

Lothar Dunemann
Jutta Begerow

**Kopplungstechniken
zur Elementspeziesanalytik**



This Page Intentionally Left Blank

Lothar Dunemann
Jutta Begerow

**Kopplungstechniken
zur Elementspeziesanalytik**



© VCH Verlagsgesellschaft mbH, D-69451 Weinheim (Bundesrepublik Deutschland), 1995

Vertrieb:

VCH, Postfach 10 1161, D-69451 Weinheim (Bundesrepublik Deutschland)

Schweiz: VCH, Postfach, CH-4020 Basel (Schweiz)

United Kingdom und Irland: VCH (UK) Ltd., 8 Wellington Court, Cambridge CB1 1HZ (England)

USA und Canada: VCH, 220 East 23rd Street, New York, NY 10010-4606 (USA)

Japan: VCH, Eikow Building, 10-9 Hongo 1-chome, Bunkyo-ku, Tokyo 113 (Japan)

ISBN 3-527-28719-1

Lothar Dunemann
Jutta Begerow

Kopplungstechniken zur Elementspezies- analytik



Weinheim · New York
Basel · Cambridge · Tokyo

Dr. rer. nat. habil. Lothar Dunemann
Dr. rer. nat. Jutta Begerow
Medizinisches Institut für Umwelthygiene
an der Heinrich-Heine-Universität
Auf'm Hennekamp 50
D-40225 Düsseldorf

Das vorliegende Werk wurde sorgfältig erarbeitet. Dennoch übernehmen Autoren und Verlag für die Richtigkeit von Angaben, Hinweisen und Ratschlägen sowie für eventuelle Druckfehler keine Haftung.

Lektorat: Dr. Steffen Pauly
Herstellerische Betreuung: Claudia Grössl

Die Deutsche Bibliothek – CIP-Einheitsaufnahme
Dunemann, Lothar:
Kopplungstechniken zur Elementspeziesanalytik /
Lothar Dunemann ; Jutta Begerow. –
Weinheim ; New York ; Basel ; Cambridge ; Tokyo : VCH, 1995
ISBN 3-527-28719-1
NE: Begerow, Jutta:

© VCH Verlagsgesellschaft mbH, D-69451 Weinheim (Federal Republic of Germany), 1995

Gedruckt auf säurefreiem und chlorfrei gebleichtem Papier

Alle Rechte, insbesondere die der Übersetzung in andere Sprachen, vorbehalten. Kein Teil dieses Buches darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form – durch Photokopie, Mikroverfilmung oder irgendein anderes Verfahren – reproduziert oder in eine von Maschinen, insbesondere von Datenverarbeitungsmaschinen, verwendbare Sprache übertragen oder übersetzt werden. Die Wiedergabe von Warenbezeichnungen, Handelsnamen oder sonstigen Kennzeichen in diesem Buch berechtigt nicht zu der Annahme, daß diese von jedermann frei benutzt werden dürfen. Vielmehr kann es sich auch dann um eingetragene Warenzeichen oder sonstige gesetzlich geschützte Kennzeichen handeln, wenn sie nicht eigens als solche markiert sind.

All rights reserved (including those of translation into other languages). No part of this book may be reproduced in any form – by photoprinting, microfilm, or any other means – nor transmitted or translated into a machine language without written permission from the publishers. Registered names, trademarks, etc. used in this book, even when not specifically marked as such, are not to be considered unprotected by law.

Einbandgraphik: Prof. Jürgen Wirth, D-63303 Dreieich-Offenthal

Satz: Filmsatz Unger & Sommer GmbH, D-69469 Weinheim.

Druck: betz-druck GmbH, D-64291 Darmstadt

Bindung: Wilhelm Osswald + Co., D-67433 Neustadt

Printed in the Federal Republic of Germany

Vorwort

In vielen Bereichen der Umwelt-, Geo- und Biowissenschaften besteht trotz des rasch anwachsenden Wissens ein Informationsdefizit in Fragen zur Mobilität, zur Verfügbarkeit und zur Toxizität chemischer Elemente in natürlichen Matrices. Die Elementspeziesanalytik (ESA) hat in der jüngeren Vergangenheit gezeigt, daß sie wesentlich zum Verständnis solcher komplexen Vorgänge in der belebten und unbelebten Natur beitragen kann, da sie statt der bloßen Betrachtung des Gesamtgehaltes eine Differenzierung der Elemente nach ihren Bindungsformen und -zuständen erlaubt. Dies gelingt durch die kombinierte Anwendung von Trenn- und Detektionsmethoden auch in realen Proben. Innerhalb des rasch wachsenden Anwendungsgebietes sind Kopplungstechniken das „Non-plus-ultra“, denn sie erlauben rasche und wegen der geringen Probenmanipulation weitgehend unverfälschte Aussagen über die nativen Elementspezies bei einem geringen Risiko von Kontaminationen und Verlusten an Analyten und deren Spezies.

Kopplungstechniken sind charakterisiert durch ein effektives Trennsystem, das über ein Interface mit einem oder mehreren Detektoren verbunden ist. Bei der Wahl der Detektoren ist zu beachten, daß nicht nur die Elemente selbst, sondern auch deren Bindungspartner nachzuweisen sind. Die parallele Anwendung element- und molekülsensitiver Detektoren ist deshalb unabdingbar. Das Trennsystem muß schonend arbeiten, um Eingriffe in die sensiblen Gleichgewichte der Spezies so gering wie möglich zu halten. Ebenso wichtig jedoch ist die problemorientierte Bewertung der erhaltenen Ergebnisse.

In dieser Monographie soll der gegenwärtige Stand der Kopplungstechniken im Bereich der Elementspeziesanalytik dargestellt und anhand von Anwendungsbeispielen verdeutlicht werden. Bei der Auswahl dieser Beispiele konnten nicht alle Gebiete der Speziesanalytik gleichermaßen berücksichtigt werden. Wegen der besonderen Bedeutung der Kopplungstechniken für biologische Matrices, insbesondere im Hinblick auf die Verfügbarkeit und Toxizität mancher Spezies, wurden entsprechende Anwendungen bevorzugt beschrieben. Dabei werden nicht nur Kopplungstechniken vorgestellt, denen heute bereits ein gewisser Stellenwert zukommt, sondern auch die, die allem Anschein nach in der näheren Zukunft häufiger zum Einsatz kommen werden. Auch die Grenzen der heute verfügbaren Möglichkeiten werden diskutiert. Dennoch sind bereits jetzt wesentliche Fortschritte auf diesem sehr innovativen Gebiet der Spurenanalytik zu sehen, was für Fachleute der geologischen und biologischen Disziplinen einschließlich der humanmedizinischen Ausrichtungen interessant sein wird. Manchen Laien wird diese Art der Analytik sicherlich interessieren, da die Darstellung des Themas relativ leicht nachvollziehbar ist und Lösungen für verschiedene

aktuelle Fragestellungen ohne fachchinesische Attribute diskutiert werden. Es ist wichtig zu betonen, daß sich noch viele der beschriebenen Kopplungstechniken in der Entwicklung befinden und einige noch nicht über den Zustand der Bastelphase hinausgelangt sind, so daß bis zur tatsächlichen Anwendungsreife häufig noch ein langer Weg zurückzulegen sein wird. Kommerziell erhältliche Lösungen fehlen fast ganz. Man darf gespannt sein, welche Schwerpunkte sich in der Entwicklung von Kopplungstechniken in der Speziesanalytik künftig herausbilden werden.

Am Ende eines jeden Kapitels befindet sich ein Literaturanhang, der sich an einprägsamen Beispielen orientiert und deshalb keinen Anspruch auf Vollständigkeit erhebt. Es wurde die alphabetische Reihenfolge gewählt. Maßgeblich für die Reihenfolge ist der Name des Erstautoren ohne Zusätze wie van, von etc.

Düsseldorf, im September 1995

J. Begerow
L. Dunemann

Inhalt

1	Einleitung und Übersicht	1
2	Elementspeziesanalytik (ESA)	3
2.1	Warum Elementspeziesanalytik?	4
2.1.1	Oxidationsstufen-Spezies	5
2.1.2	Niedermolekulare Spezies	6
2.1.3	Höhermolekulare Spezies	6
2.1.4	Physikalisch gebundene Spezies	7
2.2	Anwendungsgebiete der Elementspeziesanalytik	7
2.2.1	Umweltproben	7
2.2.2	Biologische Proben	8
2.3	Strategien der Elementspeziesanalytik	8
2.3.1	Trennung	10
2.3.2	Detektion	11
2.4	Probennahme, Probenlagerung, Probenvorbereitung und Verbundverfahren	12
2.4.1	Probennahme	12
2.4.2	Probenlagerung	12
2.4.3	Probenvorbereitung	13
2.4.4	Verbundverfahren	14
2.5	Bewertung, Validierung und Interpretation von ESA-Daten	15
2.5.1	Zurückführbarkeit der Messung (Traceability)	16
2.5.2	Referenzmaterialien und Ringversuche	16
2.5.3	Methodenvergleiche, Wiederfindungs- und Spike-Experimente	17
	Literatur zu Kapitel 2	17
3	Kopplungstechniken zur Elementspeziesanalytik	21
3.1	Definition der Kopplungstechniken	23
3.1.1	Auswahl der Materialien	24
3.1.2	Reinigung der Materialien	25

VIII	Inhalt	
3.2	Trennmodul	25
3.3	Detektormodul.....	27
3.4	Interface	29
3.5	Quantitative Auswertung	30
3.6	Flüssigkeitschromatographische Trennmethoden (LC)	31
3.6.1	Elementselektive Detektion	33
3.6.1.1	Atomabsorptionsspektrometrie	33
3.6.1.2	Plasma-Atomemissionsspektrometrie	37
3.6.1.3	Plasma-Massenspektrometrie	43
3.6.2	Speziesslektive Detektion	46
3.6.2.1	Kontinuierliche Fließsysteme (Nachsäulenderivatisierung)	46
3.6.2.2	Sonstige Detektoren (inklusive Vorsäulenderivatisierung).....	48
3.6.2.3	Nachweis von Nichtmetallspezies	49
3.6.3	Molekülelektive Detektion	49
3.6.3.1	Massenspektrometrie	50
3.6.3.2	Schwingungsspektroskopie	51
3.6.3.3	Kernresonanzspektroskopie	51
3.7	Gaschromatographische Trennmethoden und Chromatographie mit überkritischen Fluiden	51
3.7.1	Elementselektive Detektion	52
3.7.1.1	Atomabsorptionsspektrometrie	52
3.7.1.2	Plasma-Atomemissionsspektrometrie	53
3.7.1.3	Plasma-Massenspektrometrie	55
3.7.2	Spezies-/molekülelektive Detektion	56
3.8	Elektrophoretische Trennmethoden	57
3.8.1	Elementselektive Detektion	59
3.8.2	Spezies-/molekülelektive Detektion	61
3.9	Sonstige Kopplungstechniken	61
3.9.1	Voltammetrie mit Plasma-AES bzw. Plasma-MS.....	62
3.9.2	Voltammetrie mit Massenspektrometrie	62
3.9.3	Dünnschichtchromatographie mit Massenspektrometrie (LDMS, SIMS)	63
3.9.4	Weitere Methoden für Kopplungstechniken	63
3.10	Bewertung der Analysendaten	63
	Literatur zu Kapitel 3	65

4	Anwendungsgebiete der Kopplungstechniken in der ESA	73
4.1	Aluminium (Al).....	74
4.1.1	Einleitung	74
4.1.2	Kopplungstechniken zum Nachweis von Aluminiumspezies	76
4.1.3	Probenvorbereitung	79
4.2	Arsen (As)	80
4.2.1	Einleitung	80
4.2.2	Kopplungstechniken zum Nachweis von Arsenspezies	83
4.2.2.1	Hydrid-Techniken	83
4.2.2.2	Kopplungen der HPLC mit einem elementselektiven Detektor ...	86
4.2.2.3	Trennungen mittels GC	92
4.2.2.4	Weitere Trenntechniken	93
4.2.3	Probenvorbereitung	94
4.3	Cadmium (Cd).....	95
4.3.1	Einleitung	95
4.3.2	Kopplungstechniken zum Nachweis von Cadmiumspezies	96
4.3.3	Probenvorbereitung	101
4.4	Chrom (Cr)	102
4.4.1	Einleitung	102
4.4.2	Kopplungstechniken zum Nachweis von Chromspezies.....	103
4.4.2.1	Differenzierung zwischen Chrom(III) und Chrom(VI)	103
4.4.2.2	Nachweis von hochmolekularen Chromspezies	111
4.4.3	Probenvorbereitung	111
4.5	Kupfer (Cu)	112
4.5.1	Einleitung	112
4.5.2	Kopplungstechniken zum Nachweis von Kupferspezies.....	113
4.5.2.1	Kopplungen der HPLC mit einem elementselektiven Detektor ...	113
4.5.2.2	Weitere Kopplungstechniken zur Bestimmung von Kupferspezies ..	116
4.5.3	Probenvorbereitung	117
4.6	Eisen (Fe)	118
4.6.1	Einleitung	118
4.6.2	Kopplungstechniken zum Nachweis von Eisenspezies	119
4.6.2.1	Differenzierung zwischen Eisen(II) und Eisen(III)	119
4.6.2.2	Bestimmung der Bindungspartner des Eisens.....	120
4.6.3	Probenvorbereitung	123
4.7	Quecksilber (Hg).....	124
4.7.1	Einleitung	124

X Inhalt

4.7.2	Kopplungstechniken zum Nachweis von Quecksilberspezies	126
4.7.2.1	Kopplungen der GC mit einem elementselektiven Detektor	126
4.7.2.2	Kopplungen zwischen der HPLC und einem elementselektiven Detektor	132
4.7.2.3	Weitere Kopplungstechniken	135
4.7.3	Probenvorbereitung	136
4.8	Nickel (Ni)	138
4.8.1	Einleitung	138
4.8.2	Kopplungstechniken zum Nachweis von Nickelspezies	140
4.8.3	Probenvorbereitung	142
4.9	Blei (Pb)	143
4.9.1	Einleitung	143
4.9.2	Kopplungstechniken zum Nachweis von Bleispezies	144
4.9.2.1	Kopplungen der GC mit einem elementselektiven Detektor	144
4.9.2.2	Kopplungen der HPLC mit einem elementselektiven Detektor	150
4.9.2.3	Weitere Kopplungstechniken	152
4.9.3	Probenvorbereitung	154
4.10	Selen (Se)	155
4.10.1	Einleitung	155
4.10.2	Kopplungstechniken zum Nachweis von Selenspezies	156
4.10.2.1	Kopplungen der HPLC mit einem elementselektiven Detektor zur Bestimmung niedermolekularer Selenspezies	156
4.10.2.2	Kopplungen der HPLC mit einem elementselektiven Detektor zur Bestimmung hochmolekularer Selenspezies	161
4.10.3	Probenvorbereitung	163
4.11	Zinn (Sn)	164
4.11.1	Einleitung	164
4.11.2	Kopplungstechniken zum Nachweis von Zinnspezies	165
4.11.2.1	Kopplungen der GC mit einem elementselektiven Detektor	165
4.11.2.2	Kopplungen der HPLC mit einem elementselektiven Detektor	171
4.11.2.3	Weitere Kopplungstechniken	174
4.11.3	Probenvorbereitung	175
4.12	Zink (Zn)	177
4.12.1	Einleitung	177
4.12.2	Kopplungstechniken zum Nachweis von Zinkspezies	178
4.12.2.1	Kopplungen der HPLC mit einem elementselektiven Detektor	179
4.12.3	Probenvorbereitung	183
4.13	Sonstige Metalle	184
4.13.1	Antimon (Sb)	184

	Inhalt	XI
4.13.2	Germanium (Ge)	185
4.13.3	Vanadium (V)	186
4.13.4	Mangan (Mn).....	188
4.13.5	Thallium (Tl)	189
	Literatur zu Kapitel 4	189
5	Zukünftige Entwicklungen	205
5.1	Mehrdimensionale Trenntechniken	207
5.2	Nachweisstarke Multielementmethoden	208
5.3	Detektion von Bindungspartnern und Gesamtspezies	208
5.3.1	Kopplungstechniken	208
5.3.2	Direktmethoden.....	209
5.4	Probennahme und Probenvorbereitung	209
5.5	Quantifizierung von Daten aus Kopplungstechniken	210
5.6	Neue Fragestellungen	211
	Literatur zu Kapitel 5	212
6	Zusammenfassung und Ausblick	215
	Register	217

This Page Intentionally Left Blank

Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
ACP	Wechselstromplasma (alternating current plasma), Anregungsquelle für die Atomemissionsspektrometrie
AED	Atomemissionsdetektor
AES	Atomemissionsspektrometrie, auch OES (optische Emissionsspektrometrie)
AFS	Atomfluoreszenzspektrometrie
APDC	Ammoniumpyrrolidindithiocarbamat
ASTM	American Society for Testing and Materials, Zentralstelle für Normung und Sammlung von technologischen Daten
ASV	anodic stripping voltammetry, Technik der Voltammetrie zum Nachweis von Metallen
BCR	Community Bureau of Reference der EU, Quelle für Referenzmaterialien
BMFT	Bundesministerium für Forschung und Technologie
CCC	counter current chromatography, Gegenstromchromatographie
CCD	charge coupled device, multielementfähiger Detektor für die AES
CDTA	1,2-Cyclohexylendinitrilotetraessigsäure
CE	Kapillarelektrophorese (capillary electrophoresis)
CFA	continuous flow analysis, kontinuierliches Analysenverfahren mit Luftblasensegmentierung zur Vermeidung der Banden- verbreiterung durch das Flußprofil
CGE	Kapillargelelektrophorese (capillary gel electrophoresis), Technik der CE mit gelgefüllten Kapillaren
CID	charge injection device, multielementfähiger Detektor für die AES
CIEF	Kapillarisoelektrische Fokussierung, Technik der CE
CITP	Kapillarisotachophorese (capillary isotachophoresis), Technik der CE
CMP	kapazitiv gekoppeltes Mikrowellenplasma (capacitatively coupled microwave plasma)
CRD	Chemischer Reaktionsdetektor, zur Nachsäulenderivatisierung von Metallen und funktionellen Gruppen in der Flüssigkeits- chromatographie
CRM	zertifiziertes Referenzmaterial (certified reference material)

XIV Abkürzungsverzeichnis

CTD	charge transfer device, multielementfähiger Detektor für die AES
CV-AAS	Kaltdampf-Atomabsorptionsspektrometrie (cold vapour atomic absorption spectrometry)
CZE	Kapillaronenelektrophorese (capillary zone electrophoresis)
DCP	Gleichstromplasma (direct current plasma), Anregungsquelle für die AES
DFO	Desferrioxamin
DIN	direct injection nebulizer, Zerstäubertyp für die Plasmaspektrometrie mit einer nahezu quantitativen Überführung der Probe in das Plasma
DMAA	Dimethylarsinsäure
DPASV	Differentialpulsvoltammetrie (differential pulse anodic stripping voltammetry), nachweisstarke Technik der Voltammetrie zum Nachweis von Schwermetallen
DPCSV	Differentialpulsvoltammetrie (differential pulse cathodic stripping voltammetry)
DTPA	Diethylentriaminpentaessigsäure
ECD	Elektroneneinfangdetektor (electron capture detector)
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EICD	elektrochemischer Detektor (auch: ED)
ESA	Elementspeziesanalytik
ESR	Elektronenspinresonanzspektroskopie
ET-AAS	elektrothermale Atomabsorptionsspektrometrie (auch: Graphitrohr-AAS)
ETV	elektrothermale Verdampfung (z. B. als Probenvorbereitung für die Plasmaspektrometrie)
eV	Elektronenvolt
F-AAS	Flammen-Atomabsorptionsspektroskopie
FEP	Copolymer aus Tetrafluormethylen/Hexafluorpropylen
FFF	field flow fractionation, Feldflußfraktionierung
FIA	Fließinjektionsanalyse, kontinuierliches Analysenverfahren
FID	Flammenionisationsdetektor
FPD	Flammenphotometrischer Detektor
FPLC	fast protein liquid chromatography, flüssigkeitschromatographische Technik, die bevorzugt zur Trennung von Biopolymeren eingesetzt wird
FT	Fourier-Transformation, mathematisches Verfahren zur vereinfachten Darstellung komplizierter Spektren
GC	Gaschromatographie
GPC	Gelpermeationschromatographie (auch: Gelchromatographie oder Größenausschlußchromatographie)

HEPES	4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazin-ethansulfonsäure
HG-AAS	Hydrid-Atomabsorptionsspektrometrie (hydride generation atomic absorption spectrometry)
HHPN	hydraulischer Hochdruckzerstäuber (hydraulic high pressure nebulizer), zur effektiven Aerosolerzeugung
HIC	hydrophobic interaction chromatography, Trennung nach Hydrophobizität
HPF	high performance flow, spezielle Technik der Probenapplikation
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie (high performance liquid chromatography)
HR-ICP-MS	hochauflösende ICP-MS (high resolution), Sektorfeld-ICP-MS
ICP-AES	Atomemissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (inductively coupled plasma – atomic emission spectrometry)
ICP-MS	Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (inductively coupled plasma – mass spectrometry)
IEF	isoelektrische Fokussierung
IR	infrarot, Infrarot-Spektroskopie
ISO	International Organization for Standardization, internationale Dachorganisation der nationalen Normungsorganisationen, Ziel ist die weltweite Förderung der Ausarbeitung von Normen
ITD	Ionenfallendetektor (ion trap detector)
K	Kelvin, absolute Temperaturskala
kD	Kilodalton, Molekulareinheit (g/mol), auch: Da
LC	Flüssigkeitschromatographie (liquid chromatography)
LDMS	Laserdesorptionsmassenspektrometrie
LIF	laserinduzierte Fluoreszenz
MALDITOF/SIMS	matrix assisted laser ablation desorption/ionization time of flight secondary ion mass spectrometry, massenspektrometrische Methode der Oberflächenanalytik
MECC	mizellare elektrokinetische Kapillarchromatographie (micellar electrokinetic capillary chromatography), (auch: MEKC)
MIP	Mikrowellen-induziertes Plasma, Anregungsquelle für die AES und die MS
MMAA	Monomethylarsonsäure
MS	Massenspektrometrie
MT	Metallothioneine, cysteinreiche schwermetallbindende Proteine mit Molekularmassen zwischen 6000–7000 D

XVI Abkürzungsverzeichnis

NIES	National Institute for Environmental Studies (Japan)
NMR	Nuklearmagnetische Resonanzspektroskopie
NRCC	National Research Council Canada
OES	optische Emissionsspektrometrie (Synonym zu AES)
PAR	4-(2-Pyridylazo)-resorcin
PEEK	Polyetheretherketon
PHB-Ester	p-Hydroxybenzoesäureester
PMT	Photomultiplier (photomultiplier tube), dient der Signalverstärkung in optischen Detektoren
PND	Alkali-Flammenionisationsdetektor für Phosphor und Stickstoff
PTFE	Polytetrafluorethylen
PTV	temperaturprogrammierbarer Injektor (programmed temperature vaporizer)
Q-ICP-MS	Quadrupol-ICP-MS (niedrigauflösend), kann nur Massenunterschiede im Bereich einer Masseneinheit auflösen
RM	Referenzmaterial
RP	Umkehrphase (reversed phase), hydrophobe langkettige Kohlenstoffketten (C8, C18)
RPC	Umkehrphasenchromatographie
RSD	relative Standardabweichung (relative standard deviation)
SCD	segmented array charge coupled device, spezielle Form des CCD
SDS	Natriumdodecylsulfat (sodium dodecyl sulfate)
SFC	Chromatographie mit überkritischen Fluiden (supercritical fluid chromatography)
SFE	Extraktion mit überkritischen Fluiden (supercritical fluid extraction)
SIM	single ion monitoring, Auswertemodus in der Massenspektrometrie
SIMS	Sekundärionenmassenspektrometrie
SPE	Festphasenextraktion (solid phase extraction)
SRM	Standardreferenzmaterial
TLC	Dünnschichtchromatographie (thin layer chromatography)
TMA	Tetramethylarsonium-Ion
TMAO	Trimethylarsenoxid
TR	zeitaufgelöst (time resolved)
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
UV	ultraviolett, UV-Spektrometrie
UV/Vis	ultraviolett/sichtbar (visible), UV/Vis-Spektrometrie
WHO	Weltgesundheitsorganisation (world health organization)
Zincon	2-[5-(2-Hydroxy-5-sulfophenyl)-3-phenyl-1-formazy]-benzoesäure

1 Einleitung und Übersicht

Zur Beschreibung und Bewertung von Stoffkreisläufen in der unbelebten und in der belebten Umwelt, mit dem Menschen als einem Teil davon, werden zuverlässige Analysenstrategien benötigt. Der Einsatz solcher Strategien darf sich jedoch nicht nur auf die qualitative und quantitative Erfassung von Elementen beschränken, sondern muß auch ihre Bindungsformen berücksichtigen. Die Erkenntnis setzt sich mehr und mehr durch, daß die Kenntnis der Gesamtgehalte z. B. von Schwermetallen nicht ausreicht, um deren Mobilität und Verfügbarkeit sowie die möglichen Effekte dieser Elemente auf biogeochemische Stoffkreisläufe bzw. geologische oder biologische Systeme zu erklären. Das wesentliche Problem stellt dabei die hohe Komplexität realer Matrices dar. Die Anwendung spektroskopischer Methoden allein reicht im allgemeinen nicht aus, um solche Fragestellungen erfolgreich zu lösen. Tabelle 1-1 zeigt an wenigen Beispielen, welche Fragen mit Hilfe der Speziesanalytik beantwortet werden können. Sie macht auch deutlich, daß die Anwendung von Trennmethode unabhängig ist, wenn einzelne Spezies oder bestimmte Gruppen von Spezies nachgewiesen werden sollen.

Tabelle 1-1. Ausgewählte Fragestellungen zur Elementspeziesanalytik von Schwermetallen.

Fragestellung	Matrix	Spezies (Beispiel)	Trennmethode
Mobilität	Sedimente	Fe(II)/Fe(III) Cr(III)/Cr(VI)	Extraktion
Verfügbarkeit	Nahrungsmittel	Protein-Komplexe	HPLC
Stabilität	Wasser	Huminsäure-Komplexe	HPLC
Toxizität	Nahrungsmittel	Hg-anorg./Hg-org.	GC
	Wasser	As-anorg./As-org.	Extraktion
Mobilisierbarkeit	Böden	Chelate	Filtration Extraktion

Nach der Trennung bieten sich prinzipiell zwei Wege zur Bestimmung/Charakterisierung der Spezies an:

- 1) Sammeln von Fraktionen und anschließende Detektion (Off-line-Verfahren).
- 2) Kopplung des Trennmoduls mit einem Detektormodul (On-line-Verfahren).

Beide Wege werden in der Praxis beschritten; ihr Erfolg hängt von der Aufgabenstellung und der vorhandenen apparativen Ausstattung ab. Wenn die nachzuweisenden Spezies stabil sind, kann Weg 1) zu einem sinnvollen Ergebnis führen. Viele Rou-

tineanalysen zu Fragen der Mobilität von Metallen aus Baumaterialien oder Werkstoffen werden deshalb mit dieser verhältnismäßig einfachen Technik durchgeführt.

Die Anwendung von Kopplungstechniken in der Elementspeziesanalytik ist immer dann notwendig, wenn die Spezies nicht stabil sind oder der Zeit- und Personalaufwand für das Off-line-Verfahren zu hoch ist. Kopplungen führen in vergleichsweise kurzer Analysenzeit zu Ergebnissen, da die Detektion direkt am Auslaß des Trennmoduls erfolgt. Im Idealfall liegt das Ergebnis in „Echtzeit“ vor, d. h. wenige Millisekunden nach der Trennung. Das Risiko von Spurenverlusten und -kontaminationen kann wegen des Arbeitens in einem quasi-geschlossenen System besser minimiert werden als bei den entsprechenden Off-line-Verfahren. Dadurch wird die Reproduzierbarkeit des Verfahrens verbessert. Besonders vielversprechend scheint die kombinierte Anwendung von Trenn- und Detektionsmethoden auf die Analytik besonders empfindlicher Elementspezies zu sein. Als geeignete Trennmethode haben sich sowohl gas- und flüssigkeitschromatographische als auch kapillarelektrophoretische Verfahren erwiesen. Als Detektionsmethoden sind sowohl atomspektrometrische Methoden als auch kontinuierliche photo- und fluorimetrische Durchflußverfahren zu nennen. Zur Untersuchung von Metallbindungspartnern bzw. von Gesamtspezies sind schwingungsspektroskopische und massenspektroskopische Detektoren interessant, die immer mehr Bedeutung auch in Arbeiten zur Speziesanalytik finden.

2 Elementspeziesanalytik (ESA)

Die herkömmliche Analytik läßt nur Aussagen über die in einer Probe vorhandenen Gesamtgehalte von Elementen auf der einen und von organischen Verbindungen auf der anderen Seite zu. Auf eine Differenzierung der Gesamtgehalte in einzelne Spezies wird dabei bewußt verzichtet, weil eine weitgehende Uniformierung der Spezies Voraussetzung für eine erfolgreiche Analytik von Gesamtgehalten ist.

Erst die Verknüpfung der anorganischen und der organischen Analytik, einschließlich der Verwendung von Trennoperationen, ermöglicht detailliertere Aussagen über das tatsächliche Vorliegen von Elementen in ihrer Matrix. Unter Spezies sind sämtliche physikalischen und chemischen Zustands- und Bindungsformen eines Elements zu verstehen, die in Abhängigkeit der Umgebungsbedingungen auftreten können.

Die Elementspeziesanalytik (ESA) erlaubt, wenn sie konsequent angewendet wird, mehr als nur die Unterscheidung der Oxidationsstufen eines Elements oder die Bestimmung bereits bekannter Elementspezies. In vielen Fällen können mit Hilfe der ESA Eigenschaften auch (noch) unbekannter Spezies oder sogar von Speziesgruppen untersucht werden. Der entscheidende Vorteil gegenüber anderen Untersuchungsverfahren ist dabei, daß auf zeitaufwendige Schritte der Probenaufbereitung durch Fraktionierung oder Reinigung (Isolierung) einzelner Substanzen verzichtet werden kann. Einige ESA-Verfahren erlauben bereits erste Aussagen über das Verhalten einzelner Metalle in ihrer natürlichen Umgebung, so z. B. über dessen Mobilität in einem Umweltkompartiment. Auch für biologische Matrices sind solche Verfahren in Ansätzen bekannt, hier sind vor allem die Verfügbarkeit (z. B. „Bio“-Verfügbarkeit) und die Toxizität von Elementspezies interessante Parameter.

Dennoch sollte die ESA nicht, wie vereinzelt geschehen, als „neue Analytik“ bezeichnet werden. Die Speziesanalytik ist, so wie wir sie heute kennen, lediglich die konsequente Weiterentwicklung konventioneller Verfahren und die Verknüpfung dieser Verfahren zu einer Analysenstrategie mit dem Ziel, so viele Informationen wie möglich über die Spezies und ihre potentiellen Effekte zu erhalten. Dabei entsprechen die analytischen Werkzeuge in vielen Fällen denen der konventionellen Analytik. Auch wenn anzunehmen ist, daß die ESA in Zukunft einen erheblich höheren Stellenwert im Bereich der Analytischen Chemie einnehmen wird, ist es für ihre allgemeine Akzeptanz und zu erwartende Diskussionen günstiger, sie nicht als „high sophisticated“ einzustufen, sondern ihr eine realistische Bewertung zukommen zu lassen.

Für die auf diesem Gebiet tätigen Analytiker ist es unerläßlich, sich kontinuierlich über die neuesten Entwicklungen zu informieren. Die Zahl der Publikationen ist in

den letzten Jahren exponentiell gestiegen und neue Untersuchungsstrategien kommen laufend hinzu. Durch das sich ausbreitende Interesse an der ESA, das auch durch die öffentliche Diskussion beschleunigt wird, werden in Kürze viele neue Methoden und Strategien hinzukommen, über die bisher allenfalls nachgedacht wird. Der im Vergleich zur konventionellen Analytik große Aufwand für einzelne Analysen wird relativiert durch den höheren Informationsgehalt der Ergebnisse. Neue Aufgaben für die ESA werden aus dem Verständnis immer komplexerer Vorgänge in der belebten und unbelebten Umwelt verbunden mit gezielten Fragestellungen hervorgehen.

Mehrere Definitionen sind in der Vergangenheit verwendet worden, um Elementspeziesanalytik von der herkömmlichen, nicht differenzierenden Analytik der Gesamtgehalte der Elemente abzugrenzen. Die wichtigsten dieser Definitionen sollen in Abschnitt 2.2 gegeben werden. Zunächst soll jedoch die Frage beantwortet werden, warum überhaupt eine Analytik benötigt wird, die die Elemente nach ihren Spezies differenziert. Spezies sollen dabei zunächst ähnlich allgemein wie in der Biologie, aus der diese Bezeichnung stammt, als unterschiedliche (Erscheinungs-)Formen betrachtet werden.

2.1 Warum Elementspeziesanalytik?

Die ESA umfaßt sowohl die Differenzierung eines Elements nach seinen unterschiedlichen Oxidationsstufen als auch die Untersuchung der Art der Bindung eines Elements an anorganische oder organische Bindungspartner. Es ist schon vergleichsweise früh gelungen, einfache Elementspezies nachzuweisen, z. B. in Form der unterschiedlichen Oxidationsstufen der Elemente Eisen, Chrom und Arsen, in Form von niedermolekularen Spezies der Elemente Blei, Arsen, Zinn und Quecksilber (z. B. Alkylverbindungen) oder als höhermolekulare Spezies der Metalle Eisen, Cadmium und Zink (z. B. Metalloporphyrine, Metalloproteine, Metallothioneine). Allerdings sind hier häufig jeweils nur sehr punktuelle Untersuchungen mit ausgewählten Fragestellungen durchgeführt worden, ohne auf eine breitere Anwendbarkeit der angewandten Verfahren zu achten.

Der Gebrauch des Terms „Speciation“ soll hier weitgehend vermieden werden, da er insgesamt drei Bedeutungen hat, die leider in unterschiedlichen Zusammenhängen benutzt werden und deshalb leicht mißverstanden werden können [2.5, 2.10]:

- a) Bezeichnung für die Zusammensetzung der Elementbindungsformen in einer Matrix bzw. die vollständige Aufklärung eines Analytmoleküls, in dem ein bestimmtes „Ziel“-Element enthalten ist (statischer Speciation-Begriff);
- b) Wechsel der Bindungsformen in einer Matrix (dynamischer Speciation-Begriff);

- c) Vorgang der Bestimmung und Charakterisierung von Bindungsformen in einer Matrix (analytischer Speciation-Begriff).

Wird in dieser Monographie der Begriff „Speciation“ verwendet, ist er als analytischer Prozeß (Definition c) zu verstehen. Überwiegend wird jedoch die Bezeichnung Elementspeziesanalytik (ESA) gebraucht.

Die wichtigsten Arten von Elementspezies sollen auf den nächsten Seiten kurz beschrieben werden. In Tabelle 2-1 sind einige Beispiele der wichtigsten Speziesarten aus Literaturquellen angegeben. Über Einzelheiten zur Speziesanalytik informieren einige interessante Monographien und Reviewartikel [2.3, 2.5, 2.9, 2.11, 2.18, 2.19, 2.35].

Tabelle 2-1. Literaturbeispiele zur Elementspeziesanalytik.

Spezies	Element	Matrix	Literatur
Oxidationsstufen	Fe	Wein	[2.1]
	Cr	Böden	[2.12, 2.31]
Niedermolekulare Spezies	As	Biomatrices	[2.2, 2.25]
	Se	Blut	[2.8]
	Sb	Sedimente, Böden	[2.7]
	Hg	Biomatrices	[2.21]
		Sedimente	[2.38]
Höhermolekulare Spezies	Pb	Urin	[2.6]
	Cd, Zn	Leber	[2.14]
	Cd	Pilze	[2.22]
	Cu	Lebensmittel, Blut	[2.32]
	Be	Blut	[2.33]

2.1.1 Oxidationsstufen-Spezies

Die einfachste und vielleicht bekannteste Form der ESA ist die Differenzierung zwischen den verschiedenen Oxidationsstufen eines Elements, die in Abhängigkeit von den Umgebungsbedingungen (z. B. pH, Redoxverhältnisse, Temperatur, Konzentration) in unterschiedlichen Verhältnissen auftreten. Die Unterscheidung zwischen Eisen(II) und Eisen(III) ist ein Paradebeispiel für diese Art der Speziesanalytik. Man weiß heute, daß nur lösliche Fe(II)-Verbindungen gegen Eisenmangel beim Menschen wirken, dies findet bei der medikamentösen Applikation Berücksichtigung. Das Redoxpaar Fe(II)/Fe(III) hat aber auch eine wesentliche Bedeutung in Böden und Wässern, so daß auch hier seine Unterscheidung wünschenswert ist. Beim Chrom ist eine Differenzierung zwischen den am häufigsten auftretenden Oxidationsstufen +3 und +6 sogar von toxikologischer Relevanz. Während Cr(III) zu den essentiellen Spurenstoffen zählt, die dem Körper zugeführt werden müssen, gilt Cr(VI) auch in geringen

Konzentrationen als toxisch. Diese und weitere Beispiele sind in Kapitel 4 ausführlich beschrieben.

2.1.2 Niedermolekulare Spezies

Die wichtigsten niedermolekularen Spezies in Umweltmatrices und biologischen Proben sind die Alkylverbindungen der Elemente Blei, Arsen, Zinn und Quecksilber. Die Eigenschaften eines Metalls oder Metalloids können sich durch eine oder mehrere Alkylgruppen gravierend ändern. Die Löslichkeit und die Verfügbarkeit der Spezies ändern sich beim Übergang vom ionogenen in den alkylierten Zustand drastisch, da die Spezies sich in ihrer Hydrophilie ändern. Gleichzeitig ändert sich auch die Toxizität der Spezies. Interessanterweise sind jedoch nicht alle alkylierten Spezies toxischer als die ionogenen. Während Quecksilber als hydratisiertes Hg(II)-Ion relativ untoxisch ist, ist die Toxizität von Methyl-Hg sehr hoch (s. Minamata-Krankheit). Für Arsen trifft jedoch das Gegenteil zu: Monomethylarsonsäure (MMAA) ist weniger toxisch als das ionogene As(III) oder As(V). Dem Arsenobetain, das hauptsächlich in Fischen vorkommt, wird sogar praktisch keine Toxizität mehr zugeschrieben.

2.1.3 Höhermolekulare Spezies

Metalloporphyrine, Metalloproteine und Metallothioneine sind Beispiele für höhermolekulare Bindungsformen, die ganz andere Eigenschaften haben als die „freien“ Metallionen. In der Literatur sind auch zu diesem Bereich viele Untersuchungen beschrieben worden, die aber weitgehend nur die stabilen Formen berücksichtigen. Am bekanntesten dürften die Metallothioneine sein, das sind cysteinreiche Polypeptide im Molekulargewichtsbereich zwischen einigen 1.000 g/mol und 10.000 g/mol, die wegen ihres hohen Schwefelgehaltes in der Lage sind, in vivo Cadmium, Quecksilber und andere Schwermetalle zu binden und damit eine „Entgiftungsfunktion“ zu übernehmen. Auch viele Enzyme, die Metalle als aktive Bindungszentren enthalten, gehören in diese Speziesgruppe.

Weniger gut untersucht sind die Metalloproteine, deren Existenz zwar seit langem bekannt ist, die aber bisher nur in Form ihrer Verteilungsmuster in Lebensmitteln oder Blutproben als Objekte der Speziesanalytik in Erscheinung getreten sind. Von dieser Gruppe von Elementspezies sind weitere Erkenntnisse über den Einfluß der Stabilität der Metallbindungen auf ihre Verfügbarkeit bzw. ihre Toxizität zu erwarten. Das Interesse gilt hier also nicht nur den stabilen Komplexen, sondern auch den labilen Zustandsformen, die durch Ligandenaustauschreaktionen in andere Formen umgewandelt werden können.