Identitätsprüfung von Treibstoffen.

Vergleich mit LC-Elektrochemie-MS

Der Vergleich mit den Ergebnissen der Untersuchung mit LC-Elektrochemie-MS ergab in vielen Details eine gute bis sehr gute Übereinstimmung. Allerdings sind mit dieser Methode keine Quantifizierungen möglich, und Trennleistung sowie Nachweisgrenze bleiben weit hinter den Möglichkeiten der Gaschromatographie zurück. Als Screeningmethode ist sie jedoch gut geeignet, da die geringe Trennleistung eine Art Gruppentrennung nach Alkylierungsgrad bewirkt, so daß sehr schnell ein erster Überblick über das Vorhandensein bestimmter Alkylphenole in der Probe gewonnen werden kann. Außerdem können damit auch nicht GC-gängige Analyten erfaßt werden. Der massenselektive Detektor liefert außerdem wertvolle Zusatzinformationen, die vor allem bei der Identifikation unbekannter

Analyten von Nutzen sind. Somit ergänzen sich GC- und LC-Methode gegenseitig.

Entschwefelung

Die Untersuchung der unterschiedlich stark entschwefelten Proben zeigt sehr deutlich, daß durch die Entschwefelung auch der Phenolgehalt reduziert wird.

Dies bestätigt die Vermutung, daß der Phenolgehalt in Treibstoffen nicht ausschließlich durch Destillation des phenolhaltigen Rohöls determiniert wird, sondern in großem Maße auch durch Raffinationsprozesse beeinflusst wird.

Darüberhinaus zeigt der nahezu identische Kurvenverlauf, daß die eingesetzten Katalysatoren auf Sauerstoffverbindungen wie Phenole und Alkohole einen ähnlichen Einfluß haben wie auf Schwefelverbindungen, aber einen deutlich anderen auf Stickstoffverbindungen. Somit sind die Ergebnisse nicht nur zur Bestimmung der benötigten Additivbeimischung relevant, sondern können darüberhinaus auch wertvolle Informationen für die Katalysatorforschung liefern.

10 Versuche mit wäßriger Probenmatrix

Die Bestimmung von Analyten aus wäßriger Matrix erfordert eine vorherige Extraktion, da Wasser als Lösungsmittel für die GC wenig geeignet ist. Zu diesem Zweck wurde im Rahmen einer Diplomarbeit eine Flüssig-Flüssig-Extraktionsmethode entwickelt [2]. Diese erforderte nur geringe Mengen an Probe und organischem Lösungsmittel (DCM) und konnte insbesondere zur Bestimmung von Phenol und Kresolen aus Humanurin eingesetzt werden. Die Reproduzierbarkeit war dabei jedoch wenig zufriedenstellend. Deshalb wurden im Rahmen dieser Arbeit weitere Ansätze zur Kombination von Extraktion und Derivatisierung mit einem Ferrocenreagenz entwickelt.

Eine weit verbreitete Methode ist die Festphasenextraktion (Solid Phase Extraction, SPE). Diese nutzt als stationäre Phase ein Feststoffgranulat, das in einer Extraktionskartusche fixiert ist. Die wäßrige Probe wird durch die Kartusche geleitet, wobei die Analyten am Adsorbens retardiert werden. Anschließend wird die Kartusche im Luft- oder Stickstoffstrom getrocknet. Danach können die Analyten mit einer geringen Menge eines geeigneten organischen Lösungsmittel bequem eluiert werden. Speziell zur Extraktion von Phenolen haben sich als Adsorbens funktionalisierte Divinylbenzen-Copolymere (DVBE) bewährt. In [70] zeigte sich jedoch, daß die Extraktion damit bei kleinen Konzentrationen nicht mehr zuverlässig funktioniert. Doch gerade bei kleinen Probenvolumina und kleinen Konzentrationen würde die Derivatisierung mit einem Ferrocen Vorteile bringen, weshalb die Kombination mit Festphasenextraktion nicht erfolgversprechend erscheint. Zur Überprüfung wurden trotzdem umfangreiche Vorversuche durchgeführt, die jedoch ebenfalls schlechte Extraktionsausbeuten zeigten.

Deshalb wurde der Versuch unternommen, eine Membranextraktion mit der bewährten Derivatisierungsmethode zu koppeln.

Generell gilt, daß Phenole wegen der Acidität der Hydroxylgruppe eine bedeutende Hydrophilie aufweisen, was die Extraktion wesentlich erschwert. Deshalb wurde auch nach einer Möglichkeit zur Derivatisierung bereits in der wäßrigen Phase gesucht. Dies würde die Polarität stark absenken, was die Extraktion wesentlich begünstigen würde.

Zunächst wird im folgenden auf die Membranextraktion eingegangen, danach auf die Versuche zur direkten Derivatisierung in wäßriger Lösung.

10.1 Membranextraktion

Die Membranextraktion nutzt, wie der Name schon sagt, eine Membran zur Trennung zweier Phasen. Die Membran muß semipermeabel sein, um einen Stofftransport von Analyten zwischen den Phasen zu ermöglichen, ohne daß sich die Phasen dabei mischen können. In der Analytik wird diese Technik zumeist genutzt, um Analyten aus Wasser in ein organisches Lösungsmittel zu überführen. Dabei ist zu beachten, daß eine Extraktion prinzipiell nicht vollständig sein kann, da sich immer ein Verteilungsgleichgewicht zwischen den Phasen einstellt. Dabei ist die Lage dieses Gleichgewichtes vor allem abhängig von der Löslichkeit des individuellen Analyten in Wasser und Lösungsmittel. Die Kinetik, d.h. die Dauer bis zur Gleichgewichtseinstellung, wird hingegen bestimmt durch den langsamsten Schritt auf dem Weg eines Teilchens von einer Phase in die andere. Dieser Weg besteht aus der Annäherung an die Membran durch Konvektion und Diffusion, dem Weg durch die Membran, der auch als Lösungsvorgang betrachtet werden kann, sowie der Verteilung in der neuen Phase. All diese Schritte sollten bei erhöhter Temperatur beschleunigt ablaufen, wobei jedoch die Gefahr von Lösungsmittelverlust durch Verdampfung zu beachten ist. Auch wenn die Membranextraktion mit der klassischen Flüssig-Flüssig-Extraktion mit Hilfe eines Schütteltrichters eng verwandt ist, besitzt sie den großen Vorteil, daß auch ineinander mischbare Phasen verwendet werden können, z.B. Aceton und Wasser.

Trotz dieser Vorzüge fand die Membranextraktion bisher nur geringe Verbreitung. In den letzten Jahren wurde jedoch am Umweltforschungszentrum Leipzig eine Variante entwickelt, die für eine weitgehend automatisierte Extraktion und Messung geeignet ist und jetzt von der Firma Gerstel in Lizenz gefertigt wird. Dabei wird ein konventioneller Autosampler der Fa. CTC verwendet, um den Extrakt in einen GC oder eine HPLC zu injizieren. Bei Verwendung eines GC mit KAS kann dies als Large Volume Injection geschehen, wodurch zeitaufwendige Aufkonzentrierungsschritte vermieden werden. Die wäßrige Probe befindet sich dabei in einem 20 ml Headspace-Vial, in dessen Hals ein spezieller Beutelhalter in Trichterform eingehängt wird¹². Der Beutel wird dazu vorher auf den konischen Hals des Trichters aufgeschoben und mit einem Vitonring¹³ fixiert.

¹² Die Zeichnungen zur Membranextraktionen sind aus [29] entnommen.

¹³ Viton ist ein technischer Kunststoff ähnlich Teflon, jedoch weniger duktil.



Abbildung 39: Membranbeutel im Vial

Dann wird der Beutelhalter in den Hals des Vials gehängt und mit Lösungsmittel befüllt (Abbildung 39). Dabei sollten die Flüssigkeitsstände innerhalb und außerhalb des Beutels unterhalb des Klemmringes liegen, um einen Flüssigkeitsübertritt zu vermeiden. Anschließend wird das Vial mit einem Crimpverschluß mit Gummiseptum verschlossen. Das so vorbereitete Vial wird in einen Vialhalter des Autosamplers gestellt, die Extraktion und Messung kann ab jetzt vollautomatisch ablaufen. Dazu überführt der Autosampler das Vial in einen kleinen Ofen mit Schüttelfunktion, wie er auch zur Headspace-Analytik benutzt wird. Dieser heizt das Vial auf eine einprogrammierte Temperatur auf und läßt es auf einer Orbitalbahn mit wählbarer Frequenz rotieren. Dadurch wird der Inhalt effizient durchmischt.

Nach diesem Vorgang wird das Vial zurückgestellt und mit der Autosamplerspritze ein Teil der organischen Phase aus dem Beutel entnommen und injiziert (Abbildung 40).

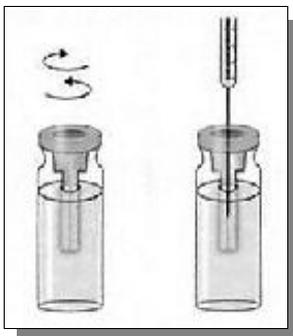


Abbildung 40: Extraktion und Entnahme

Dieses Verfahren benötigt nur Proben- und Lösungsmittelvolumina im Milliliterbereich, und kann durch die weitgehende Automatisierung nicht nur Zeit und Kosten sparen, sondern auch eine gute Wiederholbarkeit gewährleisten.

Bei Bedarf kann außerdem die Zugabe des Lösungsmittels oder einer Standardlösung mit dem Autosampler in den Beutel hinein erfolgen. Hierbei ist allerdings daran zu denken, daß der Weg durch die Membran von beiden Seiten möglich ist, so daß ein zugegebener Standard zum Teil aus der organischen in die wäßrige Phase übertreten kann. Somit kann es entscheidend sein, ob die Standardlösung vor oder nach der Extraktion zugegeben wird.

Nachteil der Membranextraktion ist allerdings, daß hierfür ein Autosampler samt Orbitalerschüttler und Spezialsoftware benötigt wird. Dies stand für diese Arbeit leider nicht

zur Verfügung. Deshalb wird versucht, ein alternatives Experimentdesign zu entwerfen, das weitestgehend manuell durchgeführt werden kann. Dafür wird ein Adapter konstruiert, der die Verwendung von 12 ml-Vials mit Schraubkappen ermöglicht. Der Adapter muß dabei eine sichere Befestigung des Membranbeutels gewährleisten. Da saure Proben extrahiert werden sollen, muß er gegenüber diesen Medien eine ausreichende Korrosionsstabilität gewährleisten. Außerdem müssen alle verwendeten Materialien gegenüber dem zur Extraktion verwendeten organischen Lösungsmittel inert sein. Damit die Flüssigkeiten von Beutellinnen- und -außenraum nicht miteinander in Berührung kommen können, muß eine vollständige Abdichtung im Deckelbereich gewährleistet sein.

Zur Erfüllung o.g. Anforderungen wird ein Aufbau gewählt, der sich an den kommerziell erhältlichen Beutelhalter anlehnt (Abbildung 41).



← links: Eigenkonstruktion für Schraubkappen-Vials

← rechts: Original für Crimpvials

Abbildung 41: Beutelhalter zur Membranextraktion

Der Halter für Crimpvials weist im Inneren eine trichterförmige Bohrung auf. Der obere Rand weist eine scharfe Kante auf, die sich in das Gummiseptum des Crimpvials einschneidet und dadurch abdichtet. Der Beutel wird von unten auf den konischen Auslaß aufgeschoben und mit dem in der Abbildung erkennbaren Teflonring mit konischer Innenbohrung fixiert.

An diesem Aufbau orientiert sich auch die Eigenkonstruktion, die für 10 und 12 ml-Vials mit Schraubkappe geeignet sein soll: Sie besteht ebenfalls aus einem durchbohrten Edelstahlkonus, allerdings mit planer Kopfplatte. Dieser wird ebenfalls in den Hals des Vials gehängt. Auf den Konus wird von unten ein Membranbeutel geschoben. Dann wird ein Vitonring mit konischer Bohrung aufgeschoben, der den Beutel fixieren und abdichten soll. Das Vial wird mit einer Schraubkappe mit Teflon-überzogener Gummidichtscheibe verschlossen. Über die plane Kopfplatte des Adapters erfolgt damit gleichzeitig eine Abdichtung zwischen Innen- und Außenraum. Zur Fixierung des Trichters im Flaschenhals und zur weiteren Abdichtung dient eine speziell angepaßte Teflonscheibe mit Halsmanschette, die über den Konus geschoben wird. Die Konstruktion ist in Abbildung 42

detailliert abgebildet:



- ←Plane Kopfplatte
- ←Teflon-Dichtung mit Halsmanschette
- ←Fixierring aus Viton mit konischer Bohrung
- ←Extraktionsbeutel (farblos, hier mit Farbstofflösung gefüllt)

Abbildung 42: Beutel am Halter für Schraubkappen-Vials

Da die 12 ml-Vials schlanker und höher als die Crimpvials sind, wurde die Länge des Edelstahlhalters erhöht: Der Trichterhals ist dadurch so bemessen, daß der Beutel knapp über dem Boden des Vials hängt. Um einen Flüssigkeitsübertritt zu vermeiden, sollte das Vial nur bis zum Dichtkonus befüllt werden (Abbildung 43).



- ← Maximale Füllhöhe
(750 µl im Beutelinne, 7,5 ml Probenvolumen)

Abbildung 43: Beutel im 12 ml-Schraubkappen-Vial

Im Orbitalschüttler werden die Vials erwärmt und auf einer Orbitalbahn bewegt. Da ein derartiger Schüttler nicht zur Verfügung stand, und ein Kreis- oder Linearschüttler bei der zylindrisch-schlanken Vialform nicht für eine hinreichende Durchmischung sorgen kann, wird hierfür als Alternative ein Ultraschallbad gewählt.

In jedem Fall muß ein saurer pH eingestellt werden, um die Lipophilie der Phenole zu steigern. Dies wird durch Zugabe von 1 %iger HCl zur wäßrigen Phase sichergestellt.

Zur Verschiebung des Verteilungsgleichgewichtes zu Gunsten der organischen Phase bietet es sich an, das Derivatisierungsreagenz bereits dem zur Extraktion verwendeten Dichlormethan zuzugeben. Dies hat weiterhin den Vorteil, daß durch die rötliche Färbung Undichtigkeiten schnell erkannt werden können, und das Eindringen von Wasser in den Beutel durch Gelbfärbung der Lösung indiziert wird. Da geringe Reagenzverluste bei der Extraktion nicht ausgeschlossen werden können, wird nach Entnahme der organischen Phase dem Extrakt weitere Reagenzlösung zugegeben. Dadurch ist ein hinreichender Reagenzienüberschuß garantiert.

Für eine weitere Verbesserung der Extraktionsbedingungen wird auch der sog. Aussalzeffekt genutzt, bei dem die Hydrophilie der Analyten durch Lösung eines Salzes in der wäßrigen Phase vermindert wird. Hierzu wird hochreines Kochsalz verwendet, welches zuvor durch Erhitzen auf 450 °C von etwaigen organischen Verunreinigungen befreit wird.

Bei ersten Experimenten zeigte sich jedoch, daß die Abdichtung des Beutels nicht zuverlässig ist, was an einer Färbung und Trübung der Wasserphase durch kleine Dichlormethanperlen zu erkennen ist. Dadurch gingen mindestens 30% der organischen Phase verloren, so daß nicht mehr als 15 bis 35 Prozent Extraktionsausbeute erzielt werden konnten. Interessanterweise blieb dabei die organische Phase durch FCC rot gefärbt, eine Gelbfärbung durch eindringendes Wasser blieb somit aus. Es kann deshalb vermutet werden, daß sich durch Wärme und Ultraschallbehandlung ein Überdruck im inneren Trichterbereich bildet, der das Lösungsmittel am Beutelrand vorbei in das Vial presst. Doch auch wenn man diese Verluste mit berücksichtigt, wird deutlich, daß die Extraktionsausbeute unzureichend ist, da sie auch nach überschlagsmäßiger Korrektur der Verluste deutlich unter 50 % liegt. Auch die versuchsweise Umstellung auf Acetonitril anstelle von Dichlormethan konnte keine Verbesserung dieses Problems erkennen lassen.

Durch Kontakt zum analytischen Labor der BASF Coatings GmbH, Münster, konnte für ein einmaliges Experiment ein Orbitalschüttler verwendet werden. Hierfür wurden Headspacevials mit Gummiseptum, sowie der originale Beutelhalter verwendet. Um den Effekt des Derivatisierungsreagenzes im Extraktionsbeutel abschätzen zu können, wurde einmal reines DCM zur Extraktion verwendet, während im zweiten Beutel eine Lösung von FCC in DCM eingesetzt wurde. Nach einer halben Stunde Schütteln bei 400 Umläufen pro Minute und 40 °C wurde das erste Gefäß mit einer Entcrimpzange geöffnet.

Dabei kam es beim Öffnen zu geringen Verlusten von Lösungsmittel durch einen starken Überdruck im Gefäß. Deshalb wurde beim zweiten Gefäß zunächst das Septum mit einer Spritzenkanüle durchstoßen. Der Überdruck im Gefäß war dabei so groß, daß der Spritzenstempel hochgedrückt und der Beutel vollständig zusammengequetscht wurde. Dabei wurde die organische Phase in den Trichterhals bzw. in die Spritze gedrückt, so daß nahezu die gesamte organische Phase erfolgreich entnommen und aufgearbeitet werden konnte. Das Extrakt des ersten Vials wurde ebenfalls derivatisiert. In beiden Fällen wichen die jeweiligen Ausbeuten kaum voneinander ab und lagen je nach Analyt im Bereich von 10 bis 60 Prozent. Die Zugabe von FCC zur organischen Phase hat also entgegen der Erwartungen keinen nennenswerten Effekt auf die Extraktionsausbeute, und selbst bei Verwendung eines Orbitalschüttlers sind die Extraktionsausbeuten gering bis ungenügend. Eine Erhöhung der Extraktionsausbeute könnte nur durch Erhöhung der Extraktionsdauer oder -temperatur erreicht werden, was Verluste durch Undichtigkeiten aber ebenfalls vergrößern würde. Der beobachtete große Überdruck birgt zudem die Gefahr des Berstens des Glasgefäßes, wodurch eine Gefährdung durch Chemikalien und Splitter resultiert. Außerdem muß befürchtet werden, daß die Abdichtung der Beutel nicht mehr gewährleistet werden kann. Würde man hingegen den Überdruck durch eine Bohrung im Deckel vermeiden, könnte es zu Verlusten durch Verdampfung oder Verspritzen kommen.

Zusammenfassend muß deshalb festgestellt werden, daß die Versuche mit Membranextraktion sowohl mit Ultraschall als auch unter Verwendung eines Orbitalschüttlers unbefriedigend verlaufen sind und deshalb nicht weiter verfolgt wurden.

10.2 Derivatisierung in wässriger Phase

Wie bereits erwähnt, sind für die Derivatisierung direkt in der wässrigen Probe Säureanhydride und Chloroformate geeignet, nicht jedoch Säurechloride. Aus diesem Grund scheidet Ferrocencarbonsäurechlorid für diese Zwecke aus, da diese Substanz fast schlagartig mit Wasser abreagiert. Deshalb wurde untersucht, ob Ferrocenylmethylchloroformat oder Ferrocencarbonsäureanhydrid in Frage kommen.

10.2.1 Ferrocenylmethylchloroformat

Ferrocenylmethylchloroformat ist durch Reaktion von Ferrocenylmethanol und (Tri-)Phosgen zugänglich (Abbildung 44).

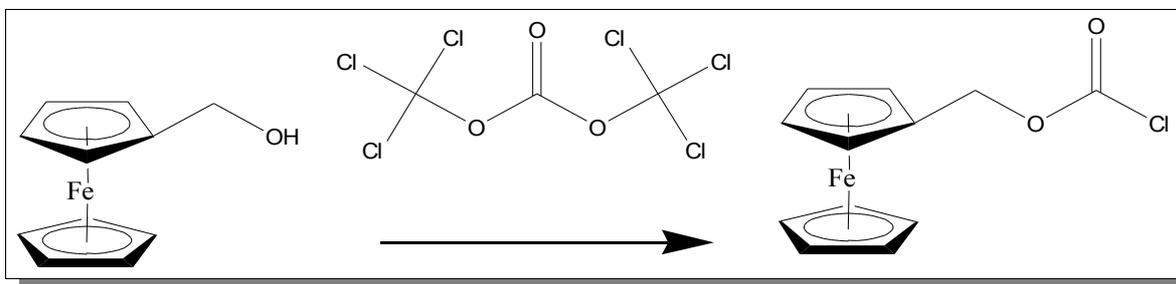


Abbildung 44: Synthese von Ferrocenylmethylchloroformat aus Ferrocenylmethanol mit Triphosgen

Laut [71] ist das Produkt jedoch instabil und soll schon mit Luftfeuchtigkeit abreagieren. Da Chloroformate darüberhinaus dafür bekannt sind, daß ihre Reaktion zu einer Vielzahl von unerwünschten Nebenprodukten führt, wurde von einem Syntheseversuch mit hochtoxischem (Tri-)Phosgen abgesehen.

10.2.2 Ferrocencarbonsäureanhydrid

Ferrocencarbonsäureanhydrid konnte dankenswerterweise von T. Kreickmann erhalten werden, der dies im Rahmen seiner Diplomarbeit synthetisiert hat [72]. Diese Substanz kann durch Reaktion des Tosylates mit der Carbonsäure erhalten werden (Abbildung 45).

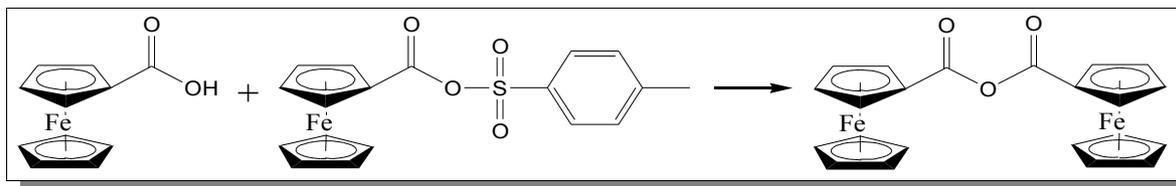


Abbildung 45: Synthese von Ferrocencarbonsäureanhydrid

Das kristalline Produkt ist in Aceton gut löslich, bei Zugabe dieser Lösung zu einer phenolhaltigen Wasserprobe kommt es jedoch sofort zu einer Bildung rötlicher Flocken, die an der Wasseroberfläche aufschwimmen. Auch nach halbstündiger Erwärmung bei 40 °C im Ultraschallbad ist keine Reaktion mit den Analyten zu beobachten, eine leichte Gelbfärbung zeigt lediglich die beginnende Hydrolyse des Reagenzes an. Ferrocencarbonsäureanhydrid ist also nicht wasserlöslich genug, um zur Derivatisierung in wäßriger Matrix eingesetzt werden zu können.

10.3 Zusammenfassung

Die Versuche mit Membranextraktion führten zu Verlusten durch starken Überdruck im Vial. Außerdem waren die Ausbeuten sowohl bei Ultraschalldurchmischung als auch bei automatisierter Extraktion mit einem Orbitalschüttler unzureichend.

Eine direkte Derivatisierung mit Ferrocencarbonsäureanhydrid ist ebenfalls nicht möglich, da dieses Reagenz nicht wasserlöslich genug ist.

Der Versuch, mit FCC die Extraktion sehr kleiner Volumina wäßriger Proben mit geringer Konzentration zu ermöglichen, ist somit nicht geglückt. Insbesondere das Fehlen von automatisierten Extraktionsmethoden ist dabei als wesentliches Hindernis zu bewerten, da nach den gesammelten Erfahrungen die Reproduzierbarkeit manueller Methoden für kleine Volumina unzureichend erscheint. Für große Probenvolumina und Konzentrationen stehen hingegen alternative Bestimmungsmethoden zur Verfügung, so daß hier der Mehraufwand der Derivatisierung mit FCC nicht gerechtfertigt wäre. Die Anwendung von FCC bleibt somit auf nichtwäßrige Proben beschränkt.

11 Untersuchung des Potentials der Ferrocene für GC-MS

In diesem Kapitel soll die Eignung von Ferrocenderivaten für Gaschromatographie mit massenselektiver Detektion untersucht werden. Dazu werden zunächst die Massenspektren von Standards aufgenommen. Um die Selektivität der Methode darzustellen, werden zuletzt einige Rohöle und Kohledestillate herangezogen, darunter auch ein Standardreferenzmaterial.

11.1 Analyse der Massenspektren

Das „Finnigan GCQ“ GC-Ion Trap-MS kann alternativ mit Elektronenstoß- (EI) oder chemischer Ionisierung (CI) betrieben werden. Der EI-Modus hat den großen Vorteil, daß die Ionisierung gut reproduzierbar ist. Dies ist auch eine wesentliche Voraussetzung für das Anlegen von MS-Spektrenbibliotheken. Außerdem ist die Fragmentierung der Analyten unter Elektronenstoßionisierung stärker ausgeprägt. Dies kann auf der einen Seite die Ermittlung des Molekülpeaks verhindern, auf der anderen Seite bedeuten mehr Fragmente aber auch mehr Informationen, die zur Identifikation verfügbar sind.

11.1.1 Elektronenstoßionisierung (GC-EI-MS)

Um zu überprüfen, ob die Ferrocencarboxylderivate ein homogenes Fragmentierungsmuster aufweisen, werden verschiedene Standards nach der im Anhang beschriebenen Allgemeinen Arbeitsvorschrift hergestellt, in Cyclohexan verdünnt und im GC-EI-MS im Full Scan-Modus (50-650 m/z) untersucht. Zunächst werden die Fragmentierungsmuster der aromatischen Ferrocenderivate untersucht, insbesondere von Phenolen. Die beobachteten Ionen sind in Tabelle 23 angeführt.

11.1.1.1 Aromatische Ferrocenderivate

In allen aufgenommenen Massenspektren der Ferrocenderivate aromatischer Analyten sind das Molekularion sowie die Ionen mit 213, 185 und 129 m/z zu erkennen (Abbildung 46).

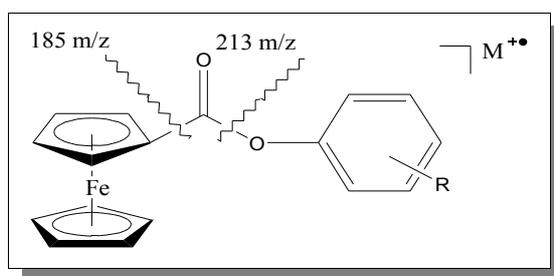


Abbildung 46: Charakteristische Fragmente aromatischer Analyten (nicht gezeigt: 129 m/z)

Tabelle 23: Massenspektren von aromatischen Ferrocenderivaten (GC-EI-MS)

Analyt	M^{14} [g/mol]	Intensität charakteristischer Ionen [%]				
		M^+	213 m/z	185 m/z	129 m/z	Sonstige (m/z [Ion] %)
PE	306	100	50	25	10	
2MPE	320	100	75	25	10	
3MPE	320	100	50	25	10	
4MPE	320	100	65	25	10	
23DMPE	334	80	100	40	15	
24DMPE	334	95	100	40	15	
25DMPE	334	80	100	40	15	
26DMPE	334	70	100	40	20	
34DMPE	334	75	100	40	20	
35DMPE	334	80	100	40	20	
235TMPE	348	80	100	35	10	
236TMPE	348	70	100	35	15	
246TMPE	348	80	100	35	15	
345TMPE	348	90	100	35	15	
2EPE	334	80	100	30	20	
3EPE	334	95	100	35	15	
4EPE	334	90	100	35	15	
4nPePE	376	100	100	30	20	
4nNPE	432	15	100	25	5	
4PPE	382	80	100	30	15	290 [M - C ₇ H ₈ ⁺] (5) 262 [290 - C ₂ H ₄ ⁺] (10)
4tOPE	418	30	100	25	5	
1NaphE	356	100	95	20	10	115 [C ₉ H ₇ ⁺] (10)
PhenE	406	65	100	15	15	
2NitPE	351	100	60	45	25	259 [FcCONO ₂ ⁺] (30) 229 [FcCONH ₂ ⁺] (45) 201 [Fc-NH ₂ ⁺] (25)
3NitPE	351	50	100	50	30	
4NitPE	351	85	100	50	25	
AnilE	305	100	70	25	15	
2FPE	324	100	85	40	15	
4F2MPE	338	75	100	50	30	
PDPE	311	100	70	30	15	

14 Molekularmasse der dominierenden Isotopenzusammensetzung

Analyt	M [g/mol]	Intensität charakteristischer Ionen [%]				
		M ⁺	213 m/z	185 m/z	129 m/z	Sonstige (m/z [Ion] %)
2CPE	340	80	100	35	15	230 [FCA ⁺] (15)
4CPE	340	80	100	40	20	
24DCPE	374	45	100	30	20	
246TCPE	408	40	100	30	10	298 [M - C ₆ H ₃ Cl] (10) 280 [298 - H ₂ O] (5)
2346TeCPE ¹⁵	444	30	100	25	15	332 [M - C ₆ H ₃ Cl] (5) 314 [332 - H ₂ O] (5)
PCPE	478	30	100	25	15	368 [M - C ₆ H ₃ Cl] (10) 350 [368 - H ₂ O] (5)

Die in der Tabelle angegebenen Intensitäten sind auf 5% gerundet. Werte unter 5% wurden nicht erfaßt.

In jedem Fall sind entweder M⁺ oder 213 m/z der Basispeak. Darüberhinaus läßt sich bei jedem dieser Ionen das charakteristische Isotopenmuster von Eisen beobachten, was die Verwechslungsgefahr durch Masseninterferenzen minimiert.

Das experimentell bestimmte Isotopenverhältnis stimmt gut mit dem erwarteten überein, wie in Abbildung 47 deutlich zu sehen ist.

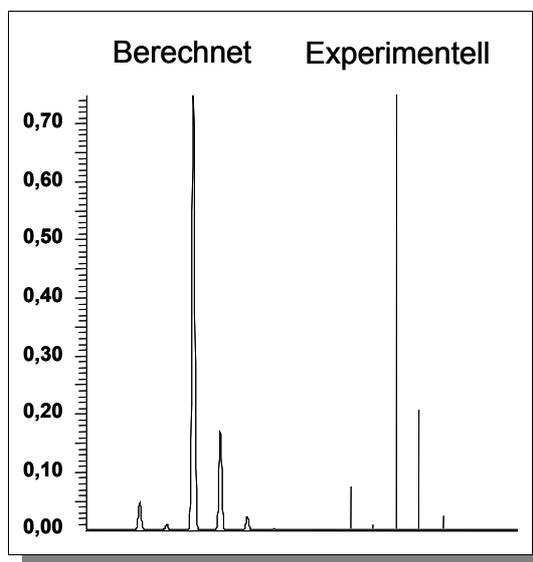


Abbildung 47: Isotopenmuster des Molekularpeaks von PE, berechnet und experimentell gefunden

15 Bei 4 bzw. 5 Chloratomen im Molekül: Durch Isotopenmischung um 2 erhöhte Massenzahl

Die Berechnung erfolgte auf Basis der Summenformel mit Hilfe des "Isotope Viewer" aus dem "QualBrowser"-Programm der XCalibur-Software. Das rechts daneben abgebildete Massenspektrum stammt aus dem Full Scan-Chromatogramm eines Öls und wurde auf gleiche Skalierung beider Base Peaks gebracht.

Bei den Derivaten der Chlorphenole ist zusätzlich das Isotopenmuster von Chlor zu erkennen. Hier stimmt das Isotopenverhältnis der Messungen ebenfalls mit den Literaturwerten überein. (lt. [43]: Verhältnis von 35 zu 37 m/z = 75,77 % : 24,23 %). Bei Molekülen mit mehr als drei Chloratomen ist zu beachten, daß durch Summation der beiden Isotopenmassen die häufigste Molekülmasse um zwei erhöht ist.

Bei den Derivaten mit drei bis fünf Chloratomen sind zusätzliche Fragmente zu beobachten, die einem Massenverlust von 110 bzw. 128 aus dem Molekül entsprechen. Bei genauerer Betrachtung ergeben sich zusätzliche Details aus dem Isotopenmuster. Dieses zeigt in allen drei Fällen das Vorhandensein von Eisen im Molekül an, sowie eine unterschiedliche Zahl von Chloratomen (Abbildung 48).

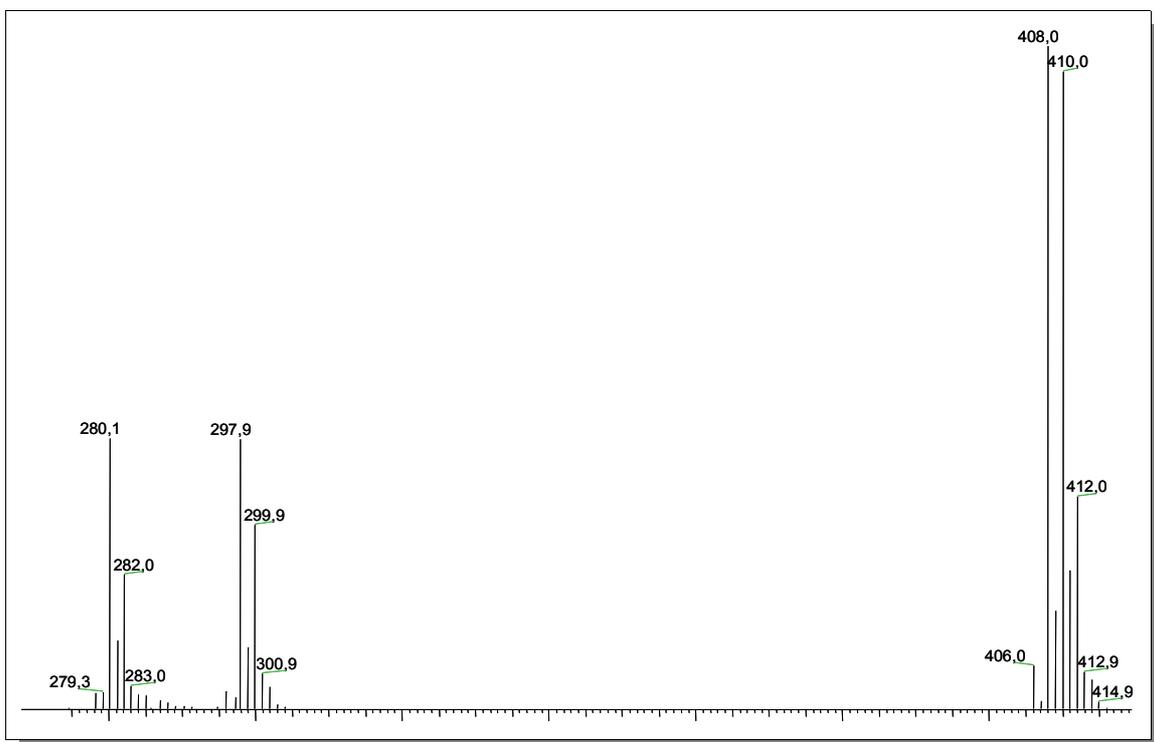
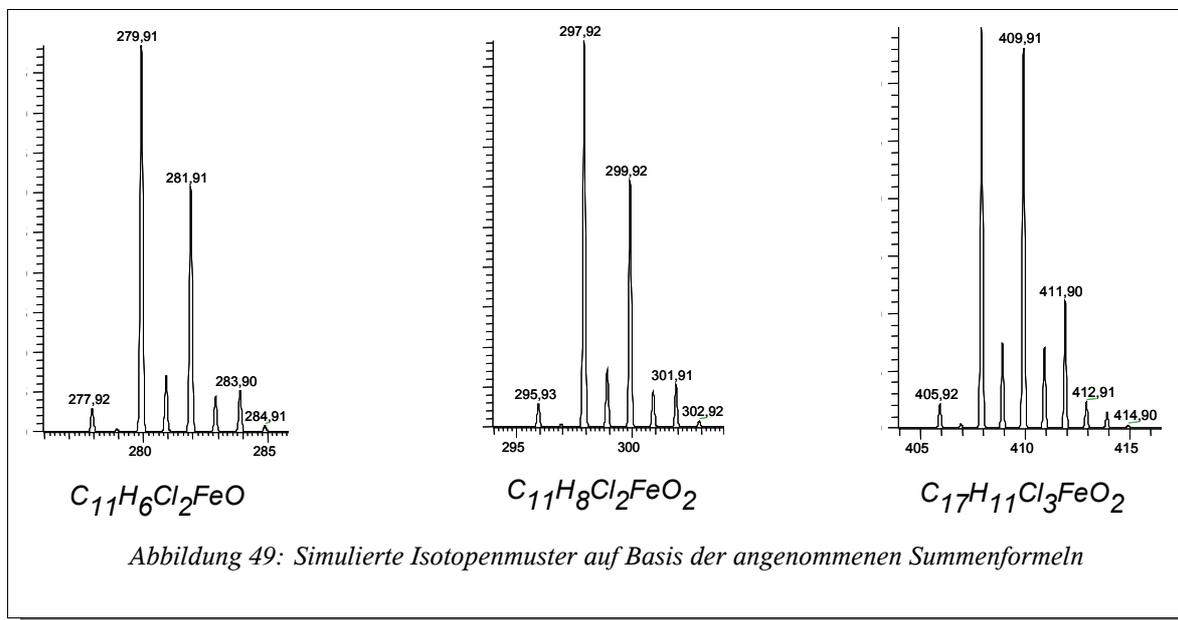


Abbildung 48: Ausschnitt aus dem Massenspektrum von 246TCPE (408 g/mol)

Wie deutlich zu sehen ist, ist rechts das Isotopenmuster von drei Chloratomen im Molekülmassenpeak zu erkennen. Die zugehörige Simulation ist in Abbildung 49 zu sehen.



Die beiden Signale auf der linken Seite in Abbildung 48 sind einander ähnlich, es sind jedoch Abweichungen im Peakhöhenverhältnis des jeweils höchsten zum zweithöchsten Massenpeak zu beobachten (Verhältnis von ca. 1:1 für 280,1 m/z : 282,0 m/z, sowie ca. 3:2 für 297,9 m/z : 299,9 m/z). Dies sollte nach der Simulation (Abbildung 49) jedoch in beiden Fällen etwa 3:2 betragen. Eine (hier nicht gezeigt) Simulation mit nur einem Chloratom im Molekül führt hingegen zu einem Intensitätsverhältnis von ca. 3:1 für den jeweils höchsten und zweithöchsten Peak. Trotz der genannten Unterschiede gleichen beide Signale deshalb am ehesten dem Isotopenmuster von Verbindungen mit je zwei Chloratomen im Molekül.

Auf Grund dieser Analyse wird für das abgehende Fragment mit Masse 110 die Summenformel C_6H_3Cl angenommen. Durch weitere Abspaltung von Wasser läßt sich die Massendifferenz von 128 m/z erklären. Die sich daraus ergebenden Summenformeln der beobachteten Fragmente sind ebenfalls Abbildung 49 zu entnehmen. Dieses Fragmentierungsverhalten ist ungewöhnlich und weicht deutlich von dem der underivatisierten Chlorphenole ab.

In [64] wurde für MTBSTFA-Derivate von technischem Nonylphenol das Auftreten von kürzeren Alkylfragmenten aus der Nonyl-Seitenkette beobachtet, die charakteristisch für fünf verschiedene Gruppen von Verzeigungsmustern sind. Ein analoges Verhalten konnte für Ferrocenderivate von technischem Nonylphenol jedoch nicht beobachtet werden.

Die Nitrophenolderivate zeigen ein uneinheitliches Verhalten: Während bei der Nitrogruppe in *meta*- und *para*-Stellung 213 m/z Basispeak ist, zeigt das *ortho*-Nitrophenolderivat den Molekülpeak mit höchster Intensität. Außerdem sind hier weitere Fragmente zu beobachten, die sonst nicht auftauchen. Da die Identität dieser Standards durch NMR-Experimente abgesichert ist (s. Anhang), muß davon ausgegangen werden, daß sich die beobachteten Unterschiede erst im Massenspektrometer ergeben. Die m/z-Differenzen lassen sich so erklären, daß sich die Nitrogruppe zum Ferrocencarboxylatrest umlagert (259 m/z). Anschließende Reduktion dieser Spezies zur Aminfunktion führt zu 229 m/z (s.a. [43]). Darüberhinaus zeigt sich ein Peak mit 201 m/z, der als Ferrocenamin gedeutet werden kann. Dieses ungewöhnliche Fragmentierungsmuster läßt sich bei keinem der anderen bisher untersuchten Derivate beobachten und kann zur sicheren Identifikation von 2NitPE benutzt werden.

Die Fragmentierungsmuster von 2FPE, 4F2MPE und PDPE sind typisch für Phenolferrocenester, weshalb sie als interne Standards geeignet sein sollten. Hierauf wird aber später noch näher eingegangen.

11.1.1.2 Aliphatische Ferrocenderivate

Zur Untersuchung von Alkoholderivaten wurde eine Lösung mit verschiedenen primären Alkoholen bis zu einer Kettenlänge von 12 C-Atomen verestert, sowie eine mit 2-Propanol.

Die Massenspektren unter EI-Bedingungen sind in Tabelle 24 zusammengefaßt.

Bei allen untersuchten Alkoholderivaten ist ein intensiver M^+ -Peak festzustellen. Bei dem Derivat von Methanol sowie dem Fluoralkoholderivat F3EE ist dies sogar das einzige erkennbare Signal.

Tabelle 24: Massenspektren von alkoholischen Ferrocenderivaten (GC-EI-MS)

Analyt	M [g/mol]	Intensität charakteristischer Ionen [%]		
		M ⁺	230 m/z	138 m/z
MeE	244	100	0	0
EtE	258	95	100	30
1PrE	272	100	80	30
2PrE	272	70	100	25
1BuE	286	100	95	25
1HxE	314	85	100	10
1HpE	328	80	100	10
1OcE	342	85	100	10
1DecE	370	95	100	5
1DodE	384	100	90	5
F3EE	312	100	0	0

Ansonsten zeigt sich aber ein deutlich anderes Fragmentierungsmuster als bei Phenolderivaten: Ein zumeist intensiver Peak von 230 m/z ist zu beobachten, der FCA entspricht, sowie ein weniger intensiver Peak mit 138 m/z. Die Intensität von letzterem sinkt kontinuierlich mit wachsender Alkylkettenlänge. Das gleiche Fragmentierungsmuster wurde unter Nanospray-MS-Bedingungen beobachtet [73]. Für das Fragment 138 m/z wurde dort die Verbindung $[\text{cp Fe(III)OH}]^+$ vorgeschlagen. Unter GC-EI-MS-Bedingungen ist zusätzlich das charakteristische Isotopenmuster von Eisen erkennbar. Dieses ist unter Nanospray-Bedingungen wegen der schlechteren Massenauflösung nicht zu beobachten. Da 138 m/z deutlich unter der Masse von Ferrocen (185 m/z) liegt, muß eine Spezies vorliegen, die Eisen enthält, aber höchstens eine Cyclopentadien-Einheit (cp). Diese Befunde untermauern somit $[\text{cp Fe(III)OH}]^+$ als plausibelsten Strukturvorschlag.

11.1.2 Chemische Ionisierung (GC-CI-MS)

Das für diese Arbeit verwendete GC-MS-Gerät läßt sich auch mit Chemischer Ionisierung (CI) betreiben. Dazu wird ein spezielles Ion Volume verwendet, das aus einem Edelstahlhohlraum besteht, in dem die eigentliche Ionisierung stattfindet. Um zu ermitteln, ob auch Ferrocenderivate mit chemischer Ionisation besser zu detektieren sind, wurde eine Lösung von elf Ferrocenestern mit je 0,9 mg/l in Cyclohexan untersucht (PE, 2MPE, 3MPE, 4MPE, 35DMPE, 4CPE, PCPE, 4NitPE, 4PhPE, 4tOPE, 4nNPE).

Von den untersuchten Substanzen ließ sich keine bei positiver chemischer Ionisierung (PCI) detektieren. Bei negativer Ionisierung zeigten nur das Nitro- und das Pentachlorphenolderivat ein Signal (Abbildung 50).

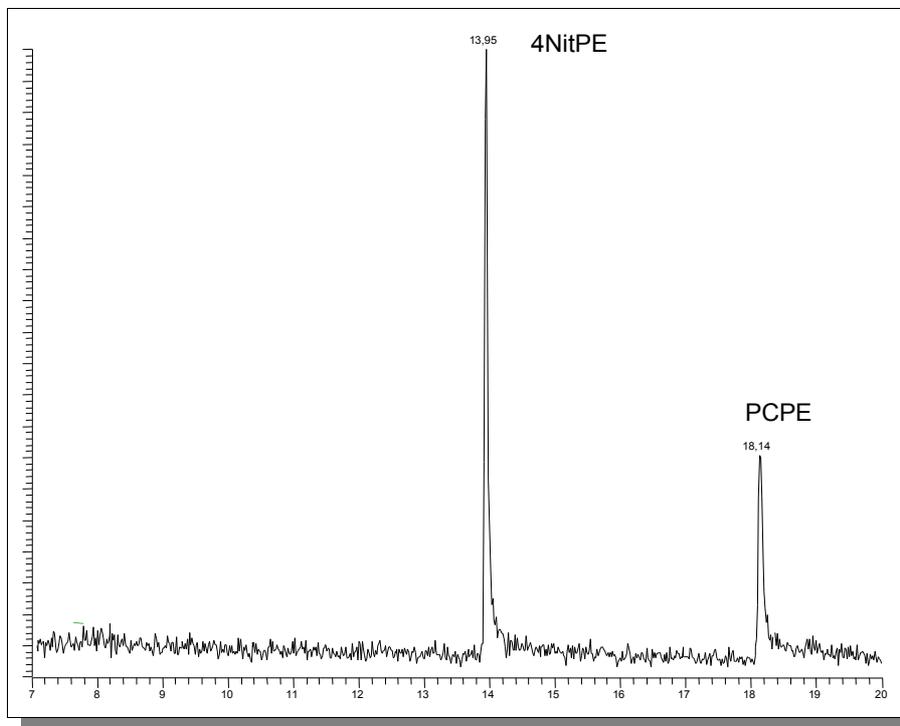


Abbildung 50: GC-NCI-MS-Chromatogramm von 4NitPE und PCPE

Die zugehörigen Massenspektren zeigen beim 4NitPE (erster Peak im Chromatogramm) lediglich 138 m/z, während PCPE nur 265 m/z zeigt (sowie die zugehörigen Chlorisotopensignale). Diese Signale ergeben sich aus dem jeweiligen Phenolfragment, der Ferrocenrest ist unter diesen Bedingungen nicht sichtbar (Abbildung 51).

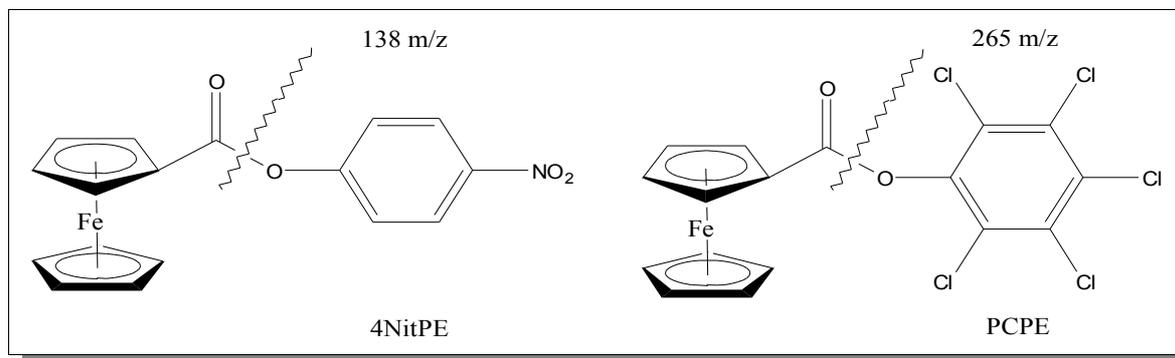


Abbildung 51: Fragmentierung von NitPE und PCPE unter CI

Reaktandgas-Addukte lassen sich nicht ausmachen.

Das starke Rauschen der Grundlinie im Chromatogramm läßt deutlich erkennen, daß bei Ferrocenestern kein günstiges Signal-Rausch-Verhältnis durch chemische Ionisation erreicht wird. Darüberhinaus läßt sich bei dem verwendeten Gerät der benötigte Methangaszustrom nur sehr ungenau manuell regeln, und das Gerät steht nach Umrüstung des Ion Volumes nicht mehr für Messungen unter EI zur Verfügung.

Bei den untersuchten Ferrocenderivaten läßt sich bei chemischer Ionisation keine Selektivitätssteigerung gegenüber Elektronenstoßionisation erreichen. Außerdem stehen unter EI nicht nur mehr, sondern auch viel charakteristischere Ionen zur Auswertung zur Verfügung. Insgesamt sind Ferrocenester somit nicht bzw. nicht gut für GC-CI-MS geeignet.

11.2 Eignung für spezielle MS-Detektionsmodi

Die charakteristischen Fragmente unter Elektronenstoßionisation lassen sich bereits im Full Scan Modus zur Identifikation von Ferrocen-markierten Analyten nutzen. Mit Hilfe der aufgenommen Massenspektren der synthetisierten Standards wurde zudem eine elektronische Spektrenbibliothek erstellt. Diese ermöglicht einen weitgehend automatisierten Spektrenvergleich, was die Peakidentifikation wesentlich erleichtert. Es empfiehlt sich aber erfahrungsgemäß, die rechnergestützte Zuordnung kritisch zu überprüfen, da es sonst insbesondere bei Analyten, die nicht in der Bibliothek vertreten sind, zu Fehlern kommen kann.

Das Vorhandensein bestimmter Analyten kann außerdem anhand von Massenspuren überprüft werden, die aus den Full Scan-Daten generiert werden können. Stellt man die Massenspuren des jeweiligen M^+ -Peaks zusammen mit denen von anderen charakteristischen Ionen dar, kann das gleichzeitige Auftreten eines Peaks in allen Massenspuren eine sichere Identifikation ermöglichen. Solch ein Verfahren ist selbst mit einfachen GC-Quadrupol-MS-Geräten möglich, so daß Ferrocenderivate bereits damit nutzbringend verwendet werden können.

Leistungsfähigere Triple-Quad- und vor allem Ion Trap-Geräte bieten jedoch spezielle, hochselektive Detektionsmodi an. Durch das Auftreten mehrerer charakteristischer Ionen erscheinen die Ferrocenester hierfür besonders geeignet, weshalb im folgenden näher auf diese speziellen Methoden eingegangen werden soll.

Mutterionenscan

Im Mutterionenscan werden selektiv die Substanzen detektiert, die eine ganz bestimmte Masse produzieren. Bei Derivaten von Phenolen bietet sich als Zielmasse 213 m/z an, für solche von Alkoholen 230 m/z. Als Zusatzinformation erhält man dann zu jedem Peak das Molekulargewicht. Die Selektivität dieser Methode ist allerdings begrenzt, da auch andere Mutterionen erfaßt werden, die die genannten Tochterionen produzieren. Solche Fälle können aber an Hand des charakteristischen Eisenisotopenmusters erkannt werden, genauer gesagt an dessen Abwesenheit. Dieser Modus ist allerdings nur bei Triple-Quad-Geräten verfügbar, nicht jedoch mit dem verwendeten Ion Trap-Gerät.

Tochterionenscan

Beim Tochterionenscan wird zunächst ein bestimmtes Ion selektiert. Anschließend werden die Fragmente erfaßt, die hieraus durch weiteren Zerfall entstehen (sog. "Tochterionen").

Für aromatische Derivate selektiert man zunächst die Masse 213 m/z. Nur wenn daraus auch die Massen 185 und 129 m/z entstehen, kann mit großer Sicherheit von einem aromatischen Ferrocenderivat ausgegangen werden. Analog würde man bei Alkoholderivaten 230 m/z wählen und überprüfen, ob daraus 138 m/z entsteht. Allerdings ist bei letzterem die Ionenintensität oft so gering, daß die Nachweisgrenze darunter leidet.

Dieser Modus kann auch dazu benutzt werden, um ganz bestimmte Molekülmassen nachzuweisen. So kann man beispielsweise von 320 m/z ausgehen, um Kresole (Monomethylphenole) selektiv zu detektieren. Für andere Derivate ist der Detektor dann allerdings blind.

Tandem-Massenspektrometrie (MSⁿ)

Bei Tandem-Massenspektrometrie spricht der Detektor nur dann an, wenn aus einem ganz bestimmten Mutterion ein ganz bestimmtes Tochterion gebildet wird. Dieser Modus ist sowohl für Triple-Quad- als auch Ion Trap-Geräte verfügbar. Der Fragmentierungsvorgang kann auch über mehrere Stufen verfolgt werden (MSⁿ), allerdings ausschließlich mit der Ion Trap.

Für Phenolderivate kann der Zerfall 213 → 185 → 129 m/z gewählt werden (MS³). Allerdings nimmt Zahl zur Verfügung stehender Ionen von Stufe zu Stufe stark ab, so daß es günstiger erscheint, nur die erste Stufe zu erfassen. Das Molekulargewicht kann man

hierbei allerdings nicht ermitteln. Für Alkoholderivate sind nur zwei charakteristische Ionen verfügbar, hier ist lediglich Tandem-MS möglich.

Für die Detektion ausgewählter Analyten kann natürlich auch hier wieder vom Molekularion ausgegangen werden, allerdings unter der bereits genannten Beschränkung auf genau diese Substanzen.

11.2.1 Kombination von Meßmodi

Mehrere Scan-Events pro GC-Lauf

Die XCalibur-Software des Finnigan GCQ gestattet es, während eines GC-Laufs bis zu zehn Mal den Meßmodus zu wechseln. Wenn z.B. nacheinander die C₀- bis C₃-Phenolderivate eluieren und die Retentionsbereiche bekannt sind, kann im jeweiligen Elutionszeitfenster das entsprechende Molekularion für ein hochselektives MS/MS-Experiment gewählt werden, z.B. für den Zerfall $M^+ \rightarrow 213 \text{ m/z}$. Damit wird eine Massenselektivität mit einer Retentionszeitselektivität gekoppelt, wodurch die Nachweissicherheit enorm gewinnt. Allerdings werden nur die speziell ausgewählten Analyten erfaßt, und jede Änderung im chromatographischen System (wie Säulenwechsel oder -Kürzung) erfordert auch eine Anpassung der Detektionsparameter. Zur Untersuchung von Proben mit unbekannter Zusammensetzung ist diese Option weniger geeignet, weshalb sie in dieser Arbeit keine Verwendung fand. Für Routinemessungen kann sie aber von Interesse sein.

Simultanmessung verschiedener Meßmodi

Die Simultanmessung erfolgt nicht wirklich gleichzeitig, sondern zyklisch alternierend. Dies bedeutet, daß ein eluierender Peak sozusagen zerschnitten wird. Von Ausschnitt zu Ausschnitt wird dann der Meßmodus umgeschaltet. Naturgemäß sinkt dabei die Zahl der Meßpunkte pro Peak im jeweiligen Modus, so daß die Peakform nicht mehr gaußförmig ist. Deshalb sollten so wenig Modi wie möglich kombiniert werden.

In dieser Arbeit hat sich eine Kombination von Full Scan und MS/MS-Experiment bewährt. Dabei wird im Full Scan der gesamte Bereich von 50 bis 650 m/z aufgenommen. Zusätzlich wird im MS/MS-Experiment die Fragmentierung $213 \rightarrow 185 \text{ m/z}$ beobachtet. Stellt man beide Chromatogramme übereinander dar, so zeigt das MS/MS-Chromatogramm die Ferrocenderivate an, deren vollständiges Massenspektrum (inklusive Molekülmassenpeak)

dann aus der Full Scan-Darstellung entnommen werden kann. Zusätzlich kann man bei Bedarf aus den Full Scan-Daten einzelne Massenspuren generieren, um das Vorhandensein ausgewählter Analyten zu überprüfen. Somit hat man den Vorzug hochselektiver Detektion mit gleichzeitiger Erfassung auch unbekannter Derivate.

Ein wesentlicher Vorteil der Simultanmessung ist die Zeitersparnis, da beide Meßmodi nur einen GC-Lauf erfordern. Die identische chromatographische Trennung eliminiert außerdem Fehlerquellen, die die Retentionszeit beeinflussen.

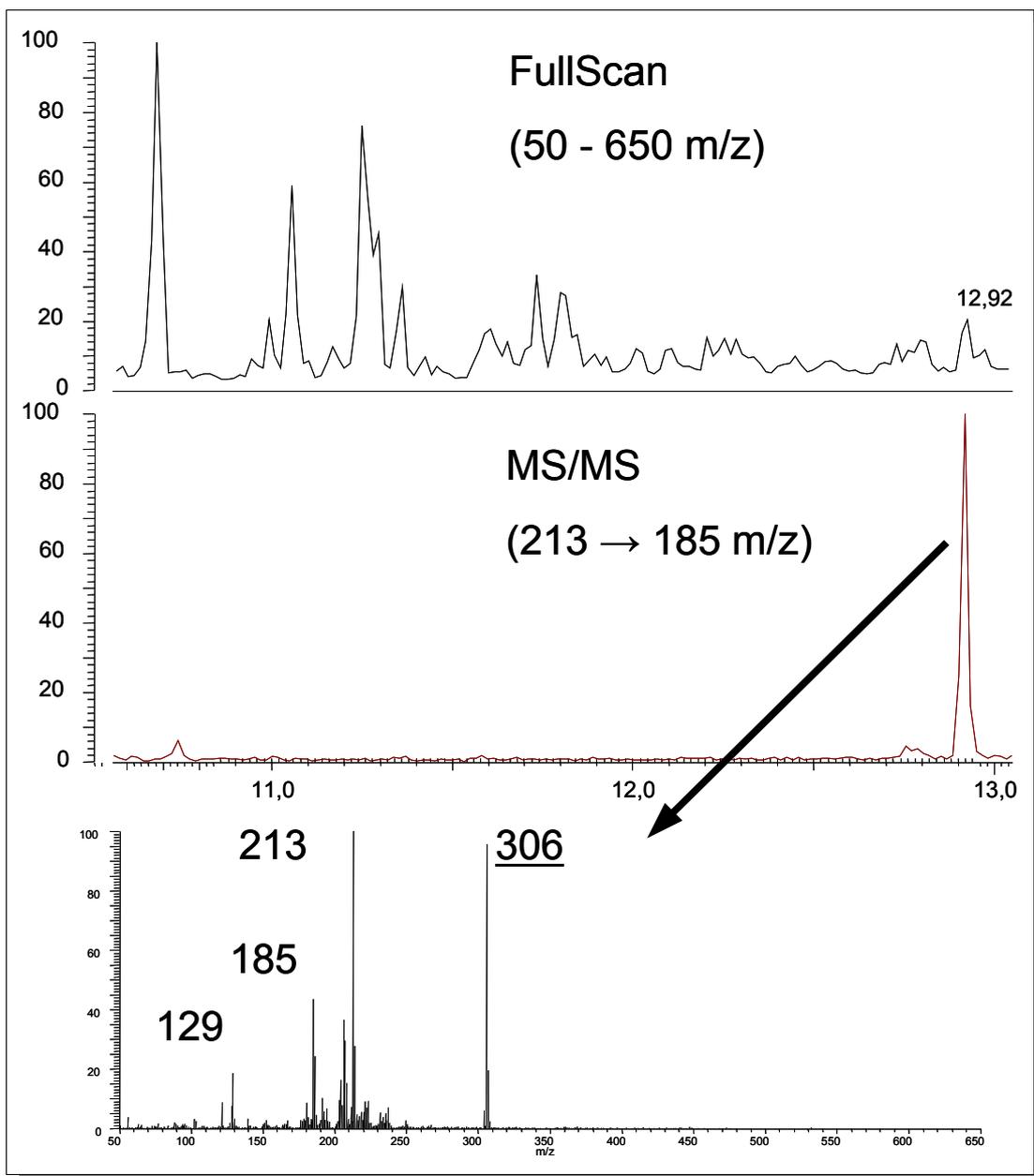


Abbildung 52: Simultanmessung am Beispiel eines FCC-derivatisierten Öls: sichere Identifizierung von PE

Im Chromatogramm einer veresterten Ölprobe in Abbildung 52 kann man im Full Scan-Chromatogramm eine Vielzahl an Peaks sehen, die nicht alle von Analyten stammen. Das MS/MS-Experiment indiziert jedoch unter allen Peaks sofort das einzige Ferrocenderivat bei 12,92 min. Das Massenspektrum des Peaks mit dieser Retentionszeit kann dann dem Full Scan-Chromatogramm entnommen werden und ist zuunterst abgebildet. Es lassen sich die typischen Signale eines aromatischen Ferrocenderivates erkennen. Der Peak mit 306 m/z ermöglicht die sichere Identifikation dieses Signals als das Derivat von Phenol.

11.3 Auswahl von Standards für die GC-MS

Grundsätzlich sind Quantifizierungen mittels MSD problematisch, da der Response stark strukturabhängig ist. Darüberhinaus ist die Ionisierungsausbeute physikalisch bedingt nicht gut reproduzierbar. Deshalb wurde in dieser Arbeit der MSD ausschließlich für qualitative Analysen eingesetzt, Quantifizierungen hingegen wurden mit dem AED durchgeführt. Trotzdem kann die Verwendung eines internen Standards auch für den MSD sinnvoll sein, zum Beispiel um starke Verluste während der Probenvorbereitung erkennen zu können. Auch hierfür gelten die grundsätzlichen Forderungen an interne Standards. Insbesondere sollten diese den Analyten möglichst ähnlich, aber von diesen sicher unterscheidbar sein. Betrachten wir deshalb die bisher für den AED verwendeten Substanzen. In [53] wurden vornehmlich Ferrocenester fluorierter Alkohole (insbes. F3EE) als interne Standards zur Quantifizierung eingesetzt, während in [55] hierfür zwei Fluorphenolderivate dienten. Auch Pentadeuterophenol-FCE (PDPE) wurde in Betracht gezogen, coeluiert aber selbst unter optimalen chromatographischen Bedingungen mit PE, so daß es für den GC-AED als Standard ungeeignet ist. Bei ausschließlich massenselektiver Detektion stellt dies jedoch kein Hindernis dar, sofern man sich auf den Molekülmassenpeak bezieht.

Betrachtet man nun die Massenspektren von in Frage kommenden Verbindungen, so ergibt sich folgendes Bild: Der große Unterschied zwischen F3EE und den anderen Alkoholderivaten schränkt die Eignung dieser Substanz als interner Standard stark ein. Insbesondere das Fehlen von für andere Alkoholderivate charakteristische Ionen ist ein wesentlicher Nachteil, vor allem für spezielle Ion Trap-Meßmodi. Somit sollte auch bei GC-MS-Messungen auf Fluoralkoholstandards nur dann zurückgegriffen werden, wenn Phenolstandards z.B. durch zu hohe Matrixbelastung nicht sinnvoll zu verwenden sind.

2FPE, 4F2MPE sowie PDPE zeigen hingegen Massenspektren, die denen anderer Phenolderivate stark ähneln. Somit sind 2FPE und 4F2MPE sowohl für Untersuchungen am AED als auch am MSD als interne Standards geeignet sind. PDPE kann ausschließlich für den MSD eingesetzt werden, da hier eine teilweise Coelution mit PE durch die Selektivität des Detektors teilweise aufgelöst wird.

Für diese Arbeit wurden wegen der genannten Gründe nahezu ausschließlich 2FPE und 4F2MPE verwendet.

11.4 Zusammenfassung

Mit Hilfe der synthetisierten Standards konnten die massenspektrometrischen Eigenschaften verschiedenster Ferrocenderivate studiert werden. Dabei zeigten sie sich nicht bzw. nur sehr schlecht für chemische Ionisierung mit Methan als Reaktandgas geeignet. Unter Elektronenstoßionisation offenbarten sich jedoch herausragende Eigenschaften für die Analyse mittels GC-MS. Neben einem intensiven Molekülpeak haben aromatische und aliphatische Analyten ein unterschiedliches und jeweils charakteristisches Fragmentierungsmuster:

- meist intensiver Molekülpeak
- Aromatische Analyten: Drei charakteristische Ionen (213, 185, 129 m/z)
- Alkoholderivate¹⁶: Zwei charakteristische Ionen (230, 138 m/z)
- Isotopenmuster von Eisen bei allen o.g. Ionen außer 129 m/z

Die zumeist intensiven Molekülmassenpeaks lassen sich hervorragend zur Untersuchung unbekannter Derivate nutzen.

Die weiteren Ionen sind nicht nur für einzelne Verbindungen charakteristisch, sondern jeweils identisch bei zwei ganzen Analytklassen. Dadurch ist eine einfache und sichere Unterscheidung von aliphatischen und aromatischen Analyten möglich. In diesem Zusammenhang kann auch von alkohol- und phenolselektiver Detektion gesprochen werden. Dies ist ein wesentlicher Vorteil gegenüber der Detektion mit dem AED, da Alkohole und Phenole zum Teil coeluiieren und somit ohne die zusätzlichen massenspektrometrischen Informationen mit dem AED nicht unterscheidbar sind.

¹⁶ ausgenommen F3EE und MeE

Das beobachtete Isotopenmuster von Eisen stimmt mit dem berechneten überein. Gleiches gilt für das Chlorisotopenmuster.

Einzig MeE und F3EE passen nicht in das beschriebene Fragmentierungsschema: Bei diesen Verbindungen ist neben dem M^+ -Peak ausschließlich 230 m/z zu beobachten, nicht jedoch 138 m/z.

Das Anilin-Derivat zeigt das gleiche Muster wie Phenolderivate. Dies ist ein erster Hinweis dafür, daß auch Aniline für die Derivatisierung mit FCC geeignet sein könnten.

Bei Phenylphenol, Naphthol, 2-Nitrophenol, sowie Cl_3 - bis Cl_5 -Chlorphenolen waren zusätzliche Signale zu beobachten, die eine Identifikation dieser Substanzen weiter absichern können.

Von den untersuchten Standards erscheint F3EE am wenigsten als interner Standard geeignet, da dieser selbst den meisten Alkoholen wenig ähnelt. PDPE ist hingegen gut geeignet, da anders als beim AED eine Coelution mit PE nicht stört, jedenfalls solange die Molekülmassenspuren betrachtet werden. Universeller sind jedoch 2FPE und 4F2MPE als interne Standards einzusetzen, da diese Substanzen eine große Ähnlichkeit zu den Detektionseigenschaften der aromatischen Analyten aufweisen und chromatographisch gut aufgetrennt werden. Damit sind sie sowohl für Analysen mit GC-AED als auch mit GC-EI-MSD geeignet.

Die genannten charakteristischen Ionen sind intensiv und von erhöhter Masse (> 100 m/z), was die Gefahr der Masseninterferenz mit Matrixfragmenten deutlich verringert und der Selektivität zu Gute kommt.

Mit den aufgenommenen Massenspektren wurde eine MS-Datenbank erstellt. Diese kann bereits mit einfachen Full Scan-Messungen eine weitgehend automatisierte Peakidentifikation ermöglichen. Damit sollten Ferrocenderivate selbst für den Einsatz in einfachen Single-Quad-Geräte geeignet sein.

Darüberhinaus bieten das Auftreten mehrerer, für die jeweilige Substanzklasse charakteristische Ionen eine ideale Basis für spezielle, hochselektive massenspektrometrische Methoden wie Mutter- oder Tochterionenscan, oder MS^n -Experimente.

Am Beispiel einer derivatisierten Ölprobe konnte gezeigt werden, daß bei Simultanmessung von Full Scan und MS/MS-Modus ein hochselektiver Nachweis von Ferrocenderivaten möglich ist und gleichzeitig deren Massenspektrum zur Verfügung steht. Dabei läßt sich zumeist auch das Molekularion ermitteln. Diese nachweisstarke und dennoch universelle Methode erfordert keinerlei zusätzlichen Zeitaufwand. Zudem werden dabei Schwankungen in der chromatographischen Trennung als Störungsmöglichkeit eliminiert. Damit wurde eine hochselektive Untersuchungsmethode für Alkohole und Phenole in komplexen Matrices geschaffen.

12 GC-EI-MS für Phenole in Realproben

Nachdem sich Ferrocenester von Phenolen für die Detektion mittels GC-EI-MS als hervorragend geeignet erwiesen haben, soll nun untersucht werden, welche neuen Erkenntnisse sich damit über Kohledestillate und Rohöle gewinnen lassen. Dabei bietet die Detektion mit dem Massenspektrometer gegenüber dem AED den großen Vorteil, daß durch den oft intensiven M^+ -Peak auch ohne Zuhilfenahme von Standards Informationen über Phenole in komplexen Matrices gewonnen werden können. Dazu wird das Vorhandensein von Alkylphenolen in verschiedenen Rohölen und Kohledestillaten untersucht. Im einzelnen sind dies folgende Proben:

- *Anthracenöl*
- *Bunker C*
- *Light Coker*
- *SCR2 Heavy*
- *SRM 1580 Shale Oil*

Bei der letzten Probe handelt es sich um ein Standardreferenzmaterial, das vom National Institute for Standards and Technology (NIST), Washington, D.C., USA, zertifiziert wurde.

Die Proben werden nach der im Anhang beschriebenen Methode derivatisiert. Anschließend wird 1 µl der aufbereiteten Probenlösung am GC-Ion Trap-MS injiziert. Die jeweiligen Meßbedingungen sind bei den Abbildungen der Chromatogramme angegeben.

Der direkte Vergleich der Chromatogramme im FCE-selektiven Modus erlaubt einen ersten Überblick über die unterschiedlichen Phenolmuster sowie eine Abschätzung der Konzentrationsverhältnisse (Abbildung 53).

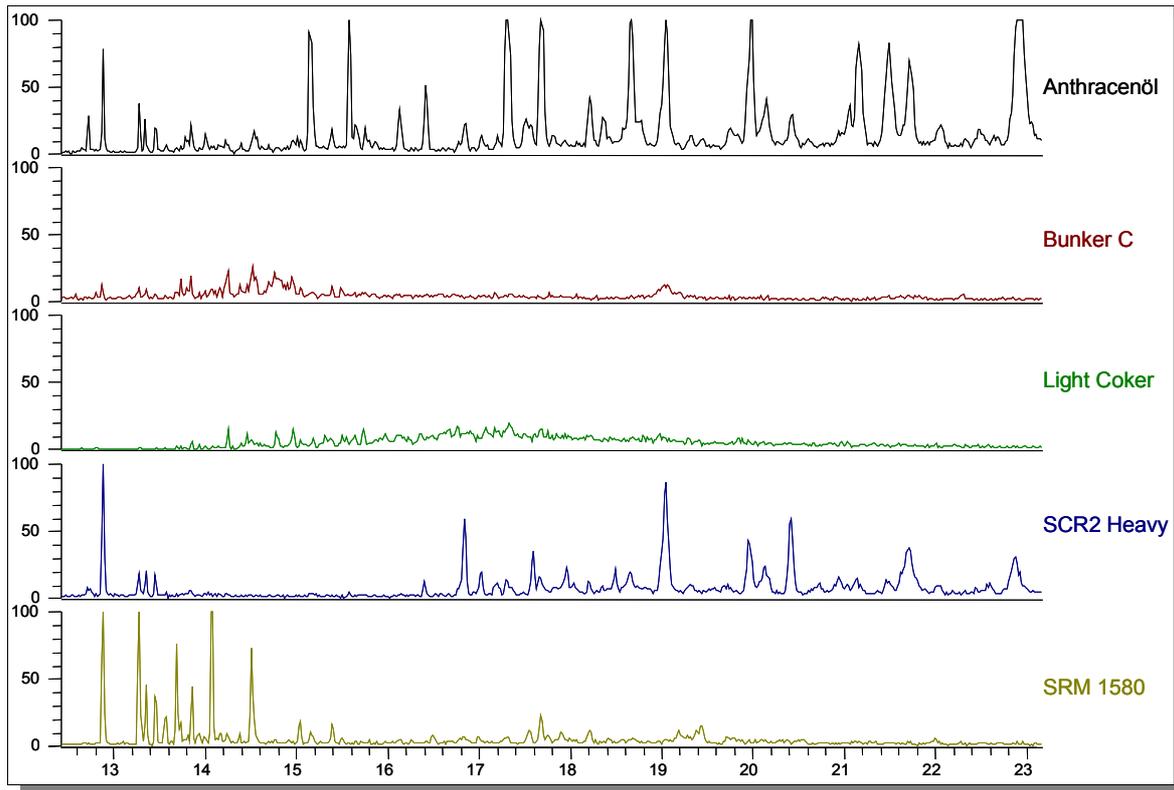


Abbildung 53: Vergleich der Gaschromatogramme (MS/MS: 213→185 m/z), Retentionszeitbereich der Phenole bei jeweils gleicher Skalierung der Intensitätsachse

Die höchsten Konzentrationen weist das Anthracenöl auf, aber auch *SCR2 Heavy* und *SRM 1580 Shale Oil* zeigen mehrere Verbindungen mit hoher Konzentration. Demgegenüber zeigen *Bunker C* und *Light Coker* etwa vierfach kleinere Maximalkonzentrationen.

Die Muster sind ebenfalls sehr unterschiedlich: Anthracenöl hat über den gesamten Retentionszeitbereich viele nahezu gleich hohe Peaks. *SRM 1580 Shale Oil* zeigt einen deutlichen Schwerpunkt am Beginn des Bereichs, während bei *SCR2 Heavy* eher mittlere bis späte Retentionszeiten dominieren. *Bunker C* hat ein sehr komplexes Muster im frühen bis mittleren Bereich. Ebenfalls sehr komplex ist *Light Coker*, allerdings mit deutlichem Schwerpunkt im mittleren Retentionszeitfenster. Bereits jetzt zeichnet sich ab, daß die Bestimmung von lediglich C₀-C₃-Alkylphenolen den sehr unterschiedlichen Proben nicht gerecht werden könnte.

12.1 Light Coker

Die in Abbildung 54 gezeigten Chromatogramme stellen den Gesamtionenstrom (TIC, oben) dar, sowie selektiv die Ferrocenderivate (MS/MS: 213 → 185 m/z, unten):

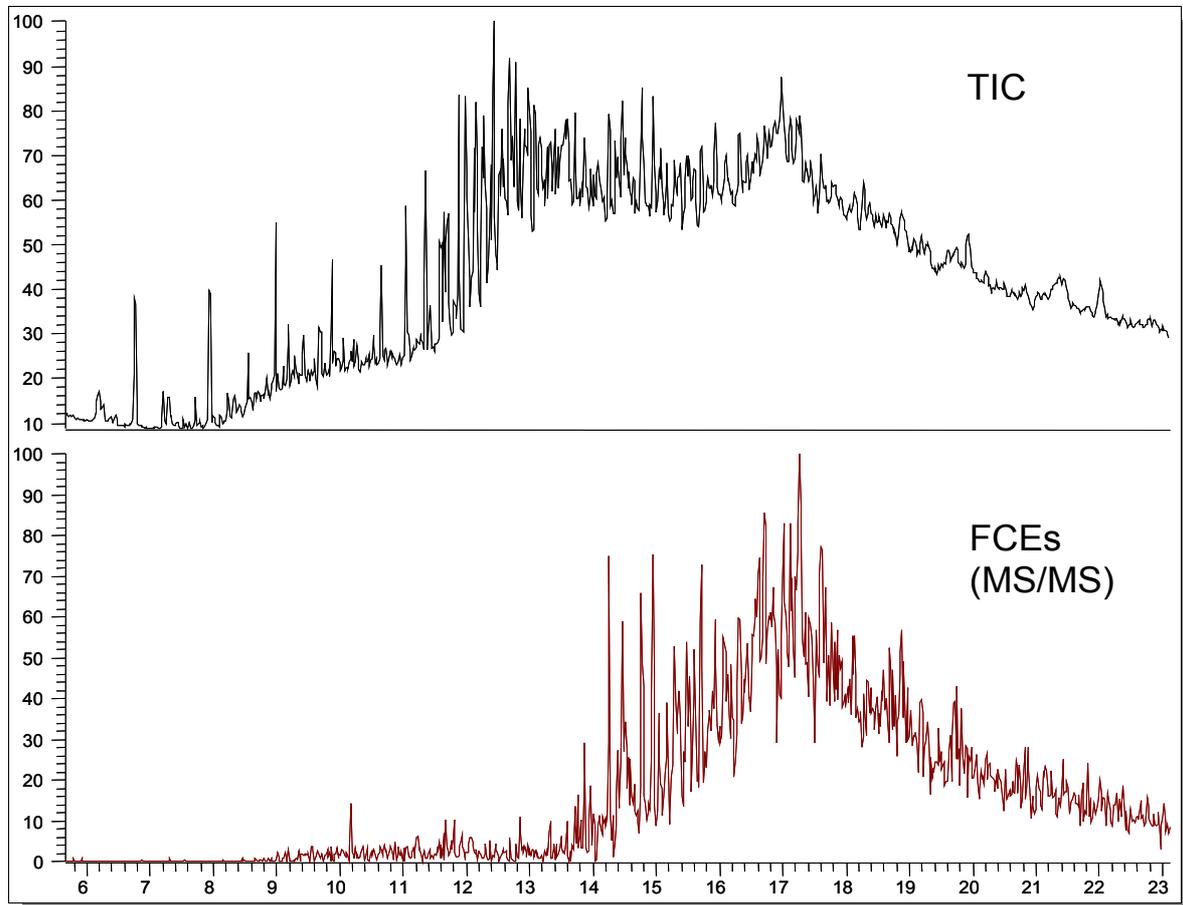


Abbildung 54: 'Light Coker': TIC und FCEs (MS/MS)

Die Maximalintensitäten im unteren Chromatogramm sind dabei um mehr als zwei Dekaden geringer als im oberen. Der TIC zeigt eine überaus komplexe Probenmatrix, die die sichere Bestimmung einzelner Massen erschwert. Trotzdem lassen sich zahlreiche C₀- bis C₈-Alkylphenole sicher nachweisen, wie an dem Chromatogramm in Abbildung 55 deutlich wird.

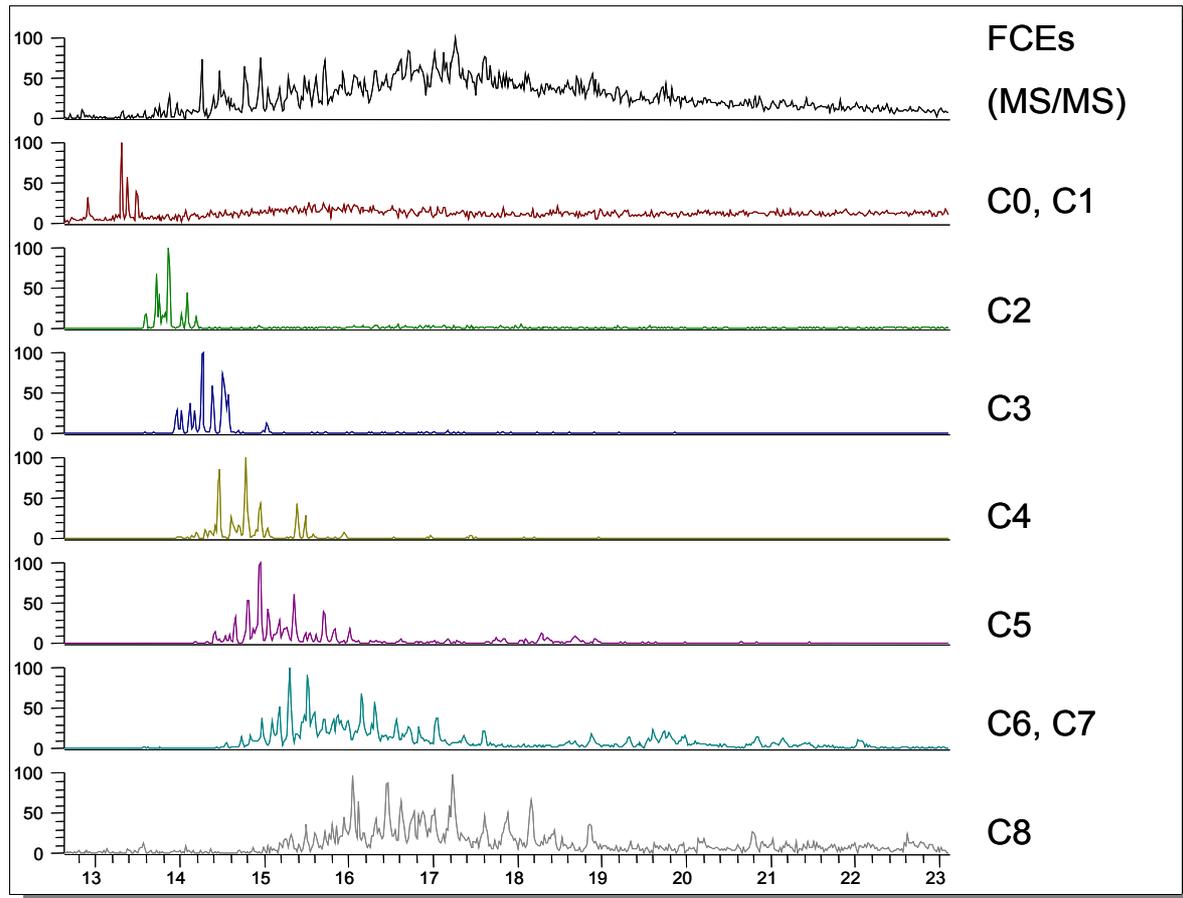


Abbildung 55: 'Light Coker', FCEs (MS/MS-Experiment) und M^+ -Massenspur der C_0 - C_8 -Phenole

Interessanterweise sind Phenol und Kresole nur in sehr geringem Maße vorhanden, die höchsten Intensitäten werden bei C_3 - und C_4 -Derivaten erreicht. Leider sind die Molekülmassenpeaks höhersiedender Verbindungen nicht sicher zu bestimmen, was auf die hohe Matrixbelastung und das hochkomplexe Analytmuster in der Probe zurückzuführen ist. Dies wird zusätzlich erschwert durch die bei größeren Molekülen im allgemeinen verringerten Intensität der Molekülonen.

12.2 Anthracenöl

Das Anthracenöl wird aus Steinkohlenteer durch Destillation bei 260 bis 400 °C gewonnen. Hochschmelzende Verbindungen sind aus diesem Öl durch Ausfrieren bei 0 °C entfernt worden. Das so erhaltene Öl hat laut Hersteller eine mittlere Alkylphenol-Molekülmasse von ca. 115 g/mol. Technische Verwendung findet es als aromatenreicher Weichmacher für die Polyurethanfüllung von Baumaschinenreifen. Hierbei sind phenolische Komponenten insofern relevant, als daß sie Isocyanat-Monomeren abfangen, die in der Reifenformulierung eingesetzt werden. Abbildung 56 zeigt das Chromatogramm der Derivate der Probe sowie Massenspuren der C₀-C₅-Alkylphenole.

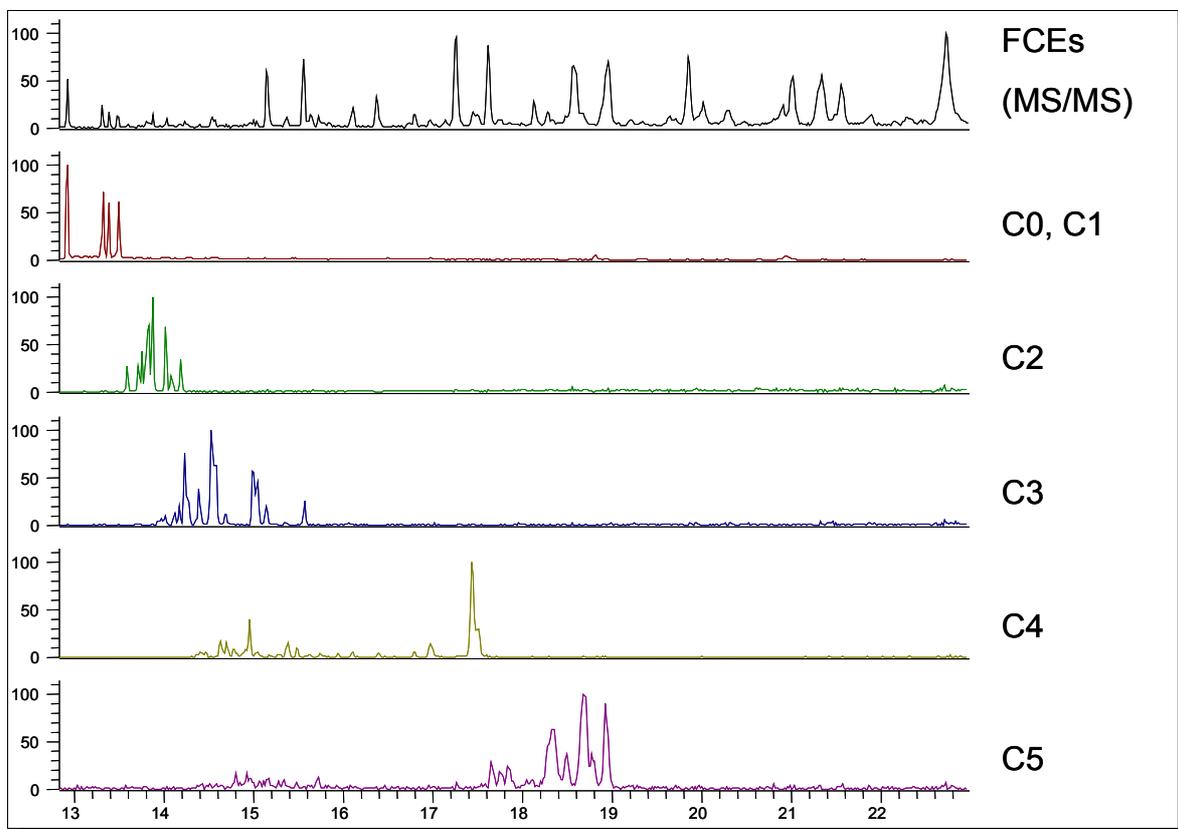


Abbildung 56: 'Anthracenöl', FCEs (MS/MS-Experiment) und M^+ -Massenspur der C₀-C₅-Phenole

In der Probe lassen sich C₀- bis C₅-Alkylphenole nachweisen. Bei genauerer Betrachtung ist jedoch ersichtlich, daß diese in eher geringer Konzentration vorliegen. Das Chromatogramm wird dominiert von wenigen Peaks, deren Intensitäten zu späteren Retentionszeiten eher noch ansteigen. Deshalb werden aus dem FullScan die Molekülmassen dieser unbekanntnen Verbindungen ermittelt. Abbildung 57 zeigt einen

Ausschnitt des FCE-selektiven Chromatogramms mit den zugeordneten Molekülmassen.

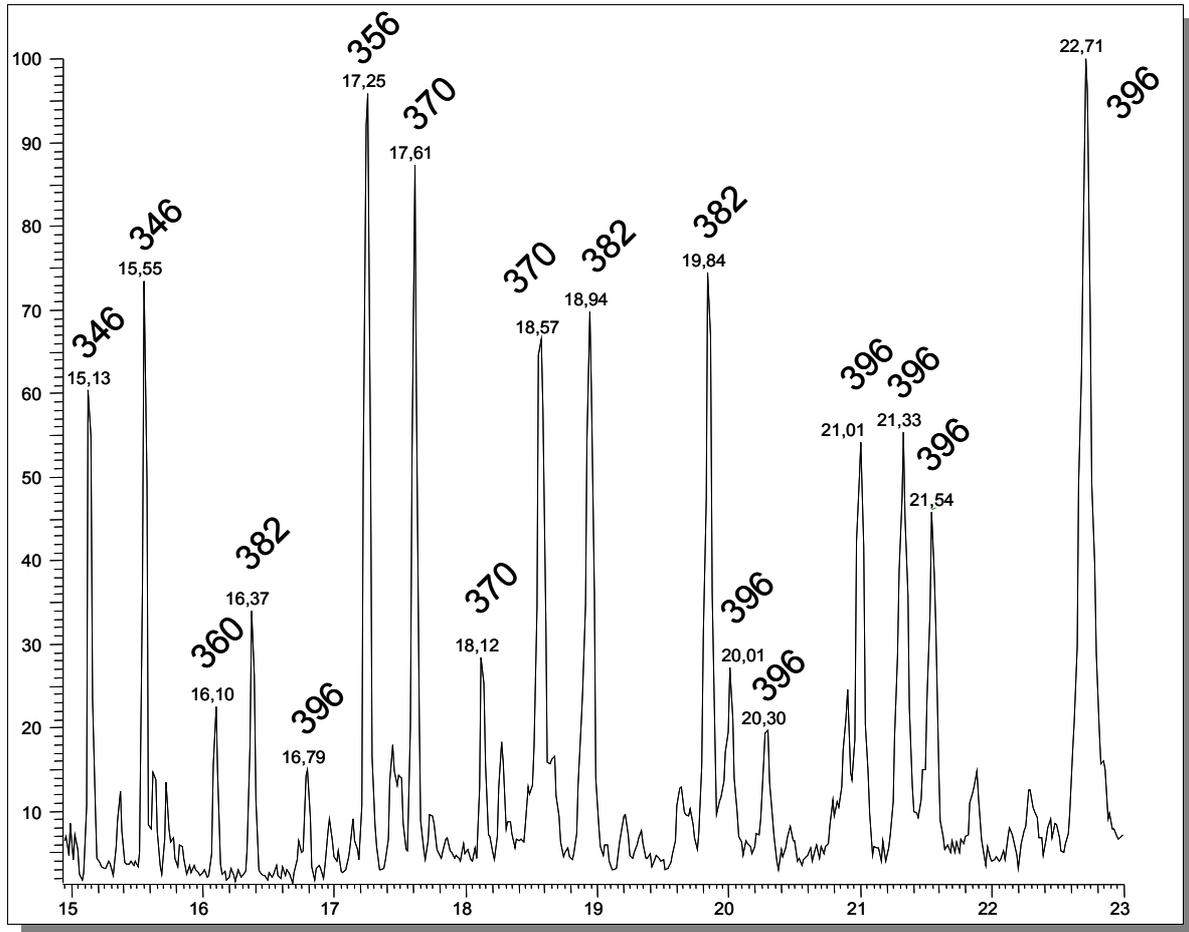


Abbildung 57: 'Anthracenöl', höhersiedende FCE-Derivate mit Angabe der Molekülmasse

Bei dem Peak mit 356 m/z handelt es sich wahrscheinlich um Naphthol. Interessant ist dabei, daß nur ein Isomer zu erkennen ist. 370 m/z könnte Monomethylnaphthole darstellen.

Die Masse 346 könnte von C₄-Alkylphenolen mit einer Doppelbindung in der Seitenkette stammen, oder von entsprechenden Phenolen mit aliphatischen Ringstrukturen.

Auffällig ist das häufige Vorkommen von 382 und 396 m/z als Molekülmassenpeaks. Diese könnten verschiedene Isomere von Alkylphenylphenolen (=Alkylhydroxybiphenyle) darstellen.

12.3 SRM 1580 Shale Oil

Shale Oil stellt ein Schieferöl dar, welches durch trockene Destillation von Ölschiefer (Oil Shale) gewonnen wird. Dies ist ein Gestein, das von einer bituminösen Masse durchsetzt ist.

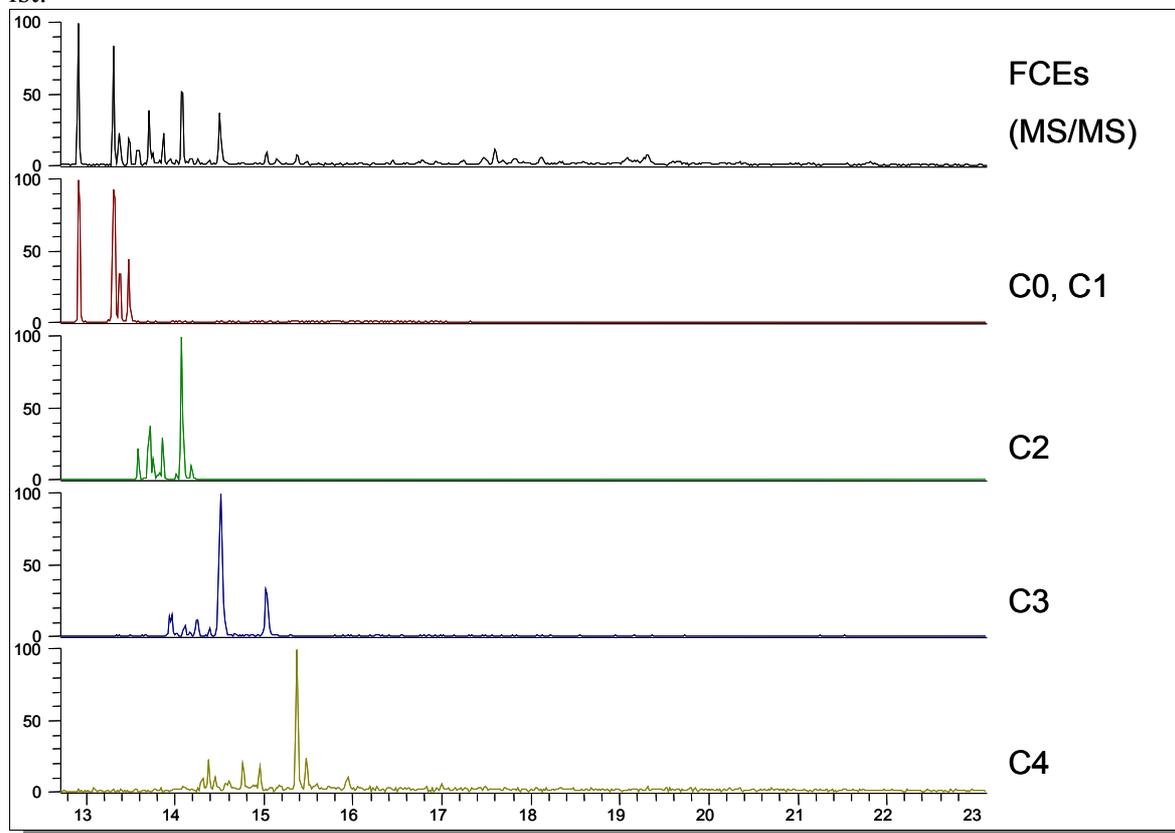


Abbildung 58: 'SRM 1580 Shale Oil', FCEs (MS/MS-Experiment) und M^+ -Massenspur C_0 - C_4 -Phenole

Bei Betrachtung der Chromatogramme in Abbildung 58 lassen sich mehrere C_0 - bis C_4 -Alkylphenolderivate sicher nachweisen. Die stärkste Intensität hat dabei der Peak von Phenol. Nur wenig schwächer ist der Peak von *ortho*-Kresol, während *meta*- und *para*-Kresol signifikant geringer konzentriert auftreten. Bei den C_2 - bis C_4 -Phenolen dominiert jeweils ein einzelner Peak die Massenspur.

Vergleicht man die Verhältnisse der Peakhöhen in den Chromatogrammen mit den Angaben des NIST (Tabelle 25), so bestätigt sich die Beobachtung, daß Phenol die höchste Konzentration aufweist, gefolgt von 2MP. Die Kresole 3MP und 4MP weisen hier ebenfalls kleinere Werte auf. Die Peaks für 3- und 4MP sind im Chromatogramm jedoch weniger als halb so hoch wie der von 2MP, während sie laut NIST-Angabe mehr als zwei Drittel so hoch sein sollten. Allerdings sind die NIST-Werte für 3- und 4MP nicht zertifiziert, und in

den Chromatogrammen müssen etwaige Unterschiede in der Ionisierungsausbeute berücksichtigt werden. Im Rahmen dieser Ungenauigkeiten ist von einer guten Übereinstimmung zu sprechen.

Tabelle 25: Konzentrationsangaben lt. SRM-Zertifikat des NIST

<i>Analyt</i>	<i>SRM 1580 Shale Oil [$\mu\text{g/g}$]</i>
P	407 (± 50)
2MP	385 (± 50)
3MP	330
4MP	270
24DMP	380
25DMP	320
26DMP	175 (± 30)
246TMP	120
256TMP	360

Bei den Angaben ist zu beachten, daß fett gedruckte Zahlen zertifizierte Werte darstellen, während alle anderen mit nur einer Methode bestimmt worden sind.

12.4 Schweröl SCR2 Heavy

Im Chromatogramm der Probe *SCR2 Heavy* sind zahlreiche Derivate zu erkennen, darunter jedoch auffallend wenige Alkylphenole (Abbildung 59).

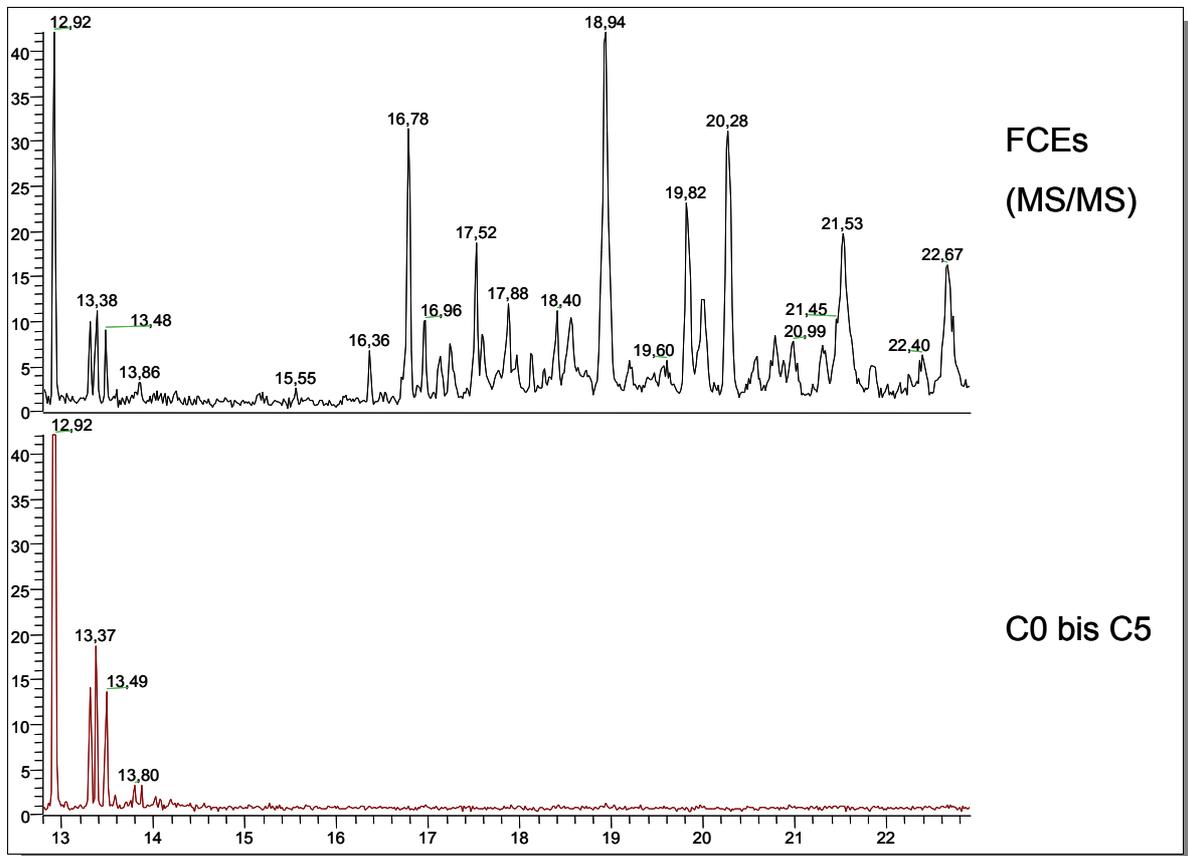


Abbildung 59: 'SCR2 Heavy', oben: FCEs (MS/MS-Experiment), unten: M^+ -Massenspur C_0 - C_5 -Phenole

Der Peak am Anfang (12,92 min) lässt sich Phenol zuordnen. In wesentlich geringeren, aber untereinander ähnlichen Konzentrationen sind danach die drei Kresole zu erkennen. Xylenole lassen sich hingegen nicht mehr sicher nachweisen, ebensowenig wie C_4 - oder C_5 -Phenole. Erst mehrere Minuten später eluieren zahlreiche weitere Verbindungen. Für die intensiveren Peaks werden die Molekülmassenpeaks bestimmt und in Abbildung 60 dargestellt.

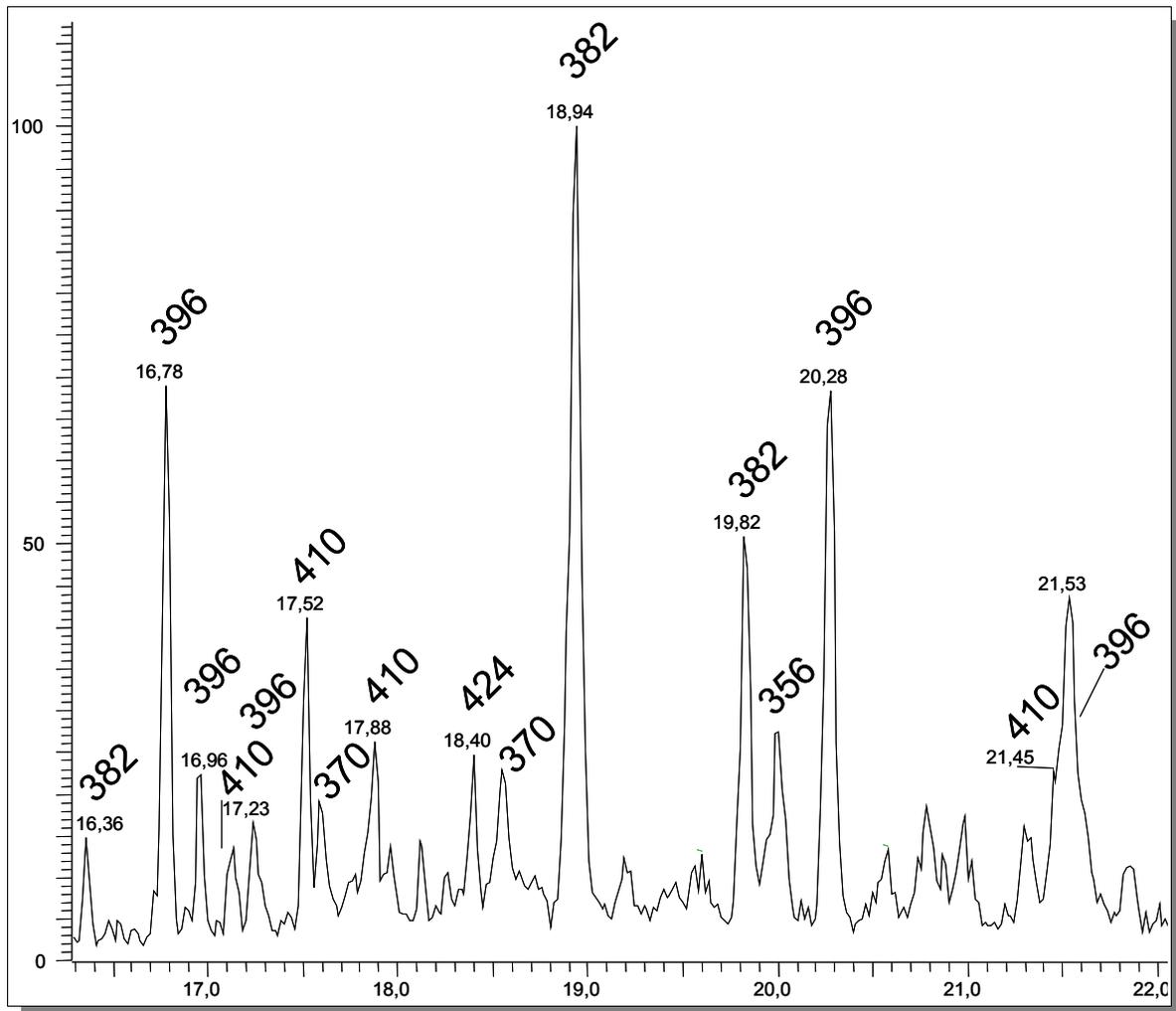


Abbildung 60: 'SCR2 Heavy', FCEs (MS/MS: 213/185 m/z) mit Molekülmassenpeak-Angabe

Es fällt auf, daß die Massen 382, 396 und 410 häufig vertreten sind. Diese könnten C₀-C₂-Alkylderivaten von Phenylphenolen (=Hydroxybiphenyle) zugehörig sein. Die Masse 424 m/z würde dann eventuell durch ein C₃-Derivat hervorgerufen. Alternativ könnte 396 auch durch den Ferrocenester von Hydroxydibenzofuran verursacht werden, 410 und 424 m/z würde dann den entsprechenden Methyl- bzw. Dimethylderivaten entsprechen.

Der Peak mit 356 m/z könnte zunächst einem Derivat von Naphthol (=Hydroxynaphthalen) zugeordnet werden. Massen mit 370 m/z könnten dann Methylnaphtholen zugesprochen werden. Betrachtet man allerdings die Elutionsreihenfolge, dann fällt auf, daß der Peak mit 356 m/z deutlich später als Peaks mit 370 m/z eluiert. Dies widerspricht der zu erwartenden Elutionsreihenfolge, so daß die genannten Strukturvorschläge mit Vorsicht zu bewerten sind.

12.5 Bunker C

Die Probe *Bunker C* weist vergleichsweise niedrige Signale von Phenolderivaten auf, die (mit einer Ausnahme) auf einen Retentionsbereich bis etwa 16 Minuten beschränkt sind. Bei Betrachtung der Massenspuren der Molekülmassen von C₀- bis C₅-Akylphenolderivaten in Abbildung 61 ergibt sich folgendes Bild.

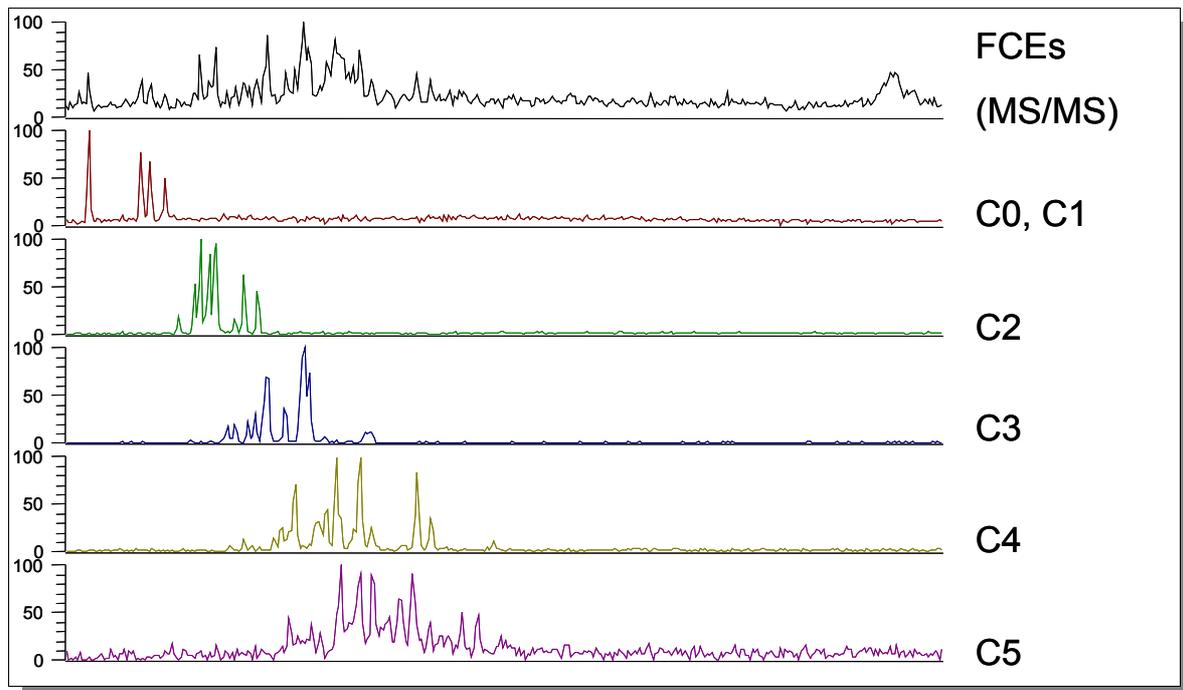


Abbildung 61: 'Bunker C', oben: FCEs (MS/MS-Experiment), unten: M^+ -Massenspur C₀-C₅-Phenole

Es lassen sich Phenol und C₁- bis C₄-Phenole sicher nachweisen, wobei die intensivsten Peaks bei den Xylenolen (d.h. C₃-Alkylphenole) vorliegen. C₅-Phenole sind ebenfalls erkennbar, jedoch in sehr viel geringerer Konzentration im Bereich der Nachweisgrenze. C₆- und höhere Alkylphenole sind nicht nachzuweisen.

Bemerkenswert ist das Fehlen von anderen Verbindungen wie Hydroxy-PAHs oder Phenylphenolen.

12.6 Zusammenfassung

Die Anwendung der entwickelten massenspektrometrischen Methode auf Erdöl- und Kohleprodukte zeigte bei allen Proben ein komplexes Muster an Phenolderivaten. Es ließen sich die in Tabelle 26 aufgeführten Alkylphenole nachweisen.

Tabelle 26: In Erdölen und Kohledestillaten nachgewiesene Alkylphenole

<i>Probe</i>	<i>Alkylphenole</i>
Anthracenöl	C ₀ -C ₅
Bunker C	C ₀ -C ₅
Light Coker	C ₀ -C ₈
SCR2 Heavy	C ₀ -C ₁
SRM 1580 Heavy	C ₀ -C ₄

Darüber hinaus ließen sich in zwei Proben weitere Verbindungen an Hand ihres Massenspektrums identifizieren: Sowohl im *Anthracenöl* als auch in *SCR2 Heavy* lassen sich konkrete Hinweise auf Naphthol und Methylnaphthole, Phenylphenol und Methylphenylphenole finden. Zusätzlich sind in *SCR2 Heavy* die Molekülmassen der Dimethylphenole nachweisbar. Im *Anthracenöl* sind hingegen zusätzlich Signale zu beobachten, die C4-Alkylphenolen mit einer Doppelbindung zugesprochen werden können.

Es ist zu beachten, daß die obigen Zuordnungen ausschließlich an Hand der Massenspektren vorgenommen wurden, so daß sie als vorläufig betrachtet werden müssen. Die genannten Verbindungen erscheinen jedoch plausibel für die Art der Proben zu sein. Für eine endgültige Identifizierung wären Standards notwendig, die leider nicht zur Verfügung standen. Trotzdem sind die gesammelten Erkenntnisse überraschend vielfältig, insbesondere wenn man bedenkt, daß es sich hier um ein erstes Screening zuvor unbekannter Proben handelt.

In jedem Fall konnte an Hand von komplexen Realproben gezeigt werden, daß die entwickelte massenspektrometrische Methode sehr gut zum hochselektiven Nachweis von aromatischen Monohydroxyverbindungen geeignet ist. Selbst bei unbekanntem Analyten lassen sich damit konkrete Hinweise über deren Identität gewinnen. Damit ist die entwickelte Methode sowohl hochselektiv als auch universell und für die qualitative Untersuchung dieser Verbindungsklasse hervorragend geeignet.

13 GC-EI-MS zum Screening von Alkoholen in Realproben

Die Ergebnisse der Charakterisierung der Detektionseigenschaften von Ferrocenderivaten unter GC-EI-MS haben gezeigt, daß es prinzipiell möglich sein müßte, aromatische von aliphatischen Analyten zu unterscheiden. Um dies an Hand von Realproben zu überprüfen, sollen zunächst die Messungen der schweizer Treibstoffe erneut herangezogen werden. Exemplarisch sei hier Benzinprobe F1 gezeigt (Abbildung 62).

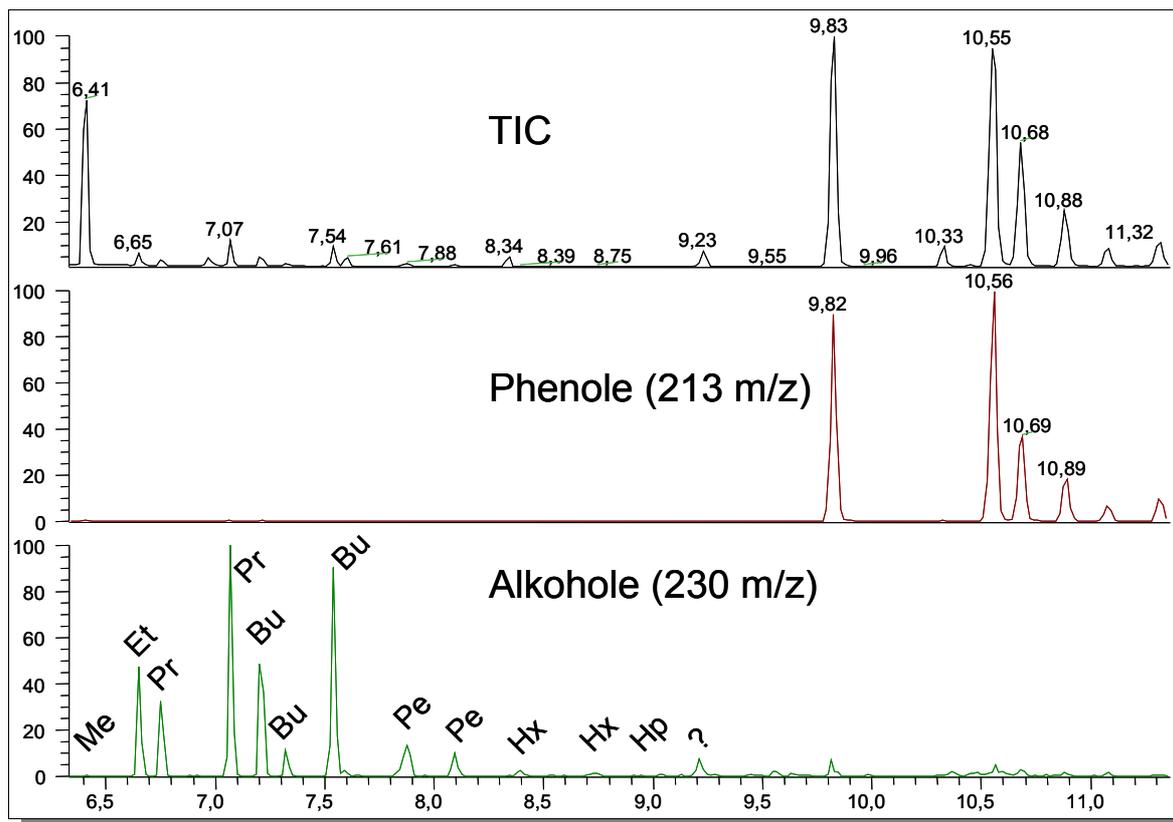


Abbildung 62: Alkohole und Phenole in Benzinprobe F1

Das untere Chromatogramm zeigt die Massenspur 230 m/z und damit die Alkoholderivate an. Da der Ferrocenester von Methanol kein Fragment 230 m/z produziert, kann dieses nur im TIC ausgemacht werden. Da MeE und EtE auch in Blindwertproben auftaucht, kann nicht endgültig entschieden werden, ob Methanol oder Ethanol in der Probe vorhanden ist. Die Quelle für diesen Blindwert konnte trotz umfangreicher Bemühungen bisher leider nicht identifiziert werden. Dafür lassen sich zahlreiche andere Alkohole bis zu Heptanol sicher nachweisen. Bemerkenswert ist dabei die gute chromatographische Auflösung, selbst die zwei Isomeren von Propanol sowie drei Butanolisomere werden basisliniengrennt.

Man kann außerdem deutlich erkennen, daß die Hexanol- und Heptanolderivate nur knapp über der Nachweisgrenze liegen. Der danach folgende, mit einem Fragezeichen gekennzeichnete Peak besitzt ebenfalls das typische Muster eines aliphatischen Alkohols und weist die Masse 330 m/z auf. Hierbei kann es sich nicht um einen rein aliphatischen Alkohol handeln, ein Etheralkohol (Hydroxyether) mit der Summenformel $C_6H_{14}O_2$ würde jedoch der fraglichen Molekülmasse entsprechen. Aufgrund der geringen Peakhöhe ist die Verbindung nur gering konzentriert und hat keinen großen Anteil am Gesamtalkoholgehalt. Auf weitere Experimente zur Strukturbestimmung kann deshalb verzichtet werden.

Vergleicht man die geschilderten Ergebnisse mit denen der bereits in einem früheren Kapitel zitierten LC-MS-Untersuchung, so läßt sich eine vollständige Übereinstimmung feststellen, da dort ebenfalls Alkohole mit einer Kettenlänge von eins bis sieben nachgewiesen wurden.

Auch die Analyse der weiteren schweizer Treibstoffproben stimmt im wesentlichen mit den flüssigchromatographischen Untersuchungen überein. Mit einer Ausnahme soll deshalb hier auf eine detaillierte Darstellung verzichtet werden.

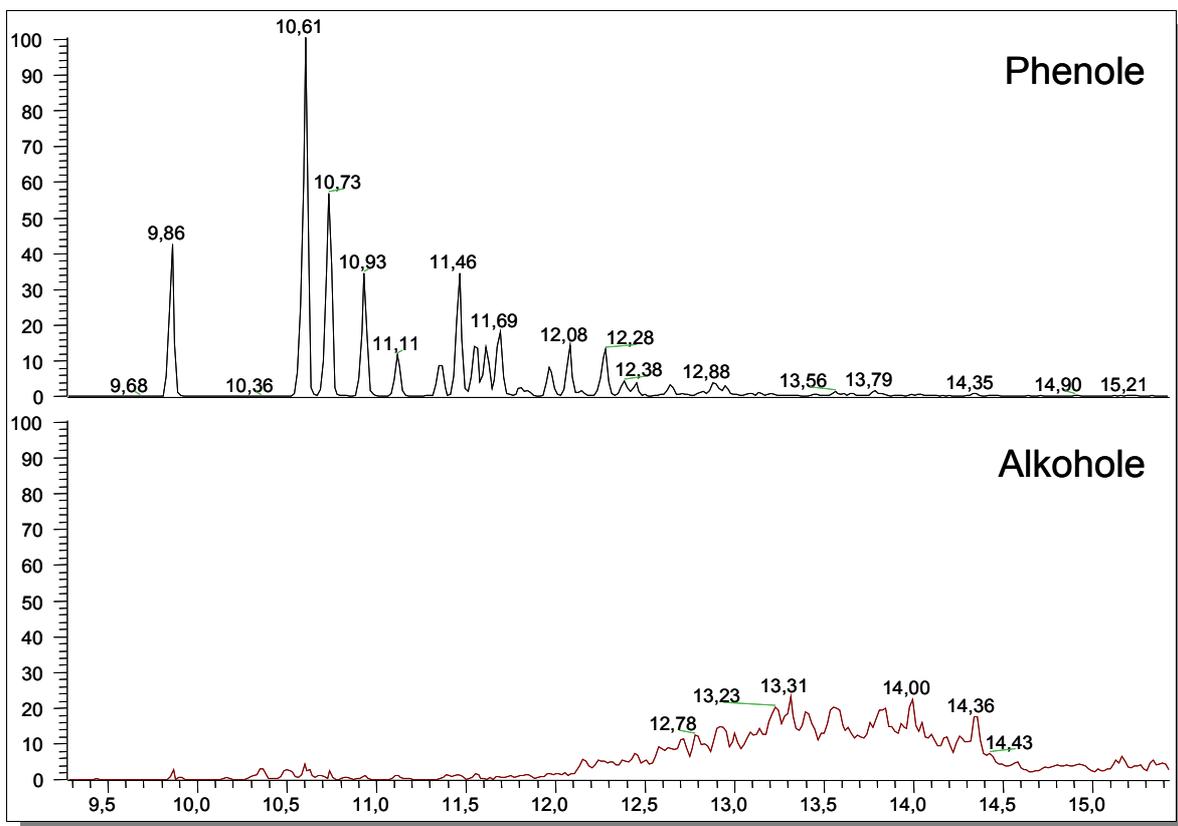


Abbildung 63: Benzin F4 „sauerstofffrei“, Massenspuren der Phenole (213 m/z) und Alkohole (230 m/z)

Einzig bei Probe Benzin F4 „sauerstofffrei“ ist eine Coelution der Derivate von Phenolen und höheren Alkoholen zu beobachten (Abbildung 63).

Eine nähere Betrachtung der Massenspuren ausgewählter aliphatischer Alkoholderivate ergibt folgendes Bild: Im Gegensatz zur LC-MS-Untersuchung lassen sich mit der Gaschromatographie nicht nur Alkohole mit einer Kettenlänge von elf bis vierzehn nachweisen, sondern sogar solche mit bis zu 16 Kohlenstoff in der Alkylkette (Abbildung 64). Dabei ist zu beachten, daß die Massenspuren nicht die gleiche Skalierung aufweisen, die Signale der C₁₂- und C₁₃-Verbindungen sind hier bis zu zehnmal höher als die anderen. Die Zahl der Isomere ist so groß, daß eine Bestimmung individueller Substanzen unmöglich ist. Außerdem ist ein Ineinanderlaufen der Retentionszeitbereiche zu erkennen. Für cyclische Strukturen konnten interessanterweise keine Hinweise gefunden werden.

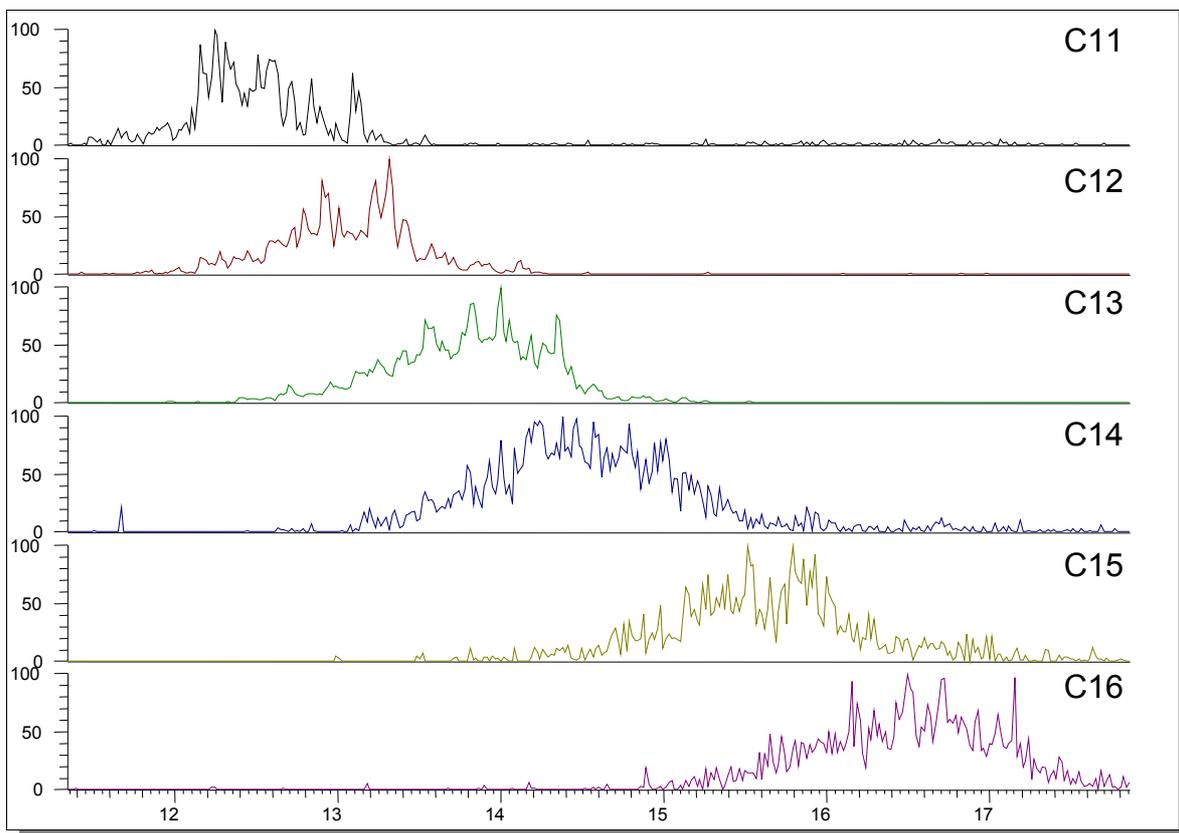


Abbildung 64: Benzin F4 „sauerstofffrei“, Massenspuren von aliphatischen C₁₁- bis C₁₆-Alkoholen

13.1 Zusammenfassung

Die GC-EI-MS-Methode kommt bei der qualitativen Untersuchung der schweizer Treibstoffproben im wesentlichen zu den gleichen Ergebnissen wie die flüssigchromatographische Methode. Dadurch können sich beide Methoden sehr gut gegenseitig bestätigen. Damit ist erfolgreich gezeigt worden, daß eine Unterscheidung von aliphatischen und aromatischen Alkoholen selbst in komplexen Matrices mit dieser Methode möglich ist. Die chromatographische Trennleistung ist darüber hinaus so gut, daß bei kürzerkettigen Alkoholen eine Basislinientrennung von Stellungsisomeren möglich ist.

Erfreulich ist, daß mit der gaschromatographischen Methode selbst die Proben mit den gemäß der LC-Untersuchungen längstkettigen Alkoholen vollständig erfaßt werden können. Durch die besseren Nachweisgrenzen lassen sich bei einer Probe sogar noch längerkettige Derivate als mit der LC-Methode nachweisen.

Nach den erfolgreichen qualitativen Untersuchungen mittels GC-MS ist mit einiger Sicherheit davon auszugehen, daß die semiquantitative Bestimmung des Gesamtgehalts, die mit dem AED vorgenommen wurde, nur wenig durch coeluiierende höhere Alkohole verfälscht ist. Lediglich bei Probe F4 sind Mehrbefunde zu befürchten.

14 Zusammenfassung

Phenole und andere Hydroxyverbindungen stammen aus vielen verschiedenen Quellen. Sie sind sowohl wegen ihres technischen Nutzens, als auch wegen ihres Gefahrenpotentials bedeutsame Analyten. Zur Bestimmung von Alkylphenolen in Rohölen hat sich die Derivatisierung mit einem Ferrocenreagenz bewährt [53]. Durch Gaschromatographie mit Atomemissionsdetektion (GC-AED) lassen sich sehr niedrige Nachweisgrenzen sowie extreme Selektivität durch eisenselektive Detektion erzielen.

Aufgabe dieser Arbeit war es, das Potential der Derivatisierung mit Ferrocenreagenzien auch auf andere Analyten sowie andersartige Proben typen zu übertragen sowie die Eignung der Ferrocenderivate zur massenspektrometrischen Detektion auszuloten.

Dazu wurden zunächst die Geräteparameter zur gaschromatographischen Untersuchung mit Flammenionisations-, Atomemissions- und massenselektiver Detektion optimiert.

Zum Studium der gaschromatographischen Eigenschaften sowie als Standards für die Untersuchung von Realproben wurden 21 neue Analytderivate als Reinsubstanzen synthetisiert.

Anschließend erfolgte die Übertragung der Derivatisierungsmethode auf Benzine, Diesel und Zweitaktgemische. Mit der modifizierten Analysenmethode konnten erfolgreich Schweizer Treibstoffproben untersucht werden. Wegen der Fülle an Analysendaten wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt. Dadurch konnten Unterschiede und Ähnlichkeiten der Proben aufgedeckt und an Hand der Chromatogramme bestätigt werden.

Wenig erfolgreich verlief hingegen der Versuch, mittels Membranextraktion die Analyse von wäßrigen Proben zu ermöglichen. Eine direkte Derivatisierung mit Ferrocencarbonsäureanhydrid in wäßriger Matrix war ebenfalls nicht möglich.

Hingegen zeigte die Nutzung eines Ion Trap-Massenspektrometers als GC-Detektor außerordentlich gute Eigenschaften der Ferrocenderivate zur sicheren Identifikation der Analyten. Mit dieser Methode konnten Rohöl- und Kohledestillate untersucht werden. Dadurch konnten nicht nur niedere Alkylphenole erkannt werden, sondern auch zahlreiche weitere Verbindungen, die unter ausschließlicher Verwendung des GC-AED kaum zu entschlüsseln wären. Darüberhinaus ist mittels GC-MSD durch das jeweils charakteristische

Fragmentierungsmuster eine Differenzierung zwischen Phenolen und aliphatischen Alkoholen möglich. Dies konnte an einer erneuten Analyse der schweizer Treibstoffproben demonstriert werden.

Zu den neu synthetisierten Standards gehören Derivate von Chlorphenolen mit ein bis fünf Chloratomen pro Molekül, zwei- bis vierkernigen Hydroxy-PAK, einkernigen Dihydroxyverbindungen, Mononitrophenolen, sowie von diversen endokrin wirksamen Phenolen. Außerdem konnte das Ferrocenylamid von Anilin synthetisiert werden, was ein erster Hinweis für die Eignung der Derivatisierungsmethode zur Analyse von Aminen ist. Verbindungen mit zwei Ferrocenresten, sowie PAK mit mehr als drei Kernen zeigten sich selbst bei Ofen- und Injektortemperaturen bis 340 °C als nicht GC-gängig.

Eine systematische Optimierung der AED-Plasmagase Helium, Wasserstoff und Sauerstoff hat zu Nachweisgrenzen von 50 fg/s Fe geführt. Dieser Wert ist halb so hoch wie die Herstellerangabe. Die Strukturabhängigkeit des AED-Response konnte durch eine Variation der Sauerstoffzumischung nicht beeinflusst werden.

Die Derivatisierungsmethode hat bei der Analyse eines technischen Nonylphenol-Gemisches eine gute bis sehr gute Trennleistung bei kurzer Analysendauer gezeigt. Auf Grund fehlender Einzelverbindungen ist eine genaue Identifikation der registrierten Peaks bisher jedoch nicht möglich.

Bei Lösungsmittelausblendung (LMA) und Large Volume Injection (LVI) wirkt sich der durch die Derivatisierung erhöhte Siedepunkt positiv aus. Die experimentell ermittelte optimale Ausblendzeit stimmt dabei exakt mit der Näherungsrechnung anhand von Literaturwerten überein. Mit LMA sind sowohl Alkohol- als auch Phenolderivate zu erfassen. Bei LVI ist bei den Alkoholderivaten jedoch eine beginnende Diskriminierung durch die höhere Flüchtigkeit zu beobachten. Phenolderivate hingegen zeigen auch hier ein problemloses Verhalten.

Die Untersuchung von Treibstoffproben zeigte komplexe Phenolmuster, deren Retentionszeitbereich im wesentlichen durch den Siedebereich der Treibstoffe bestimmt wird. Benzine weisen die höchsten Einzelkonzentrationen bei den (dominierenden) C₀- bis C₂-Methylphenolen auf. Der annähernd lineare Response des AED erlaubt eine Gesamtgehaltsbestimmung durch Integration über den Retentionszeitbereich der

Phenolderivate. Dies kann mit Hilfe eines einzigen Quantifizierungsstandards geschehen, wozu sich Fluorphenolderivate bewährt haben.

Die bestimmten C₀- bis C₂-Methylphenole zeigen in den Benzinproben eine große Schwankungsbreite von zwei Dekaden, wobei die bestimmten Einzelverbindungen bis zu 70 % des Gesamtgehaltes ausmachen. Diesel haben eine engere Konzentrationsverteilung, hier liegt der Anteil am Gesamtgehalt jedoch bei maximal 30 %. Dies zeigt, daß die ausschließliche Bestimmung von ausgewählten niederen Alkylphenolen keinen sicheren Rückschluß auf den Gesamtphenolgehalt zuläßt.

Durch Einführung des Retentionszeitschwerpunktes r konnte ein Näherungswert für das durchschnittliche Molekulargewicht der Derivate in den Proben ermittelt werden. Dieser erlaubt bei Integration über weite Bereiche des eisenselektiven Chromatogramms eine wesentlich genauere Berechnung des Gesamtphenolgehaltes als massenbezogene Konzentrationsangabe, als dies bisher möglich war.

Damit ist die Ermittlung von Einzelkonzentrationen sowie der gleichzeitigen Gesamtgehaltsbestimmung aus ein und demselben Chromatogramm möglich, was einen wesentlichen Vorteil der entwickelten Methode zur Analyse von Alkylphenolen in Treibstoffproben darstellt.

Mit dieser Methode war es auch möglich, den Einfluß von Entschwefelungsprozessen auf den Gesamtphenolgehalt eines spanischen Benzins zu verfolgen. Es zeigte sich, daß der Phenolgehalt analog zum Schwefelgehalt verringert wird. Die einzelnen Prozesse haben auf Stickstoffverbindungen jedoch deutlich andere Auswirkungen.

Die Versuche mit Ion Trap-Massenspektrometrie zeigte eine hervorragende Eignung der Derivate zur Detektion unter Elektronenstoßionisierung. Für chemische Ionisierung mit Methan als Reaktandgas sind sie jedoch nicht bzw. schlecht geeignet. Unter EI ist jedoch ein zumeist intensiver Molekülmassenpeak zu beobachten. Für aromatische Analyten sind darüberhinaus drei, für aliphatische Derivate zwei charakteristische Ionen zu beobachten, die für die jeweilige Analytklasse jeweils gleich sind. Dies kann zur selektiven Detektion der Analyten genutzt werden, z.B. in SIM- oder MSⁿ-Experimenten. Bei dem verwendeten GC-Ion Trap-MS sind auch Simultanmessungen mit gleichzeitiger Erfassung verschiedener Meßmodi möglich, z.B. durch Kombination von Full Scan- und MS/MS-Messung. Damit

ist eine selektive Detektion der derivatisierten Verbindungen durch SIM- bzw. MS/MS-Modus möglich. Zusätzlich kann der Molekülmassenpeak aus der Full Scan-Messung zur Gewinnung von Strukturvorschlägen herangezogen werden, ohne daß hierfür zusätzliche Messungen durchzuführen wären. Damit lassen sich auch unbekannte Verbindungen untersuchen, für die eventuell keine Referenzstandards zur Verfügung stehen.

Das Potential der MS-Methode konnte durch Untersuchung von Erdölen und Kohledestillaten demonstriert werden. Trotz der extremen Komplexität der Matrix war ein sicherer Nachweis von C₀- bis C₈-Alkylphenolen möglich, sowie in einigen Proben von Naphtholen und Hydroxybiphenylen (Phenylphenolen). Zusätzlich konnte gezeigt werden, daß bei den schweizer Treibstoffproben eine Koelution von Alkohol- und Phenolderivaten weitestgehend ausgeschlossen ist. Bei der Gesamtgehaltsbestimmung mittels GC-AED ist lediglich bei einer Probe ein geringfügiger Mehrbefund zu befürchten.

Die Kombination von Universalität und Selektivität machen die neu entwickelte GC-EI-Ion Trap-MS-Methode somit insgesamt zu einer einzigartigen Ergänzung der GC-AED-Methode, die wiederum zur Quantifizierung besser geeignet ist.

Zusammenfassend betrachtet bilden die Ergebnisse dieser Arbeit das grundlegende Fundament für zukünftige Entwicklungen, als auch neue Anwendungen durch Derivatisierung mit Ferrocencarbonsäurechlorid und Analyse mittels Gaschromatographie mit Atomemissions- und Massenselektiver Detektion erschlossen werden konnten.

15 Summary

Phenols and other hydroxy compounds are analytes of major interest. One example are alkylphenols in crude oil, which were easily determined by derivatization with ferrocenecarboxylic acid chloride (FCC). Analysis with a GC with Atomic Emission Detector (GC-AED) in the iron selective mode allowed for very low detection limits and extremely high selectivity, and quantification is possible by using only one internal standard, due to the linear response of the element-selective detection [53].

It was the aim of this work to use the potential of a derivatization with FCC or similar reagents for further types of analytes and samples. Additionally, the usability for GC with mass spectrometric detection was to be explored.

To achieve this goal, a thorough optimization of device parameters for detection with flame ionization detector, atomic emission detector, and mass selective detector was performed.

Twenty-one new reference substances were successfully synthesized for studies of their analytical properties and for use as chromatographic standard substances.

The derivatization method was then modified for analysis of hydroxy compounds in fuels. With this method, several Swiss diesels, gasolines, and a two-stroke fuel were successfully analyzed for C₀- bis C₂-Methylphenols. Correlation analysis helped to identify similarities between samples, which could be confirmed by closer analysis of the corresponding chromatograms.

It was not possible to achieve a direct derivatization in aqueous samples with ferrocenecarboxylic acid anhydrid, nor was it possible to combine the derivatization with a membrane extraction method.

The use of a GC-Iontrap-MS showed very convenient properties of Ferrocenederivatives for mass spectrometric detection. This was successfully used for the analysis of crude oils and coal distillates. Several alkylphenols and other hydroxy compounds were observed, which could have hardly been identified by exclusive use of a GC-AED.

Furthermore, a differentiation between phenols and aliphatic alcohols is possible due to a differing and characteristic fragmentation pattern of each analyte class.

16 Literaturverzeichnis

- [1] P. Korytar, H.-G. Janssen, E. Matisova, U.A.Th. Brinkman, Trends in Analytical Chemistry 21 (2002) 558-572
- [2] F.A.H. Wasinski, Diplomarbeit, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, 2000
- [3] G. Diehl, U. Karst, Analytical and Bioanalytical Chemistry 373 (2002) 390-398
- [4] G. Diehl, U. Karst, Journal of Chromatography A 974 (2002) 103
- [5] Kleines Erdöllexikon, ARAL AG, 2004
- [6] P. Karrer, „Lehrbuch der organischen Chemie“, G. Thieme Verlag Stuttgart, 1950
- [7] Prof. Zeman, Skript zur Vorlesung „Kraftstoffe“, Universität München
- [8] J.G. Speight (Ed.), „Fuel Science and Technology Handbook“, Verlag Marcel Dekker, N.Y., 1990
- [9] C. Song, Fuel Chemistry Division Preprints 2 Bd. 47 (2002) 438-444, American Chemical Society
- [10] P.G. Hatcher, D.J. Clifford, Organic Geochemistry 27 Bd. 5/6 (1997) 251-274
- [11] C.P. Marston, C. Pereira, J. Ferguson, K. Fischer, O. Hedstrom, W.M. Dashwood, W.M. Baird, Carcinogenesis 22 Bd. 7 (2001) 1077-1086
- [12] G. Bieniek, Journal of Chromatography B 682 (1996) 167-172
- [13] C.J. Smith, W. Huang, C.J. Walcott, W. Turner, J. Grainger, D.G. Patterson Jr., Analytical and Bioanalytical Chemistry 372 (2002) 216-220
- [14] N.C. Saha, F. Bhunia, A. Kaviraj, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 63 (1999) 195-202
- [15] P. Bartels, E. Ebeling, B. Krämer, H. Kruse, N. Osius, K. Vowinkel, O. Wassermann, J. Witten, C. Zorn, Fresenius Journal of Analytical Chemistry 365 (1999) 458-464
- [16] Online-Veröffentlichung Schadstoffberatung Tübingen,
<http://www.schadstoffberatung.de/pentacp.htm>
- [17] M. Alber, H.B. Böhm, J. Brodesser, K. Levsen, H.F. Schöler, Fresenius Zeitschrift der Analytischen Chemie 334 (1989) 540
- [18] R. Belloli, B. Barletta, E. Bolzacchini, S. Meinardi, M. Orlandi, B. Rindone,

- Journal of Chromatography A 846 (1999) 277-281
- [19] P. Mußmann, A. Preiß, K. Levsen, G. Wünsch, Vom Wasser 82 (1994) 79
- [20] P. Mußmann, A. Preiß, K. Levsen, G. Wünsch, Vom Wasser 79 (1992) 145
- [21] C. Sonnenschein, A.M. Soto, Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 1-6 Bd. 65 (1998) 143-150
- [22] J. Schwartz, Online-Publikation „Hormonally active chemicals in the environment“, Reason Foundation, Los Angeles / CA, USA, 2002
- [23] I. Liska, J. Slobodnik, Journal of Chromatography A 733 (1996) 235-258
- [24] E. Tesarova, V. Pacakova, Chromatographia 17 Bd. 5 (1983) 269-283
- [25] M.C. Alonso, D. Puig, I. Silgoner, M. Grasserbauer, D. Barcelo, Journal of Chromatography A 823 (1998) 231-239
- [26] M.H. Liu, S. Kapila, K.S. Nam, Journal of Chromatography 639 (1993) 151 ff.
- [27] Method 604, Environmental Protection Agency (EPA), USA
- [28] Method 3150C, Environmental Protection Agency (EPA), USA
- [29] Gerstel Aktuell 31 (2004) 2-3, Gerstel GmbH&Co. KG, Mühlheim an der Ruhr
- [30] J. Pörschmann, F.-D. Kopinke, J. Pawliszyn, Journal of Chromatography A 816 (1998) 159-167
- [31] M. Moeder, S. Schrader, M. Winkler, P. Popp, Journal of Chromatography A 873 (2000) 95-106
- [32] H.M. Kuch, K. Ballschmiter, Environmental Science and Technologies 35 Bd. 15 (2001) 3201-3206
- [33] J. Pörschmann, F.-D. Kopinke, J. Pawliszyn, Journal of Chromatography A 816 (1998) 159-167
- [34] H. Prast, E. Goergens, H.W. Dürrbeck, K. Günther, Applikationsschrift „Gerstel AppNote 1/1998“, Gerstel GmbH&Co. KG, Mühlheim an der Ruhr
- [35] L.A. Reitzel, A. Ledin, Journal of Chromatography A 972 (2002) 175-182
- [36] V. Janda, H. Van Langenhove, Journal of Chromatography 472 (1989) 327-330
- [37] M. Kojima, S. Tsunoi, M. Tanaka, Journal of Chromatography A 984 (2003) 237-243
- [38] L.-K. Ng, P. Lafontaine, J. Harnois, Journal of Chromatography A 873 (2000) 29-38

- [39] S.-J. Chien, M.J. Charles, K.E. Sexton, H.E. Jeffries, *Environmental Science and Technologies* 32 (1998) 299-309
- [40] V. Maurino, C. Minero, E. Pelizzetti, S. Angelino, M. Vincenti, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 12 Bd. 10 (1999) 1328-1336
- [41] P. Husek, *Journal of Chromatography B* 717 (1998) 57-91
- [42] C.W. De Walt, R.A. Glenn, *Analytical Chemistry* 24 (1952) 1789-1795
- [43] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, „Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie“, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1995
- [44] P.G. Hatcher, D.J. Clifford, *Organic Geochemistry* 27 (1997) 251-274
- [45] W. Forth, D. Henschler, K. Starke, „Pharmakologie und Toxikologie“, Spektrum Verlag, 1996
- [46] W. Schröder, Dissertation, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, 2001
- [47] M. Ioppolo, R. Alexander, R.I. Kagi, *Organic Geochemistry* 18 (1992) 603-609
- [48] B. Bennett, B.F.J. Bowler, S.R. Larter, *Analytical Chemistry* 68 (1996) 3697-3702
- [49] J.B. Green, S.K.-T. Yu, R.P. Vrana, *Journal of High Resolution Chromatography* 17 (1994) 439-451
- [50] M. Bernabei, G. Bocchinfuso, P. Carrozzo, C. De Angelis, *Journal of Chromatography A* 871 (2000) 235-241
- [51] M.E. Esther Laespada, J.L. Perez Pavon, B. Moreno Cordero, *Journal of Chromatography A* 823 (1998) 537-548
- [52] M.E. Fernandez Laespada, J.L. Perez Pavon, B. Moreno Cordero, *Journal of Chromatography A* 852 (1999) 395-406
- [53] J. Rolfes, Dissertation, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, 1999
- [54] J. Rolfes, J.T. Andersson, *Analytical Communications* 33 (1996) 429-432
- [55] M. Kerst, Dissertation, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, 2001
- [56] K. Cammann (Hrsg.), „Instrumentelle Analytische Chemie“, Spektrum Verlag Heidelberg, 2001
- [57] Applikationsschift „Probenaufgabe mit dem Gerstel-KAS“, Gerstel GmbH&Co. KG, Mühlheim an der Ruhr
- [58] Gerätespezifikation „G2350A AED Specifications“, Agilent Inc., 2000

- [59] B. Quimby, P.A. Larson, P.C. Dryden, HP Application Note 228-363, Hewlett Packard Inc., Wilmington / DE, USA, 1996)
- [60] Applikationsschrift „Grundkurs GCQ-Iontrap-GC/MS-System“, Thermo Finnigan Inc., 1996
- [61] Diskussionsforum zum „Agilent AED User Seminar“ Leipzig, 2001
- [62] P. Dryden (Agilent Inc. USA), „Diablo Inc. AED User Group“, 11/2001
- [63] C. Webster, M. Cooke, Journal of High Resolution Chromatography 18 (1995) 319-322
- [64] K. Günther, V. Heinke, B. Thiele, E. Kleist, H. Prast, T. Racker, 36 (2002) 1676-1680
- [65] T. Eckes, H. Roßbach, „Clusteranalysen“, Verlag W. Kohlhammer 1980
- [66] M. Wördenweber, „Clusteranalysen bei gemischtskalierten Datensätzen“, LitVerlag Münster, 1985
- [67] M. Zuber, B. Skiera, Vortrag "Multivariate Analyseverfahren und deren Anwendung am Beispiel des 10th GVU's WWW User Surveys", J.W. Goethe-Universität, Frankfurt am Main, 1999
- [68] G. Diehl, A. Liesener, U. Karst, Analyst 126 (2001) 288
- [69] J.B. Green, P.L. Grizzle, J.S. Thomas, R.J. Hoff, J.A. Green, Fuel 64 (1985) 1581-1589
- [70] S. Werlich, Dissertation, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, 2002
- [71] M. Koller, Derivatisierungsreagenzien für Peptide und Proteine bei der HPLC-ECD-Analyse, 1990
- [72] T. Kreckmann, Diplomarbeit, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, 2002
- [73] G. Diehl, F.A.H. Wasinski, B. Roberz, H. Luftmann, T.C. Schmidt, J.T. Andersson, U. Karst, Microchimica Acta 146 (2004) 137-147

17 Anhang

17.1 Abkürzungsverzeichnis (AKV)

17.1.1 Allgemeine Abkürzungen (Allg. Abk.)

AED	Atomemissionsdetektor
APCI	Atomic Pressure Chemical Ionization
CI	Chemische Ionisierung
cp	Cyclopentadien(yl)
CZ	Cetanzahl
DBÄ	Doppelbindungsäquivalent
DC	Dünnschichtchromatographie / -chromatogramm
DNA	Desoxyribonucleinsäure (Erbinformation)
EAWAG	Eidgenössische Anstalt für Wasserversorgung, Abwasserreinigung und Gewässerschutz (Schweizer Umweltbehörde)
ECD	Electron Capture Detector, Elektroneneinfangdetektor
EI	Elektronenstoßionisierung
EPA	Environmental Protection Agency, US-Umweltbehörde
EPC	Electronic Pressure Control
ESI	Electron Spray Ionization
ETH	Eidgenössische Technische Hochschule
Fe 302	Eisenemissionslinie mit einer Wellenlänge von 302 nm
FID	Flammenionisationsdetektor
GC	Gaschromatographie / -graph
HAGO	Heavy Atmospheric Gas Oil
HPLC	High Performance Liquid Chromatography, Hochleistungslüssigchromatographie
IC	Ionenchromatographie / -graph
ICR	Ionencyclotronresonanz
IR	Infrarot
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
k.A.	Keine Angabe
KAS	Kaltaufgabesystem, s. PTV

LAGO	Light Atmospheric Gas Oil
LCO	Light Cycle Oil
LCGO	Light Coker Gas Oil
LLE	Liquid-Liquid-Extraction, Flüssig-Flüssig-Extraktion
LM	Lösungsmittel
LMA	Lösungsmittelausblendung
LVI	Large Volume Injection, Großvolumeninjektion
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption and Ionization
MAME	Microwave Assisted Membrane Extraction
MASE	Microwave Assisted Solvent Extraction
MIP	Mikrowellenplasma
MS	Massenspektrometrie / -spektrum
MS/MS	Tandem-Massenspektrometrie (MS ²)
MSD	Massenselektiver Detektor
MS ⁿ	Mehrstufige Tandem-Massenspektrometrie
m/z	Masse-Ladungs-Verhältnis
n.b.	Nicht bestimmt
NIST	National Institute for Standards and Technology, Washington D.C., USA
NMR	Nuclear Magnetic Resonance, Kernspinresonanz(spektrometrie)
n.n.	Nicht nachweisbar
NWG	Nachweisgrenze
OZ	Oktanzahl
PAH	Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, s. PAK
PAK	Polycyclische Aromatische Kohlenwasserstoffe, s. PAH
psi	Pounds Per Square Inch, Druckeinheit, 1 psi = 6,895 kPa
PCI	Positive CI
PDA	Photodiodenarray
ppm	Parts per million, Konzentrationsangabe
PTV	Programmable Temperature Vaporizer, s. KAS
<i>r</i>	Retentionszeitschwerpunkt
R _f	Retardationsfaktor
RP	Reversed Phase, Umkehrphase

RP-18	Octadecylsilylmodifiziertes Kieselgel zur RP-Chromatographie
SI	Système International de Unités; Standardisierte Maßeinheit
S/N	Signal- zu Rauschen-Verhältnis
SBSE	Stir Bar Sorptive Extraction
SFE	Supercritical Fluid Extraction
SIM	Single / Selected Ion Mode
SPE	Solid Phase Extraction, Festphasenextraktion
SPME	Solid Phase Micro Extraction
SRM	Standardreferenzmaterial
T	Temperatur
TIC	Total Ion Current, Totalionenstrom
UCM	Unresolved Complex Mixture, nicht aufgetrenntes komplexes Gemisch
UV	Ultraviolett
v/v	Volumenverhältnis
vs	Versus
WASA	Wachsantikoagulationsadditiv für Treibstoffe (Wax Anti Settling Additive)

17.1.2 Chemikalien und Lösungsmittel

ACN	Acetonitril
Alox-N	Aluminiumoxid neutral
CH	Cyclohexan
DE	Diethylether
DCM	Dichlormethan
DCM : P	Dichlormethan : Pentan - Mischung
DMAP	4,4-(N,N)-Dimethylaminopyridin
EtAc	Ethylacetat; Essigsäureethylester
Fc	Ferrocen
FCA	Ferrocencarbonsäure
FCC	Ferrocencarbonsäurechlorid
FCE	Ferrocencarbonsäureester
MeOH	Methanol
MSTFA	Methyl-trimethylsilyltri-fluoracetamid

MTBE	Methyl- <i>tert</i> -butylether
MTBSTFA	Methyl- <i>tert</i> -butylsilyltrifluoracetamid
NO _x	Stickoxide
PFBBr	Pentafluorbenzylbromid
TBA	Tetrabutylammonium
TFAA	Trifluoressigsäureanhydrid
THF	Tetrahydrofuran

17.1.3 Analyten und deren Ferrocenderivate

(Anm.: Die Bezeichnung des zugehörigen Ferrocenesters erhält man durch Anfügen eines „E“ an das Kürzel des jeweiligen Analyten.)

17.1.3.1 *Alkohole*

F3E	2,2,2-Trifluorethanol
Me	Methanol
Et	Ethanol
Pr	1-Propanol
iPr	2-Propanol; Isopropanol
Bu	1-Butanol
tBu	tert-Butanol; 1,1-Dimethylethanol
Pe	1-Pentanol
Hx	1-Hexanol
Hp	1-Heptanol
Oc	1-Octanol
Dc	1-Decanol
Do	1-Dodecanol

17.1.3.2 *Phenole*

APE	Alkylphenole
P	Phenol
PDP	Pentadeuterophenol
2MP	2-Methyphenol; <i>ortho</i> -Kresol

3MP	3-Methyphenol; <i>meta</i> -Kresol
4MP	4-Methyphenol; <i>para</i> -Kresol
2EP	2-Ethylphenol
3EP	3-Ethylphenol
4EP	4-Ethylphenol
DMP	Dimethylphenol; Xylenol
23DMP	2,3-Dimethylphenol; 2,3-Xylenol
24DMP	2,4-Dimethylphenol; 2,4-Xylenol
25DMP	2,5-Dimethylphenol; 2,5-Xylenol
26DMP	2,6-Dimethylphenol; 2,6-Xylenol
34DMP	3,4-Dimethylphenol; 3,4-Xylenol
35DMP	3,5-Dimethylphenol; 3,5-Xylenol
235TMP	2,3,5-Trimethylphenol
236TMP	2,3,6-Trimethylphenol
246TMP	2,4,6-Trimethylphenol
345TMP	3,4,5-Trimethylphenol
2nPP	2- <i>n</i> -Propylphenol
4nPP	3- <i>n</i> -Propylphenol
2iPP	2- <i>iso</i> -Propylphenol; 2-(1-Methylethyl)phenol
3iPP	3- <i>iso</i> -Propylphenol; 3-(1-Methylethyl)phenol
4iPP	4- <i>iso</i> -Propylphenol; 4-(1-Methylethyl)phenol
4sBuP	4- <i>sec</i> -Butylphenol; 4-(2-Methylethyl)phenol
4nPeP	4- <i>n</i> -Pentylphenol
4PP	4-Phenylphenol; 4-Hydroxybiphenyl
4tOP	4- <i>tert</i> -Octylphenol; 4-(1,1,3,3-Tetramethyl-)butylphenol
4nNP	4- <i>n</i> -Nonylphenol
NP	Nonylphenol

techn. Mix.	Technisches Gemisch
Thym	Thymol; 2-Isopropyl-5-methylphenol
Carv	Carvacrol; 5-Isopropyl-2-methylphenol

17.1.3.3 Halogenhaltige Phenole

2FP	2-Fluorphenol
4F2MP	4-Fluor-2-methylphenol; 4-Fluor- <i>ortho</i> -Kresol
2CP	2-Chlorphenol
4CP	4-Chlorphenol
24DCP	2,4-Dichlorphenol
246TCP	2,4,6-Trichlorphenol
2346TeCP	2,3,4,6-Tetrachlorphenol
PCP	Pentachlorphenol

17.1.3.4 Stickstoffhaltige Aromaten

2NitP	2-Nitrophenol
3NitP	3-Nitrophenol
4NitP	4-Nitrophenol
Ani	Anilin; Aminobenzol

17.1.3.5 Hydroxy-PAH

12DHB	1,2-Dihydroxybenzen; Brenzkatechin; Catechol
13DHB	1,3-Dihydroxybenzen; Resorcin
14DHB	1,4-Dihydroxybenzen; Hydrochinon
1Naph	1-Naphthol; 1-Hydroxynaphthalen
9Phen	9-Phenanthrenol; 9-Hydroxyphenanthren
1Pyr	1-Pyrenol; 1-Hydroxypyren

17.2 R_f -Werte synthetisierter Referenzsubstanzen

<i>Derivat von</i>	<i>Kürzel</i>	<i>M</i> [g/mol]	<i>Summenformel</i>	<i>R_f</i>
2-Nitrophenol	2NitPE	351,14	C ₁₇ H ₁₃ FeNO ₄	0,48
3-Nitrophenol	3NitPE	351,14	C ₁₇ H ₁₃ FeNO ₄	0,49
4-Nitrophenol	4NitPE	351,14	C ₁₇ H ₁₃ FeNO ₄	0,46
1,2-Dihydroxybenzen	12DHBE	534,17	C ₂₈ H ₂₂ Fe ₂ O ₄	0,20
1,3-Dihydroxybenzen	13DHBE	534,17	C ₂₈ H ₂₂ Fe ₂ O ₄	0,18
1,4-Dihydroxybenzen (Hydrochinon)	14DHBE	534,17	C ₂₈ H ₂₂ Fe ₂ O ₄	0,15
1-Naphthol (1-Hydroxynaphthalen)	1NapE	356,20	C ₂₁ H ₁₆ FeO ₂	0,52
9-Phenanthrenol	9PhenE	406,26	C ₂₅ H ₁₈ FeO ₂	0,54
1-Pyrenol (1-Hydroxypyren)	1PyrE	430,29	C ₂₇ H ₂₄ FeO ₂	0,54
2-Chlorphenol	2CPE	340,58	C ₁₇ H ₁₃ ClFeO ₂	0,55
3-Chlorphenol	3CPE	340,58	C ₁₇ H ₁₃ ClFeO ₂	0,59
4-Chlorphenol	4CPE	340,58	C ₁₇ H ₁₃ ClFeO ₂	0,54
2,4-Dichlorphenol	24DCPE	375,03	C ₁₇ H ₁₁ FeO ₂	0,70
2,4,6-Trichlorphenol	246TCPE	409,48	C ₁₇ H ₁₁ Cl ₃ FeO ₂	0,73
2,3,4,6-Tetrachlorphenol	2346TeCPE	443,92	C ₁₇ H ₁₀ Cl ₄ FeO ₂	0,75
Pentachlorphenol	PCPE	475,84	C ₁₇ H ₉ Cl ₅ FeO ₂	0,68
4- <i>tert</i> -Octylphenol (4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)phenol)	4tOPE	418,35	C ₂₅ H ₃₀ FeO ₂	0,59
4-n-Nonylphenol	4nNPE	432,38	C ₂₆ H ₃₂ FeO ₂	0,71
4-Nonylphenol, techn. Mix.	4NPE	432,38	C ₂₆ H ₃₂ FeO ₂	0,71
4-Phenylphenol	4PPE	384,08	C ₂₃ H ₂₀ FeO ₂	0,66
Anilin	AniE	305,16	C ₁₇ H ₁₅ NFeO	0,00

Die hier bestimmten R_f -Werte beziehen sich auf den Retentionsfaktor bei Dünnschichtchromatographie mit Kieselgel 60 und Dichlormethan als Laufmittel.

17.3 Verwendete Chemikalien

Lösungsmittel: Alle für diese Arbeit verwendeten Lösungsmittel entsprechen mindestens der Qualitätsstufe 'zur Rückstandsanalyse', d.h. sie sind mindestens 99,8% rein (lt. GC-Analyse des Herstellers) und wurden geliefert von Fa. Sigma-Aldrich/Fluka, Buchs, Schweiz.

<i>Artikel / Chemikalie</i>	<i>Bezeichnung, Reinheit</i>	<i>Hersteller</i>
DC-Platten	HPTLC-Alufolien 5 x 7,5 cm Kieselgel 60 F ₂₅₄	Merck
Ferrocencarbonsäure	97 %	Fluka
Glaswolle	Silyliert, zur Rückstandsanalyse	Supelco
Alox-N	Aluminiumoxid 90, neutral	Promochem
DMAP	99 %	Aldrich
Reinstwasser	Reinstwasseranlage Mili-Q Gradient A10	Milipore
SPE-Kartuschen	Glas, 3 ml, leer, mit Teflonfritten	Merck
2-Nitrophenol	98 %	Aldrich
3-Nitrophenol	99 %	Aldrich
4-Nitrophenol	99,5 %	Fluka
1,2-Dihydroxybenzen	99 %	Fluka
1,3-Dihydroxybenzen	98 %	Fluka
1,4-Dihydroxybenzen	98 %	Fluka
1-Naphthol	Pro Analyti	Merck
9-Phenanthrenol	98 %	Promochem
1-Pyrenol	98 %	Aldrich
2-Chlorphenol	98 %	Fluka
3-Chlorphenol	98 %	Fluka
4-Chlorphenol	95 %	Merck
2,4-Dichlorphenol	99 %	Aldrich
2,4,6-Trichlorphenol	99 %	Merck
2,4,5,6-Tetrachlorphenol	Pestanal, zur Rückstandsanalytik	Merck
Pentachlorphenol	99 %	Fluka
4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)-phenol	Techn.	Hüls
4-n-Nonylphenol	98 %	Lancaster

<i>Artikel / Chemikalie</i>	<i>Bezeichnung, Reinheit</i>	<i>Hersteller</i>
4-Nonylphenol Techn. Mix.	Pestanal, 94 %	Merck
4-Phenylphenol	98 %	Fluka
Anilin	99,5 %	Aldrich
2-Fluorphenol	98 %	Aldrich
4-Fluor-2-Methylphenol	98 %	Avocado
Methanol	HPLC-Grade	Fluka
Ethanol	Zur Rückstandsanalyse	Fluka
1-Propanol	99 %	Aldrich
2-Propanol	99 %	Merck
1-Butanol	99 %	Aldrich
1-Hexanol	98 %	Aldrich
1-Heptanol	99 %	Fluka
1-Octanol	99 %	Merck
1-Decanol	97 %	Merck
1-Dodecanol	98 %	Aldrich
Salzsäure konz.	Zur Analyse	Merck
Pentadeuterophenol	99 %	Aldrich

17.3.1 Gase

Alle Gase werden in Druckgasflaschen von Fa. Westfalen geliefert. Nur Helium zur Punktversorgung wird von Fa. Air Products, Hattingen, Deutschland bezogen. Die Angabe BIP bedeutet 'Built in purifier' und kennzeichnet Druckgasflaschen, die zur zusätzlichen Gasfilterung im Inneren mit einem festen Metallschaum gefüllt sind.

<i>Punktversorgung</i>			<i>Hausversorgung</i>		
<i>Gas</i>	<i>Reinheit</i>	<i>Vordruck</i>	<i>Gas</i>	<i>Reinheit</i>	<i>Vordruck</i>
Helium	5.0 BIP	5 bar	Helium	4.6	4 bar
Sauerstoff	4.6	6 bar	Wasserstoff	5.0	6 bar
Methan	4.5	5 bar	Sauerstoff	4.8	4 bar
Kohlensäure	-	(flüssig)	Synth. Luft	n.bek.	4 bar

Die Reinheitsangabe ist dabei folgendermaßen zu verstehen: Die Zahl vor dem Punkt gibt die Anzahl aufeinanderfolgender 9en in der Prozentangabe der Reinheit an, die Zahl nach

dem Punkt die darauffolgende Ziffer. Der Wert 4.6 entspricht somit 2 Neunen vor und 2 nach dem Komma, danach folgt eine Sechs. Reinheitsgrad 4.6 bedeutet also 99,996% Reinheit.

17.4 Geräte und -parameter

17.4.1 GC-Kapillarsäulen

Methylsilikonfilm-Säulen mit unterschiedlichem Phenylanteil, je 30 m Länge, 250 µm I.D., 0,250 µm Filmdicke. Modell VF5-ms: 5 % Phenylanteil, Varian, Deutschland; Modell Zebron ZB-50: 50 % Phenylanteil, Phenomenex, Deutschland.

17.4.2 GC-FID-System

Autosampler

MPS 2L, Fa. Gerstel, Mülheim, Deutschland; SGE Spritze 5 µl mit konischer Nadel von 0,63 mm A.D., Fa. IVA Analysetechnik, Meerbusch, Deutschland.

GC

Hewlett Packard HP 5890 II mit Splitlos-Split-Injektor, Fa. Hewlett Packard, Waldbronn, Deutschland; Merlin Microseal Septum, Restek, Bad Homburg, Deutschland. Trägergas: Wasserstoff aus Hausversorgung.

Detektor

Flammenionisationsdetektor, Fa. Hewlett Packard, Waldbronn, Deutschland; Synth. Luft (400 ml/min), Wasserstoff (67 ml/min), Aux gas (Wasserstoff, 33 ml/min): Hausversorgung.

17.4.3 GC-AED-System

Autosampler

MPS 2, Fa. Gerstel, Mülheim, Deutschland; SGE Spritze 5 µl mit konischer Nadel von 0,63 mm A.D., Fa. IVA Analysetechnik, Meerbusch, Deutschland.

Typisches Injektionsprogramm: Solvent washes: 10, Sample cleans: 1, Sample pullups: 3, Hold time: 1 s, Sample volume: 1 µl, Air Volume: 1 µl, Pull-out delay 2 s, Solvent washes: 10.

GC

Modell Agilent 6890N (G1530N), Fa. Agilent, Waldbronn, Deutschland. Trägergas Helium aus Punktversorgung.

Injektor 1: Kaltaufgabesystem KAS 4 mit Flüssig-CO₂-Kühlung und Septumfreiem Aufgabekopf, Fa. Gerstel, Mülheim, Deutschland.

Injektor 2: Splitlos-Split-Injektor, Fa. Agilent, Waldbronn, Deutschland; Thermolite Septum, Restek, Bad Homburg, Deutschland.

Detektoren

Detektor 1: Modell Agilent G2350A Atomic Emission Detector.

Detektor 2: Modell Agilent FID. Beide: Fa. Gerstel, Mülheim, Darmstadt.

Helium Punktversorgung mit nachgeschaltetem Valco/VICI Gas Purifier; Synth. Luft, Wasserstoff, Stickstoff (500 ml/min zur konstanten Spektrometerspülung): Hausversorgung; Sauerstoff: Punktversorgung.

17.4.4 GC-MSD-System**Autosampler**

Modell CTC A200S, Fa. Axel Semrau, Sprockhövel, Deutschland. Spritze SGE 5 µl mit konischer Nadel von 0.47 mm I.D., Fa. IVA-Analysentechnik, Meerbusch, Deutschland.

Typisches Injektionsprogramm: Solvent washes: 10, Sample cleans: 1, Sample pullups: 3, Hold time: 1 s, Sample volume: 1 µl, Air Volume: 1 µl, Pull-out delay 2 s, Solvent washes: 10.

GC

Modell Finnigan GCQ GC, Fa. Axel Semrau, Sprockhövel, Deutschland, mit Splitlos-Split-Injektor. Thermolite Septum, Fa. Restek, Bad Homburg, Deutschland. Trägergas: Helium aus Punktversorgung (s. AED-GC), Konstante Trägergasgeschwindigkeit von 40 cm/s; Injektortemperatur 285 °C.

Detektor

Modell Finnigan GCQ Ion Trap MSD, Fa. Axel Semrau, Sprockhövel, Deutschland. Helium Damping Gas: s. Trägergas GC. Methan Reaktandgas: Punktversorgung.

Verstärkerspannung bei EI: 1400 V.

17.4.5 Meßprogramme

17.4.5.1 GC-MSD

Ofenprogramm: 60 °C, 1 min halten, aufheizen mit **40 °C/min**¹⁷ bis 250 °C, 1 min halten, aufheizen mit 4°C/min bis 270 °C, 0 min halten, aufheizen mit 10 °C/min auf 300 °C, 10 min halten.

MSD-Parameter: Transfer Line Temperatur: 285 °C; Ion Source Temperatur: 200 °C; Ionisierungsspannung: 70 eV; Meßbeginn: 4 min nach Injektion;

MSD-Simultanmessprogramm (Full Scan und MS²): Microscans: 3, Max Ion Time: 25 ms, Mass Defect: 0 u/100 u; Scan 1: Scan Mode Full Scan, Positive Ions, Mass Range 50-650 u. Scan 2: Scan Mode MSn, MSn Order 2, Precursor Ion 213.0, Width 1.0, Excitation 1.00 V, Max. Excitation Energy: High (0.45 V), Product Ions: 184.5 - 185.5 u.

17.4.5.2 GC-AED

Ofenprogramm: 60 °C, 1 min halten, aufheizen mit **45 °C/min** bis 250 °C, 1 min halten, aufheizen mit 4 °C/min bis 270 °C, 0 min halten, aufheizen mit 10 °C/min auf 300 °C, 10 min halten.

17.5 Umrechnungsfaktoren

In dieser Arbeit wurden weitestgehend SI-Einheiten verwendet. Die Software zur Steuerung des GC-AED-Gerätes verwendet jedoch 'psi' für Druckangaben. Die damit definierten Drücke dienen zur hochreproduzierbaren Einstellung der Reagenzgasflüsse. Die Absolutwerte dieser Flüsse werden jedoch durch gerätespezifische Variationen beeinflusst und können deshalb nicht exakt ermittelt werden, so daß sie bei jedem Gerät individuell optimiert werden müssen. Insofern erscheint eine Umrechnung in SI-Einheiten weder praktisch noch sinnvoll, weshalb hierauf verzichtet wurde. Wer dies dennoch möchte, kann hierzu die folgenden Umrechnungsfaktoren verwenden:

$$1013,25 \text{ hPa} = 1 \text{ bar} = 1 \text{ atm} = 760 \text{ mmHg} = 14,50326 \text{ psi}$$

¹⁷ Dies ist die maximale Heizrate des GC-Ofens.

17.6 NMR-Daten der synthetisierten Mononitrophenolderivate

Alle NMR wurden auf einem Bruker ARX300 Gerät (300MHz) mit CDCl_3 als Lösungsmittel aufgenommen.

17.6.1 2-Nitrophenol-Ferrocencarbonsäureester

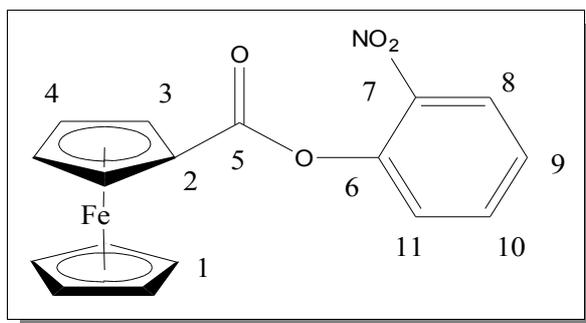


Abbildung 65: Nummerierung von 2NitPE

$^1\text{H-NMR}$: δ (ppm) = 4,30 - 4,34 (s, H_1 , 5H); 4,48 - 4,53 (t, H_4 , 2H); 4,94 - 4,99 (t, H_3 , 2H); 7,20 - 7,36 (dd, H_{11} , 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 8,1$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1,3$ Hz); 7,37 - 7,46 (ddd, H_{10} , 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 8,1$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1,3$ Hz); 7,60 - 7,68 (ddd, H_9 , 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 8,1$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1,7$ Hz); 8,02 - 8,08 (dd, H_8 , 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 8,1$ Hz, $^4J_{\text{H,H}} = 1,7$ Hz)

$^{13}\text{C-NMR}$ (Protonen-Breitbandentkoppelt): δ (ppm) = 69,21 (C_2); 70,23 (C_1); 70,83 (C_4); 72,16 (C_3); 125,29 (C_{11}); 125,47 (C_8); 126,15 (C_9); 134,15 (C_{10}); 142,68 (C_7); 144,08 (C_6); 169,35 (C_5)

17.6.2 3-Nitrophenol-Ferrocencarbonsäureester

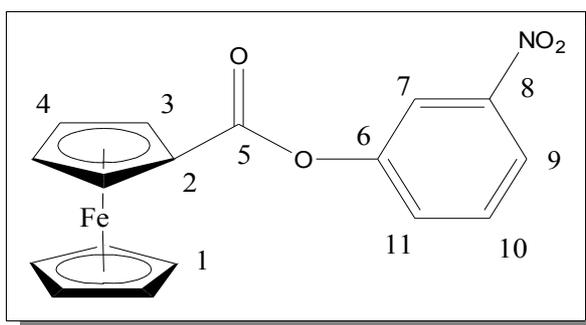


Abbildung 66: Nummerierung von 3NitPE

$^1\text{H-NMR}$: δ (ppm) = 4,30 - 4,34 (s, H_1 , 5H); 4,48 - 4,53 (t, H_4 , 2H); 4,94 - 4,99 (t, H_3 , 2H); 7,56 - 7,57 (dd, H_{11} , 1H, $^4J_{\text{H,H}} = 2,0$ Hz); 7,57 - 7,60 (dt, H_{10} , 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7,7$ Hz); 8,07 - 8,08

(ds, H₇, 1H, ⁴J_{H,H} = 2,0 Hz); 8,11 – 8,15 (dd, H₉, 1H, ³J_{H,H} = 7,7 Hz)

¹³C-NMR (Protonen-Breitbandenkoppelt): δ (ppm) = 69,00 (C₂); 70,11 (C₁); 70,76 (C₄); 72,41 (C₃); 117,41 (C₇); 120,50 (C₉); 128,20 (C₁₁); 129,99 (C₁₀); 148,00 (C₈); 151,37 (C₆); 169,86 (C₅)

17.6.3 4-Nitrophenol-Ferrocencarbonsäureester

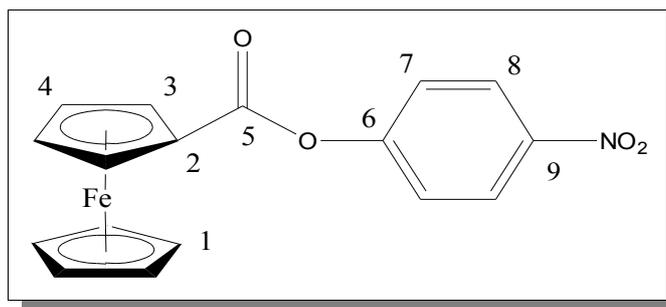


Abbildung 67: Nummerierung von 4NitPE

¹H-NMR: δ (ppm) = 4,30 - 4,34 (s, H₁, 5H); 4,48 - 4,53 (t, H₃, 2H); 4,94 - 4,99 (t, H₂, 2H); 7,35 – 7,38 (d, H₇, 2H); 8,28 - 8,31 (d, H₈, 2H)

¹³C-NMR (Protonen-Breitbandenkoppelt): δ (ppm) = 68,93 (C₂); 70,09 (C₁); 70,76 (C₄); 72,47 (C₃); 122,44 (C₇); 125,21 (C₈); 145,15 (C₉); 155,84 (C₆); 169,52 (C₅)

17.7 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)

17.7.1 Vorbereitung von Materialien und Chemikalien

Alle verwendeten Glasgeräte werden nach Reinigung in einer Laborspülmaschine und Waschen mit Reinstwasser thermisch in einem Ofen bei 450 °C über mindestens vier Stunden gereinigt.

Aluminiumoxid-N wird vor Verwendung durch Erhitzen auf 450 °C aktiviert, danach werden zur Deaktivierung 4 Gew.-% Reinstwasser zugegeben und durch mindestens 24-stündige Lagerung bei 160 °C ein definierter Wassergehalt und somit auch eine definierte chromatographische Aktivität eingestellt.

17.7.2 AAV: Synthese von Ferrocencarbonsäurechlorid

Ferrocencarbonsäurechlorid (FCC) läßt sich in einer einstufigen Reaktion aus Ferrocencarbonsäure (FCA) und Oxalylchlorid gemäß [54] darstellen. Allerdings wird hier

das krebserregende Benzen¹⁸ durch Cyclohexan als Lösungsmittel ersetzt. Auch wenn dieses FCA nicht vollständig zu lösen vermag, gelingt aus der Aufschlämmung ebenfalls die Synthese des tiefroten, kristallinen Produktes. Es ist bei Lagerung in der Kälte und unter Schutzgas über Monate haltbar. Lösungen davon müssen jedoch frisch hergestellt werden, da sie sich schnell zersetzen, was am Aufhellen der Farbe zu erkennen ist.

17.7.3 AAV: Synthese von Ferrocencarboxylderivaten

300 μmol der zu veresternden Substanz werden in ein 4,5 ml Vial eingewogen und in 2 ml Dichlormethan (DCM) gelöst. Zu dieser Lösung werden 500 μl einer Lösung von 330 μmol (49 mg) 4-(N,N-Dimethylamino)pyridin (DMAP) gegeben. Danach werden 500 μl Lösung von 390 μmol (97 mg) Ferrocencarbonsäurechlorid (FCC) in DCM tropfenweise zupipettiert. Nach ca. 5 min wird die Lösung auf eine 3 ml SPE-Glaskartusche überführt, die mit 1 g Alox-N in DCM eingeschlämmt ist. Die orange Produktfraktion wird mit DCM eluiert. Das Lösungsmittel wird bei 50 °C abgedampft und anschließend am Vakuum getrocknet. Man erhält dunkelrote bis orange Kristalle als Produkt. Die Reinheit der Produkte wird durch Messung am GC-FID sichergestellt.

18 Die deutsche Bezeichnung „Benzol“ weist durch die Endung -ol fälschlicherweise auf einen Alkohol hin.

17.7.4 AAV: Probenaufarbeitung von Kraftstoffen zur qualitativen Analyse

250 µl des Treibstoffs werden in ein 1,5 ml Vial pipettiert. Dazu werden 200 µl einer Lösung von 24 mg DMAP in 1,5 ml DCM (108 mmol/l) gegeben. Anschließend wird eine Lösung von 200 µl FCC in 1,5 ml DCM (54 mmol/l) tropfenweise zugegeben. Nach 5 min wird der Reagenzienüberschuß entfernt, indem die Lösung auf eine Schwerkraftsäule (d=1 cm) überführt wird, die 10 cm hoch mit Aluminiumoxid-N und DCM eingeschlämmt ist. Die FCE werden mit 6,0 ml DCM eluiert und nach Abdampfen des Lösungsmittels bei 50 °C in 100 µl P : DCM (70:30 v/v) wieder aufgenommen. Unpolare Matrixbestandteile wie Alkane werden mit Hilfe einer zweiten, gleichartigen Säule entfernt, die diesmal jedoch mit P : DCM (70:30 v/v) eingeschlämmt wird. Nach Aufgabe der Probenlösung werden mit 3 ml P : DCM (70:30 v/v) die Aliphaten von der Säule gespült. Die FCE werden wiederum mit 6 ml DCM eluiert. Das Lösungsmittel wird bei 50 °C abgedampft, die Analyten in 1,5 ml des zur Injektion gewünschten Lösungsmittels wieder aufgenommen (hier: Cyclohexan).

17.7.5 AAV: Probenaufarbeitung von Kraftstoffen zur quantitativen Analyse

Die Proben werden wie zur qualitativen Analyse aufgearbeitet, nur daß jetzt vor Zugabe der Reagenzien zusätzlich 100 µl einer Lösung von 100 µmol/l 4F2MPE in Cyclohexan zum Aliquot zupipettiert werden.

17.8 Programmroutine zur Korrelationsanalyse mit MatLab

Die folgende Programmroutine dient zur automatisierten Berechnung von Korrelationsanalysen mit dem *MatLab*-Programm. Zeilen mit einem Prozentzeichen am Anfang sind Kommentarzeilen, die v.a. die zur Verfügung stehenden Varianten für Proximitätsmaß („dist“) und Fusionierungsalgorithmus („link“) erläutern. Das Ergebnis wird durch ein Dendrogramm dargestellt, dessen Ausrichtung, Linienstärke und -Farbe ebenfalls frei wählbar ist.

```
function makemydendro(data,textdata,dist,link,orient,linew,linec);  
% function makemydendro(data,textdata,dist,link,orient,linewidth,linecolor);  
% data and textdata as read with matlab-data-import
```

```

% dist:
% 'euclidean' - Euclidean distance
% 'seuclidean' - Standardized Euclidean distance, each coordinate
%               in the sum of squares is inverse weighted by the
%               sample variance of that coordinate
% 'cityblock' - City Block distance
% 'mahalanobis' - Mahalanobis distance <=
% 'minkowski' - Minkowski distance with exponent 2
% 'cosine' - One minus the cosine of the included angle
%           between observations (treated as vectors)
% 'correlation' - One minus the sample correlation between
%               observatons (treated as sequences of values).
% 'hamming' - Hamming distance, percentage of coordinates
%            that differ
% 'jaccard' - One minus the Jaccard coefficient, the
%            percentage of nonzero coordinates that differ
% link:
% 'single' --- nearest distance
% 'complete' --- furthest distance
% 'average' --- average distance
% 'centroid' --- center of mass distance (the output Z is meaningful
%            only if Y contains Euclidean distances)
% 'ward' --- inner squared distance <=
% orient:
% 'top' --- top to bottom (default)
% 'bottom' --- bottom to top
% 'left' --- left to right
% 'right' --- right to left <=
% Linewidth normally 0.5
% Linecolor [ R G B] e.g. [0 0 1]

X = data;
labels=textdata(2:end,1);
Y = pdist(X,dist);
Z = linkage(Y,link);
[H, T,P] = dendrogram(Z,'Orientation',orient);
xlabel('distance measure');
set(gca,'YTickLabel',labels(P))
box;
a=findobj('type','line');
set(a,'LineWidth',linewidth);
set(a,'Color',linec);

```

```

% Use following lines for principal component analysis:

```

```
% [scores,loads,ssq,res,reslm,tsqlm,tsq] = pca(data,0,0,3);
% fi; plot3(scores(:,1),scores(:,2),scores(:,3),'*');
% [a,b]=size(scores);
% for i=1:a
%   text(scores(i,1)+2,scores(i,2)+2,scores(i,3)+2,labels(P(i)));
% end;
% grid;
```

17.9 Einzelkonzentrationen der Phenole in schweizer Kraftstoffen

Anmerkung: "n.n." bedeutet "nicht nachweisbar" und kann in den Tabellen entweder bedeuten, daß die Konzentration unterhalb der Quantifizierungsgrenze liegt, oder daß bereits die Peakidentifikation nicht sicher möglich war (z.B. auf Grund von Coelutionen).

Tabelle 27: Phenol und Monomethylphenole in schweizer Treibstoffen [$\mu\text{g/l}$]

Probe	A) P	B) 2MP	C) 3MP	D) 4MP
D1	620	2337	1330	776
D2	373	2545	1364	728
D3	812	2221	1484	991
D4	115	31	78	24
D5	376	977	340	240
F1	33448	39163	28901	19394
F2	16443	21432	19145	14009
F3	62	166	58	42
F4	12874	19104	17717	13129
F5	11532	4338	2467	1671
F6	16373	13076	16482	9634
F7	162	318	122	75
F8	8996	9447	7371	5829
T	8421	5928	5298	2926

Tabelle 28: Dimethylphenole in schweizer Treibstoffen[$\mu\text{g/l}$]

Probe	E) 23DMP	F) 24DMP	G) 25DMP	H) 26DMP	I) 34DMP	J) 35DMP
D1	933	1881	2037	1955	2546	1300
D2	1317	2740	2718	2906	3629	1782
D3	1768	3107	n.n.	2536	3703	2239
D4	366	n.n.	133	298	20	31
D5	634	1152	1274	480	2724	516
F1	8511	5231	13826	11665	13589	5197
F2	10000	13213	14050	9412	n.n.	8046
F3	n.n.	8	37	30	43	n.n.
F4	9763	11669	13945	8046	12131	9623
F5	168	n.n.	413	194	263	207
F6	3165	4476	4583	n.n.	732	7568
F7	18	23	213	26	75	15
F8	2785	1729	5105	4052	3696	1875
T	652	737	1758	548	1338	3189

Tabelle 29: Trimethylphenole in schweizer Treibstoffen[$\mu\text{g/l}$]

Probe	K) 235TMP	L) 236TMP	M) 246TMP	N) 345TMP
D1	1329	1186	1426	2103
D2	2088	1901	3867	3795
D3	2441	3801	3507	3177
D4	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
D5	1152	1652	0	661
F1	984	901	1907	77
F2	3958	1733	3567	427
F3	n.n.	n.n.	15	n.n.
F4	6504	2632	5885	3285
F5	60	31	87	20
F6	922	517	2983	n.n.
F7	7	n.n.	22	n.n.
F8	481	439	442	44
T	97	19	179	37

Tabelle 30: Anteil der Alkylphenole am Gesamtphenolgehalt in schweizer Treibstoffen[%]

Probe	Anteil Alkylphenole [%]:				
	C_0	C_1	C_2	C_3	$C_0...C_3$
D1	1	4	7	4	15
D2	0	3	8	6	17
D3	1	4	11	10	27
D4	n.n.	n.n.	1	n.n.	1
D5	1	3	13	6	23
F1	1	31	18	1	65
F2	8	24	21	3	57
F3	3	10	4	n.n.	17
F4	5	17	20	5	47
F5	24	15	2	n.n.	41
F6	17	35	16	3	70
F7	2	5	3	n.n.	9
F8	9	21	16	4	49
T	18	27	14	1	60

18 Danksagung

Zu guter Letzt gebührt ein großer Dank all denen, die mich in meiner Doktorandenzeit begleitet und unterstützt haben.

Zunächst gilt mein Dank Prof. Jan Andersson, der mir überhaupt erst die Möglichkeit gab, diese Arbeit zu erschaffen. Durch ihn habe ich sehr viel lernen können, und das nicht nur in fachlicher Hinsicht. Für sein Vertrauen und die spannende Zeit der Promotion schulde ich ihm großen Dank.

Viel konnte ich auch von meinen Vorgängern im Arbeitskreis lernen, als da wären: Stefan Bobinger, Stefan Götting, Abdelrahman Hegazi, Uli Holwitt, Melanie Kerst, Frank Michel, Jürgen Rolfes, Wolfgang Schröder, Armin Schneider, Klaus Sielex, Friedtjof Traulsen, Sabine Werlich.

Sehr viel Spaß gemacht hat auch die Zusammenarbeit mit meinen Kollegen Benedikte Roberz, Hendrik Müller und Thomas Schade gemacht, sowie mit unseren Diplomanden Ansgar Japes, Sebastian Kortz, Thorsten Kreickmann, und Claudia Sill.

Für ihre Herzlichkeit und tolle Organisation möchte ich mich bei Marianne Lüttmann und Karin Weißenhorn bedanken.

Auch bei den vielen 'dienstbaren Geistern' im Institut stehe ich tief in der Schuld: Jens-Markus Deckwart, Marcus Eschen, Hans Koschyk, Manfred Krause und sein Werkstattteam, Sven Müller, Manfred Möller, Friedhelm Rogel und viele Andere.

Die Zusammenarbeit mit Prof. Uwe Karst, Georg Diehl und Thorsten Schmidt hat mir viel Freude und Motivation bereitet, und ich konnte eine ganze Menge von Ihnen lernen. Dafür ganz herzlichen Dank!

Erik Frauendorfer war mir immer ein wertvoller Verbündeter mit dem und am Computer.

Viel Spaß hat mir auch die Arbeit mit meinen Praktikanten Patrick Zeni, Carsten Laukötter, Thorsten Kreickmann, Claudia Sill, Tobias Revermann, Svenja Hruschka, Stefanie Bovens, Birgit Meyer zu Berstenhorst und Ina Bauer gemacht. Auch durch sie habe ich viel gelernt.

Nina Lohmann und Herr Schulte von Agilent waren immer für mich da, wenn ich Trost und Zuspruch beim Umgang mit dem AED brauchte.

Martin Brenda und Christian Wolfrum haben mich nicht nur fachlich, sondern auch durch ihre Freundschaft unterstützt und wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Ganz wichtig sind natürlich auch meine Freunde Joachim Greive, Sven Knoke und Christian Scheel gewesen, die mir durch alle Durststrecken geholfen haben.

Ganz zuletzt gilt mein Dank Doris Höping und meinen Eltern, denen allen ich sicherlich am meisten zu verdanken habe und denen ich deshalb diese Arbeit widmen möchte.

