ARCHIVIERUNGSEXEMPLAR

UFZ-Bericht

UFZ-Bericht • UFZ-Bericht • UFZ-Bericht • UFZ-Bericht

UFZ - Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH

Nr. 5/1999 Dissertation

Arsen-Speziationsanalytik mit Ionenchromatographie und Kapillarelektrophorese in Kopplung mit elementspezifischer Detektion

Dirk Schlegel

ISSN 0948-9452

Arsen-Speziationsanalytik mit Ionenchromatographie und Kapillarelektrophorese in Kopplung mit elementspezifischer Detektion

Dirk Schlegel

Archiv

Universität Leipzig
UFZ-Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH

Leipzig 1998

Arsen-Speziationsanalytik mit Ionenchromatographie und Kapillarelektrophorese in Kopplung mit elementspezifischer Detektion

Von der Fakultät für Chemie und Mineralogie

der Universität Leipzig

genehmigte

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades

DOCTOR RERUM NATURALIUM

(Dr. rer. nat.)

vorgelegt

von Diplom-Chemiker Dirk Schlegel

geboren am 01. 02. 1968 in Jena

Angenommen aufgrund der Gutachten von

Prof. Dr. habil. G. Werner, Leipzig

Dr. habil. J. Mattusch, Leipzig

Prof. Dr. habil. G. Schwedt, Clausthal-Zellerfeld

Tag der Verleihung 18.12.1998

Die vorliegende Arbeit wurde am Umweltforschungszentrum Leipzig/Halle in der Zeit von Oktober 1993 bis Juli 1997 unter der Betreuung von Herrn Dr. habil. J. Mattusch und Herrn Dr. R. Wennrich (UFZ, Sektion Analytik) sowie Herrn Professor Dr. habil. rer. nat. G. Werner (Universität Leipzig, Institut für Analytische Chemie der Fakultät für Chemie und Mineralogie) angefertigt.

Bibliographische Beschreibung

Dirk Schlegel

Arsen-Speziationsanalytik mit Ionenchromatographie und Kapillarelektrophorese in Kopplung mit elementspezifischer Detektion

Universität Leipzig & Umweltforschungszentrum Leipzig/Halle, Diss.
152 S., 218 Lit., 61 Abb., 32 Tab., Anhang.

Referat:

Die Arbeit beschäftigt sich mit der Erarbeitung von analytischen Verfahren zur nachweisstarken Bestimmung von Spezies des Elementes Arsen. Dazu wurden Kopplungsmethoden von Ionenchromatographie und ICP-Atomemissions- bzw. ICP-Massenspektrometrie entwickelt. Zur effektiven Analytüberführung in das Plasma des Spektrometers wurde in der Kopplung IC – ICP-AES die Hydridtechnik in Kombination mit einem Membran-Gas/Flüssig-Separator eingesetzt. Durch Einsatz von Cystein konnte eine verbesserte Effektivität der Reaktion und des Transfers erreicht werden. Ein Kopplungsverfahren IC – ICP-MS wurde unter Einsatz eines Cross-flow-Zerstäubers realisiert. Optimierungen der chromatographischen Trennung wurden an den Ionenaustauschersäulen IonPac AS7 und AS4A-SC vorgenommen. Dieses Verfahren erreicht Nachweisgrenzen von 0,1 - 0,3 ng/mL (As) für die untersuchten Spezies und ist damit sehr gut für spurenanalytische Untersuchungen in Umweltproben geeignet. Es wurde zur As-Speziation im Bereich von Reststoffablagerungen der Zinnerzgewinnung eingesetzt.
Als weitere Trennmethode für As-Spezies wurde die Kapillarzonenelektrophorese angewendet. Durch Einsatz eines Leitfähigkeitsdetektors konnte das Nachweisvermögen gegenüber herkömmlicher photometrischer Detektion deutlich, um mindestens eine Zehnerpotenz, erhöht werden.
Mit dem Ziel, eine elementspezifische Detektion für CZE zu ermöglichen, wurde ein Kopplungsverfahren von Kapillarelektrophorese mit ICP-MS-Detektion entwickelt. Dabei wurden umfangreiche Untersuchungen zur Konstruktion des Kopplungsinterface und zur Optimierung des Trennprozesses vorgenommen und die Verknüpfung beider Techniken erfolgreich gelöst. Das erstellte Verfahren zeichnet sich durch Nachweisgrenzen von 8 - 11 ng/mL aus und erschließt damit für die CZE neue Einsatzgebiete.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
	Abkürzungsverzeichnis	
1.	Einleitung und Aufgabenstellung	1
2.	Einführung	3
2.1.	Speziationsanalytik	3
2.2.	Chemie und Toxikologie des Arsens und seiner Verbindungen	4
2.2.1.	Allgemeines	4
2.2.2.	Geogenes Vorkommen und anthropogene Quellen	4
2.2.3.	Chemisches Verhalten	5
2.2.4.	Bindungsformen und Metabolisierungszyklus	7
2.2.5.	Toxizität und biologische Bedeutung	8
2.3.	Chemie und Toxikologie des Selens	10
3.	Experimentelle Grundlagen sowie Möglichkeiten zur Speziationsanalytik	11
3.1.	Grundlagen analytischer Methoden	11
3.1.1.	Ionenchromatographie	11
3.1.2.	Kapillarelektrophorese	12
3.1.2.1.	Entwicklung und Einsatzgebiete	12
3.1.2.2.	Prinzip	12
3.1.2.3.	Apparativer Aufbau und Detektion	14
3.1.2.4.	Bewertung	15
3.1.3.	ICP-Atomemissionsspektrometrie und ICP-Massenspektrometrie	16
3.1.3.1.	Das induktiv gekoppelte Plasma (ICP)	16
3.1.3.2.	Emissionsspektrometrische Detektion (ICP-AES)	17
3.1.3.3.	Massenspektrometrische Detektion (ICP-MS)	17
3.2.	Methodische Entwicklungen zur Speziationsanalytik in wässrigen Systemen	19
3.2.1.	Einzelmethoden	19
3.2.2.	Kopplungstechniken von Chromatographie und Atomspektrometrie	21
3.2.3.	Kapillarzonenelektrophorese zur Speziation und Ansätze zu Kopplungen	21

4. Entwicklung und Optimierung von Kopplungs-Methoden mit Ionenchromatographie 25

4.1. Apparative Voraussetzungen und Voruntersuchungen 25

4.2. Experimentelle Grundlagen 27

4.3. Kopplung von Ionenchromatographie mit ICP-Atomemissionsspektrometrie unter Nutzung der Hydridtechnik 28

4.3.1. Entwicklung und Testung eines Membran-Gas/Flüssig-Separators als Kopplungsmodul 28

4.3.2. Optimierung der Reaktionsbedingungen zur Hydridbildung 29

4.3.3. Diskussion und Bewertung des Verfahrens IC – HG-ICP-AES 33

4.4. Kopplung von Ionenchromatographie mit Plasma-Massenspektrometrie .. 35

4.4.1. Problemstellung 35

4.4.2. Aufbau der Kopplung und Auswahl des Trennsystems 35

4.4.3. Chromatographische Trennung mit der Trennsäule IonPac AS7 37

4.4.3.1. Optimierung der Trennung im sauren Medium 37

4.4.3.2. Optimierung der Trennung im alkalischen Medium 40

4.4.3.3. Bewertung der Leistungsfähigkeit 43

4.4.4. Chromatographische Trennung mit der Trennsäule IonPac AS4A-SC 44

4.4.5. Untersuchung von Matrixeinflüssen 46

4.4.5.1. $ArCl^+$-Interferenz 46

4.4.5.2. Einfluß der Eluentmatrix (Natrium) 47

4.4.6. Applikationsbeispiele 49

4.5. Zusammenfassung und Bewertung der Verfahren der Kopplung von chromatographischer Trennung mit Atomemissions- und Massenspektrometrie ... 50

5. Entwicklung und Optimierung von Speziations-Methoden für Arsen- und Selenspezies mit Kapillarzonenelektrophorese 53

5.1. Einführung 53

5.2. Experimentelle Grundlagen 53

5.3. Kapillarelektrophoretische Trennung mit UV- und Leitfähigkeitsdetektion 55

5.3.1 Indirekte photometrische Detektion 55

5.3.2. Direkte photometrische Detektion 56

5.3.3. Leitfähigkeitsdetektion 60

5.3.3.1. Optimierung und Kalibration 60

5.3.3.2. Applikationsbeispiele 65

5.3.4. Diskussion und Vergleich der Verfahren mit UV- und Leitfähigkeitsdetektion 67

5.4. Elementspezifische Detektion durch Kopplung von CZE mit ICP-MS 69
5.4.1. Ziel und Problematik 69
5.4.2. Wege zur Kopplung und Aufbau des Kopplungsinterface 71
5.4.3. Realisierung des Hochspannungsfeldes 72
5.4.3.1. Kontaktierung über Ionenaustauschermembran-Brücke 72
5.4.3.2. Kontaktierung über den Carrier-Fluß 74
5.4.4. Zerstäubungstechniken 75
5.4.4.1. Auswahl der Carrier-Lösung 75
5.4.4.2. Cross-flow Zerstäuber 76
5.4.4.3. Konzentrischer Mikrozerstäuber 77
5.4.5. Einbau eines Mehrwegeventils 78
5.4.6. Optimierung von ICP-MS - Parametern und Datenaufnahme 80
5.4.6.1. Auswahl der Detektions-Massen 80
5.4.6.2. Einfluß der Plasma-Leistung auf die Signalintensität 81
5.4.6.3. Zerstäubergasstom für Aerosolbildung und Transport 82
5.4.6.4. Beeinflussung des Detektionssystems durch die CZE-Hochspannung 83
5.4.6.5. Integrationsparameter und Datenaufnahme 83
5.4.7. Optimierungen des Trennprozesses in der Kopplung 85
5.4.7.1. Carrier-Förderrate und Druckausgleich 85
5.4.7.2. Elektrolyt 87
5.4.7.3. pH-Wert 89
5.4.7.4. Elektrolytadditive 91
5.4.8. Charakterisierung des analytischen Verfahrens 94
5.4.9. Applikationsbeispiele 96
5.4.10. Leistungsfähigkeit des Kopplungsverfahrens CZE – ICP-MS 99

6. Untersuchungen zur Speziations-Analytik von Arsen und zu Probenstabilisierungen an der Industriellen Absetzanlage Bielatal 103
6.1. Beschreibung der Industriellen Absetzanlage Bielatal und Allgemeine Untersuchungsstrategien 103
6.2. Experimente zur Probenstabilisierung an Wasserproben der Absetzanlage . 105
6.2.1. Varianten zur Probenstabilisierung 105
6.2.2. Filtration 107
6.2.3. Probennahme unter Luftabschluß 109
6.2.4. pH-Wert - Einfluß 110

6.2.5. Komplexierung 112
6.2.6. Zusammenfassung der optimierten Probennahmebedingungen 115
6.3. Analytische Ergebnisse der Wasseruntersuchungen 115
6.3.1. Gesamtkonzentration und Jahresbilanz der Arsen-Elution 115
6.3.2. Speziationsanalytik für Arsen in Sickerwässern 117
6.3.3. Speziationsanalytik für Arsen in Porenwässern des Feststoffes 121
6.4. Zusammenfassende Diskussion 122

7. Zusammenfassung 125

8. Literatur 131

9. Anhang 141
1. Spezies von Arsen und Selen – Struktur, Nomenklatur, Stoffkonstanten .. 141
2. Stoffkonstanten 142
3. Meßwerte 143

ZUSAMMENFASSUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN ERGEBNISSE ZUR DISSERTATION: 145

"Arsen-Speziationsanalytik mit Ionenchromatographie und Kapillarelektrophorese in Kopplung mit elementspezifischer Detektion"

Verzeichnis verwendeter Abkürzungen und Symbole

AAS - Atomabsorptionsspektroskopie
pAPAs - p-Aminophenylarsonsäure, p-Aminophenylarsonat
oAPAs - o- Aminophenylarsonsäure, o-Aminophenylarsonat
AES - Atomemissionsspektroskopie
As - Arsen
As(III) - Arsenige Säure und ihre Salze (Arsenit)
As(V) - Arsensäure und ihre Salze (Arsenat)
AsBet - Arsenobetain
AsChol - Arsenocholin
AUX - Argon-Gasströmung für ICP, Hilfsgas
BzSe - Benzolseleninsäure, rsp. Anion
CAR Carrier, Transportflüssigkeitsstrom
CHES - Cyclohexylaminoethansulfonsäure
CTAB - Cetyltrimethylammoniumbromid
CZE - Kapillarzonenelektrophorese (capillary zone electrophoresis)
DETA - Bis-(2-aminoethyl)-amin
DMA - Dimethylarsinsäure, Dimethylarsinat
EOF - Elektroosmotischer Fluß
FI - Fließinjektion
f.s. - fused silica
GLP - Good Laboratory Practice
GLS - Gas/Flüssig-Separator (gas/liquid)
HEC - Hydroxyethylcellulose
HG - Hydridbildung (hydride generation)
HPLC - Hochleistungsflüssigchromatographie
HV - Hochspannung (high voltage)
IAA - Industrielle Absetzanlage
I.D. - Innendurchmesser
IC - Ionenchromatographie
ICP - Induktiv gekoppeltes Plasma
L - Liter
LC - Flüssigchromatographie
LF - Leitfähigkeit (-smessung)
$\mu_{[Index]}$ - Ionenmobilität
MCN - Mikrokonzentrischer Zerstäuber
MeOH - Methanol
MMA - Monomethylarsonsäure, Monomethylarsonat
MS - Massenspektrometrie
NEB - Argon-Gasströmung für ICP, Zerstäubergas
NWG - Nachweisgrenze
p - Druck
p_{CZE} - Druck, auf Elektrolytreservoir und Trennkapillare der CZE-Apparatur (injektionsseitig) einwirkend
PE - Polyethylen
pH - negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenaktivität
pK - negativer dekad. Logarithmus der Gleichgewichtskonstante K
PhAs - Phenylarsonsäure, Phenylarsonat
PLA - Argon-Gasströmung für ICP, Plasmagas
PTFE - Poly(tetrafluoroethylen)
RFA - Röntgenfluoreszenzanalytik
R_S - Auflösung
RSD Relative Standardabweichung
SD - Standardabweichung
Se(IV) - Selenige Säure und ihre Salze (Selenit)
Se(VI) - Selensäure und ihre Salze (Selenat)
SFC - Superfluid chromatography
SMWK - Sächsisches Staatsministerium für Wissenschaft und Kunst
SNR - Signal/Rausch-Verhältnis
SPE - Festphasenextraktion
SR - Datenaufzeichnungsrate, (sampling rate)
T - Temperatur [K]
t_d - Integrationszeit, dwell time
TM - Trockenmasse
TX-RFA - Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalytik
U - Spannung
UV - Ultraviolett

1. Einleitung und Aufgabenstellung

Die zunehmende Belastung der Umwelt durch Schadstoffe ist seit längerer Zeit Gegenstand intensiver Forschung. Viele Stoffe besitzen schon in sehr geringen Konzentrationen toxische Eigenschaften, so daß unter dem Aspekt der Vorsorge die gesetzliche Festlegung von Grenzwerten für umwelt- und gesundheitsrelevante Substanzen in vielen Bereichen erfolgt ist [1,2]. Eine Voraussetzung dafür ist die zuverlässige und genaue Konzentrationsbestimmung durch analytische Verfahren im Spuren- und Ultraspurenbereich.

In neuen Entwicklungen der heutigen Umweltanalytik kristallisieren sich dabei zwei Schwerpunkte heraus. Sie betreffen zum einen die Erhöhung der *Nachweisstärke* analytischer Verfahren, um noch niedrigere Stoffkonzentrationen verläßlich bestimmen zu können, sowie zum anderen die Etablierung der *Speziationsanalytik* als unverzichtbare Grundlage für die Beurteilung von (Schad-)Stoffkreisläufen und Gefährdungspotentialen.

Bei vielen Problemstellungen reicht die (gesetzlich verankerte) Fragestellung nach dem Gesamtgehalt eines Elementes in einem Umweltkompartiment jedoch nicht aus, um seine Wirkungen sicher zu beurteilen. Vielmehr sind Informationen zu den jeweiligen Bindungsformen und Oxidationszuständen wichtig, da die chemische Form das Verhalten des Elementes stark beeinflussen kann. Erst dann wird es möglich, Aussagen über Toxizität, Reaktivität, Löslichkeitsverhalten, (Bio-)Verfügbarkeit oder Akkumulationstendenz zu treffen. Diese Unterscheidung ist Gegenstand der analytischen Elementspeziation.

Zu den Elementen, für die dies in besonderem Maße zutrifft, zählen beispielsweise Quecksilber, Arsen, Eisen, Selen, Blei und Zinn. Insbesondere für die Elemente Arsen und Selen ist die Unterscheidung verschiedener Bindungsformen und Oxidationszustände von großem Interesse, da deren Verbindungen sowohl toxische als auch essentielle Wirkungen [2] bei Organismen haben können und insbesondere die Spezies von Arsen sich in ihrer Toxizität stark unterscheiden. Arsen und Selen werden in erheblichem Maße durch anthropogene und geogene Vorgänge in der Umwelt freigesetzt. Dabei besitzt Arsen aufgrund seiner vielseitigen chemischen Eigenschaften eine hohe Mobilität [3].

Die wichtigsten Spezies dieser Elemente, die in biologischen und Umwelt-Proben angetroffen werden, sind die anorganischen Verbindungen Arsenit As(III), Arsenat As(V), Selenit Se(IV) und Selenat Se(VI) sowie methylierte Formen, zu denen auch Arsenobetain zählt. Durch Immission auf Böden und Pflanzen aufgebracht, können unter geeigneten Umweltbedingungen eine Reihe von Reaktionen wie Redoxreaktionen und Methylierungen stattfinden. Dabei können aus weniger toxischen Verbindungen reaktive und möglicherweise hochtoxische Verbindungen entstehen oder umgekehrt solche abgebaut werden. Durch diese Prozesse ist ihre weitere Verteilung sowie Eintritt in die menschliche Nahrungskette möglich.

Um unterschiedliche Spezies eines Elementes analytisch zu bestimmen, haben sich in den letzten Jahren Kopplungen mehrerer analytischer Methoden immer stärker etabliert. Diese müssen jedoch individuell auf die entsprechende Aufgabenstellung abgestimmt sein.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollen Beiträge zur Speziationsanalytik von Arsen und Selen geliefert werden. Es sollen Analysenverfahren entwickelt werden, die eine Speziation, also Unterscheidung unterschiedlicher Verbindungen eines Elementes, und ihre nachweisstarke Detektion ermöglichen. Zur Optimierung dieser Verfahren sollen unterschiedliche Bedingungen und Detektionssysteme getestet werden. Die Applikation der Verfahren soll zur Charakteristik des Verhaltens von Arsen in aquatischen und terrestrischen Systemen beitragen.
Insbesondere bestand die Aufgabe, Kopplungen der Trennverfahren Ionenchromatographie sowie Kapillarzonenelektrophorese mit den elementspezifischen Detektionsmethoden Plasma-Atomemissions- und Massenspektrometrie (ICP-AES, ICP-MS) zu entwickeln. Neben der Ionenchromatographie soll damit auch die Kapillarzonenelektrophorese als Trennverfahren für die Spurenanalytik nutzbar gemacht werden, indem ihr Nachweisvermögen erhöht wird. Das kann durch die Kopplung mit einem ICP-Massenspektrometer als für die Kapillarelektrophorese neuartigem Detektor realisiert werden.

Im Raum der Länder Sachsen und Sachsen-Anhalt wurde in der Vergangenheit umfangreich Erzbergbau betrieben, dessen Abfallprodukte auf Halden oder in Spüldeponien abgelagert wurden. Eine auf diese Weise anthropogen veränderte Landschaft kann heute ein hohes Gefährdungspotential darstellen. So wurden im Tal der Kleinen Biela im Osterzgebirge Flotationsrückstände aus der Zinnerz-Aufbereitung in Form einer solchen Spüldeponie abgelagert, die als Referenzstandort für die Untersuchungen diente. Die Rückstände sind durch einen hohen Gehalt an Arsen gekennzeichnet, welches über Sickerwässer in die Umgebung freigesetzt wird.
Zur genaueren Charakterisierung des Verhaltens von Arsen im Bereich dieser Abraumhalde und zur Speziesbestimmung sollen die entwickelten Analysenverfahren im Rahmen eines Projektes des Sächsischen Staatsministeriums für Wissenschaft und Kunst zur "geochemischen und hydrogeologischen Zustandseinschätzung des Tailings Bielatal" [4] eingesetzt werden.
Mit der Entwicklung leistungsfähiger Verfahren zur Spezies-Bestimmung sollen in dieser Arbeit methodische Voraussetzungen geschaffen werden, potentielle Umweltwirkungen des Arsens, das beispielsweise im Bielatal als Folge von bergbaulichen Aktivitäten in Böden und Wässer eingetragen wird, besser einschätzen zu können.

Teile der vorliegenden Dissertation wurden bereits vorgestellt und publiziert (S. 139).

2. Einführung

2.1. Speziationsanalytik

In der herkömmlichen Analytik steht die Ermittlung von Gesamtgehalten von Elementen in den unterschiedlichsten Matrizes im Vordergrund der Untersuchungen. Dabei werden unterschiedliche Formen eines Elementes bewußt nicht unterschieden. Die Gesamtkonzentration wird auch als Bewertungskriterium für verschiedenartigste Fragestellungen und gesetzliche Regelungen herangezogen. Zur Klärung von Fragen der Mobilität, Toxizität, der biologischen Verfügbarkeit und allgemein des Verhaltens der Elemente in der Umwelt ist jedoch eine Differenzierung zwischen verschiedenen chemischen Bindungsformen eines Elementes in der jeweiligen Matrix notwendig. Diese werden auch als *Spezies* bezeichnet. Der Begriff Spezies ist sehr stark an den Problemkreis der anorganischen Analytik gekoppelt und wird vorwiegend zur Beschreibung des Bindungszustandes von Metallen, Halbmetallen und nur sehr eingeschränkt von Nichtmetallen eingesetzt.

Analytische Verfahren, die über die Bestimung der Gesamtkonzentration eines Elementes hinaus auch zwischen seinen verschiedenen Formen unterscheiden, werden unter dem Begriff Elementspeziesanalytik oder *Speziationsanalytik* zusammengefaßt [5,6]. Dabei werden von diesen Verfahren sowohl unterschiedliche Oxidationsstufen eines Elementes als auch seine Molekülstruktur und mögliche Metabolisierungen untersucht (Elementspeziation).

Beispiele für die Unterscheidung *chemischer Spezies* sind verschiedene Oxidationsstufen eines Elementes (Paare Fe(II)/Fe(III), As(III)/As(V) und Cr(III)/Cr(VI)) oder niedermolekulare Alkylverbindungen von Metallen wie Methyl-Hg-, Butyl-Sn- oder Methyl-As-Verbindungen.

Abzugrenzen von der Elementspeziation ist eine Herangehensweise, welche Verbindungen untersucht, die sich in physikalischen Bindungen wie Adsorption an Oberflächen des sie umgebenden Materials oder Inklusion in feste oder flüssige Strukturen unterscheiden [6]; auch dadurch können sich bestimmte Eigenschaften der betroffenen Elemente drastisch ändern. Sie ist bedeutsam bei der Abschätzung der Mobilität von Schwermetallen in belasteten Feststoffen [7]. In dieser Arbeit wird ausschließlich die oben beschriebene analytische Elementspeziation behandelt.

Eine Vielzahl von Analysenprinzipien kam in der Vergangenheit für speziationsanalytische Untersuchungen zur Anwendung (Kap. 3.), wobei spektroskopische Methoden allein im allgemeinen nicht ausreichten, diese Problemstellungen erfolgreich zu lösen. Erst der in jüngerer Zeit beschrittene Weg der Verbindung von chromatographischen Trennverfahren mit empfindlicher spektroskopischer Detektion eröffnet die Möglichkeit, Stoffkreisläufe in der Umwelt, das Verhalten von Element-Spezies und tatsächliche Gefährdungspotentiale umfassend zu erkennen. Entscheidende Vorteile gegenüber anderen Untersuchungsverfahren sind der hohe Informationsgehalt und eine bessere Richtigkeit durch Verzicht auf zeitaufwendige Schritte zur Fraktionierung oder Reinigung einzelner Substanzen.

Die Speziationsanalytik ist gerade für zahlreiche Spurenelemente wichtig, die in Abhängigkeit von der Art der Verbindung und ihrer Oxidationsstufe in kleinsten Konzentrationen biologi-

sche Vorgänge stimulieren oder hemmen, toxisch wirken oder essentiell sein können [2]. Bekannte Beispiele sind Verbindungen von Selen, Arsen, Blei, Chrom und Quecksilber. Letzteres zeigt mit der besonderen Toxizität von Organoquecksilber-Verbindungen ein zu Arsenverbindungen (s. Kap. 2.2.5.) umgekehrtes Verhalten.
Diese Dissertation befaßt sich hauptsächlich mit Spezies des Elementes Arsen. In einer Reihe von Untersuchungen werden zusätzlich Spezies des Elementes Selen wegen der Ähnlichkeiten im chemischen Verhalten und dem Vorkommen in der Umwelt einbezogen, woraus auch der Umfang der nachfolgenden Darstellung für beide Elemente abgeleitet ist.

2.2. Chemie und Toxikologie des Arsens und seiner Verbindungen

2.2.1. Allgemeines

Arsen ist ein weit verbreitetes Spurenelement. Arsenhaltige Verbindungen waren bereits lange vor unserer Zeitrechnung bekannt. Im Mittelalter wurden sie von Heilkundigen gegen Asthma, Blutarmut und Hautkrankheiten eingesetzt, dienten jedoch auch Giftmischern [8]. Arsensulfide wurden von den Alchimisten eingehend untersucht [9]. In elementarer Form wurde Arsen vermutlich von Albertus Magnus um 1250 erstmals dargestellt. Das dreiwertige Oxid ist unter dem Namen Arsenik bekannt und als Synonym für Gift in die Geschichte eingegangen. Erst nachdem Marsh 1836 das nach ihm benannte Verfahren [10] entwickelte, wurde ein sehr empfindlicher Nachweis von Arsen auch in Blut- und Gewebeproben ermöglicht und die entsprechende Anwendung seltener. 1910 begründete Paul Ehrlich die Chemotherapie mit dem Medikament Salvarsan, einer arsenorganischen Verbindung, zur Behandlung der Syphilis [11]. Auf landwirtschaftlichem Gebiet fanden Arsenverbindungen seit Ende des letzten Jahrhunderts Eingang in die Unkraut- und Schädlingsbekämpfung. Insbesondere im Weinbau wurde auch in Deutschland über eine breite Anwendung berichtet, die auch zu einer Anzahl ernster Vergiftungsfälle führte [12].
Das Interesse am Element Arsen gilt heute vornehmlich der Aufklärung seines geochemischen und biologischen Kreislaufs und analytischen Verfahren zur Unterscheidung seiner verschiedenen Spezies, mit dem Ziel, Gefährdungsquellen durch Arsen zu erkennen sowie seine Spezies in immer niedrigeren Konzentrationen bestimmen zu können.

2.2.2. Geogenes Vorkommen und anthropogene Quellen

Arsen steht in der Häufigkeit der Elemente in der Erdkruste an 20. Stelle. Es ist ein Hauptbestandteil von mehr als 240 Mineralen und wird bevorzugt in sulfidischen Lagerstätten gefunden [13]. Durch anthropogenen Eintrag und geogene Freisetzung tritt es in nahezu allen Umweltkompartimenten auf. Durchschnittliche Konzentrationen in Oberflächenwasser liegen bei 0,5 - 4 µg/L, unkontaminierte Sedimente und Böden zeigen typische Arsen-Gehalte zwischen 5 und 10 mg/kg. In Kohlen beträgt der Gehalt zwischen 0,5 und 93 mg/kg [14].

Die Weltjahresproduktion von Arsentrioxid betrug im Jahre 1989 ca. 53000 t, etwa gleiche Mengen Arsen werden durch die natürliche Verwitterung von Gesteinen und vulkanische Tätigkeit freigesetzt [15]. Wichtige Minerale sind Arsenopyrit (FeAsS), Löllingit ($FeAs_2$), Cobaltin (CoAsS), Realgar (As_4S_4) und Auripiment (As_2S_3). Aus den Arseniden beziehungsweise Arsen-Sulfiden entstehen als Verwitterungsprodukt Arsenate, beispielsweise Skorodit ($Fe^{(III)}[AsO_4]\cdot 2H_2O$) oder Parasymplesit ($Fe^{(II)}{}_3[AsO_4]_2\cdot 8H_2O$). Arsenopyrit (FeAsS) ist das häufigste Arsenmineral im Freiberger Raum.

Arsen wird bei Prozessen der Metallverhüttung und der Verbrennung fossiler Energieträger anthropogen freigesetzt und ist in Bergbaureststoffen, z.B. in denen der Zinn-, Uran- und Kupfergewinnung angereichert. In Gebieten mit langer bergbaulicher Geschichte wie Erzgebirge, Schwarzwald und Harz finden sich daher im Bereich von Deponien und Halden besondere Belastungen.

Hauptanwendungsgebiete für Arsenverbindungen, die gleichzeitig auch für anthropogene Quellen stehen, sind die Metallindustrie (As als Legierungsbestandteil), die Halbleiterproduktion (GaAs-Kristalle), die Glasherstellung (Läuterungsmittel). Ein bewußter Eintrag in die Umwelt erfolgte durch Verwendung als Insektizide (Holzschutz, Baumwollanbau), vornehmlich in Amerika (Kupferarsenat, Monomethylarsonat). In Deutschland wurden "Schweinfurter Grün" (Kupferacetat/Kupferarsenit) und "Bleiarsen" als Spritz- und Stäubmittel im Obst- und Weinanbau eingesetzt. Auf Basis von Phenylarsin wurden chemische Kampf- bzw. Reizstoffe (Clark, Adamsit) entwickelt [16]. Gegenwärtig ist in Deutschland ein Präparat auf Basis der Dimethylarsinsäure zur Bekämpfung von Ameisen ("Nexa Lotte", Celaflor GmbH) im Handel. In der Veterinärmedizin kommen Phenylarsonsäurederivate zum Einsatz [17]. Meerestiere zeigen einen teilweise hohen Arsengehalt, der auf Arsenobetain zurückzuführen ist [18,19].

2.2.3. Chemisches Verhalten

Elementares Arsen ist ein Halbmetall und tritt in mehreren Modifikationen auf, deren wichtigste die graue mit metallischen Eigenschaften ist. Sie kann der Gruppe der Schwermetalle zugerechnet werden [20]. Seiner Stellung in der V. Hauptgruppe des Periodensystems entsprechend zeigt Arsen ähnliche Eigenschaften wie Phosphor (Tab. 2-1). Es bildet drei- und fünfwertige Oxide sowie in wäßriger Lösung entsprechende Sauerstoffsäuren (arsenige und Arsen-Säure). Häufige Organoarsenverbindungen sind Monomethylarsonsäure und Dimethylarsinsäure, letztere ist auch als Kakodylsäure bekannt. Arsen gehört zu den hydridbildenden Elementen. Durch Einwirkung von naszierendem Wasserstoff entsteht gasförmiger Arsenwasserstoff (AsH_3), der die Grundstruktur für Arsinverbindungen darstellt.

In wässrigen Medien treten hauptsächlich die dissoziierten Spezies der anorganischen, seltener der methylierten Säuren auf, deren Dissoziationszustand durch den pH-Wert der Lösung bestimmt wird (Abb. 2-1). Der Redoxzustand des Mediums bestimmt dabei die Stabilität der drei- und fünfwertigen Oxidationsstufen. Arsenit (As(III)) läßt sich leicht oxidieren. In sauerstoffhaltigem Wasser sollte es daher instabil sein und schnell in Arsenat (As(V)) überführt werden. In natürlichen Wässern beobachtet man jedoch selten ein den herrschenden Redox-

bedingungen entsprechendes Verhältnis von As(III) und As(V) [21]. Dieses Nicht-Gleichgewicht äußert sich in zum Teil erheblichen As(III)-Konzentrationen [22,23].

Stellung im Periodensystem	5. Hauptgruppe, 4. Periode	Valenzelektronen-konfiguration	$4s^2\ 4p^3$
Ordnungszahl	33	Wertigkeit in chem. Verb.	-3; +3; +5
Relative Atommasse	74,92	Dichte	5,72 g/cm^3
Isotope	^{75}As (stabiles Isotop) ^{68}As - ^{85}As (radioaktiv)	1. Ionisationspotential	9,81 eV

Tabelle 2-1: Chemische und physikalische Daten des Arsens

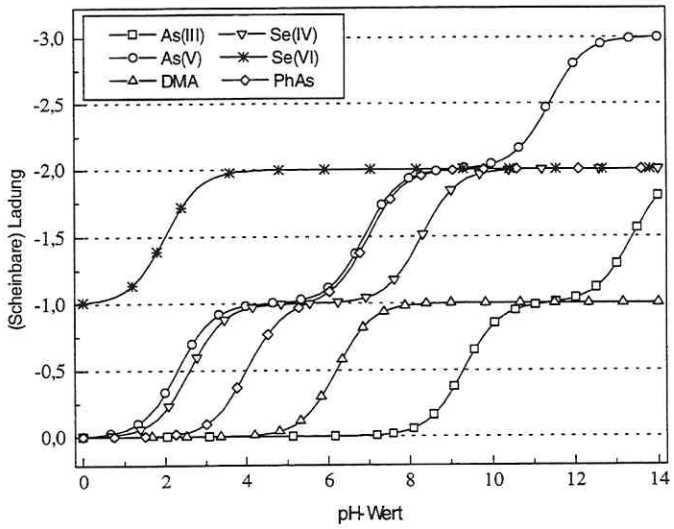


Abb. 2-1: Dissoziationsverhalten*) von Arsen- und Selenverbindungen

Wichtige Hinweise über Oxidationsstufe und Dissoziationsgrad kann ein E_h-pH-Diagramm liefern, das die thermodynamischen Stabilitätsbereiche der Spezies als Funktion von pH- und E_h-Wert graphisch darstellt (Abb. 2-2). Unter den Bedingungen natürlicher Wässer im pH-Bereich 6 bis 8 findet man $H_2AsO_4^-$ und $HAsO_4^{2-}$ sowie unter mäßig reduzierenden Bedingungen undissoziiertes H_3AsO_3.

Schwerlösliche Arsenate können mit Kalzium, Barium, Mangan und Eisen gebildet werden, die Konzentration in Wässern wird wesentlich durch Adsorptionsprozesse an Metalloxid- und Tonmineraloberflächen kontrolliert [21].

*) Die Berechnung (Beispiel einer dreiprotonigen Säure) erfolgte nach: $q_s = \frac{3\cdot[A^{3-}]+2\cdot[A^{2-}]+1\cdot[HA^-]}{[A^{3-}]+[HA^{2-}]+[H_2A^-]+[H_3A]}$

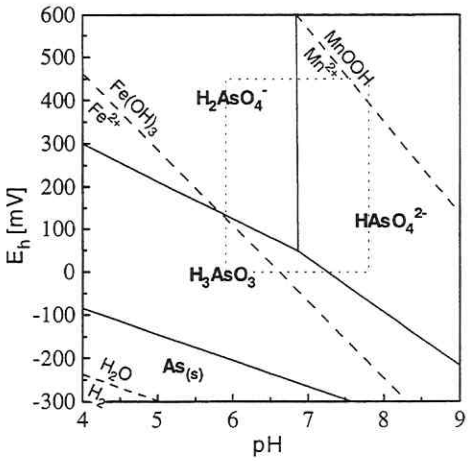


Abb. 2-2: Stabilitätsfelder anorganischer Arsen-Spezies im System As - H_2O [nach 24]
(E_h- Redoxpotential der Lösung [mV], bezogen auf Pot. d. Wasserstoffelektrode)

Zur Kennzeichnung der Spezies soll an dieser Stelle eine Bezeichnung des Typs "As(V)" eingeführt werden. As(V) steht im folgenden für die Summe aller Dissoziationsstufen der Arsensäure H_3AsO_4, wobei der Dissoziationszustand durch den jeweiligen pH-Wert bestimmt wird. Entsprechendes gilt für As(III), Se(IV) und Se(VI). Zur Bezeichnung der Spezies mit organischen Substituenten werden ebenfalls in der Literatur gängige Abkürzungen eingesetzt, die insbesondere den Substituenten kennzeichnen (z.B. DMA, PhAs, s. Tab. 2-2) und ebenfalls alle Dissoziationsstufen einschließen.

2.2.4. Bindungsformen und Metabolisierungszyklus

Die breite Verteilung des Arsens in Hydrosphäre, Geosphäre und Atmosphäre ist darauf zurückzuführen, daß es nach seiner Freisetzung aus Mineralen einem biogeochemischen Kreislauf unterliegt, der eine Reihe von chemischen Umsetzungen beinhaltet und seine Mobilität stark beeinflußt. Beispiele solcher Zyklen wurden von Reimer und Tanaka ausführlich beschrieben [13,18] und sollen hier nur kurz skizziert werden. Das z.B. als Verwitterungsprodukt freigesetzte Arsentrioxid bildet im wäßrigen Medium arsenige Säure, welche im Boden oder Wasser zu Arsenaten oxidiert werden kann. Durch Metabolisierung in Mikroorganismen, aber auch höheren Lebewesen können Mono- und Dimethylarsinsäure sowie Trimethylarsinoxid entstehen [5]. Eine Reduktion in anaerobem Milieu beziehungsweise weitere Methylierung durch methanogene Bakterien führt zu gasförmigen Arsinen, die in die Atmosphäre gelangen [25]. Ihre Oxidation durch Luftsauerstoff schließt den Kreis zu den Arsenaten. Zwischen den Formen bestehen dynamische Gleichgewichte. Eine Besonderheit liegt bei Meereslebewesen vor. Aufgenommene Arsenverbindungen werden von ihnen zum nahezu ungiftigen Arsenobetain metabolisiert und akkumuliert. Dieses wurde erstmals von Edmonds et al. [26] in australischem Hummer identifiziert. In Meereslebewesen wurden auch weitere, komplexer aufgebaute arsenhaltige Verbindungen mit einer zuckerähnlichen Grundstruktur ("Arsenozucker") nachgewiesen.

Wichtige Spezies von As, die auch in dieser Arbeit untersucht wurden, sind in Tabelle 2-2 zusammengestellt.

I $As(OH)_3$ Arsenige Säure **As(III)** [Arsenit]	II $AsO(OH)_3$ Arsensäure **As(V)** [Arsenat]	III $C_6H_5AsO(OH)_2$ Phenylarsonsäure **PhAs** [Phenylarsonat]
IV $CH_3AsO(OH)_2$ Monomethylarsonsäure **MMA** [Monomethylarsonat]	V $(CH_3)_2AsO(OH)$ Dimethylarsinsäure[b)] **DMA** [Dimethylarsinat]	VI $(2\text{-}NH_2)C_6H_4AsO(OH)_2$ o-Aminophenylarsonsre. **oAPAs** [o-Aminophenylarsonat]
VII $(CH_3)_3As^+CH_2COO^-$ Arsenobetain **AsBet**	VIII $(CH_3)_3As^+C_2H_4OH, Br^-$ Arsenocholin **AsChol**	IX $(4\text{-}NH_2)C_6H_4AsO(OH)_2$ [c)] p-Aminophenylarsonsre. **pAPAs** [p-Aminophenylarsonat]

Tabelle 2-2: Wichtige Spezies[a)] von Arsen (siehe auch Tab. A-1, Anhang)
[a)]- Nr. I - VI, IX in aquatischen Systemen anionisch vorliegend; [b)]- Bezeichnung auch Kakodylsäure;
[c)]- Bezeichnung auch Arsanilsäure

2.2.5. Toxizität und biologische Bedeutung

Arsen und seine Verbindungen sind allgemein als stark giftig bekannt. Diese Ansicht stützt sich auf das als "Arsenik" bekannte dreiwertige Oxid As_2O_3. Dabei bestehen in Wirklichkeit zwischen den Spezies große Toxizitätsunterschiede (Tab. 2-3). Reines Arsen wird als ungiftig beschrieben. Da es jedoch an der Luft leicht oxidierbar ist, sind Verunreinigungen mit dem Oxid schwer auszuschließen. Auripigment (As_4S_6), "Arsentrisulfid", ist in Wasser und Säuren unlöslich und daher ebenfalls kaum giftig [27]. Die höchste Toxizität besitzt das gasförmige Arsin. Allgemein ist festzustellen, daß die Toxizität der Arsen-Spezies mit steigender Oxidationsstufe und zunehmender Alkylierung beträchtlich abnimmt. So ist Arsenobetain, das in Fischen und Meerestieren auftritt und so Eingang in die menschliche Nahrung findet, nahezu ungiftig.

Die biologische Wirkung von Arsen beruht auf seiner Ähnlichkeit zu Phosphor, so daß es die Phosphatgruppe essentieller Moleküle verdrängen kann und die Zellatmung hemmt sowie auf seiner Affinität zu Thiol-Gruppen. Chronische Arsenvergiftungen rufen vor allem Erkrankungen der Haut und des Nervensystems hervor. Anorganische Arsenverbindungen gelten als karzinogene und teratogene Substanzen [31].

Die chronische Giftigkeit des Arsens wird heute strenger beurteilt. Dies führte in Deutschland 1990 zur Senkung des Grenzwertes der Trinkwasserverordnung von 0,04 µg/mL auf 0,01 µg/mL [32]. Richtwerte zur Beurteilung der Sanierungsbedürftigkeit von Böden liegen je nach Nutzung zwischen 20 und 40 µg/g [31].

Tabelle 2-3:

Vergleich der Toxizität einiger Arsenverbindungen

Verbindung	LD_{50} [mg/kg[b)]]	Ref.
Arsin	3	[28]
Arsentrioxid[a)]	35	[29]
Kaliumarsenit	14	[28]
Natriumarsenat	18 - 30	[29]
Phenylarsonsäure	50 - 100	[28]
Monomethylarsonsäure	700 - 1800	[29]
Dimethylarsinsäure	700 - 2600	[28]
Arsenobetain, Arsenocholin	> 10000	[28,30]

(Zum Vergleich: Strychnin: LD_{50}= 16 mg/kg[b)] [28])

[a)]- Letale Dosis/Mensch= 70 - 180 mg; [b)]- Versuchstier Ratte

Über Gefährdungen der Bevölkerung sind eine Reihe von Beispielen bekannt. Diese sind neben berufsbedingtem Kontakt (Bergbau, Hüttenindustrie) vornehmlich auf die As-Aufnahme über das Trinkwasser oder die Konsumierung von auf kontaminiertem Boden gezogenem Gemüse zurückzuführen. Besondere Beachtung muß folglich Gebieten mit erhöhten geogenen Arsenkonzentrationen und Regionen mit entsprechenden industriellen Aktivitäten sowie der Nutzung von Altlastenflächen geschenkt werden. In Taiwan trat die "Schwarzfuß"krankheit auf, verursacht durch Arsen im Trinkwasser [33]. Chakraborti et al. berichten über eine großflächige Belastung (ca. 34000 km^2) im indischen Bundesstaat West-Bengalen [34] mit einer Vielzahl von Intoxikationen. In Deutschland waren bis in die fünfziger Jahre die Winzer an Rhein und Mosel durch orale und percutane Aufnahme von Arsen am stärksten betroffen. Dabei handelte es sich überwiegend um Kontakte mit As(III), welches hauptsächlich eingesetzt wurde, da für Arsen in dreiwertiger Form eine höhere insektizide Wirkung als in fünfwertiger beobachtet wurde. Nach einer Häufung von Vergiftungsfällen (ca. 900 registrierte Intoxikationen bis 1942, Hautgeschwüre und Lungenkrebs) wurde im Jahre 1942 die Verwendung arsenhaltiger Mittel im deutschen Weinbau verboten [12].

Trotz seiner vielfach beobachteten Giftigkeit gibt es substantielle Hinweise darauf, daß Arsen zu den essentiellen Spurenelementen gehört [35]. Anke et al. wiesen in umfangreichen Versuchen mit Tieren eine wachstumsfördernde und lebenserhaltende Funktion nach [36]. Interessant ist auch, daß in Massachusetts (USA) in Flußsedimenten Mikroorganismen isoliert wurden, deren Stoffwechsel ausschließlich auf der Reduktion von As(V) zu As(III) beruht und der bei Fehlen von Arsen zum Erliegen kommt [37].

2.3. Chemie und Toxikologie des Selens

Das Element Selen steht in der VI. Hauptgruppe des Periodensystems und zeigt in seinem Verhalten viele Analogien zum Schwefel. Es nimmt bevorzugt die Oxidationsstufen -2, +4 und +6 ein. Die häufigsten natürlich vorkommenden anorganischen Verbindungen sind Salze der Sauerstoffsäuren, Selenit [Se(IV)] und Selenat [Se(VI)] ($HSeO_3^-$, SeO_4^{2-}) (Tab. 2-4). Wichtige Organoselenverbindungen sind Methylselenide ($(CH_3)_2Se$, $(CH_3)_2Se_2$), Phenylderivate (Benzolseleninsäure, Tab. 2-4) und Aminosäuren wie Selenocystein, Selenomethionin, in welchen Selen den Schwefel ersetzt. Selen gehört zu den hydridbildenden Elementen und läßt sich zu Selenwasserstoff (H_2Se) reduzieren.

In der Natur wird es hauptsächlich als Bestandteil sulfidischer Erze, vergesellschaftet mit As, Cu, Sb, Ni, gefunden und ist eine in der Industrie häufig eingesetzte Substanz (Glasfabrikation, Galvanotechnik, Halbleiterherstellung) [38]. Es dient auch als Futtermittelzusatz in der Tierproduktion und wird bei Verbrennung fossiler Energieträger freigesetzt. In Oberflächenwässern beträgt seine mittlere Konzentration 0,1 - 0,5 ng/mL [38].
Als Spurenelement besitzt Selen große physiologische Bedeutung in pflanzlichen und tierischen Geweben, es ist essentiell für viele biologische Vorgänge und beeinflußt die Immunabwehr. In Säugetieren sind über 10 Selenoproteine bekannt [39]. Der Bereich zwischen essentiellen und toxischen Mengen ist jedoch, je nach Spezies, eng begrenzt. Der menschliche Organismus erkrankt, wenn seine tägliche Nahrung mehr als 2 mg Se enthält, dagegen treten bei Mengen unter 0,3 mg Se Mangelerscheinungen auf [40]. Pharmazeutische Präparate auf Basis von Selendisulfid, Natriumselenit und Selenhefen sind auf dem Markt [41].
Die Deutsche Trinkwasserverordnung legt einen Grenzwert von 0,008 µg/mL fest [32].

Parallelen zu Arsen liegen nicht nur bezüglich des Vorkommens, sondern auch seiner toxischen beziehungsweise essentiellen Wirkungsweise vor. Durch seine flüchtigen Verbindungen findet es in einem biogeochemischen Zyklus ebenfalls weite Verbreitung [42]. Daher sind analytische Untersuchungen zur Elementspeziation für Selen in gleicher Weise wie für Arsen sehr wichtig [42,43].

I	II	III
$SeO(OH)_2$ Selenige Säure **Se(IV)** [Selenit]	$Se(O)_2(OH)_2$ Selensäure **Se(VI)** [Selenat]	$C_6H_5SeO(OH)$ Benzolseleninsäure **BzSe**

Tabelle 2-4: Wichtige Spezies[a)] von Selen (siehe auch Tab. A-1, Anhang)
[a)]- in aquatischen Systemen anionisch vorliegend

3. Experimentelle Grundlagen sowie Möglichkeiten zur Speziationsanalytik

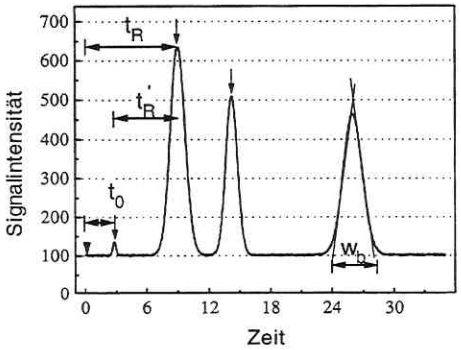
3.1. Grundlagen analytischer Methoden

Einleitend sollen die Prinzipien der in dieser Arbeit eingesetzten analytischen Methoden Ionenchromatographie (IC), Kapillarzonenelektrophorese (CZE) sowie von Atomemissions- und Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-AES, ICP-MS) kurz erläutert werden.

3.1.1. Ionenchromatographie

Unter der Bezeichnung Chromatographie versteht man physikalisch-chemische Verfahren zur analytischen oder präparativen Trennung eines Stoffgemisches zwischen einer mobilen und einer stationären Phase. Die Trennung beruht auf der unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeit verschiedener Teilchenarten in der mobilen Phase entlang der Trennstrecke aufgrund unterschiedlicher Verweilzeiten und Verteilungen an der stationären Phase. Physikalische Grundlagen für diese Retention sind Verteilungs-, Adsorptions-, Ausschluß- und Austauschgleichgewichte [44]. Zur Trennung von ionischen Verbindungen dient die von der Flüssigchromatographie (LC) abgeleitete Ionenchromatographie (IC). Die verbreitetste Variante ist die Ionenaustauschchromatographie und beruht auf einem Ionenaustausch zwischen der mobilen Phase und den am Trägermaterial gebundenen funktionellen Austauschergruppen. Die stationäre Phase kann dabei aus oberflächenmodifizierten Kieselgelen oder organischen Polymeren, beispielsweise Styren/Divinylbenzen-Copolymeren bestehen und wird von der mittels einer Hochdruckpumpe bewegten mobilen Phase durchströmt. Eine spezielle Art von Anionenaustauschern sind sog. Latex-Materialien [44], die sich durch eine besondere chemische und mechanische Stabilität auszeichnen.

Wichtige Kriterien für die Beschreibung einer chromatographischen Trennung [47] sind Retentionszeit t_R, Kapazitätsfaktor k' und Peak-Auflösung R_S, berechnet nach Abbildung 3-1.



$$t_R' = t_R - t_0 \qquad [G\text{-}1]$$

$$k' = (t_R - t_0) / t_0 \qquad [G\text{-}2]$$

$$R_S = 2(t_{R2} - t_{R1}) / (w_{b1} + w_{b2}) \qquad [G\text{-}3]$$

t_0 - Durchflußzeit (Elution Inertsubstanz)
t_R - Retentionszeit
t_R' - Nettoretentionszeit
w_b - Peakbreite (Basis)

Abb. 3-1: Kenngrößen einer chromatographischen Trennung

Die Auswahl eines geeigneten Detektionsprinzipes richtet sich nach der Art der zu bestimmenden Ionen, der verwendeten mobilen Phase und dem erforderlichen Nachweisvermögen. Für viele Applikationen wird die photometrische, amperometrische oder Leitfähigkeitsdetektion erfolgreich angewendet [45]. Kopplungstechniken mit atomspektrometrischen Detektoren (AAS, ICP-AES) und MS-Techniken (ICP-MS) tragen wesentlich zur Selektivitätssteigerung und Erweiterung des Einsatzspektrums der Ionenchromatographie bei [46]. Zur empfindlichen Detektion von Ionen über ihre elektrische Leitfähigkeit dient ein Suppressorsystem, das die Grundleitfähigkeit des Eluens vor Eintritt in die Leitfähigkeitsmeßzelle auf chemischem Wege verringert. Damit wird erreicht, daß das Meßsignal, welches sich aus der Differenz der Leitfähigkeit des Analytions und der Grundleitfähigkeit des Eluenten ergibt, vergrößert wird.
Eine ausführliche Beschreibung der ionenchromatographischen Methodik findet sich in [44].

3.1.2. Kapillarelektrophorese

3.1.2.1. Entwicklung und Einsatzgebiete

Die Kapillarelektrophorese ist ein neues instrumentelles Analysenverfahren, das in den letzten Jahren einen starken Aufschwung, besonders in der biochemischen und medizinischen Analytik, erfahren hat. Die theoretischen Grundlagen wurden bereits vor ca. einhundert Jahren von Nernst und Kohlrausch [48,49] gelegt. Heute werden drei grundlegende Varianten unterschieden, von denen die Kapillarzonenelektrophorese (CZE) die verbreitetste Form ist [50]. Die Haupteinsatzgebiete sind die Analytik von makromolekularen Verbindungen wie Peptiden [51] und Proteinen [52,53], Polyaminen [54] bis zu Hormonen [55] und Viren [56]. Zunehmend findet diese Methode auch Anwendung für Trennungen anorganischer und organischer Ionen niedrigen Molekulargewichtes [57,58], organischer Säuren [59], komplexierter Metallionen [60,61] und Tensiden [62].

3.1.2.2. Prinzip

Die Grundlage der Trennmethode besteht in der unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeit in Lösung befindlicher geladener Teilchen in einem elektrischen Feld. Das elektrische Feld übt auf die Ionen als Träger elektrischer Ladungen eine Kraft aus, unter deren Einwirkung die Ionen bewegt werden. Dieser gerichtete Massetransport wird als Migration bezeichnet. Die unterschiedliche Geschwindigkeit der Ionenbewegung kann zwei Ursachen haben: die Teilchen tragen ungleiche (effektive) Ladungen z und werden daher durch das angelegte Feld E verschieden stark beschleunigt und oder sie setzen der Wanderung einen unterschiedlichen Reibungswiderstand entgegen (Größe, Form). Die CZE beruht damit auf einem anderen physikalischen Trennprinzip als die Ionenchromatographie, wo Ionenaustausch-Wechselwirkungen zwischen den Analyten, der mobilen und stationären Phase zur Trennung führen und verzichtet auf den Druckeinsatz für den Lösungsmittel- und Analyttransport. Die stationäre Migrations-

geschwindigkeit v_i eines Ions ergibt sich aus dem Kräftegleichgewicht von elektrostatischer Beschleunigungskraft F_l und der Reibungskraft F_R [G-6]:

$$\vec{F}_1 = z \cdot e \cdot E \qquad \vec{F}_R = 6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r \cdot v_i \qquad v_i = \frac{z \cdot e \cdot E}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r} \qquad \text{[G-4; 5; 6]}$$

mit η - Dynamische Viskosität der Elektrolytlösung
e - Elementarladung
r - Stokes'scher Radius des Ions

Die Einführung der Ionenbeweglichkeit (Mobilität) μ_{ep} als von der Feldstärke unabhängige Größe ergibt

$$\mu_{ep} = \frac{e}{6 \cdot \pi \cdot \eta} \cdot \frac{z}{r} \qquad [\mathrm{cm^2/(V \cdot s)}]. \qquad \text{[G-7]}$$

Elektrophoretische Trennungen werden dann möglich, wenn sich die Ionen in ihrer Mobilität, d.h. im Verhältnis Ladung zu Radius unterscheiden [G-7].

Die Bewegung der Ionen wird überlagert durch den Effekt der Elektroosmose, einen Fluß der Pufferlösung in der Kapillare (Elektroosmotischer Fluß - EOF). Dieser wird hervorgerufen durch die Bewegung der in der Flüssigkeit befindlichen positiven Gegenionen zu den dissoziierten Silanolgruppen der Kapillarwand. Mit ihrer Solvathülle ziehen sie bei ihrer Bewegung einen Flüsigkeitsstrom mit, der folglich in Quarzkapillaren zur Kathode gerichtet ist. Das somit in der Kapillare entstehende Strömungsprofil ist im Unterschied zur HPLC mit gepackten Säulen nicht parabel- sondern zylinderförmig ausgebildet. Dispersionseffekte sind daher viel geringer. Bei Bezug auf die van-Deemter-Gleichung [44] als Maß für die relative Bandenverbreiterung tritt nur der Term der Longitudinaldiffusion in Erscheinung, so daß sich sehr hohe theoretische Bodenzahlen ergeben können.

Der EOF trägt zum Transport der Ionen bei, beeinflußt jedoch nicht direkt ihre Trennung. Seine Größe läßt sich vereinfacht mit der Helmholtz-Gleichung [G-8] beschreiben und ist umgekehrt proportional zur Viskosität η des Elektrolyten, proportional seiner Dielektrizitätskonstante ε, der angelegten Feldstärke E und dem an der Kapillarwand aufgebauten Potential ("Zeta-Potential" ζ).

$$\mu_{eo} = \frac{\varepsilon \cdot E \cdot \zeta}{4 \cdot \pi \cdot \eta} \qquad \vec{\mu}_i = \vec{\mu}_{ep} + \vec{\mu}_{eo} \qquad \mu_i = \frac{l}{t_i \cdot E} \qquad \text{[G-8; 9; 10]}$$

(l - Migrationsstrecke)

Die beobachtete Gesamtmobilität μ_i eines Ions ergibt sich als vektorielle Summe seiner elektrophoretischen (μ_{ep}) und elektroosmotischen Beweglichkeit (μ_{eo}) [G-9] und kann aus der gemessenen Migrationszeit t_i berechnet werden [G-10]. Je nach Polung des elektrischen Feldes und Größe der einzelnen Bewegungen ergibt sich auch die Richtung der resultierenden Bewegung (Abb. 3-2). Durch eine Steuerung des EOF besteht die Möglichkeit, positiv oder negativ geladene Ionen auf Seiten der Kathode oder der Anode zu detektieren. Dies kann einerseits durch Veränderung des pH-Wertes des Elektrolyten und damit des Dissoziationsgrades der Silanolgruppen der Kapillaroberfläche erfolgen oder über chemische Modifikation der Kapillarinnenwand, die Zugabe oberflächenaktiver Stoffe, die ihre Ladung verändern.

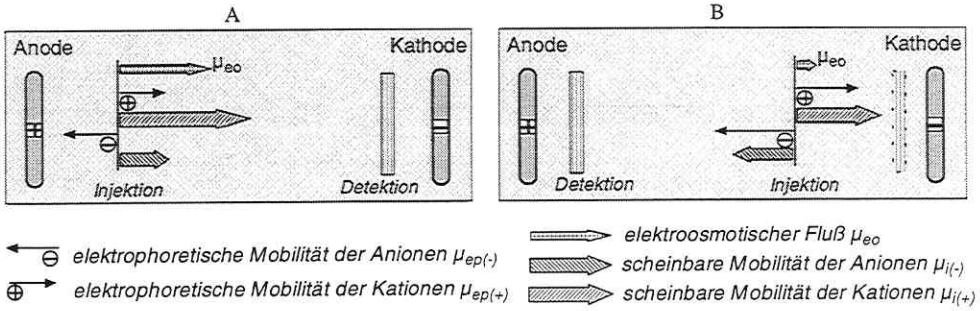


Abb. 3-2: Migration von Ionen im elektrischen Feld
A – Injektion auf der Seite der Anode; B – Injektion auf der Seite der Kathode (verminderter EOF)

3.1.2.3. Apparativer Aufbau und Detektion

Eine mit Pufferlösung gefüllte dünne Quarzkapillare (25 - 100 µm Durchmesser) mit einer Länge von 20 bis 100 cm überbrückt zwei Puffergefäße, zwischen denen eine Hochspannung angelegt wird (Abb. 3-3). Die Probenaufgabe auf einer Seite der Kapillare erfolgt, indem das Elektrolytgefäß gegen die Probe ausgetauscht wird. Über Druckaufgabe, hydrostatisch oder hydrodynamisch, beziehungsweise elektrokinetisch durch Anlegen einer Spannung kann ein Probensegment in die Kapillare eingeführt werden. Der Trennprozeß beginnt, nachdem sich über den Elektrolyten in der Kapillare ein elektrisches Feld aufgebaut hat. Der Detektor befindet sich auf der zur Injektion gegenüberliegenden Seite der Trennstrecke. Er zeichnet das zeitabhängige Signal als "Elektropherogramm" auf, welches dem "Chromatogramm" der LC entspricht und ebenfalls mittels der Kriterien (Migrations-) Zeit und Auflösung [G-3] charakterisiert werden kann [63,64].

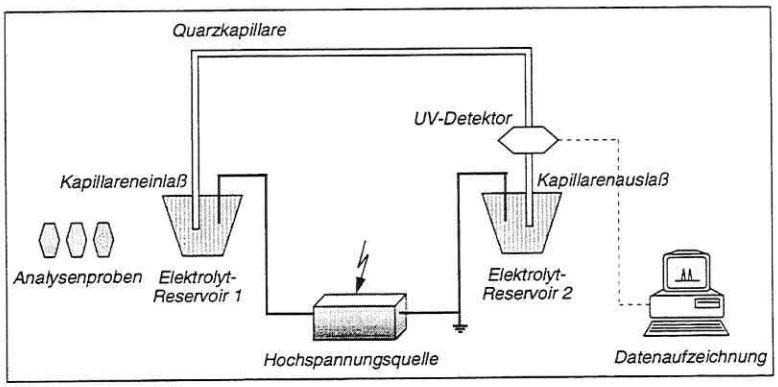


Abb. 3-3: Aufbau einer Kapillarelektrophorese-Apparatur

Gängige Detektoren nutzen die UV/Vis-Absorption und die Fluoreszenz.
Für die UV-Detektion ist es notwendig, daß die Analyte eine UV-Absorption zeigen. Eine Limitierung der Empfindlichkeit ist durch das Lambert-Beersche Gesetz und sehr geringe

Absorptionsschichtdicke (Kapillardurchmesser) gegeben. Viele anorganische und metallorganische Ionen zeigen keine oder nur sehr geringe Absorption. Es besteht dann die Möglichkeit, den indirekten Weg zu wählen: dem Pufferelektrolyten wird ein UV-absorbierender Chromophor zugesetzt und die Abnahme der Extinktion detektiert. Nachteile ergeben sich naturgemäß daher, daß man bei kleinen Konzentrationen also eine kleine Abnahme des permanent hohen Untergrundsignals messen muß. Die Empfindlichkeit hängt hier vom Extinktionskoeffizienten des Hintergrundelektrolyten ab [65,66].
Weitere, in Entwicklung begriffene Detektionstechniken sind Leitfähigkeitsmessung, Amperometrie und Massenspektrometrie. Detektoren auf elektrochemischer Basis wie die amperometrische oder Leitfähigkeitsmessung [67,68] wurden bereits erfolgreich eingesetzt und sind auch in kommerzieller Entwicklung begriffen [69,70]. Die Kopplung mit Massenspektrometrie wurde erstmals von Olivares et al. [71] unter Verwendung der Elektrospray-Ionisierung realisiert und ist bereits kommerzialisiert. Diese und die ebenfalls verbreitete Ionisationstechnik des "fast atom bombardment" wird insbesondere für die Detektion von Biopolymeren angewendet [72,73]. Dagegen ist eine Verknüpfung von CZE und Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma als Ionenquelle (ICP-MS) Gegenstand aktueller Forschung (s. Kap. 3.2.3.).

3.1.2.4. Bewertung

Für die Spurenanalytik ist nicht das Masse- sondern das Konzentrations-Nachweisvermögen bedeutsam. Dieses ist bei der CZE verglichen mit der IC 30 bis 100-fach geringer [50]. Während bei CZE mit UV-Detektion *absolute* Nachweisgrenzen von 10^{-15} mol erreicht werden, entspricht das nur *Konzentrations*grenzen von 10^{-4} bis 10^{-6} mol/L [50]. Deshalb sind kapillarelektrophoretische Techniken für Elementanalytik im Spurenbereich bisher nur begrenzt einsetzbar. Insbesondere in der Speziationsanalytik ist eine hohe Nachweisstärke eine Voraussetzung für die meisten Anwendungen aus dem Umweltbereich.
Vorteile der kapillarelektrophoretischen Technik liegen in der hohen Trenneffizienz, dem geringen Chemikalienverbrauch, der Möglichkeit der Analyse von Mikrovolumina und kurzen Analysenzeiten. Probleme bestehen dagegen durch den erwähnten höheren Konzentrationsbereich, der insbesondere die Anwendung in der Umweltanalytik begrenzt, der eingeschränkten Verfügbarkeit von Detektionssystemen, der oft mangelhaften Reproduzierbarkeit in Abhängigkeit von der Probenmatrix sowie darin, daß gängige Detektoren nur unspezifische Informationen liefern. Deshalb werden verstärkt Entwicklungen vorangetrieben, die auf empfindlichere Detektionsverfahren und Elementspezifität der Methode abzielen.

3.1.3. ICP-Atomemissionsspektrometrie und ICP-Massenspektrometrie

Atomemissionsspektrometrie (AES) [74] und ICP-Massenspektrometrie [75] zählen zu den elementspezifischen Detektionsmethoden. Beide Methoden verbindet die Nutzung des induktiv gekoppelten Plasmas (ICP) als Anregungsquelle (ICP-AES) bzw. als Ionenquelle (ICP-MS). Sie erzeugen charakteristische Signale für einzelne Elemente und haben daher eine breite Anwendung in der anorganischen Elementanalytik gefunden [2,6,156]. Wesentliche Anwendungsgebiete der Verfahren ICP-AES und ICP-MS sind die Wasser- und Umweltanalytik, Geologie, Qualitätssicherung in der Industrie sowie Bereiche biologisch-medizinischer Forschung.

3.1.3.1. Das induktiv gekoppelte Plasma (ICP)

Das ICP ist ein elektrodenloses Plasma, das durch Einkopplung eines hochfrequenten Wechselfeldes in das Plasmagas (in der Regel Argon) erzeugt wird. Das Plasmagas wird durch ein Rohrsystem geleitet, an dessen Ende sich eine Induktionsspule befindet. Der Plasmazustand wird erzeugt, indem durch einen Teslafunken einzelne Ladungsträger freigesetzt werden. Diese werden im Hochfrequenzfeld beschleunigt und setzen durch Stoßreaktionen lawinenartig weitere Elektronen und Ionen frei. Durch Rekombination von Argonionen und Elektronen entstehen Temperaturen von 6000 - 10000 K.

Das Plasma besitzt eine toroidale Struktur, so daß ein Probenaerosol mittels eines Trägergasstromes (Ar) in der Mitte eingeführt werden kann. Die Temperatur dieser Tunnelzone ist etwas niedriger (ca. 6000 K) als die der übrigen Bereiche und kann von der Generatorleistung (Hochfrequenzenergie), den zugeführten Gasmengen sowie der Art des Aerosols (Wassergehalt, Anteil organischer Lösungsmittel) und den Matrixbestandteilen der Probe beeinflußt werden [128].

Im induktiv gekoppelten Plasma wird die Probe (Analyt und Matrix) verdampft, dissoziiert und atomisiert bzw. ionisiert. Bedeutsam für die ICP-MS ist eine hohe Ausbeute einfach ionisierter Analytatome. Die Ionisierung läuft nach folgendem Schema durch Zusammenstöße der Analytatome M mit Ar-Atomen im metastabilen Zustand (Ar^m) und mit Ar-Ionen (Ar^+) ab:

$$M + e^- \rightarrow M^+ + 2e^-$$
$$M + Ar^+ \rightarrow M^+ + Ar$$
$$M + Ar^m \rightarrow M^+ + Ar + e^-$$

Der Grad der Ionisierung im Argonplasma hängt dabei von der Elektronendichte und Elektronentemperatur im Plasma und dem Ionisationspotential des jeweiligen Analytelementes ab. Er läßt sich näherungsweise berechnen [129] und liegt für Elemente mit Ionisierungsenergien E_i kleiner 8 eV bei über 90 %. Für Elemente wie As (E_i= 9,81 eV) wird dagegen nur eine teilweise Ionisierung erreicht.

Die im Plasma vorliegenden Atome und Ionen erfahren eine Anregung, die zur Lichtemission führt und bei der ICP-AES zur elementspezifischen Detektion ausgenutzt wird.

Die Probezuführung in das ICP ist auf verschiedenen Wegen möglich [130]. Die wichtigsten Probeeinführungstechniken sind die pneumatische Zerstäubung, Ultraschallzerstäubung, Hoch-

druckzerstäubung, elektrothermische Verdampfung, Hydriderzeugung, Laserverdampfung [131] und direkte Probenzufuhr. Davon ist die pneumatische Zerstäubung das verbreitetste Probezuführungssystem für ICP-Techniken, dessen Prinzip darin besteht, aus der zugeführten flüssigen Probe mittels eines Argon-Gasstromes ein feines Flüssig-Aerosol zu erzeugen, das weiter zum Plasma geführt wird. Der größte Teil der zugeführten Flüssigkeit läuft allerdings über eine Sprühkammer ab (Zerstäubungseffektivität 1 - 5 %). Höhere Aerosolausbeuten zeigen Ultraschall- und Hochdruck-Zerstäuber (bis etwa 40 %), erfordern aber eine Desolvatisierung des Aerosols, um die Beladung des Plasmas zu begrenzen. Beispiele für pneumatische Zerstäuber sind Cross-flow-, Babington- und konzentrische Zerstäuber. Eine moderne Entwicklung in dieser Gruppe ist der konzentrische Mikrozerstäuber mit wesentlich verbesserter Aerosolbildungseffektivität. Er kann bereits Volumenströme von 20 - 50 µL/min verarbeiten (s. Kap. 5.4.4.3.).

3.1.3.2. Emissionsspektrometrische Detektion (ICP-AES)

Die Atomemissionsspektrometrie, auch als optische Atomemissionsspektroskopie bezeichnet, beruht auf der Wechselwirkung elektromagnetischer Strahlung mit den äußeren Elektronen freier Atome bzw. Ionen. Die Probe wird im Plasma zur Lichtemission angeregt. Das emittierte Licht wird auf den Eintrittsspalt eines Monochromators bzw. Polychromators fokussiert, spektral zerlegt und photoelektrisch registriert. Die Ermittlung der Lage der Linien (Wellenlänge) ermöglicht eine qualitative Analyse der Probe. Aus der Beziehung zwischen Linienintensität und Konzentration lassen sich quantitative Analysen vornehmen.
Es werden Linienspektren erhalten, die aus einzelnen Spektrallinien als Energiedifferenz von zwei definierten Energiezuständen des Atoms oder Ions bestehen. Die Energie der Elektronenübergänge und somit Wellenlänge bzw. Frequenz der Strahlung sind charakteristisch für die entsprechende Atomart. Die Intensität einer Spektrallinie ist dabei abhängig von der Anzahl der Atome und Ionen in angeregtem Zustand sowie der Übergangswahrscheinlichkeit zwischen verschiedenen Zuständen. Da dieser Zusammenhang sehr komplex ist, erfolgt die quantitative Auswertung in der AES vorwiegend auf der Basis empirischer Gleichungen [75].
In der AES werden verschiedene Anregungsquellen eingesetzt. Neben dem ICP kommen auch elektrisch erzeugte Plasmen zur Anwendung, wie die Bogenentladung oder der Hochspannungsfunken. Weitere Emissionsquellen sind Glimmentladungen, chemische Verbrennungsflammen sowie Lasertechniken.
Vor- und Nachteile sowie Anwendungsgebiete der einzelnen Techniken wurden in der Literatur ausführlich beschrieben [75,132].

3.1.3.3. Massenspektrometrische Detektion (ICP-MS)

Die im ICP erzeugten Ionen werden über ein Interface, bestehend aus Lochblenden (Sampler, Skimmer) in das Hochvakuum des Spektrometers überführt. Ein Hochvakuum ist erforderlich, da die mittleren freien Weglängen der Ionen über den Dimensionen der Geräteabmessungen liegen müssen. In der sich anschließenden Ionenoptik wird der Ionenstrahl fokussiert und

Photonen und Neutralteilchen abgetrennt. Die Auftrennung der Ionen erfolgt nach dem Masse/Ladungsverhältnis.

In dem in dieser Arbeit eingesetzten ICP-MS wird die Trennung mittels Quadrupolmassefiltern realisiert (dynamische Trennung). Diese bestehen aus vier parallel angeordneten Stäben, an die paarweise definierte Gleich- und Wechselspannungen angelegt werden. Je nach Spannungseinstellung können nur Ionen mit einem definierten Masse/Ladungsverhältnis passieren und zum Detektor (meist Elektronenvervielfacher) gelangen. Quadrupolmassenspektrometer besitzen eine Auflösung von 0,5 - 1 atomaren Masseeinheiten.

Spektrale und nichtspektrale Interferenzen können Störungen verursachen und den Detektionsprozeß beeinflussen.

• Unter spektralen Interferenzen werden isobare Überlagerungen von Isotopen unterschiedlicher Elemente, Überlagerungen mit zweifach geladenen Ionen sowie mit Molekülionen anderer Elemente gleichen Masse/Ladungsverhältnisses (Beispiele: $^{56}Fe^{+}$ und $^{40}Ar^{16}O^{+}$ bzw. $^{75}As^{+}$ und $^{40}Ar^{35}Cl^{+}$) zusammengefaßt. Auf Grund der geringen Auflösung des Detektors können solche Interferenzen zu Meßunsicherheiten führen.

• Unter nichtspektralen Interferenzen versteht man chemische Matrixeffekte (z.B. Bildung schwerverdampfbarer Substanzen aus Analyt und Matrix) sowie physikalische Effekte im Bereich des gesamten Systems durch die Probenmatrix (z.B. Verschiebung des Ionisationsgleichgewichtes durch leicht ionisierbare Matrixbestandteile; Diffusionsprozesse; Massendiskriminierungseffekte: Destabilisierung der Fokussierung durch Überladung der Ionenoptik mit zu vielen Ionen; ebenfalls das Verstopfen der Konen). Weiterhin eingeschlossen sind Einflüsse der Probenviskosität auf die Zerstäubungseffizienz.

Zur Verminderung der genannten Interferenzen können verschiedene Methoden angewendet werden, die bereits bei der Probenvorbereitung ansetzen (Auswahl des Lösungsmittels, Matrixabtrennung mittels chromatographischer Methoden). Bei der Probenzuführung kann durch Anwendung der Hydridtechnik oder spezieller Verdampfungsverfahren wie der elektrothermischen Verdampfung eine Matrixabtrennung erreicht werden. Isobare Überlagerungen durch Molekülionen können nach Messung weiterer Isotope, sofern existent, mathematisch korrigiert werden [163]. Allgemein können durch sorgfältige Optimierung der Einflußparameter Matrixeffekte deutlich vermindert werden [74,75].

Im Vergleich beider Methoden sind die mit ICP-MS erhaltenen (Massen-) Spektren gegenüber den Emissions-Spektren der ICP-AES relativ einfach, da die meisten Elemente nur wenige Isotope besitzen. Der Arbeitsbereich der Zerstäubungs- ICP-MS liegt zwischen 10^{-1} und 10^{-3} µg/L [218] und damit um ca. zwei Größenordnungen niedriger als der der ICP-AES.

3.2. Methodische Entwicklungen zur Speziationsanalytik in wässrigen Systemen

Das grundlegende Ziel in der Speziationsanalytik ist die qualitative und quantitative Bestimmung jeder Zustandsform (Spezies) eines Elementes unabhängig und ohne Interferenz von anderen Formen. In diesem Sinne sollte ein Analysenverfahren zur Elementspeziation möglichst viele Spezies des Elementes simultan und ohne Änderung der originalen Zustandsform der Probe bestimmen können. Im folgenden sollen insbesondere Beispiele für Arsen und Selen erörtert werden.

3.2.1. Einzelmethoden

In der historischen Entwicklung der Speziationsanalytik wurden zuerst Verfahren angewendet, die auf einer einzigen analytischen Methode beruhen und daher als Einzelmethoden bezeichnet werden können. So wurden einzelne Element-Spezies beziehungsweise die Gesamtkonzentration des Elementes nacheinander mit naßchemischen, chromatographischen, elektrochemischen oder spektrometrischen Methoden ermittelt, wobei die Speziesunterscheidung durch unterschiedliche Analysenbedingungen erreicht wurde. Über Differenzbildung konnte dann auf die Verteilung der Spezies geschlossen werden.

So wurden physikalisch-chemische Ansätze entwickelt, bei denen alle Spezies des interessierenden Elementes in jeweils eine Form überführt werden, welche dann quantifiziert wird. Die ursprünglich vorhandene Verteilung wird dann über Differenzbildungen ermittelt. Beispiele sind die Kombination von Fließinjektion und Photometrie für Arsenspezies, wobei die Molybdänblau-Reaktion zur Bestimmung von Arsen genutzt, die Spezies aber nacheinander bestimmt werden müssen [78]. Selektive Komplexierungen [79] oder Extraktionen [80] als erste Stufe vor der Detektion sind ebenfalls eingesetzt worden. Nach einer von Münz vorgeschlagenen Methode wird anorganisches As vorreduziert und mit Dichlormethan extrahiert [81]. Organo-As muß separat mit Salpetersäure aufgeschlossen werden, so daß diese Methode nicht automatisierbar ist. Eine weitere Variante ist die Komplexierung mit organischen Liganden mit nachfolgender selektiver Verflüchtigung der Komplexe [82]. Elektrochemisch aktive Spezies können selektiv abgeschieden und in Kombination mit ETA-AAS nachgewiesen werden [83].

Auch elektrochemische Verfahren wie Polarografie [84], und Voltammetrie [85] gestatten die Bestimmung einzelner Element-Spezies, wie As(III). Sie sind in bestimmten Einzelfällen anwendbar, aber sehr matrixabhängig. Laintz et al. beschreiben die Trennung von Arsenverbindungen mit SFC, jedoch war es nicht möglich, As(V) direkt zu bestimmen [86]. Off-line Anreicherungsverfahren wie "Solvent extraction" und "Cartridge extraction" werden beispielsweise eingesetzt, um die Nachweisstärke elektrophoretischer Verfahren zu verbessern [87]. Dabei ist es jedoch meist nicht möglich, alle interessierenden Verbindungen simultan zu extrahieren. Nachdem über Ionenaustausch eine Trennung der Spezies erreicht ist, können diese auch off-line in einzelnen Fraktionen mittels Neutronenaktivierung bestimmt werden [88].

Vielseitigen Einsatz in der Speziationsanalytik fanden auch chromatographische Techniken wie Ionenchromatographie oder Gaschromatographie. Beide Methoden erlauben effiziente

Trennungen von für die Speziationsanalytik relevanten Verbindungen (Kap. 2.), wie z.B. Spezies von Arsen und Selen. Die in der Ionenchromatographie wohl am häufigsten eingesetzte Methode zur Detektion ist dabei die Leitfähigkeitsmessung vor potentiometrischen, photometrischen oder (den in Kap. 3.2.2. behandelten) atomspektrometrischen (AAS, AES, MS-) Techniken [44,93-96]. Gaschromatographische Verfahren erfordern eine oft langwierige Probenvorbereitung und Derivatisierung, um gasförmige Verbindungen zu erzeugen. Während für Se(IV) beispielsweise eine Methode zur Konvertierung mit Phenylendiamin zur Verfügung steht [89], ist die Bildung flüchtiger Formen von Arsen ungleich schwieriger [90]. Ebdon et al. [91] beschreiben die Konvertierung der As-Spezies zu Methylthioglycolaten. Le et al. [92] realisierten eine Hydridbildung in einem Fließsystem mit nachfolgender Konzentrierung der Arsine in einer Kühlfalle. Die anschließende gaschromatographische Trennung und AAS-Detektion lieferte unterschiedliche Signale entsprechend dem Methylierungsgrad der Arsine, gestattete aber keine Unterscheidung von As(III) und As(V).

Als besonders geeignet für die empfindliche Detektion von Elementspezies erwiesen sich atomspektrometrische Methoden, die nach unterschiedlichen Probenvorbereitungsschritten zum Einsatz kamen. So wurden zahlreiche Methoden zur Bestimmung von Arsenverbindungen entwickelt, die auf der pH-abhängigen Hydridbildung von As(III) und As(V) beruhen: As(III) kann schon in neutraler Lösung zum Hydrid reduziert werden, während As(V) nur in stärker saurer Lösung reagiert. Die Detektion erfolgte sowohl mit Atomabsorption (AAS) [97] als auch mit ICP-Atomemissionsspektrometrie [98,99]. Diese Variante setzt allerdings eine genaue Kenntnis und Kontrolle der Reaktionskinetik voraus und versagt beim Auftreten von weiteren As-Spezies, die ein anderes chemisches Verhalten zeigen.

Ein Fortschritt der Verfahrensentwicklung bestand in "off-line"-Verknüpfungen von analytischen Methoden unterschiedlicher Selektivität, wie zum Teil oben bereits erwähnt.
Ein Beispiel dafür ist die off-line Verknüpfung von IC mit Total-Reflexions-RFA (TX-RFA) [133]. Nach erfolgter chromatographischer Trennung können einzelne Fraktionen eines Säuleneluates separat untersucht werden. Auf diesem Weg konnte die TX-RFA mit ihrer hohen Nachweisstärke vorteilhaft zur Untersuchung von Fraktionen einer ionenchromatographischen Trennung auf (Gesamt-)Eisen eingesetzt werden (S. 120). Ebenfalls wäre damit die Gewinnung von Informationen über die Speziesverteilung interessierender Elemente möglich.

Die Umformung von Elementspezies von einer Form in eine andere vor der Quantifizierung kann entscheidende Nachteile haben wie unvollständige Reaktion, Kontaminationen, Störungen durch Matrixelemente und beinhaltet eine umfangreiche Probenvorbehandlung. Auch bei "off-line"-Kopplungen besteht die Gefahr einer Veränderung der Speziesverteilung während des Wechsels zwischen den Verfahren. Deshalb stellen "on-line"-Kopplungsverfahren zweier unabhängiger Analysenmethoden wie Chromatographie und Atom- bzw. Massenspektrometrie großen Fortschritt in der Entwicklung der Speziationsanalytik dar.

3.2.2. Kopplungstechniken von Chromatographie und Atomspektrometrie

Mit dem Ziel, die Analytintegrität unverändert zu erhalten und eine einfache Analyse zu ermöglichen, wurden solche Methoden entwickelt, die zuerst eine physikalische Trennung der Analytspezies und dann eine unabhängige Quantifizierung gestatten.

Diese sogenannten Kopplungstechniken chromatographischer Systeme mit elementspezifischen Detektoren, die sich zunehmend herausbilden, sind charakterisiert durch ein effektives Trennsystem, das über ein Interface mit einem oder mehreren empfindlichen Detektoren verbunden ist. Dabei sind Trenn- und Detektionssystem jeweils selbständige, allein nutzbare analytische Verfahren, die erst in ihrer Kopplung neue Qualitäten der Leistungsfähigkeit eröffnen [126].

In der Literatur sind Varianten zur elementspezifischen Detektion in der Flüssigchromatographie beschrieben worden [100-107], die jedoch zum Teil eine Reihe von Nachteilen aufwiesen. Zu dieser Gruppe gehört z.B. die Flammen-AAS [100]. Während dieser Detektor-Typ nützlich für leicht atomisierbare Elemente ist, zeigt er für eine Reihe von Elementen, so auch As, nur eine geringe Empfindlichkeit [101]. Eine andere Möglichkeit mit besserer Empfindlichkeit ist ETA-AAS [102], jedoch die separat notwendigen Schritte der Verdampfung, Veraschung und Atomisierung verhindern die direkte Einführung des chromatographischen Effluent in das Detektorsystem. Atomemissionsmethoden mit Plasmaanregung, wie induktiv gekoppelte Plasmen (ICP) [103] und Gleichstromplasmen (DCP) [104], wurden in der Folgezeit ebenfalls eingesetzt und haben sich als erfolgreicher für solche Kopplungsmethoden erwiesen [103]. Vorteile liegen in ihrer hohen Nachweisstärke, geringeren Störeinflüssen als bei Flammenmethoden und ihrer Fähigkeit, mehrere Elemente simultan zu erfassen. Große Aufmerksamkeit wurde dabei neben einer effektiven Trennung der Analyte der Konstruktion des Interface zwischen Chromatograph und Spektrometer gewidmet, da die Überführung ausschlaggebend für eine hohe Empfindlichkeit ist. Auch die Anwendung der aus der AAS bekannten Hydridtechnik für Arsen kann die Nachweisstärke steigern, wobei eine on-line Reduktion der Spezies erforderlich ist [105,106]. Die Einführung der plasmamassenspektrometrischen Detektion (ICP-MS) Ende der 80er Jahre eröffnete neue Möglichkeiten zur Verbesserung der Nachweisstärke analytischer Verfahren [96,107].

3.2.3. Kapillarzonenelektrophorese zur Speziation und Ansätze zu Kopplungen

Kapillarelektrophoretische Techniken erscheinen durch ihr hervorragendes Trennvermögen gut für Speziationsuntersuchungen geeignet. Allerdings ist die Speziation besonders für Elemente im Spurenbereich von Interesse, wo niedrige Konzentrationen zu bestimmen sind. Meist kommen aber nur unspezifische Detektoren mit relativ geringer Empfindlichkeit (UV-Detektor) in der CZE zum Einsatz.

Kapillarelektrophoretische Techniken wurden auch für den Problemkreis der As-Speziation eingesetzt. So entwickelten Wildman et al. [108] 1991 eine Methode zur Trennung von As(III), As(V) in Urin unter Verwendung eines Chromat-Elektrolyten. Die indirekte photo-

metrische Detektion lieferte dabei Nachweisgrenzen von ca. 1 µg/mL. Caruso et al. [109] erweiterten 1995 diese Methode um DMA und MMA, konnten jedoch die Nachweisstärke (NWG 0,5 - 2 µg/mL) nicht verbessern. Die Methode war damit für die Analyse von Proben vieler Problemkreise aus Umwelt- und biologischen Bereichen nicht empfindlich genug. Zusätzlich wurden Störungen bei Proben mit hohen Matrixgehalten beobachtet. Li et al. [110] bestimmten Organoselen- und Bleiverbindungen in wäßrigen Lösungen und erreichten mit direkter UV-Detektion bei 210 nm (Elektrolyt Phosphat/Borat) Nachweisgrenzen zwischen 30 und 60 µg/mL. Unter Verwendung eines Phosphat-Elektrolyten untersuchten Albert et al. [111] und Leroy et al. [112,113] allgemeine Einflußparameter wie Temperatur, Spannung des elektrischen Feldes und Injektionsvolumen auf die Trennung von As- und Se-Spezies. Zur Detektion wurde jeweils die direkte UV-Absorption (195 nm) eingesetzt. Jedoch wird nicht über Nachweisgrenzen und Applikationen zu Realproben berichtet. Schwedt et al. [114,116] demonstrierten die Eignung der CZE zur Bestimmung von Oxothioarsen-Spezies in Bodeneluaten, wobei ein scannender UV/VIS-Detektor zum Einsatz kam. Eine wesentliche Verbesserung der Nachweisstärke gelang Li & Li [127] durch eine Konzentrierung der Probe in der Trennkapillare ("sample-stacking"). Mit direkter UV-Detektion konnten in einem Phosphatpuffer für As(V) Nachweisgrenzen von ca. 30 ng/mL erreicht werden. Jedoch gestattete das Verfahren nicht die Bestimmung von As(III) und Se(VI). Bei der Untersuchung von Deponiesickerwässern auf As-Spezies mit einer ähnlichen Methode berichteten auch jüngst Van den Broeck et al. [115] über unzureichende Empfindlichkeiten und forderten die Entwicklung nachweisstärkerer Verfahren. Die prinzipielle Eignung der CZE für die Speziationsanalytik zeigten auch Untersuchungen von Quecksilber-Spezies in Muscheln [217] und Alkylblei-Verbindungen in Wasserproben [110].

Eine elementspezifische Detektion für die CZE läßt sich auf dem Wege der Kopplung mit atom- bzw. massenspektrometrischen Analysenverfahren verwirklichen. Bisher beschriebene Ansätze gingen im wesentlichen nicht über das Forschungsstadium hinaus, da sie apparativ und zeitlich sehr aufwendig sind. Um den Bedarf nach elementspezifischer Detektion zu decken, wurden nach der elektrophoretischen Trennung auch off-line Detektionen eingesetzt, so mit Neutronenaktivierungsanalyse (NAA) [117] und Protoneninduzierter Röntgenemission (PIXE) [118]. Eine on-line Kopplung mit PIXE realisierten Vogt et al. [119]. Wegen ihrer hohen Nachweisstärke ist die ICP-MS gegenüber ICP-AES als Detektor zu bevorzugen. Bei Kopplungen von CZE mit Massenspektrometrie sind nur solche MS-Ionenquellen für eine Element-Speziesanalytik geeignet, die die zu analysierenden Verbindungen möglichst komplett atomisieren. Dies ist beim induktiv gekoppelten Argonplasma (ICP) der Fall. Olesik et al. [120] setzten es erstmals in einer Kopplung von CZE mit Atomemissions- und Massenspektrometrie ein ("CZE – ICP-AES/MS") und demonstrierten Trennungen von Metallionen bei Konzentrationen von ca. 1 µg/mL. Dabei wurde das Kapillarende mit Silber beschichtet und in einen konzentrischen pneumatischen Zerstäuber eingeführt. Caruso et al. [121] versuchten, einen Glass-frit - Zerstäuber als Interface einzusetzen. Der dabei notwendige Carrierfluß

verursachte jedoch bei kleinen Flußraten starke Pulsationen und einen hohen Untergrund. Einen apparativ sehr aufwendigen Weg, um das geringe aus der Kapillare austretende Volumen in das Plasma zu überführen, wählten Liu et al. [122], indem sie die CZE-Kapillare in einen Direktinjektions-Zerstäuber (DIN) einsetzten, der bei Flußraten von ca. 15 µL/min arbeitet. Auf diese Weise konnten Metall-Kationen (Li, Cd, Co, Pb, Sr) sowie As-Anionen im unteren ng/mL-Bereich detektiert werden. Vorteilhaft ist besonders, daß bei dieser Probeneinführung kein zusätzlicher Carrierfluß erforderlich ist. Barnes et al. [123] setzten für ihre Kopplung einen Meinhard-Zerstäuber ein, der mit einem Transport-Carrier von ~120 µL/min betrieben wurde. Sie untersuchten die Trennung von Ferritin und Metallothionein unter dem Einfluß von Unterdruck auf das Elektrolytgefäß. Michalke et al. [124] berichten über erste Experimente zu einer Kopplung für die Se-Bestimmung mit Nachweisgrenzen von ca. 500 ng/mL für Se. Die Kopplung von CZE mit einem mikrowelleninduzierten Plasma - Atomemissionsdetektor (MIP-AES) wurde ebenfalls von Liu [125] beschrieben und erlaubte prinzipiell eine elementspezifische Detektion von Zinnverbindungen. Allerdings besaß das Heliumplasma nicht genügend Energie, um die Analytatome der wässrigen Lösung zu atomisieren mit der Folge sehr schlechter Nachweisgrenzen von ca. 1 mg/mL.

Weitere Entwicklungen zur Kopplung von CZE mit elementspezifischer Detektion durch ICP-MS sind ein aktuelles Forschungsgebiet.

4. Entwicklung und Optimierung von Kopplungs-Methoden mit Ionenchromatographie

4.1. Apparative Voraussetzungen und Voruntersuchungen

Mit der Zielstellung, leistungsfähige Analysenmethoden zur Speziationsanalytik von arsen- und selenhaltigen Proben zu entwickeln, wurden zunächst Untersuchungen zur Kopplung von Ionenchromatographie (IC) mit ICP-Atomemissionsspektrometrie (ICP-AES) vorgenommen. Beide instrumentellen Systeme sind standardmäßig in Analytik-Laboratorien vertreten und erlauben kostengünstige Multielementanalytik (ICP-AES) beziehungsweise Ionenbestimmungen (IC). Aus eigenen Voruntersuchungen [135] war bekannt, daß eine Kopplung des Ionenchromatographen mit ICP-AES über *pneumatische Zerstäubung* zwar Speziationsuntersuchungen von As- und Se-Anionen ermöglicht, jedoch bezüglich der erreichbaren Empfindlichkeit nicht zu befriedigenden Resultaten führt. Deshalb wurde die *Hydridtechnik* einbezogen, um durch die Bildung gasförmiger Hydride einen größeren Analyt-Anteil als bei pneumatischer Zerstäubung ins Plasma zu überführen [135,136]. Das Prinzip besteht in der Erzeugung gasförmiger Hydride aus in wässriger Lösung vorliegenden Verbindungen. Die Hydriderzeugung ist mit Reduktionsmitteln wie $SnCl_2$, $NaBH_4$ [105,137] bzw. elektrochemisch [138] möglich. Natriumtetrahydridoborat (Natriumborhydrid) ist besonders geeignet für on-line Systeme, jedoch schwanken die in der Literatur empfohlenen Konzentrationen erheblich [105]. Die Reaktion läuft im sauren Medium ab, daher wird das Säuleneluat zuerst mit HCl angesäuert und danach $NaBH_4$ zugeführt. Der gebildete nascierende Wasserstoff reagiert dabei mit dem Analyten zum Hydrid (Beispiel As(III)):

$$NaBH_4 + H^+ + 3\,H_2O \longrightarrow 8\,(H)_{nasc.} + H_3BO_3 + Na^+$$

$$H_3AsO_3 + 8\,(H)_{nasc.} \longrightarrow AsH_3 + 3\,H_2O + H_2$$

Die Reagenzien werden dem Säuleneluat der IC bei Verknüpfung mit der Hydridtechnik kontinuierlich zugeführt, um Reaktionsbedingungen für eine on-line Reduktion von Spezies hydridbildender Elemente zu schaffen.

Das prinzipielle Analysenschema ist in Abbildung 4-1 dargestellt. Nach der Injektion wird die Analysenprobe in der chromatographischen Säule aufgetrennt und über eine Peek-Kapillare zum ICP geführt. Der Kopplungsmodul kann entweder nur aus einem Zerstäuber bestehen zur Aerosolerzeugung aus dem Säuleneluat (Abb. 4-2/A) oder in der Art einer Nachsäulenderivatisierung eine Reagenzienzufuhr zur Konvertierung der getrennten Spezies beinhalten (Hydridtechnik, Abb. 4-2/B). Nach der oben beschriebenen Reaktion ist eine Abtrennung der gasförmigen Produkte von der füssigen Phase notwendig. Dieses Interface zwischen beiden Systemen wurde in meinen Voruntersuchungen [135,136] in Form eines miniaturisierten U-Rohr-Separators nach [105] gestaltet, durch den der Argongasstrom für das ICP geführt wird und der gleichzeitig an einem Siphon das Abpumpen der Flüssigkeit gestattet. Dieser Gas/Flüssig-Separator ist in Abb. 4-2/B dargestellt. Die Leistungsfähigkeit dieses Systems war durch Nachweisgrenzen von 0,03 µg/mL für As(III), 0,6 µg/mL für As(V), 0,1 µg/mL für DMA sowie 0,23 µg/mL für Se(IV) gekennzeichnet [135]. Damit wurden große Unterschiede für die

einzelnen Spezies festgestellt. Problematisch waren besonders auch Beeinträchtigungen durch vom Argon-Transportstrom mitgerissene und ins Plasma transportierte Flüssigkeitströpfchen sowie Matrixeffekte durch die hohe Wasserstoff-Gasentwicklung. Sie waren die Ursache für Plasmafluktuationen und teilweise hohe Rauschpegel der Signale, so daß sich das System mit U-Rohr Separator als für analytische Untersuchungen nicht ausgereift erwies.
Da sich zeigte, daß die Hydridtechnik eine aussichtsreiche Variante zur Gestaltung eines Kopplungssystems von IC mit ICP-AES ist, bestand zunächst die Aufgabe, das Kopplungsinterface und den Reaktionsablauf zu verbessern, um die erwähnten Beeinträchtigungen zu vermindern.

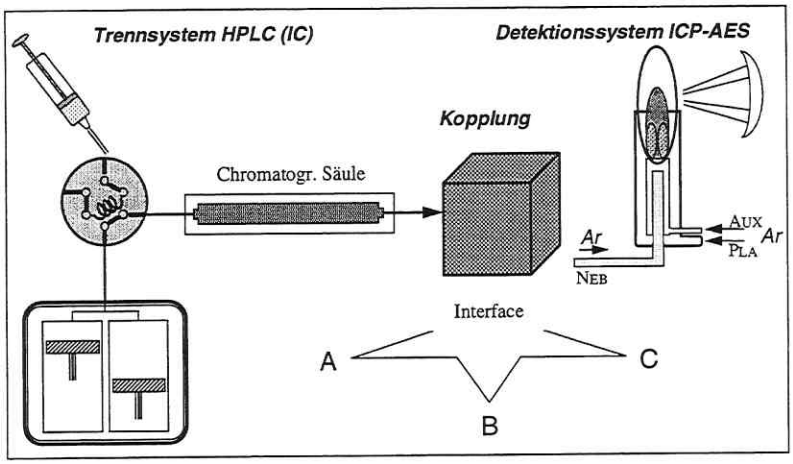


Abb. 4-1: Schematischer Aufbau der Kopplung von IC mit ICP-AES (-MS).
(A, B, C – Varianten für Interface zwischen IC und ICP: A, B s. Abb. 4-2; C s. Abb. 4-3)

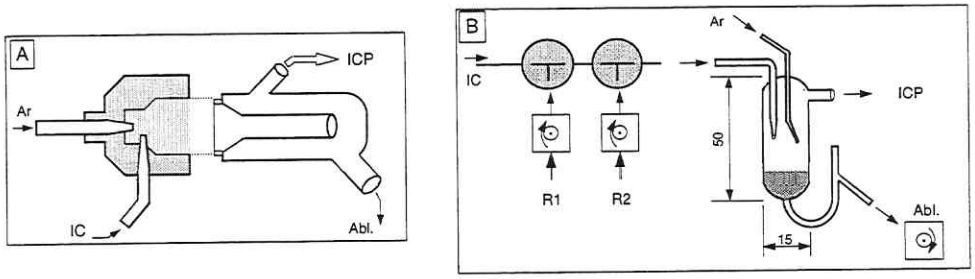


Abb. 4-2: Möglichkeiten zur Analytüberführung in das Plasma.
A – pneumatische Zerstäubung mit Cross-flow Zerstäuber;
B – Hydridtechnik mit U-Rohr - Gas/Flüssig-Separator

Im folgenden sollen Anmerkungen zur experimentellen Basis der Untersuchungen zu Kopplungen mit Ionenchromatographie gegeben werden.

4.2. Experimentelle Grundlagen

Die für die chromatographischen Trennungen verwendeten Eluentlösungen wurden entsprechend der im Text spezifizierten Zusammensetzung mit entionisiertem Wasser hergestellt. Sie wurden mit Helium entgast und jeweils einer Filterung 0,45 µm unterzogen, um Partikel zu entfernen. Die Einstellung des pH-Wertes, sofern notwendig, erfolgte mit Natriumhydroxid. Die Reduktionslösung $NaBH_4$ wurde mit NaOH (0,02 %) stabilisiert, gekühlt gelagert und spätestens nach 2 Tagen frisch hergestellt.

Folgende Geräte und Chemikalien wurden in dieser Arbeit eingesetzt:
- ICP-Atomemissionsspektrometer Plasmaquant 100; Fa. Carl-Zeiss-Jena
- Plasma-Massenspektrometer ICP-MS Elan 5000; Fa. Perkin-Elmer/Sciex
- HPLC-Pumpe LC 250; Fa. Perkin-Elmer
- Chromatograph DX-100 mit Mikromembransuppressor; Fa. Dionex
- Anionentrennsäule PRP-X 100; Fa. Macherey Nagel
- Anionentrennsäulen IonPac AS7, AS4A-SC, Vorsäulen AG7, AG4A; Fa. Dionex
- peristaltische Pumpe Miniplus 3; Fa. Gilson
- Mass-flow Controller Ar-Gas
- T-Stücke Peek, I.D. 0,3 mm; Peek-Kapillaren I.D. 0,3 mm, 0,5 mm; Fa. Upchurch Scientific
- Membran-Separator (Plexiglas); Eigenherstellung (Abb. 4-3)
- Chemikalien: $NaBH_4$ (Granulat), Na_2CO_3, $NaNO_3$, L-Cystein, Phthalsäure, p-Hydroxybenzoesäure, HCl (suprapur), HNO_3 (suprapur), NaOH-Lösung (Fa. Merck); Methanol (Fa. Riedel deHaën)
- Standardsubstanzen (s. Tab. 2-2; A-1, Anh.): Na_2AsO_3 [As(III)], $(CH_3)_2AsOOH$ [DMA], Na_2SeO_3 [Se(IV)], Na_2SeO_4 [Se(VI)] (Fa. Merck); $C_6H_5AsO(OH)_2$ [PhAs], $(4\text{-}NH_2)C_6H_4AsO(OH)_2$ [pAPAs], $(2\text{-}NH_2)C_6H_4AsO(OH)_2$ [oAPAs] (Fa. Aldrich); $(CH_3)AsO(OH)_2$ [MMA] (Eigensynthese nach [139] und modifiziert nach [140]); Standardlösungen AsBet, AsChol, MMA (Karl-Franzens-Universität Graz); Titrisol-Lösung Na_2HAsO_4 [As(V)] (Fa. Merck), Anionenstandardlösungen Cl^-, Br^-, HPO_4^{2-} (Fa. Merck).

Das für die Herstellung der Elutionsmittel und Elektrolytlösungen verwendete entionisierte Wasser wurde einer Reinstwasseranlage (Seral) entnommen. Chemikalien wurden in p.a. Qualität eingesetzt.

Datenanalyse. Die eingesetzten Spektrometer gestatteten die kontinuierliche Aufzeichnung von Meßwerten, die jeweilige Steuersoftware erlaubte jedoch keine chromatographische Bearbeitung dieser Daten. Die transienten Signale wurden daher in Form von Wertepaaren [Zeit; Intensität] als ASCII-Files exportiert und die Auswertung sowie Integration mittels des Programms Microcal Origin 3.5 (Microcal Origin Inc.) vorgenommen.

Nachweisgrenzen der Methoden für einzelne Spezies wurden nach den in Chromatographie und Atomspektroskopie üblichen Konventionen unter Bezug auf die dreifache Standardabweichung des Basislinienrauschens (3σ) ermittelt [141,142]. Bei den im folgenden aufgeführten Meßwerten handelt es sich, wenn im Text nicht anders angegeben, jeweils um Mittelwerte von Dreifachbestimmungen.

Konzentrationsangaben [Masse/Volumen] der As- und Se-Spezies sind jeweils auf das Element bezogen.

4.3. Kopplung von Ionenchromatographie mit ICP-Atomemissionsspektrometrie unter Nutzung der Hydridtechnik

4.3.1. Entwicklung und Testung eines Membran- Gas/Flüssig-Separators als Kopplungsmodul

In Zusammenhang mit der zur Steigerung des Nachweisvermögens hauptsächlich in der AAS eingesetzten Hydridtechnik [143] sind in der Literatur neben den U-Rohr - Gas/Flüssig-Separatoren auch Varianten beschrieben, wo z.B. die Mischung aus Gas und Flüssigkeit durch einen porösen Schlauch geführt wird, durch den die Hydride in einen Transportstrom übergehen [144,145]. Dabei sollte eine effektivere Abtrennung der Flüssigkeit als in einem offenen System möglich sein.

Zur Lösung der bei Anwendung des U-Rohr-Separators aufgetretenen Probleme und um das Kopplungssystem dahingehend zu verbessern, wurde auf diesen Grundlagen ein *Membran* - Gas/Flüssig-Separator (GLS) als Kopplungsinterface zwischen IC und ICP konstruiert. Der Aufbau ist in Abb. 4-3 dargestellt und ist als Variante C des Schemas von Abb. 4-1 zu betrachten. Der Membran-GLS besteht aus einem Plexiglaskörper mit zwei übereinanderliegenden Kanälen, die von einer Membran getrennt werden. Auf einer Seite wird die Reaktionsmischung geführt und auf der anderen im Gegenstrom ein Argon-Gasstrom, der hier als Trägergas fungiert und das "Zerstäuber"gas des Normalbetriebes ersetzt. Die Membran besteht aus Polytetrafluoroethylen (PTFE), die Kontaktfläche hat eine Größe von ca. 5 cm^2. Wie aus der Abbildung ersichtlich, liegt eine vollständige Trennung der zwei Wege durch die in der Mitte befindliche Membran vor.

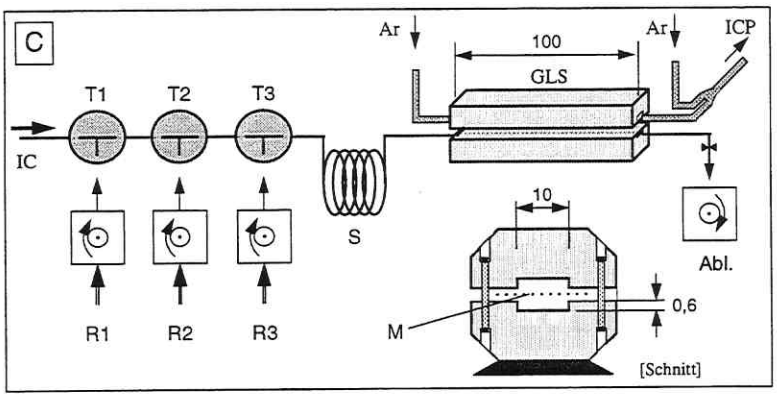


Abb. 4-3: Membran-Gas/Flüssig-Separator zur Abtrennung der gasförmigen Hydride (als Variante C der Abb. 4-1 zugeordnet).
R1 – Reagenz HCl; R2 – Reagenz Cystein; R3 – Reagenz $NaBH_4$; T1, 2, 3 – T-Verbinder; M – Membran; S – Reaktionsschleife; (Maßangaben in [mm])

Funktion. Die Analytionen der Probe werden nach Injektion und der Auftrennung auf der chromatographischen Säule mit der Eluentflußrate von 1 mL/min zum T-Stück T1 transportiert. Die Reagenzienlösungen werden kontinuierlich über eine peristaltische Pumpe gefördert.

Am ersten T-Stück wird das Säuleneluat mit der Säure HCl vereinigt und an einem weiteren T-Stück (T3) das Reduktionsmittel $NaBH_4$ zugeführt. Die Hydridbildung beginnt an diesem T-Stück und setzt sich in der Reaktionsstrecke sowie im Gas/Flüssig-Separator fort. Dabei kommt es durch die Volumenvergrößerung zu einer Druckerhöhung, die sich im GLS wieder abbauen kann. Im Separator werden gasförmige und flüssige Bestandteile getrennt. Die gasförmigen Hydride und Wasserstoff durchdringen die mikroporöse Membran zum Argonträgergas und werden über einen Schlauch direkt in den mittleren Kanal des Plasma-Brenners eingeführt. Die Rest-Flüssigkeit (Elutionsmittel und Reagenzien) läuft über eine Druckregelung ab. Am T-Stück T2 besteht die Möglichkeit, zusätzlich ein Reagenz einzuführen, was bei Optimierung der Reaktionsbedingungen (s. Kap. 4.3.2.) genutzt wurde.
Bei der kontinuierlichen Hydridbildung und einem Membran-GLS ist die Strömungsrate des Argon-Trägergases einer der wichtigsten Parameter, da diese sowohl den Analytdurchtritt durch die Membran als auch den Transport zum Plasma und die Anregungsbedingungen beeinflußt. Weil die für das ICP günstige innere Ar-Strömung um 1 L/min für den Membran-GLS wegen seiner Dimensionierung zu hoch liegt, wurde durch den Separator ein verringerter Argon-Strom als Transportgas geführt, der danach auf die für das ICP notwendige Größe erhöht wird. Das hatte auch den Vorteil, daß jeweils eine unabhängige Optimierung der Gasströme möglich war. Für das Trägergas im Membranseparator wurde als optimaler Wert eine Größe von 0,2 L/min ermittelt, für den inneren ICP-Gasstrom ergaben sich 0,85 L/min, so daß nach dem Membranseparator 0,65 L/min Ar zusätzlich eingespeist wurden. Für die Förderraten der Reagenzien bei einer Eluent-Flußrate von 1 mL/min erwiesen sich je 0,5 mL/min (R1, R2) bzw. 1 mL/min (R3) als adäquat entsprechend der Dimensionierung des Fließsystems und Separators.

4.3.2. Optimierung der Reaktionsbedingungen zur Hydridbildung

Das Ziel einer hohen Detektionsempfindlichkeit setzt eine möglichst vollständige Umsetzung der Analyte voraus. Es ist in der Literatur [143,146,147] gut dokumentiert, daß in kontinuierlichen Systemen die Effektivität der Hydridbildung für As(V) etwa 25 - 30 % unter der von As(III) liegt. In Fließinjektionssystemen wurden von B. Welz [143] für As(V) sogar 75 % niedrigere Werte (10 cm-Reaktionsstrecke, I.D. 1 mm) festgestellt. Deshalb ist es für die parallele Bestimmung mehrerer Spezies notwendig, diese Empfindlichkeitsunterschiede, die auch bei den organometallischen As-Spezies auftreten, auszugleichen und eine Vorreduktion zum dreiwertigen Oxidationszustand, der Form mit besserer Hydridbildungstendenz, vorzunehmen. Für As(V) finden dafür in Fließinjektionssystemen häufig Kaliumjodid und Ascorbinsäure Anwendung [105,148]. Probleme können aber bei der Analyse von Proben, die auch Selen enthalten, entstehen, da Kaliumjodid Se(IV) zum Element reduzieren kann und so die nachfolgende Hydridbildung verhindert. In Arbeiten von Chen et al. [149] zu Interferenzen bei Hydridbildung wurde weiterhin L-Cystein vorgeschlagen, das die Hydridbildung mit $NaBH_4$ verbessern bzw. zur Vorreduktion von As(V) dienen kann. Nach Le et al. [92] verändert Cystein den Mechanismus der Reaktion durch die Bildung von Zwischenprodukten, in denen

Arsen jeweils im Oxidationszustand (III) vorliegt, also bereits eine Vorreduktion abgelaufen ist. Der nachfolgende Reaktionsschritt mit $NaBH_4$ liefert die gasförmigen Arsine, die jedoch keine Thiol-Gruppen mehr enthalten [92]:

$$AsO(OH)_3 \xrightarrow{RSH} As(SR)_3 \xrightarrow{NaBH_4} AsH_3$$

$$(CH_3)_2AsO(OH) \xrightarrow{RSH} (CH_3)_2As(SR) \xrightarrow{NaBH_4} (CH_3)_2AsH$$

mit: $R = -CH_2CH(NH_2)COOH$ (Cystein)

Die Reaktion mit Natriumborhydrid kann damit einheitlich für alle Spezies vom Oxidationszustand (III) ausgehen; ein Schritt der Vorreduktion durch $NaBH_4$ entfällt.

Nach der konstruktiven Verbesserung des Interface (Membranseparator) wurde eine Erhöhung der Transfereffektivität der Analyte ins Plasma durch Verbesserung der Hydridbildungsreaktion angestrebt. Dazu wurde Cystein wegen seiner in [149] beschriebenen günstigen Eigenschaften ausgewählt und hier in die Untersuchungen mit dem Membran-GLS einbezogen. Es wird am T-Stück T2 (Abb. 4-3) nach HCl-Zugabe und vor Reduktionsmittel-Zufuhr und Reaktionsschleife zusätzlich eingespeist.

Die Optimierung des Systems mit dem Membranseparator wurde in on-line Kopplung mit der IC durchgeführt. Es wurden dazu jeweils die Peaks von As- und Se-Spezies einer Standardlösung nach ihrer chromatographischen Trennung ausgewertet. Das hat den Vorteil, daß analysenadäquate Bedingungen vorliegen und die Ursache beobachteter Intensitätsveränderungen unterschieden werden kann: verbesserte Empfindlichkeit (größere Peakfläche) oder erhöhte Grundlinie (z.B. durch veränderte Flußraten oder durch Verunreinigungen der eingesetzten Reagenzien).

Für dieses in den Abbildungen 4-1 und 4-3 dargestellte System wurden die Konzentrationen und Flußraten der zugeführten Reagenzien (Säure - HCl, Reduktionsmittel - $NaBH_4$, Additiv - Cystein) optimiert.

Abbildung 4-4/A zeigt exemplarisch den Einfluß der Säurekonzentration auf die Signalintensität (Peakfläche) von As(III), As(V), DMA und MMA (ohne Cystein). Zunächst werden in der Darstellung die Empfindlichkeitsunterschiede zwischen den Spezies deutlich, in denen sich die bekannt unterschiedliche Reaktivität von As(III) und As(V) bei Hydridbildung mit $NaBH_4$ widerspiegelt. Die Intensitäten von As(III), DMA, MMA steigen schnell an mit steigender HCl-Konzentration, wobei As(III) einen konstanten Wert oberhalb 1 mol/L erreicht. Die Kurve für As(V) steigt dagegen viel langsamer und erreicht bei 5 mol/L HCl nur maximal 70 % des Wertes von As(III). DMA und MMA durchlaufen bei 1 mol/L HCl ein Maximum und zeigen danach wieder abfallende Intensitäten. Bei allen Säurekonzentrationen im untersuchten Bereich zwischen 0 und 5 mol/L liegen die Empfindlichkeiten von DMA, MMA, As(V) unter der von As(III). Das bedeutet, daß optimale Reaktionsbedingungen für alle Spezies gleichermaßen nicht festgelegt werden können.

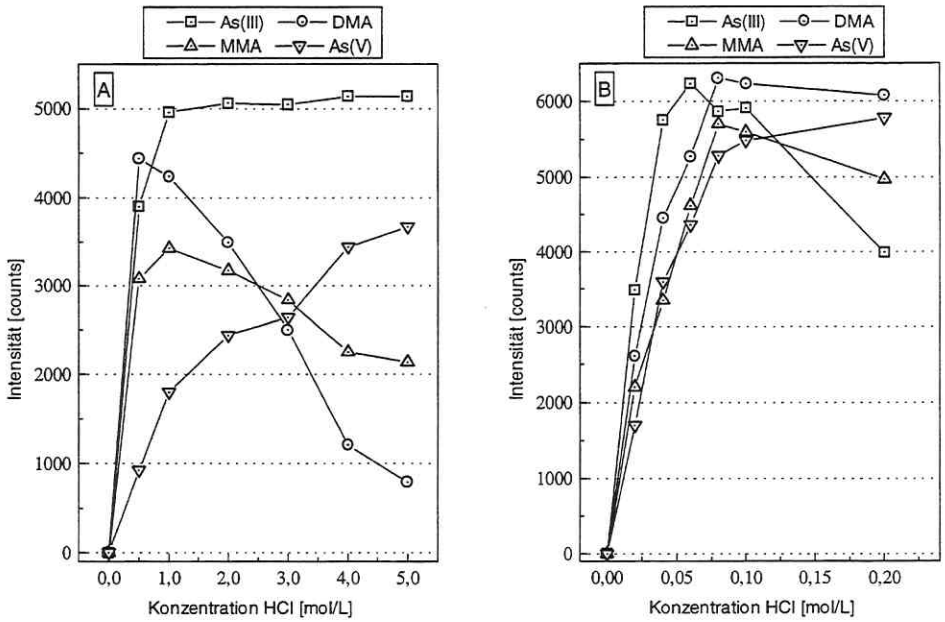


Abb. 4-4: Abhängigkeit der Signalintensität von der Salzsäurekonzentration.
A – ohne Cystein ($NaBH_4$ 1,3 %); B – mit L-Cystein 2,1 % ($NaBH_4$ 1,5 %); (Flußraten s. Tab. 4-1)

Die Effektivität der Hydridbildungsreaktion aller Spezies konnte auch durch eine höhere Konzentration an Reduktionsmittel $NaBH_4$ verbessert werden; ein Limit der Konzentrationssteigerung war aber durch die Praktikabilität vorgegeben, da als Nebenreaktionen eine verstärkte Wasserstoffentwicklung abläuft. Das zog eine Veränderung der Druckverhältnisse im Membranseparator und der Plasmabedingungen nach sich: Einerseits geht mehr H_2 in den Ar-Strom zum Plasma über, andererseits steigt der Druck im Gas/Flüssigkeits-Reaktionsgemisch und erhöht die Fließgeschwindigkeit bzw. Analytverluste durch Austrag über den Ablauf. Ein erhöhter Anteil von Wasserstoff im Argonplasma verändert die Plasmazusammensetzung, und es war festzustellen, daß auch die Stabilität insgesamt beeinträchtigt wurde. Wenn apparativ möglich, können die Störungen durch den Wasserstoffeintrag dadurch vermindert werden, daß das ICP mit erhöhten Leistungen (3 - 5 kW) betrieben wird, wie von Broekaert et al. [150] gezeigt. Das für unsere Untersuchungen eingesetzte Plasmaquant PQ-100 konnte mit maximal 2,1 kW betrieben werden. Ein zu hohes Druckniveau im Separator kann auch dazu führen, daß Flüssigkeit durch die Membran hindurchdringt. Solche Flüssigkeitstropfen werden dann spontan ins Plasma transportiert und verursachen ein erhöhtes Rauschen.

In Abb. 4-4/B ist die Signalintensität in Abhängigkeit der Säurekonzentration dargestellt, wenn der Reaktionslösung L-Cystein zugeführt wird. Die beobachteten Empfindlichkeitsunterschiede zwischen den Spezies sind viel geringer. Gute Resultate konnten bei Konzentrationen von 1,8 - 2,5 % Cystein erzielt werden. Wie zu ersehen ist (Abb. 4-4/B), werden günstige Reaktionsbedingungen für die Hydridbildung bereits bei wesentlich niedrigeren HCl-Konzen-

trationen (> 0,05 mol/L) erreicht. Die Intensität von As(V) steigt unter Cysteineinfluß schneller an. As(III) durchläuft ein Maximum, seine Intensität sinkt bei weiterer Erhöhung der HCl-Konzentration merklich ab. Die gebildeten Organo-Schwefel-Derivate von As im Oxidationszustand (III) benötigen zur Reaktion mit $NaBH_4$ offensichtlich ähnliche Bedingungen, wie an den geringen Intensitätsunterschieden im Konzentrationsbereich 0,07 - 0,1 mol/L HCl sichtbar. Ebenfalls kann eine höhere Reaktionsgeschwindigkeit festgestellt werden, was plausibel ist, da bekanntermaßen die Arsinbildung vom Oxidationszustand (III) schneller als von (V) abläuft und mit Cystein bereits eine Vorreduktion der As-Spezies As(V), DMA und MMA erfolgt ist, so daß für die Reaktion mit $NaBH_4$ gleiche Verhältnisse vorliegen. Diese schneller ablaufende Reaktion ist hier sehr vorteilhaft, da im Fließsystem nur eine begrenzte Verweil- und damit Reaktionszeit realisiert werden kann.

Optimale Bedingungen der Hydridbildung im beschriebenen System werden bei 2,1 % Cystein und 0,08 mol/L HCl erreicht.

Die erwähnten unerwünschten Effekte, verursacht durch Wasserstoff-Freisetzung, sind auch teilweise bei Zusatz von Cystein zu beobachten, allerdings verläuft die H_2-Entwicklung aufgrund der verminderten HCl-Konzentration deutlich moderater. Das System arbeitet stabiler und Druckpulsationen rufen im Plasma keine Veränderungen hervor.

Ionenchromatographie	*(IC)*		
Trennsäule	PRP X-100	Eluent	5 mmol/L
Injektionsvolumen	100 µL	Phosphat	pH 6,0
Fließinjektion			
IC-Eluat	1,0 mL/min	$NaBH_4$-Flußrate	1 mL/min
HCl-Flußrate	0,5 mL/min	Cystein-Flußrate	0,5 mL/min
Arsin-Bildung (HG)			
HCl-Konzentration[a)]	0,08 mol/L	Cystein-Konzentration[a)]	2,1 %
$NaBH_4$-Konzentration[a)]	1,5 %	Reaktionsstrecke	0,3 m; I.D.= 0,75 mm
Detektion (ICP-AES)			
Wellenlänge [nm]	As 193,6; Se 196,0	Plasma	2100 W
Beobachtungshöhe	7,5 mm über Spule	Integrationszeit	1,25 s
Plasma-Gase	PLA 11,5; AUX 0,55;	Datenaufzeichnungsrate	0,5 Hz
Argon [L/min]	NEB 0,65	Transportstrom Argon	0,2 L/min

[a)] – Konzentration der zugeführten Lösung

Tab. 4-1: Zusammenfassung der experimentellen Bedingungen für IC – HG - ICP-AES unter Nutzung des Membran- Gas/Flüssig-Separators (s. Abb. 4-3)

4.3.3. Diskussion und Bewertung des Verfahrens IC – HG - ICP-AES

Die Anwendung des konstruierten Membran-Gas/Flüssig-Separators verbessert in der Kopplung IC – HG - ICP-AES sowohl die Nachweisstärke als auch die Reproduzierbarkeit der Messungen im Vergleich mit einem früher eingesetzten System mit U-Rohr-Separator [135,136]. Der Hauptgrund liegt darin, daß der Eintrag von Wassertröpfchen zusammen mit den Analytgasen ins Plasma verhindert wird, wodurch die Systemstabilität steigt und Rauscheinflüsse vermindert werden.

Um Empfindlichkeitsunterschiede zwischen den Spezies auszugleichen und insbesondere die Empfindlichkeit für As(V) zu verbessern, wurde eine Vorreduktion in die Methode integriert und dazu Cystein ausgewählt. Cystein beschleunigt den Reaktionsablauf, was wichtig für den Einsatz bei einer on-line Reduktion ist. Gute Resultate wurden mit einer Konzentration von ca. 2 % L-Cystein erreicht.

Für ein vermindertes Rauschen ist auch eine gleichmäßige Hydridbildungsreaktion sowie Wasserstoffentwicklung wichtig, um Druckschwankungen im System zu verhindern. Dies erwies sich als problematischer Punkt, da eine Druckregelung zwischen Argon-Transportgas und der Reaktionszone (mit Gemisch aus Flüssigkeit und Gas) nur schwer realisierbar ist. Insofern war die Verwendung von Cystein besonders günstig, weil zusammen mit der dabei eingesetzten verminderten Säurekonzentration eine geringere und gleichmäßigere Gasentwicklung erreicht wurde. So konnte eine Art "Pulsation" durch erhöhten Gasübertritt ab einem Druckniveau auf Reaktionsstreckenseite und nachfolgendem Abfall mit Auswirkung auf die Anregungsbedingungen im Plasma verhindert werden.

Von den beiden anorganischen Selenspezies Se(IV) und Se(VI) kann im Chromatogramm der HG - ICP-AES nur Se(IV) erfaßt werden. Se(VI) ist der Hydridbildung nicht direkt zugänglich. Üblicherweise wird bei HG-AAS eine (Vor-) Reduktion von Se(VI) zu Se(IV) in konzentrierter salzsaurer Lösung unter Erhitzen in kochendem Wasserbad für 10 bis 30 min vorgenommen [105,151]. Eine solche lange Verweilzeit ließe sich in einer Reaktionsschleife nur unter Aufhebung der erfolgten Trennung realisieren, so daß eine Vorreduktion von Se(VI) im on-line-Modus im Anschluß an eine chromatographische Trennung auf diesem Wege daher nicht durchführbar ist. In einer Kopplung mit HG-AAS wurde dagegen jüngst die Reduktion durch die Einbeziehung eines Mikrowellenaufschlusses ermöglicht [152].

Auch andere wichtige Organoarsen-Verbindungen wie AsBet, AsChol bilden unter den üblichen Reaktionsbedingungen mit $NaBH_4$ keine gasförmigen Hydride. Von Le et al. [153] wurde für diese Verbindungen ein oxidativer Aufschluß mit Umsetzung der Spezies zu As(V) angewendet. Vor der Analyse durch HG-AAS wurde die Reaktion mikrowellenunterstützt mit Kaliumpersulfat / NaOH im Batch-Verfahren durchgeführt. Auch diese Aufschlußprozedur läßt sich nur schwer on-line verwirklichen, so daß solche As-Spezies wie Se(VI) am Detektor nicht registriert würden.

Für die chromatographische Trennung wurde die Anionenaustauschersäule PRP-X 100 (Macherey-Nagel) [136,154,155] eingesetzt (Abb. 4-5), die mit einem Phosphat-Eluenten (5 mmol/L, pH 6,0) betrieben wurde.

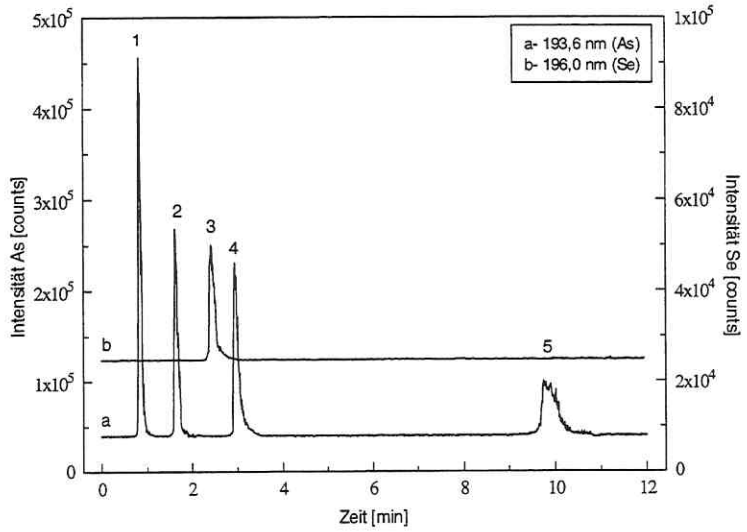


Abb. 4-5: Chromatogramm einer Standardlösung, IC – HG - ICP-AES.
Signale: 1 – As(III), 2 – DMA, 3 – Se(IV), 4 – MMA, 5 – As(V). (Konzentrationen je 0,5 µg/mL; Trennsäule PRP X-100, Exp. Bed. Tab. 4-1)

Unter den optimierten Analysenbedingungen wurden für die Spezies Nachweisgrenzen ermittelt, die sich zwischen 8 ng/mL (As(III)) und 14 ng/mL (As(V)) bewegen. Für DMA ergab sich 11 ng/mL, für MMA 10 ng/mL sowie für Se(IV) 12 ng/mL. Im Vergleich zu der einleitend beschriebenen Technik mit U-Rohr-Separator und ohne Cysteineinsatz konnten somit die Nachweisgrenzen für As(III) um Faktor 3, für die übrigen Spezies um mindestens Faktor 12 verbessert werden. Die Reproduzierbarkeit der Signalflächen lag zwischen 3 und 8 % RSD. Dieses Analysenverfahren ist damit geeignet für Problemstellungen der Speziation ausgewählter Verbindungen mit Konzentrationen im mittleren ng/mL-Bereich. Dabei kann es vorkommen, daß die Nachweisgrenzen für viele Grund- und Oberflächenwässer nicht ausreichend sind, da die Arsen- und Selen-Verbindungen häufig in wesentlich niedrigeren Konzentrationen vorliegen. Für solche Anwendungen zeigt sich, daß die ICP-AES als kostengünstigeres Detektionsverfahren gegenüber ICP-MS nicht universell in Kopplung mit IC einsetzbar ist. Nachteile bestehen auch bei der Erfassung von Organo-Arsenverbindungen wie Arsenobetain und von Se(VI). Deshalb ist es notwendig, alternative elementspezifische Detektionsverfahren mit der Ionenchromatographie zu koppeln, die insgesamt bessere Nachweisstärken liefern und damit auch die Hydridbildungsreaktion vermeidbar machen. Eine solche Kopplung wird mit ICP-MS aufgebaut und in Kapitel 4.4. behandelt.

Die hier erhaltenen Ergebnisse, die bei Kopplung zwischen IC und ICP-AES die Hydridbildungsreaktion zur Empfindlichkeitssteigerung ausnutzen, zeigen den positiven Einfluß von Cystein zur Vorreduktion und bestätigen von Chen et al. [149] bei der batch-Reduktion gemachte Beobachtungen. Mit dem Einsatz von Cystein wurden die Empfindlichkeiten für die Spezies As(V), DMA und MMA erhöht und der von As(III) angeglichen.

4.4. Kopplung von Ionenchromatographie mit Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS)

4.4.1. Problemstellung

Unter der Zielstellung, eine Methode mit nachweisstarker elementspezifischer Detektion für die Ionenchromatographie zur Bestimmung von As- und Se-Spezies zu entwickeln, wurde durch Anwendung der Hydridtechnik in der Kopplung IC – ICP-AES gegenüber pneumatischer Zerstäubung die Nachweisstärke für die As- und Se-Spezies verbessert (Kap. 4.3.), jedoch mußten Reaktivitätsunterschiede der Verbindungen beachtet werden. Einige Spezies wie AsBet, AsChol oder Se(VI) sind der Hydridbildung on-line nicht zugänglich und werden daher nicht erfaßt.

Deshalb sollte die *massenspektrometrische* Detektion zur Bestimmung der chromatographisch getrennten Spezies eingesetzt werden. Dazu mußten folgende Aufgaben gelöst werden: • Realisierung und Optimierung der Kopplung; • Auswahl und Optimierung geeigneter Trennsysteme; • Optimierung relevanter Parameter von ICP-MS-Detektion und Kopplung (incl. Matrixeffekten des Eluenten auf den Detektor, Interferenz durch $ArCl^+$); • Ermittlung der mit dieser Technik erreichbaren Nachweisgrenzen für As- und Se-Spezies.

4.4.2. Aufbau der Kopplung und Auswahl des Trennsystems

Die Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) ist ein Analysenverfahren, das mit der gleichen Anregungsquelle wie ICP-AES, einem Argonplasma, arbeitet und eine sehr hohe Nachweisstärke bei Elementbestimmungen aufweist [156]. Das Plasma dient dabei als Ionenquelle für das Masssenspektrometer, im Gegensatz zur ICP-AES, wo die Anregung von Atomen zur Strahlung ausgenutzt wird. Die Übertragung einer Methode von ICP-AES zu ICP-MS läßt sich wegen der Gleichheit der Anregungsquelle prinzipiell einfach vornehmen. Jedoch können bei der ICP-MS-Detektion andere physikalische und chemische Matrixeffekte auftreten, weshalb die Auswahl einer geeigneten chromatographischen Trennmethode vorgenommen werden muß.

Die Kopplung von IC mit der ICP-MS läßt gegenüber der Bestimmung mit Zerstäubungs- bzw. Hydrid- ICP-AES von vornherein eine Reihe von Vorteilen erwarten: Die Nachweisstärke des massenspektrometrischen Detektors ist bedeutend größer, so daß die pneumatische Zerstäubung trotz ihrer nicht hohen Zerstäubungseffektivität zur Analytüberführung ins Plasma eingesetzt und die Derivatisierung der Analyte zu Hydriden vermieden werden kann. Das bedeutet Verzicht auf den zusätzlichen Chemikalieneinsatz zur Hydriderzeugung (mit hohem Reagenzienverbrauch, $NaBH_4$ und HCl in besonderen Reinheitsstufen) und auf Kontaminationsgefahr. Der Eintrag von H_2 als "Störgas" ins Argonplasma wird vermieden. Die pneumatische Zerstäubung besitzt den Vorzug, daß Spezies bei der Analytüberführung nicht aufgrund unterschiedlicher Reaktivität diskriminiert oder völlig ausgeschlossen werden. Die angestrebte Kopplung wurde mit einem Cross-flow - Zerstäuber realisiert, der aus dem Säuleneluat kontinuierlich ein Aerosol erzeugt, das zum Plasma transportiert wird. Der gewählte Aufbau ist schematisch in Abb. 4-6 dargestellt. Apparative Parameter des ICP-MS - Systems,

unter denen die im folgenden beschriebenen Messungen vorgenommen wurden, sind in Tab. 4-2 angeführt.

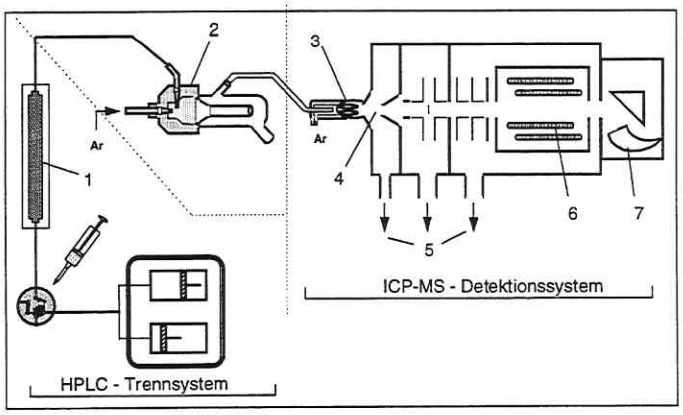


Abb. 4-6: Schematischer Aufbau der Kopplung IC – ICP-MS.
1 – IC-Trennsäule; 2 – Cross-flow-Zerstäuber/Aerosolkammer; 3 – Argonplasma (ICP); 4 – Einlaßsystem MS (Sampler, Skimmer); 5 – Vakuumpumpen; 6 – Quadrupol; 7 – Elektronenvervielfacher

Detektionsmassen	^{75}As und ^{77}Se (bzw. ^{31}P od. ^{79}Br	Plasma	1000 W
		Argon-Gasströme	PLA 15,0; AUX 0,82;
Integrationszeit	1,0 s	[L/min]	NEB[a)] 0,86 - 0,95
Datenaufzeichnungsrate	0,5 Hz	Aerosolerzeugung	Cross-flow

[a)]- tägliche Optimierung

Tab. 4-2: Apparative Parameter der ICP-MS - Detektion in der Kopplung mit IC

Die Nutzung des ICP-MS als Detektor verlangt im Vergleich zu anderen Detektoren eine besondere Abstimmung mit der chromatographischen Trennmethode. Da die ICP-MS ein sehr nachweisstarkes System ist, sollte die Menge der in das Plasma eingetragenen Matrix-Ionen möglichst nicht extrem hoch liegen (Matrixeffekte, 3.1.3.). Im normalen diskontinuierlichen Betrieb der ICP-MS werden die Probenlösungen i.allg. im Wechsel mit einer Lösung verdünnter Salpetersäure zerstäubt, wobei letztere nach dem kurzzeitigen Eintrag der Probe ins Plasma zum Spülen von Sprühkammer und Aerosolweg dient. Bei einer on-line Kopplung mit dem Chromatographen wird das MS-Einlaßsystem und Ionentrennsystem bei unter Umständen hoher Eluentkonzentration jedoch *kontinuierlich* mit einer großen Anzahl von Eluent-Atomen "bombardiert", die die Detektion der Analytatome beeinträchtigen können. Es sollte daher mit geringer Eluentkonzentration gearbeitet werden, auch im Hinblick auf die Vermeidung von Salzablagerungen bzw. Verstopfung der Einlaßöffnungen und der Verhinderung von Matrixeffekten durch hohe Fremdionenkonzentration. Weiterhin kann ein hoher Kohlenstoffeintrag ins Plasma durch organische Lösungsmittel zu Instabilitäten führen, so daß der chromatographische Eluent aus einer überwiegend wässrigen Lösung bestehen sollte [75].

Unter Berücksichtigung dieser Vorgaben wurden für die Trennung zwei Ionenaustauscher-Säulen der Serie IonPac, AS7 und AS4A-SC (Fa. Dionex), ausgewählt, weil sie mit Eluentsystemen aus Carbonat bzw. Salpetersäure, die sehr günstig für ICP sind, betrieben werden können. Sie zeigten nach unserer Erfahrung im übrigen auch gute Belastbarkeit und Lebensdauer in der Serienanalytik im Labor [157].

4.4.3. Chromatographische Trennung mit der Trennsäule IonPac AS7

Die Trennsäule IonPac AS7 gehört zum Typ der pellikularen Anionenaustauscher [44], besteht aus einem Trägermaterial von 10 µm-Teilchen und besitzt eine hohe Austauschkapazität. Sie wird hauptsächlich eingesetzt für Trennungen von polyvalenten Anionen wie Polyphosphaten oder von Kohlenhydraten [44]. Kohlenhydrate werden dabei mit Natronlauge/Carbonat-Eluenten (0,1 - 0,15 mol/L) getrennt, während z.B. Polyphosphonsäuren mit verdünnter Salpetersäure retardiert werden können [44,158]. Durch den niedrigen pH-Wert wird dabei die Dissoziation der Verbindungen zurückgedrängt (teilweise Protonierung) und die Trennung durch Adsorptions-Wechselwirkungen realisiert.

Auf dieser Basis sollte für die Arsen-Speziation eine Methode zur isokratischen Trennung erarbeitet werden. Das saure Medium kann nützlich sein für bestimmte Anwendungen, in denen die Proben nicht den bei der As-Speziation sonst üblichen alkalischen Bedingungen ausgesetzt werden sollen.

4.4.3.1. Optimierung der Trennung im sauren Medium

Untersucht wurde zunächst ein stark saurer Eluent aus verdünnter Salpetersäure, der eine hohe Elutionskraft wegen seiner Acidität und dem Gehalt an Nitrationen besitzt. Chromatogramme, die mit HNO_3-Eluenten unterschiedlicher Konzentration (50, 12,5, 6,25, 3,125 mmol/L) erhalten wurden, sind in Abb. 4-7 dargestellt. Wie aus Abb. 4-7/A ersichtlich, kann mit einer mobilen Phase von 50 mmol/L Salpetersäure eine Trennung der Spezies As(III), As(V) und PhAs beziehungsweise DMA und oAPAs nicht erreicht werden.

Wenn die HNO_3-Konzentration sukzessive vermindert wird, erhöht sich insgesamt die Retention der Verbindungen deutlich und verbessert sich die Auflösung der Signale (4-7/B, C). Die Gesamtanalysendauer kann dabei durch eine Steigerung der Flußrate von 0,5 mL/min (HNO_3 50 mmol/L, Abb. 4-7/A) auf 0,85 mL/min (HNO_3 12,5, 6,25, 3,125 mmol/L, Abb. 4-7/B - D) in Grenzen gehalten werden, wobei die Druckstabilität des Säulenmaterials eine weitere Steigerung nicht zuläßt. Bei 3,125 mmol/L sind die meisten Signale gut aufgelöst (Abb. 4-7/D). Nur das Paar DMA/oAPAs ist mit einer Auflösung von $R_S < 1$ noch nicht ausreichend getrennt. Die meisten Spezies liegen bei diesen Bedingungen des Eluenten (pH 1,5 - 2,5) undissoziiert vor und können folglich nur Adsorptions-Wechselwirkungen mit dem Säulenmaterial eingehen. Ihre Retention wird mit steigendem pH-Wert (sinkende HNO_3-Konzentration) proportional erhöht, wie in Abb. 4-8/A zu sehen ist. Von den Arsen-Spezies wird in

diesem Bereich nur der Dissoziationszustand von As(V) (pK_S-Wert 2,1) verändert. Deshalb ändert sich die Selektivität nur bezüglich As(V). In Abb. 4-7 ist zusätzlich das bei der Methodenoptimierung aufgezeichnete Signal von ^{31}P dargestellt, das einen Peak für das der Standardlösung beigegebene Phosphation liefert. An den gleichen Retentionszeiten von As(V) und Phosphat in allen Fällen wird die enge strukturelle und chemische Ähnlichkeit beider Verbindungen deutlich. Wegen der eingesetzten elementspezifischen Detektion stellt eine solche Signalüberlagerung für die Auswertung jedoch kein Problem dar.

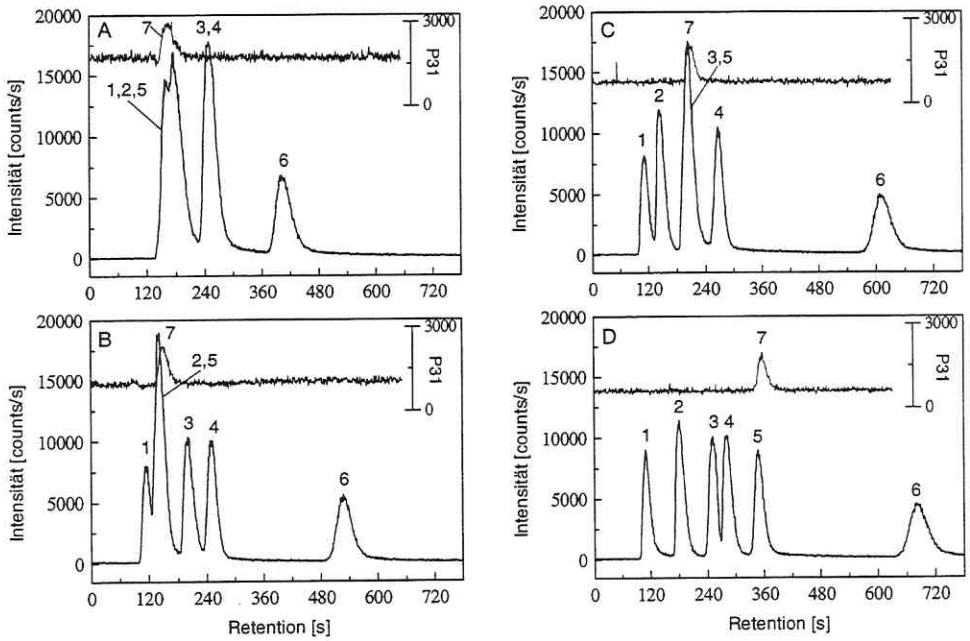


Abb. 4-7: Chromatogramme IC – ICP-MS, Einfluß der Eluent-Konzentration HNO_3 auf die Retention.

Konzentration HNO_3: A – 50 mmol/L (0,5 mL/min); B – 12,5 mmol/L (0,85 mL/min); C – 6,25 mmol/L (0,85 mL/min); D – 3,125 mmol/L (0,85 mL/min);

Spezies (je 0,2 µg/mL): 1 – As(III), 2 – PhAs, 3 – oAPAs, 4 – DMA, 5 – As(V), 6 – pAPAs; weiteres Ion: 7 – $H_3PO_4/H_2PO_4^-$ (Säule AS7/AG7, Inj. 20 µL; ICP-MS: m/z= 75, m/z= 31, Integr.Zeit 250 ms, Datenaufzeichnung 1 Hz)

Um die Trennung der Signale von DMA und oAPAs zu verbessern, käme eine weitere Verminderung der Konzentration von HNO_3 und damit pH-Erhöhung in Betracht. Dies würde die Gesamtanalysenzeit jedoch deutlich erhöhen. Deshalb wurde der mobilen Phase Natriumnitrat zugesetzt, wodurch die Elutionskraft wieder erhöht werden konnte, ohne den pH-Wert des Eluenten zu verändern.

In Abbildung 4-8/B ist die Retentionszeit in Abhängigkeit der $NaNO_3$-Konzentration in 3,125 mmol/L Salpetersäure dargestellt. Die Elutionsgeschwindigkeit aller Spezies steigt mit wachsender Nitrat-Konzentration, woran deutlich wird, daß neben dem pH-Wert auch das Nitration

retentionsbestimmend ist. Im untersuchten Bereich ändert sich nur bezüglich DMA die Selektivität (veränderte Peakfolge zwischen 0 und 0,75 mmol/L). Im vorderen Bereich des Chromatogramms verschlechtert sich die Auflösung bei schnellerer Elution allerdings, so daß weitere Optimierungen unter Zugabe von $NaNO_3$ bei verminderter Säurekonzentration vorgenommen wurden. Optimale Bedingungen werden mit einem Eluenten erreicht, der zu gleichen Teilen (je 1,5 mmol/L) aus Salpetersäure und Natriumnitrat besteht (Chromatogramm Abb. 4-9). Die erhaltenen Retentionszeiten und Nachweisgrenzen sind in Tab. 4-3 angeführt.

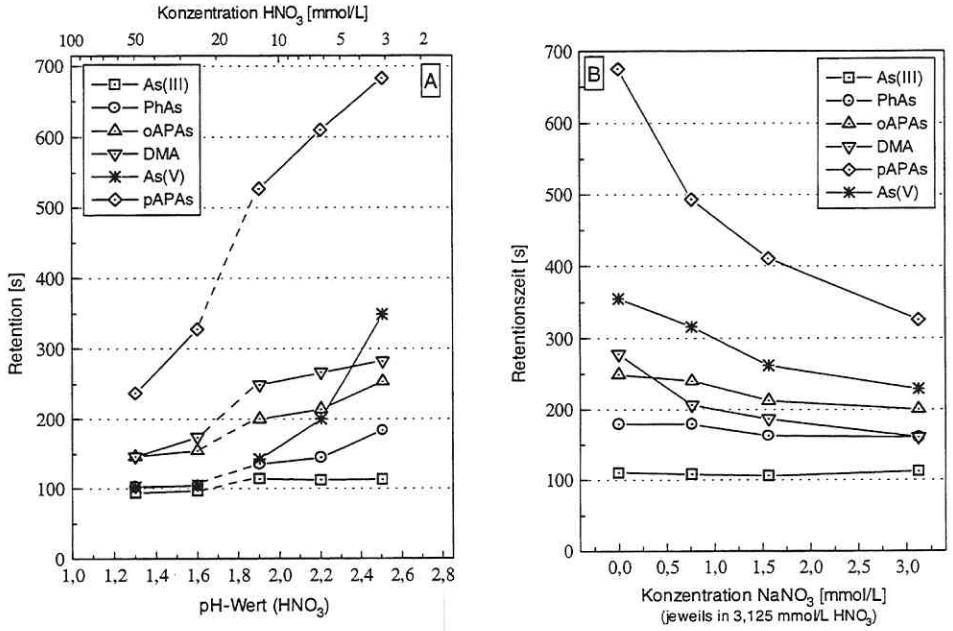


Abb. 4-8: Retentionszeit von As-Spezies an IonPac AS7 in Abhängigkeit von der Eluentzusammensetzung, IC – ICP-MS. A – Eluent HNO_3; B – Eluent $HNO_3/NaNO_3$ (Bed. s. Abb. 4-7)

Signal	1	2	3	4	5	6
Spezies	As(III)	DMA	PhAs	oAPAs	pAPAs	As(V)
Retention[a)] [s]	113	167	230	283	351	420
Empfindlichkeit[b,c)] [counts/ng]	449,4	542,2	415,9	522,5	408,5	464,6
NWG[c)] [ng/mL]	0,53	0,44	0,58	0,46	0,88	0,57

[a)]- Flußrate 0,85 mL/min; [b)]- Peakfläche; [c)]- Injektionsvolumen 20 µL

Tab. 4-3: Retentionszeiten und Nachweisgrenzen der Spezies, IC – ICP-MS, chromatographische Trennung mit Säule IonPac AS7/AG7; (Exp. Bedingungen s. Abb. 4-9).

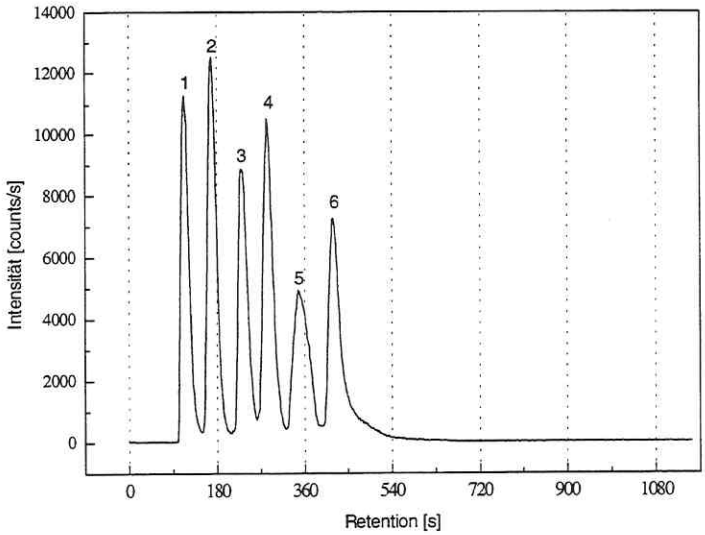


Abb. 4-9: Isokratische chromatographische Trennung an AS7 mit saurem Eluentsystem, (IC – ICP-MS).
(Bedingungen: Eluent HNO_3 1,5 mmol/L, $NaNO_3$ 1,5 mmol/L, 0,85 mL/min; Spezies je 0,5 µg/mL; ICP s. Tab. 4-2); Signale siehe Tab. 4-3.

Damit ist bei isokratischer Arbeitsweise eine schnelle Trennung der Spezies As(III), DMA, PhAs, oAPAs, pAPAs und As(V) innerhalb von 10 min möglich. AsBet und AsChol haben stärkere adsorptive Wechselwirkungen wegen des organischen Grundgerüstes, letztere Verbindung eluiert nach 1528 s.
Ein generelles Problem vieler in der Literatur beschriebener Trennmethoden ist die sehr schnelle Elution von As(III) und geringe Trennung vom Totvolumen der Säule. Das bedeutet, daß in diesen Fällen kein sicheres Kriterium zur Identifizierung von As(III) vorliegt, da andere, eventuell unbekannte As-Verbindungen ebenfalls unretardiert eluiert werden können. Deshalb ist es wichtig, bei Analyse unbekannter Proben eine Methode für Referenzanalysen verfügbar zu haben, bei der As(III) stärker retardiert wird. Dies läßt sich über ionische Wechselwirkungen erreichen und bedeutet, entsprechend dem pK_S-Wert, daß ein Elektrolytsystem im alkalischen Bereich gewählt werden muß.

4.4.3.2. Optimierung der Trennung im alkalischen Medium

Das Ziel weiterer Untersuchungen zur Trennung der Verbindungen besteht darin, auch die Spezies AsBet und AsChol zu erfassen, As(III) besser über seine Retentionszeit zu identifizieren sowie Möglichkeiten für die Analyse von Proben zu finden, die nicht in saurem Milieu behandelt werden können. Die Ionentrennsäule IonPac AS7 ist in diesem Sinne vorteilhaft, da sie sowohl mit sauren als auch alkalischen Eluenten betrieben werden kann. Als "Standard-Eluent" empfiehlt der Hersteller eine mobile Phase aus Natriumcarbonat/Natriumhydrogencarbonat [159]. Um die Retention von As(III) zu erhöhen, wurde unter alkalischen

Bedingungen mit 2,2 mmol/L $NaHCO_3$/ 2,8 mmol/L Na_2CO_3 ein Chromatogramm der isokratischen Trennung der Spezies AsBet, DMA, As(III), AsChol, MMA, PhAs und As(V) aufgenommen, dargestellt in Abb. 4-10. Sichtbar ist die gute Trennung des As(III) vom Totvolumen und von benachbarten Peaks, so daß auf diesem Wege eine sicherere Identifizierung als im Falle der Elution mit $HNO_3/NaNO_3$ möglich ist. Das As(III)-Signal zeigt ein leichtes Tailing, das jedoch nicht störend wirkt, da zur nächstfolgenden Komponente (AsChol) eine Zeitdifferenz von 260 s besteht.

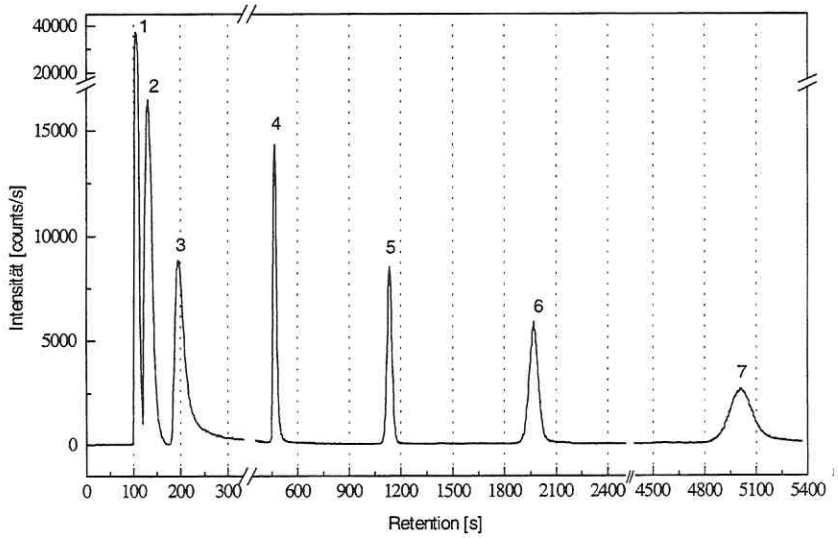


Abb. 4-10: Isokratische chromatographische Trennung an AS7 mit alkalischem Eluentsystem (IC – ICP-MS).
(Bedingungen: Eluent $NaHCO_3$ 2,2 mmol/L, Na_2CO_3 2,8 mmol/L, 0,85 mL/min; Spezies je 0,5 µg/mL; ICP s. Tab. 4-2); Signale siehe Tab. 4-4.

Signal	1	2	3	4	5	6	7
Spezies	AsBet	DMA	As(III)	AsChol	MMA	PhAs	As(V)
Retention[a)] [s]	104	131	195	464	1134	1972	5012
Empfindlichkeit[b,c)] [counts/ng]	742,2	615,3	571,6	733,6	595,4	736,6	904,4
NWG[c)] [ng/mL]	0,33	0,39	0,43	0,33	0,41	0,33	1,25

[a)]- Flußrate 0,85 mL/min; [b)]- Peakfläche; [c)]- Injektionsvolumen 20 µL

Tab. 4-4: Retentionszeiten und Nachweisgrenzen der Spezies, IC – ICP-MS, chromatographische Trennung mit Säule IonPac AS7/AG7; (Exp. Bedingungen s. Abb. 4-10)

Die Elutionsdauer für As(V) ist beträchtlich verlängert, da solche stärker dissoziierten Spezies sehr starken ionischen Wechselwirkungen mit der stationären Phase unterliegen. Auch PhAs hat mit 1972 s eine sehr lange Retentionszeit.

Mit dem Ziel einer beschleunigten Elution wurde deshalb ein weiterer Eluent eingesetzt, der

einen höheren Anteil Carbonat und 40 mmol/L NaOH enthält. Während Hydroxidionen bezüglich ihrer Elutionskraft eher als schwach einzuschätzen sind, besitzt das Carbonat-Ion eine hohe Elutionswirkung [44]. Natronlauge wird zur Einstellung des pH-Wertes zugesetzt. Im Ergebnis wird mit einer Carbonat-Konzentration von 5 mmol/L in 40 mmol/L NaOH eine kürzere Analysenzeit erreicht, als im Falle des Carbonat/Hydrogencarbonat-Eluenten (Abb. 4-11). Zur Verminderung von Adsorptions-Wechselwirkungen, die für ein erhöhtes Tailing des As(III)-Peaks verantwortlich waren, wurde Methanol (4 %) zugesetzt. Damit konnte gleichzeitig eine Steigerung der Signalintensität erreicht werden. Die Elutionsreihenfolge verändert sich im Vergleich zum Carbonat/Hydrogencarbonat-Eluenten nicht. As(V) konnte unter den gewählten Bedingungen nicht eluiert werden, was auf die dreifache Ladung des Arsenations zurückgeführt werden muß. In Abb. 4-11 sind 7 As-Spezies innerhalb 24 min getrennt. PhAs wird bei 1022 s und damit innerhalb eines wesentlich kürzeren Zeitraumes als im Beispiel Abb. 4-10 eluiert.

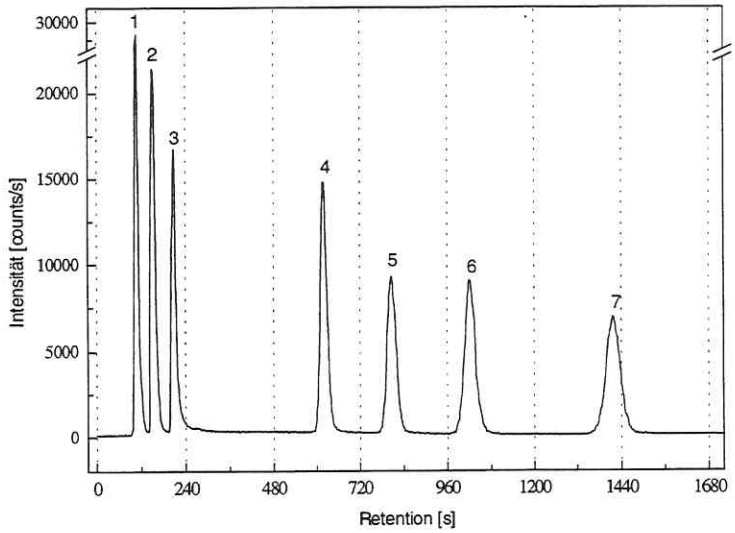


Abb. 4-11: Isokratische chromatographische Trennung an AS7 mit alkalischem Eluentsystem, (IC – ICP-MS).

(Bedingungen: Eluent Na_2CO_3 5,0 mmol/L, NaOH 40 mmol/L, MeOH 4 %, 0,85 mL/min; Spezies je 125 ng/mL; ICP s. Tab. 4-2); Signale siehe Tab. 4-5.

Signal	1	2	3	4	5	6	7
Spezies	AsBet	AsChol	As(III)	MMA	pAPAs	PhAs	oAPAs
Retention[a)] [s]	106	151	209	620	807	1022	1417
Empfindlichkeit[b,c)] [counts/ng]	2464	2469	1999	2530	2114	2518	2595
NWG[c)] [ng/mL]	0,10	0,10	0,12	0,22	0,27	0,22	0,30

[a)]- Flußrate 0,85 mL/min; [b)]- Peakfläche; [c)]- Injektionsvolumen 20 µL

Tab. 4-5: Retentionszeiten und Nachweisgrenzen der Spezies, IC – ICP-MS, chromatographische Trennung mit Säule IonPac AS7/AG7; (Exp. Bedingungen s. Abb. 4-11).

4.4.3.3. Bewertung der Leistungsfähigkeit

DieTrennsäule IonPac AS7 bietet, wie demonstriert wurde, vielseitige Möglichkeiten zur Trennung von Arsen-Spezies, sowohl im sauren als auch im alkalischen Medium.

Zur isokratischen Trennung unter sauren Bedingungen wurde eine mobile Phase bestehend aus $HNO_3/NaNO_3$ (1,5/1,5 mmol/L, pH 2,9) optimiert. Innerhalb von 10 min werden die beiden anorganischen Spezies As(III) und As(V) sowie vier Organoarsenverbindungen getrennt. Diese Trennung beruht hauptsächlich auf Adsorptions-Wechselwirkungen mit der stationären Phase, die höchste Retentionszeit der untersuchten Verbindungen (Abb. 4-9) zeigt As(V) vor pAPAs. Bei alkalischen Eluenten erfolgt die Trennung der dann dissoziiert vorliegenden Verbindungen dagegen überwiegend durch Ionenaustausch-Wechselwirkungen, wodurch eine veränderte Selektivität erreicht wird. Demonstriert wurde die Trennung an einem "Standard"-Eluenten aus $NaHCO_3/Na_2CO_3$ (Abb. 4-10). Unter diesen Bedingungen werden auch die in biologischen Prozessen gebildeten Spezies AsBet und AsChol erfaßt. Die Identifizierung von As(III) wird verbessert, da es deutlich vom Totvolumen und den Spezies AsBet und AsChol getrennt ist. Teilweise wurden sehr lange Retentionszeiten ermittelt, so für As(V) von 5012 s und PhAs von 1972 s, die für die praktische Anwendung nicht günstig sind. Daher wurde die Elutionskraft des Eluenten vergrößert, indem durch Erhöhung des pH-Wertes das Gleichgewicht HCO_3^-/CO_3^{2-} zum Carbonat verschoben wird. Unter Verwendung des Eluenten aus $Na_2CO_3/NaOH$ (5 / 40 mmol/L; 4 % MeOH) werden die Spezies einschließlich PhAs schneller eluiert. Letzteres ändert seinen Dissoziationszustand nicht und seine Retentionszeit wird nahezu halbiert. Bei As(V) erhöht sich jedoch die mittlere Ladung des Ions durch stärkere Dissoziation, wodurch in diesem Fall keine Beschleunigung erreicht wird. Hier wäre ein Ersatz der isokratischen Arbeitsweise durch die Gradiententechnik nötig, mit der durch eine jeweils angepaßte Ionenstärke (im zweiten Teil des Chromatogramms) eine schnellere Elution höhergeladener Ionen bewirkt werden kann.

Caroli et al. [160] entwickelte eine Gradientenmethode (HCO_3^-/H_2O) für die Trennung der As-Spezies an der Säule AS7, die aber trotz der durch den Gradienten erweiterten Möglichkeiten eine Zeitdauer von 33 bzw. 41 min bis zur Elution der am stärksten retardierten Verbindungen PhAs und As(V) umfaßt. Mit dem hier optimierten sauren Eluenten $HNO_3/NaNO_3$ ist eine solche Trennung, abgesehen von AsChol und AsBet, auch ohne die Anwendung eines Gradienten bis einschließlich As(V) innerhalb eines Zeitraumes von 10 min möglich.

Die Nachweisstärke der Kopplungsmethode unter Verwendung der drei Eluentsysteme wurde für eine Reihe von As-Spezies ermittelt (Tab. 4-3 bis 4-5). Sie liegt bei den Eluenten auf Basis Salpetersäure und Carbonat/Hydrogencarbonat in der gleichen Größenordnung und ist durch Nachweisgrenzen für die Spezies zwischen 0,33 und 0,6 ng/mL gekennzeichnet. Bei Anwendung des Eluenten $Na_2CO_3/NaOH/MeOH$ wurde eine vierfach höhere Empfindlichkeit als bei den übrigen erreicht. Allerdings ist auch das Grundlinienrauschen größer, so daß sich die Empfindlichkeitssteigerung nicht voll auf die Nachweisgrenzen auswirkt. Als Nachweisgrenzen ergeben sich Werte zwischen 0,1 und 0,3 ng/mL As (Tab. 4-5). Die insgesamt niedrigsten

Nachweisgrenzen wurden für AsBet, AsChol und As(III) mit 0,1 ng/mL bei letzterem Eluenten bestimmt.

4.4.4. Chromatographische Trennung mit Trennsäule IonPac AS4A-SC

Im Hinblick auf Untersuchungen zur Arsenmigration, die an einer Zinnerzabraumhalde, dem Tailing Bielatal, durchgeführt werden sollten (s. Kap. 6.), wurde eine weitere Trennsäule eingesetzt. Die im Rahmen des Projektes durchzuführenden Messungen betrafen hauptsächlich die aus der Halde austretenden Sickerwässer. Es wurde festgestellt, daß über das Sickerwasser aus dem Abraummaterial die anorganischen Spezies As(III) und As(V) freigesetzt werden. Deshalb sollte über einen 12-monatigen Untersuchungszeitraum das Monitoring dieser beiden Spezies erfolgen. Für die anfallenden Proben wurde daher eine Methode benötigt, die insbesondere die schnelle Unterscheidung und Konzentrationsbestimmung von As(III) und As(V) erlaubt. Da festgestellt wurde, daß die unter natürlichen Bedingungen auftretende Speziesverteilung von Arsen und Eisen durch einen sauren Eluenten eine Veränderung erfahren würde (Kap. 6.2.4.), sollte die Analyse möglichst im alkalischen Medium erfolgen.

Unter diesen Gesichtspunkten wurde als geeignete Säule die Trennsäule IonPac AS4A-SC (Fa. Dionex) ausgewählt und getestet. Diese Säule wird überwiegend eingesetzt für schnelle Trennungen der sogenannten anorganischen "Standard"-Anionen in der Wasseranalytik und besitzt eine hohe Probenbelastbarkeit [44]. Sie wird mit Carbonat-Eluenten betrieben und zur Detektion die Leitfähigkeitsmessung mit Suppressorsystem verwendet [44]. Für die auszuarbeitende As(III)/As(V)-Analytik in Kopplung mit ICP-MS - Detektion erfolgte die Optimierung eines Carbonat-Eluenten sowie Untersuchungen zu Matrixeffekten auf die Detektion. Das Resultat war eine mobile Phase mit einer Carbonat-Konzentration von 5 mmol/L (Na_2CO_3) in 40 mmol/L NaOH. Die Trennung von As(III) und As(V) erfolgte damit innerhalb von 7 min (Chromatogramm Abb. 4-12), was mit der vorher getesteten Trennsäule AS7 isokratisch nicht zu erreichen war. Für den As(III)-Peak wurde anfänglich ein erhöhtes Tailing beobachtet, das die Integration von As(III) und As(V) beeinträchtigt hat. Dies könnte durch auftretende hydrophobe Wechselwirkungen mit dem Säulenmaterial hervorgerufen werden. Zur Eindämmung dieses Effektes wurde Methanol zugesetzt, was zur Verbesserung der Peakform von As(III) führte und bei einer Konzentration von 4 % im Eluenten die günstigsten Ergebnisse zeigte. Gleichzeitig konnte damit eine Steigerung der Signalintensität erreicht werden, was auf Veränderungen bei der Aerosolbildung durch Methanol und dessen Einfluß auf das ICP zurückzuführen ist.

Die Selen-Spezies Se(IV) und Se(VI) wurden ebenfalls in die Untersuchungen an der Trennsäule AS4A-SC einbezogen (Tab. 4-6), ihre Peaks werden mit einer Auflösung von 2 getrennt (Abb. 4-12).

Die Grundlage für die quantitativen Messungen bildete eine lineare Kalibration, die im Bereich von 10 ng/mL bis 2,5 µg/mL durchgeführt und im übrigen zu Kontrollzwecken bei jeder Meßreihe (Aplikationen; Kap. 6) erneuert wurde. Die Ergebnisse sind in Tab. 4-6 dargestellt. Ausgewertet wurden jeweils die Peakflächen. Bei Quantifizierung auf dem Konzentrationsniveau von 50 ng/mL wurden Reproduzierbarkeiten (n= 5) von 4,3 % (As(III)) und 2,9 % (As(V)) ermittelt. Für die Methode ergaben sich Nachweisgrenzen von je 0,1 ng/mL für As(III) und As(V). Im Vergleich zu dem in der Trinkwasserverordnung [32] für As(Gesamt) festgelegten Grenzwert von 10 ng/ml ist damit eine ausreichende Empfindlichkeit gegeben, um Arsenspezies in diesen und ähnlichen umweltrelevanten Proben zu bestimmen.

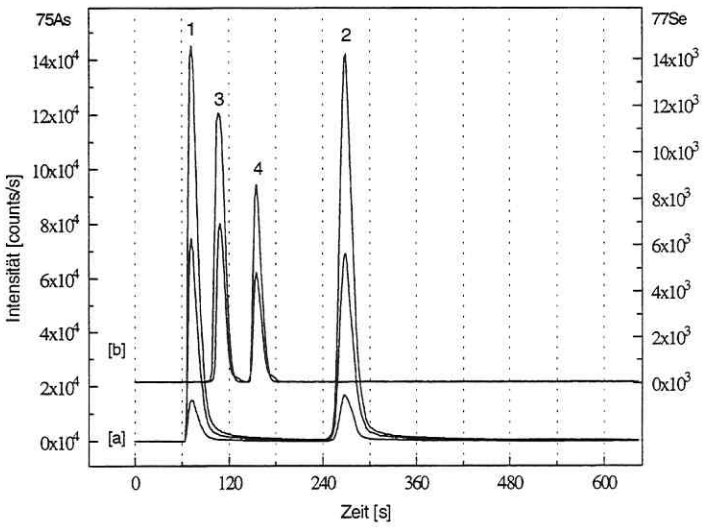


Abb. 4-12: Chromatographische Trennung anorganischer As- und Se-Spezies an IonPac AS4A-SC mit ICP-MS-Detektion.

[a] – m/z= 75; [b] – m/z= 77; Signale siehe Tab. 4-6; (Bedingungen: Na_2CO_3 5 mmol/L, NaOH 40 mmol/L, MeOH 4 %, Fluß 1,5 mL/min; Spezies (As) je 100, 500, 1000 ng/mL bzw. (Se) 500, 1000 ng/mL; ICP s. Tab. 4-2)

Signal	1	2	3	4
Spezies	As(III)	As(V)	Se(IV)	Se(VI)
Retention[a] [s]	72	269	107	155
Empfindlichkeit[b,c] [counts/ng]	2304	2945	173,8	107,4
NWG[c] [ng/mL]	0,10	0,08	0,5	0,7

[a]- Flußrate 1,5 mL/min; [b]- Peakfläche; [c]- Injektionsvolumen 20 µL

Tab. 4-6: Retentionszeiten und Nachweisgrenzen von As(III) und As(V) sowie Se(IV) und Se(VI), IC – ICP-MS, chromatographische Trennung mit Säule IonPac AS4A-SC/AG4A (Exp. Bedingungen s. Abb. 4-12)

4.4.5. Untersuchung von Matrixeinflüssen

4.4.5.1. $ArCl^+$-Interferenz

Die massenspektrometrische Detektion von Arsen erfolgt durch Messung des Isotops ^{75}As. Dabei kann durch Molekülionen, die ebenfalls die Masse 75 besitzen, am Detektor gleichfalls ein Signal erzeugt und so As vorgetäuscht werden. Weil das eingesetzte Quadrupol-ICP-MS nur eine Massenauflösung von einer atomaren Masseeinheit liefert, wäre eine Unterscheidung nicht möglich. Da das Element As in der Natur nur monoisotopisch auftritt (Tab. 2-1), sind solche Störungen auch nicht durch Messung anderer Isotope dieses Elementes zu umgehen. Häufig wurde in der Literatur, vornehmlich bei Analytik von erheblich chloridhaltigen Matrices wie Körperflüssigkeiten, über eine Interferenz durch das Chlorid-Ion berichtet, mit dem im Plasma ein Teilchen $ArCl^+$ entstehen kann [161-163]. Das gebildete Molekülion aus Argon (^{40}Ar) und Chlor (^{35}Cl) weist eine Massezahl von m/z= 75 auf und stellt somit eine Interferenz im Massenspektrum von As (Isotop 75) dar. Eine Möglichkeit zur Korrektur besteht darin, das Molekülion $^{77}(ArCl^+)$ des zweiten Chlorisotops ^{37}Cl zu messen. Im kontinuierlichen Meßbetrieb kann dann über Korrekturgleichungen die Berücksichtigung erfolgen, wie z.B. von Dittrich et al. [163] beschrieben. Allerdings würde dieses zweite Argonchlorid-Signal eine geringere Intensität aufweisen (natürliche Häufigkeit von ^{37}Cl nur ca. 1/3 von ^{35}Cl) und außerdem mit dem Signal des Isotops ^{77}Se zusammenfallen. Als Vorteil wird in der on-line Kopplung mit IC wirksam, daß durch Optimierung der chromatographischen Bedingungen zum einen die getrennte Elution des Chloridions von den As-Verbindungen erreicht werden kann und damit die Quantifizierung von As-Spezies nicht beeinträchtigt wird. Zum anderen kann bei Vorhandensein von Chlorid die Bildung des Molekülions mit Ar durch geeignete Analysenbedingungen vermindert werden. So wurde über die Zufuhr von Stickstoff oder Sauerstoff zum Argonplasma [162] sowie über Verdünnungen der Probenlösung [161] berichtet.

Um die Relevanz der $ArCl^+$-Interferenz für die Detektion von $^{75}As^+$ und $^{77}Se^+$ in dem aufgebauten Kopplungssystem zu ermitteln, wurden zunächst wäßrige Standardlösungen untersucht, die ausschließlich Chlorid in unterschiedlichen Konzentrationsstufen enthielten. Bis zu einer Konzentration von 500 µg/mL Cl^- konnte in den Chromatogrammen der Massen m/z= 75 und 77 kein Peak beobachtet werden, der auf die Bildung von $ArCl^+$ schließen ließe. Zwischen den eingesetzten Eluenten aus Hydrogencarbonat/Carbonat sowie Carbonat/Natronlauge mit und ohne Methanol ergaben sich diesbezüglich keine Unterschiede. Das gleiche Ergebnis zeigten mit Chlorid aufgestockte natürliche arsenfreie Wasserproben. Die Abwesenheit der $ArCl^+$-Interferenz bei Chlorid-Konzentrationen unter 500 µg/mL wurde in der Kopplung IC – ICP-MS auch von weiteren Autoren beobachtet [164,165].

Aus unseren Untersuchungen konnte also geschlußfolgert werden, daß die $ArCl^+$-Interferenz unter den angewendeten Analysenbedingungen keine Störungen hervorruft und Interelementkorrekturen für Proben mit durchschnittlichen Chlorid-Konzentrationen nicht erforderlich sind.

4.4.5.2. Einfluß der Eluentmatrix (Natrium)

Wie bereits in Kap. 3.1.3. erwähnt, können die Plasmabedingungen des ICP stark durch Art und Menge der eingetragenen Ionen beeinflußt werden [166]. Insbesondere sind hier physikalische Matrixeffekte von Belang, die durch leicht ionisierbare Elemente wie Natrium verursacht werden. Sie können einen Anstieg der Elektronenkonzentration und damit Veränderung der Plasma-Temperatur bewirken [167].

Von den zur chromatographischen Trennung verwendeten Eluenten zeichnet sich besonders derjenige aus Carbonat/Natronlauge durch eine hohe Na^+-Konzentration aus, so daß bei der Kopplung IC – ICP-MS ein großer Anteil Na ins Plasma gelangt. Daher wurde der Einfluß von Natrium auf die massenspektrometrische Detektion von As untersucht. Angewendet wurde ein Suppressorsystem, das in der Ionenchromatographie zur Empfindlichkeitssteigerung der Leitfähigkeitsdetektion eingesetzt wird. Dessen Prinzip besteht darin, die Grundleitfähigkeit des Eluenten nach der chromatographischen Trennung durch Ionenaustausch herabzusetzen, so daß sich die Differenz zwischen der Äquivalentleitfähigkeit der Analytionen und der mobilen Phase vergrößert [44]. Im Falle eines alkalischen Eluenten würden die enthaltenen Kationen gegen H^+ ausgetauscht, das sich mit OH^- zu Wasser verbindet.

Auf diesem Wege kann eine Verminderung der Na^+-Konzentration erreicht werden, *ohne* die chromatographischen Bedingungen zu verändern. Deshalb wurde ein solches Suppressorsystem (Anionen-Mikromembran-Suppressor, Fa. Dionex) in die Kopplung von IC mit ICP-MS integriert. Bei allen Leistungsstufen wurde die Signalform der detektierten Peaks der As-Spezies nicht beeinflußt. In Abb. 4-13 ist ein Vergleich der für Peaks von As(III) ermittelten Intensitäten unter unterschiedlichen Bedingungen sowie das Signal/Rausch-Verhältnis angegeben. Die ersten beiden Säulenpaare zeigen, daß der apparative Umbau des Kopplungsmoduls (Veränderung des Strömungsweges der mobilen Phase) zu verminderten Signalintensitäten führt. Die weiteren Meßpunkte stehen für unterschiedliche Austausch-Effektivitäten des Suppressors. Mit Inbetriebnahme (Stufe 1) und dann bei Stufe 2 wird wieder eine leichte Intensitätserhöhung festgestellt, die bei (der höchsten) Stufe 3 deutlich zurückgeht.

Der Intensitätsvergleich [System ohne Suppressor] und [Suppressor Stufe 2] ergibt also bei dieser günstigsten Suppressoreinstellung nur ca. 90 bis 95 % der Ausgangswerte. Das Rauschen der Grundlinie, das den Wert des Signal/Rausch-Verhältnisses mitbestimmt, wird bei Anwendung des Suppressors leicht vermindert (Stufe 1). Nachteile, die sich aus der Veränderung der Fließstrecke ergaben (Stufe Aus), gleichen sich so wieder aus. Jedoch wird gegenüber dem Aufbau ohne Suppressor keine deutliche Verbesserung des SNR erreicht. Die übrigen Spezies zeigen ein analoges Verhalten wie As(III).

Diese Ergebnisse führen zu der Schlußfolgerung, daß durch die Verwendung eines Suppressorsystems in der Kopplung IC – ICP-MS keine wesentliche Empfindlichkeitssteigerung erreicht werden kann und die hohe Beladung des Plasmas mit Na nicht zu einer Beeinträchtigung der Ionisierung und Detektion von As führt.

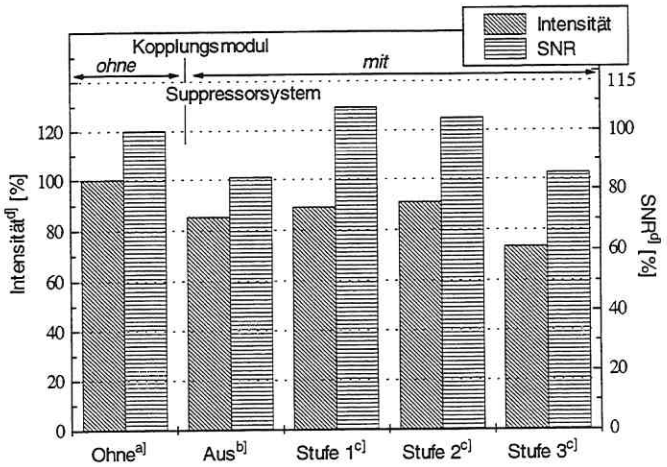


Abb. 4-13: Einfluß der Na-Konzentration auf die As-Detektion bei Kopplung IC – ICP-MS bei Einsatz eines Suppressorsystems.

(Eluent: Na_2CO_3 5 mmol/L, NaOH 40 mmol/L, MeOH 4%, 1,5 mL/min; Konzentration As(III) 0,1 µg/mL; ICP s. Tab. 4-2)

[a] – direkte Verbindung zwischen Trennsäule und Zerstäuber; [b] – Suppressorsystem zwischen Trennsäule und Zerstäuber; [c] – Stufen zunehmender Ionenaustauscheffektivität des Suppressors; [d] – As(III) [ohne Suppressor]= 100 %

4.4.6. Applikationsbeispiele

Die vorstehend beschriebenen Verfahren wurden für die Analyse von umweltrelevanten arsenhaltigen Proben erarbeitet. Im folgenden sollen dazu zwei Beispiele dargestellt werden.

In Abb. 4-14/A ist das Chromatogramm einer Wasserprobe gezeigt, die talabwärts einer Uranabraumhalde gewonnen wurde. Wie deutlich zu erkennen ist, befindet sich überwiegend As(V) in der Probe. Dies steht in Übereinstimmung damit, daß das Wasser auf dem Transportweg im Bachbett bereits erheblichen Luftkontakt hatte.

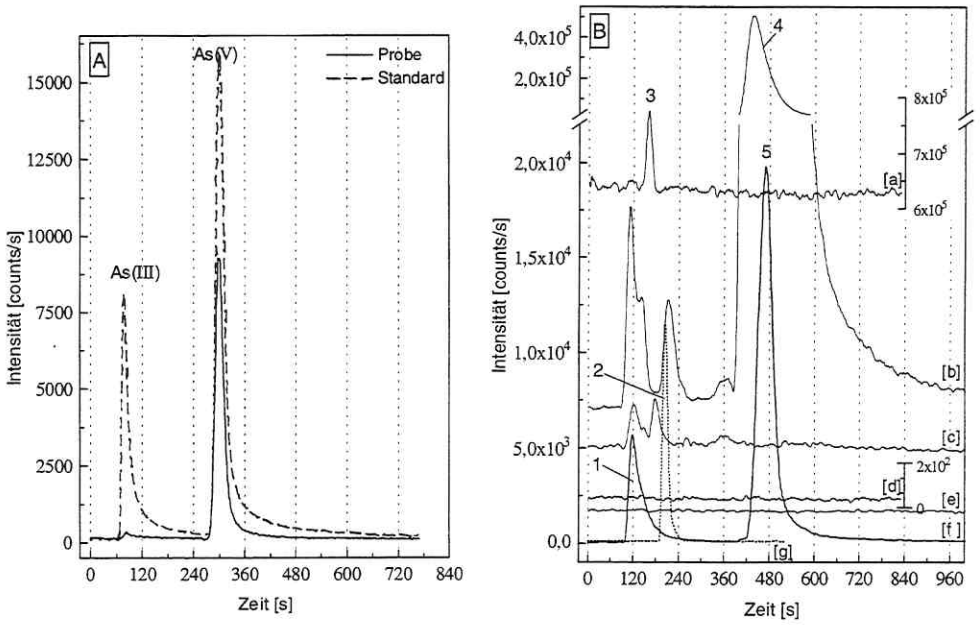


Abb. 4-14/A: Sickerwasser der Uran-Abraumhalde Oberrothenbach
(Konzentrationen: As(III) <0,002 µg/mL, As(V)= 0,078 µg/mL; Std. As(III)/As(V) 0,090/0,150 µg/mL; IC – ICP-MS; IonPac AS4A-SC/AG4A, Na_2CO_3 5 mmol/L, NaOH 40 mmol/L, MeOH 4 %, 1,5 mL/min; ICP s. Tab. 4-6)

Abb. 4-14/B: Chromatogramm eines Pflanzenextraktes (Kraut eines Pflücksalates)
(Detektionsmassen: [a] – ^{37}Cl, [b] – ^{31}P, [c] – ^{48}SO, [d] – ^{77}Se, [e] – ^{78}Se, [f] – ^{75}As, [g] – ^{79}Br; Signale: 1 – As(III), 2 – Br^-, 3 – Cl^-, 4 – HPO_4^{2-}, 5 – As(V); Konzentrationen: As(III)= 0,054 µg/mL, As(V)= 0,229 µg/mL; IC – ICP-MS; IonPac AS4A-SC/AG4A, Na_2CO_3 5 mmol/L, NaOH 40 mmol/L, MeOH 2 %, 1,1 mL/min, Int.Zeit 210 ms, SR= 0,67 Hz)

Bei der Untersuchung des Extraktes eines Pflücksalates, gezüchtet auf arsenangereichertem Boden [168], wurde das Verhältnis der Spezies As(III) und As(V) mit 1 : 4 bestimmt (Abb. 4-14/B). Die Extrakt-Konzentration von As(III) lag bei 54 ng/mL, von As(V) bei 229 ng/mL. Die zusätzlich in der Abbildung dargestellten Massen dokumentieren das Vorhandensein von phosphorhaltigen (m/z= 31; P^+), brom- (m/z= 79; Br^+) und schwefelhaltigen (m/z= 48; SO^+) Verbindungen im Extrakt. Aus der Komplexität des Chromatogramms wird deutlich, daß im

Gegensatz zur ionenchromatographischen Leitfähigkeitsmessung nur die angewendete elementspezifische Detektionstechnik zur Bestimmung der Spezies geeignet ist.
Zur Absicherung der Ergebnisse wurde der Gesamtgehalt von As in den Extrakten unabhängig mit AAS und ICP-MS bestimmt (Tab. 4-7). Die Summe der in der Speziation erhaltenen Werte zeigt eine gute Übereinstimmung mit den übrigen Methoden.

	IC – ICP-MS			AAS	ICP-MS
Extrakt	As(III)	As(V)	As(III)+As(V)	As	As
R5	2,42 µg/g	10,24 µg/g	12,66 µg/g	12,40 µg/g	13,35 µg/g
R10	6,93 µg/g	6,84 µg/g	13,77 µg/g	13,40 µg/g	13,34 µg/g

(Werte bezogen auf eingesetzte Trockenmasse Pflanzenmaterial)

Tab. 4-7: Methodenvergleich der Konzentrationsbestimmung in Pflanzenextrakten

4.5. Zusammenfassung und Bewertung der Verfahren der Kopplung von chromatographischer Trennung mit ICP-Atomemissions- und ICP-Massenspektrometrie

Um Informationen über die Speziesverteilung der Elemente Arsen und Selen in Umweltproben gewinnen zu können, wurde die Ionenchromatographie als Trennmethode mit Plasma-Atomemissionsspektrometrie (ICP-AES) sowie Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS) gekoppelt. Zunächst wurde eine Methode basierend auf der Kopplung von Ionenchromatographie (IC) mit ICP-AES entwickelt, wobei zur Steigerung der Empfindlichkeit die Hydridbildung als Probeneintragstechnik angewendet wurde. Die getrennten Verbindungen wurden on-line in ihre gasförmigen Hydride überführt, die mit einem Argon-Trägergasstrom ins Plasma transportiert wurden. Dabei traten, bedingt durch ihre unterschiedliche chemische Reaktivität, Empfindlichkeitsunterschiede zwischen den einzelnen As-Spezies zutage. Durch den Einsatz von Cystein im Hydridbildungsprozeß mit Natriumborhydrid im Sauren konnte die Geschwindigkeit und Effektivität der Reaktion von As(V) und DMA, MMA erhöht werden. Beobachtete Nachteile bei diesen Spezies gegenüber As(III) als Form bester Hydridbildung wurden durch die Vorreduktion mit Cystein vermindert. Dagegen war bei AsBet, AsChol und Se(VI) auch in Cystein-Anwesenheit keine Hydridbildung festzustellen. Die Anwendung von Cystein bei der on-line Reduktion verbesserte auch die Stabilität des Kopplungssystems, weil hierdurch erreicht wurde, daß die Hydridbildungsreaktion bei einer sehr viel niedrigeren Säurekonzentration von 0,08 mol/L im Vergleich zu den sonst üblichen 2 - 4 mol/L HCl abläuft. Damit verbunden war auch eine geringere Wasserstoffentwicklung und ein verminderter H_2-Eintrag ins Plasma sowie eine gleichmäßigere Reaktion.

Die Leistungsfähigkeit der Gesamtmethode konnte durch einen eingebauten Membranseparator zur Trennung von flüssiger und gasförmiger Phase gesteigert werden, weil auf diesem Wege eine effekivere Abtrennung von Flüssigkeitströpfchen aus dem Gasstrom

erreicht und Plasmafluktuationen minimiert wurden. Die Nachweisgrenzen, welche dabei in dieser Kopplung unter Verwendung der Anionentrennsäule PRP-X 100 ermittelt wurden, lagen bei 8 bis 14 ng/mL (As) für die unterschiedlichen As-Spezies. Damit besitzt die Methode ein hohes Nachweisvermögen für Arsenspezies. Für Anwendungen in der Umweltanalytik können diese Nachweisgrenzen jedoch nicht immer ausreichend sein, da insbesondere organometallische As-Spezies oftmals auch in Konzentrationsbereichen von 1 bis 50 ng/mL auftreten und den optimalen Arbeitsbereich der Methode unterschreiten. Die Diskriminierung der Spezies AsBet und AsChol aufgrund ihres Unvermögens zur Hydridbildung unter den angewendeten Bedingungen mit $NaBH_4$ und Cystein kann dann vorteilhaft ausgenutzt werden, wenn geringe Anteile von As(III) neben hohen Konzentrationen von AsBet, wie z.B. in Meereslebewesen beobachtet, analysiert werden sollen, da in ionenchromatographischen Methoden oftmals eine schlechte Trennung von As(III) und AsBet vorliegt. Aufgrund dieser Einschränkungen ist diese Methode aber nicht geeignet, unbekannte Proben qualitativ zu charakterisieren. Wegen der enthaltenen Derivatisierungsschritte zur Hydridbildung erwies sich die Methode insgesamt noch als relativ störanfällig.

Aus den erwähnten Gründen wurde die ICP-MS als Detektor für die chromatographisch getrennten Spezies eingesetzt. Die Kopplung mit dem Trennsystem wurde mittels eines Cross-flow-Zerstäubers vorgenommen, womit insgesamt ein robusterer Aufbau als im Falle der Hydridtechnik erreicht wurde. Gleichzeitig konnte so sichergestellt werden, daß prinzipiell alle Spezies erfaßbar sind. Die ermittelten guten Nachweisgrenzen der Methode, wie nachfolgend aufgeführt, rechtfertigten den Einsatz des Cross-flow trotz dessen geringer Zerstäubungseffektivität (von ca. 2 - 3 %). Die Optimierung der Trennung von As-Spezies zur qualitativen und quantitativen Analyse wurde unter unterschiedlichen Zielstellungen vorgenommen. Dies waren

- die isokratische Trennung der Spezies, einschließlich der Organoarsenverbindungen,
- Realisierung der Trennung mit Eluenten im sauren und im alkalischen Milieu und
- die schnelle Analytik der Redoxpartner As(III), As(V) und Se(IV), Se(VI).

Dafür wurden die zwei Ionenaustauschersäulen IonPac AS7 und AS4A-SC ausgewählt. Für die Säule AS7 wurde ein Eluent aus Salpetersäure/Natriumnitrat optimiert, der die Trennung von sechs Spezies (Abb. 4-9) innerhalb von 10 min ermöglicht. Im alkalischen Milieu wurde an der gleichen Säule die Trennung mittels eines Carbonat/Hydrogencarbonat- sowie eines Carbonat/Natronlauge-Eluenten vorgenommen (Abb. 4-10, 4-11). Die Organoarsen-Verbindungen AsBet, AsChol werden innerhalb eines kurzen Zeitraumes eluiert, womit ein gegensätzliches Verhalten zum sauren Eluenten beobachtet wird, wo diese sehr stark zurückgehalten werden. Die mit dem Carbonat/Hydrogencarbonat-Eluenten beobachtete lange Retentionszeit für PhAs von 33 min konnte durch Wechsel zum Carbonat/Natronlauge-Eluenten deutlich vermindert werden (17 min). Allerdings liegt Arsenat in diesem Eluenten in höchster Dissoziationsstufe vor und wird nicht eluiert. Weitere Möglichkeiten könnten daher in der Anwendung einer Gradientenelution bestehen, damit stark retardierte Spezies schneller eluiert werden, ohne die Auflösung im vorderen Bereich des Chromatogramms zu gefährden.

Mit der Säule AS4A-SC wurde mittels eines Carbonat/Natronlauge-Eluenten die schnelle Trennung der anorganischen Spezies As(III), As(V), Se(IV), Se(VI) zur Unterscheidung der Redoxstufen optimiert. Aufgetretene Tailingeffekte des As(III)-Peaks konnten durch Zugabe von Methanol vermindert werden. Die Zeitdauer einer Analyse betrug 6 min (Abb. 4-12).
In allen beschriebenen Fällen wurde die Empfindlichkeit des Kopplungssystems für die einzelnen Spezies ermittelt. Dazu wurden lineare Kalibrationen aufgenommen und die Nachweisgrenzen berechnet. Diese lagen bezogen auf As insgesamt unterhalb von 1 ng/mL, mehrheitlich zwischen 0,25 und 0,5 ng/mL. Die besten Werte wurden mit 0,1 ng/mL für AsBet, AsChol sowie As(III) und As(V) im Falle des Na_2CO_3/NaOH/MeOH-Eluenten bestimmt. Die schlechteste Nachweisgrenze wurde für As(V) mit dem HCO_3^-/CO_3^{2-}-Eluenten ermittelt (1,25 ng/mL), was in diesem Fall auf die lange Retentionszeit und daher hohe Peakverbreiterung zurückzuführen ist. Diese Nachweisgrenzen sind eine bis eineinhalb Zehnerpotenzen besser als die mit IC – HG - ICP-AES erhaltenen (Kap. 4.3.). Gegenüber Ergebnissen anderer Autoren [101,169], die mit vergleichbaren Kopplungssystemen (IC – ICP-MS) arbeiteten, liegen die in dieser Arbeit ermittelten Werte bei niedrigeren Nachweisgrenzen. Sie sind vergleichbar mit den 1996 von Teräsahde et al. [165] beschriebenen Resultaten.

Als potentielle Matrixeinflüsse wurden Auswirkungen der Eluentzusammensetzung auf die Detektion untersucht. Im Falle des sauren Eluentsystems ($HNO_3/NaNO_3$) liegen Bedingungen vor, die üblichen Analysen der ICP-MS nahekommen, bei denen verd. Salpetersäure häufig zum Ansetzen von Element-Standardlösungen und zum Spülen des Systems verwendet wird. Daher wurden keine negativen Einflüsse eines Eluenten auf dieser Basis beobachtet. Anders sieht es bei dem Carbonat/Natronlauge-Eluenten aus, wo kontinuierlich eine hohe Menge Natrium als Störelement ins Plasma gelangt, was die Ionisierung und Detektion der Analyte beeinflussen könnte. Um diesen Matrixeinfluß zu überprüfen, wurde der Kopplungsmodul dahingehend modifiziert, daß im Anschluß an die Trennsäule ein Suppressorsystem eingebaut wurde. Mit dessen Hilfe wird die Grundleitfähigkeit des Eluenten vermindert, was hier bedeutet, daß die Na^+-Ionen über Ionenaustausch entfernt werden. Es zeigte sich, daß eine stark verminderte Natrium-Konzentration im Plasma die Leistungsfähigkeit des Systems, beschrieben durch das Signal/Rausch-Verhältnis, jedoch nur wenig verbessert. Daher ist der Einsatz des Suppressorsystem nur bei sehr geringen Analyt-Konzentrationen gerechtfertigt. Ansonsten erweist sich die ICP-MS als robust gegenüber der Eluentzusammensetzung. Das Kopplungssystem IC – ICP-MS zeichnete sich mit allen genutzten Trennsäulen und Eluenten durch eine gute Reproduzierbarkeit und apparative Stabilität aus.

Für die qualitative und quantitative Analyse wäßriger und biologischer Proben stehen mit den beschriebenen Kopplungsverfahren eine Reihe leistungsfähiger Methoden zur Verfügung, aus denen je nach Erfordernis in Abhängigkeit der zu erwarteten Spezies und der Probenstabilität die geeignete Variante ausgewählt werden kann.

5. Entwicklung von Speziations-Methoden mit Kapillarelektrophorese

5.1. Einführung

Das physikalische Trennprinzip der Kapillarelektrophorese (Kap. 3.1.2.2.) unterscheidet sich grundlegend von dem der Ionenchromatographie, gleichwohl es sich bei den zu trennenden Analyten ebenfalls meist um Ionen handelt. Im Unterschied zur Ionenchromatographie, wo Ionenaustausch-Wechselwirkungen zwischen den Analyten und den funktionellen Gruppen der stationären Phase zur Trennung führen, beruht hier das Trennprinzip auf der unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeit geladener Teilchen im elektrischen Hochspannungsfeld. Die bisher für die Kapillarelektrophorese zur Verfügung stehenden Detektoren können die in der Umweltanalytik geforderte Nachweisstärke für Konzentrationen im Spurenbereich meist nicht liefern [50]. Am gebräuchlichsten ist der Einsatz des UV/VIS-Detektors [64,170,171], weiterhin sind Fluoreszenz- [54], elektrochemische [68,172] und Brechungsindexdetektionen [173] bekannt. In jüngerer Zeit wurde auch ein routinefähiger Leitfähigkeitsdetektor [174] eingeführt.

Ziel des Einsatzes der Kapillarzonenelektrophorese (CZE) soll es sein, durch dieses zur Ionenchromatographie alternative Trennprinzip eine weitere, effizientere Möglichkeit zur Charakterisierung ionischer Verbindungen aufzuzeigen und für die Speziationsanalytik im Spurenbereich nutzbar zu machen.

Dazu sollen unterschiedliche Methoden für ausgewählte Arsen- und Selen-Verbindungen optimiert und auf ihre Leistungsfähigkeit untersucht werden. Neben der Anwendung verschiedener Elektrolytsysteme, der Detektion über indirekte und direkte UV-Absorption sowie über Leitfähigkeit soll ein elementspezifisches Detektionsverfahren (ICP-MS) neu mit der CZE verknüpft werden.

Zunächst wurden Trennmethoden mit UV-Detektion und Leitfähigkeitsdetektion für As-Speziationsuntersuchungen optimiert sowie über die jeweiligen Empfindlichkeiten und Nachweisgrenzen für einzelne Spezies charakterisiert. Sodann wurde eine Kopplung von CZE mit ICP-MS konstruiert und Einflußparameter auf Aufbau und Funktion untersucht. Nach Optimierung eines Puffersystems für die Trennung wurden ebenfalls Empfindlichkeiten des Detektors für Arsen- und Selen-Spezies und zugehörige Nachweisgrenzen ermittelt.

5.2. Experimentelle Grundlagen

Allgemeine Arbeitsweise. Die genutzten (handelsüblichen) Kapillaren bestanden aus Quarzglas, umhüllt mit einer Polyimidschicht. Vor ihrer ersten Nutzung wurden sie mit Natronlauge 0,1 mol/L konditioniert und mit entionisiertem Wasser gespült. Vor jeder Analyse wurde mit dem Arbeitselektrolyt zur Einstellung eines Gleichgewichtes an der Kapillaroberfläche gespült. Elektrolytlösungen wurden entsprechend der im Text spezifizierten Zusammensetzung mit entionisiertem Wasser hergestellt und jeweils einer Filterung 0,45 µm unterzogen, um Partikel zu entfernen. Die Einstellung des pH-Wertes, sofern notwendig, erfolgte mit Natrium- bzw. Lithiumhydroxid. Für konstante Bedingungen und eine

möglichst hohe Reproduzierbarkeit wurden die Pufferlösungen in der Meßapparatur regelmäßig erneuert, um zu berücksichtigen, daß die elektrophoretische Trennung neben dem Ionentransport auch mit elektrolytischen Vorgängen in den Puffergefäßen verbunden ist, wodurch der pH-Wert in den Elektrodenräumen verändert werden kann [175].
Die Probenaufgabe wurde durch hydrodynamische Injektion realisiert. Bei den im folgenden aufgeführten Meßwerten handelt es sich, wenn im Text nicht anders angegeben, jeweils um Mittelwerte von Dreifachbestimmungen. Konzentrationsangaben [Masse/Volumen] der As- und Se-Spezies sind jeweils auf das Element bezogen.

Folgende Geräte und Chemikalien wurden für die Untersuchungen eingesetzt:
- Kapillarelektrophoresesystem P/ACE 2050 mit eingebautem UV-Detektor (CZE-UV); Fa. Beckman
- Kapillarelektrophoresesystem Crystal 310, mit separatem Leitfähigkeitsdetektor Crystal 1000 (CZE-LF); Fa. ATI-Unicam
- Quarzkapillaren (I.D. 50 µm, 75 µm); Fa. CS Chromatographie-Service
- Quarzkapillaren "ConTip" (I.D. 50 µm); Fa. ATI-Unicam
- Plasma-Massenspektrometer ICP-MS Elan 5000; Fa. Perkin-Elmer/Sciex
- HPLC-Pumpe LC 250; Fa. Perkin-Elmer
- peristaltische Pumpe Miniplus 3; Fa. Gilson
- Mikrokonzentrischer Zerstäuber MCN-100; Fa. Cetac Technologies / AHF Analysentechnik
- Mehrwege-Ventil Rheydone
- T-Stücke Peek, I.D. 0,3 mm; Peek-Kapillare I.D. 0,3 mm
- Chemikalien: NaH_2PO_4, Na_2HPO_4, $H_3BO_3 \cdot H_2O$, $Na_2B_4O_7 \cdot 10\ H_2O$ [Tetraborat], $LiOH \cdot H_2O$, Cyclohexylaminoethansulfonsäure [CHES], Cetyltrimethylammoniumbromid [CTAB]; Phthalsäure, Glycin, HNO_3 (suprapur) (Fa. Merck); Triton X-100 (Lab.-Chem. Apolda); NaOH-Lösung (Fa. Merck); K_2CrO_4 (Fa. Fluka); Nafion (perfluoriertes Ionenaustauscher-Pulver, 5 %ige Lösung in aliphatischen Alkoholen/Wasser) (Fa. Aldrich); Methanol (Fa. Riedel deHaën);
- Standardsubstanzen (s. Tab. 2-2): Na_2AsO_3 [As(III)], $(CH_3)_2AsOOH$ [DMA], Na_2SeO_3 [Se(IV)], Na_2SeO_4 [Se(VI)], C_6H_5SeOOH [BzSe] (Fa. Merck); $C_6H_5AsO(OH)_2$ [PhAs], $(4\text{-}NH_2)C_6H_4AsO(OH)_2$ [pAPAs]; $(2\text{-}NH_2)C_6H_4AsO(OH)_2$ [oAPAs] (Fa. Aldrich); $(CH_3)AsO(OH)_2$ [MMA] (Eigensynthese nach [139] und modifiziert nach [140]); Standardlösungen AsBet, AsChol, MMA (Karl-Franzens-Universität Graz); Titrisol-Lösung Na_2HAsO_4 [As(V)] (Fa. Merck), Anionenstandardlösungen Cl^-, Br^-, NO_2^-, NO_3^-, SO_4^{2-}, F^-, HPO_4^{2-}, Elementstandard Rhodium (Fa. Merck).
Das für die Herstellung der Elutionsmittel und Elektrolytlösungen verwendete entionisierte Wasser wurde einer Reinstwasseranlage (Seral) entnommen. Chemikalien wurden in p.a. Qualität eingesetzt.

Datenanalyse. Das eingesetzte Plasma-Massenspektrometer gestattete die kontinuierliche Aufzeichnung von Meßwerten, die Steuersoftware des Spektrometers erlaubte jedoch keine Bearbeitung dieser Daten. Im Falle der Kopplung von CZE mit ICP-MS wurden die transienten Signale in Form von Wertepaaren [Zeit; Intensität] erhalten und die Auswertung und Integration mittels des Programms Microcal Origin 3.5 (Microcal Origin Inc.) vorgenommen. Das System CZE-UV gestattete die Auswertung mit der zugehörigen Gerätesteuersoftware Gold, bei CZE-LF wurde die Software Peaknet (Fa. Dionex) verwendet.
Nachweisgrenzen der Methoden für einzelne Spezies wurden nach den in Chromatographie und Atomspektroskopie üblichen Konventionen unter Bezug auf die dreifache Standardabweichung des Basislinienrauschens (3σ) ermittelt [141,142].

5.3. Kapillarelektrophoretische Trennung mit UV- und Leitfähigkeitsdetektion

5.3.1. Indirekte photometrische Detektion

Die anorganischen Arsen- und Selenspezies gehören zu den gering UV-absorbierenden Verbindungen, wie auch viele kleine anorganische und organische Ionen, die keine speziellen Chromophore enthalten. Für den Nachweis solcher nicht-chromophorer Analyte kann man auf das Verfahren der indirekten UV-Detektion zurückgreifen, das in der Kapillarelektrophorese aus Mangel an empfindlicheren und spezifischeren Detektionsverfahren eingesetzt wird [57,108,109,176]. Dazu wird ein Elektrolyt gewählt, der selbst eine hohe UV-Absorption zeigt, oder ein UV-absorbierendes Agens zugesetzt, um einen UV-absorbierenden Untergrund zu erzeugen. Die Konzentration der Analyte wird durch Messung der abnehmenden UV-Absorption bestimmt.

Bei Erarbeitung einer Methode basierend auf diesem Prinzip müssen Kompromißbedingungen für eine Reihe von Parametern gefunden werden, um sowohl eine gute Trennleistung als auch eine gute Nachweisstärke zu erhalten. Wenn die Analytionen durch ein Volumenelement der Detektorzelle migrieren, ersetzen sie eine bestimmte Anzahl der Chromophorionen. Bei nicht übereinstimmenden Mobilitäten erfolgt dieser Ersatz nicht im äquimolaren Verhältnis, sondern wird beschrieben durch das Transferverhältnis k_T, das sowohl die Mobilitäten von Analyt, Chromophor, Chromophorgegenion und deren Ladung erfaßt. Die Extinktionsdifferenz ΔEx und somit die Empfindlichkeit kann für ein UV-transparentes Analytion ($\varepsilon_A = 0$) durch Gleichung 11 ermittelt werden [177], die sich als Differenz der Extinktionen von Elektrolyt- und Analytzone ergibt.

$$\Delta Ex = \left(c_A^{Zone} \cdot d \cdot \varepsilon_{Chr}\right) \cdot k_T \qquad \text{[G-11]}$$

$$k_T = \frac{z_A}{z_{Chr}} \cdot \frac{\mu_{Chr}}{\mu_A} \cdot \frac{(\mu_A + \mu_G)}{(\mu_{Chr} + \mu_G)} \qquad \text{[G-12]}$$

c_A^{Zone} - Konzentration Analyt in Proben-Zone
d - Optische Schichtdicke
ε_{Chr} - Extinktionskoeffizient Chromophor
k_T - Transferverhältnis ($\mu_{Analyt} \neq \mu_{Chromophor}$)
μ_A, μ_{Chr} - Mobilität Analyt bzw. Chromophor
μ_G - Mobilität Gegenion Chromophor
z_A, z_{Chr} - Ladung von Analyt bzw. Chromophor

Gleichung 12 liefert maximale Werte bei großen μ_{Chr} und kleinen μ_A. Folglich sollte der Chromophor neben einer hohen molaren Extinktion ε_{Chr} auch eine große Mobilität besitzen. Andererseits muß für eine gute Trennleistung die Mobilität des Chromophors möglichst gut mit der der Analyte übereinstimmen, um Fronting- und Tailing-Effekte der Signale zu vermeiden [178]. Die Absorption des Elektrolyten muß im linearen Meßbereich des Detektors liegen.

Im Falle der hier zu untersuchenden Spezies von Arsen und Selen können obige Kriterien jedoch nicht gleichzeitig erfüllt werden, da ihre Mobilitäten, nicht zuletzt aufgrund verschiedener Ladung, sehr unterschiedlich sind.

Unter Berücksichtigung dieser Punkte für die Elektrolytauswahl eignet sich das Chromation bei einer Wellenlänge von 254 nm am besten, da es sowohl eine hohe Beweglichkeit ($\mu = 8{,}8 \cdot 10^{-4}\ cm^2 \cdot V^{-1} \cdot s^{-1}$) als auch einen hohen molaren Extinktionskoeffizienten ($\varepsilon = 5500\ L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)

besitzt. Allerdings wird die Bestimmung von Verbindungen, die ebenfalls in diesem Wellenlängenbereich absorbieren (z.B. Phenylarsonat), erschwert.
Die Elektropherogramme der Spezies wurden mit den Elektrolytsystemen Chromat (9,5 mmol/L, pH 8,5) beziehungsweise Borat/Chromat (40/3,6 mmol/L, pH 8,2) nach [108] aufgenommen. Die Zugabe von Borsäure erfolgt dabei, um eine Pufferwirkung zu erreichen. Mittels Diethylentriamin (DETA, jeweils 0,98 mmol/L) wird die Kapillaroberfläche modifiziert und dadurch der EOF herabgesetzt (s. auch Kap. 5.3.3.). Die Signalauswertung ist durch teilweise starke Peakverbreiterung und mangelnde Auflösung durch Elektrodispersion beeinträchtigt. Insofern wurden die theoretischen Betrachtungen durch die aufgenommenen Elektropherogramme bestätigt. Das Rauschen der Basislinie, das besonders bei hohem Untergrund groß ist, beeinträchtigt die Empfindlichkeit der Detektion. Für die Spezies As(III), As(V), DMA, MMA, Se(IV) und Se(VI) sind in Tabelle 5-1 die ermittelten Nachweisgrenzen angegeben. Sie zeigen, daß diese Methodik, obwohl für die Ionen Chlorid, Fluorid, Phosphat, Nitrat, Sulfat von einigen Autoren [50,178] mit Erfolg angewendet, für Arsenspeziation nur dann geeignet ist, wenn die Spezies in vergleichbaren Konzentrationen wie jene vorliegen. Dabei ist in Betracht zu ziehen, daß die erwähnten, oft als "Standardanionen" bezeichneten Anionen in natürlichen Wässern häufig im Konzentrationsbereich zwischen 1 und 100 µg/mL gefunden werden und Konzentrationen der As-Spezies zwei bis drei Zehnerpotenzen niedriger liegen. Daraus ergibt sich, daß diese Methode zur Lösung der vorliegenden Aufgabe nicht geeignet ist.

Elektrolyt		As(III)	As(V)	DMA	Se(IV)	Se(VI)
Borat/Chromat [a]	[µg/mL]	2,48	1,17	2,35	1,44	0,89
Chromat [b]	[µg/mL]	1,24	0,84	3,71	1,62	1,17

Tab. 5-1: Nachweisgrenzen für die indirekte UV-Detektion As- und Se- Spezies
Exp. Bedingungen: Kapillare 57/50 cm × 75 µm, U= -25 kV, Temperatur 298 K, Injektion 33 mbar × 0,13 min, λ= 254 nm, Elektrolyt: [a] Borsäure 40 mmol/L, Kaliumchromat 3,6 mmol/L, DETA 0,98 mmol/L, pH= 8,2; [b] Kaliumchromat 9,5 mmol/L, DETA 0,98 mmol/L, pH= 8,5

5.3.2. Direkte photometrische Detektion

Bei Anwendung der direkten UV-Detektion kann ein einfacheres Elektrolytsystem ausgewählt und eine Reihe von Bedingungen wie zusätzlicher Chromophor und Mobilitätsabstimmung vermieden werden. Deshalb soll sie für die Speziationsuntersuchungen mit Kapillarelektrophorese eingesetzt werden. Voraussetzung für diese Technik ist, daß die Analytionen selbst eine UV-Absorption zeigen. Die anorganischen As-Spezies sind nur schwach UV-aktiv, sie zeigen eine UV-Absorption im Wellenlängenbereich von 190 - 200 nm (Tab. A-1 Anhang), womit der Arbeitsbereich eingegrenzt ist. Voraussetzung ist, daß der Elektrolyt eine größere UV-Transparenz aufweisen muß als die Analytionen. Geeignet ist z.B. ein Phosphat-Puffer. Wesentliche Parameter für die Optimierung sind in diesem Falle die Elektrolytkonzentration,

der pH-Wert sowie die Polung des elektrischen Feldes. Die Bewegung von Anionen ist dem EOF entgegengerichtet. Wenn der elektroosmotische Fluß nicht durch Modifizierung der Kapillarinnenwand verändert werden soll, muß man die Detektion von langsameren Anionen auf kathodischer Seite vornehmen (vgl. Kap. 3.1.2.2., Abb. 3-2) und folglich die Injektionsseite der Kapillare mit dem positiven Pol belegen.

Der Einfluß des pH-Wertes auf die Bewegung der Ionen wird in Abbildung 5-1 gezeigt. Wenn man die Migration der Ionen in einem großen pH-Bereich betrachtet, wird die Wechselbeziehung zwischen ihrem Dissoziationszustand und dem elektroosmotischen Fluß deutlich. Unter Anlegen des positiven Pols der Hochspannung auf der Injektionsseite wandern die Analyte dem elektroosmotischen Fluß entgegen, dessen Mobilität die der Anionen unter den gewählten Bedingungen übersteigt. Sie erreichen den Detektor, der auf der kathodischen Seite plaziert ist, also in der Reihenfolge steigender Mobilität. As(III), As(V) und Se(IV) besitzen pK_S-Werte zwischen pH 6 und 10, folglich ändert sich die Zahl ihrer Ladungen in diesem Bereich (Protonierungsgrade, Abb. 2-1). Im pH-Bereich von 6 bis 8 ansteigende Migrationszeiten werden durch weitere Dissoziation und damit höhere Ladung der Ionen bedingt. Der Einfluß des anwachsenden EOF wird überkompensiert. Im Bereich pH 8 bis 10 dagegen wirkt sich überwiegend der Anstieg des EOF verringernd auf die Migrationszeiten aus. Eine Ausnahme bildet As(III), das zunächst als ungeladenes Teilchen H_3AsO_3 mit der Front des EOF transportiert wird. Es liegt erst ab pH > 8 merklich dissoziiert vor und kann sich erst dann im elektrischen Feld bewegen. Se(VI) besitzt eine sehr hohe Mobilität, jedoch nach vektorieller Addition mit dem EOF ergibt sich eine scheinbare Mobilität in Richtung der Detektionsseite mit einem sehr niedrigen Wert. Deshalb erreicht das zweifach geladene Se(VI)-Ion den Detektor innerhalb der Analysenzeit nicht.

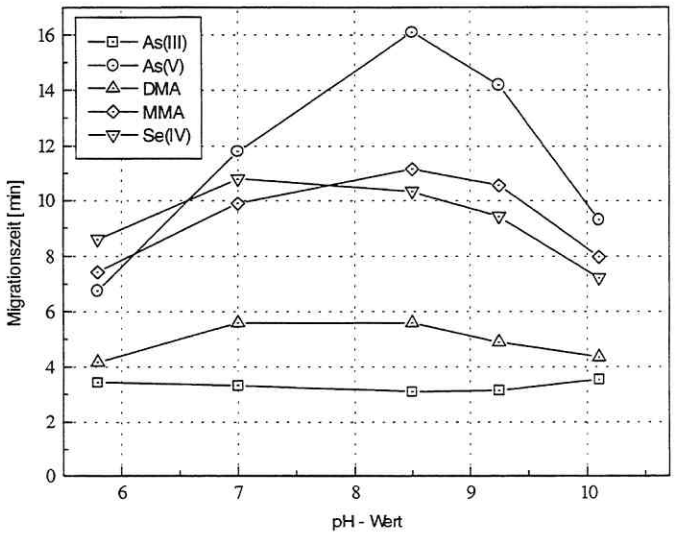


Abb. 5-1: Migrationszeit ausgewählter Spezies in Abhängigkeit vom pH-Wert.
(Elektrolyt Phosphat 15 mmol/L; Kapillare 57/50 cm × 75 µm I.D., U= +25 kV; Injektion 33 mbar × 0,13 min, Temperatur 298 K, Detektion: UV 200 nm)

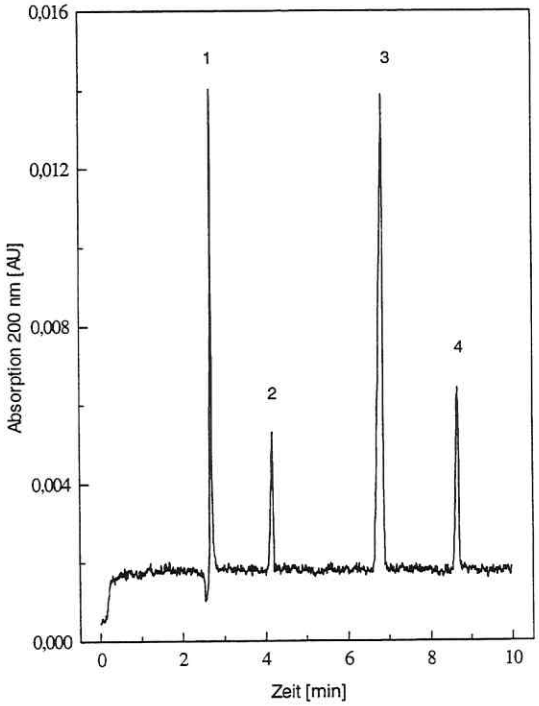


Abb. 5-2: Kapillarelektrophoretische Trennung mit direkter photometrischer Detektion.
Signale: 1- As(III), 2- DMA, 3- Se(IV), 4- As(V); Standardlösung, Konzentrationen: As(III), DMA, As(V) je 50 mg/L, Se(IV) 100 mg/L (Bed. wie Abb. 5-1, pH = 9,5)

Neben dem Phosphat-Elektrolyten wurden noch zwei weitere potentielle Puffersysteme untersucht, die im alkalischen Bereich (pH 10) Pufferwirkung zeigen: Glycin und Borsäure/Tetraborat. Sie liefern eine ähnliche Selektivität für die Arsen- und Selenspezies. In den Elektropherogrammen (Abb. 5-3, 5-4), in die auch UV-aktive Verbindungen wie PhAs, pAPAs, BzSe (s. Tab. 2-2) einbezogen sind, werden die Empfindlichkeitsunterschiede dieser Methode für die einzelnen Spezies deutlich.
Die drei Elektrolytsysteme sind mit ihren für diese Detektionsart optimierten Bedingungen in Tabelle 5-2 charakterisiert.

Elektrolyt	Phosphat 15 mmol/L, pH = 9,5 (UV 200 nm)				
	As(III)	As(V)	DMA	MMA	Se(IV)
Empfindlichkeit[a)] [10^{-3} AU·s/(µg/mL)]	0,65	0,45	0,33	0,49	0,87
Korrelationskoeffiz.[b)]	0,9995	0,9993	0,9966	0,9997	0,9998
Nachweisgrenze[a,c)] [µg/mL]	0,5	0,9	1,2	0,8	0,4

Elektrolyt	Glycin 5 mmol/L, pH = 11,1 (UV 190 nm)					
	As(III)	As(V)	DMA	pAPAs	PhAs	Se(IV)
Empfindlichkeit[a)] [10^{-3} AU·s/(µg/mL)]	2,01	2,41	3,15	6,44	11,9	2,66
Korrelationskoeffiz.[b)]	0,9992	0,9998	0,9991	0,9993	0,9998	0,9994
Nachweisgrenze[a,c)] [µg/mL]	0,24	0,80	0,30	0,11	0,08	0,68

Elektrolyt	Borsäure 2,58 mmol/L, Tetraborat 0,58 mmol/L, NaCl 2 mmol/L, pH = 10,0 (UV 190 nm)						
	As(III)	As(V)	DMA	MMA	pAPAs	PhAs	Se(IV)
Empfindlichkeit[a)] [10^{-3} AU·s/(µg/mL)]	0,85	3,32	0,19	0,53	4,96	5,64	1,60
Korrelationskoeffiz.[b)]	0,9992	0,9998	0,9996	0,9997	0,9996	0,9997	0,9998
Nachweisgrenze[a,c)] [µg/mL]	0,38	1,08	2,11	1,56	0,13	0,11	1,13

[a)]- bezogen auf Injektionsvolumen von ca. 36 nL; [b)]- lineare Regression; [c)]- 3σ-Kriterium

Tab. 5-2: Empfindlichkeiten und Nachweisgrenzen für ausgewählte Arsen- und Selen-Spezies mit photometrischer Detektion CZE-UV.

(Kalibrationsbereich 5 bis 100 µg/mL; Kapillare 57/50 cm × 75 µm, U= +25 kV)

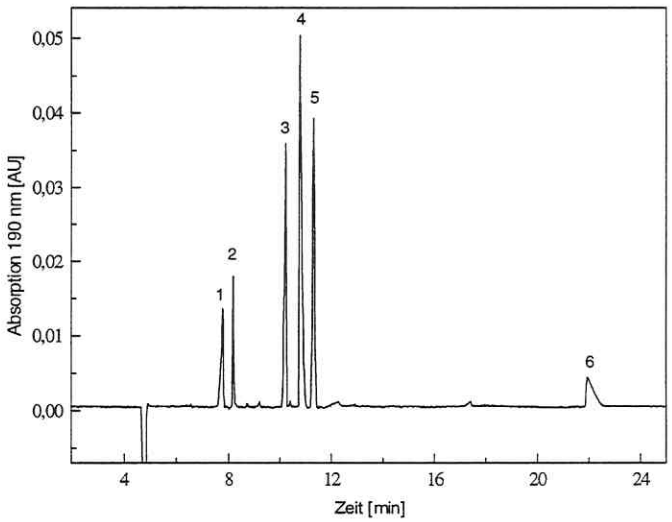


Abb. 5-3: Kapillarelektrophoretische Trennung mit direkter photometrischer Detektion, unter Verwendung von Glycin.

Signale: 1- DMA, 2- As(III), 3- pAPAs, 4- PhAs, 5-oAPAs, 6-Se(IV) (Standardlösung, Konzentrationen je 9,4 mg/L); Exp. Bed.: Glycin 5 mmol/L, pH = 11,1; Kapillare 57/50 cm × 75 µm I.D., U= +25 kV; Injektion 33 mbar × 0,33 min, Temperatur 298 K, Detektion: UV 190 nm

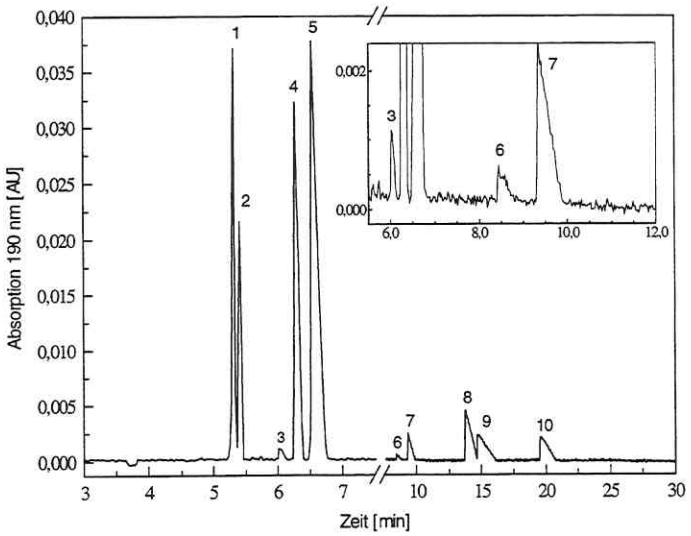


Abb. 5-4: Kapillarelektrophoretische Trennung mit direkter photometrischer Detektion, unter Verwendung eines Borat-Puffers.

Signale: 1- As(III), 2- oAPAs, 3- DMA, 4- pAPAs, 5- PhAs, 6- MMA, 7- Se(IV), 8- NO_2^-, 9- NO_3^-, 10- As(V) (Standardlösung, Konzentrationen je 9,4 mg/L, As(III) 25 mg/L, MMA 4 mg/L);
(Exp. Bed.: Elektrolyt Borsäure 2,58 mmol/L, Tetraborat 0,58 mmol/L, NaCl 2 mmol/L, pH = 10,0; Kapillare 57/50 cm × 75 µm I.D., U= +25 kV; Injektion 33 mbar × 0,33 min, Temperatur 298 K, Detektion: UV 190 nm)

Die ermittelten Nachweisgrenzen (Tab. 5-2) unterschreiten die der indirekten Detektion teilweise um den Faktor zwei. Sie sind vergleichbar mit den von Li & Li [127] mittels eines Phosphat/Tetraborat-Elektrolyten ohne Anreicherung ermittelten Werten, können aber in Bezug auf die Nachweisstärke bei weitem noch nicht mit chromatographischen Kopplungstechniken (Kap. 4.4.) konkurrieren.

5.3.3. Leitfähigkeitsdetektion

5.3.3.1. Optimierung und Kalibration

Eine weitere Möglichkeit zur Detektion in der Kapillarelektrophorese ist die Messung der Leitfähigkeit [179,180]. Diese in der Ionenchromatographie weit verbreitete Methodik ist seit kurzem auch kommerziell für die CZE verfügbar. Die Vorteile im Vergleich zur photometrischen Detektion bestehen darin, daß die Leitfähigkeitsmeßzelle für die Trennkapillaren ohne Empfindlichkeitsverlust miniaturisiert werden kann und alle ionischen Spezies unabhängig von ihrer UV-Aktivität über ihre Leitfähigkeit erfaßbar sind.

Meßsignale werden bei Leitfähigkeitsmessung prinzipiell dann erzeugt, wenn eine Differenz zwischen den Äquivalentleitfähigkeiten von Trennelektrolyt und Analyt besteht. Deshalb muß bei der Auswahl des Puffersystems eine möglichst geringe Grundleitfähigkeit des Elektrolyten

im Vordergrund stehen, um geringes Rauschen und hohe Empfindlichkeit für die Analyte zu erreichen. Diese Bedingungen werden beispielsweise von organischen Säuren wie 2-(N-Cyclohexyl)-aminoethansulfonsäure (CHES) oder Glycin erfüllt.
Durch unterschiedliche Ladungen der Analytionen (bis z= 2) sind größere Mobilitätsunterschiede zu erwarten. Bei Anordnung des Detektors auf Seiten der Kathode wären insbesondere für die zweifach negativ geladenen Ionen wie As(V) und Se(VI) sehr lange Migrationszeiten zu erwarten, da ihre Bewegungsrichtung dem EOF entgegengerichtet ist (Abb. 5-5/A). Um schnelle und langsamere (An-)Ionen gemeinsam innerhalb kurzer Zeiten erfassen zu können, kann der Detektor günstiger auf der anodischen Seite der Kapillare positioniert werden. Der elektroosmotische Fluß ist gerade im alkalischen Bereich beträchtlich. Damit die Beweglichkeit der Analytionen den EOF übertrifft, wird dieser zur Verkürzung der Analysenzeit durch eine Modifizierung der Kapillaroberfläche herabgesetzt. In diesem Fall (Abb. 5-5/B) bewegen sich nur Anionen zum Detektor. Das birgt gleichzeitig den Vorteil, daß eventuell störende Matrixbestandteile wie Alkali- und Erdalkaliionen der Probe abgetrennt werden.

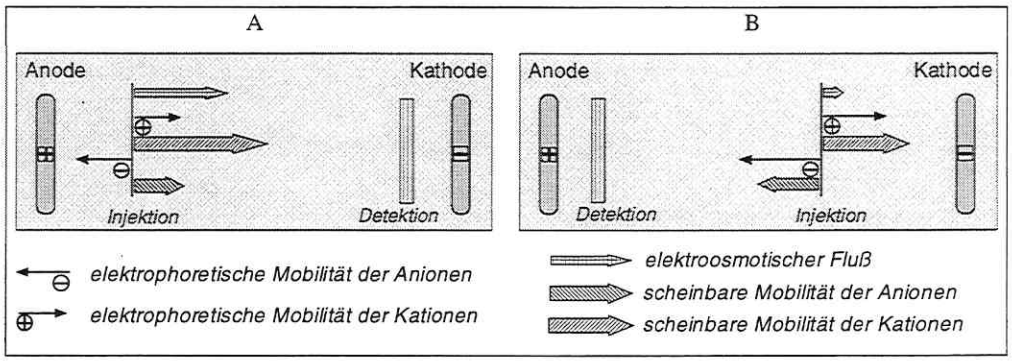


Abb. 5-5: Ionenwanderung im elektrischen Feld (Detektion von Anionen)
A – EOF nicht beeinflußt (z.B. El. Phosphat, Kap. 5.3.2.); B – EOF herabgesetzt durch Modifizierung der Kapillarinnenwand (z.B. El. Chromat, Kap. 5.3.1.; El. CHES, Kap. 5.3.3.)

Die Modifizierung der Kapillaroberfläche kann dynamisch oder statisch erfolgen. Bei dynamischer Modifizierung ist das Agens im Elektrolyten enthalten. Das bedeutet, daß die Ionenstärke der Elektrolytlösung verändert wird und unerwünschte Wechselwirkungen des Modifiers mit den Analytionen eintreten können. Hier in diesem Fall wird eine statische Belegung der Kapillaroberfläche bevorzugt, welche vor der Füllung mit dem Trennelektrolyten erfolgt, da so das Elektrolytsystem einfach gehalten werden kann.
Als Modifier dient Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB), ein kationisches Tensid, das unterhalb seiner kritischen micellaren Konzentration (Tab. A-2, Anh.) eingesetzt wird und durch Kompensation der negativen Ladungen der Kapillarwand den elektroosmotischen Fluß unterdrückt. Vor jeder Injektion wird die Kapillare zunächst durch Spülen mit der Modifierlösung konditioniert und nachfolgend mit frischer Elektrolytlösung gespült. Hierdurch konnten reproduzierbare Analysenbedingungen sowohl hinsichtlich der Kapillaroberfläche als auch des

Elektrolyten erreicht werden. Die apparative Anordnung (vgl. Abb. 3-3) des in dieser Arbeit eingesetzten Gerätes der Fa. ATI-Unicam ist so gewählt, daß sich die Leitfähigkeits-Meßzelle direkt am Auslaß der Kapillare, noch innerhalb des Hochspannungsfeldes befindet [174]. Dabei wird keine Beeinflussung des Meßsensors durch das HV-Feld beobachtet.

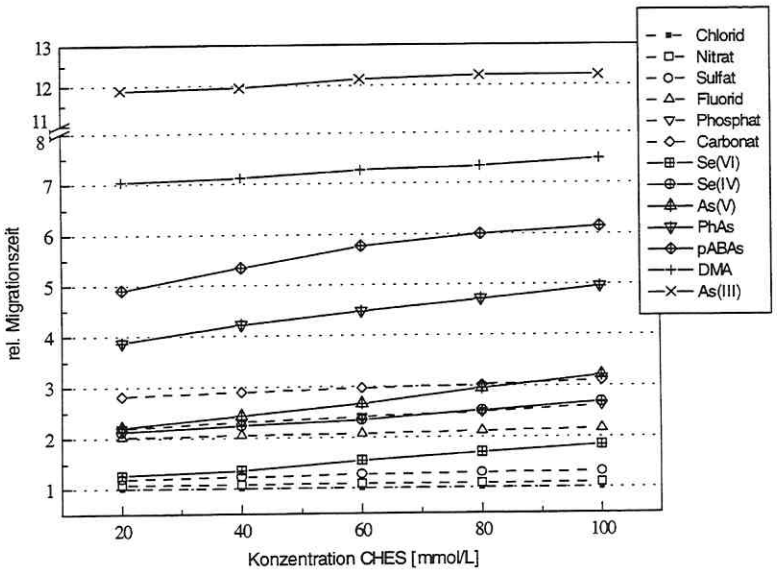


Abb. 5-6: CZE mit Leitfähigkeitsdetektion – Einfluß der Elektrolytkonzentration auf die Selektivität der Trennung (Migrationszeiten relativ zu Chlorid)
(Exp. Bedingungen: Elektrolyt CHES, Triton X-100 0,3 mg/mL, pH = 9,4 (LiOH); Modifier: CTAB 1 mmol/L (statische Modifizierung); Kapillare 70 cm × 50 µm, U= -25 kV, T= 303 K)

Die Optimierung schloß neben den Elektrolytparametern (Art, Konzentration und pH-Wert) die Zellspannung der Leitfähigkeitsmeßzelle ein. Diese wird auf die Grundleitfähigkeit des Elektrolyten und die aktuellen Dimensionen der Meßzelle*) abgestimmt. Die Auswahl des pH-Wertes ist eingeschränkt und richtet sich wiederum nach den pK_S-Werten der Analyte, deren Dissoziation gewährleistet sein soll. Der alkalische Bereich wird nach oben begrenzt durch eine steigende Grundleitfähigkeit des Elektrolyten und die sinkende Stabilität der Kapillarbeschichtung, was sich auf die Empfindlichkeit auswirkt.

Die Konzentration des Cyclohexylaminoethansulfonsäure-Elektrolyten (Abb. 5-6) verändert die Selektivität der Trennung besonders bezüglich der zweifach geladenen Ionen. Eine höhere Ionenstärke reduziert die Migrationsgeschwindigkeit *aller* Analyte, bedingt durch eine geringere Feldstärke, wobei aber die Migrationszeiten der *mehrfach* geladenen Ionen stärker steigen als die der einfach geladenen. Während As(III) und DMA nur eine geringe Abhängigkeit zeigen, werden PhAs, pAPAs sowie Se(IV), Se(VI) und As(V) sehr beeinflußt. Damit wird auch der Zusammenhang zwischen der Mobilität und dem Ionenradius deutlich, der in

*) Die Meßzelle wird durch den minimalen Abstand zwischen dem Kapillarende und dem Meßsensor (Elektroden) gebildet, welche manuell mittels Verschraubung gegeneinander positioniert werden.

das Verhältnis Ladung/Radius als Trennkriterium einfließt. Wegen der Nähe seines Peaks zum als Bezug gewählten Chloridion macht sich für Sulfat mit steigender Pufferkonzentration keine Migrationsverlängerung bemerkbar. Um das kritische Triplett Se(IV), HPO_4^{2-} und As(V) zu trennen, ist eine höhere Ionenstärke erforderlich. Allerdings steigt damit die Gesamtanalysendauer bis zur Registrierung von As(III) erheblich an. Als Kompromiß wurde eine CHES-Konzentration von 45 mmol/L gefunden.

Abbildung 5-7/A zeigt das Elektropherogramm eines Anionenstandards. Die Halogenidionen Chlorid und Bromid besitzen die höchste elektrophoretische Mobilität und werden als erste am Detektor registriert. Das Carbonation, als Verunreinigung durch die Luft eingetragen, hat die längste Migrationszeit der Standardanionen.

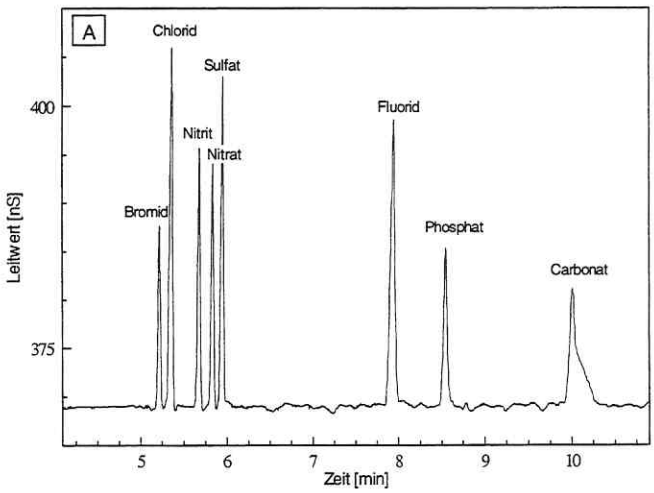


Abb. 5-7/A: Elektropherogramme einer Standardlösung, Leitfähigkeitsdetektion
(Exp. Bedingungen: Elektrolyt: CHES 45 mmol/L, LiOH 20 mmol/L, Triton X-100 0,3 mg/mL, pH = 9,4; Modifier: CTAB 1 mmol/L, Inj. 25 mbar × 12 s; Zellspannung 2,4 V, SR= 4 Hz; Kapillare 70 cm × 50 µm, U= -25 kV, I= 7 µA, T= 303 K (Thermostatisierung))

In Abbildung 5-7/B sind unter optimierten Bedingungen eine Auswahl von Arsen- und Selen Spezies getrennt, zusammen mit den Standardanionen. Die Signale sind gut basislinienaufgelöst und zeigen keine Überlagerungen. Im Elektropherogramm teilen sich die Ionen deutlich in drei Gruppen: sehr hohe Mobilität – Bromid bis Se(VI), hohe bis mittlere – Fluorid bis As(V) und geringe Mobilität – PhAs bis As(III). Die sich in ihrem Verhalten sehr ähnelnden Ionen As(V) und Phosphat in der mittleren Gruppe sind separiert. Die organometallischen Verbindungen DMA, PhAs, pAPAs erscheinen zwischen 12 und 18 Minuten. Diese geringere Mobilität steht in Übereinstimmung mit der einfachen Ladung (DMA) bzw. dem größeren Masse/Ladungsverhältnis. As(III) liegt unter den gewählten Bedingungen bei pH= 9,4 teilweise deprotoniert vor mit der Folge einer kleinen elektrophoretischen Mobilität. Tatsächlich ist seine Mobilität etwa viermal geringer als die von As(V), und es wird erst nach 35 min detektiert.

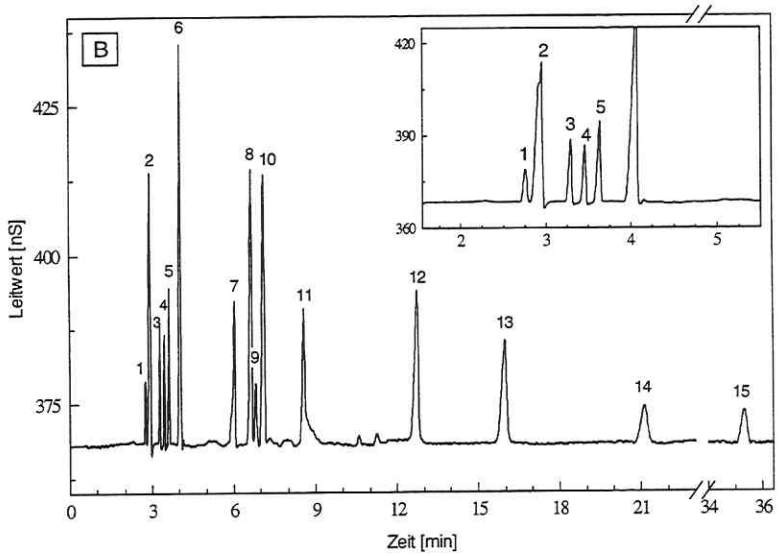


Abb. 5-7/B: Elektropherogramme von Standardlösungen, Leitfähigkeitsdetektion
Signale: 1- Br^-, 2- Cl^-, 3- NO_2^-, 4- NO_3^-, 5- SO_4^{2-}, 6- Se(VI), 7- F^-, 8- Se(IV), 9- HPO_4^{2-}, 10- As(V), 11- HCO_3^-, 12- PhAs, 13- pAPAs, 14- DMA, 15- As(III) (1-5, 7, 9 je 0,5 µg/mL, übrige 1 µg/mL) (Exp. Bed. wie 5-7/A)

Sämtliche Signale zeigen ein leichtes Fronting, was typisch für die direkte Leitfähigkeitsdetektion ist, weil sich die Analytionen schneller als die Elektrolyt-Coionen bewegen. Im Unterschied zur UV-Messung ist dieser Unterschied hier jedoch erwünscht, da im Falle gleicher Mobilität kein Meßsignal erzeugt würde. Ein Vergleich der nach Gleichung 10 ermittelten scheinbaren Mobilitäten ist in Tabelle 5-4 aufgenommen. Unter den Analysenbedingungen mit LF-Detektion wird kein Signal für die Größe des EOF erhalten. Diese Angaben für die einzelnen Ionen entsprechen unter der Näherung, daß im System keine elektroosmotische Strömung besteht, den tatsächlichen Mobilitäten.

Die Nachweisgrenzen wurden auf Grundlage einer Kalibration mit wässrigen Standardlösungen und des 3σ-Kriteriums ermittelt. Die Ionen zeigen nahezu gleiche Empfindlichkeiten; die Ausnahmen bei DMA, As(III) und pAPAs sind auf Unterschiede in ihren Äquivalentleitfähigkeiten und bei As(III) auch auf nicht vollständige Dissoziation zurückzuführen. Im untersuchten Bereich von 0,2 bis 5 µg/mL wird eine lineare Abhängigkeit festgestellt. Gegenüber der photometrischen Detektion (5.3.2.) ergibt die Anwendung der Leitfähigkeitsdetektion eine Verbesserung der Nachweisstärke um mindestens eine Zehnerpotenz, die sich in den realisierten Nachweisgrenzen zwischen 3 und 27 ng/mL dokumentiert.

Elektrolyt-Zusammensetzung	CHES (50 mmol/L) LiOH (20 mmol/L) Triton X-100 0,03 %	Kapillare	Quarz, 70 cm I.D. 50 µm
pH	9,4	Temperatur	303 K
		Spannung	-25 kV
Modifier	CTAB (1 mmol/L), 30 s Spülung vor jeder Analyse	Polung	Injektionsseite negativ
		Injektion	25 mbar × 12 s
Detektor Crystal 1000	Zellspannung 2,4 V (Zellvolumen 3 nL) Datenaufzeichnung 4 Hz Temperatur der Meßzelle 298 K		

Tab. 5-3: Zusammenfassung der optimierten Arbeitsbedingungen und apparativen Größen für die kapillarzonenelektrophoretische Trennung mit Leitfähigkeitsdetektion (CZE - LF)

Ion	As(III)	As(V)	Se(IV)	Se(VI)	DMA	pAPAs	PhAs	MMA
μ_i [a)] $[10^{-4}\cdot cm^2/(V\cdot s)]$	0,93	4,58	4,90	8,05	1,55	2,04	2,56	2,36
Empfindlichkeit[b)] $[10^{-1}\cdot nS\cdot s/(ng/mL)]$	0,94	2,80	2,51	2,79	1,10	2,29	2,75	1,88
NWG[b)] [ng/mL]	27	4	4	3	21	10	7	6

[a)]- scheinbare Mobilität; [b)]- Injektion 25 mbar × 12 s

Tab. 5-4: Mobilitäten der Spezies und Nachweisgrenzen (Exp. Bedingungen s. Tab. 5-3)

5.3.3.2. Applikationsbeispiele

An Beispielen soll die Eignung des vorgeschlagenen Verfahrens demonstriert werden. Untersucht wurden Oberflächenwasser des Spittelgrabens aus dem Bitterfelder Raum, Wasserproben einer Abraumhalde des Zinnerzbergbaus (s. Kap. 6) sowie der Extrakt von Sproßteilen einer auf arsenreichem Boden (150 mg As /kg) gewachsenen Pflanze (Blattsalat) (Säureextraktion mit Abtrennung des Extraktionsmittels vor der Analyse, beschrieben in [168]). Im letzteren Fall war aufgrund des kleinen zur Verfügung stehenden Probenvolumens der geringe Substanzbedarf der CZE von besonderem Vorteil.

Die Elektropherogramme in Abbildung 5-8, 5-9 zeigen deutliche Signale von As(V). Weitere, z.B. organometallische Verbindungen oder As(III) wurden nicht gefunden. Die in Wässern häufig anzutreffenden Ionen Chlorid, Sulfat und Fluorid beeinträchtigen die Bestimmung nicht. Im Beispiel Abb. 5-9 ist die zur Quantifizierung durchgeführte Standardaddition dargestellt. Die über CZE ermittelte Konzentration von 0,81 mg/L für As(V) zeigt im Vergleich mit dem über HG-AAS für Gesamt-Arsen erhaltenen Wert von 0,85 mg/L, daß in dieser Probe praktisch alles Arsen in fünfwertigem Oxidationszustand vorliegt. In Abb. 5-8 wurde der Probe zur Identifizierung jeweils 1 µg/mL As(V) und Phosphat bzw. nur As(V) zudotiert. Das Detektieren des Phosphat-Signals neben As(V) zeigt in der ursprünglich phosphatfreien Probe die Trennung von Arsenat und Phosphat.

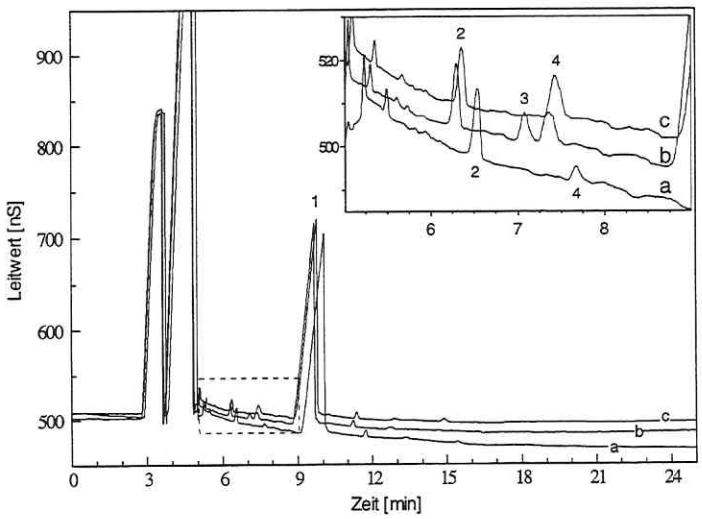


Abb. 5-8: Elektropherogramm einer Wasserprobe: Oberflächenwasser, Spittelgraben.
a – Original, b – Aufstockung As(V), HPO_4^{2-} je 1 µg/mL, c – Aufstockung As(V) 1 µg/mL; (Signale: 1- HCO_3^-, 2- F^-, 3- HPO_4^{2-}, 4- As(V); (Exp. Bed. wie Abb. 5-7, Kapillare 308 K, Länge 60 cm)

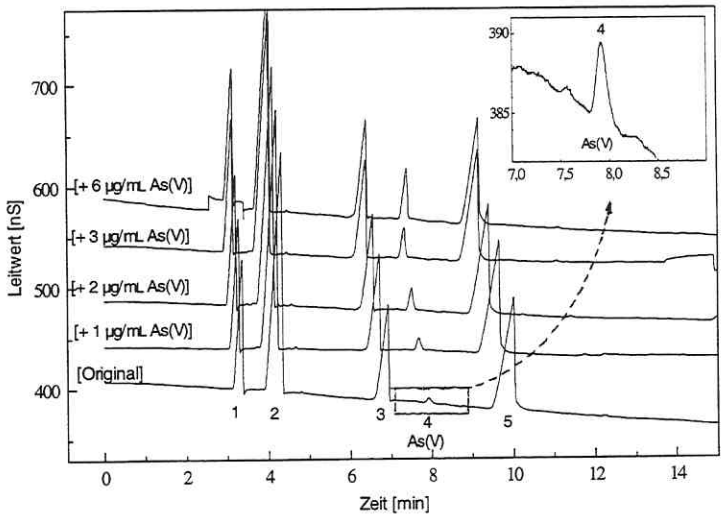


Abb. 5-9: Elektropherogramm einer Wasserprobe des Zinnerztailings Bielatal und Standard-addition von As(V) (Aufstockung je 1, 2, 3 und 6 mg/L)
Signale und ermittelte Analytkonzentrationen [mg/L]: 1- Cl^- (16,3); 2- SO_4^{2-} (77,2); 3- F^- (14,7); 4- As(V) (0,81); 5- HCO_3^-. (Exp. Bedingungen wie Abb. 5-8)

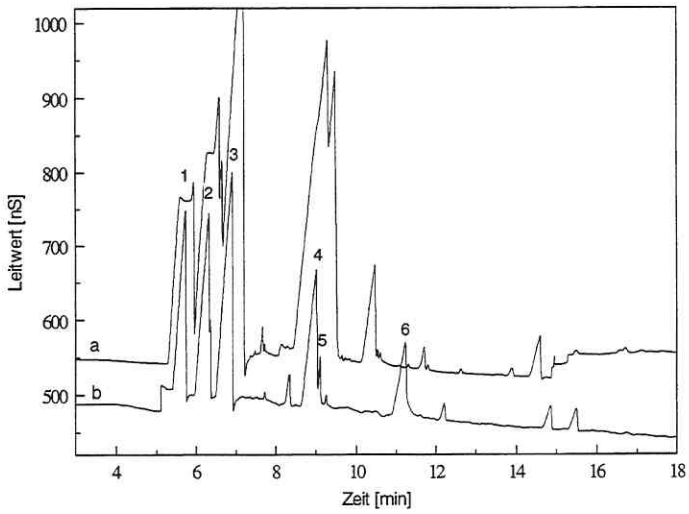


Abb. 5-10: Elektropherogramm des Extraktes eines Blattsalates.
a) Originalprobe, b) Verdünnung 1:15 mit MeOH (Signale: 1- Cl^-; 2- NO_3^-; 3- SO_4^{2-}; 4- HPO_4^{2-}; 5- As(V); 6- HCO_3^-; Exp. Bedingungen wie in Abb. 5-8)

Im Beispiel des Pflanzenextraktes (Abb. 5-10) werden Grenzen der Methode sichtbar, die erreicht werden, wenn Proben komplexer Matrix und hoher Ionenstärke direkt zu analysieren sind. Eine exakte Quantifizierung von As(V) in Gegenwart eines großen Überschusses Phosphat in direkter Nachbarschaft ist hier erschwert. Auch nach Verdünnung ist die Auflösung unzureichend und eine Integration nicht möglich.

5.3.4. Diskussion und Vergleich der Verfahren mit UV- und Leitfähigkeitsdetektion

Um die Speziationsanalytik von Arsen- und Selenverbindungen zu ermöglichen, wurden kapillarelektrophoretische Trennmethoden mit unterschiedlichen Detektionsarten optimiert. Untersucht wurden anorganische und organometallische ionische Verbindungen, die in Umweltkompartimenten anzutreffen sind und unterschiedliche Toxizitäten aufweisen. Erforderlich dazu ist eine selektive und sensitive Bestimmung kleiner Konzentrationen. Da die anorganischen As- und Se-Spezies relativ UV-transparent sind, ist die Anwendung der indirekten UV-Detektion für ihre Bestimmung nächstliegend. Die Mobilitäten der Ionen des dafür notwendigen komplexen Elektrolytsystems aus Puffer und Chromophor lassen sich jedoch nicht an die Mobilität sowohl schneller als auch langsamerer Analytionen anpassen. Elektrolytsysteme aus Chromat/Borat/DETA erwiesen sich daher als wenig geeignet für Trennung und Detektion der Spezies. Auch die Art und Weise der Detektion, eine kleine Abnahme des permanent hohen Untergrundsignals zu messen, ist für das unzureichende Nachweisvermögen verantwortlich.

Mit direkter UV-Detektion konnten bessere Ergebnisse bezüglich Trenneffizienz und Nachweisgrenze erreicht werden. Methoden, deren Elektrolytsysteme für die direkte UV-Detektion optimiert wurden, wie Phosphat oder Borat (Tab. 5-2), ermöglichen eine gute elektrophoretische Trennung der Spezies bei geringem Basislinienrauschen. Da jedoch die Extinktionskoeffizienten der anorganischen Spezies sehr klein sind, sind die erreichten Nachweisgrenzen zwischen 0,5 und 1 µg/mL (Tab. 5-2) noch recht hoch. Zwischen anorganischen Spezies und organischen Spezies mit aromatischem Ringsystem bestehen zudem teilweise große Empfindlichkeitsunterschiede (z.B. bei Elektrolyt Borsäure/Tetraborat eine Zehnerpotenz), die ihre Detektion nebeneinander erschweren können. Ionen mit geringerer Mobilität zeigen unsymmetrische Signale, die ebenfalls das Nachweisvermögen beeinflussen.

Die Leitfähigkeitsdetektion erweist sich gerade für ionische Verbindungen als ein geeignetes Detektionsprinzip, da die Analyte zur ihrer Trennung mit CZE ionisch vorliegen müssen und auf Grundlage einer unterschiedlichen Äquivalentleitfähigkeit der Elektrolyt- und Analytionen detektiert werden können. Eine direkte Detektion, bei der der Elektrolyt eine geringere Leitfähigkeit als die Analyte aufweist und deshalb ein hohes Untergrundrauschen vermieden wird, ist möglich. Die Methode unter Nutzung des Sulfonsäureelektrolyten (CHES) zeichnet sich durch einen großen linearen Meßbereich aus (Kalibrationsbereich von 0,2 µg/mL bis 5 µg/mL). Die mittels Leitfähigkeitsdetektion erzielten Nachweisgrenzen liegen im unteren ng/mL-Bereich und damit um ca. eine Zehnerpotenz unter denen mit photometrischer Detektion. Diese günstigeren Nachweisgrenzen erschließen der Methode einen breiteren Anwendungsbereich in der Spurenanalytik.

Bei beiden Detektionsprinzipien können jedoch die Trennung und insbesondere die Signalidentifizierung durch Matrixbestandteile beeinträchtigt werden. Die Methode mit Leitfähigkeitsdetektion zeichnet sich im Vergleich durch eine größere Robustheit aus, weil mit einem Elektrolyten hoher Ionenstärke gearbeitet wird und daher Matrixeinflüsse auf die Trennung geringer sind. Bei der Analyse von Pflanzenextrakten mit CZE - LF wurden Signalüberlagerungen durch enthaltene ionische Bestandteile beobachtet. Auch mit Leitfähigkeitsdetektion, die ja ebenfalls wie UV nicht elementspezifisch ist, war in diesem Fall keine zuverlässige Auswertung möglich.

Wesentliche Empfindlichkeitssteigerungen bei diesen unspezifischen Detektionsprinzipien sind durch Veränderungen des Elektrolytsystems nicht mehr erreichbar, da die bestimmenden Parameter (Extinktionskoeffizient, Äquivalentleitfähigkeit) Stoffkonstanten sind. Anwendbar wären umfangreiche und aufwendige Probenvorbereitungsschritte; Anreicherungsverfahren wie "stacking"-Techniken [127] sind nur dann geeignet, wenn die Mobilitäten zwischen Matrix- und Analytionen deutlich verschieden sind und letztere untereinander ein ähnliches Verhalten zeigen. Es gibt Ansätze [181,182], zur weiteren Empfindlichkeitssteigerung die in der Ionenchromatographie bewährte Suppressionstechnik für die CZE zu miniaturisieren und die das Rauschen bestimmende Grundleitfähigkeit des Elektrolyten auf chemischem Wege herabzusetzen. Damit kann jedoch keine Änderung der Spezifität erreicht werden. Vorteilhaft

bei kapillarelektrophoretischen Trennverfahren ist, daß im Vergleich zu chromatographischen Materialien die Wahl eines stark alkalischen Elektrolytmediums prinzipiell möglich ist, um damit eine Dissoziation aller Analyte zu erreichen, insbesondere auch As(III).
Für die Spurenanalytik von Arsen- und Selenverbindungen ist ein Nachweisvermögen der verwendeten Methoden im ng/mL-Konzentrationsbereich notwendig, vor allem, wenn man in Betracht zieht, daß durch Speziesunterscheidung eine weitere Aufsplittung erfolgt. Hieraus ergibt sich die Aufgabe, für die Kapillarelektrophorese eine Detektion anzuwenden, die einerseits durch ihre Elementspezifität Matrixeffekte überwindet und die andererseits multielementfähig ist, das heißt, die simultane Erfassung mehrerer Elemente erlaubt. Insbesondere sollte jedoch eine höhere Nachweisstärke erzielt werden.

5.4. Elementspezifische Detektion durch Kopplung von CZE mit ICP-MS

5.4.1. Ziel und Problematik

Die Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Argonplasma (ICP-MS) besitzt eine Reihe von Eigenschaften, die sich vorteilhaft auf die Analyterfassung in der CZE auswirken können. Diese beinhalten das Ausnutzen der elementspezifischen Signalerfassung, die Verminderung von Störungen durch komplexe Matrizes und insbesondere die Erhöhung der Detektionsempfindlichkeit zur Verbesserung der Nachweisgrenzen der CZE. Eine vollständige Trennung nur derjenigen Komponenten der Probe, die das gleiche Element enthalten, ist bei einer elementspezifischen Detektion erforderlich.
Die apparative Lösung einer Kopplung von CZE mit ICP-MS (Abb. 5-11) umfaßt insbesondere den Transfer der aus der Kapillare austretenden geringen Flüssigkeitsmenge in die Ionisationsquelle, das Argonplasma und eine Variante zur Kontaktierung des elektrischen Trennfeldes (Tab. 5-5). Gebräuchliche Probeneinführungssysteme für ICP-MS, in Abhängigkeit der jeweiligen Probenmatrices, sind (pneumatische) Zerstäubung, Ultraschallzerstäubung, Graphitrohr- und Laserverdampfung [75]. Da die Kapillarelektrophorese transiente Signale über einen längeren Zeitraum (Minuten) liefert, ist in diesem Fall nur eine kontinuierliche Aerosolerzeugung, wie z.B. die Zerstäubung pneumatisch oder mittels Ultraschall, geeignet. Daneben wäre der Einsatz eines Direktzerstäubers ("direct injection nebulizer") denkbar [122], bei dem die Flüssigkeit über eine Kapillare direkt bis in das Plasma geführt wird. Dieses System bietet jedoch nur eingeschränkte Möglichkeiten für die Kontaktierung und Flußsteuerung und ist mit einem sehr hohen apparativ-finanziellen Aufwand verbunden.
Bei der normalen Anordnung der Kapillarelektrophorese tauchen beide Seiten der Kapillare in zwei Flüssigkeitsreservoirs ein, in denen sich jeweils die Elektroden für das elektrische Hochspannungsfeld befinden. Für eine Kopplung mit ICP-MS ist es erforderlich, die Austrittsseite der Kapillare frei zu haben, um sie zur Ionenquelle zu führen. Gleichzeitig muß aber die Kontaktierung für das elektrische Feld vorgenommen werden. Es gilt somit die in Tabelle 5-5 aufgelisteten Anforderungen zu erfüllen.

1	frei zugängliches Kapillarende für Verknüpfung mit ICP-Probeneinführungssystem, dort gleichzeitig Realisieren des elektrischen Kontaktes für HV-Feld
2	Kontrolle/Verhinderung von Druckeinwirkungen auf das Kapillarende
3	Potential des Kapillarendes auf Detektionsseite möglichst auf Erde zur Vermeidung von Störungen am Detektor; Sicherheitsvorrichtungen für Nutzer
4	anwendbare Probeneinführung CZE: Druckinjektion, Elektromigration, Syphoning
5	effektive Überführung der aus der Kapillare austretenden Flüssigkeit in die Ionisationsquelle
6	Fähigkeit des MS-Detektors zur Aufnahme transienter Signale über den Zeitraum einer Analyse

Tab. 5-5: Anforderungen für die Kopplung von CZE mit ICP-MS

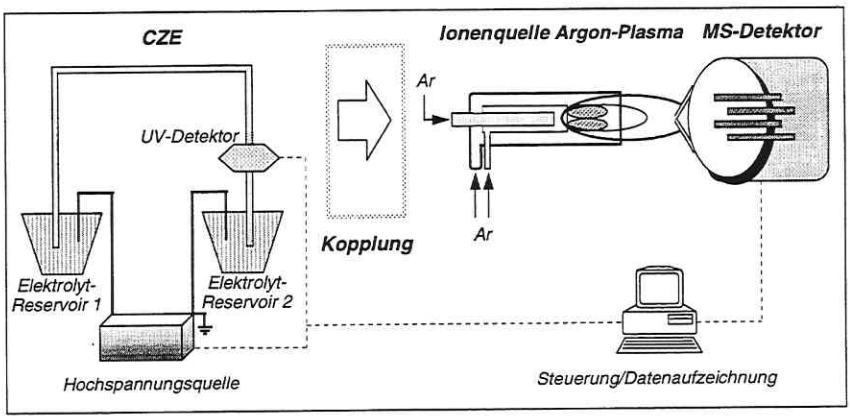


Abb. 5-11: Kopplung von CZE mit ICP-MS

In der analytischen Methodenentwicklung werden häufig Optimierungsverfahren wie die Simplexoptimierung eingesetzt [184], sie erlauben eine relativ schnelle Feinoptimierung eines analytischen Systems. Das setzt aber voraus, daß alle wesentlichen Einflußparameter nach Art und Größe ihres Einflusses bekannt sind. Dies ist hier im Falle der Methodenentwicklung zur Kopplung CZE – ICP-MS nicht gegeben. Vorrangig ist hier die Ermittlung relevanter Einflußfaktoren auf die Kopplung nebst deren möglicher Variationsbereiche und eine Wichtung ihres Einflusses. Auf Grund der Vielzahl der Einflußparameter ist nur ein univariates Vorgehen möglich. Parameter, die zwar bekanntermaßen die elektrophoretische Trennung beeinflussen, aber wegen apparativer Gegebenheiten nicht variabel sind, wurden nach Möglichkeit festgesetzt und konstant gehalten. Dies traf beispielsweise auf die Länge der Trennkapillare und ihre Temperatur zu. Für die Länge der Trennstrecke mußten mindestens 100 cm gewählt werden, um die räumliche Verbindung zwischen Trenn- und Detektionssystem zu ermöglichen. Eine separate Thermostatisierung war nicht möglich; die Kapillare wurde bei Raumtemperatur (Klimatisierung des Raumes) gehalten.

5.4.2. Wege zur Kopplung und Aufbau des Kopplungsinterface

Die Detektion in der Kapillarelektrophorese verlangt die kontinuierliche Aufnahme transienter Signale über einen Zeitraum von 10 bis 20 Minuten. Als vielseitigste Form des Analyteintrages in das Argonplasma wurde in dieser Arbeit auf die pneumatische Zerstäubung zurückgegriffen, da sie die Beeinflussung einer Reihe wichtiger apparativer Parameter erlaubt. Eine effektive Aerosolerzeugung mit Cross-flow Zerstäubern erfordert Flußraten von ca. 1 mL/min, die etwa 1500-fach über dem Volumenstrom einer CZE-Kapillare (0,2 - 0,5 µL/min) liegen. Diese zu erreichen, ist nur durch Einspeisung eines zusätzlichen Trägerstromes in dieser Größe möglich, was aber zu einer beträchtlichen Verdünnung der Analyte führt.

Deshalb wurde als eine weitere Möglichkeit ein sogenannter Mikrozerstäuber (MCN-100) ausgewählt, der schon bei Flußraten im unteren µL/min Bereich arbeitet. Voruntersuchungen zeigten, daß es für den Einsatz eines solchen konzentrischen Mikrozerstäubers notwendig ist, Flußraten von mindestens 10 bis 60 µL/min zu erreichen und deshalb in dieser Höhe einen Carrier-Strom einzuspeisen. Damit könnte die Verdünnung, allerdings noch immer beträchtlich, auf das ca. 60-fache beschränkt werden.

Die Einspeisung eines zusätzlichen Trägerstromes, der zur effektiven Aerosolerzeugung sowohl für den Cross-flow als auch den Mikrozerstäuber notwendig ist, wurde in dieser Arbeit in einem T-Verbinder der HPLC (I.D. 0,3 mm) vorgenommen, der das Kapillareffluat mit dem Transport-Flüssigkeitsstrom (Carrier) vereinigt. Bei dieser Anordnung wird der Transportstrom rechtwinklig geführt und die Kapillare so positioniert, daß sie vom Carrier umströmt wird (Abb. 5-12). Dadurch ist ein totvolumenfreier Übergang erreicht. Eine reproduzierbare Positionierung eines definierten Abschnittes der Kapillare im T-Stück ist über Fitting-Schraube und Dicht-Kegel (2) möglich. Der schematische Aufbau ist in Abbildung 5-12 gezeigt.

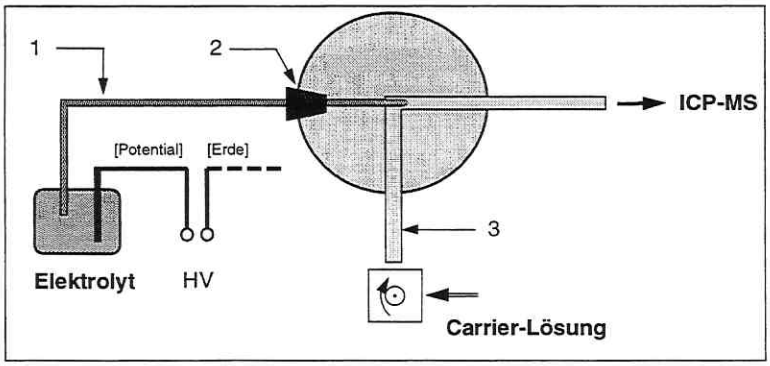


Abb. 5-12: Verknüpfung von Kapillare mit Träger-Flüssigkeitsstrom

(HPLC - T-Stück, Peek, I.D. 0,3 mm; 1- Quarz-Kapillare, 2- Fitting-Schraube mit Dichtkegel, 3- Peek-Kapillare; Kontaktierung des elektrischen Feldes: s. Abb. 5-13, 5-14)

5.4.3. Realisierung des Hochspannungsfeldes

Das für die kapillarelektrophoretische Trennung über der Trennkapillare notwendige elektrische Hochspannungsfeld wird normalerweise durch zwei Elektroden, die sich in den beiden Elektrolytgefäßen befinden, realisiert. Bei der Kopplung CZE – ICP-MS kann dies jedoch nur auf der Injektionsseite beibehalten werden; das andere Ende der Kapillare steht nicht in gleicher Weise zur Verfügung, sondern wird zum Detektor bzw. Kopplungsinterface geführt (Abb. 5-12).

5.4.3.1. Kontaktierung über Ionenaustauschermembran-Brücke

Die elektrische Kontaktierung für das Hochspannungsfeld der CZE muß in der Nähe des Kapillarendes realisiert werden. In der Literatur sind in Zusammenhang mit elektrochemischer Detektion Ansätze zur "Entkopplung" der Hochspannung beschrieben. So erzeugten Huang et al. [185] mittels Laserbeschuß eine on-column Fritte zur Kontaktierung. Von Yik et al. [186] wurde ein poröses Graphit-Übergangsstück zwischen die Kapillare gesetzt. O'Shea et al. [187] und Chen et al. [188] setzten einen Nafionmembran-Schlauch bzw. porösen Celluloseacetat-Film zur Verbindung von Trenn- und Detektionskapillare ein Die poröse leitfähige Verbindung wird jeweils in ein Gefäß mit Elektrolytlösung geführt, das den elektrischen Kontakt herstellt. Für die direkte Kopplung von CZE mit MS über ein Elektrospray-Interface wurde von Cai et al. [189] die Kapillare am Ende mit einer leitfähigen Beschichtung versehen und über einen Hilfsfluß ("sheath-flow") das Feld aufgebaut. Letztere Variante kam abgewandelt auch für eine Kopplung CZE – ICP-MS zur Anwendung [120] (s. Kap. 3.2.3.).

Ausgehend von Arbeiten von [187,188,190] über elektrochemische Detektion in der Kapillarelektrophorese wurde zuerst eine leitfähige Verbindung zwischen dem Innen- und Außenraum einer Quarzkapillare durch eine Ionenaustauschermembran-Brücke konstruiert. Dazu wurde zwischen zwei Kapillarstücken eine dünne Nafion-Membranschicht eingebracht, wodurch man die Kapillare in zwei Bereiche teilt: im ersten Teil, im Hochspannungsfeld, läuft die Trennung ab und im zweiten erfolgt ausschließlich ein Transport der Analyte. Der Aufbau ist schematisch in Abbildung 5-13 gezeigt. Im Unterschied zu Ansätzen der elektrochemischen Detektion, wo eine sehr kurze "Detektionskapillare" (meist bis 10 mm) [190] ausreichend ist, wird es hier erforderlich, zur besseren Handhabbarkeit ein längeres Stück zu verwenden, weil es im weiteren Verlauf in den Carrier-Strom eingeführt werden soll. Apparativ bedingt ergibt sich eine Länge von 10 cm.

Die Herstellung wurde folgendermaßen vorgenommen: Zunächst wurde die Polyimidschicht in einem Bereich der Kapillare (ca. 5 - 10 mm) entfernt. Sodann wurde dieses Segment beidseitig mittels Epoxidharz an zwei Stellen auf einem Objektträger fixiert. Nachdem die Oberfläche in der Mitte des polyimidfreien Bereiches mit einem Glasschneider leicht geritzt wurde, wurde durch leichtes Anheben dieser Stelle eine definierte, möglichst glatte Bruchstelle erzeugt. Durch die beidseitige Fixierung ist gewährleistet, daß sich die Stücken wieder exakt aneinander fügen. Auf diese Bruchstelle wird nun die Membran in gelöster Form (perfluoriertes

Ionenaustauscher-Pulver Nafion in wäßrig-alkoholischer Lösung) aufgegeben. An der Bruchstelle bildet sich ein feiner Film aus, der sich zwischen den beiden Kapillarenden bis ins Innere fortsetzt und so den Kontakt zwischen Innen- und Außenraum herstellt. Günstig ist es, während des letzten Schrittes einen leichten Luftstrom durch die Kapillare zu saugen, damit eine Verstopfung verhindert wird.

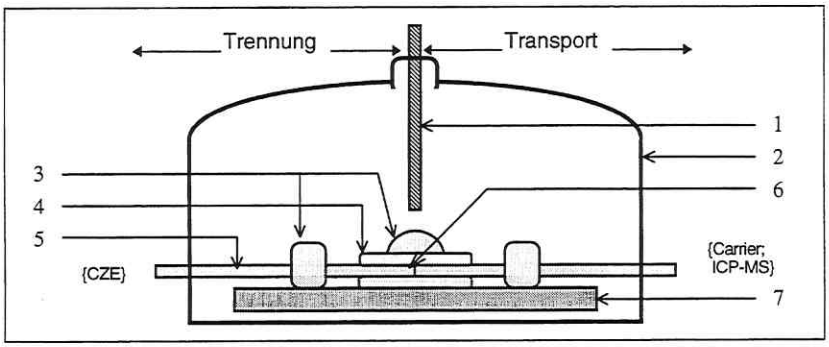


Abb. 5-13: Nafionmembran-Brücke zur Verbindung zweier Quarz-Kapillaren mit elektrischem Kontakt.

1- Platin/Iridium-Elektrode, 2- Plexiglasgefäß mit Sicherheitsschalter, 3- Epoxidharz, 4- Nafion-Membran, 5- Quarz-Kapillare, 6- Bruchstelle, 7- Objektträger Plexiglas

Das Aufbringen der Lösung wird mehrfach wiederholt. Um einen Weitertransport der Analyte durch die "Transport"-Kapillare zu sichern, muß die Verbindung dicht und druckstabil ausgebildet werden. Nach Trocknung der Nafion-Membran wird dies durch eine Epoxid-Überdekkung der Bruchstelle erreicht, die jedoch eine geringere Fläche als den mit der Nafion-Membran bedeckten Bereich einnimmt. Der Objektträger mit dem beschichteten Bereich wird in einem Elektrolyt- Reservoir plaziert, in dem sich die Elektrode des elektrischen Feldes befindet. Bei dieser Konstruktion ist ein Flüssigkeitsaustausch zwischen Kapillare und Gegenelektrolyt nicht möglich.

Zum Test der Verbindung wurde die Stromstärke des Hochspannungsfeldes unter Normalbedingungen (Abb. 5-11) mit der bei freigesetztem Kapillarende verglichen. Aus den konstanten, geringfügig niedrigeren Werten kann geschlußfolgert werden, daß ein elektrisches Feld über der Kapillare aufgebaut wird (s. Tab. 5-6). Desweiteren wurde unter Beifügen von Rhodium zum Elektrolyten über 30 min eine Trennung simuliert und danach eine Analyse der Elektrolytlösung im Gegengefäß vorgenommen. Dabei wurde mittels ICP-MS keine erhöhte Rh-Konzentration gemessen. Die Abwesenheit des Markers kann als Beweis für die Dichtheit der Verknüpfung angesehen werden.

Bei Anlegen einer Hochspannung erfolgt die migrative Bewegung der Ionen nur bis zur Stelle der Spannungsentkopplung. Danach wird die Flüssigkeitsfront durch den elektroosmotischen Fluß und eventuell bestehende Druckgradienten bis zur Vereinigung mit dem Carrier-Fluß im T-Stück weiterbewegt. Auf dieser Strecke kann es zu Peakverbreiterungen und Dispersion

durch Ausbildung eines parabolischen Strömungsprofiles kommen. Vorteilhaft ist, daß Kontaminationen des Trennelektrolyten durch Ionen des Carriers vermieden werden. Bei Auswahl des Carriers bestehen keine Einschränkungen im Hinblick auf das elektrophoretische System. Nachteilig ist dagegen der Aufwand für die reproduzierbare Anfertigung und Testung dieser Nafion-Kupplungen.

5.4.3.2. Kontaktierung über den Carrier-Fluß

Mit dem Ziel, das Kopplungsinterface so zu gestalten, daß keine Manipulationen an der Kapillare selbst notwendig sind und ein einfacher Wechsel derselben möglich ist, wurde das System so aufgebaut, daß die elektrische Kontaktierung erst im Carrier-Strom erfolgt (Abb. 5-14). Dazu wird dort in die Peek-Strecke eine Platin-Kapillare (1 cm) eingefügt, die als Elektrode dient. Im Ergebnis dessen steht die gesamte CZE-Kapillarlänge für die elektromigrative Bewegung und den Trennprozeß zur Verfügung. Für den elektrischen Kontakt ist es notwendig, daß es sich beim Carrier ebenfalls um eine Elektrolytlösung mit ausreichender elektrischer Leitfähigkeit handelt. Ausgewählt wurde dafür nach verschiedenen Tests eine 0,2 %ige Lösung von Salpetersäure (s. Kap. 5.4.4.).

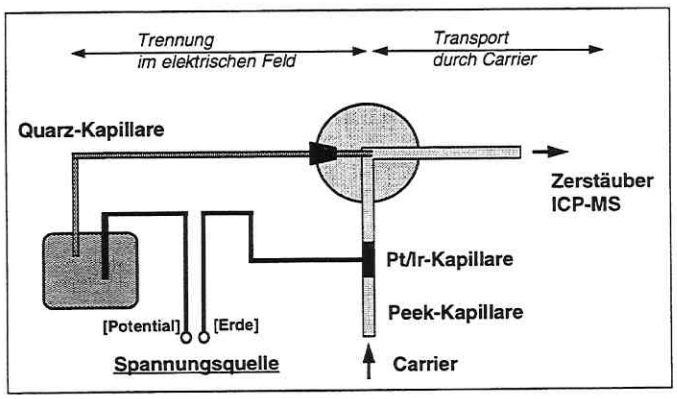


Abb. 5-14: Schematische Darstellung der Kontaktierung für das Hochspannungsfeld

Im nächsten Schritt erfolgte die Prüfung des elektrischen Feldes. Zur Feststellung, inwieweit der gewählte Versuchsaufbau ein elektrisches Feld sowie Stromfluß in der Kapillare ermöglicht, wurde jeweils während der Zerstäubung der im HV-Feld fließende Strom verfolgt (Tab. 5-6). Die niedrigeren gemessenen Werte gegenüber dem Standardaufbau (Abb. 3-3) deuten auf größere Übergangswiderstände hin; ihre im zeitlichen Verlauf geringe Schwankungsbreite läßt aber auf konstante Feldbedingungen schließen. Unter Berücksichtigung der hohen Strömungsgeschwindigkeit des Carriers (Verbindung T-Stück bis Zerstäuber: I.D. 300 µm, Länge 30 cm) zeigt sich, daß die Verweilzeit des Flüssigkeitspfropfens aus der Trennkapillare außerhalb des Trennfeldes kleiner als ca. 5 Sekunden ist. Durch diesen schnellen Transport werden Dispersionseffekte gering gehalten.

Kontaktierung	Carrier	U [kV]	I [µA]	ΔI [µA]	Aufbau
normal	-	+ 25	25	± 0,5	Abb. 3-3
Membran	$H_2O^{a)}$	+ 25	12	± 2,7	Abb. 5-13
Pt-Kapillare	$HNO_3^{a,b)}$	+ 25	18	± 1,6	Abb. 5-14

Tab. 5-6: Vergleich zur Kontaktierung des Hochspannungsfeldes
(Elektrolyt: Borsäure/Tetraborat, keine Probeninjektion. [a)]- CAR je 50 µL/min; [b)]- Konz. 0,2 %)

Im Vergleich beider Varianten, der Kontaktierung über die Nafion-Membran sowie über die Pt-Kapillare, kann festgestellt werden, daß jeweils vergleichbare Resultate erreicht werden. Der zweite Fall zeichnet sich vorteilhaft aus durch: • die migrative Ionenbewegung über die gesamte Kapillarlänge (Verminderung von Bereichen mit laminarer Strömung); • einfache, reproduzierbare Herstellung; • verdünnte Salpetersäure als Carrier-Lösung ist gut geeignet für das ICP; • CZE-Trennsystem wird durch Salpetersäure-Carrier nicht beeinflußt.
Die weiteren Untersuchungen zur Kopplung wurden daher im Modus der Kontaktierung über die Pt-Kapillare durchgeführt.

5.4.4. Zerstäubungstechniken

5.4.4.1. Auswahl einer Carrier-Lösung

Bei der Optimierung des Kopplungsinterface ist der Zerstäubungseffektivität als einem wesentlichen Faktor für die erreichbare Empfindlichkeit eine hohe Priorität beizumessen.
Die pneumatische Zerstäubung benötigt größere als normalerweise aus der Trennkapillare austretende Flußraten. Deshalb wurde mittels einer HPLC-Pumpe bzw. einer Gasdruckförderung (N_2-Aufgabe auf Vorratsflasche) ein zusätzlicher Flüssigkeitsstrom eingespeist. Die Volumenströme von 10 bis 100 µL/min wurden im Falle der HPLC durch Aufsplittung einer Flußrate von 0,5 mL/min auf den gewünschten Wert realisiert.
Anforderungen an die Transportlösung sind zum einen eine geringe Belastung des Plasmas und zum anderen sollten keine störenden Reaktionen mit dem CZE-Trennelektrolyten auf der Strecke zwischen T-Stück und Zerstäuber (Abb. 5-14) eintreten. Im Falle der Kontaktierung mittels Pt-Elektrode im Carrier (Kap. 5.4.3.2.) muß für ein stabiles Hochspannungsfeld eine elektrische Leitfähigkeit der Carrier-Lösung gewährleistet sein, während bei Verwendung der Ionenaustauschermembran-Brücke (Kap. 5.4.3.1.) auch entionisiertes Wasser verwendet werden konnte. Ausgewählt als Carrier für die weiteren Anwendungen wurde verdünnte Salpetersäure, weil diese sich in der ICP-Spektrometrie als geeignet erwiesen hat und keine zusätzlichen Störelemente ins Plasma bringt sowie keine störende Reaktion mit dem Effluat der CZE-Trennkapillare eingeht.
Als Indikator für die Konstanz des Carrier-Flusses über die Analysenzeit wurde der Salpeter-

säurelösung ein Rhodiumstandard (20 ng/mL) zugesetzt. Die Registrierung des Isotops ^{103}Rh im Spektrometer erlaubt jeweils die Überwachung des Kopplungsinterface bezüglich Flußkonstanz und Zerstäubungsparameter.
Die beiden in diesem Zusammenhang untersuchten Zerstäubertypen, ein Cross-flow- und ein Mikrozerstäuber, wurden jeweils mit einer Ryton-Sprühkammer (Scott-Typ) kombiniert.

5.4.4.2. Cross-flow Zerstäuber

Die ersten Untersuchungen zum Aufbau der Kopplung wurden unter Einsatz eines Cross-flow Zerstäubers durchgeführt und unter bekannten standardmäßigen Bedingungen der ICP-MS Analytik gearbeitet (siehe Angaben Abb. 5-15). Entsprechend der üblichen Betriebsweise wurde ein Carrier-Fluß in der Größenordnung von 1 mL/min angewendet.
Auf Seiten der CZE-Trennkapillare erfolgte die Injektion einer Standardlösung mit Arsen- und Selenverbindungen mit Konzentrationen von je 1000 ng/mL. Die Abbildung 5-15 läßt Signale für die einzelnen Ionen aus der CZE-Trennung erkennen, die allerdings von einem Flackerrauschen überlagert werden (Basislinie: SD= 25 counts/s). Trotz der hohen Analytkonzentrationen in diesem Beispiel sind die Intensitäten mit 3700 counts (nach Peakintegration) relativ gering. Auf das Injektionsvolumen von 83 nL bezogen entspricht dies im Mittel für jeden As-Peak 44 counts pro Nanoliter injizierte Standardlösung. Das kann auf die geringe Zerstäubungseffektivität (<5 %) und die hohe Verdünnung von 1 : 10^3 im Carrier zurückgeführt werden. Für die Selen-Signale (^{77}Se) erhält man ebenfalls niedrige Intensitäten von 2250 counts (entsprechend 27,1 counts pro nL; SD d. Basislinie 6,5 counts/s). Es wird deutlich, daß trotz des hohen Nachweisvermögens der ICP-MS auf diese Weise kein Empfindlichkeitsgewinn gegenüber herkömmlicher unspezifischer Detektion (UV, LF) zu erreichen ist.

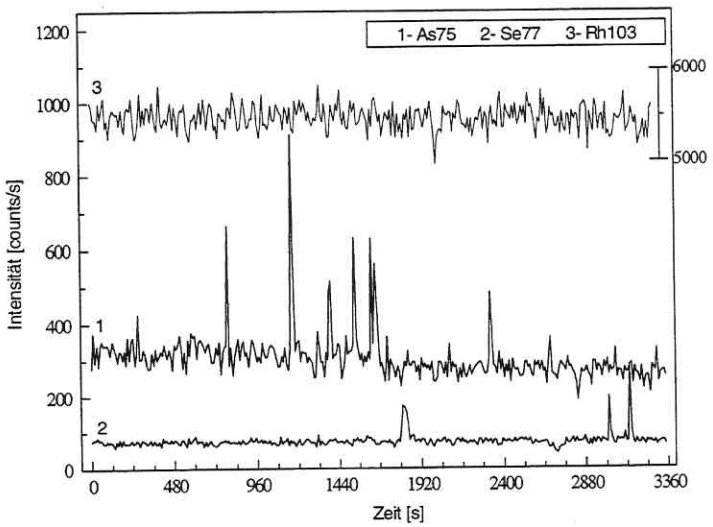


Abb. 5-15: Elektropherogramm CZE - ICP-MS, Kopplung unter Einsatz des Cross-flow-Zerstäubers
(Exp. Bedingungen: Hochspannungsentkopplung mit Nafion fit; Kapillare: 1,40 m mit on-line UV-

Detektor (190 nm), Elektrolyt Borsäure/Tetraborat 1,5/1,5 mmol/L, pH= 9,5; Carrier-Strom: HNO_3 verd. 0,9 mL/min; Probe: 7 As-Spezies und 3 Se-Spezies je 1 µg/mL, Inj. 0,5 min × 50 mbar (83 nL); ICP-MS: Dwell-time 2000 ms, Datenaufzeichnung 0,1 Hz; Gasströme: PLA 15 L/min, AUX 0,8 L/min, NEB 0,89 L/min, Leistung 1000 W)

5.4.4.3. Konzentrischer Mikrozerstäuber

Um die Detektionsempfindlichkeit zu steigern, ist es notwendig, die Anzahl der ins Plasma überführten Analytatome zu erhöhen. Zum Vergleich gegenüber der Cross-flow-Zerstäubung wurde ein neuentwickelter konzentrischer Mikrozerstäuber (MCN-100, microconcentric nebulizer [191]) eingesetzt. Dieser Mikrozerstäuber arbeitet bereits ab Flußraten von ca. 10 µL/min, so daß die durch den Carrier beim Cross-flow verursachte hohe Verdünnung verringert werden kann. Im Beispiel Abb. 5-16 lag eine Förderrate von 46 µL/min vor. Um abgeschiedene Wassertröpfchen abtrennen zu können, erwies es sich als notwendig, diesen Zerstäuber ebenfalls mit einer Aerosolkammer zu kombinieren. In [192] gemachte Vorschläge, darauf wegen möglicher Dispersionseffekte und Peakverbreiterung zu verzichten, erwiesen sich als nicht praktikabel, weil es hier wie auch beim Cross-flow zu Wasserabscheidungen auf dem Transportweg kommt. Diese Flüssigkeitsmengen müssen ablaufen können, weshalb dafür die gleiche Aerosolkammer wie beim Cross-flow Zerstäuber eingesetzt wurde.

Zur Abschätzung der Zerstäubungseffektivität des Mikrozerstäubers wurde der aus der Zerstäuberkammer abgelaufene Flüssigkeitsrest in Beziehung zur insgesamt zugeführten Menge gesetzt. Durchschnittlich wird danach im unteren Arbeitsbereich (<100 µL/min) eine Effektivität von mindestens 70 % erreicht (Tab. 5-7). Damit kann gegenüber dem Cross-flow Zerstäuber eine enorme Steigerung verzeichnet werden.

Fördersystem	Zeitintervall	Carrier Förderrate	Volumen Zulauf	Volumen Ablauf	Zerstäubungs-effektivität
HPLC-Pumpe	660,0 min	30 µL/min	19,800 mL	4,790 mL	75,8 %
HPLC-Pumpe	521,0 min	60 µL/min	31,260 mL	8,030 mL	74,3 %
N_2-Druck Förderung	447,6 min	20 µL/min	8,952 mL	2,390 mL	73,3 %

Tab. 5-7: Abschätzung der Zerstäubungseffektivität des Mikrozerstäubers
(ICP-MS Gasströme: PLA 15 L/min, AUX 0,8 L/min, NEB 1,02 L/min)

Elektropherogramme, die unter diesen Bedingungen aufgenommen wurden, zeigen mit Signalflächen im Elektropherogramm von im Mittel 65000 counts (As) wesentlich bessere Intensitäten (Abb. 5-16). Das veränderte Migrationsverhalten im Vergleich zu Abb. 5-15 ist auf veränderte Bedingungen bei der Carrier-Fließgeschwindigkeit, der Kapillarlänge und den Druckverhältnissen zurückzuführen. Für die Gegenüberstellung zum Cross-flow-Zerstäuber wurden die Intensitäten wiederum auf das Injektionsvolumen, das hier wegen der kürzeren Trennkapillare etwas höher liegt, bezogen. Für die Empfindlichkeit der Arsensignale ergibt sich ein mittlerer Wert von 560 counts pro Nanoliter der injizierten Standardlösung (je Spezies

1000 ng/mL). Für Selen (^{77}Se) findet man 7850 counts (67,7 counts/nL Inj.). Das Rauschen der Basislinie (SD) liegt bei 30 (As) und 6 (Se) counts/s.

Mit diesen günstigeren Leistungsparametern wurde die Richtung für weitere Optimierungen vorgegeben. Zu dem besseren Ergebnis können auch günstigere Aerosol-Teilchengrößen [193] und dadurch veränderte Plasma-Parameter beitragen sowie die kleineren Dimensionen des Carrier-Fließsystems und Zerstäubers. Die nachfolgenden Untersuchungen wurden daher ausschließlich mit dem Mikrozerstäuber MCN-100 vorgenommen.

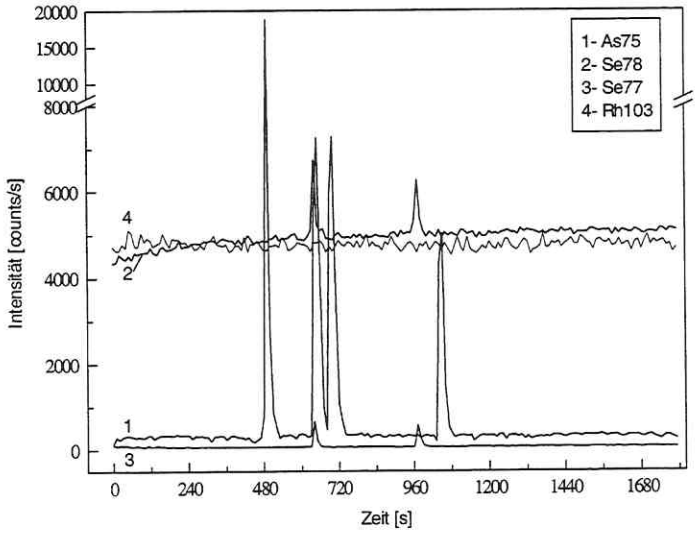


Abb. 5-16: Elektropherogramm CZE - ICP-MS, Kopplung unter Einsatz des Mikro-Zerstäubers

(Exp. Bedingungen: Hochspannungsentkopplung mit Nafion fit; Kapillare: 100 cm × 75 µm; Elektrolyt Borsäure/Tetraborat 1,5/1,5 mmol/L, pH= 9,5; Carrier-Strom: HNO_3 verd. 46 µL/min; Probe: 7 Spezies As und 3 Spezies Se je 1 µg/mL, Inj. 0,5 min × 50 mbar (116 nL); ICP-MS: Dwell-time 2000 ms, Datenaufzeichnung 0,1 Hz; Gasströme: PLA 15 L/min, AUX 0,8 L/min, NEB 1,03 L/min, Leistung 1000 W)

5.4.5. Einbau eines Mehrwegeventils

Da in der Kapillarelektrophorese sehr kleine Probenvolumina untersucht werden, ist eine reproduzierbare Injektion besonders wichtig. Von den prinzipiell verfügbaren Varianten ist die hydrodynamische Probenaufgabe das vielseitigste Injektionsverfahren; es führt die Ionen unabhängig von ihrer Mobilität ein und ist daher vorteilhaft, wenn wie hier Ionen hoher und niedriger Mobilität gemeinsam und mit vergleichbaren Empfindlichkeiten analysiert werden sollen. Aus diesen Gründen ist hier die hydrodynamische Injektion ausgewählt worden. Die Größe des Injektionsvolumens stellt einen Kompromiß zwischen besserer Empfindlichkeit in der Spurenanalytik bei größerem Volumen einerseits und Überladungseffekten mit Peakverzerrung und Auflösungsverlust andererseits dar. Unter diesen Gesichtspunkten hat sich ein

Injektionsvolumen von ca. $6 \cdot 10^{-8}$ L als geeignet erwiesen, das mittels Druckaufgabe von 50 mbar für 0,25 min auf die Probengefäße realisiert wird.

Verfolgt man den Stromfluß in der Trennkapillare während der Aufnahme eines Elektropherogramms unter der bisher beschriebenen Konstruktion (5.4.3.), zeigt sich in den Experimenten teilweise ein unstetiger Verlauf. Dies läßt auf eine sich während der Analyse ändernde elektrische Feldstärke schließen und führt zu unregelmäßigen Migrationszeiten der Ionen von Analyse zu Analyse. Eine Ursache dafür ist im Injektionsvorgang zu finden. Der durch den Zerstäubungsprozeß auf die Kapillare wirkende Druck ist auch während des Injektionsvorganges vorhanden. Dadurch wird eine reproduzierbare Injektion erschwert.

Szostek et al. [194] schalteten den Zerstäubergasstrom deshalb während der Injektion (bei einem von ihnen konstruierten System CZE mit Lichtstreuungsdetektion) ab. Das würde sich jedoch in unserem Fall negativ auf die Plasmastabilität auswirken. Dieser Einfluß konnte aber durch eine konstruktive Veränderung ausgeschlossen werden: In den Carrierfluß wird zwischen Zerstäuber und dem T-Stück, wo die Trennkapillare einmündet, ein Mehrwegeventil eingefügt (Abb. 5-17). Für die Dauer des Injektionsvorganges der Probe in die Kapillare einschließlich der Zeit des Gefäßwechsels zwischen Elektrolytreservoir und Probenbehältnis, wo die Gefahr des Einsaugens von Luft besteht, kann durch Ventilschaltung der Carrierfluß vom Zerstäuber getrennt werden. Der Zerstäuber am ICP wird währenddessen mit einem analogen Flüssigkeitsstrom (Carrier 2, Abb. 5-17) betrieben, damit Beeinflussungen des Detektionssystems möglichst gering gehalten werden. Unter Anwendung dieser Ventilschaltung wird die Reproduzierbarkeit der Migrationszeiten von Analyse zu Analyse von 14 % auf 5 - 6 % verbessert.

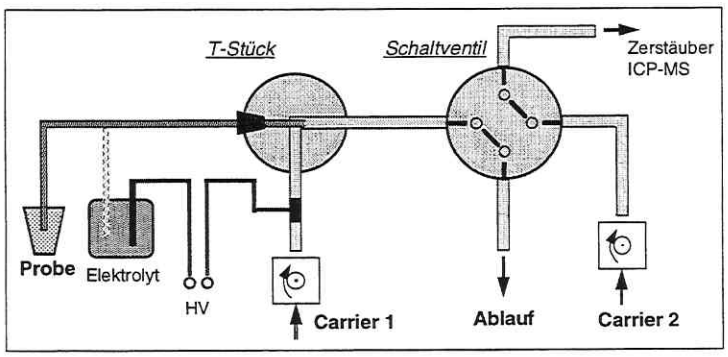


Abb. 5-17: Apparativer Aufbau mit Mehrwegeventil, während Probeninjektion

5.4.6. Optimierung von ICP-MS - Parametern und Datenaufnahme

5.4.6.1. Auswahl der Detektions-Massen

Im Vordergrund der zu entwickelnden analytischen Methode stand in dieser Arbeit die As-Speziationsanalytik. Da das Element Arsen in der Natur nur monoisotopisch auftritt (Tab. 2-1), wurden grundlegende apparative Parameter unter Bezugnahme auf das Arsenisotop ^{75}As untersucht. Bei Selen, das für Speziationsuntersuchungen ebenfalls relevant ist, existieren 6 verschiedene stabile Isotope mit natürlichen Häufigkeiten zwischen 1 bis 50 %, die zur Detektion herangezogen werden können. Die Isotope ^{77}Se, ^{78}Se und ^{80}Se wurden bezüglich ihres Signal/Rausch-Verhältnisses in der Kopplung CZE – ICP-MS verglichen (Tab. 5-8, am Beispiel von Se(IV)). Die absolute Höhe eines während der Messung konstanten Untergrundes kann bei der Messung transienter Signale, die über ihrer Basislinie integriert werden, an sich vernachlässigt werden. Für ^{80}Se konnte kein Signal beobachtet werden, der bei dieser Masse auftretende extrem hohe Untergrund wird durch die Bildung von $^{80}Ar_2$ verursacht. Damit war das häufigste Selen-Isotop (49,8 %) nicht für die Detektion nutzbar. ^{77}Se zeigt trotz der im Vergleich zu ^{78}Se um ein Drittel niedrigeren natürlichen Häufigkeit das beste Signal/ Rausch-Verhältnis und wurde für die weiteren Untersuchungen ausgewählt. Zu beachten ist dabei noch die Möglichkeit von Interferenzen durch Chlorid über ^{77}ArCl (siehe Kap. 4.4.5.). Ebenso wie in der Kopplung IC – ICP-MS wurde für Lösungen mit hoher Chloridkonzentration die Bildung des Molekülions $^{77}ArCl^+$ bzw. $^{75}ArCl^+$ nicht beobachtet. Daher war es nicht erforderlich, diesbezügliche Korrekturen für ^{75}As und ^{77}Se vorzunehmen.

Isotop	natürliche Häufigkeit [%]	Untergrund-Intensität [counts/s]	Signal-Intensität[a)] [counts/s]	Rauschen Untergrund [SD, counts/s]	SNR[b)]
^{77}Se	7,6	41	170	5,6	30,4
^{78}Se	23,5	1676	457,5	33,6	13,6
^{80}Se	49,8	1455000	-	2362	-
^{75}As	100	40	544	5,9	92,2

Tab. 5-8: Vergleich der Se-Isotope bezüglich Nachweisstärke (ergänzt durch ^{75}As).
(Exp. Bedingungen: Se(IV), As(V) 400 ng/mL; CZE: U= +25 kV, Injektion 0,5 min × 50 mbar; CAR 27 µL/min (HNO_3 0,2%); ICP-MS: Dwell 250 ms, Datenaufzeichnung 1 Hz, Plasmaleistung 1000 W, PLA 15 L/min, AUX 0,8 L/min, NEB 1,130 L/min (MCN))
a)- Signalhöhe; b)- Signal/Rausch-Verhältnis

Prinzipiell besteht bei der ICP-MS-Detektion für CZE die Möglichkeit, die Intensitäten beliebiger weiterer Massen (unter den in 5.4.6.5. beschriebenen Prämissen) aufzuzeichnen. So wurde zusätzlich das Signal von Rhodium ^{103}Rh verfolgt, da es als Marker*) dem Carrier zur

*) Im Falle von ^{103}Rh wurde von der apparativen Möglichkeit Gebrauch gemacht, durch Wahl eines Depressionsfaktors die Gesamtzahl der auf den Detektor treffenden Ionen dieser Masse zur Vermeidung einer Überlastung des Detektors proportional zu reduzieren, da im kontinuierlichen Prozeß nicht die absolute Lage sondern nur relative Veränderungen der Grundlinie von Interesse waren.

Überwachung des Kopplungsinterface (Kap. 5.4.4.1.) beigegeben wurde und auf diesem Wege die Konstanz von Carrier-Strömung und Zerstäubungsprozeß überprüft werden konnte.
Die Detektionsmethode wurde für die quasisimultane Messung von 4 Massen ausgelegt, so daß neben den drei erwähnten regelmäßig gemessenen Isotopen ^{75}As, ^{77}Se und ^{103}Rh noch ein weiteres Isotop aufgezeichnet werden konnte. Diese Position wurde wahlweise mit 78 oder 80 (für Selenisotope) in den apparativen Untersuchungen sowie mit 81 für Bromid bzw. 48 (SO^+) oder 31 für schwefel- und phosphorhaltige Verbindungen bei der Vermessung von umweltrelevanten Proben zur Gewinnung zusätzlicher Informationen belegt.

5.4.6.2. Einfluß der Plasma-Leistung auf die Signalintensität

Die dem Hochfrequenzplasma zugeführte Energie beeinflußt über Temperatur und Elektronendichte im ICP die Atomisierung und Ionisierung der Analyte [75]. Daher ist eine Optimierung der Plasmaleistung auf die Bedingungen des Analyteintrags und der Aerosolbildung bezüglich des Mikrozerstäubers notwendig. Dazu sollte der Einfluß der Hochfrequenz-Energie auf Intensität und Rauschen der Signale von As und Se untersucht werden. Ausgehend von einer Leistung von 900 W wurden die Intensität sowie das Signal/Rausch-Verhältnis bis 1200 W unter kontinuierlicher Zerstäubung einer (mit As/Se dotierten) Carrier-Lösung aufgezeichnet (Abb. 5-18).

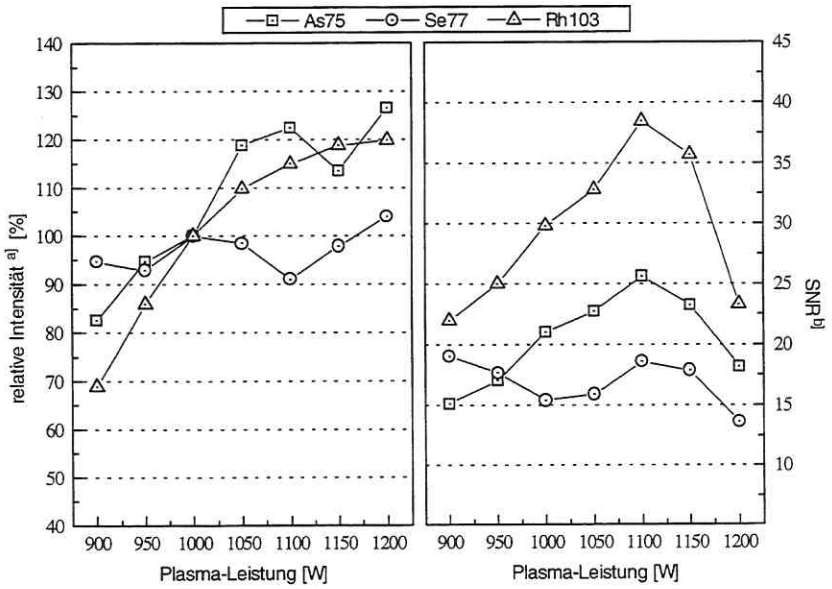


Abb. 5-18: Einfluß der Plasmaleistung auf Signalintensität und Rauschen unter Verwendung des Mikrozerstäubers MCN-100

(PLA 15 L/min, AUX 0,8 L/min, NEB 1,020 L/min; CAR 25 µL/min, Lösung As(V), Se(IV) (je 50 ng/mL), Rh (20 ng/mL))

[a]- Signalintensität, Zählraten bezogen auf Plasmaleistung 1000 W (= 100 %)

[b]- Quotient der mittleren Intensität des kontinuierlichen Signals und seiner Standardabweichung (n= 25)

Durch die Trennkapillare wurde währenddessen ein konstanter Fluß von ca. 4 µL/min (Wasser) gespült. Unter Bezug auf die üblichen ICP-MS Meßbedingungen von 1000 W wird im Bereich zwischen 1050 und 1150 W eine Intensitätszunahme von 20 % erreicht, die allerdings mit einer Verstärkung des Rauschens einhergeht. Das äußert sich im Absinken des Signal/Rausch-Verhältnisses oberhalb 1150 W. Optimale Bedingungen werden daher bei 1100 W gefunden.

5.4.6.3. Zerstäubergasstom für Aerosolbildung und Transport

Der wichtigste Parameter zur Einwirkung auf das Argonplasma ist der Zerstäubergasstrom [75,107]. Er beeinflußt die Plasmatemperatur, den Transport der Analyte in die Anregungszone und ebenfalls die Aerosolbildung des Mikrozerstäubers MCN-100. Eine Variation des Zerstäubergases, durchgeführt zwischen 0,9 und 1,2 L/min (Abb. 5-19), erfaßt alle drei obigen Parameter zusammen. Die Signalintensität wird hier deutlich stärker beeinflußt als durch die Plasmaleistung. Der optimale Bereich liegt für den beschriebenen apparativen Aufbau bei Gasströmen zwischen 1,02 und 1,12 L/min. Zu beachten ist, daß auch eine Querbeziehung mit der Größe des Carrierstromes besteht (Volumen des gebildeten Aerosols) und beide Parameter im Zusammenhang betrachtet werden müssen. In den hier durchgeführten Experimenten wird der Carrierstrom daher konstant gehalten. Vor jedem Meßzyklus wurde eine Überprüfung des Zerstäubergasstromes vorgenommen.

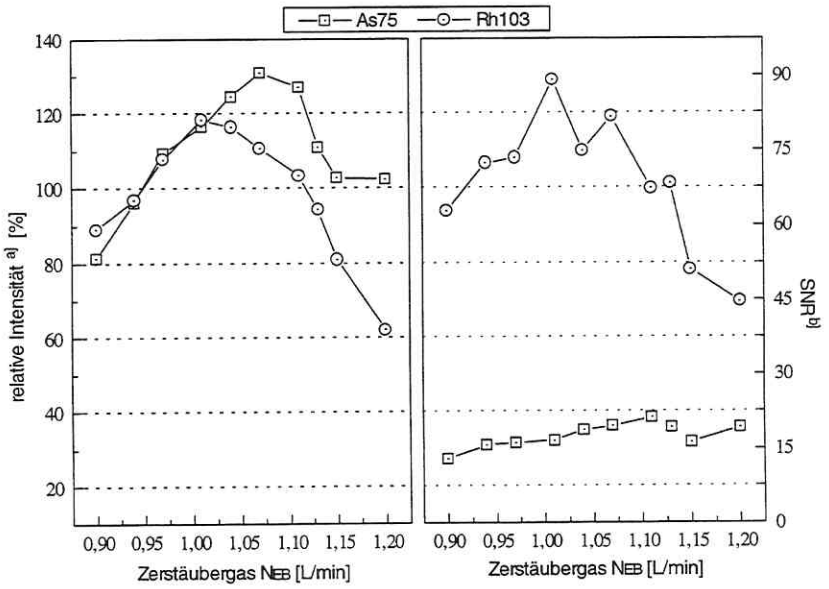


Abb. 5-19: Einfluß des Zerstäubergasstromes auf Signalintensität und Rauschen unter Verwendung des Mikrozerstäubers MCN-100

(Plasmaleistung 1100 W, PLA 15 L/min, AUX 0,8 L/min; CAR 30 µL/min, Lösung As(V) (50 ng/mL), Rh (20 ng/mL)

a)- Zählraten bezogen auf Zerstäubergasstrom 0,95 L/min (= 100%)

b)- Quotient der mittleren Intensität eines kontinuierlichen Signals und seiner Standardabweichung (n= 25)

5.4.6.4. Beeinflussung des Detektionssystems durch die CZE-Hochspannung

Im gewählten Aufbau ist das Potential des Carriers innerhalb des Hochspannungsfeldes auf "Null" gelegt. Da aber über den Carrierfluß eine leitfähige Verbindung zum Einlaßsystem des ICP-MS besteht, mußte überprüft werden, ob das Hochspannungsfeld der elektrophoretischen Trennung die Ionenoptik und damit den Meßvorgang des ICP-MS beeinflussen kann. Dazu wurde Höhe und Standardabweichung des Rauschens eines kontinuierlichen Signals während unterschiedlicher Zustände (Spannung ein/aus, mit/ohne Analyt) herangezogen (Tab. 5-9).

Elektrolyt in der CZE-Kapillare[a)]	As 0 ng/mL		As 500 ng/mL		As 500 ng/mL	
Spannung	0 kV		0 kV		+ 25 kV	
Detektionsmasse	^{75}As	^{103}Rh	^{75}As	^{103}Rh	^{75}As	^{103}Rh
mittlere Intensität [counts/s]	18	3437	740	3349	1122	3278
Standardabweichung [counts/s]	9,16	126,4	71,54	127,9	189,6	123,8
RSD [%]	(52,4)	3,7	9,7	3,8	16,9	3,8

[a)]- Zusatz von As(V) zum Trennelektrolyten

Tab. 5-9: Beeinflussung zwischen Trenn- und Detektionssystem (Bed. siehe Abb. 5-19)

Zusätzlich zu der migrativen Bewegung der Ionen in der Kapillare bildet sich durch hydrodynamischen Druck eine Strömung von ca. 0,2 µL/min aus. An der als Marker dienenden Masse von Rhodium ^{103}Rh erkennt man, daß durch Zuschaltung des Hochspannungsfeldes keine sprunghaften Veränderungen im Detektionssystem hervorgerufen werden. Die Standardabweichung des Basisliniensignals Rh bleibt konstant, die mittlere Rh-Intensität sinkt geringfügig entsprechend der leicht zunehmenden Verdünnung des Carriers durch erhöhten Kapillarausfluß. Lediglich das Signal von ^{75}As erhöht sich durch den mit dem aufgebauten Feld entstehenden elektroosmotischen Fluß. Die Funktionsfähigkeit des Aufbaus konnte damit bestätigt werden.

5.4.6.5. Integrationsparameter und Datenaufnahme

Die Datenaufnahme des ICP-MS-Systems als Detektor für transiente Signale muß im Unterschied zu Einzelbestimmungen kontinuierlich über den gesamten Analysenzeitraum möglich sein. Dabei werden alle ausgewählten Massen quasisimultan erfaßt, das heißt, innerhalb von Sekundenbruchteilen *nacheinander* abgefragt und für jede ein Elektropherogramm erzeugt. Ein variabler Parameter des Detektors ist die Zeit, über die bei *einer* Massenzahl integriert wird ("dwell time", t_d). Die effektive Datenaufzeichnungsrate jedes Elektropherogramms ergibt sich als Reziprokes des Produktes aus Anzahl der ausgewählten Massen und der Meßzeit incl. Wechselzeit des Quadrupols. Die Festlegung der Integrationszeit pro Masse hat in der Kopplung CZE – ICP-MS größere Bedeutung als in der IC-Kopplung, weil man, bedingt durch schmalere Peaks, einen Kompromiß zwischen Intensität und Rauschen eingehen muß.

Vorteilhaft erscheint zunächst eine möglichst hohe Datenaufzeichnungsrate (kurze Integrationszeit). Allerdings nehmen die zufälligen Schwankungen des Meßsignals (Rauschen) mit sinkender Integrationszeit sehr zu, da immer weniger Ereignisse pro Meßpunkt einfließen. Dieses Rauschen kann auch maßgeblich die Nachweisgrenzen beeinträchtigen.

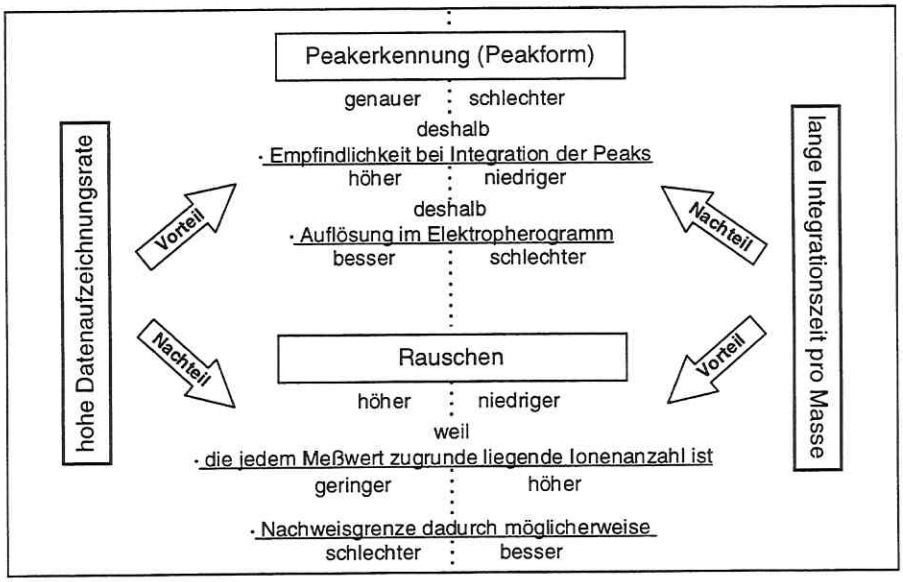


Abb. 5-20: Bedeutung der ICP-MS - Parameter Datenaufzeichnungsrate und Integrationszeit in der Kopplung mit CZE

Andererseits muß berücksichtigt werden, daß bei niedriger Datenaufzeichnungsrate (hoher Integrationszeit) größere Informationsverluste bei den übrigen Massen eintreten (da alle ausgewählten Massen nacheinander im Wechsel abgefragt werden). Entsprechend wirkt sich auch die Anzahl der aufgezeichneten Massen aus.

Während einer Variation der Integrationszeit zwischen 0,1 s und 1,7 s wurden die Signalintensität und das Signal/Rausch-Verhältnis bei Aufzeichnung von 4 Massen untersucht. Die CZE ist ein Trennverfahren mit hoher Effizienz und liefert Signale mit kleinen Halbwertsbreiten. Es zeigt sich, daß man sich bei der Wahl von Kompromißbedingungen vorrangig an exakter Signalbeschreibung und kurzen Integrationszeiten orientieren muß, da ja auch die quasisimultane Detektion mehrerer Elemente gewünscht wird. Unter Berücksichtigung dieser Punkte wurde für die Methode mit Bestimmung von vier Massen eine Integrationszeit pro Masse von 250 ms (inclusive der Sprung- und Einstellzeit des Quadrupols) gewählt. Daraus ergibt sich eine Datenaufzeichnungsrate von 1 Hertz, d.h. für jedes Element liegt für jede Sekunde des Elektropherogramms ein Meßpunkt vor. Somit können auch schmale Signale mit einer ausreichenden Anzahl von Meßpunkten charakterisiert werden.

Die Detektionsparameter sind in Tabelle 5-10 zusammengefaßt.

Elemente:	As, Se, Rh	Integrationszeit pro Masse:	250 ms
Isotope:	^{75}As, ^{77}Se, ^{103}Rh, N.N.[a)]	Datenaufzeichnungsrate pro Masse:	1 Hz
Depressionsfaktor:	[^{103}Rh]= -20	Polarität:	positiv
Scan-Modus:	Peak Hop Transient	Interferenzkorrekturen:	keine

[a)]- wahlweise Belegung (Kap. 5.4.6.1.)

Tab. 5-10: Parameter zur Datenaufnahme am ICP-MS

5.4.7. Optimierung des Trennprozesses in der Kopplung

5.4.7.1. Carrier-Förderrate und Druckausgleich

Bei Messungen unter unterschiedlichen Bedingungen zur Optimierung der Kopplungsbedingungen wurde festgestellt, daß auch Parameter wie die Flußrate des Carriers die elektrophoretische Trennung beeinflussen, obwohl die Bereiche für Trennung und Transport, wie Abb. 5-14 zeigt, räumlich getrennt sind.

Wenn die Strömungsgeschwindigkeit des Carriers kleiner als die natürliche Saugrate des Zerstäubers ist, beobachtet man einen Unterdruck im System und damit eine Sogwirkung auf die Trennkapillare. Dieser Sog führt zu einer verkürzten Verweilzeit der Analyte im Hochspannungsfeld und verschlechtert ihre Trennung. Eine Möglichkeit, das zu kompensieren, besteht darin, auf der Injektionsseite der Kapillare ein Vakuum anzulegen. Andererseits jedoch ergibt sich dann die Gefahr des Verlustes von Analyten höherer Mobilität, die nach der Injektion bei der vorliegenden Feldrichtung aus der Kapillare herauswandern beziehungsweise ausgespült werden können (z.B. schnelle Anionen, bei positiv gepoltem Inlet). Unabhängig von diesen Parametern sollte eine Flußrate im optimalen Arbeitsbereich des Zerstäubers bezüglich der Zerstäubungseffektivität erreicht werden. Ziel war weiterhin, Druckeinflüsse des Transportsystems zu minimieren bzw. den Trennprozeß möglichst tolerant gegenüber Druckeinflüssen zu gestalten.

Die Leistungsfähigkeit des Systems zeigt sich erst in seiner Gesamtheit von Trennung und Detektion. Daher wurden die Optimierungen der CZE-Trennung zu Trenneffizienz, Signalintensität und Rauschen unter dem beschriebenen Aufbau der Kopplung mit ICP-MS vorgenommen. Angaben für Spezies, deren Signale sich überlagern, wurden dabei in separaten Analysen ermittelt.

Der MCN-Zerstäuber weist im untersuchten Bereich von 20 µL/min bis 60 µL/min eine nahezu konstante Zerstäubungseffektivität auf (Tab. 5-7). Wenn die Flußraten unter 20 µL/min sinken, sinkt die Effektivität sehr schnell ab, so daß dieser Bereich ausgeklammert wurde. Wenn man die Flußrate des Carriers erhöht (Abb. 5-21), vermindert sich die Intensität der aus der CZE-Trennung stammenden Signale ebenso wie das Verhältnis von Signal zu Rauschen der Untergrundlinie (SNR). Somit erweist es sich als günstig, eine Flußrate von 25 bis 35 µL/min zur Zerstäubung zu wählen.

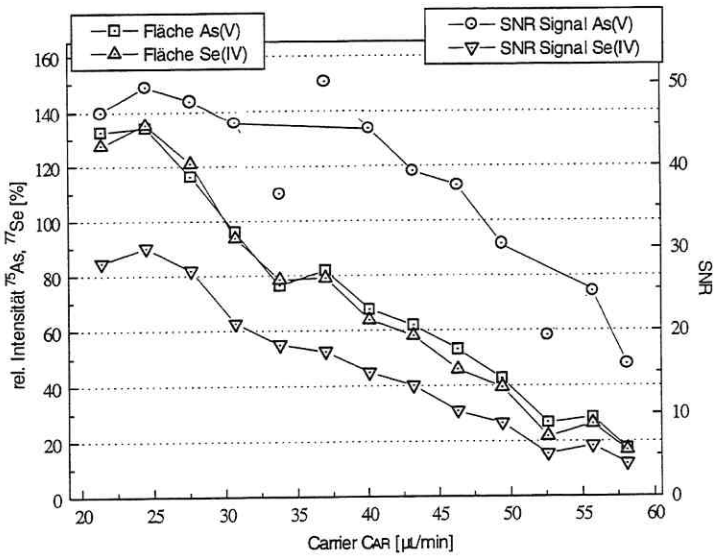


Abb. 5-21: Signalintensität und Signal/Rausch-Verhältnis für As(V) und Se(IV) in Abhängigkeit von der Carrierfließgeschwindigkeit unter Einsatz des MCN

(Plasmaleistung 1100 W, PLA 15 L/min, AUX 0,8 L/min, NEB 1,080 L/min; Elektrolyt: Borsäure/Tetraborat 1,5/1,5 mmol/L, pH= 9,5; Carrier HNO_3)

Diese Carrier-Förderrate liegt unterhalb der natürlichen Ansaugrate des Zerstäubers in einem unbeeinflußten System, daher bildet sich im gesamten Fließsystem ein Unterdruck aus. Weil die Carrier-Lösung konstant zugeführt wird, kann nur die nicht geregelte Fließstrecke in der die CZE-Kapillare beeinflußt werden. Man stellt fest, daß dem elektroosmotischen Fluß eine laminare Strömung in Richtung Zerstäubersystem überlagert wird. Eine Kontrolle dieser Strömung wurde durch Anlegen eines Unterdruckes auf das Elektrolytreservoir auf der Injektionsseite der Kapillare realisiert.

Wie in Abbildung 5-22 sichtbar, wird mit zunehmender Unterdrückung dieser laminaren Strömung eine bessere Auflösung der Signale erreicht. Einerseits wird die Aufenthaltszeit im Hochspannungsfeld erhöht und andererseits eine Signalverbreiterung durch die laminare Strömung reduziert. Im Falle p= -100 mbar können nur drei Signale (für AsChol, AsBet und As(III)) beobachtet werden. Allein diese Spezies werden nach der Injektion in Richtung zum negativen Pol bewegt. Die übrigen Spezies wandern dem EOF entgegen und werden durch das sofortige Anlegen eines Unterdruckes nach der Injektion aus der Kapillare hinausgespült. Erkennbar wird, daß sich die Verringerung der durch den Zerstäubungsprozeß erzeugten Strömung positiv auf den Trennprozeß auswirkt. Jedoch ist eine exakte Kompensation kaum möglich, da eine genaue Quantifizierung durch die Abhängigkeit von einer Reihe von Parametern des Kopplungssystems erschwert ist. Bei Einstellungen des angelegten Unterdruckes zwischen -40 und -60 mbar kann As(V) aufgrund seiner hohen Mobilität die Kapillare wieder verlassen und in das Puffervorratsgefäß übergehen. Für weitere Messungen wurde daher ein

Wert von p= -20 mbar gewählt, um ein Hinauswandern der Analytionen aus der Kapillare auszuschließen.

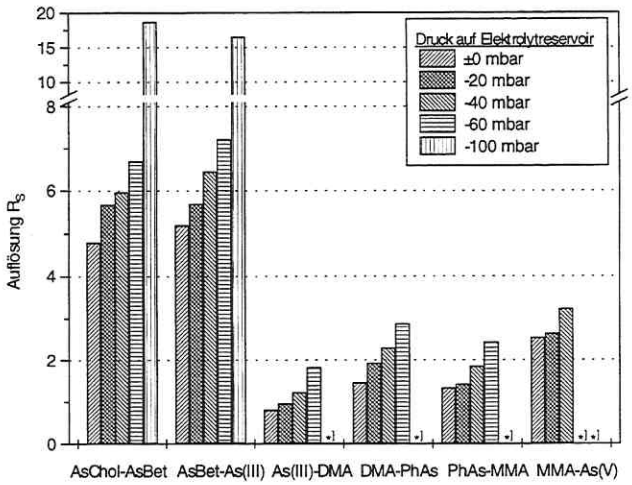


Abb. 5-22: Auflösung der Signale in Abhängigkeit von den Strömungsverhältnissen in der Trennkapillare, Druck (p_{CZE}) auf Elektrolytreservoir (CZE - ICP-MS).
(Bed. wie Abb. 5-21, Elektrolyt Borsäure/Tetraborat, 5% MeOH, pH= 10,3; Carrier 30 µL/min)
*]- Signale nicht detektierbar

5.4.7.2. Elektrolyt

Die Optimierung des Elektrolyten für die CZE-Trennung erfolgte unter den bisher ermittelten Bedingungen bezüglich Zusammensetzung (Pufferkonzentration, Ionenstärke), pH-Wert und Additive. Unter der Voraussetzung, daß ohne Modifizierung der Kapillaroberfläche gearbeitet werden soll, muß sich das negative Potential des elektrischen Feldes auf der Seite des Detektors befinden (siehe Abb. 5-5), um sowohl langsamer als auch schneller wandernde Ionen optimal am Detektor registrieren zu können. Der EOF ist dann zum Detektor gerichtet und seine Mobilität sollte die aller untersuchten Anionen überschreiten. Anderenfalls wäre die Bestimmung von Anionen mit höherer Mobilität (wie As(V), Se(VI)) beeinträchtigt, die den Detektor nicht erreichen würden. Maximale Werte des EOF liegen im alkalischen Bereich vor. Die Wahl dieses Bereiches steht in Einklang mit der Bedingung, daß die Spezies für eine Trennung nach Möglichkeit in dissoziierter Form vorliegen sollen. Es mußte deshalb bei einem alkalischen pH-Wert >9,2 (pK_{S1} von As(III)) gearbeitet werden. In diesem pH-Bereich ist ein Elektrolytsystem bestehend aus Borat- und Tetraborationen geeignet [195]. Entsprechend den Säurekonstanten von Borsäure und Na-Tetraborat (Tab. A-2, Anh.) besteht hier Pufferwirkung. Die Ionenmobilitäten der Pufferionen sind vergleichbar denjenigen der langsameren Analytionen. Im Elektropherogramm zeigen die Signale von As(III) oder DMA daher auch keine erhöhte Peakdispersion, die sich im Falle des Chromat-Elektrolyten (Kap. 5.3.1.) ungünstig auf die Detektierbarkeit ausgewirkt hatte. Da generell niedrige Puffer-Konzentra-

tionen zur Begrenzung Joule'scher Wärmeentwicklung angestrebt werden sollten, wurde von einer Konzentration Borsäure/Tetraborat von 1,29 10^{-3}/0,29·10^{-3} mol/L ausgegangen. Diese wurde dann schrittweise bei einem konstanten Verhältnis von 4,5 : 1 erhöht. In Abbildung 5-23 ist das beobachtete Migrationsverhalten dargestellt. Die Elektrolytzusammensetzung verändert die Selektivität der Trennung nicht. Im Gegensatz zum Verhalten bei dem CHES-Elektrolyten (Abb. 5-6, Kap. 5.3.3.) sind hier keine Unterschiede zwischen einfach und zweifach geladenen Ionen zu beobachten. Die Ursache ist darin zu sehen, daß hier ohne Modifizierung der Kapillarinnenwand gearbeitet wird und der folglich vorhandene EOF den Haupteinfluß auf die Migration der Spezies ausübt. Mit steigender Pufferkonzentration erhöht sich die Migrationszeit der Ionen deutlich. Wenn man die Werte auf AsBet bezieht (Abb. 5-23), wird vom Einfluß des EOF abstrahiert und das Verhalten der Ionen sichtbar gemacht. Diese verändern ihre Mobilität nur wenig, mit steigender Konzentration wird jedoch die Trennung der Signale verbessert. Ausgewählt für weitere Untersuchungen wurde eine Konzentration Borsäure/Tetraborat von 5,2/1,2 mmol/L.

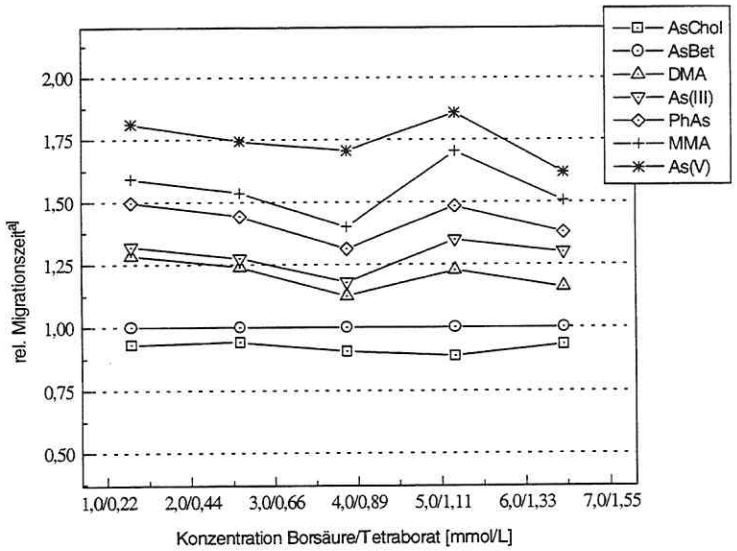


Abb. 5-23: Einfluß der Elektrolytkonzentration auf das Migrationsverhalten

(Elektrolyt Borsäure/Tetraborat, je 1 mmol/L KBr, pH= 10,3; Carrier HNO_3 30 µL/min, p_{CZE}= -20 mbar; U= +25 kV; [a]- Migrationszeiten relativ zu AsBet)

Zum Einfluß der Ionenstärke des Elektrolyten wurden weitere Untersuchungen vorgenommen, da mit höheren Ionenstärken schärfere Peaks und ein Rückgang eventueller Adsorptionen einiger Analyten an der Kapillarwand erreicht sowie die Mobilität der Analytionen beeinflußt werden kann. Deshalb wurden zur Verbesserung der Selektivität von Trennungen verschiedentlich Alkalihalogenide eingesetzt [50,196] oder selbst als Elektrolyt verwendet [120].

Zur Erhöhung der Ionenstärke ohne Veränderung der Borsäure/Tetraborat Konzentration des Puffersystems wurde KBr zugesetzt. Man beobachtet am Detektor mit zunehmender Bromid-

konzentration ein erhöhtes Grundlinienniveau und verstärktes Rauschen, so daß das Signal/ Rausch-Verhältnis absinkt (Abb. 5-24/A). Die Auflösung der zwei kritischen Signale As(III) und DMA kann dagegen verbessert werden. In Abbildung 5-24/B sind die R_S-Werte für DMA, As(III) und PhAs dargestellt. Bei einer Bromid-Konzentration von 0,7 mmol/L ergibt sich für das Signalpaar As(III)-DMA R_S= 0,9; die übrigen Signale sind mit Auflösungen von >1 ausreichend getrennt. Obgleich der beobachtete Einfluß von KBr nicht sehr groß ist, zeigt sich, daß auf diesem Wege eine Feinabstimmung der Auflösung der Ionen vorgenommen werden kann.

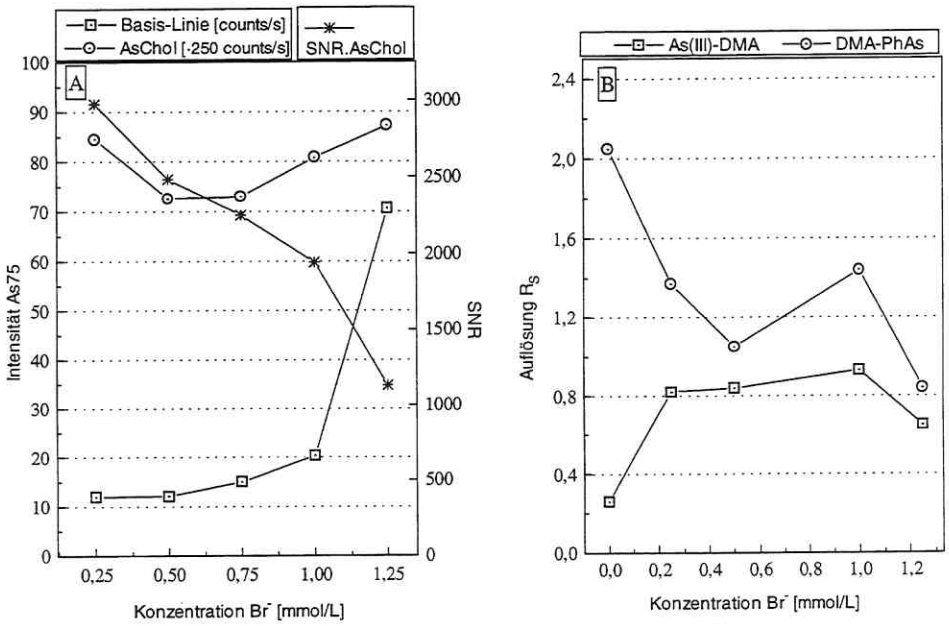


Abb. 5-24: Einfluß der Konzentration Br^-: A – auf Intensität und Rauschen am Beispiel des Signals von Arsenocholin; B – auf die Signalauflösung zwischen DMA, As(III) und PhAs (Elektrolyt Borsäure/Tetraborat 5,2/1,2 mmol/L, pH= 10,3; Carrier HNO_3 30 µL/min, p_{CZE}= -20 mbar)

5.4.7.3. pH-Wert

Die charakteristische Aussage des Elektropherogramms zur Identifizierung einzelner Spezies liegt in deren Mobilität beziehungsweise Migrationszeit. Um eine Bewegung im elektrischen Feld zu ermöglichen und die Analyte von der Front des EOF zu trennen, müssen sie in ionischer Form vorliegen (vgl. Abb. 2-1). So ergibt sich unter Berücksichtigung der höchsten ersten Dissoziationskonstante der untersuchten Verbindungen (pK_{S1}= 9,2 von arseniger Säure, As(III)) bezüglich des pH-Wertes ein Arbeitsbereich, der oberhalb dieses Wertes von 9,2 liegt. Es wurde im folgenden der Bereich zwischen 9,5 und 11,0 untersucht, in dem die Geschwindigkeit des elektroosmotischen Flusses ein Maximum erreicht [50]. Der ionische Zustand der Spezies AsChol, AsBet, DMA, PhAs und MMA ändert sich in diesem Bereich nicht, so daß ihre Migrationsfolge gleich bleibt. Arsenocholin trägt eine positive Ladung und migriert zur

Kathode, es ist damit gleichgerichtet mit dem EOF und seine resultierende Bewegung ergibt sich als Summe beider Komponenten. Arsenobetain liegt in zwitterionischem Zustand vor, so daß seine Beweglichkeit im elektrischen Feld auf Grund der Ladungsneutralität minimal ist und es mit der Front des elektroosmotischen Flusses bewegt wird. Die pK_S-Werte von DMA, PhAs und MMA liegen weit unterhalb von 9,5 (Abb. 2-1). Damit sind diese Verbindungen vollständig dissoziiert, tragen eine (DMA) bzw. zwei (PhAs, MMA) negative Ladungen und ihre Migrationsgeschwindigkeit bleibt nahezu konstant. Änderungen des ionischen Zustandes sind dagegen bei As(III) und As(V) zu beobachten, da im untersuchten Bereich mit dem pH-Wert die Dissoziation jeweils zunimmt. Eine höhere mittlere Ladung zieht eine schnellere Wanderung zur Anode nach sich und beeinflußt im Elektropherogramm insbesondere die Auflösung von As(III) und DMA. Beide verändern ihre Reihenfolge (Abb. 5-25).

Die Verbindungen werden in der Reihenfolge zunehmender negativer Ladung am Detektor erfaßt. Kapazitätsfaktoren wurden unter Bezug auf das Signal des zwitterionisch vorliegenden AsBet ermittelt. Wie in den Abbildungen 5-26/A,/B sichtbar, kann mit zunehmendem pH die Trennung der sieben Verbindungen verbessert werden. Optimale Trennbedingungen werden bei pH-Werten >10,5 erreicht. Allerdings wird dann für das gewählte Elektrolytsystem Borsäure/Tetraborat der Pufferbereich überschritten, so daß für den Elektrolyten ein pH-Wert von 10,5 ausgewählt wurde.

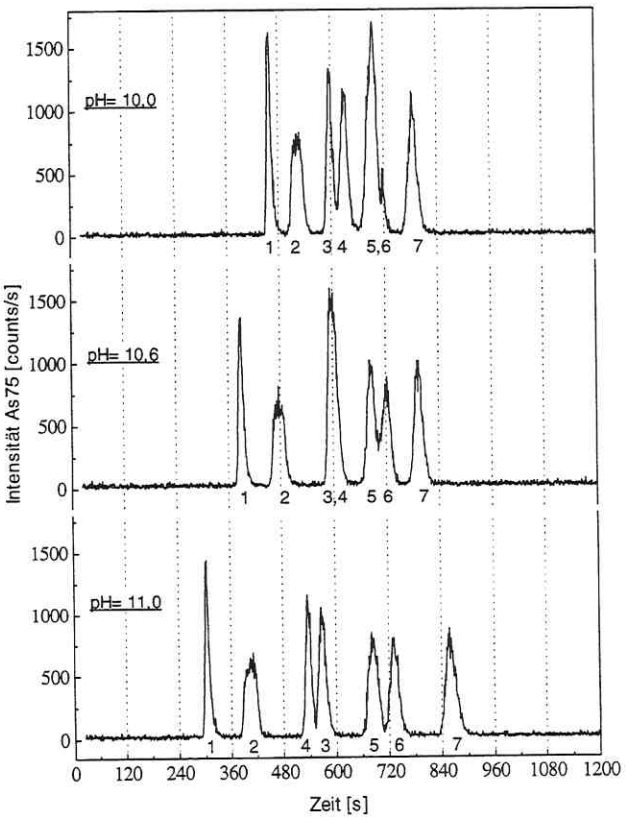


Abb. 5-25:

Elektropherogramme CZE - ICP-MS in Abhängigkeit vom pH-Wert des Elektrolyten (Beispiele: pH 10,0; 10,6; 11,0).

Signale: 1- AsChol, 2- AsBet, 3- As(III), 4- DMA, 5- PhAs, 6- MMA, 7-As(V).

(Exp. Bedingungen: Elektrolyt Borsäure/Tetraborat 5,2/1,2 mmol/L, KBr 0,7 mmol/L, Spezies je 1 µg/mL, Inj. 0,4 min × 50 mbar, p_{CZE}= -25 mbar; CAR 30 µL/min)

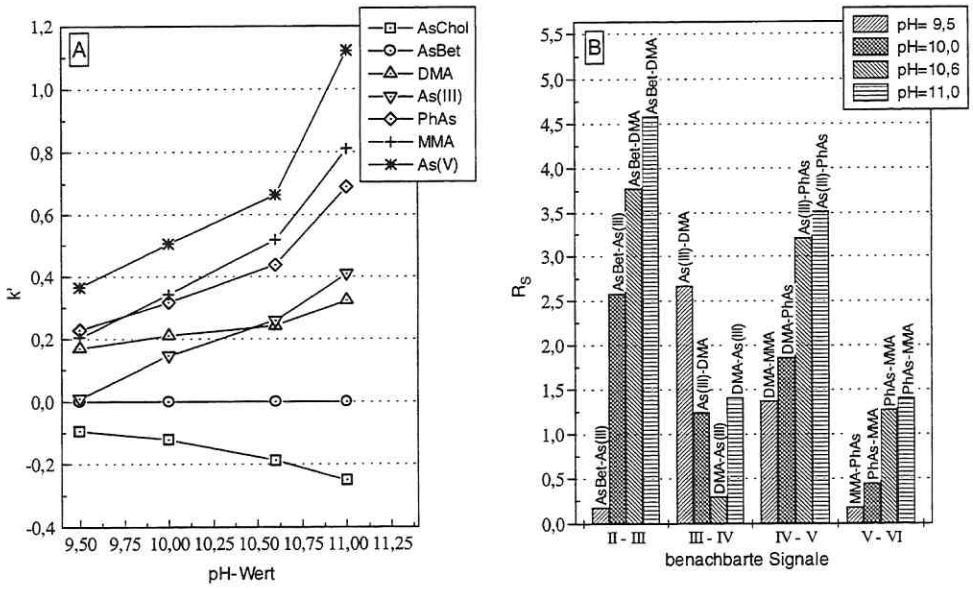


Abb. 5-26: Kapazitätsfaktoren (A) und Auflösung (B) benachbarter Spezies in Abhängigkeit vom pH-Wert. (Exp. Bed. wie Abb. 5-25)

5.4.7.4. Elektrolytadditive

Zusätze organischer Lösungsmittel oder Polymere zum Trennelektrolyten erwiesen sich nach [66,197] als hilfreich auch für die Optimierung von CZE-Trennungen anorganischer Ionen. Sie können die Solvatisierung der Ionen, die Viskosität und die Leitfähigkeit des Puffers beeinflussen [64] und damit die Selektivität der Trennung. So bewirkt eine veränderte Leitfähigkeit die Änderung der elektrischen Feldstärke und zieht andere Migrationsgeschwindigkeiten der Ionen nach sich. Die Viskosität der Lösung beeinflußt die elektrophoretische Mobilität der Analytionen und den elektroosmotischen Fluß (Gl.7;8). Um diese Einflüsse auf das vorliegende Trennproblem zu untersuchen, wurde Methanol und Hydroxyethylcellulose ausgewählt und ersteres bis zu einer Konzentration von 5 V-%, letzteres bis zu 0,3 V-% zugesetzt. Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 5-27 und 5-28 dargestellt.

Mit dem methanolhaltigen Elektrolyten sind die Migrationszeiten der Analytionen im Vergleich zum unmodifizierten Puffer herabgesetzt, dies geht einher mit einer geringeren Auflösung der Signale (Abb. 5-27). Beim Übergang von 0 zu 1 % MeOH ist ein deutlicher Sprung durch die veränderte Elektrolytzusammensetzung festzustellen (Abfall der Migrationszeiten). Mit steigender Methanolkonzentration verbessert sich die Auflösung der Signale wieder, dies gilt insbesondere für die Paare PhAs-MMA und As(III)-DMA. Bei 3 - 4 % wird ein Maximum der Auflösung beobachtet mit nachfolgender erneuter Abnahme.

Im ersten Bereich (1 - 3,5 %) übersteigt die Verminderung der elektroosmotischen Mobilität (EOF) diejenige der Ionen, welche dann aber bei Methanol-Konzentrationen > 4 % ebenfalls

soweit vermindert werden, daß sich insgesamt kürzere Migrationszeiten und geringere Auflösungen ergeben. Diese Tendenz steht in Übereinstimmung mit Beobachtungen, die von Cassidy et al. [64] bei MeOH-Konzentrationen größer als 10 % gemacht wurden.
Optimale Bedingungen für die Trennung der Spezies liegen bei 2,5 - 4 % Methanol-Anteilen. Allerdings ist festzustellen, daß die Empfindlichkeit für sämtliche Peaks bei steigendem MeOH-Gehalt stetig abnimmt und Peakverbreiterungen zunehmen. Das Rauschen der Grundlinie ^{75}As bleibt mit SD_{As}= 10 ±4 counts/s nahezu unbeeinflußt (Tab. 5-11).

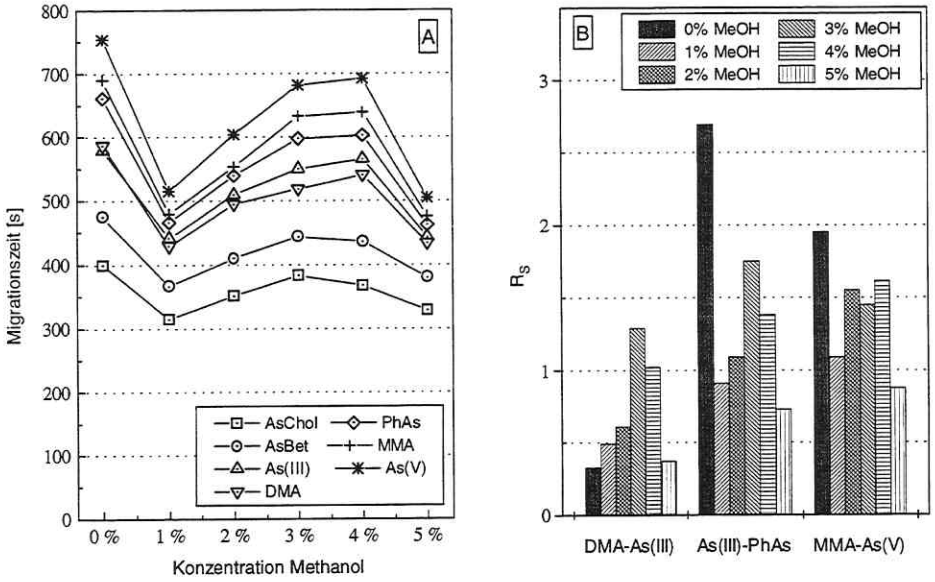


Abb. 5-27: Migrationszeiten der Spezies in Abhängigkeit der Methanol-Konzentration des Elektrolyten (A) sowie Auflösung ausgewählter Signale (B)
(Borsäure/Tetraborat/KBr 5,2/1,2/1,0 mmol/L, pH= 10,3; Carrier HNO_3 30 µL/min, p_{CZE}= -20 mbar)

Methanol-Anteil	SD Basislinie[a)] [counts/s]	Intensität[b)] AsChol [%]	Intensität[b)] As(V) [%]
0 %	12,1	100	100
1 %	-	91,8	91,9
2 %	14,1	92,7	95,1
3 %	11,2	84,3	85,0
4 %	8,7	79,7	79,9
5 %	5,1	79,3	79,7

[a)]- Rauschen Basislinie; [b)]- Peakfläche, bezogen auf methanolfreien Elektrolyten

Tab. 5-11: Signalintensität und Rauschen (^{75}As) in Abhängigkeit der Methanolkonzentration am Beispiel der Signale von AsChol und As(V)

Weiterhin wurde der Einfluß von Hydroxyethylcellulose (HEC) untersucht. Diese findet beispielsweise Verwendung in der isoelektrischen Fokussierung und Kapillargelelektrophorese [50], um die Viskosität der Elektrolytlösung einzustellen, und kann auch zur Modifizierung der Kapillaroberfläche eingesetzt werden. Wegen des hohen pH-Wertes des hier verwendeten Borat-Elektrolyten tritt diese Funktion einer dynamischen Modifizierung hier jedoch in den Hintergrund [198]. HEC verändert die Viskosität der Elektrolytlösung sowie beeinflußt den elektroosmotischen Fluß und wurde bereits in der ersten publizierten CZE-Anionentrennung angewendet [199].

Ziel des Einsatzes von HEC war hier, das Trennsystem robuster gegenüber Druckbeeinflussungen des Zerstäubers zu machen. Dieser Vorteil wurde erreicht, die Reproduzierbarkeit der Migrationszeiten wird verbessert und liegt für 0,3 % HEC zwischen 2 und 4 %. Durch die längere Verweilzeit im elektrischen Feld verbessert sich auch die Auflösung der Signale (Abb. 5-28/B). Allerdings muß wie bei MeOH festgestellt werden, daß die Signalintensität deutlich absinkt (Beispiel Signal/Rausch-Verhältnis von AsChol, AsBet in Abb. 5-28/A), was auch auf ein verändertes Zerstäubungsverhalten zurückgeführt werden kann. Während die zufälligen Schwankungen des Grundliniensignals von Rh nicht beeinflußt werden, wird für die Grundlinie von As eine Erhöhung der Standardabweichung um den Faktor 2 beobachtet.

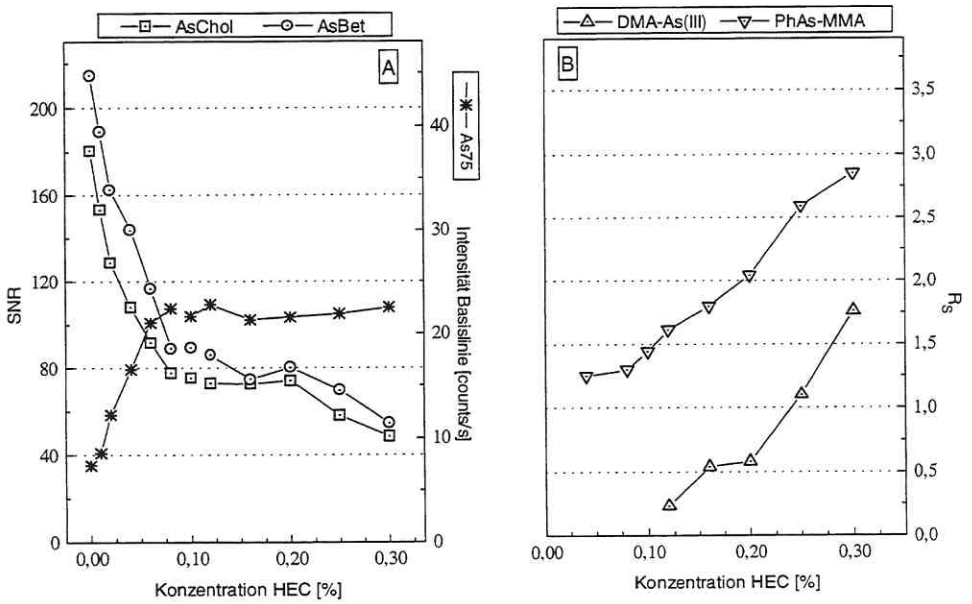


Abb. 5-28: Einfluß von Hydroxyethylcellulose (HEC) auf (A) das Signal/Rausch-Verhältnis am Beispiel von AsChol, AsBet und Höhe des Untergrundes; (B) die Auflösung der Signale As(III)-DMA, PhAs-MMA

(Elektrolyt Borsäure/Tetraborat/KBr 5,2/1,2/0,7 mmol/L, pH= 10,5; Carrier HNO_3 30 µL/min, p_{CZE}= -20 mbar)

Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß im Verlauf einer Analyse insgesamt weniger als 10 µL des Trennelektrolyten ins ICP gelangen, sind Veränderungen der Plasmabedingungen, die durch einen erhöhten Kohlenstoff-Gehalt z.B. in der IC – ICP-MS beobachtet werden [167], nicht festzustellen. Es ergibt sich, daß eine durch Hydroxyethylcellulose erhöhte Elektrolytviskosität auf Grund des dabei verursachten Empfindlichkeitsverlustes nicht für eine positive Gestaltung des Verfahrens geeignet ist. Für Methanol wird im Hinblick auf die bessere Auflösung As(III)-DMA eine Konzentration von ca. 2,5 % vorgeschlagen. Unter diesen Bedingungen wird eine Trennung der untersuchten 7 Arsenspezies erreicht (Abb. 5-29).

5.4.8. Charakterisierung des analytischen Verfahrens

Zur Ermittlung der Leistungsfähigkeit des entwickelten analytischen Kopplungsverfahrens CZE – ICP-MS wurde eine Kalibration unter den optimierten Bedingungen (Tab. 5-12) vorgenommen. Dabei wurde im Analyt-Konzentrationsbereich von 0,05 bis 2 µg/mL gearbeitet und eine lineare Abhängigkeit festgestellt. Die Auswertung erfolgte nach Integration über die Signalflächen. Für die einzelnen Spezies wurden unterschiedliche Empfindlichkeiten ermittelt, so daß jede Verbindung separat kalibriert werden muß. In Tabelle 5-13 sind die Empfindlichkeiten und die nach [141,142] berechneten Nachweisgrenzen (3σ) angegeben.

ICP-MS	*CZE*
Plasmaleistung 1100 W	Borsäure 5,2 mmol/L
Argongasströme	Na-Tetraborat 1,2 mmol/L
Plasmagas PLA 15 L/min	KBr 0,7 mmol/L
Hilfsgas AUX 0,8 L/min	MeOH 2,5 %
Zerstäubergas NEB 1,08 L/min	pH 10,5
Zerstäuber: MCN-100	Injektion: 0,25 min × 50 mbar, ca. 58 nL
Aerosolkammer: Scott-Typ	
(weitere Parameter: Tab. 5-10, Datenaufnahme)	
Kopplung	*Kapillare*
Aufbau mit Schaltventil (Abb. 5-17)	Quarz, polyimidumhüllt ("fused silica")
Carrier CAR HNO_3 0,2 %, Rh 20 ng/mL	100 cm × 75 µm
30 µL/min	U= +25 kV; I <15 µA
Druck auf Trennkapillare p_{CZE}= -20 mbar	Temperatur: Raumtemp. 295 K

Tab. 5-12: Zusammenfassung der ausgearbeiteten Arbeitsbedingungen CZE - ICP-MS

Diese liegen zwischen 8 und 10 ng/mL, was einem absoluten Gehalt zwischen 5 bzw. $6 \cdot 10^{-13}$ g Arsen entspricht und so den Einsatz der Kapillarelektrophorese für spurenanalytische Untersuchungen erlaubt. Für die drei Selenspezies ergeben sich unter diesen für Arsen optimierten Bedingungen Nachweisgrenzen zwischen 34 und 51 ng/mL, dies entspricht einem absoluten

Gehalt an Selen zwischen 2 bzw. $3 \cdot 10^{-12}$ g. Wenn jeweils Konzentrationen oberhalb des angegebenen Bereiches vorliegen, kann die Signalintegration benachbarter Spezies durch breite Peaks erschwert werden. In diesem Fall muß das Injektionsvolumen herabgesetzt werden.
Die Reproduzierbarkeit der Migrationszeiten und der Quantifizierung wurde getestet über 12 Wiederholungsmessungen eines Standards der Konzentration Arsen von 500 ng/mL beziehungsweise 750 ng/mL Se je Spezies. Die relativen Standardabweichungen der Migrationszeiten lagen zwischen 5 und 9 %, die der Signalflächen für alle Verbindungen unterhalb 4,5 % RSD.

Spezies	Detektionszeit [s]	Empfindlichkeit [counts/(ng/mL)]	Korrelations-koeffizient[a)]	Nachweisgrenze [ng/mL][b)]
AsChol	288	11,771	0,9991	8,5
AsBet	342	12,729	0,9994	7,9
DMA	424	12,065	0,9993	8,3
As(III)	466	11,573	0,9995	8,7
PhAs	509	11,922	0,9995	8,4
MMA	555	10,280	0,9992	10,4
As(V)	671	12,689	0,9993	9,4
Se(IV)	405	3,668	0,9981	34,0
Se(VI)	589	3,536	0,9990	47,7
BzSe	806	2,459	0,9951	50,7

a) - lineare Regression; b)- 3σ-Kriterium

Tab. 5-13: Kalibrationsdaten CZE - ICP-MS (Experimentelle Bedingungen s. Tab. 5-12)

Die für Selen beobachteten Empfindlichkeiten sind geringer als jene für Arsen. Dies liegt zum einen in der natürlichen Häufigkeit der jeweiligen Isotope begründet. Während ^{75}As zu 100 % auftritt, besitzt ^{77}Se nur eine Häufigkeit von 7,6 %. Zum anderen wirken sich Unterschiede beim Signalrauschen durch Ionisationsprozeß und Plasmainterferenzen aus. Die Unterschiede zwischen den Empfindlichkeiten der Spezies *eines* Elementes wurden auch von anderen Autoren beobachtet [167,200], sind jedoch nicht völlig klar. Das Signal des massenspektrometrischen Detektors ist ein Maß für die absolute Anzahl der registrierten Atome einer Masse; und da die Konzentration der Kalibrationslösungen jeweils auf das Element (µg As /mL) bezogen ist, sollte sich jeweils eine gleiche Empfindlichkeit ergeben. Die beobachteten Unterschiede können nur auf ein anderes Verhalten bei den Prozessen der Aerosolbildung im Zerstäuber und der Atomisierung im Plasma zurückgeführt werden. Auf die Ableitung von Mobilitäten der Ionen aus den Untersuchungen mit CZE – ICP-MS wird hier verzichtet, weil unter den angewendeten Bedingungen der ICP-MS-Detektion im Elektropherogramm kein Signal für den EOF auftritt und im hier genutzten System ebenfalls einwirkende Druckgradienten nicht exakt quantifizierbar sind.

Anhand einer dotierten Flußwasserprobe wurden Tests zur Überprüfung der Wiederfindungsrate vorgenommen. Dazu wurde diese mit den Arsen- sowie Selenverbindungen versetzt, so daß Konzentrationen von je 380 ng/mL resultierten. Die Analyse der Probe unter den angegebenen Kalibrationsbedingungen ergab Wiederfindungen für As(III), DMA, As(V) und MMA von 97,3 %, 101,7 %, 102,5 % und 96,5 % bei drei Wiederholungen, für Se(IV) 98,4 %. Matrixeinflüsse auf die Trennung wurden dabei nicht festgestellt.

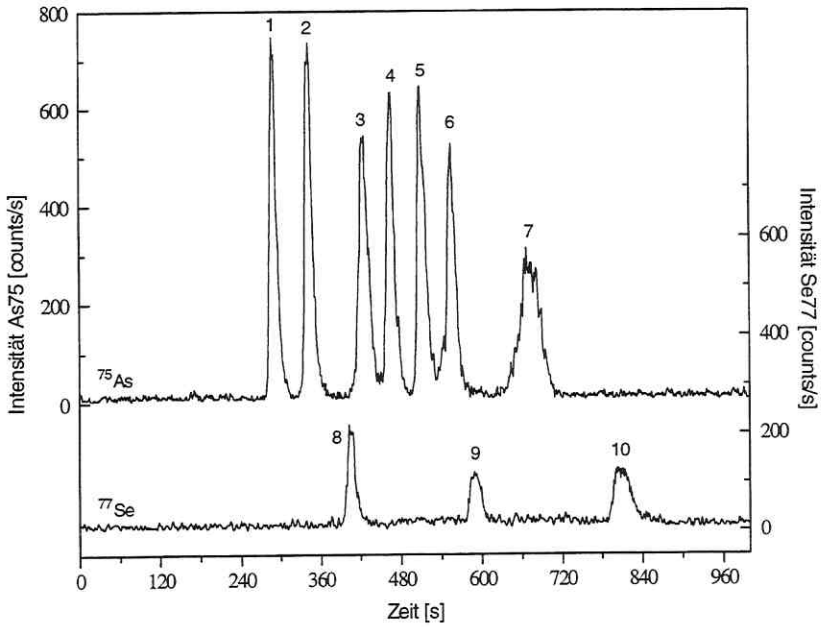


Abb. 5-29: CZE - ICP-MS Elektropherogramme unter optimierten Bedingungen (Tab. 5-12).
Standardlösungen As-Spezies je 746 ng/mL, Se-Spezies je 850 ng/mL; Peaks: 1- AsChol, 2- AsBet, 3- DMA, 4- As(III), 5- PhAs, 6- MMA, 7- As(V), 8- Se(IV), 9- BzSe, 10- Se(VI)

5.4.9. Applikationsbeispiele

Im Rahmen von Untersuchungen zum Einfluß von Arsen auf das Pflanzenwachstum in Auenlandschaften [168] wurde die Leistungsfähigkeit ausgearbeiteten der Methode der kapillarelektrophoretischen Trennung mit ICP-massenspektrometrischer Detektion demonstriert. Extrakte verschiedener Pflanzen, die auf arsenreichem Boden gezüchtet worden waren, wurden auf dem Wege einer Säure-Extraktion gewonnen [168] und mit CZE – ICP-MS auf Arsenspezies analysiert. In Abbildung 5-30 sind Elektropherogramme von Salatextrakten gezeigt. Dabei wurden die drei Spezies As(III), As(V) und DMA gefunden, von denen jeweils As(V) mit mehr als 50 % zum Gesamtarsengehalt im Extrakt beiträgt. Die Identifizierung von DMA im Extrakt erlaubt in dem hier gezeigten Fall allerdings keinen Rückschluß auf das Pflanzenmaterial in Bezug auf die Speziesverteilung, da durch mikrobielle Aktivitäten in den Lösungen Metabolisierungen eintreten konnten. Zwischen der Summe der integrierten Signale

und der mit ICP-MS ermittelten Gesamtkonzentration konnte eine gute Übereinstimmung festgestellt werden (Tab. 5-14).

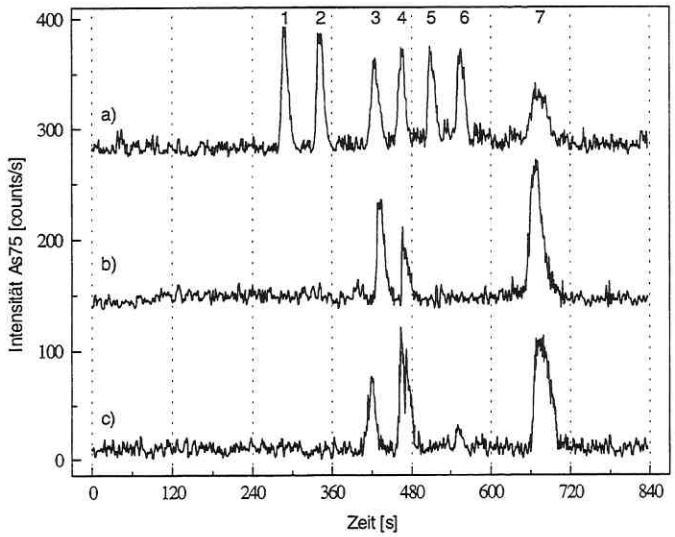


Abb. 5-30: Extrakte von auf arsenangereichertem Boden gezüchteten Pflanzen.
a) Standard, Spezies je 100 ng/mL; b, c) Salatextrakte; (Signale: 1- AsChol, 2-AsBet, 3- DMA, 4- As(III), 5- PhAs, 6- MMA, 7- As(V); Bed. siehe Tab. 5-12, Darst. a), b) mit Offset)

	As(III)[a)]	As(V)[a)]	DMA[a)]	Summe[a,b)]	Gesamt[a,c)]
Extrakt 1	51 ng/mL	205 ng/mL	88 ng/mL	344 ng/mL	352 ng/mL
Extrakt 2	130 ng/mL	219 ng/mL	64 ng/mL	413 ng/mL	402 ng/mL

[a)]- Bezug jeweils auf Extrakt-Lösung; [b)]- As(III) + As(V) + DMA; [c)]- ICP-MS Bestimmung direkt

Tab. 5-14: Konzentrationen der im Pflanzenmaterial enthaltenen Arsenspezies

Ein weiteres Applikationsbeispiel sind Wasserproben, die im Zusammenhang mit Untersuchungen zur Arsenmigration an einem Zinnerztailing gewonnen wurden. Während diese Untersuchungen hauptsächlich mit Ionenchromatographie – ICP-MS durchgeführt wurden (s. Kap. 6), konnten mittels der entwickelten Methode vergleichende Analysen auch mit Kapillarelektrophorese – ICP-MS vorgenommen werden. In Abbildung 5-31 sind Elektropherogramme von Wasserproben aus dem Uferbereich des Spülsees eines Absetzbeckens der Zinnerzaufbereitung (Abb. 6-1) dargestellt. Sie lassen deutliche Signale für As(III) und As(V) erkennen und zeigen auch Signale, die auf DMA hindeuten sowie Verbindungen, die nicht mit den eingesetzten Standards korrespondieren.

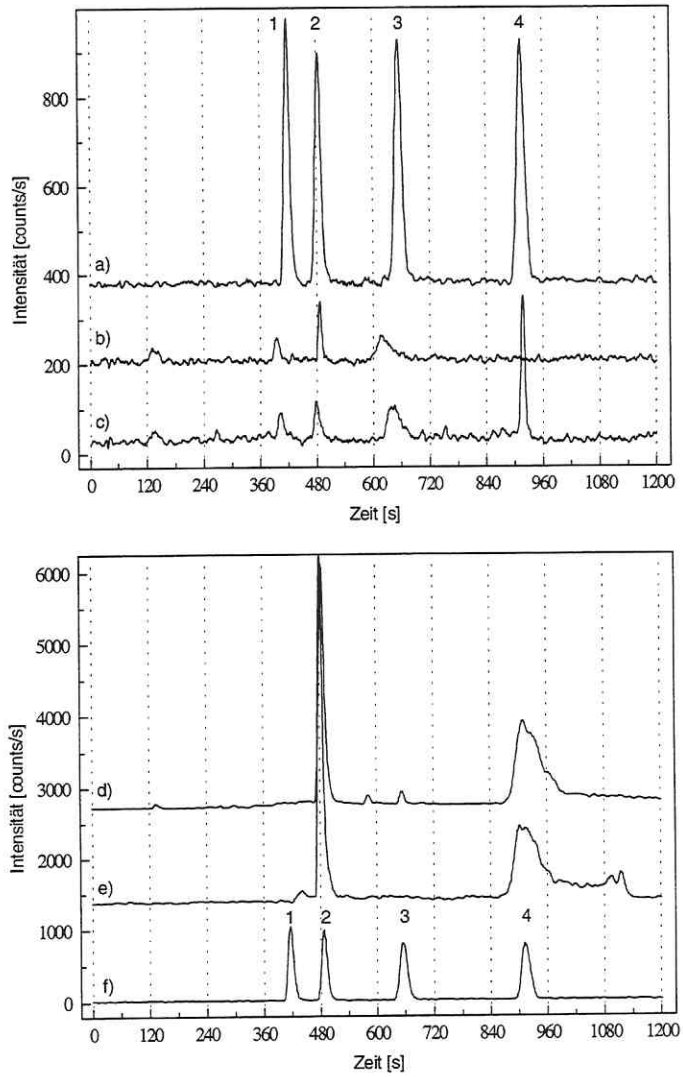


Abb. 5-31: Elektropherogramme von Wasserproben des Zinnerztailings (b, c, d, e) sowie Standards (a – je 300 ng/mL, f – je 600 ng/mL);

Signale: 1- DMA, 2- As(III), 3- PhAs, 4- As(V). (Elektrolyt Borsäure/Tetraborat/KBr 5,16/1,16/2,0 mmol/L, pH= 11,0; CAR HNO_3 28,6 µL/min, p_{CZE}= -30 mbar, Inj. 0,5 min × 50 mbar)

5.4.10. Leistungsfähigkeit des Kopplungsverfahrens CZE – ICP-MS

Zur Detektion in der Kapillarzonenelektrophorese sind bisher nur spektroskopische Methoden wie UV/VIS und Fluoreszenz mit ihren unterschiedlichen Anwendungsformen erprobt. Die für die Bestimmung von anorganischen und metallorganischen Stoffen in der Umweltanalytik erforderliche Nachweisstärke für Konzentrationen im Spurenbereich konnte mit diesen bisher üblichen Detektionsverfahren kaum erreicht werden.
Deshalb wurde in der vorliegenden Arbeit eine Kopplung der Kapillarzonenelektrophorese (CZE) mit ICP-massenspektrometrischer Detektion (ICP-MS) angestrebt und realisiert (Abb. 5-32). Sie zeigt einen neuen Lösungsweg für elementanalytische Problemstellungen auf.

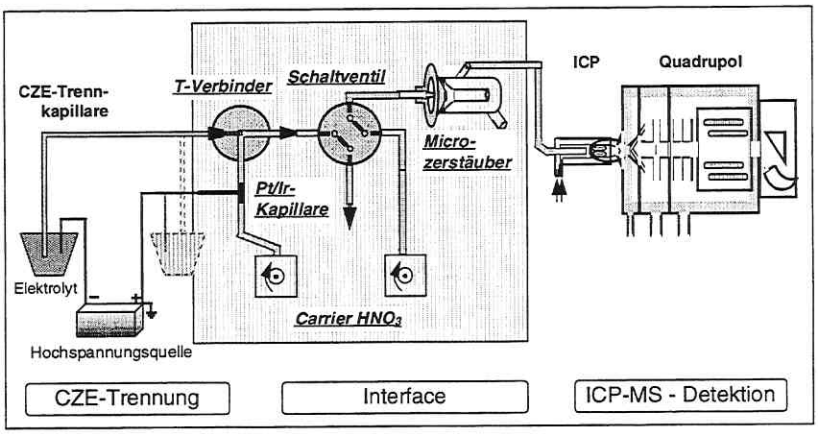


Abb. 5-32: Apparativer Aufbau der Kopplung CZE – ICP-MS

Die Konstruktion des Kopplungsinterface umfaßt insbesondere eine Variante zur Kontaktierung des Hochspannungsfeldes und die Analytüberführung aus der Kapillare in das Spektrometer. Zur Probeneinführung in die Ionenquelle des Massenspektrometers wird aus dem Flüssigkeitsvolumen der Trennkapillare mit den getrennten Ionen ein Aerosol erzeugt. Für eine effektive Zerstäubung, für die der Mikrozerstäuber MCN-100 ausgewählt wurde, war es notwendig, eine Volumenvergrößerung durch Einspeisung eines zusätzlichen Flüssigkeitsstromes von 30 µL/min vorzunehmen. Um die Trennkapillare detektorseitig frei handhabbar zu bekommen, wurde die Elektrode des elektrischen Feldes im Transport-Flüssigkeitsstrom lokalisiert. Wichtige Parameter und Einflußfaktoren des Interface und der Methode wurden ermittelt und optimiert sowie die Methodik hinsichtlich ihrer Funktionsfähigkeit und Nachweisstärke getestet. Im Ergebnis der Kopplung und deren Optimierung zeigt sich, daß der Prozeß der Aerosolerzeugung sowie Strömungsprozesse einen wesentlichen Einfluß auf die Reproduzierbarkeit und Leistungsfähigkeit des Verfahrens ausüben und daher das Elektrolytsystem speziell auf das Kopplungsverfahren abgestimmt sein muß.

Die *Nachweisstärke* des vorgestellten Verfahrens konnte gegenüber Verfahren mit konventionellen Detektoren wesentlich verbessert werden. Der für Arsen- und Selenspezies ermittelte Arbeitsbereich mit Nachweisgrenzen kleiner 10 ng/mL (Arsen) und kleiner 50 ng/mL (Selen) erlaubt die Anwendung für umweltrelevante und biologische Fragestellungen. Unter Berücksichtigung des Injektionsvolumens von 58 nL entspricht dies absoluten Massen von 0,6 pg As und 3 pg Se. Innerhalb des Kalibrationsbereiches (bis 2 µg/mL) wurde eine lineare Abhängigkeit festgestellt.

Bei der Bewertung der *Reproduzierbarkeit* dieses sehr komplexen Systems ist insbesondere das Kurzzeitverhalten von Interesse. Das kapillarelektrophoretische Trennsystem wird hauptsächlich durch konstante Elektrolytbedingungen bestimmt, weshalb die Pufferlösung regelmäßig erneuert wurde. Weiterhin spielen apparative Parameter des Kopplungsinterface eine Rolle: Obwohl eine kapillarelektrophoretische Trennung im Gegensatz zur HPLC keinen Druck zum Transport von Analyt oder Lösungsmittel benötigt, war im Kopplungssystem ein *Druckgradient* zu beobachten, welcher durch die Zerstäubung verursacht wird und auch auf die Trennkapillare einwirkt. Zur Kompensation dieses unerwünschten Einflusses wurde über dem Elektrolytgefäß ein geringer Unterdruck von -20 mbar während der gesamten Analyse eingestellt. Um eine Beeinflussung Injektionsprozesses zu verhindern, wurde das System durch Einbau eines Schaltventiles so gestaltet, daß eine Isolierung der beiden Abschnitte, Trennung und Detektion, während der Injektion möglich ist.

Die mit dem Kopplungssystem erhaltenen Signale zeigen eine größere Peakverbreiterung, als bei konventioneller CZE mit UV- oder LF-Detektion normalerweise sichtbar ist. Das liegt hier an der längeren Transportstrecke, die die Analytzonen im Carier zum ICP zurücklegen müssen (laminare Strömung) und an Totvolumina im Zerstäubungsprozeß (Aerosolkammer). Für die massenspektrometrische Detektion stellt dies aber keinen wirklichen Nachteil dar (ausreichende Auflösung vorausgesetzt), da breitere Signale wegen der notwendigen parallelen Abfrage verschiedener Detektionsmassen genauer erfaßt werden können. Dagegen könnten Nachteile entstehen, wenn sehr schmale Signale nicht durch eine genügende Anzahl von Meßpunkten beschrieben werden.

Die Stabilität des Systems über Meßzyklen innerhalb kürzerer Zeiträume konnte durch die durchgeführte Optimierung von Methode und apparativem Aufbau gewährleistet werden. Es wurden Reproduzierbarkeiten der Migrationszeiten von 6 % RSD erreicht, die Standardabweichungen der Peakflächen zur Quantifizierung liegen zwischen 1 und 3 %. Für jeden Analysenzyklus wurde eine separate Kalibration aufgenommen, wobei die Spezies jeweils einzeln kalibriert wurden.

Richtigkeit. Das ICP-Massenspektrometer als Detektor erwies sich als robust gegen Einflüsse der Probenmatrix und des Elektrolyten. Da jedoch Matrixbestandteile der Probe den Trennprozeß beeinflussen können, wurde eine Identifizierung der Spezies für zunächst qualitative Untersuchungen in unbekannten Probenmatrizes über eine Standardaddition vorgenommen. Damit konnten Fehler durch verändertes Migrationsverhalten ausgeschlossen werden und war gleichzeitig die Grundlage für eine exakte Konzentrationsermittlung gegeben. Wiederfindungs-

experimente an dotierten Proben mit Wiederfindungsraten von 96,5 - 102,5 Prozent zeigen die Zuverlässigkeit der Methode. Da bisher keine zertifizierten Standardreferenzmaterialien für die Speziationsanalytik von Arsen- und Selenverbindungen erhältlich sind, konnte die Kontrolle der methodischen Richtigkeit nur auf diesem Wege erfolgen.

Weitere methodische *Vorteile*, die die Kapillarelektrophorese für die Speziationsanalytik prädestinieren, eine ausreichende Detektionsempfindlichkeit vorausgesetzt, liegt in der zur Ionenchromatographie veränderten Selektivität der Trennung, wodurch Beiträge zur Charakterisierung und Identifizierung unbekannter Analyte geliefert werden können. Die massenspezifische Detektionstechnik für CZE ist auch besser geeignet für die Auflösung von Peaks in komplexen Matrizes, wie im Vergleich der Analysen von Pflanzenextrakten mit CZE/Leitfähigkeitsdetektion und CZE – ICP-MS deutlich wird (Abb. 5-10 und 5-30).

Ausblick. Weitere Verbesserungen des entwickelten Kopplungsverfahrens könnten bezüglich der Empfindlichkeit beispielsweise durch Anwendung von "sample-stacking"-Techniken, der Injektion größerer Probenvolumina und on-line Konzentrierung in der Kapillare realisiert werden, wie von Mattusch et al. [196] für die UV-Detektion von As(III) gezeigt. Off-line wäre die Kombination mit einer "konzentrierenden" Probenvorbehandlung (z.B. SPE) denkbar.
Ein Engpaß ist die Analytüberführung in das Plasma des MS, welche in dieser Arbeit über Zerstäubung als Aerosol gelöst wurde. Durch eine weitere Erhöhung der Transfereffektivität sollte noch eine weitergehende Empfindlichkeitssteigerung möglich sein. Apparativ besteht bei dem vorgeschlagenen Kopplungs-Interface die Möglichkeit, vor der massenspektrometrischen Detektion eine UV- oder Leitfähigkeitsmessung zusätzlich vorzunehmen. In einer solchen Kombination können durch die unterschiedliche Detektorselektivität sich ergänzende Informationen erhalten werden. Unter Einbeziehung eines UV-Detektors ist dann auf einfache Weise die Berechnung von Mobilitäten für die Analytionen möglich.

Die massenspezifische Information zusammen mit der gesteigerten Nachweisstärke und die grundlegend andere Selektivität gegenüber der Ionenchromatographie machen die Kopplung CZE – ICP-MS zu einem wichtigen neuen Werkzeug für die Lösung analytischer Probleme.

6. Untersuchungen zur Speziations-Analytik von Arsen und zu Probenstabilisierungen an der Industriellen Absetzanlage Bielatal

6.1. Beschreibung der Industriellen Absetzanlage Bielatal und Allgemeine Untersuchungsstrategien

Im Raum der Länder Sachsen und Sachsen-Anhalt wurde in der Vergangenheit umfangreich Erzbergbau betrieben, dessen Abprodukte auf Halden oder in Absetzbecken (sogenannten Tailings) abgelagert wurden. Die auf diese Weise anthropogen veränderten Landschaften stellen heute zum Teil ein hohes Gefährdungspotential dar. Ausgeschwämmte Schadstoffe können über die Flüsse Elbe und Mulde (Freiberger und Zwickauer Mulde) in Richtung Nordsee transportiert werden [201].

Insbesondere das Erzgebirge ist seit alters her als ein Gebiet mit umfangreichen bergbaulichen Aktivitäten bekannt. Im Raum Altenberg im Osterzgebirge wurden umfangreiche Zinnerzvorkommen abgebaut. Flotationsrückstände aus der Zinnerz-Aufbereitung wurden in den Jahren 1958 bis 1991 im Tal der Kleinen Biela in Form einer Spüldeponie abgelagert ("Industrielle Absetzanlage IAA Bielatal"). Diese wurde in der Art einer Talsperre errichtet, umfaßt eine Fläche von ungefähr 53 ha und beinhaltet ca. 10 Millionen m^3 feinkörnige nichtradioaktive Rückstände (1993: ca. 45 % Feststoffgehalt) [4]. Nach Ende der Nutzung wurden erste Maßnahmen zur Entwässerung getroffen und zur Vermeidung von Erosion mit der Abdeckung durch Gesteinsmaterial und Bauschutt begonnen. Auf der verfestigten Oberfläche soll zukünftig eine Begrünung ermöglicht werden. In den Randbereichen, wo sich bereits eine Humusauflage gebildet hat, sind kleinere Sträucher und Birken anzutreffen. Ansonsten ist die Vegetation bisher nur sehr spärlich entwickelt. Die Flora unterhalb des Hauptdammes besteht aus Sträuchern, Gräsern, Farnen, Binsen und wird vom Wasserauslauf des Tailings durchzogen.

Die abgelagerten Rückstände des Zinnbergbaus zeichnen sich neben Eisen, Mangan, Aluminium, Titan, Barium durch einen hohen Arsen-Gehalt aus. Eine mineralogische Untersuchung wies das Auftreten von Orthoklas, Biotit, Quarz, Hämatit, Arsenopyrit und Pyrit nach [4]. Die mittleren Gesamtgehalte der Elemente in dem aus Bohrungen gewonnenen Feststoff sind in Tabelle 6-1 aufgeführt. Auffallend sind die hohen Werte für Arsen (340 µg/g) und Zinn 1130 µg/g), die normale Durchschnittsgehalte der Erdoberfläche deutlich überschreiten. Richtwerte für tolerierbare Höchstgehalte in Böden werden von Kloke et al. mit 20 µg/g Arsen und 50 µg/g Zinn angegeben [206]. Die Holländische Liste gibt beispielsweise als Prüfwert C für Sanierungsmaßnahmen 50 µg/g für Arsen und 300 µg/g für Zinn an [213]. Berücksichtigt werden muß dabei, daß diese Richtwerte für anthropogene Konzentrationen gelten, die wegen ihrer Bindungsformen leichter verfügbar sind. So liegt z.B. Zinn im erzgebirgischen Raum zumeist als Kassiterit (SnO_2) und damit in sehr verwitterungsresistenter Form vor [214].

Durch Auslaugungsprozesse über den Wasserpfad besteht eine potentielle Umweltgefährdung. Am Fuße des Tailing-Hauptdammes tritt an verschiedenen Stellen Sickerwasser mit stark erhöhten Arsen-Konzentrationen aus, das direkt in den Vorfluter gelangt. Diese ausgetragenen

Frachten und die Dynamik der Arsendispersion können bei veränderten Randbedingungen durch Verwahrung der Fläche oder ihre Nachnutzung erheblich beeinflußt werden. Komplexe Remobilisierungsphänomene, insbesondere im Kontaktbereich von Deponiekörper und natürlichem Aquifer sowie im Sediment der Kleinen Biela können gravierende Einwirkungen auf Fauna und Flora nach sich ziehen.

Bestandteil	Konzentration	Bestandteil	Konzentration	Bestandteil	Konzentration
Si (als SiO_2)	51,4 %	Na	1080 µg/g	Zr	100 µg/g
Al (als Al_2O_3)	12,6 %	Mn	605 µg/g	Mo	90 µg/g
Fe (als Fe_2O_3)	6,0 %	Mg	725 µg/g	Zn	75 µg/g
Ca (als CaO)	0,5 %	Ti	480 µg/g	Cu	65 µg/g
K	1,6 %	As	340 µg/g	Sr	45 µg/g
Rb	1050 µg/g	Ba	170 µg/g	Pb	30 µg/g
Sn	1130 µg/g	P	270 µg/g	Cr	20 µg/g
S	795 µg/g	W	120 µg/g	Ni	20 µg/g

(Ag, Cd, Hg nicht nachgewiesen)

Tab. 6-1: Mittlere Zusammensetzung des Tailingmaterials (RFA-Bestimmung)

Die allgemeine Untersuchungsstrategie beinhaltete, zum Zwecke der Sanierungsbegleitung Milieuparameter ort- und zeitabhängig zu bestimmen und insbesondere die Freisetzung von Arsen sowie das Auftreten und die Verteilung seiner Spezies zu untersuchen. Nach Überblicksuntersuchungen wurden an geeigneten und repräsentativen Stellen Probennahmepunkte für die Untersuchung der Wässer und von Pflanzen bestimmt sowie Stellen für Bohrungen zur Entnahme von Feststoffen festgelegt (Abb. 6-1).

Am Fuße des Dammes lassen sich drei Hauptausflüsse des Sickerwassers im Abstand von etwa 40 m eingrenzen, die sich nach wenigen Metern vereinigen und in die Kleine Biela einmünden. Diese drei Stellen wurden ausgewählt, da unterschiedliche Frachten auf verschiedene Herkunft deuteten. Zwei weitere Probennahmestellen wurden entlang des Abflusses zur Kleinen Biela in Entfernungen von 30 und 50 Metern festgelegt. Dazu kamen noch Beprobungsstellen am sogenannten Spülsee (Bereich des auf der Deponieoberfläche verbliebenen Wassers) und an dessen Zufluß. Diese Orte wurden regelmäßig in monatlichem Abstand im Zeitraum Oktober 1995 bis Oktober 1996 beprobt. Da es sich bei den hier vorliegenden Bergbaureststoffen weitestgehend um mineralische Ablagerungen handelt, standen Fragen der anorganischen Analytik der interessierenden Spezies und begleitender Ionen im Vordergrund. Vor Ort wurden die Parameter pH-Wert, Redoxpotential, Leitfähigkeit, Sauerstoffsättigung sowie die Temperatur bestimmt. Die Wasserproben wurden in Polyethylenflaschen (100 bzw. 500 mL) gesammelt und unmittelbar nach Gewinnung einer ersten Vorbehandlung zu ihrer Stabilisierung unterzogen. Weiterhin wurden Sedimentproben des Abflusses in den angegebenen Abständen vom Hauptdamm entnommen. Um Feststoffe aus dem Inneren des Tailings untersuchen zu können, wurden Kernbohrungen an verschiedenen Stellen niedergebracht. Im Labor erfolgte dann die Bestimmung

der Arsenspezies in der Kopplung IC – ICP-MS mit der in Kapitel 4 erarbeiteten Methode, die Bestimmung der kationischen Bestandteile atomspektrometrisch sowie der Oxidationsstufen des Eisens photometrisch. Das so gewonnene Datenmaterial ist eingeflossen in eine geochemische und hydrogeologische Systemanalyse der Industriellen Absetzanlage Bielatal und einer Modellentwicklung zum Langzeitverhalten dieser Spüldeponie im Rahmen eines Projektes des Sächsischen Staatsministeriums für Wissenschaft und Kunst [4]. Im folgenden sollen nur die Ergebnisse der analytischen Speziation der Sickerwässer nebst der notwendigen Probenstabilisierung sowie der aus den Bergbaureststoffen gewonnenen Porenwässer diskutiert werden.

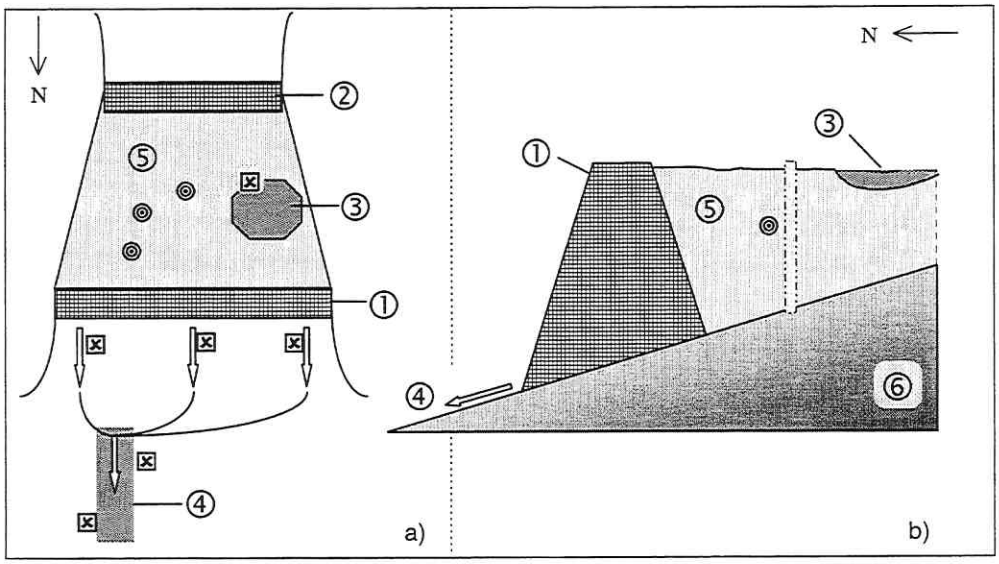


Abb. 6-1: Schematische Darstellung der Absetzanlage Bielatal mit Beprobungsstellen
a) Aufsicht, b) Seitenprofil (1- Hauptdamm, 2- Hilfsdamm, 3- Rest-Wasserfläche (Spülsee), 4- Ablauf zum Vorfluter Kleine Biela, 5- abgelagerte Bergbaureststoffe, 6- natürlicher Taluntergrund, ⊠- Auswahl der Beprobungsstellen Wasser, ◎- Bohrungen)

6.2. Experimente zur Probenstabilisierung an Wasserproben der Absetzanlage

6.2.1. Varianten zur Probenstabilisierung

Analytische Verfahren zur Bestimmung der Konzentration eines Elementes und seiner Spezies können aufgrund der notwendigen Instrumentierung im allgemeinen nicht unmittelbar am Ort der Probennahme ("on-site") ausgeführt werden, so daß Lagerung und Transport der gewonnenen Proben notwendig sind. Während dieser Zeit können in den Proben Reaktionen ablaufen, die den Gesamtgehalt eines Elementes und/oder seine Speziation verändern. Deshalb ist in einem solchen Fall die Einbeziehung von Konservierungsmaßnahmen, die die Integrität und Stabilität von Umwelt-Wasserproben gewährleisten, eine Voraussetzung für eine zuverlässige Elementspeziation. Im Falle von Arsen gilt den anorganischen Arsenspezies As(III) und As(V)

dabei das Hauptaugenmerk, da diese beiden den Hauptanteil in aquatischen Systemen darstellen.

Obwohl das Verhalten der Arsenspezies in Wässern vor ihrer analytischen Bestimmung von verschiedenen Autoren untersucht wurde [202-205], gibt es keine übereinstimmenden Empfehlungen über die Eignung der unterschiedlichen Konservierungsmethoden. Generell sollte eine möglichst geringe Veränderung der Probe angestrebt werden. Ein bewährtes, allgemein angewendetes Verfahren zur Stabilisierung zumindest der Elementzusammensetzung ist die Ansäuerung der Probe und Aufbewahrung in Polyethylenflaschen, eventuell verbunden mit einer Filtration 0,45 µm [76]. Aggett et al. [202] wandten dieses Verfahren in der Arsenspeziation an, wobei die Flaschen zusätzlich mit Stickstoff gespült wurden. Jedoch konnte eine Oxidation von As(III) nicht völlig verhindert werden. Cheam et al. [203] berichten über eine ausreichende Stabilität von As(III) und As(V) (Konzentrationen < 0,01 µg/mL) in 0,2 % Schwefelsäure bei Raumtemperatur. Shaikh et al. [204] beobachteten eine relative Stabilität des dreiwertigen Oxidationszustandes über drei Wochen auch in Gegenwart von Spuren redoxaktiver Substanzen. Aber auch hohe Verluste von As(III) sind bekannt [215]. Eine Reduktion des thermodynamisch stabilen As(V) zu As(III) in entionisiertem Wasser mußte Van Elteren feststellen [207]. Den Einfluß der Filtration auf die Wiederfindung z.B. von Eisen untersuchten Urasa et al. [158,208] und hoben das verschiedenartige Verhalten mehrerer Wasserproben hervor.

Unterschiedliche Beobachtungen und Empfehlungen sind nicht zuletzt auf die differierende Zusammensetzung der Matrixbestandteile zurückzuführen. Es bleibt deshalb die Aufgabe, für jedes einzelne analytische Problem der Speziation verschiedener Oxidationszustände, bei dem eine unmittelbare in-situ Messung nicht möglich ist, den Einfluß der konkreten Matrix zu ermitteln und nach Möglichkeit auszuschalten.

Für die Wasserproben des Biela-Tailings liegt das Ziel der Konservierung sowohl in der Stabilisierung der Gesamtkonzentration des Arsens als auch in der Erhaltung des nativen As(III)/As(V)-Verhältnisses, möglichst beim natürlichen pH-Wert der Probe. Die Proben des Biela-Tailings zeichnen sich durch einen sehr hohen Gehalt an Fe aus (zwischen 6 und 12 µg/mL), so daß diesem Element hier besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden muß. Es wurden Untersuchungen zum Einfluß von Filtration, Zusatz von Säuren sowie Einsatz von Komplexbildnern vorgenommen. Ein einfach zu handhabendes Verfahren zur Probennahme und Filtration unter Luftabschluß soll vorgeschlagen werden.

Bereits visuell sind in den unbehandelten Proben des Tailings mit zunehmender Lagerungsdauer (5 - 24 Std.) wachsende Abscheidungen von Eisenhydroxid festzustellen. Da es hier nicht um eine Langzeitlagerung geht, spielen bakterielle Aktivitäten, die die Redoxgleichgewichte verändern können, eine untergeordnete Rolle [18]. Eventuell auftretende oder gebildete methylierte As-Spezies beeinflussen aufgrund der hohen Selektivität der verfügbaren Analysenmethoden die Bestimmung von As(III) und As(V) nicht. Für matrixunabhängige Parameter wie die Lagertemperatur und Behältermaterial wurden, entsprechend [203,205], ein Temperaturbereich zwischen 2 und 5 °C, für Zeiträume größer 24 Stunden in gefrorenem Zustand, sowie

Gefäße aus Polyethylen für die Stabilisierung der Arsenspezies gewählt.

6.2.2. Filtration

Die Probenfiltration dient vorrangig der Abtrennung von Partikeln. Sie wurde bei Probennahme mit einem Vakuum-Filtrationssystem unter vermindertem Druck sowie mit Einwegspritzen realisiert, wobei Filtermaterialien aus Celluloseacetat (0,45 µm) zum Einsatz kamen. In Abbildung 6-2 sind als Beispiel die Chromatogramme einer Probe, von der ein Teil bei ihrer Gewinnung filtriert wurde, sowie ein Aliquot im unfiltrierten Zustand nach einem Zeitintervall von 18 Stunden gegenübergestellt. Sowohl in den filtrierten als auch den unfiltrierten Proben tritt nach As(V) (②) ein Signal mit wesentlich größerer Halbwertsbreite auf (bezeichnet mit ③), daß jedoch in der mit Salzsäure versetzten Probe (pH-Wert 2) nicht erscheint. Zwei wichtige Unterschiede sind erkennbar. Die einer Filtration unterzogenen Proben sind durch 10fach höhere Konzentrationen an As(III) gekennzeichnet. Das Verhältnis As(III)/As(V) ist in der filtrierten Probe weit größer als in der unfiltrierten, das heißt, die Geschwindigkeit der Oxidation von As(III) wird durch die Filtration herabgesetzt. Zweitens werden die das Signal ③ bildenden, nicht genau definierten arsenhaltigen Aggregate (im folgenden als "AsFe" bezeichnet, s. Kap. 6.3.2.) qualitativ beeinflußt, was in einer Verschiebung des Intensitäts-Maximums nach kürzeren Retentionszeiten und der Form ihres Signals zum Ausdruck kommt.

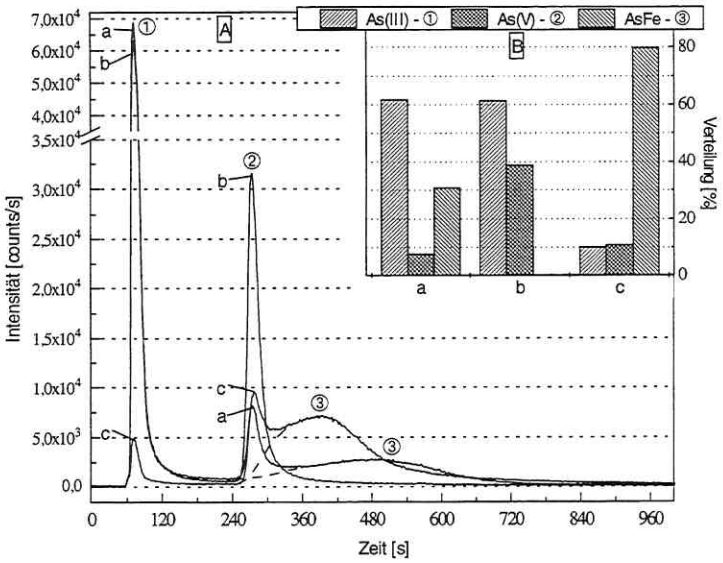


Abb. 6-2: A – Chromatographische Signale von filtrierter (a), unfiltrierter (c) und mit HCl versetzter (b) Probe nach 18 Stunden; B – Prozentuale Anteile der Spezies ①, ②, ③
(Filtration Celluloseacetat 0,45 µm; IC – ICP-MS; Trennsäule IonPac AS4A-SC/AG4A, Na_2CO_3 5 mmol/L, NaOH 40 mmol/L, MeOH 4 %)

Durch die Filtration erreicht man die Abtrennung suspendierter Partikel, die die Oxidation katalytisch beeinflussen können, so daß die Abbaugeschwindigkeit des As(III) vermindert wird. Gleichzeitig werden Kristallisationskeime für die Bildung von Eisenoxyhydroxiden verringert.
Um den Einfluß der Filtration auf die Wiederfindungsrate der einzelnen Spezies zu ermitteln, wurden (bei Probennahme unfiltrierte) 30 Stunden gealterte Proben mit Filtermaterialien verschiedener Porengröße behandelt. Diese Wasserproben waren unter Raumtemperatur und Luftzutritt gelagert und durch die Bildung von Eisenhydroxid gekennzeichnet. Die Konzentration von As(III) ist gegenüber den säurestabilisierten Proben wesentlich gesunken, die der AsFe-Spezies deutlich erhöht. Auch die Konzentration des gelösten Fe liegt nur noch bei 20 % der säurestabilisierten Probe, Mn dagegen ist unbeeinflußt. Wie in Abbildung 6-3 dargestellt, wird durch die Filtration mit unterschiedlicher Porengröße ausschließlich die detektierte Menge an AsFe-Spezies beeinflußt. Dies wird an den in allen Fraktionen konstanten As(III)- und As(V)-Konzentrationen deutlich. Die Molekülgröße dieser Schar Kolloide liegt mehrheitlich oberhalb 8 µm. Erst bei einer Filterung 0,025 µm werden sie vollständig abgetrennt (Abb. 6-3).

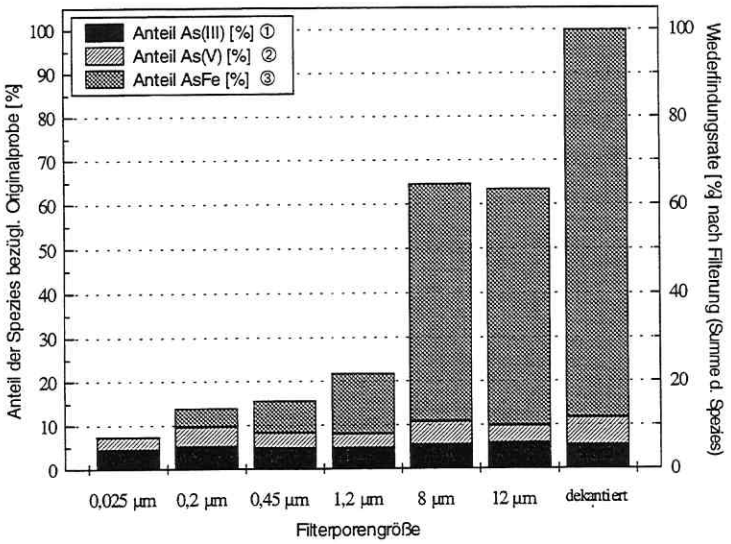


Abb. 6-3: Abhängigkeit der Wiederfindungsrate der Spezies von der Filtration nach Probenlagerung, Methode IC – ICP-MS.
(Filter Celluloseacetat, Lagerungsdauer der unbehandelten Probe 30 Std., Raumtemperatur; Gesamtkonzentrationen zum Zeitpunkt der Filtration: Fe_{Ges}= 1,47 µg/mL, Mn= 8,57 µg/mL, As_{Ges}= 0,414 µg/mL)

Im Ergebnis ist festzustellen, daß eine Filtration erst unmittelbar vor der Messung bei Proben, die bei ihrem natürlichen pH-Wert belassen wurden, die Speziesbestimmung in Abhängigkeit von der Filterporengröße sehr beeinträchtigen kann, indem eine Abtrennung entstandener Kolloide beziehungsweise daran adsorbierter Ionen erfolgt. Insbesondere kann es zu Minderbefunden an As durch Abtrennung dieser suspendierten Eisenhydroxoarsenate kommen. Es

sollten folglich Bedingungen gewählt werden, die eine solche Filtration vor der Messung nicht erforderlich machen.

Eine Filtration sofort bei Probennahme dagegen setzt die Geschwindigkeit von Redox- und Adsorptionsprozessen, die zur Verminderung von As(III) führen, herab, die Bildung von AsFe wird aber nicht verhindert. Auch durch die Strömung im Wasserlauf eventuell mitgerissene Sedimentteilchen werden durch Filtration ausgeschlossen.

Es erweist sich daher als notwendig, die Entstehung der oben diskutierten kolloiddispersen AsFe-Systeme nach Möglichkeit zu verhindern. Da die Speziationsuntersuchungen mit IC – ICP-MS nicht unmittelbar on-site erfolgen und ein Transport der Wasserproben ins Laboratorium notwendig ist, sind Proben, die bei ihrem natürlichen pH-Wert belassen und nicht anderweitig stabilisiert wurden, nicht für eine Speziationsuntersuchung der Arsenoxidationsstufen geeignet.

6.2.3. Probennahme unter Luftabschluß

Die Wasserproben wurden bei ihrer Gewinnung nach etwaiger Filtration in Container aus Polyethylen (100 mL; 0,5 bzw. 1 L) überführt. Durch randvolle Füllung dieser Flaschen konnte für größere Volumina auf einfache Weise ohne aufwendigen Einsatz von Inertgas der Luftkontakt während des Transportes minimiert werden. Um auch während der Filtration vor Ort einen Sauerstoffzutritt auszuschließen, wurden die jeweiligen Wasserproben direkt in PE-Einwegspritzen (10 mL), die mit einem 3-Wege-Hahn und entsprechendem Spritzenvorsatzfilter kombiniert sind, unter Filtration eingesaugt (Abb. 6-4). Mit Hilfe des dazwischen gesetzten Ventils ist dann ein Verschluß möglich. Aus der Spritze heraus kann sodann direkt eine Injektion in den Chromatographen erfolgen bzw. ein Aliquot der Analyse zugeführt werden. Jedoch zeigten auf diese Art gewonnene Proben im Vergleich zu kurzzeitig luftexponierten nur geringe Unterschiede bezüglich der zeitabhängigen Speziesverteilung. Zwar wurde die Geschwindigkeit der Oxidation von As(III) gesenkt, aber innerhalb kurzer Zeit werden auch AsFe-Spezies gebildet. Allein die Verhinderung jeglichen Luftkontaktes erwies sich als nicht ausreichend für die Speziationsuntersuchungen von Arsen. Die Vorgehensweise zur Probennahme unter Luftausschluß hat sich besonders für die nachfolgende Bestimmung von Fe(II)/Fe(III) bewährt und ist vor allem vorteilhaft anzuwenden, wenn kleine Volumina (übliche Größen der Spritzen 5 - 10 mL) kontaminationsarm bearbeitet werden sollen.

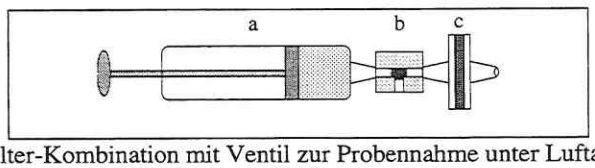


Abb. 6-4: Spritze/Filter-Kombination mit Ventil zur Probennahme unter Luftausschluß
(a – Spritze, b – 3-Wege-Ventil, c – Vorsatz-Filter)

6.2.4. pH-Wert - Einfluß

Eine Möglichkeit zur Stabilisierung von Wasserproben besteht in einer Erniedrigung des pH-Wertes, um Verluste durch Adsorptionen einzudämmen. Die Einstellung des pH-Wertes bei Gewinnung der Proben kann durch Dotieren mit Säuren erfolgen. Ein Vergleich des Einflusses von Salz-, Phosphor-, Essig- und Schwefelsäure auf die Wiederfindung von As-Gesamt und die Verteilung der Spezies ist in Tabelle 6-2 vorgenommen. In Spalte B ist die mit ICP-AES ermittelte Gesamtkonzentration in den Lösungen angegeben; der mit HCl ermittelte Wert soll als Bezug für die in der Speziation ermittelten Konzentrationen (Spalte D) dienen.

Wie zu ersehen, steigt die Summe der mit IC – ICP-MS bestimmten Arsen-Spezies (Spalte C) gegenüber dem Gesamtgehalt (Spalte B) durch Ansäuern im Vergleich zur unveränderten Probe an. Im Falle von HCl und H_2SO_4 werden in der Spezies-Analytik bis zu 84 % des in der HCl-Probe gemessenen Gesamtgehaltes wiedergefunden. Dies ist deutlich verbessert gegenüber der 54 %-Wiederfindung der unbehandelten Probe, kann aber noch nicht als ausreichend angesehen werden. Essigsäure ergibt mit 75 % die geringste Wiederfindung der Säuren.

In den säurestabilisierten Proben wird in allen Fällen ein As(III)-Anteil von ca. 50 % festgestellt (Spalte E), während in der unveränderten bzw. phosphatgepufferten Lösung ein starker Abfall auf unter 10 % zu konstatieren ist, worin sich auch die pH-Abhängigkeit der Oxidation As(III) → As(V) mit Fe(III) ausdrückt. Die Bildung von AsFe-Spezies wird, bis auf die Phosphat-Pufferlösung, in allen Fällen durch pH-Erniedrigung verhindert. Schwefel- und Salzsäure mit der höchsten Wiederfindungsrate der Spezies sind also gleichermaßen zur Stabilisierung geeignet. Ein Zusatz beider Säuren beeinflußt den chromatographischen Trennprozeß nicht. Nur im Falle von Phosphorsäure bzw. Phosphat war eine Veränderung der Retention von As(V) zu beobachten, die auf die strukturelle Ähnlichkeit von Arsenat und Phosphat und die Konkurrenz an den funktionellen Gruppen der stationären Phase zurückgeführt werden.

	A	B	C	D	E			F	G	
	pH	As (Ges)[a] [µg/mL]	As-Spezies ΣSpz.[b] [µg/mL]	ΣSpz.[c] [%]	Speziesverteilung As(III)/As(V)/AsFe [%][d]			Fe (Ges)[e] [µg/mL]	Fe(II)/Fe(III) [%][f]	
ohne Zusatz	6,42	0,545	0,684	53,6	9,8	9,8	80,4	2,93	15,7	84,3
+ HCl	2,20	1,277	1,060	83,0	50,2	49,8	‡	7,21	80,0	20,0
+ H_3PO_4	2,43	1,221	1,042	81,6	48,2	51,8	‡	7,00	80,1	19,9
+ HAc	3,97	1,086	0,963	75,4	51,6	48,4	‡	6,48	91,0	9,0
+ H_2SO_4	2,28	1,252	1,077	84,3	47,4	52,6	‡	7,14	79,9	20,1
+ $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$	6,32	0,828	0,713	55,8	5,9	85,3	8,8	1,12	18,2	81,8

[a]- Gesamt-Arsen; [b]- Summe von As(III), As(V) und AsFe; [c]- in % des HCl-Wertes von As(Ges); [d]- prozentuale Verteilung der Spezies zu Spalte C; [e]- Gesamt-Eisen; [f]- prozentuale Verteilung der Redox-Spezies zu Spalte F; ‡- Spezies treten nicht auf

Tab. 6-2: Einfluß der Säure auf Wiederfindung und Verteilung der Spezies.

(Wasserproben *Mitte*, bei Probennahme unfiltriert, Lagerung gekühlt, Analyse 24 Std. nach Gewinnung, Daten als Mittel von Dreifachbestimmungen)

Auf mögliche Redoxeinflüsse von Säuren auf die Spezies-Verteilung weist Urasa hin [158]; so könnte im Falle der Salzsäure auch eine Reduktion von Fe(III) auftreten. Nach Untersuchungen von Moses et al. [209] ist ein solcher reduktiver Einfluß von HCl jedoch erst bei einer Säurekonzentration größer 0,1 mol/L zu beobachten, die hier nicht erreicht wird. Man kann also davon ausgehen, daß die gefundenen Fe(II)-Anteile (80 - 90 %) in den säurestabilisierten Proben (Spalte G) dem Ausgangszustand nahekommen und nicht durch nachträgliche Reduktion zustandegekommen sind. Dies deckt sich auch mit dem jeweils gemessenen hohen As(III)-Anteil. Das Element Mangan zeigt keine Unterschiede in der unbehandelten und den säurestabilisierten Proben.

Das Diagramm in Abbildung 6-5 verdeutlicht den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die As-Speziesverteilung. Es deutet sich ein Gleichgewicht zwischen As(V) und AsFe an, das mit sinkendem pH nach Seiten des As(V) verschoben wird. Im gleichen Maße, wie sich AsFe verkleinert, wächst As(V) an. Die Summe beider bleibt dabei konstant. Erst bei pH-Werten kleiner vier wird die Bildung der kolloidalen Assoziate verhindert. Da mit sinkendem pH das Redoxgleichgewicht von As(III/V) nach As(III) tendiert, ist nicht zu erwarten, daß das wachsende As(V)-Signal aus einer Oxidation von As(III)-Anteilen stammt. Folglich kann den AsFe-Spezies die Oxidationsstufe (V) zugeordnet werden.

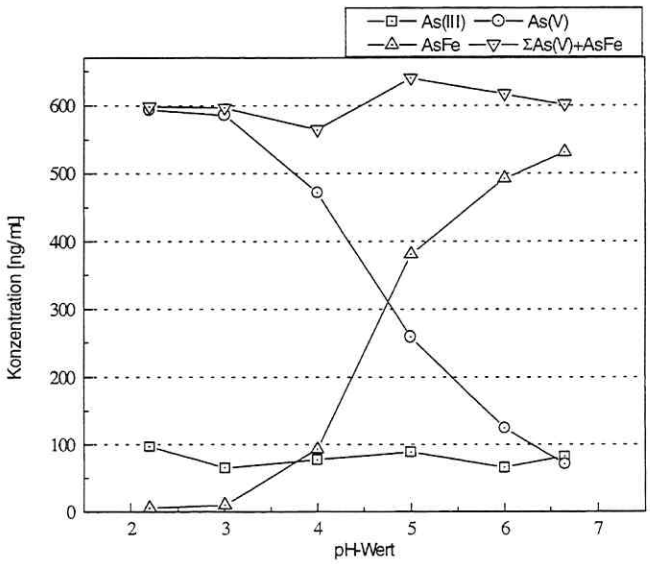


Abb. 6-5: Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die As-Spezies einer unbehandelten Wasserprobe des Biela-Tailings
(Zeitspanne zw. Gewinnung u. Analyse 30 Std., Raumtemperatur; Säure: HCl)

In Übereinstimmung mit den hier durchgeführten Messungen zu Filtration und pH-Wert stehen Untersuchungen von Shkinev et al. [210], die mittels tangentialer Ultrafiltration zeigten, daß das Ansäuern von Wasserproben zwar das Verteilungsmuster der Analyte über Größenbereiche (0,025 µm bis >1 µm) verändern kann, jedoch angesäuerte Proben eine bessere Konstanz über

die Lagerungsdauer aufweisen. Die damit verbundene höhere Reproduzierbarkeit wirkt sich günstig für die Bestimmung der Gesamtgehalte aus, bei der die Verteilung über die Größenfraktionen nicht im Vordergrund steht. Die Autoren identifizierten die größten Anteile von Fe in der Fraktion größer 1 µm, dies korreliert mit der hier gefundenen Verteilung der AsFe-Spezies (Abb. 6-3). Ein verändertes Verteilungsmuster durch Einfluß der H^+-Ionen betrifft in den hier durchgeführten Messungen nur die FeAs-Spezies. Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß durch Zusatz von Salzsäure bis zu einem pH-Wert von 2,2 bis 2,5 unter Zurückdrängung der Fe(III)-Hydrolyse auch die Bildung der AsFe-Spezies verhindert wird sowie hohe Anteile As(III) in Lösung verbleiben. Die mit der Summe der Spezies erreichte Wiederfindung derselben von etwa 84 % gegenüber der Gesamtanalyse gibt Anlaß, weitere, geeignetere Stabilisierungsmaßnahmen aufzufinden.

6.2.5. Komplexierung

Die Beobachtungen zur relativ schnellen zeitlichen Änderung der Konzentration sowohl der As-Spezies als auch der von Fe und die Bildung eines Eisenoxid/hydroxid-Niederschlages lassen den großen Einfluß von Eisen auf in der Probe ablaufende Reaktionen erkennen. Das Ziel weiterer Untersuchungen bestand darin zu testen, ob auch eine Stabilisierung der Proben bei ihrem natürlichen pH-Wert möglich ist und As(III) dabei erhalten bleibt. Daher wurden Experimente zur Maskierung des Eisens durch Komplexierung vorgenommen. Mit der Bildung stabiler Eisenkomplexe sollte der Einfluß des Eisens auf Reaktionen zwischen den As-Spezies vermindert und die Bildung der kolloidalen Eisenhydroxoarsenatspezies verhindert werden. Zum Einsatz kamen sowohl Komplexbildner bevorzugt für Fe(II) wie 2,2'-Dipyridin [211], als auch für Fe(III) wie Salicylsäure, Koijsäure und Nitrilotriessigsäure (NTA) [211] (Tab. A-2, Anh.). Als weiteres Optimierungskriterium wurde die Wiederfindung der Summe der Spezies bezogen auf die HCl-stabilisierte Probe herangezogen. Tabelle 6-3 zeigt einen Auszug aus diesen Messungen. Die Werte in Spalte D beziehen sich jeweils auf die Gesamtkonzentration As der HCl-Probe.

Sichtbare Ausfällungen von Eisenhydroxiden in den Probenlösungen sind nur im Falle der unfiltrierten und der unfiltrierten, mit Salicylsäure versetzten Proben festzustellen, in letzterer waren nur noch etwa die Hälfte As bzw. Fe in Lösung detektierbar (Spalte B, F). Eine Bildung von FeAs-Spezies wird durch den Zusatz der Komplexbildner effektiv verhindert, im Fall von Salicylsäure/HCl muß das aber auf den HCl-Einfluß zurückgeführt werden. FeAs-Spezies werden nur in den Lösungen ohne Zusatz und in Kombinationen mit Salicylsäure beobachtet (Spalte E).

Die in Tabelle 6-3 angeführten Experimente zur Komplexierung sind nach der in der Speziation mit IC – ICP-MS gefundenen Summe sortiert (Spalte C, D). Die Wiederfindung der Speziationsanalyse (Summe der Spezies, Spalte C) ist mit 98 und 104 % für Kojisäure und Dipyridin sowie in deren Kombination vollständig. Diese Lösungen zeigen auch den höchsten Anteil von As(III) (Spalte E). Im Vergleich der beiden Komplexbildner wird deutlich, daß ihre unter-

schiedliche Selektivität zu Fe(II) und Fe(III) auf die Arsenspezies-Verteilung keinen Einfluß hat. In den mit Dipyridin behandelten, jedoch unfiltrierten Proben ist der Anteil von As(III) auf 12 % abgesunken. Eine Komplexierung allein ist also nicht ausreichend, die Filtration der Proben zum Zeitpunkt ihrer Gewinnung ist eine Voraussetzung für die Stabilisierung.

	A	B	C	D	E			F
Reagenz[a)]	pH	As (Ges)[b)] [µg/mL]	As-Spezies ΣSpz.[c)] [µg/mL]	ΣSpz.[d)] [%]	Speziesverteilung As(III)/As(V)/AsFe[e)] [%]			Fe (Ges)[f)] [µg/mL]
f.+HCl	2,10	1,395	1,143	81,9	61,5	38,5	‡	9,2
uf.; ohne Zusatz	6,50	0,953	0,856	61,4	32,0	15,9	52,1	6,6
f., ohne Zusatz	6,50	1,366	1,192	85,4	71,1	4,0	24,9	8,5
f.+Dipy+Sali+NTA	nb.	1,359	1,544	110,7	60,4	34,8	4,8	7,8
f.+Dipy	6,53	1,459	1,447	103,7	65,2	34,8	‡	8,8
f.+Koji+Dipy	6,40	1,308	1,395	100,0	63,8	36,2	‡	7,9
f.+Dipy+Sali	6,21	1,433	1,378	98,8	65,9	34,3	‡	8,2
f.+Koji	6,40	1,452	1,370	98,2	68,8	31,2	‡	8,4
uf.+Dipy+Sali+HCl	2,61	1,416	1,196	85,7	39,3	60,7	‡	8,9
uf.+Sali+HCl	2,37	1,009	1,161	83,3	47,3	52,7	‡	7,2
uf.+ Tartrat	3,03	1,405	1,160	83,1	31,1	68,9	‡	9,2
f.+NTA	6,34	1,355	1,103	79,1	41,7	58,3	‡	8,6
f.+Sali	6,25	1,323	1,070	76,7	70,1	1,0	28,9	7,6
uf.+NTA	6,28	1,197	1,039	74,5	38,0	62,0	‡	8,1
uf.+Dipy+Sali	6,74	0,980	0,998	71,6	14,2	85,8	‡	6,4
uf.+Dipy	6,53	0,853	0,926	66,4	12,7	87,3	‡	5,9
uf.+Sali	6,25	0,637	0,846	60,6	12,8	64,4	22,8	5,2

[a)]- Zusatz unmittelbar bei Probennahme; [b)]- Gesamt-Arsen (ICP-AES); [c)]- Summe von As(III), As(V) und AsFe; [d)]- in % des HCl-Wertes v. As(Ges); [e)]- prozentuale Verteilung der Spezies zu Spalte C; [f)]- Gesamt-Eisen; ‡- Spezies treten nicht auf; nb.- nicht bestimmt; uf.- unfiltriert; f.- bei Probennahme filtriert (Celluloseacetat 0,45 µm); Koji - Kojisäure; Dipy - 2,2'-Dipyridin; Sali - Salicylsäure; NTA - Nitrilotriessigsäure

Tab. 6-3: Einfluß von Komplexierungsagenzien auf Wiederfindung und Verteilung der Spezies (Wasserproben von *Mitte*, Lagerung gekühlt, Analyse 24 Std. nach Gewinnung, jeweils Dreifachbestimmungen; Endkonzentration der Komplexbildner je 3,5 mmol/L)

Kombinationen mit Salicylsäure verhindern die Bildung von FeAs nicht bzw. resultieren in einer geringen Wiederfindung von As und haben somit keinen positiven Einfluß. Unter Berücksichtigung des während der Lagerung in unstabilisierten Proben stetig abnehmenden As(III)-Gehaltes und der vor Ort gemessenen leicht reduzierenden Redoxpotentiale widerspiegelt das in den mit Kojisäure bzw. Dipyridin stabilisierten Proben gemessene Verhältnis As(III)/As(V) die realen Gegebenheiten am besten (As(III) >65 % bei Kojisäure und Dipyridin, Spalte E). Das drückt sich auch in der guten Übereinstimmung der Spezies-Summe mit den Gesamtgehalten aus. Im dargestellten Beispielfall setzt sich die Gesamtkonzentration As von 1395 ng/mL

aus 909 ng/mL As(III) und 486 ng/mL As(V) zusammen. Zwischen den Konzentrationen von Eisen und Mangan und der für Gesamt-As gemessenen Konzentration besteht über die Komplexierungsreihe eine enge Korrelation, was die Beeinflussung von As durch Fe unterstreicht.

Die zur Komplexierung gewählte Konzentration von Kojisäure von 3,5 mmol/L erweist sich unter den gegebenen Bedingungen als geeignet (Abb. 6-6). Bereits bei einer Konzentration von 1,5 mmol/L wird die Entstehung von AsFe um 75 % vermindert, ab 3 mmol/L liegt vollständig As(V) vor.

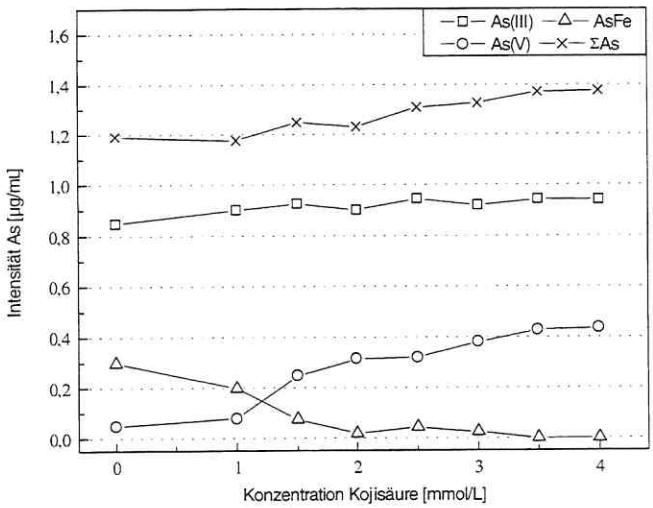


Abb. 6-6: Abhängigkeit der Speziesverteilung von der Konzentration Kojisäure.
(Komplexstabilisierte Wasserproben, filtriert 0,45 µm bei Probennahme, Analyse 24 Std. nach Gewinnung)

Damit konnte gezeigt werden, daß unter unveränderten Redox- und pH-Bedingungen durch eine Maskierung des Eisens in den Tailingwässern eine effektive Probenstabilisierung erreicht werden kann, wenn Kojisäure oder Dipyridin zugegeben werden. Redoxprozesse zwischen As und Fe werden vermindert und durch die Verhinderung von Fe-Ausfällungen Verluste durch Adsorption von As an diesen ausgeschlossen. Die Wiederfindungsrate in der Speziationsanalytik konnte gegenüber mit HCl versetzten Proben verbessert werden und steht in Übereinstimmung mit dem mittels unabhängiger Methode bestimmten Gesamtgehalt von Arsen. Weiterhin wurde festgestellt, daß die eingesetzten Komplexbildner Dipyridin und Kojisäure keine Beeinträchtigung der chromatographischen Trennung und der massenspektrometrischen Detektion nach sich zogen.

6.2.6. Zusammenfassung der optimierten Probennahme-Bedingungen für das analytische Verfahren zur Speziesbestimmung

Im Vorfeld der analytischen Untersuchung der Wasserproben des Biela-Tailings sind Redoxprozesse nach Möglichkeit zu unterdrücken. Auf Grund der hohen Konzentration an Eisen von ca. 8 µg/mL in den Proben mußte diesem eine Schlüsselstellung für Veränderungen der Verteilung von Arsenspezies zugeordnet werden. Insbesondere Redoxprozesse zwischen As(III) und Fe(III) und die Bildung von Eisenhydroxoarsenat-Verbindungen waren nach Möglichkeit auszuschließen. Gleichzeitig war eine Präzipitation von Eisen und damit eine Adsorption von As an amorphen Eisenoxyhydraten zu verhindern. Es wurde festgestellt, daß abweichend von der gebräuchlichen Säurestabilisierung für eine optimale Erfassung der As-Spezies besondere Maßnahmen erforderlich sind.

Im Ergebnis der Untersuchungen an Sickerwässern des Biela-Tailings können folgende Empfehlungen zur Probennahme zusammengefaßt werden, die in den Proben eine dem Zeitpunkt ihrer Gewinnung entsprechende Zusammensetzung bewahrt:

- Filtration unmittelbar bei Probennahme zur Abtrennung von Partikeln (Celluloseacetat 0,45 µm);
- zur Bestimmung der As-Spezies Maskierung von Eisen mittels Kojisäure und/oder 2,2'-Dipyridin, Konzentration ca. 3,5 mmol/L Lösung, (ohne pH-Wert-Veränderung);
- Minimierung des Luftkontaktes der Probe durch randvolle Füllung der Probencontainer bzw. Verwendung von Einwegspritzen mit Vorsatzfilter und Ventil;
- Transport und Lagerung in gekühltem Zustand.

Das monatliche Monitoring der Elemente im aquatischen Medium des Bielatal-Tailings wurde auf dieser Grundlage vorgenommen.

6.3. Analytische Ergebnisse der Wasseruntersuchungen

6.3.1. Gesamtkonzentration und Jahresbilanz der Arsen-Elution

Innerhalb eines Untersuchungszeitraumes von zwölf Monaten 1995/96 wurde in regelmäßigen Abständen am Tailing Bielatal eine Beprobung durchgeführt, um Grundlagen für die umfassende Charakterisierung dieser Absetzanlage zu schaffen. Die physiko-chemischen Eigenschaften der drei Sickerwasserausflüsse zeigen ähnliche Werte hinsichtlich ihrer Leitfähigkeit und des pH-Wertes, unterscheiden sich jedoch deutlich in Sauerstoffgehalt und Redoxpotential (Tab. 6-4). Die niedrigste Sauerstoffsättigung und das kleinste Redoxpotential wird in *Mitte* gefunden. Mit zunehmender Entfernung von der "Quelle" erhöht sich der Sauerstoffgehalt im Wasserlauf schnell auf 8 - 10 mg/L, das Redoxpotential steigt jedoch nur langsam an.

Auch hinsichtlich ihrer Zusammensetzung unterscheiden sich die Sickerwasserausflüsse, wie in Abbildung 6-7 exemplarisch dargestellt. Der größte Mineralgehalt ist wiederum in der Hauptaustrittsstelle *Mitte* zu beobachten. Hier ist auch der Schwankungsbereich im jahreszeitlichen Verlauf am größten. Das Verhältnis von Eisen zu Arsen bleibt aber im Jahresverlauf nahezu konstant und ist gleich für die Wässer *Mitte* und *Links* (im Mittel ca. 6 : 1). Zwischen Mangan und Arsen wird dagegen keine Korrelation beobachtet.

Position	pH-Wert	Leitfähigkeit [µS/cm]	Sauerstoff [mg/L]	Redoxpotential [mV]
[Links]	6,49	353	3,37	283
[Rechts]	6,62	382	8,46	338
[Mitte]	6,51	361	1,46	250
[30 m]	6,95	355	8,44	260
[50 m]	7,03	353	8,45	264

Tab. 6-4: Physiko-chemische Eigenschaften des Tailingwassers (Probennahme 29.02.96)

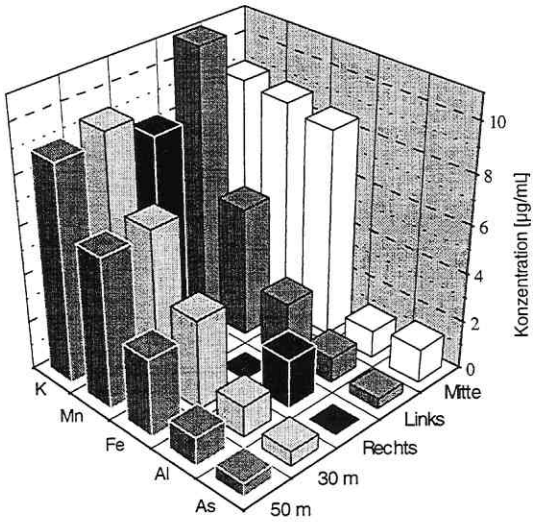


Abb. 6-7: Sickerwässer des Tailings, Hauptkomponenten As, Fe, Al, Mn und K im Vergleich (24.07.96)

Das am rechten Seitenhang austretende Wasser besitzt eine dem örtlichen unkontaminierten Oberflächenwasser vergleichbare Zusammensetzung der Kationen und Anionen und nur eine geringe Arsen-Belastung. Die mitgeführte Arsenfracht ist viel geringer und das mittlere Verhältnis Fe/As mit 2,3/1 wesentlich kleiner. Die Hauptmenge des Sickerwassers tritt mit ca. 20 L/s in der Mitte des Damms aus, die beiden seitlichen Ausflüsse liegen mit Volumenströmen von ca. 12 und 5 L/s (*Links/Rechts*) niedriger. In dem sich aus den Sickerwässern bildenden Bach werden an den talabwärts liegenden Probennahmestellen daher ähnliche Meßwerte wie in *Mitte* gefunden (s. Abb. 6-7, 6-8).

Im jahreszeitlichen Verlauf wird nach einer konstanten Elutionsrate in den Monaten Dezember bis April im Monat Mai ein Maximum für As und Fe festgestellt, das dann bis August/September auf einen Minimalwert absinkt. Dabei wird ein Bereich zwischen 0,8 und 2,3 µg/mL As überstrichen (Abb. 6-8). Analog verhält sich Eisen, mit einem Bereich zwischen 5,3 und 12,1 µg/mL. Für andere Elemente, wie beispielsweise Mn, Al, K (Tab. A-3, Anh.) und auch die Anionen Cl^-, NO_3^-, SO_4^{2-} wird eine gleichbleibende Konzentration gefunden.

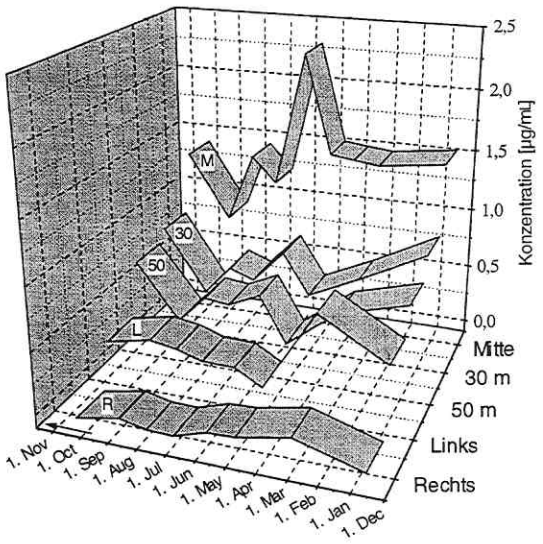


Abb. 6-8: Jahreszeitliche Abhängigkeit der Gesamtkonzentration von Arsen in Sickerwässern des Tailings

6.3.2. Speziationsanalytik für Arsen in Sickerwässern

Die am Tailing gewonnenen Wasserproben wurden wie oben beschrieben (Kap. 6.2.6.) mit Kojisäure stabilisiert und mit Ionenaustauschchromatographie in Kopplung mit ICP-MS untersucht. In den stabilisierten Lösungen wurden die anorganischen Spezies As(III) und As(V) in wechselnden Verhältnissen festgestellt. Arsenorganische Verbindungen treten in den Sickerwässern unmittelbar am Ausfluß nicht auf.

Die drei Austrittsstellen unterscheiden sich nicht nur in den Gesamtkonzentrationen, sondern auch in den jeweiligen As(III)- und As(V)-Konzentrationen. Die höchsten Anteile von As(III) korrelieren mit den niedrigsten Redoxspannungen und geringsten Sauerstoffkonzentrationen. Die Probe *Rechts* weist generell den höchsten As(V)-Anteil auf, das stimmt mit dem vergleichsweise hohen Sauerstoff-Gehalt überein (Tab. 6-4, 6-5). Die Proben von *Mitte* und *Links* zeigen überwiegende Anteile von As(III) (57 bis 94 % vom Gesamtgehalt). Talabwärts wird das Verhältnis durch Sedimentierung und Präzipitierung von As(V) sogar noch weiter zu As(III) verschoben.

Position	As(III)		As(V)		Fe(II)		Fe(III)	
	[µg/mL]	[%][a)]	[µg/mL]	[%][a)]	[µg/mL]	[%][a)]	[µg/mL]	[%][a)]
Mitte	0,880	69,0	0,369	31,0	5,76	65,1	3,09	34,9
Links	0,264	74,8	0,088	24,9	2,06	82,1	0,45	17,9
Rechts	0,016	55,2	0,014	48,3	0,12	30,0	0,28	70,0
30 m	0,482	78,5	0,131	21,3	4,43	78,7	1,20	21,3
50 m	0,464	77,5	0,135	22,5	4,20	63,3	2,44	36,7

[a)]- prozentualer Anteil der Spezies

Tab. 6-5: Konzentrationsverhältnisse von As- und Fe-Spezies in den Tailingwässern in Abhängigkeit von der Probennahmestelle (Probennahme 24.07.96)

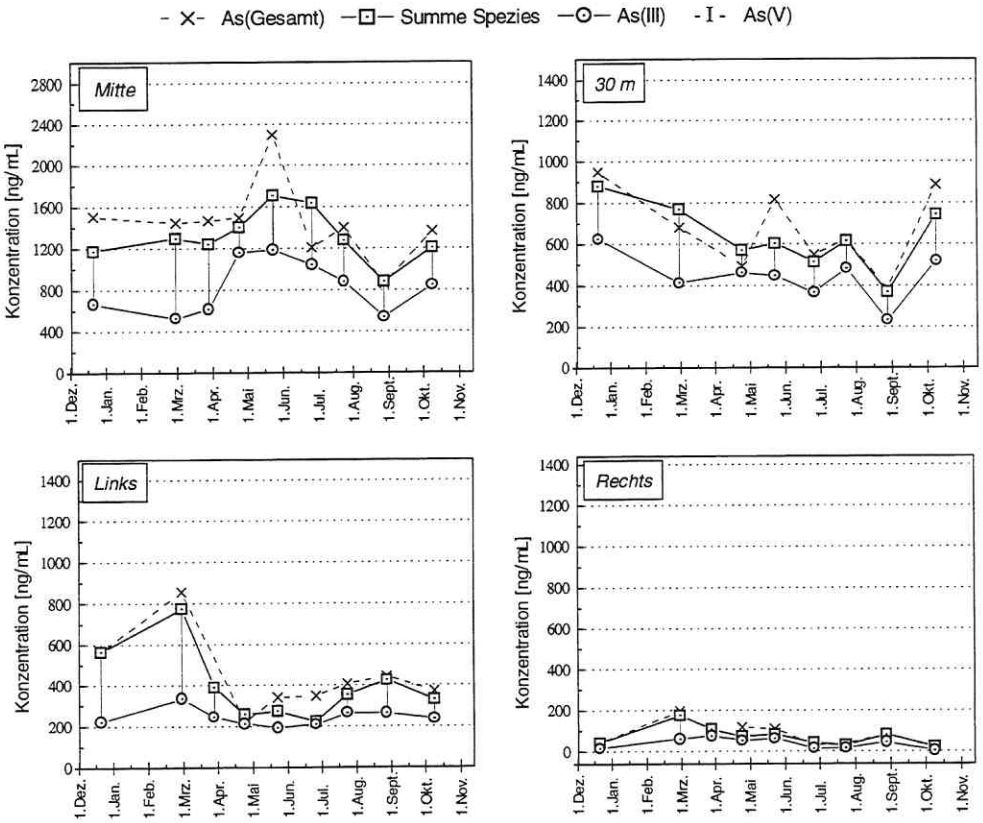


Abb. 6-9: Jahresprofil der Arsen-Emission unter Berücksichtigung der Speziation für unterschiedliche Austrittsstellen. (Anm.: Skalenendwert der Ordinate in *Mitte* besitzt doppelte Größe)

Wenn man die sich jahreszeitlich ändernde Arsen-Gesamtkonzentration betrachtet, fällt auf, daß diese Änderung interessanterweise hauptsächlich auf veränderte Anteile von As(III) zurückzuführen ist (Abb. 6-9, *Mitte, 30m*). As(V) zeigt dagegen jedoch nur eine geringere Schwankung. Im Falle von *Mitte* werden im Zeitraum Dezember bis April As(III) und As(V) in ähnlichen Konzentrationen festgestellt, ab Ende April dominiert As(III) deutlich über As(V). Während des Frühjahrs beobachtet man ein Anwachsen des As(III)-Gehaltes, das auch in einer gestiegenen Gesamtkonzentration resultiert. In den Proben von *Links* liegt As(V) nur Dezember bis März in hohen Anteilen vor, während in den Sommermonaten As(III) dominiert.

An den Probennahmestellen talabwärts dominiert im gesamten Untersuchungszeitraum As(III) (Abb. 6-9, *30m*) bei im Vergleich zu den Austrittsstellen gesunkenem Konzentrationsniveau. Das kann auf die bevorzugte Präzipitierung von As(V) mit Fe(III)oxyhydroxiden zurückgeführt werden. In der generellen Tendenz ist ein hoher Arsen-Gehalt im Winterzeitraum Oktober bis März festzustellen, der auf ein Minimum am Ende des Sommers kontinuierlich absinkt. Diese an den Austrittsstellen beobachtete, durch As(III) bestimmte Änderung der

Arsenkonzentration verweist auf den hauptsächlichen Mobilisierungsweg von Arsen über As(III), das als mobilere Form vorwiegend in Abhängigkeit der hydrodynamischen Wasserführung des Tailings ausgeschwämmt wird. As(V) wird im Wasserlauf vornehmlich durch ein Präzipitationsgleichgewicht mit $Fe(OH)_3$ bestimmt, das für einen konstanten As(V)-Gehalt sorgt, wenn As(III) aufgrund saisonaler Prozesse verstärkt zu As(V) oxidiert wird. Die stetige Abnahme der As-Konzentration (*30m*) kann auch durch eine verstärkte Sedimentierung im Sommerhalbjahr hervorgerufen werden, jedoch wurden zur Sedimentbildungsrate keine Messungen durchgeführt.
Anhand eines Vergleiches der Summe der bestimmten Spezies (IC – ICP-MS) mit den Daten der Gesamtkonzentrationen (ICP-AES, AAS) wurde die Richtigkeit der analytischen Ergebnisse überprüft. So bestand die Möglichkeit, durch Meßwerte hoher Divergenz auf Probleme der Konservierung aufmerksam zu werden oder diese aus den Betrachtungen ausschließen zu können. In den betrachteten Fällen wurde eine sehr gute Übereinstimmung beider Verfahren erreicht.

Im folgenden soll noch die Natur des in den unstabilisierten Proben der Absetzanlage Bielatal aufgetretenen Signals (s. Kap. 6.2.2., 6.2.4.) diskutiert werden. In Abbildung 6-10 sind Chromatogramme von Proben der drei Austrittsstellen, 24 Stunden nach Gewinnung, gegenübergestellt. Wenn die Wasserproben keiner Stabilisierung vor Ort unterzogen werden, treten neben den definierten Formen As(III) ① und As(V) ② noch weitere Spezies auf. In den unbehandelten Proben von *Mitte* und *Links* ist ein sehr breites Signal ③ im Anschluß an den As(V)-Peak zu erkennen.

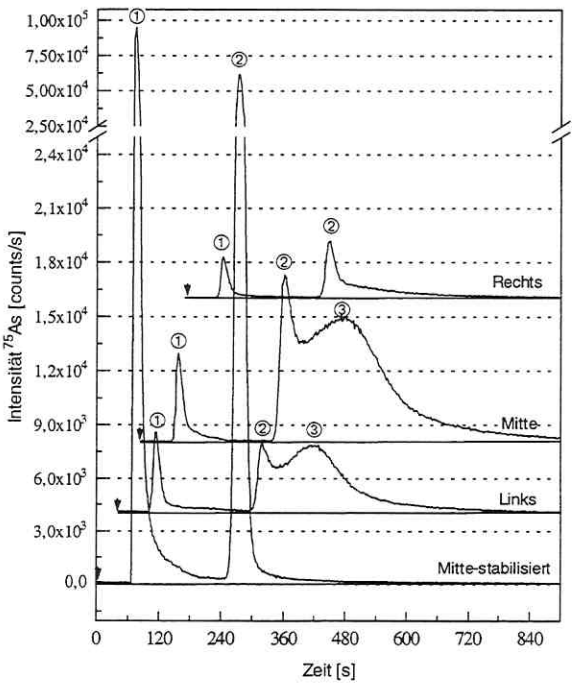


Abb. 6-10:
Ionenchromatogramme unterschiedlicher Sickerwasserausflüsse des Biela-Tailings.
(Proben unbehandelt, originärer pH-Wert, 24 Std. nach Probennahme sowie *Mitte*, komplexstabilisiert; IC – ICP-MS, Trennsäule IonPac AS4A-SC/AG4A)

Die Form des Signals läßt vermuten, daß es sich nicht um eine Einzelverbindung handelt. Aufgrund der eingesetzten elementspezifischen Detektionstechnik ist (bei Ausschluß von Masseinterferenzen auf ^{75}As) jedoch gesichert, daß arsenhaltige Verbindungen vorliegen. Sie bilden sich erst während der Lagerung unter Veränderung des As(III)/(V)-Verhältnisses, und nur in nicht stabilisierten, bei natürlichem pH-Wert belassenen Proben. Sie werden unter den Bedingungen des eingesetzten alkalischen Eluenten im Chromatogramm sichtbar. Experimente zur Identifizierung dieser Komponenten (s. Kap. 6.2.4.) zeigten, daß Arsen in Signal ③ die Oxidationsstufe V zuzuordnen ist. Die Breite des Signals deutet auf eine Gruppe ähnlicher Verbindungen hin, die miteinander im Gleichgewicht stehen. Ein Vergleich des Retentionsverhaltens mit bekannten Arsenverbindungen ergab keine Anhaltspunkte zur Identifizierung. Um ihre Zusammensetzung näher zu charakterisieren, wurden im Chromatogramm mit ICP-MS simultan weitere Massen aufgezeichnet.

Für andere Elemente, die mit Arsen eine Bindung eingegangen sind, müßte sich im ICP-MS-Chromatogramm jeweils ein Signal bei gleicher Retentionszeit wie As ergeben. Das wurde jedoch nicht beobachtet. Allerdings erlauben diese Messungen keine Aussage zum Vorhandensein von Eisen, da das gemessene Isotop ^{56}Fe im ICP-MS nicht mit ausreichender Empfindlichkeit*) erfaßt werden kann. Daher wurde eine Fraktionierung des Säuleneluates in die kritischen Bereiche vorgenommen und diese einer halbquantitativen Analyse mit der sehr nachweisstarken Totalreflexions-Röntgenfluoreszenz (TX-RFA) unterzogen. Damit konnte nachgewiesen werden, daß innerhalb des Zeitfensters des Arsensignals ③ (Abb. 6-10) auch eine erhöhte Konzentrationen an Eisen vorliegt. Es kann folglich die Vermutung bestätigt werden, daß es sich um Formen von ionischen Eisenhydroxoarsenaten handeln muß [23]. In der Literatur sind mögliche Formen wie $[Fe(OH)_n(AsO_4)(H_2O)_m]^{n-}$ bzw. $[Fe(OH)_2(AsO_4)(H_2O)_m]^{2-}$ beschrieben [205,212]. Die sehr breite Signalform kann durch mehrere im Gleichgewicht befindliche kolloidale Verbindungen erklärt werden, zusammen mit einem Größenausschlußeffekt der Trennsäule. Dies wird auch durch die Experimente zur Filtration (Kap. 6.2.2.) untermauert, die das Vorhandensein von suspendierten Teilchen größer 1,2 µm zeigten. Ähnliche Beobachtungen machte Urasa, der bei Untersuchungen zur Phosphor-Speziation ein vergleichbares, schlecht definiertes Signal mit großer Breite beobachtete, welches durch eine Schar von Polyphosphaten verursacht wird [158].

In Vergleichsuntersuchungen, die von uns an zwei ähnlichen, älteren Rückstandshalden der Zinnerz-Aufbereitung des osterzgebirgischen Raumes (Geisingberghalde, Tiefenbachhalde; Altenberg) durchgeführt wurden, ließen sich diese Phänomene nicht beobachten; sie sind offensichtlich ausschließlich an die spezifischen Verhältnisse des Biela-Tales geknüpft und werden in gegenwärtigen Forschungsaufgaben des UFZ weiter untersucht.

*) Das Isotop ^{56}Fe mit einer natürlichen Häufigkeit von 91,7 % ist durch die Masseinterferenz von $^{56}ArO^+$ stark gestört.

6.3.3. Speziationsanalytik für Arsen in Porenwässern des Feststoffes

Das Porenwasser repräsentiert das aktuelle Gleichgewicht zwischen der festen und gelösten Phase. Die in ihm enthaltenen Stoffe sind sehr leicht für Pflanzen zugänglich, weshalb eine nähere Untersuchung erfolgen sollte. Die aus dem Feststoff der Bohrungen abgepreßten Porenwässer zeigten ähnlich hohe As-Gehalte wie die austretenden Sickerwässer (Tab. 6-6). Die Konzentrationen bewegen sich zwischen 0,1 und 1,3 µg/mL, nur in der Grenzschicht Tailingmaterial zu Taluntergrund lagen Spitzenwerte sogar bei 18 µg/mL.

Element	Konzentration	Element	Konzentration	Ion	Konzentration
As	0,65 µg/mL	Ca	22,39 µg/mL	Cl^-	22,60 µg/mL
Fe	0,99 µg/mL	Mg	2,44 µg/mL	Br^-	0,14 µg/mL
Mn	2,68 µg/mL	Ba	0,42 µg/mL	NO_3^-	0,60 µg/mL
Al	0,8 µg/mL	K	34,19 µg/mL	SO_4^{2-}	13,03 µg/mL

Tab. 6-6: Zusammensetzung der Porenwässer am Beispiel der Bohrung C (Teufe 9 m)

Messungen zur Speziation mit IC – ICP-MS wurden in solchen Porenwässern durchgeführt, die durch Abpressen mit Stickstoff gewonnen wurden. Es wurde festgestellt, daß das Arsen in der Lösung zu 80 bis 90 %, als As(III) vorliegt (Tab. 6-7). Dies entspricht nach den Redoxbedingungen den Erwartungen und stimmt auch mit den Beobachtungen am Tailingauslauf überein, wo in den Wässern überwiegend As(III) gefunden wird (Kap. 6.3.2.). As(III) liegt bei dem herrschenden pH-Wert von 7 - 7,6 undissoziiert vor und wird an geladenen Eisenhydroxid-Oberflächen nicht adsorbiert, während vorhandenes As(V) als $HAsO_4^{2-}$ im Adsorptionsgleichgewicht mit der festen Phase steht.

Teufe [m]	2	5	8	11	14	17
AsGes [ng/mL]	482	143	268	230	425	940
As(III) [%]	91,9	93,3	80,4	80,5	84,4	90,9
As(V) [%]	8,1	5,8	19,6	3,6	22,5	9,3
pH	7,02	7,58	7,43	7,49	7,64	7,52
Eh [mV]	-217	-218	-182	-173	-180	-166

Tab. 6-7: Verteilung der Spezies As(III) und As(V) in Porenwässern unterschiedlicher Teufen (Bohrung B)

6.4. Zusammenfassende Diskussion

Methodische Arbeiten zur Bestimmung von Arsenspezies am Tailing Bielatal, einer Industriellen Absetzanlage der Zinnerzaufbereitung, umfaßten Untersuchungen zu Proben des am Fuße des Tailings austretenden Wassers, zu Probenstabilisierungsmaßnahmen und von Porenwässern von aus Tiefenbohrungen gewonnenem Feststoff. Anlaß für diese Messungen war die Feststellung, daß Arsen in diesem Gebiet unkontrolliert freigesetzt und verbreitet wird.

Hervorgehoben werden für die Speziationsuntersuchungen in wäßrigen Proben muß die Notwendigkeit einer sorgfältigen Probenstabilisierung, da festgestellt wurde, daß ansonsten unter Einfluß des Matrixelementes Eisen schnell Veränderungen in der Speziesverteilung eintreten können. Insbesondere eine Filtration der Wasserproben bei Probennahme erwies sich als unbedingt erforderlich, weil enthaltene Partikel Oxidationsreaktionen beschleunigten. Zur Konservierung der Speziesverteilung der anorganischen Arsenspezies As(III) und As(V) bis zu ihrer analytischen Bestimmung wurde die Eignung der Säuren HCl, H_2SO_4, HAc und H_3PO_4 untersucht. Mit Ansäuerung konnte die Fe(III)-Hydrolyse zurückgedrängt und Spezies-Veränderungen von As vermindert werden, jedoch waren Verluste bei der Spezies-Bestimmung gegenüber der Gesamtanalyse festzustellen. Weiterhin wurden die Komplexbildner Salicylsäure, Kojisäure, 2,2'-Dipyridin und NTA getestet im Hinblick auf die Komplexierung des Matrixelementes Eisen und die Stabilität der As-Spezies. Es wurde festgestellt, daß As(III) und As(V) in den Biela-Wasserproben effektiv durch Zusatz von Kojisäure und 2,2'-Dipyridin (3,5 mmol/L) zur Komplexierung des Eisens stabilisiert werden können. Damit wurde die Bildung von störenden Eisenarsenatspezies verhindert. Auf diesem Wege wurde eine gute Übereinstimmung der analytischen Ergebnisse der As-Gesamtbestimmung mit der Summe der Spezies von As erreicht.

Die am Tailingauslauf austretenden Wässer setzen sich aus ehemaligem Prozeßwasser der Erzaufbereitung und aus Niederschlagswässern, die über der Tailingfläche niedergehen oder von den seitlichen Berghängen eindringen, zusammen. Sie besitzen einen schwach sauren pH-Wert und zeigen schwach reduzierende Bedingungen. Je nach Strömungsrichtung und Vermischung mit unkontaminierten Wässern wurden Unterschiede im As-Austrag festgestellt. Die durchgeführte Speziationsanalytik für Arsen wies das Vorkommen der anorganischen Spezies As(III) und As(V) nach. Organoarsenverbindungen treten in den Wässern nicht auf (< 0,5 ng/mL). Zur quantitativen Bestimmung der Spezies wurde ein Verfahren der Kopplung von Ionenchromatographie mit ICP-MS-Detektion entwickelt und angewendet (Kap. 4.4.). An den Hauptaustrittsstellen *Mitte* und *Links* dominiert As(III) über As(V) deutlich mit 57 bis 94 % Anteil (absolut 0,19 - 1,18 µg/mL), nur in den Wintermonaten sind etwa gleiche Anteile zu beobachten. Im jahreszeitlichen Verlauf wird ein Anstieg der am Tailing (*Mitte*) emittierten As-Menge in den Monaten April - Juni beobachtet, dieser wird allein durch einen wachsenden Anteil von As(III) verursacht. In den folgenden Monaten Juli bis September halbiert sich die As(III)-Konzentration wieder, wobei die As(V)-Frachten etwa konstant sind.

In zunehmender Entfernung vom Fuß der Tailingstaumauer, d.h. auch zunehmender Expositionsdauer zur Luft, erfolgt eine Oxidation von As(III) zu As(V) mit Luftsauerstoff sowie Adsorption des As an ebenfalls gebildete Fe(III)hydroxide. Wie auch in den entnommenen (unstabilisierten) Wasserproben festzustellen war, wird die Oxidation durch Fe(III)hydroxid-Partikel katalysiert. Während durch Ausfällungen vorwiegend die As(V)-Konzentration herabgesetzt wird, bleiben hohe As(III)-Konzentrationen (0,5 - 1 µg/mL) über längere Wegstrekken im Bach erhalten. Das Bachsediment ist daher durch frisch gefälltes amorphes Eisenoxid gekennzeichnet, das einen hohen As-Gehalt aufweist (60 bis 82 mg/g).

Begünstigend für die As-Emission muß bei Betrachtung der Verhältnisse im Bielatal der hohe Wassergehalt des Deponiematerials noch aus der Zeit der Produktion berücksichtigt werden. In den aus Bohrkernen gewonnenen Porenwässern wurden 0,1 - 1,3 µg/mL As gefunden, das bis zu 90 % aus As(III) besteht. Solche von vornherein in der wässrigen Phase vorhandenen Anteile werden schlecht an Eisenoxid/hydroxid-Phasen adsorbiert und daher im Zuge des kontinuierlich absinkenden Wassergehaltes des Tailing-Feststoffes sehr leicht freigesetzt.
Zur Betrachtung der Mobilisierbarkeit in kürzeren Zeiträumen sind Prozesse im Bachsediment jedoch von größerer Bedeutung als im Tailing, da ersteres sehr leicht durch veränderte äußere Bedingungen beeinflußt werden kann. Große Teile des ausgetragenen Fe werden hier zu Eisenhydroxiden hydrolysiert und präzipitiert, an deren Oberfläche As(V) spezifisch adsorbiert wird. In Abhängigkeit der Menge der kontinuierlich aus dem Tailing ablaufenden Wassermengen mit niedrigen E_h-Werten wird das Milieu im Bach beeinflußt. Unter sinkenden Redoxbedingungen könnte fixiertes As(V) zu As(III) reduziert und in undissoziiertem Zustand desorbiert werden (moderat reduzierende Bedingungen 0 - 100 mV). Ein weiterer wichtiger Mobilisierungsweg für As kann der Transport über Partikel sein, an denen seine Adsorption erfolgte.

Aus den Untersuchungen ergibt sich, daß der hohe Arsen-Austrag aus der Absetzanlage überwiegend aus As(III) besteht und durch Sedimentation und Präzipitation im Bachbett mit ebenfalls enthaltenen Eisenverbindungen unter Luftzutritt die Ausdehnung des stark As-kontaminierten Gebietes zunächst vornehmlich auf die nächste Umgebung des Tailings begrenzt ist. Das bedeutet, daß hohe As-Konzentrationen im Bachsediment vorliegen, die jedoch auch leicht wieder remobilisiert werden können. Trotz dieser natürlich ablaufenden Prozesse der Fixierung verbleibt eine relativ hohe Konzentration As(III) im Gewässer und wird weitertransportiert. As(III) als toxische Form erweist sich damit als sehr mobil und kann über den Wasserpfad über das lokal begrenzte Umfeld hinaus weitere Verbreitung finden.

7. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Beiträge zur Element-Speziation von Arsen und Selen durch methodische und applikative Untersuchungen auf Basis der Trennverfahren Ionenchromatographie und Kapillarelektrophorese zu liefern. Insbesondere sollte dabei eine nachweisstarke und elementspezifische Detektion durch Kopplung mit Plasma-Atomemissionsspektrometrie und Plasma-Massenspektrometrie realisiert sowie Untersuchungen zur Arsenspeziation an der Industriellen Absetzanlage der Zinnerzaufbereitung im Bielatal durchgeführt werden.

Atomspektrometrie und Massenspektrometrie sind wegen ihrer Nachweisstärke und Selektivität zu bevorzugten Methoden für die Messung von Spurenelementen geworden. Die meisten Arten der Atomspektrometrie können jedoch nicht die chemische Form und den Oxidationszustand der beteiligten Elemente unterscheiden. Die toxikologische und biologische Rolle vieler Elemente hängt aber wesentlich von diesen chemischen Eigenschaften ab. Deshalb sind analytische Methoden zur Messung der *Spezies* der Elemente in biologischen und Umweltproben besonders bedeutsam. Insbesondere für die Elemente Arsen und Selen ist die Unterscheidung verschiedener Bindungsformen und Oxidationszustände von großem Interesse, da deren Verbindungen sowohl toxische als auch essentielle Wirkungen bei Organismen haben können und sich ihre Spezies in Bezug auf die Toxizität und Mobilität stark unterscheiden. Ein aussichtsreicher Weg dafür liegt in der Kopplung von chromatographischen und elektrophoretischen Trennverfahren mit elementspezifischen Detektionsmethoden.

Um Speziesinformationen über die Elemente Arsen und Selen gewinnen zu können, wurde zunächst die Ionenchromatographie (IC) als Trennmethode mit der Atomemissionsspektrometrie (ICP-AES) als Detektionstechnik gekoppelt. Zur effektiven Analytüberführung in das Argonplasma wurde die Hydridtechnik eingesetzt, bei der die getrennten Analyte mit Natriumborhydrid zu gasförmigen Hydriden derivatisiert werden. Für die Abtrennung der Arsine von der flüssigen Phase wurde zum Ersatz eines bisher verwendeten U-Rohr-Separators ein Membran-Gas/Flüssig-Separator entwickelt, mit dem eine effektivere Abtrennung der gasförmigen Bestandteile von der Flüssigkeit und eine verbesserte apparative Stabilität des Systems erreicht wurde.
Um die geringeren Empfindlichkeiten von As(V) sowie der Organoarsen-Verbindungen DMA und MMA in der Hydridtechnik gegenüber As(III) zu verbessern, wurde eine on-line Vorreduktion mit Cystein angewendet. Damit konnten die Empfindlichkeitsunterschiede zwischen den Spezies vermindert und Nachweisgrenzen von 8 - 14 ng/mL (As) erreicht werden. Durch den Einsatz von Cystein wurde eine gleichmäßigere Reaktion erreicht und die für die Hydridbildung notwendige Säurekonzentration auf 0,08 mol/L verringert, wodurch auch die Belastung des Argon-Plasmas mit Wasserstoff vermindert wurde. Die Stabilität des Systems konnte durch den Membranseparator und den Cysteineinsatz gegenüber dem konventionellen System erhöht werden, jedoch konnten gelegentliche Störungen durch Pulsationen und

Plasmafluktuationen, die die Reproduzierbarkeit beeinträchtigten, nicht ausgeschlossen werden. Wie gezeigt wurde, gestattete das aufgebaute Kopplungssystem die empfindliche Bestimmung von As(III), As(V), DMA, MMA und Se(IV). AsBet, AsChol und Se(VI) sind unter diesen Bedingungen der Hydridbildung nicht zugänglich. Bei Anwendungen in der Umweltanalytik müssen As-Spezies jedoch meist in sehr niedrigen Konzentrationen bestimmt werden, für die die ermittelten Nachweisgrenzen der Methode nicht ausreichen.

Anschließend wurde deshalb die Ionenchromatographie mit Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS) gekoppelt, da diese gegenüber ICP-AES deutlich bessere Empfindlichkeiten erwarten läßt. Die Kopplung wurde direkt zwischen dem Trennsystem IC und dem Detektionssystem ICP-MS aufgebaut, ohne eine zusätzliche Derivatisierung zu Hydriden vorzunehmen. Die Analytüberführung in das Plasma wurde durch Aerosolerzeugung mit einem Cross-Flow-Zerstäuber vorgenommen. Dies bot auch den Vorteil, von vornherein die Diskriminierung einzelner Spezies zu vermeiden.
Unter Verwendung dieses Kopplungssystems wurde eine Optimierung von Detektionsparametern und der ionenchromatographischen Trennung von As-Spezies vorgenommen. Dazu wurden zwei Trennsäulen auf Basis von Latexionenaustauschern (IonPac AS7 und AS4A-SC) ausgewählt sowie verschiedene Eluentsysteme getestet. Für die Säule AS7 wurden Eluenten aus Salpetersäure/Natriumnitrat sowie aus Hydrogencarbonat/Carbonat bzw. Carbonat/Natronlauge optimiert. Unter sauren Bedingungen ($HNO_3/NaNO_3$) wurden die Spezies As(III), DMA, PhAs, oAPAs, pAPAs und As(V) innerhalb von 10 min isokratisch getrennt. Für AsBet und AsChol war die beobachtete Retention wesentlich höher. Mit beiden alkalischen Eluenten auf Basis von Carbonat wurde an der gleichen Säule eine davon abweichende Selektivität erreicht. AsBet und AsChol zeigen hier eine geringere Retention und werden schnell eluiert. Vorteilhaft für die Identifizierung von As(III) ist, daß es deutlich vom Totvolumen und den Signalen von AsBet und AsChol getrennt ist. Unter Beibehaltung einer isokratischen Trennung konnte die Analysenzeit durch weitere Erhöhung des pH-Wertes deutlich vermindert werden. Die Nachweisgrenzen lagen bei den Methoden mit alkalischen Eluenten zwischen 0,1 und 0,3 ng/mL, bei jener im sauren Medium im Bereich von 0,4 - 0,6 ng/mL.

Die Trennsäule AS4A-SC weist eine geringere Austauschkapazität als AS7 auf und ermöglicht schnelle Trennungen von Ionen. An diesem Ionenaustauschermaterial wurde eine Methode für die Bestimmung der Redoxspezies As(III) und As(V) optimiert (mobile Phase 5 mmol/L NatriumCarbonat, 40 mmol/L Natronlauge, 4 % Methanol). Der Zusatz von Methanol erfolgte, um ein aufgetretenes Tailing des As(III)-Peaks zu verhindern. Gleichzeitig wurde dadurch die Empfindlichkeit erhöht. Die Nachweisgrenzen wurden für beide Spezies, As(III) und As(V), zu je 0,1 ng/mL ermittelt. Diese Methode wurde entwickelt im Hinblick auf Speziationsuntersuchungen, die an der Absetzanlage Bielatal durchzuführen waren.
Untersuchungen zu Auswirkungen der Eluentmatrix auf das Plasma zeigten, daß hohe Natrium-Konzentrationen des Eluenten das Plasma nicht negativ beeinflussen.

Mit den oben beschriebenen Verfahren stehen somit unterschiedliche Varianten für die ionenchromatographische Speziation von Arsenverbindungen mit elementspezifischer Detektion zur Verfügung, die entsprechend der jeweiligen Aufgabenstellung, der vorliegenden Matrix und des pH-Bereiches als zweckmäßig ausgewählt werden können.

Die Kapillarzonenelektrophorese (CZE) ist ein Trennverfahren, das in der Bioanalytik verbreitet ist und zunehmend an Bedeutung für die Bestimmung von anorganischen Ionen gewinnt. Sie zeichnet sich durch gute Trenneffizienzen und kurze Analysenzeiten aus. Nachteilig ist, daß mit den üblicherweise bei CZE eingesetzten UV-Detektoren keine hohen Nachweisstärken erreicht werden können und daß bisher keine elementspezifischen Detektionsmöglichkeiten zur Verfügung stehen. Das Trennprinzip der CZE, die Wanderung von Ionen im elektrischen Feld, unterscheidet sich von dem der IC mit Ionenaustauschwechselwirkungen grundlegend. Deshalb können durch Einsatz der Kapillarelektrophorese andere Selektivitäten erreicht werden. Die Untersuchungen zur Speziation von Arsenverbindungen mit CZE und UV-Detektion zeigten, daß die photometrisch erreichbaren Nachweisgrenzen für Untersuchungen im Spurenbereich nicht ausreichend sind, zumal die anorganischen Spezies As(III), As(V), Se(IV) und Se(VI) nur eine sehr geringe UV-Absorption aufweisen.

Deshalb wurde das in der IC verbreitete Prinzip der Leitfähigkeitsdetektion angewendet und in dieser Arbeit erfolgreich für die CZE-Bestimmung von Arsen- und Selen-Spezies eingesetzt. Damit konnte der Anwendungsbereich kapillarelektrophoretischer Methoden zur Arsen- und Selen-Speziation durch eine gesteigerte Detektionsempfindlichkeit erweitert werden, jedoch liegt noch keine Elementspezifität vor.
Es wurde eine Trennmethode auf der Basis eines Elektrolytsystems aus Cyclohexylaminoethansulfonsäure/LiOH/Triton X-100 bei pH 9,4 unter statischer Modifizierung der Kapillaroberfläche (Hexadecyltrimethylammoniumbromid) erarbeitet. Auf diese Weise wurden die Spezies As(V), DMA, MMA, PhAs, pAPAs, Se(IV), Se(VI) innerhalb von 21 min getrennt. Die Nachweisgrenzen dieser Methode lagen bei 3 - 7 ng/mL (As(V), Se(IV), Se(VI), MMA, PhAs) bzw. 10 - 27 ng/mL (As(III), DMA, pAPAs). Damit konnte eine deutliche Empfindlichkeitsverbesserung gegenüber Methoden mit photometrischer Detektion erreicht werden.

Mit diesen Nachweisgrenzen ist die CZE mit Leitfähigkeitsdetektion sehr gut für Speziationsuntersuchungen ionischer Verbindungen, die im Spurenbereich vorliegen, geeignet, wie auch an Applikationen der Untersuchung von Wasserproben gezeigt wurde. Die verbesserte Empfindlichkeit gestattet somit nun den Einsatz der CZE für die Speziationsanalytik in Umweltproben. Eine Einschränkung besteht allerdings in der unspezifischen Detektionsweise der Leitfähigkeitsmessung. Bei der Analyse von Proben komplexer Matrix, wie z.B. an Pflanzenextrakten beobachtet, kann es zu Signalüberlagerungen kommen und die Bestimmung von Element-Spezies in geringen Konzentrationen beeinträchtigen.

Um weitere methodische Verbesserungen der Detektion bei hoher Empfindlichkeit zu erreichen und eine elementspezifische Detektion für die CZE zu ermöglichen, wurden Experimente zur Kopplung von Kapillarelektrophorese mit einem ICP-Massenspektrometer als Detektor durchgeführt.
Die Problematik einer solchen Kopplung besteht darin, daß bei normalem Aufbau eines CZE-Trennsystems die Kapillare beidseitig in Elektrolytgefäße eintaucht, in denen sich die Elektroden für den Aufbau des Hochspannungsfeldes befinden. Für eine Kopplung ist es aber notwendig, die Austrittsseite der Kapillare frei zu haben, um die Verknüpfung mit dem ICP-MS zu realisieren. Folglich mußte eine spezielle Art für die Kontaktierung gefunden werden.

Zur Lösung dieses Problems wurde als erste Variante in die Trennkapillare der CZE eine Nafion-Membranbrücke eingefügt, durch die eine leitfähige Verbindung zwischen Innen- und Außenraum hergestellt wurde. Dieses so präparierte Segment der Kapillare wurde in einem Gefäß mit Elektrolytlösung plaziert, in welchem sich auch die Elektrode befindet, so daß zwischen Kapillaranfang und der Nafion-Membranbrücke ein elektrisches Feld aufgebaut werden kann, in dem die Migration der Ionen abläuft. Die getrennten Analytionen werden dann durch den elektroosmotischen Fluß über den feldfreien Bereich der Kapillare bis zu deren freiem Ende weitertransportiert.

Eine weitere Aufgabe bestand in der Überführung der Analyte in das Plasma des ICP-MS, da aus der CZE-Trennkapillare während einer Analyse nur ein sehr geringes Flüssigkeitsvolumen (bis ca. 0,5 µL/min) austritt. Die bei ICP-MS standardmäßig eingesetzte pneumatische Zerstäubung benötigt ca. 1 mL/min und war deshalb nicht kompatibel. Daher wurde eine Konstruktion aufgebaut, die das Kapillareffluat in einen zusätzlichen Flüssigkeitsstrom (Carrier) einspeist und so die Zerstäubung mit einem Cross-flow-Zerstäuber ermöglicht. Auf diesem Wege konnten elementspezifische Signale für die CZE-Trennung von As-Spezies erhalten werden. Jedoch waren die beobachteten Empfindlichkeiten noch nicht ausreichend, was auf die hohe Verdünnung des Kapillareffluates durch den Carrier (1 µL auf 1 mL) und die bekannt geringe Zerstäubungseffektivität des Cross-flow Zerstäubers zurückzuführen war. Um Verbesserungen zu erreichen, wurde ein konzentrischer Mikrozerstäuber in das Kopplungssystem eingesetzt. Dieser arbeitet bereits bei sehr viel geringeren Flüssigkeitsströmungen (ab 10 µL/min aufwärts). Als optimale Größe für den Carrier-Strom bei diesem Aufbau wurden im Hinblick auf die Zerstäubungseffektivität und die am Detektor beobachtete Signalintensität 30 µL/min ermittelt. Somit konnte die Verdünnung um Faktor 30 verringert und mit einem geringeren Carrierstrom gearbeitet werden.

Eine Weiterentwicklung und Vereinfachung des Systems wurde mit einer zweiten Variante erreicht, indem die Kontaktierung für das elektrische Feld nicht über die Nafion-Membranbrücke vorgenommen, sondern die Gegenelektrode in Form einer Platinkapillare direkt im Carrier positioniert wurde. Die Funktionsfähigkeit beider Kontaktierungsvarianten wurde durch die Aufzeichnung von Elektropherogrammen sowie Untersuchungen zum elektrischen Feld bestätigt. Während die reproduzierbare Anfertigung der Nafion-Membranbrücke

aufwendig ist, kann die Platin-Kapillarelektrode leicht in die chromatographischen Bauelemente des Carrierflusses eingesetzt werden. Damit wird erreicht, daß über die gesamte Länge der Kapillare ein elektrisches Feld aufgebaut und somit die gesamte Kapillare für die Trennung verfügbar wird. Gleichzeitig wird die Strecke, in der die Ionen durch laminare Strömung transportiert werden, verkleinert sowie die Konstruktion wesentlich vereinfacht.

Weitere Untersuchungen befaßten sich mit einem unerwünschten Druckgradienten im Fließsystem, der bei niedrigem Carrierfluß durch den Zerstäubungsprozeß hervorgerufenen wird. Um den Injektionsvorgang der CZE als Voraussetzung für eine reproduzierbare Quantifizierung von einer solchen Druckbeeinflussung freizuhalten, wurde in das Fließsystem ein Schaltventil eingebaut, das während des Injektionsvorganges eine Abkopplung von CZE-System und ICP-MS ermöglicht. Zur Vermeidung einer unerwünschten laminaren Strömung in der Kapillare während der Trennung wurde weiterhin auf der Injektionsseite der Kapillare ein leichter Unterdruck angelegt.

Mit diesem apparativen Aufbau der Kopplung, Einspeisung des Kapillareffluates in einen Carrierfluß von 30 µL/min, Kontaktierung über eine Platinelektrode im Carrier, einem zusätzlichen Schaltventil und der Analytüberführung in das Argonplasma mittels Aerosolbildung mit einem Mikrozerstäuber, wurden die Parameter der ICP-MS-Detektion sowie die Zusammensetzung des Trennelektrolyten optimiert. Mit dem in Kap. 5.5.8. angeführten Borsäure/ Tetraborat-Elektrolyten wurden die As-Spezies As(III), As(V), AsChol, AsBet, DMA, MMA, PhAs sowie die Se-Spezies Se(IV), Se(VI), BzSe innerhalb von 14 min getrennt bei sehr guten Empfindlichkeiten. Die ermittelten Nachweisgrenzen bewegten sich im Bereich von 8 -11 ng/mL für As und 30 - 50 ng/mL für Se. Damit konnte eine Methode erarbeitet werden, die bekannte CZE-Systeme mit UV-Detektion in Bezug auf die Nachweisstärke weit übertrifft und vor allem den Vorteil einer elementspezifischen Detektion besitzt. Im Vergleich zur Leitfähigkeitsdetektion werden zwar ähnliche Nachweisgrenzen realisiert, jedoch kann durch die Elementspezifität der ICP-MS-Detektion eine größere Vielseitigkeit und Matrixtoleranz erreicht werden. Auf Grund der Nachweisgrenzen im unteren ng/mL-Bereich ist die Kopplungsmethode CZE – ICP-MS gut für Speziationsuntersuchungen in Umweltkompartimenten geeignet und kann auch als Routineverfahren betrieben werden. Die vorgestellte Methodik wurde an Applikationsbeispielen zur As-Speziation in Wasserproben einer Absetzanlage der Zinnerzaufbereitung und Pflanzenextrakten erfolgreich getestet.

Ein weiterer Schwerpunkt der Arbeit lag auf Untersuchungen zur Arsen-Speziation im Bereich der Industriellen Absetzanlage der Zinnerzaufbereitung im Bielatal, die in eine geochemische und hydrogeologische Systemanalyse dieser osterzgebirgischen Deponie im Rahmen eines Projektes des Sächsischen Staatsministeriums für Wissenschaft und Kunst [4] eingeflossen sind.

Die nach der Erzgewinnung dort abgelagerten Reststoffe zeichnen sich durch einen hohen Gehalt an Arsen aus. Daher wurden Sickerwässer der Halde, Porenwässer des Feststoffes

sowie Sedimente des Ablaufs auf Arsen-Spezies untersucht. Dabei wurde festgestellt, daß für die wäßrigen Proben Maßnahmen zur Probenstabilisierung sehr wichtig sind, weil hohe Gehalte an Eisenverbindungen die As-Speziesverteilung unter Mitwirkung von Luftsauerstoff sehr schnell verändern können. Ausfällungen von amorphen Eisenoxyhydraten verminderten auch die Wiederfindung von As(III) und As(V).

Zur Stabilisierung der wäßrigen Proben wurde der Einfluß von Filtration, Säurezusatz und von Komplexbildnern getestet und ein Verfahren entwickelt, daß insbesondere auf den hohen Fe-Gehalt der Proben abgestimmt ist und Wechselwirkungen von Fe mit As verhindern soll. Dazu wurde direkt zum Zeitpunkt der Probennahme zur Abtrennung von Partikeln eine Filtration (0,45 µm) vorgenommen und durch Zusatz von Komplexbildnern (Kojisäure bzw. 2,2'-Dipyridin) die enthaltenen Eisenionen maskiert, ohne die Redoxbedingungen des Systems wesentlich zu beeinflussen. Es konnte gezeigt werden, daß auf diesem Weg eine effektive Probenstabilisierung für As(III) und As(V) erreicht und Verluste der Analyte bis zur Messung im Labor verhindert werden.

Zur quantitativen Bestimmung der Spezies wurden die entwickelten Verfahren der Kopplung von Ionenchromatographie mit ICP-MS-Detektion angewendet. In den austretenden Sickerwässern des Tailings wurden die As-Spezies As(III) und As(V) quantifiziert. As(III) dominiert über As(V) deutlich mit 57 bis 94 % Anteil (absolut 0,19 - 1,18 µg/mL) an den verschiedenen Austrittsstellen. In einem Monitoring über einen zwölfmonatigen Zeitraum zeigte sich, daß jahreszeitliche Schwankungen im As-Austrag allein durch veränderte Anteile von As(III) bei nahezu konstantem As(V)-Gehalt hervorgerufen werden.
Das Bachsediment ist durch frisch gefälltes amorphes Eisenoxid gekennzeichnet, das einen hohen As-Gehalt aufweist (60 bis 82 mg/g). Während durch Ausfällungen vorwiegend die As(V)-Konzentration herabgesetzt wird, bleiben hohe As(III)-Konzentrationen (0,5 - 1 µg/mL) über längere Wegstrecken im Bach erhalten.

Für die Abschätzung von Gefährdungen können daher insbesondere Remobilisierungsvorgänge im Bachsediment bedeutsam sein, da die dort akkumulierten As-Frachten durch Veränderung von physiko-chemischen Randbedingungen im Wasserlauf leicht und in hohen Konzentrationen freigesetzt werden können, während die As-Emission der Deponie über das Sickerwasser im beobachteten Untersuchungszeitraum relativ konstant blieb.

8. Literatur

[1] G. Kreysa, J. Wiesner (Hrsg.): Beurteilung von Schwermetallen in Böden von Ballungsgebieten. DECHEMA, Frankfurt am Main (1994)

[2] E. Merian (Hrsg.): Metals and their Compounds in the Environment - Occurrence, Analysis and Biological Relevance. VCH-Verl., Weinheim (1995)

[3] S. Tamaki, W. T. Frankenberger Jr.: Rev. Environ. Contam. Toxikology 124 (1992) 79

[4] U. Fankhänel, B. Merkel, R. Wennrich, J. Mattusch, D. Schlegel, W. Reißer: Niederbringung und Auswertung von Kernbohrungen zur Verbesserung der modellhaften Beschreibung der Arsenmigration aus einem Tailing des Zinnerzbergbaus Altenberg. Sächsisches Staatsministerium für Wissenschaft und Kunst, Bericht AZ SMWK 4-7541.83-0390/554

[5] R. Cornelis, J. De Kimpe: J. Anal. At. Spectrom. 9 (1994) 945

[6] L. Dunemann, J. Begerow: Kopplungstechniken zur Elementspeziesanalytik. VCH-Verl., Weinheim (1995)

[7] U. Förstner: Intern. J. Environ. Anal. Chem. 51 (1993) 5

[8] H. Remy: Lehrbuch der anorganischen Chemie (Bd. 1). Akad. Verl.-Ges. Geest & Portig, Leipzig (1955)

[9] K. C. Schmieder: Geschichte der Alchemie. Verlag der Buchhandlung des Waisenhauses, Halle (1832). Reprint (Hrsg. F. Strunz), Barth-Verl., München (1927)

[10] J. Marsh: Lieb. Ann. 23 (1837) 207

[11] P. Ehrlich, A. Bertheim: Chem. Ber. 45 (1912) 756

[12] P. Claus: Arsen zur Schädlingsbekämpfung im Weinbau 1904 - 1942. Schriften zur Weingeschichte, Nr. 58, Wiesbaden (1981)

[13] T. Tanaka: Appl. Organomet. Chem. 2 (1988) 283

[14] D. K. Bhumbla, R. F. Keefer in: Arsenic in the Environment, Part 1 - Cycling and Characterization. (Hrsg. J. O. Nriagu), John Wiley Sons, New York (1994)

[15] S. Ishiguro: Appl. Organomet. Chem. 6 (1992) 323

[16] H.-D. Jakubke, H. Jeschkeit (Hrsg.): Brockhaus ABC Chemie. F.-A.-Brockhaus-Verl., Leipzig (1987)

[17] H. Münz, W. Lorenzen: Fresenius Z. Anal. Chem. 319 (1984) 395

[18] W. R. Cullen, K. J. Reimer: Chem. Rev. 89 (1989) 713

[19] W. R. Cullen, M. Dodd: Appl. Organomet. Chem. 3 (1989) 79

[20] H.-D. Jakubke, H. Jeschkeit (Hrsg.): Schwermetall in: Brockhaus ABC Chemie, F.-A.-Brockhaus-Verl., Leipzig (1987) 1036

[21] W. Driehaus: Fortschrittsberichte VDI, Reihe 15 - Umwelttechnik, Nr. 133. VDI-Verl., Düsseldorf (1994)

[22] D. A. Bright, M. Dodd, K. J. Reimer: Sci. Total Environ. 180 (1996) 165

[23] R. Wennrich, J. Mattusch, H.-J. Stärk, D. Schlegel, P. Morgenstern, U. Fankhänel: Vom Wasser 88 (1997) 1

[24] P. H. Masscheleyn, R. D. Delaune, W. H. Patrick Jr.: Environ. Sci. Technol. 25 (1991) 1414

[25] W. R. Cullen, B. C. McBride, H. Manji, A. W. Pickett, J. Reglinski: Appl. Organomet. Chem. 3 (1989) 71

[26] J. S. Edmonds, K. A. Francesconi, J. R. Cannon, C. L. Raston, B. W. Skelton, A. H. White: Tetrahedron Letters 18 (1977) 1543

[27] N. Wiberg: Hollemann-Wiberg Lehrbuch der Anorganischen Chemie. W.-de Gruyter, Berlin (1985)

[28] B. Amran, F. Lagarde, M. J. F. Leroy, A. Lamotte, C. Demesmay, M. Ollé, M. Albert, G. Rauret, J. F. López-Sánchez in: Quality Assurance for Environmental Analysis. (Hrsg. Quevauviller, Maier, Griepink), Elsevier Sci., Amsterdam (1995) 285

[29] H. Yamauchi, B. A. Fowler in: Arsenic in the Environment, Part 2 - Human Health and Ecosystem Effects. (Hrsg. J. O. Nriagu), Series Advances in Environmental Science and Technology (Vol. 27), John Wiley Sons, New York (1994)

[30] T. Kaise, S. Watanabe, K. Itoh: Chemosphere 14 (1985) 1327

[31] A. Léonard: Arsenic in: Metals and their Compounds in the Environment - Occurrence, Analysis and Biological Relevance. (Hrsg. E. Merian), VCH-Verl., Weinheim (1995) 753

[32] Trinkwasserverordnung: Verordnung über Trinkwasser und über Wasser für Lebensmittelbetriebe. Bundesgesetzblatt Teil I (1990) 2612

[33] T.-C. Pan, K.-C. Huang, T.-H. Lin, C.-W. Huang: Jpn. J. Toxicol. Environ. Health 39 (1993) 148

[34] A. Chatterjee, D. Das, G. Samanta, B. K. Mandal, D. Chakraborti: Analyst 120 (1995) 643 und 917

[35] M. Morita, J. S. Edmond: Pure Appl. Chem. 64 (1992) 575

[36] M. Anke, M. Grün, M. Partschefeld, B. Groppel, A. Henning in: Trace Element Metabolism in Man and Animals. (Hrsg. M. Kirchgessner), Techn. Univ. München, Freising-Weihenstephan (1978) 248.

[37] D. Ahmann, A. L. Roberts, L. R. Krumholz, F. M. M. Morel: Nature 371 (1994) 750

[38] B. Streit (Hrsg.): Selen in: Lexikon Ökotoxikologie. VCH-Verl., Weinheim (1992) 579

[39] D. Behne, C. Weiss-Nowak, M. Kalcklösch, C. Westphal, H. Gessner, A. Kyriakopoulos: Analyst 120 (1995) 823

[40] Selen in: Römpp Chemie-Lexikon. Franckh'sche Verl.hdlg., Stuttgart (1987) 3794

[41] Rote Liste 1995 - Arzneimittelverzeichnis BPI u. VFA. (Hrsg. BV d. Pharmazeutischen Industrie), ECV-Verl., Aulendorf/Württ. (1995)

[42] K. J. Maier, A. W. Knight: Rev. Environ. Contam. Toxicology 134 (1994) 31

[43] R. Muñoz Olivas, O. F. X. Donard, C. Cámara, P. Quevauviller: Anal. Chim. Acta 286 (1994) 357

[44] J. Weiß: Ionenchromatographie. VCH-Verl., Weinheim (1991)

[45] H. Small: Ion Chromatography. Plenum Press, New York (1989)

[46] J. C. Van Loon, R. R. Barefoot: Analyst 117 (1992) 563

[47] IUPAC-Empfehlung "Nomenclature for Chromatography": Pure & Appl. Chem. 65 (1993) 819

[48] W. Nernst: Z. Phys. Chem. 4 (1890) 129

[49] F. Kohlrausch: Ann. Phys. Chem. N.F. 62 (1897) 209

[50] H. Engelhardt, W. Beck, J. Kohr, T. Schmitt: Angew. Chem. 105 (1993) 659

[51] P. D. Grossman, J. C. Colburn, H. H. Lauer, R. G. Nielsen, R. M. Riggin, G. S. Sittampalam, E. C. Rickard: Anal. Chem. 61 (1989) 1186

[52] R. M. McCormick: Anal. Chem. 60 (1988) 2322

[53] B. Nickerson, J. W. Jorgenson: J. Chromatogr. 480 (1989) 157

[54] J. Mattusch, G. Huhn, R. Wennrich: Fresenius J. Anal. Chem. 351 (1995) 732

[55] J. Frenz, S.-L. Wu, W. S. Haucock: J. Chromatogr. 480 (1989) 379

[56] P. D. Grossman, D. S. Soane: Anal. Chem. 62 (1990) 1592

[57] A. H. Harakuwe, P. R. Haddad, W. Buchberger: J. Chromatogr. 685 (1994) 161

[58] C. Vogt, G. Werner: J. Chromatogr. 686 (1994) 325

[59] C. Vogt, K. Heinig, B. Langer, J. Mattusch, G. Werner: Fresenius J. Anal. Chem. 352 (1995) 508

[60] W. Lu, R. M. Cassidy, A. S. Baranski: J. Chromatogr. 640 (1993) 433

[61] S. Conradi, C. Vogt, H. Wittrisch, G. Knobloch, G. Werner: J. Chromatogr. 745 (1996) 103
[62] K. Heinig, C. Vogt, G. Werner: J. Chromatogr. 781 (1997) 17
[63] Q. Lu, S. M. Bird, R. M. Barnes: Anal. Chem. 67 (1995) 2949
[64] C. Stathakis, R. M. Cassidy: J. Chromatogr. 699 (1995) 353
[65] E. S. Yeung, W. G. Kuhr: Anal. Chem. 63 (1991) 275A
[66] M. P. Harrold, M. J. Wojtusik, J. Riviello, P. Henson: J. Chromatogr. 640 (1993) 463
[67] M. Estebahn, C. Ariño, I. Ruisánchez, M. S. Larrechi, F. X. Rius: Anal. Chim. Acta 285, (1994) 193
[68] F. Foret, M. Deml, V. Kahle, P. Bocek: Electrophoresis 7 (1986) 430
[69] X. Huang, R. N. Zare, S. Slos, A. G. Ewing: Anal. Chem. 63, 189 (1991)
[70] M. Ackermans, F. M. Everaerts, J. L. Beckers: J. Chromatogr. 549 (1991) 335
[71] J. A. Olivares, N. T. Nguyen, C. R. Yonker, R. D. Smith: Anal. Chem. 59 (1987) 1230
[72] L. Hernandez, J. Escalona, N. Joshi, N. Guzman: J. Chromatogr. 559 (1991) 183
[73] R. Smith, H. Udseth, C. Barinaga, C. Edmonds: J. Chromatogr. 559 (1991) 197
[74] K. Dittrich: Wissenschaftl. Taschenbuch, Bd. 276. Akademie-Verl., Berlin (1982)
[75] A. Montaser, D. W. Golightly (Hrsg.): Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry. VCH-Publ., New York (1992)
[76] DIN 38406, Teil 22: Bestimmung von 33 Elementen mit ICP-AES (1988)
[77] H.-J. Hoffmann: Laborpraxis 4 (1991) 248
[78] P. Linares, M. D. Luque de Castro, M. Valcarcel: Anal. Chem. 58 (1986) 120
[79] K. S. Subramanian: Anal. Chem. 60 (1988) 11
[80] T. Tande, J. E. Patterson, T. Torgrimson: Chromatographia 13 (1983) 607
[81] H. Münz, W. Lorenzen: Fresenius J. Anal. Chem. 319 (1984) 395
[82] S. Arpadjan, V. Krivan: Anal. Chem. 58 (1986) 2611
[83] G. E. Battey, P. J. Matousek: Anal. Chem. 52 (1980) 1570
[84] P. Sharma: Anal. Sci. 11 (1995) 261
[85] C. M. G. van den Berg, S. H. Khan: Anal. Chim. Acta 231 (1990) 221
[86] K. E. Laintz, J. J. Yu, C. M. Wai: Anal. Chem. 64 (1992) 311
[87] E. Mentasti, A. Nicolotti, V. Porta, C. Sarzanini: Analyst 114 (1989) 1113
[88] Z. Slejkovec, A. R. Byrne, M. Dermelj: J. Radioanal. Nucl. Chem. 173 (1993) 357
[89] K. Johansson, A. Olin: J. Chromatogr. 589 (1992) 105
[90] J. J. Yu, C. M. Wai: Anal. Chem. 63 (1991) 842
[91] L. Ebdon, S. Hill, A. P. Walton, R. W. Ward: Analyst 113 (1988) 1159
[92] X.-C. Le, W. R. Cullen, K. J. Reimer: Anal. Chim. Acta 285 (1994) 277
[93] N. D. Niss, J. F. Schabron, T. H. Brown: Environ. Sci. Technol. 27 (1993) 827
[94] S. C. K. Shum, R. S. Houk: Anal. Chem. 65 (1993) 2972
[95] P. Morin, M. B. Amran, M. D. Lakkis, M. J. F. Leroy: Chromatographia 33 (1992) 581
[96] N. P. Vela, L. K. Olson, J. A. Caruso: Anal. Chem. 65 (1993) 585 A
[97] V. Cheam, H. Agemian: Analyst 105 (1980) 1253
[98] R. K. Anderson, M. Thompson, E. Culbard: Analyst 111 (1986) 1153
[99] Y.-L. Feng, J.-P. Cao: Anal. Chim. Acta 239 (1994) 211
[100] D. R. Jones, H. C. Tung, S. E. Manahan: Anal. Chem. 48 (1976) 7
[101] S. H. Hansen, E. H. Larsen, G. Pritzl, C. Cornett: J. Anal. At. Spectrom. 7 (1992) 629

[102] G. R. Ricci, L. S. Sheppard, G. Colovos, N. E. Nester: Anal. Chem. 53 (1981) 611

[103] L. Ebdon, S. Hill, R. W. Ward: Analyst 112 (1987) 1

[104] P. C. Uden, I. E. Bigley, F. H. Walters: J. Chromatogr. 100 (1978) 555

[105] T. Nakahara: Spectrochim. Acta Rev. 14 (1991) 95

[106] Y. M. Liu, M. L. F. Sánchez, E. B. González, A. Sanz-Medel: J. Anal. At. Spectrom. 8 (1993) 815

[107] J. W. Olesik: Anal. Chem. News & Features (1996) 469A

[108] B. J. Wildman, P. E. Jackson, W. R. Jones, P. G. Alden: J. Chromatogr. 546 (1991) 459

[109] L. Lin, J. Wang, J. Caruso: J. Chromatogr. Sci. 33 (1995) 177

[110] C. L. Ng, H. K. Lee, S. F. Y. Li: J. Chromatogr. 652 (1993) 547

[111] M. Albert, C. Demesmay, J. L. Rocca: Fresenius J. Anal. Chem. 351 (1995) 426

[112] P. Morin, M. B. Amran, S. Favier, R. Heimburger, M. Leroy: Fresenius J. Anal. Chem. 342 (1992) 357

[113] J. F. López-Sánchez, M. B. Amran, M. D. Lakkis, F. Lagarde, G. Rauret, M. J. F. Leroy: Fresenius J. Anal. Chem. 348 (1994) 810

[114] G. Schwedt, M. Rieckhoff: J. prakt. Chem. 338 (1996) 55

[115] K. Van den Broeck, C. Vandecasteele: Microchim. Acta 128 (1998) 79

[116] G. Schwedt, M. Rieckhoff: J. Chromatogr. 736 (1996) 341

[117] E. H. Larsen, G. Pritzl, S. H. Hansen: J. Anal. At. Spectrom. 8 (1993) 1075

[118] B. S. Chana, N. J. Smith: Anal. Chim. Acta 197 (1987) 177

[119] J. Vogt, T. Butz, C. Vogt, H. Wittrisch, G. Werner: Nucl. Instr. & Meth. in Phys. Res. 109 (1996) 266

[120] J. W. Olesik, J. A. Kinzer, S. V. Olesik: Anal. Chem. 67 (1995) 1

[121] M. J. Tomlinson, L. Lin, J. A. Caruso: Analyst 120 (1995) 583

[122] Y. Liu, V. Lopez-Avila, J. J. Zhu, D. R. Wiederin, W. F. Beckert: Anal. Chem. 67 (1995) 2020

[123] Q. Lu, S. M. Bird, R. M. Barnes: Anal. Chem. 67 (1995) 2949

[124] B. Michalke, P. Schramel: J. Chromatogr. 750 (1996) 51

[125] Y. Liu, V. Lopez-Avila: J. High Resolut. Chromatogr. 16 (1993) 717

[126] G. Schwedt: Taschenatlas der Analytik. Thieme-Verl., Stuttgart (1992)

[127] K. Li, S. F. Y. Li: Analyst 120 (1995) 361

[128] J. A. C. Broekaert: ICP-Massenspektrometrie, in: Analytiker-Taschenbuch (Hrsg. R. Borsdorf et al.), Bd. 9, Akademie-Verl., Berlin (1990) 127

[129] G. L. Morre in: Introduction to Inductively coupled Plasma Emission Spectrometry, Elsevier, Amsterdam (1989) 313

[130] J. Sneddon (Hrsg.): Sample Introduction in Atomic Spectroscopy. Elsevier, Amsterdam (1990)

[131] K. Dittrich, R. Wennrich in: Sample Introduction in Atomic Spectroscopy. (Hrsg. J. Sneddon), Elsevier, Amsterdam (1990) 107

[132] K. Slickers: Die automatische Atom-Emissions-Spektralanalyse. Buchvertrieb K. A. Slickers, Gießen (1992)

[133] D. A. Skoog, J. J. Leary: Instrumentelle Analytik. Springer-Verl., Berlin (1996)

[134] E.-G. Jäger, K. Schöne: Elektrolytgleichgewichte und Elektrochemie (AB 5). Deutscher Verl. f. Grundstoffind., Leipzig (1989)

[135] D. Schlegel: Untersuchungen zur Speziationsanalytik von arsen- und selenhaltigen Verbindungen durch on-line Kopplung eines flüssigchromatographischen Systems mit einem Atomemissionsspektrometer. Diplomarbeit, Universität Leipzig, Leipzig (1993)

[136] D. Schlegel, J. Mattusch, K. Dittrich: J. Chromatogr. 683 (1994) 261

[137] E. A. Ozaki, E. de Oliveira: J. Anal. At. Spectrom. 8 (1993) 367

[138] A. Brockmann, C. Nonn, A. Golloch: J. Anal. At. Spectrom. 8 (1993) 397

[139] H. Kreppel, F. X. Reichl, W. Forth in: 4. Colloquium Atomspektrometrische Spurenanalytik. (Hrsg. B. Welz), (1989) 587

[140] G. Favrel: Chem. Zentr. Bl. 84/II (1913) 576

[141] P. W. J. M. Boumans: Anal. Chem. 66 (1994) 459A

[142] DIN 32645: Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze

[143] B. Welz, M. Schubert-Jakobs: At. Spectrosc. 12 (1991) 91

[144] R. M. Barnes, X. Wang: J. Anal. At. Spectrom. 3 (1988) 1083

[145] W. C. Story, J. A. Caruso, D. T. Heitkemper, L. Perkins: J. Chrom. Sci. 30 (1992) 427

[146] R. K. Anderson, M. Thompson, E. Culbard: Analyst 111 (1986) 1143

[147] Y.-L. Feng, J.-P. Cao: Anal. Chim. Acta 239 (1994) 211

[148] J. F. Tyson, S. G. Offley, N. J. Seare, H. A. B. Kibble, C. Fellows: J. Anal. At. Spectrom. 7 (1992) 315

[149] H. Chen, I. D. Brindle, X.-C. Le: Anal. Chem. 64 (1992) 667

[150] J. A. C. Broekaert, F. Leis: Fresenius Z. Anal. Chem. 300 (1980) 22

[151] C. Haraldsson, M. Pollak, P. Öhman: J. Anal. At. Spectrom. 7 (1992) 1183

[152] N. Ellend, C. Rohrer, M. Grasserbauer, J. A. C. Broekaert: Fresenius J. Anal. Chem. 356 (1996) 99

[153] X.-C. Le, W. R. Cullen, K. J. Reimer: Appl. Organomet. Chem. 6 (1992) 161

[154] M. L. Magnuson, J. T. Creed, C. A. Brockhoff: J. Anal. At. Spectrom. 11 (1996) 893

[155] J. Alberti, R. Rubio, G. Rauret: Fresenius J. Anal. Chem. 351 (1995) 415

[156] J. A. C. Broekaert: Use of ICP-Spektrometry for Environmental Analysis. In: Metal Speciation in the Environment. (Hrsg. J. A. C. Broekaert, S. Gücer, F. Adams), Springer-Verl., Berlin (1990) 213

[157] J. Mattusch, D. Schlegel, unpublizierte Resultate, UFZ Leipzig (1996)

[158] I. T. Urasa: Development of New Methods of Speciation Analysis. In: Element Speciation in Bioinorganic Chemistry. (Hrsg S. Caroli), John Whiley Sons (1996) 121

[159] Instructions and Guide for Dionex Columns. Doc.-Nr. 032226, Dionex Corp. (1994)

[160] S. Caroli, F. La Torre, F. Petrucci, N. Violante: Arsenic Speciation and Health Aspects. In: Element Speciation in Bioinorganic Chemistry. (Hrsg. S. Caroli), John Wiley Sons, New York (1996) 445

[161] B. S. Sheppard, W.-L. Shen, J. A. Caruso, D. T. Heitkemper, F. L. Fricke: J. Anal. At. Spectrom. 5 (1990) 431

[162] S. Branch, L. Ebdon, M. Ford, M. Foulkes, P. O'Neill: J. Anal. At. Spectrom. 6 (1991) 151

[163] K. Dittrich, M. Lohse, C. Hanisch: Fresenius J. Anal. Chem. 353 (1995) 16

[164] Y. Inoue, K. Kawabata, H. Takahashi, G. Endo: J. Chromatogr. 675 (1994) 149

[165] P. Teräsahde, M. Pantsar-Kallio, P. K. G. Manninen: J. Chromatogr. 750 (1996) 83

[166] R. S. Houk: Anal. Chem. 58 (1986) 105A

[167] E. H. Larsen, S. Stürup: J. Anal. At. Spectrom. 9 (1994) 1099

[168] G. Peklo, B. Niehus: Vorkommen und Wirkung von Schwermetallen in belasteten Auenlandschaften (Teilprojekt III.1.1.). In: Forschungsverbundprojekt REGNAL, BMBF-0339419K, UFZ Leipzig (1996)

[169] J. M. Riviello, A. Siriraks, R. M. Manabe, R. Roehl, M. Alforque: LC-GC Internat. 4 (1991) 25

[170] J. Harms, G. Schwedt: Fresenius J. Anal. Chem. 350 (1994) 93

[171] C. Vogt, S. Conradi: Anal. Chim. Acta 294 (1994) 145

[172] M. Estebahn, C. Ariño, I. Ruisánchez, M. S. Larrechi, F. X. Rius: Anal. Chim. Acta 285, 193 (1994)

[173] C. Chen, T. Demana, S. Huang, M. Morris: Anal. Chem. 61 (1989) 1593

[174] W. R. Jones in: Workshop Kapillarelektrophorese in der Ionenanalytik. ATI-Unicam, Berlin (1995)

[175] Y.-L. Sun, T. Zhu, C.-X. Zhang, D.-K. Ling, Z.-P. Sun: High Res. Chromatogr. 17, 563 (1994)

[176] P. Jandik, W. R. Jones: J. Chromatogr. 546 (1991) 431

[177] W. Buchberger, S. M. Cousins, P. R. Haddad: Trends Anal. Chem. 13 (1994) 313

[178] P. Jandik, W. R. Jones, A. Weston, P. R. Brown: LC GC Internat. 5 (1992) 20

[179] J. Weiss, D. Hauffe: GIT Spezial – Chromatogr. 2 (1994) 57

[180] D. Kaniansky, I. Zelenský, A. Hybenová, F. I. Onuska: Anal. Chem. 66 (1994) 4258

[181] P. K. Dasgupta, L. Bao: Anal. Chem. 65 (1993) 1003

[182] N. Avdalovic, C. A. Pohl, R. D. Rocklin, J. R. Stillian: Anal. Chem. 65 (1993)

[183] V. L. McGuffin, M. F. M. Tavares: Anal. Chem. 69 (1997) 152

[184] J. Wu, M. Wong, S. F. Y. Li, H. K. Lee, C. N. Ong: J. Chromatogr. 709 (1995) 351

[185] X. Huang, R. Zare: Anal. Chem. 62 (1990) 443

[186] Y. F. Yik, H. K. Lee, S. F. Y. Li, S. B. Khoo: J. Chromatogr. 585 (1991) 139

[187] T. J. O'Shea, R. D. Greenhagen, S. M. Lunte, C. E. Lunte, M. R. Smyth, D. M. Radzik, N. Watanabe: J. Chromatogr. 593 (1992) 305

[188] I.-C. Chen, C.-W. Whang: J. Chromatogr. 644 (1993) 208

[189] J. Cai, J. Henion: J. Chromatogr. 703 (1995) 667

[190] R. A. Wallingford, A. G. Ewing: Anal. Chem. 59 (1987) 1762

[191] D. R. Wiederin, F.-M. Schulze: Advances in Sample Introduction for ICP-AES and ICP-MS. (Präsentation XXIX. CSI, Leipzig), In: Ultra-Trace - Product & Development Newsletter 3, CTAC Technologies Inc. (1995) 2

[192] H. Feuerbacher: Applikationsinformation zu MCN-100 mit Adapter an ELAN 5000. AHF Analysentechnik, Tübingen (1995)

[193] J. Flock, L. Loepp, K. Ohls: GIT Fachz. Lab. 2 (1995) 108

[194] B. Szostek, J. A. Koropchak: Anal. Chem. 68 (1996) 2744

[195] D. Schlegel, J. Mattusch: Anionenanalytik mit Kapillarelektrophorese und Leitfähigkeitsdetektion bzw. ICP-MS - Kopplung. In: Angewandte Naturwissenschaften - Spurenanalytische Bestimmung von Ionen. (Hrsg. A. Kettrup, J. Weiss, D. Jensen), ecomed-Verl., Landsberg (1997) 42

[196] N. G. Vanifatova, B. Ya. Spivakov, J. Mattusch, R. Wennrich: J. Cap. Elec. 2 (1997) 91

[197] W. Buchberger, P. R. Haddad: J. Chromatogr. 608 (1992) 59

[198] D. Belder, G. Schomburg: High Res. Chrom. 15 (1992) 686

[199] F. E. P. Mikkers, F. M. Everaerts, T. P. E. M. Verheggen: J. Chromatogr. 169 (1979) 18; nach [178]

[200] W. D. Spall, J. G. Lynn, J. L. Andersen, J. G. Valdez, L. R. Gurley: Anal. Chem. 58 (1986) 1340

[201] R. Furrer: Die Belastung der Elbe - Statusbericht 1994, Teil 1 Elbenebenflüsse. Forschungszentrum Karlsruhe GmbH, Karlsruhe (1994)

[202] J. Aggett, G. A. O'Brien: Environ. Sci. Technol. 19 (1985) 238

[203] V. Cheam, H. Agemian: Analyst 105 (1980) 737

[204] D. E. Tallman, A. U. Shaikh: Anal. Chem. 52 (1980) 196

[205] J. O. Nriagu (Hrsg.): Arsenic in the Environment. Part 1 - Cycling and Characterization. John Wiley Sons, New York (1994).

[206] A. Kloke: Mitteilungen VD LUFA, 1-3 (1980)

[207] J. T. Van Elteren: J. Radioanal. Nucl. Chem. 154 (1991) 343

[208] I. T. Urasa, A. M. O'Reilly: Talanta 33 (1986) 593

[209] C. O. Moses, A. T. Herlihy, J. S. Herman, A. L. Mills: Talanta 35 (1988) 15

[210] V. M. Shkinev, O. M. Fedorova, B. Ya. Spivakov, J. Mattusch, R. Wennrich, M. Lohse: Anal. Chim. Acta 327 (1996) 167

[211] S. Kotrlý, L. Sucha: Handbook of Chemical Equilibria in Analytical Chemistry. Ellis Horwood Ltd., Chichester (1985)

[212] F. Scheffer, P. Schachtschabel: Lehrbuch der Bodenkunde. Enke-Verl., Stuttgart (1984)

[213] Niederländisches Ministerium für Wohnungswesen, Raumordnung und Umwelt: Leitlinie zur Bodensanierung ("Holländische Liste"). In: H. Hein, G. Schwedt (Hsg.) Richt- und Grenzwerte Luft - Wasser - Boden - Abfall - Chemikalien, Arbeitsmittel vom Umweltmagazin, Vogel Verl. Würzburg (1988)

[214] J. Wasternack, G. Tischendorf: Metallogenetisches Kartenwerk Erzgebirge/Vogtland - Karte der Lagerstätten und Vorkommen mineralischer Rohstoffe. ZGI, Berlin (1981)

[215] A. A. Al-Sibaai, A. G. Fogg: Analyst 98 (1973) 732

[216] M. Albert, C. Demesmay, M. Porthault, J. L. Rocca: Analusis 20 (1992) 383

[217] I. Medina, E. Rubi, M. C. Mejuto, R. Cela: Talanta 40 (1993) 1631

[218] M. Lohse: Methodische und applikative Untersuchungen zur Spurenelementbestimmung in aquatischen Proben mittels ICP-MS. Diss., Universität Leipzig (1996) 12

Ergebnisse dieser Dissertation wurden veröffentlicht in:

[I] D. Schlegel, J. Mattusch, K. Dittrich: Speciation of arsenic and selenium compounds by ion chromatography with inductively coupled plasma atomic emission spectrometry detection using the hydride technique.
Journal of Chromatography A 683 (1994) 261

[II] D. Schlegel, J. Mattusch, R. Wennrich: Speciation analysis of arsenic and selenium compounds by capillary electrophoresis.
Fresenius Journal of Analytical Chemistry 354 (1996) 535

[III] R. Wennrich, J. Mattusch, H.-J. Stärk, D. Schlegel, P. Morgenstern, U. Fankhänel: Determination of arsenic species in water samples of a tin ore tailing.
Vom Wasser 88 (1997) 1

[IV] D. Schlegel, J. Mattusch: Anionenanalytik mit Kapillarelektrophorese und Leitfähigkeitsdetektion bzw. ICP-MS - Kopplung.
In: Angewandte Naturwissenschaften - Spurenanalytische Bestimmung von Ionen. (Hrsg. A. Kettrup, J. Weiss, D. Jensen), ecomed-Verl., Landsberg (1997) 42

[V] U. Fankhänel, B. Merkel, R. Wennrich, J. Mattusch, D. Schlegel, W. Reißer: Niederbringung und Auswertung von Kernbohrungen zur Verbesserung der modellhaften Beschreibung der Arsenmigration aus einem Tailing des Zinnerzbergbaus Altenberg.
Projektbericht Sächsisches Staatsministerium für Wissenschaft und Kunst, Dresden (1997) [AZ. 4-7541.83-0390/554]

[VI] S. Londesborough, D. Schlegel, U. Fankhänel, J. Mattusch, R. Wennrich: Einsatz eines sequenziellen Extraktionsverfahrens für die Bestimmung von Arsenspezies in Tailings-Materialien.
In: CANAS '97 - Colloquium Analytische Atomspektroskopie. (Hrsg. C. Vogt, R. Wennrich, G. Werner, Leipzig (1998) [ISSN 0945-2525])

Anhang A-1: Spezies von Arsen und Selen

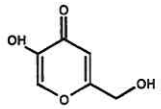
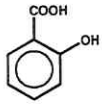
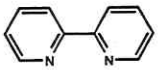
(Nomenklatur, Struktur und verschiedene Stoffkonstanten)

Symbol	Formel	Säurekonstante[a] (pK_S)	UV-Maximum[b] Wellenlänge (nm)
Arsenige Säure, Arsenit			
As(III)	$As(OH)_3$	9,3; 13,4	197
Arsensäure, Arsenat			
As(V)	$AsO(OH)_3$	2,3; 6,9; 11,4	192
Monomethylarsonsäure, Monomethylarsonat			
MMA	$CH_3AsO(OH)_2$	2,6; 8,2	192
Dimethylarsinsäure, Dimethylarsinat			
DMA	$(CH_3)_2AsO(OH)$	6,2	194
Phenylarsonsäure, Phenylarsonat			
PhAs	$C_6H_5AsO(OH)_2$	4,0; 7,0	
Arsenobetain, Carboxymethyl-(trimethyl)-arsonium Zwitterion			
AsBet	$(CH_3)_3As^+CH_2COO^-$	2,18 od. 4,7[c]	<190
Arsenocholin, Arsenocholin-Bromid			
AsChol	$(CH_3)_3As^+C_2H_4OH, Br^-$	-	199
Selenige Säure, Selenit			
Se(IV)	$SeO(OH)_2$	2,6; 8,3	195
Selensäure, Selenat			
Se(VI)	$Se(O)_2(OH)_2$	<1; 2,0	195
Benzolseleninsäure			
BzSe	$C_6H_5SeO(OH)$		
4-Aminophenylarsonsäure, 4-Aminophenylarsonat			
pAPAs	$(4\text{-}NH_2)C_6H_4AsO(OH)_2$		
2-Aminophenylarsonsäure, 2-Aminophenylarsonat			
oAPAs	$(2\text{-}NH_2)C_6H_4AsO(OH)_2$		

[a]- aus [134, 95]; [b]- aus [95]; [c]- nach [216]

Anhang A-2: Stoffkonstanten

1.) Komplexbildner für Eisen

Name	Formel	Stabilitätskonstanten (lg β_n, [I]) [211]
Kojisäure 5-Hydroxy-2hydroxymethyl-4H-Pyran-4on		*Fe(III):* 9,2; 17,2; 24,4
Salicylsäure		*Fe(II):* 6,55; 11,2 [0,15] *Fe(III):* 16,3 [0,1]; 27,5; 35,3 [3,0]
2,2'-Dipyridin		*Fe(II):* 4,20; 7,9; 17,4 [0,1]
Nitrilotriessigsäure NTA	$N(CH_2\text{-}COOH)_3$	*Fe(II):* 8,3; 12,8 *Fe(III):* 15,9; 24,3

2.) weitere Konstanten

Cyclohexylaminoethansulfonsäure (CHES)	pK_S= 9,3
Borsäure $H_3BO_3 \cdot H_2O$	pK_{S1}= 9,28; pK_{S2}= 12,75 [134]
Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB)	CMC= 3,5 mmol/L [57]

Anhang A-3: Meßdaten zur As-Speziation IAA Bielatal [4] (zu Abb. 6-7, 6-8, 6-9)

Datum	As(III) [ng/mL]	As(III) [%]	As(V) [ng/mL]	As(V) [%]	As(Ges) [ng/mL]	Fe [µg/mL]	Mn [µg/mL]	Al [µg/mL]	K [µg/mL]
	a)	a)	a)	a)	b)	b)	b)	b)	b)
Mitte									
20.12.1995	665	56,7	508	43,3	1500	9,38	9,17	1,0	8,8
29.02.1996	527	40,7	767	59,3	1440	8,83	9,77	1,2	10,2
28.03.1996	612	49,4	627	50,6	1460	7,98	9,77	1,1	9,7
24.04.1996	1157	82,6	244	17,4	1490	7,90	9,17	1,2	9,0
23.05.1996	1184	69,4	521	30,6	2290	12,07	10,01	1,1	8,3
26.06.1996	1039	63,4	599	36,6	1200	6,89	8,20	1,1	8,4
24.07.1996	880	69,0	396	31,0	1400	8,59	8,89	1,1	9,1
28.08.1996	540	61,7	335	38,3	850	5,30	8,74	1,0	9,3
09.10.1996	844	70,2	358	29,8	1370	8,48	8,69	1,0	9,3
Links									
20.12.1995	223	39,6	340	60,4	560	3,69	5,82	1,0	10,6
29.02.1996	334	43,0	442	57,0	860	4,97	8,63	1,2	10,1
28.03.1996	246	63,3	143	36,7	--	--	--	--	--
24.04.1996	212	82,5	45	17,5	220	1,35	4,48	1,0	9,8
23.05.1996	192	70,2	82	29,8	340	1,66	3,92	1,0	9,6
26.06.1996	209	94,0	13	6,0	350	1,71	5,33	1,0	9,8
24.07.1996	264	74,8	88	25,2	410	2,30	5,38	1,0	11,1
28.08.1996	264	62,3	160	37,7	440	2,55	7,12	1,0	9,1
09.10.1996	235	71,5	94	28,5	370	2,67	4,83	0,9	--
Rechts									
20.12.1995	17	41,2	25	58,8	40	0,14	0,53	1,8	12,7
29.02.1996	60	34,1	116	65,9	200	0,38	2,47	1,5	10,5
28.03.1996	76	70,8	32	29,2	--	--	--	--	--
24.04.1996	53	72,5	20	27,5	120	0,30	1,10	2,0	7,4
23.05.1996	62	73,8	22	26,2	110	0,34	1,58	2,1	7,6
26.06.1996	15	36,1	27	63,9	30	0,06	0,82	1,7	8,5
24.07.1996	16	55,2	14	44,8	40	0,06	0,74	2,1	8,4
28.08.1996	45	54,6	37	45,4	90	0,26	2,68	1,6	9,5
09.10.1996	4	18,0	19	82,0	--	0,01	0,35	1,8	9,1
30 m									
20.12.1995	627	71,1	255	28,9	950	--	--	--	--
29.02.1996	413	53,8	355	46,2	680	3,83	7,48	1,2	10,1
24.04.1996	463	81,1	108	18,9	490	2,25	5,56	1,3	8,6
23.05.1996	448	74,1	156	25,9	820	4,09	6,44	1,4	8,4
26.06.1996	365	70,8	150	29,2	550	3,33	6,27	1,1	8,4
24.07.1996	482	78,5	131	21,5	620	3,69	6,39	1,3	9,3
28.08.1996	232	63,2	135	36,8	380	2,31	6,75	1,0	9,2
09.10.1996	520	70,0	223	30,0	890	5,68	7,29	1,2	9,4
50 m									
29.02.1996	234	34,6	442	65,4	630	5,57	7,75	1,2	10,3
24.04.1996	319	84,2	59,8	15,8	320	1,78	5,49	1,2	8,5
23.05.1996	439	74,7	149	25,3	670	3,17	5,99	1,2	8,8
26.06.1996	368	75,4	120	24,6	560	3,04	6,33	1,1	8,6
24.07.1996	464	77,5	135	22,5	580	3,19	6,21	1,2	8,9
28.08.1996	229	63,9	130	36,1	360	2,05	6,74	1,0	9,3
09.10.1996	481	72,0	187	28,0	800	4,86	6,94	1,0	9,2

a) IC – ICP-MS; b) ICP-AES

ZUSAMMENFASSUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN ERGEBNISSE
ZUR DISSERTATION

Arsen-Speziationsanalytik mit Ionenchromatographie und Kapillarelektrophorese in Kopplung mit elementspezifischer Detektion

Der Fakultät für Chemie und Mineralogie der Universität Leipzig
eingereicht von

Diplom-Chemiker Dirk Schlegel
im Juli 1998

Angefertigt am Umweltforschungszentrum Leipzig/Halle und am
Institut für Analytische Chemie der Universität Leipzig

---

1. Gegenstand und Zielsetzung der Arbeit

Moderne Aufgaben der anorganischen analytischen Chemie bestehen nicht nur in der Bestimmung der Gesamtkonzentration von Elementen, sondern zunehmend auch in der Unterscheidung der Bindungsformen, in denen die Elemente vorliegen. Diese Herangehensweise wird als Speziationsanalytik bezeichnet und beinhaltet die qualitative und quantitative Bestimmung einzelner Spezies eines Elementes. Sie hat an Bedeutung gewonnen, weil sich die Eigenschaften der Element-Spezies hinsichtlich ihrer Toxizität, Bioverfügbarkeit sowie Mobilität oftmals stark unterscheiden und nur bei genauer Kenntnis der Spezies-Verteilung Rückschlüsse auf Stoffkreisläufe und Gefährdungspotentiale gezogen werden können.

Für solche Speziationsuntersuchungen sind die gängigen atomspektrometrischen Methoden allein nicht geeignet, obwohl sie durch eine hohe Nachweisstärke gekennzeichnet sind. Auf der anderen Seite bieten Trennverfahren wie Ionenchromatographie (IC) und Kapillarzonenelektrophorese (CZE) zwar die Möglichkeit einer effektiven Trennung selbst strukturell sehr ähnlicher Verbindungen, jedoch können gebräuchliche photometrische und Leitfähigkeits-Detektoren die in der Umweltanalytik erforderlichen Nachweisgrenzen nicht liefern und sind außerdem nicht elementspezifisch. In einer Verknüpfung der Methoden sollten sich die Vorteile beider vereinigen lassen.

Deshalb bestand für diese Arbeit die Aufgabe, apparativ-methodische Untersuchungen zu empfindlichen und speziesselektiven Verfahren auf Basis von Ionenchromatographie und Kapillarzonenelektrophorese durchzuführen und Varianten zur Kopplung dieser Trennverfahren mit atom- bzw. massenspektrometrischer Detektion zu entwikkeln. Das hauptsächliche Problem einer solchen Kopplung besteht in der Gestaltung des Interface zwischen den Systemen.

Ein Schwerpunkt der Arbeit lag auf der Entwicklung einer Kopplung von CZE mit Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS), womit eine sehr empfindliche und außerdem elementspezifische Detektion für dieses Trennprinzip vorgestellt werden konnte, die auch routinemäßig eingesetzt werden kann. Analytische Zielgruppe waren dabei Spezies der Elemente Arsen und Selen (Tab. 1), die sowohl toxische als auch essentielle Wirkungen bei Organismen haben können und sich in Bezug auf Mobilität und Toxizität stark unterscheiden.

Die entwickelten Methoden wurden an praktischen Beispielen der Analyse von Oberflächenwässern und Pflanzenextrakten erprobt sowie im Rahmen eines Projektes zur Speziationsanalytik von Arsen in Sickerwässern einer Absetzanlage der Zinnerzaufbereitung eingesetzt.

I $As(OH)_3$ Arsenige Säure **As(III)**	II $AsO(OH)_3$ Arsensäure **As(V)**	III $SeO(OH)_2$ Selenige Säure **Se(IV)**	IV $Se(O)_2(OH)_2$ Selensäure **Se(VI)**
V $CH_3AsO(OH)_2$ Monomethylarsonsäure **MMA**	VI $(CH_3)_2AsO(OH)$ Dimethylarsinsäure **DMA**	VII $C_6H_5AsO(OH)_2$ Phenylarsonsäure **PhAs**	
VIII $(CH_3)_3As^+CH_2COO^-$ Arsenobetain **AsBet**	IX $(CH_3)_3As^+C_2H_4OH, Br^-$ Arsenocholin **AsChol**	X $C_6H_5SeO(OH)$ Benzolseleninsäure **BzSe**	

Tab. 1: Wichtige Spezies von Arsen und Selen

2. Ausarbeitung von Kopplungsmethoden mit Ionenchromatographie

2.1. Ionenchromatographie mit atomemissionsspektrometrischer Detektion

Um Speziesinformationen über die Elemente Arsen und Selen gewinnen zu können, wurde zunächst die Ionenchromatographie als Trennmethode und die Atomemissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Argonplasma (ICP-AES) als Detektionstechnik verbunden. Für eine effektive Analytüberführung in das Argonplasma wurde die Hydridtechnik ausgewählt, bei der die getrennten Analyte mit Natriumborhydrid zu gasförmigen Hydriden derivatisiert werden. Für die Abtrennung der Arsine von der flüssigen Phase wurde zum Ersatz eines bisher verwendeten U-Rohr-Separators ein Membran-Gas/Flüssig-Separator entwickelt, mit dem eine effektivere Abtrennung der

gasförmigen Bestandteile von der Flüssigkeit und eine verbesserte apparative Stabilität des Systems erreicht werden konnte.
Um die geringeren Empfindlichkeiten von As(V) sowie der Organoarsen-Verbindungen DMA und MMA in der Hydridtechnik gegenüber As(III) zu verbessern, wurde eine on-line Vorreduktion mit Cystein angewendet. Damit konnten die Empfindlichkeitsunterschiede zwischen den Spezies vermindert und Nachweisgrenzen von 8 - 14 ng/mL (As) erzielt werden. Durch den Einsatz von Cystein wurde eine gleichmäßigere Reaktion erreicht und die für die Hydridbildung notwendige Säurekonzentration auf 0,08 mol/L verringert, wodurch auch die Belastung des Argon-Plasmas mit Wasserstoff vermindert wurde. Die Stabilität des Systems konnte durch den Membranseparator und den Cysteineinsatz gegenüber dem konventionellen System erhöht werden. Wie gezeigt wurde, gestattete das aufgebaute Kopplungssystem die empfindliche Bestimmung von As(III), As(V), DMA, MMA und Se(IV). AsBet, AsChol und Se(VI) sind unter diesen Bedingungen der Hydridbildung nicht zugänglich. Bei Anwendungen in der Umweltanalytik müssen As-Spezies jedoch meist in sehr niedrigen Konzentrationen bestimmt werden, für die die ermittelten Nachweisgrenzen der Methode nicht ausreichen.

2.2. Ionenchromatographie mit massenspektrometrischer Detektion

Anschließend wurde deshalb die Ionenchromatographie mit Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS) gekoppelt, da diese gegenüber ICP-AES eine deutlich bessere Nachweisstärke erwarten läßt. Die Kopplung wurde direkt zwischen dem Trennsystem IC und dem Detektionssystem ICP-MS aufgebaut, ohne eine zusätzliche Derivatisierung vorzunehmen. Die Analytüberführung in das Plasma wurde durch Aerosolerzeugung mit einem Cross-Flow-Zerstäuber vorgenommen. Dies bot auch den Vorteil, von vornherein die Diskriminierung einzelner Spezies zu vermeiden.
Unter Verwendung dieses Kopplungssystems wurde eine Optimierung von Detektionsparametern und der ionenchromatographischen Trennung von As-Spezies vorgenommen. Dazu wurden zwei Trennsäulen auf Basis von Latexionenaustauschern (IonPac AS7 und AS4A-SC) ausgewählt sowie verschiedene Eluentsysteme getestet. Für die Säule AS7 wurden Eluenten aus Salpetersäure/Natriumnitrat sowie aus Hydrogencarbonat/Carbonat bzw. Carbonat/Natronlauge optimiert. Mit diesen Eluenten konnten bei isokratischer Trennung der Arsenspezies an der gleichen Säule unterschiedliche Selektivitäten erreicht werden, was für die Speziesidentifizierung in unbekannten Proben vorteilhaft ist. Die Nachweisgrenzen lagen bei den Methoden mit alkalischen Eluenten zwischen 0,1 und 0,3 ng/mL, berechnet als As, bei jener im sauren Medium im Bereich von 0,4 - 0,6 ng/mL.
Mit der Trennsäule AS4A-SC wurde eine Methode für die schnelle Trennung der Redoxspezies As(III) und As(V) optimiert (mobile Phase Natriumcarbonat/Natron-

lauge/Methanol). Die Nachweisgrenzen wurden für beide Spezies, As(III) und As(V), zu je 0,1 ng/mL ermittelt. Diese Methode wurde entwickelt im Hinblick auf Speziationsuntersuchungen, die an der Absetzanlage Bielatal durchzuführen waren.
Mit den oben beschriebenen Verfahren werden somit unterschiedliche Varianten für die ionenchromatographische Speziation von Arsenverbindungen mit empfindlicher elementspezifischer Detektion vorgestellt, die entsprechend der jeweiligen Aufgabenstellung, der vorliegenden Matrix und des pH-Bereiches als zweckmäßig ausgewählt werden können.

3. Ausarbeitung von Kopplungsmethoden mit Kapillarzonenelektrophorese

Die Kapillarzonenelektrophorese (CZE) ist ein Trennverfahren, das zunehmend an Bedeutung für die Bestimmung von anorganischen Ionen gewinnt und sich durch gute Trenneffizienzen und kurze Analysenzeiten auszeichnet. Nachteilig ist, daß mit den üblicherweise bei CZE eingesetzten UV-Detektoren keine hohen Empfindlichkeiten erreicht werden können und daß bisher keine elementspezifischen Detektionsmöglichkeiten zur Verfügung stehen.

3.1. Kapillarzonenelektrophorese mit Leitfähigkeitsdetektion

Die anorganischen Spezies As(III), As(V), Se(IV) und Se(VI) weisen nur eine sehr geringe UV-Absorption auf. Um gegenüber der photometrischen Detektion die Nachweisstärke zu verbessern, wurde zunächst das in der IC verbreitete Prinzip der Leitfähigkeitsdetektion angewendet und in dieser Arbeit erstmals erfolgreich für die CZE-Bestimmung von Arsen- und Selen-Spezies eingesetzt. Damit konnte der Anwendungsbereich kapillarelektrophoretischer Methoden zur Arsen- und Selen-Speziation durch eine gesteigerte Detektionsempfindlichkeit erweitert werden.
Es wurde eine Trennmethode auf der Basis eines Elektrolytsystems aus Cyclohexylaminoethansulfonsäure/LiOH/Triton X-100 bei pH 9,4 unter statischer Modifizierung der Kapillaroberfläche (Hexadecyltrimethylammoniumbromid) erarbeitet. Auf diese Weise wurden die Spezies As(V), DMA, MMA, PhAs, Se(IV), Se(VI) innerhalb von 21 min getrennt. Die Nachweisgrenzen dieser Methode lagen bei 3 - 7 ng/mL (As(V), Se(IV), Se(VI), MMA, PhAs) bzw. 10 - 27 ng/mL (As(III), DMA). Damit konnte eine deutliche Empfindlichkeitsverbesserung gegenüber Methoden mit photometrischer Detektion erreicht werden. Mit diesen Nachweisgrenzen ist die CZE mit Leitfähigkeitsdetektion sehr gut für Speziationsuntersuchungen ionischer Verbindungen, die im Spurenbereich vorliegen, geeignet, wie auch an Applikationen der Untersuchung von Wasserproben gezeigt wurde. Die verbesserte Empfindlichkeit gestattet somit nun den Einsatz der CZE für die Speziationsanalytik in Umweltproben.

3.2. Erarbeitung einer Kopplung von Kapillarzonenelektrophorese mit ICP-Massenspektrometrie

Um weitere methodische Verbesserungen der Detektion bei hoher Empfindlichkeit zu erreichen und eine elementspezifische Detektion für die CZE zu ermöglichen, wurden Experimente zur Kopplung von Kapillarelektrophorese mit einem ICP-Massenspektrometer als Detektor durchgeführt.
Die Problematik einer solchen Kopplung besteht darin, daß bei normalem Aufbau eines CZE-Trennsystems die Kapillare beidseitig in Elektrolytgefäße eintaucht, in denen sich die Elektroden für den Aufbau des Hochspannungsfeldes befinden. Für eine Kopplung ist es aber notwendig, die Austrittsseite der Kapillare frei zu haben, um sie mit dem ICP-MS zu verknüpfen. Folglich mußte eine spezielle Art für die Kontaktierung gefunden werden. Eine weitere Aufgabe bestand in der Überführung der Analyte in das Plasma des ICP-MS, da aus der CZE-Trennkapillare während einer Analyse nur ein sehr geringes Flüssigkeitsvolumen (bis ca. 0,5 µL/min) austritt. Die bei ICP-MS standardmäßig eingesetzte pneumatische Zerstäubung benötigt ca. 1 mL/min und war deshalb nicht kompatibel.

Zur Lösung dieser Probleme wurden folgende experimentelle Ansätze gewählt:

a) Kontaktierung über eine Nafion-Membran-Brücke. In die Trennkapillare der Kapillarelektrophorese wurde eine Nafion-Membranbrücke eingefügt, durch die eine leitfähige Verbindung zwischen Innen- und Außenraum der Kapillare hergestellt wurde. Dieses so präparierte Segment der Kapillare wurde in einem Gefäß mit Elektrolytlösung plaziert, in welchem sich auch die Elektrode befindet, so daß zwischen Kapillaranfang und der Nafion-Membranbrücke ein elektrisches Feld aufgebaut werden kann, in dem die Migration der Ionen abläuft. Die getrennten Analytionen werden dann durch den elektroosmotischen Fluß über den feldfreien Bereich der Kapillare bis zu deren freiem Ende weitertransportiert.

b) Mit dem Ziel, eine pneumatische Zerstäubung des Kapillareffluates zu ermöglichen, wurde dieses in einen zusätzlichen Flüssigkeitsstrom (Carrier) einspeist und so die Zerstäubung mit einem Cross-flow-Zerstäuber ermöglicht. Auf diesem Wege konnten erstmals elementspezifische Signale für die CZE-Trennung von As-Spezies erhalten werden. Jedoch waren die beobachteten Empfindlichkeiten noch nicht ausreichend, was bei der hohen Verdünnung des Kapillareffluates durch den Carrier (1 µL auf 1 mL) auf die bekannt geringe Zerstäubungseffektivität des Cross-flow Zerstäubers zurückzuführen war.

c) Um Verbesserungen zu erreichen, wurde ein konzentrischer Mikrozerstäuber in das Kopplungssystem eingesetzt, welcher bereits bei sehr viel geringeren Flüssigkeitsströmungen (ab 10 µL/min aufwärts) arbeitet. Als optimale Größe für den Carrier-Strom

bei diesem Aufbau wurden im Hinblick auf die Zerstäubungseffektivität und die am Detektor beobachtete Signalintensität 30 µL/min ermittelt. Somit konnte die Verdünnung um Faktor 30 vermindert und mit einem verringerten Carrierstrom gearbeitet werden.

d) Durch die Verwendung des Carrierflusses konnte eine zweite Variante der Kontaktierung für das elektrische Feld eingesetzt werden, indem die Gegenelektrode in Form einer Platinkapillare direkt im Carrier positioniert wurde. Mit dieser wesentlich vereinfachten Konstruktion wird zudem erreicht, daß über die gesamte Länge der Kapillare ein elektrisches Feld aufgebaut und somit die gesamte Kapillare für die Trennung verfügbar wird sowie die Strecke des Transports der Ionen durch laminare Strömung verkleinert ist.

e) Der apparative Aufbau der Kopplung wurde im Hinblick auf die Reproduzierbarkeit von Trenn- und Injektionsvorgang durch Einbau eines Schaltventiles in das Fließsystem weiter verbessert. Damit konnte während des Injektionsvorganges eine Abkopplung des CZE-Systems vom ICP-MS vorgenommen werden, so daß ein durch den Zerstäubungsprozeß verursachter Druckgradient die Injektion nicht beeinflusste.

Mit diesem apparativen Aufbau der Kopplung, Einspeisung des Kapillareffluates in einen Carrierfluß von 30 µL/min, Kontaktierung über eine Platinelektrode im Carrier, einem zusätzlichen Schaltventil und der Analytüberführung in das Argonplasma mittels Aerosolbildung mit einem Mikrozerstäuber, wurden die Parameter der ICP-MS-Detektion sowie die Zusammensetzung des Trennelektrolyten optimiert. Mit einem Borsäure/Tetraborat-Elektrolyten wurden die As-Spezies As(III), As(V), AsChol, AsBet, DMA, MMA, PhAs sowie die Se-Spezies Se(IV), Se(VI), BzSe innerhalb von 14 min getrennt und am Detektor sehr gute Empfindlichkeiten erreicht. Die ermittelten Nachweisgrenzen bewegten sich im Bereich von 8 - 11 ng/mL für As und 30 - 50 ng/mL für Se. Damit konnte eine Methode erarbeitet werden, die bekannte CZE-Systeme mit UV-Detektion in Bezug auf die Nachweisstärke weit übertrifft und vor allem den Vorteil einer elementspezifischen Detektion besitzt. Im Vergleich zur Leitfähigkeitsdetektion werden zwar ähnliche Nachweisgrenzen realisiert, jedoch kann durch die Elementspezifität der ICP-MS-Detektion eine größere Vielseitigkeit und Matrixtoleranz erreicht werden. Auf Grund der Nachweisgrenzen im unteren ng/mL-Bereich ist die Kopplungsmethode CZE – ICP-MS gut für Speziationsuntersuchungen in Umweltkompartimenten geeignet und kann auch als Routineverfahren betrieben werden. Die vorgestellte Methodik wurde an Applikationsbeispielen zur As-Speziation in Wasserproben einer Absetzanlage der Zinnerzaufbereitung und Pflanzenextrakten erfolgreich getestet.

3. Probenstabilisierung und Speziationsanalytik an der Industriellen Absetzanlage Bielatal

Ein weiterer Schwerpunkt der Arbeit lag auf Untersuchungen zur Arsen-Speziation im Bereich der Industriellen Absetzanlage der Zinnerzaufbereitung im Bielatal, die in eine geochemische und hydrogeologische Systemanalyse dieser osterzgebirgischen Deponie eingeflossen sind.

Die nach der Erzgewinnung abgelagerten Reststoffe zeichnen sich durch einen hohen Gehalt an Arsen aus. Daher wurden Sickerwässer der Deponie, Porenwässer des Feststoffes sowie Sedimente des Ablaufs auf Arsen-Spezies untersucht. Dabei wurde festgestellt, daß in den wäßrigen Proben hohe Gehalte an Eisenverbindungen unter Mitwirkung von Luftsauerstoff die As-Speziesverteilung sehr schnell verändern können und Ausfällungen von amorphen Eisenoxyhydraten auch die Wiederfindung von As(III) und As(V) vermindern, so daß Maßnahmen zur Probenstabilisierung im Rahmen der Speziationsuntersuchungen sehr wichtig sind.

Zur Stabilisierung der wäßrigen Proben wurde der Einfluß von Filtration, Säurezusatz und von Komplexbildnern getestet und ein Verfahren entwickelt, daß insbesondere auf den hohen Fe-Gehalt der Proben abgestimmt ist. Dazu wurde direkt zum Zeitpunkt der Probennahme zur Abtrennung von Partikeln eine Filtration (0,45 µm) vorgenommen und durch Zusatz von Komplexbildnern die enthaltenen Eisenionen maskiert, ohne die Redoxbedingungen des Systems wesentlich zu beeinflussen. Es konnte gezeigt werden, daß auf diesem Weg eine effektive Probenstabilisierung für As(III) und As(V) erreicht und Verluste der Analyte bis zur Messung im Labor verhindert werden.

Zur quantitativen Bestimmung der Spezies wurden die entwickelten Verfahren der Kopplung von Ionenchromatographie mit ICP-MS-Detektion angewendet. In den austretenden Sickerwässern der Absetzanlage wurden die As-Spezies As(III) und As(V) quantifiziert. As(III) dominiert über As(V) deutlich mit 57 bis 94 % Anteil (absolut 0,19 - 1,18 µg/mL) an den verschiedenen Austrittsstellen. In einem Monitoring über einen zwölfmonatigen Zeitraum zeigte sich, daß jahreszeitliche Schwankungen im As-Austrag allein durch veränderte Anteile von As(III) bei nahezu konstantem As(V)-Gehalt hervorgerufen werden. Das Bachsediment ist durch frisch gefälltes amorphes Eisenoxid gekennzeichnet, das einen hohen As-Gehalt aufweist (60 bis 82 mg/g). Während durch Ausfällungen vorwiegend die As(V)-Konzentration herabgesetzt wird, bleiben hohe As(III)-Konzentrationen (0,5 - 1 µg/mL) über längere Wegstrecken im Bach erhalten.

Für die Abschätzung von Gefährdungen können daher insbesondere Remobilisierungsvorgänge im Bachsediment bedeutsam sein, da die dort akkumulierten As-Frachten durch Veränderung von physiko-chemischen Randbedingungen im Wasserlauf leicht und in hohen Konzentrationen freigesetzt werden können, während die As-Emission der Deponie über das Sickerwasser im beobachteten Untersuchungszeitraum relativ konstant blieb.

UFZ-Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH
Sektion Analytik
Permoserstraße 15
D-04318 Leipzig
Telefon 0341/235-2370
Telefax 0341/235-2625