

**Ultraspurenbestimmung von
Aminopolycarbonsäure-Komplexbildnern
mittels inverser on-line Kopplung IC-ICP-MS**

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

dem

Fachbereich Chemie
der Philipps-Universität Marburg
(Hochschulkenziffer 1180)

vorgelegt von

Dipl.-Chem. Jürgen Knöll

aus Münster

Marburg/Lahn 2012

Erstgutachter: Prof. Dr. Andreas Seubert

Zweitgutachter: Prof. Dr. Ulrich Tallarek

Einreichungsdatum: 16.11.2012

Tag der mündlichen Prüfung: 17.12.2012

Die vorliegende Dissertation wurde in der Zeit von Oktober 2006 bis November 2012 am Institut für Anorganische und Analytische Chemie der Philipps-Universität Marburg unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Andreas Seubert angefertigt.

An dieser Stelle möchte ich mich bei einigen Personen bedanken, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Besonders möchte ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Andreas Seubert für seine hervorragende Betreuung, die interessante Themenstellung und die Überlassung der dafür erforderlichen analytischen Geräte und Freiheiten bedanken.

Für die Übernahme des Koreferats danke ich Prof. Dr. Ulrich Tallarek.

Die Idee zu diesem Projekt stammt von Dr. K.-H. Bauer (Hessenwasser, Darmstadt), der auch eine Vielzahl von Realproben zur Methodvalidierung zur Verfügung stellte. Dafür und für die ständige Diskussionsbereitschaft möchte ich mich bei ihm bedanken.

Für die sehr angenehme Arbeitsatmosphäre möchte ich mich bei den Mitgliedern des Arbeitskreises bedanken. Hier sind zu erwähnen: Maik Bierschenk, Patrick Gödecke, Karsten Müller, David Nette, Rüdiger Penzel, Alexander Peukert, Katrin Gröticke, Lukas Sonnenschein, Mareike Wacker, Christoph Westrupp und Johanna Windhaus. Besonders möchte ich mich bei meinen Labormitbewohnerinnen Anne Rieß und Vanessa Theis für die sehr schöne Zeit im Großraumlabor 5157 bedanken. Auch den ehemaligen Mitgliedern des Arbeitskreises Natalia Fritzler, Andreas Grimm, Oliver Happel, Thomas Herrmann danke ich für die freundliche Aufnahme und Hilfe bei der Einarbeitung. Oliver Happel (jetzt TZW Karlsruhe), danke ich auch für die Zusendung von Wasserproben und deren Analyseergebnisse. Vanessa Theis ist für die Herstellung der IC-Säulen zu danken. Auch meinen Vertiefungsstudenten Jan Bernhammer, Nicolaas Glock, Margarete Nocun, Dirk Schneider und Daniela Stöckel danke ich für deren Arbeit und die Abgabe eines Vertiefungsberichts.

Für das regelmäßige Korrekturlesen möchte ich mich noch bei Lukas Sonnenschein und meiner Frau Dana bedanken.

Dana danke ich ebenfalls für ihre Geduld und liebevolle Unterstützung, sowie für die Betreuung unserer Söhne Tobias und Lukas während der Anfertigung dieser Arbeit. Meinen Eltern möchte ich danken, dass sie mich bis zum Schluss bei diesem Projekt unterstützt haben.

Der Metrohm AG (Herisau, CH) danke ich für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Kurzzusammenfassung

Jürgen Knöll

Ultraspurenbestimmung von Aminopolycarbonsäure-Komplexbildnern mittels inverser on-line Kopplung IC-ICP-MS

Stichworte: ICP-MS, Ionenchromatographie, inverse on-line Kopplung, Ultraspurenbestimmung, Aminopolycarbonsäuren, Komplexbildner

In der vorliegenden Arbeit wird die inverse on-line Kopplung IC-ICP-MS an dem Beispiel der Analyse von Aminopolycarbonsäure-Komplexbildnern vorgestellt. Die on-line Kopplung der Ionenaustauschchromatographie (IC) mit einem induktiv gekoppelten Plasma Massenspektrometer (ICP-MS) verbindet die Molekülselektivität der IC mit der Elementselektivität und der Sensitivität des ICP-MS. Diese on-line Kopplung wird in der Praxis zur Analyse von Metallen bzw. deren Elementspezies verwendet. In dieser Arbeit bestand das Interesse jedoch an der Analyse organischer Komplexbildner, die zuvor gezielt mit einem Metall versehen wurden, um sie so mit dem ICP-MS empfindlich detektieren zu können. Diese Vorgehensweise ermöglicht es, die hervorragenden Nachweisgrenzen des ICP-MS auch für diese organische Moleküle nutzen zu können.

Die Proben werden vor der Analyse mit einem Überschuss an In^{3+} versehen, um die Komplexbildner in anionische Komplexe zu überführen, die anschließend ionenchromatographisch getrennt werden. Die Detektion der Komplexe erfolgt anhand des Indiums mit dem ICP-MS. Die in dieser Arbeit untersuchten Komplexbildner sind die NTA, EDTA, DTPA und CDTA.

Das überschüssige Metall wird vor der Probenaufgabe automatisch durch die Verwendung des Metrohm Suppressor Moduls (MSM) entfernt, um einen großen Injektionspeak zu vermeiden. Die lange Retentionszeit des CDTA-Komplexes kann durch den Einsatz des Column-Switching von über einer Stunde auf wenige Minuten verkürzt werden.

Die mit dieser Methode erreichten Nachweisgrenzen liegen im ng l^{-1} Bereich. Um die Ergebnisse, die mit dieser Methode erhalten werden, auf deren Richtigkeit zu untersuchen, erfolgte ein Methodenvergleich anhand von Proben, die zuvor von einem externen Institut in der Routineanalytik mit einer Standardmethode auf deren Komplexbildnergehalt analysiert wurden.

Abstract

Jürgen Knöll

Ultratrace determination of aminopolycarboxylic acid based chelating agents using inverse on-line coupling of IC with ICP-MS

Keywords: ICP-MS, ion chromatography, inverse on-line coupling, ultra trace analysis, aminopolycarboxylic acids, chelating agents

This work introduces the inverse on-line coupling of IC-ICP-MS based on the example of the analysis of aminopolycarboxylic acid based chelating agents. The on-line coupling of ion chromatography (IC) with inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) combines the molecular selectivity of IC with the elemental selectivity and sensitivity of ICP-MS. The on-line coupling of IC-ICP-MS is usually used for the analysis of metals or their species. During this work the main interest was on organic chelating agents, which have been tagged with a metal to make it detectable by ICP-MS. This approach makes the excellent detection limits of ICP-MS also available to organic molecules.

An excess of In^{3+} is added to the samples in order to transform the chelating agents into negatively charged complexes, which can be separated using IC. The detection of the complexes is performed by the ICP-MS, monitoring ^{115}In . The chelating agents examined during this work are NTA, EDTA, DTPA and CDTA.

The excess of metal is removed automatically prior to the injection of the sample using the Metrohm Suppressor Module (MSM), in order to avoid a large peak in the hold up volume. To reduce the long retention time of the CDTA-complex from over one hour to a few minutes, the technique of column-switching is used.

This method uses a fast and simple sample preparation and gives excellent detection limits in the ng l^{-1} range. The results of this method have been validated using water samples which have previously been analyzed by an external laboratory in routine analysis using standard methods.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Aufgabenstellung	1
2	Theorie	4
2.1	Ionenchromatographie	4
2.1.1	Trennmechanismen	5
2.1.2	Stationäre Phasen	6
2.1.3	Eluenten in der Anionenchromatographie	8
2.1.4	Chromatographische Kenngrößen	9
2.1.5	Detektoren in der Ionenchromatographie	11
2.1.6	Apparativer Aufbau	14
2.2	Induktiv gekoppelte Plasma-Massenspektrometrie	16
2.2.1	Die Probenzuführung	16
2.2.2	Die Ionisierungseinheit	18
2.2.3	Das Interface	21
2.2.4	Die Ionenoptik	22
2.2.5	Die Oktopol Reaktions-/Kollisionszelle	22
2.2.6	Der Massenfilter und der Detektor	24
2.2.7	Apparative Parameter	27
2.3	Kopplungstechniken	28
2.3.1	Unterschiedliche Kopplungstechniken	28
2.3.2	On-line Kopplung IC-ICP-MS	28
2.4	Statistische Kenngrößen	30
2.4.1	Nachweisgrenze	30
2.4.2	Wiederfindungsrate	31
2.4.3	t-Test des Korrelationskoeffizienten	31
2.4.4	Methodenvalidierung	32
2.5	Komplexverbindungen	34
2.6	Aminopolycarbonsäuren	36
2.6.1	NTA	37
2.6.2	EDTA	37
2.6.3	DTPA	38
2.6.4	CDTA	39
2.6.5	Stabilitätskonstanten	40

3	Literaturübersicht	41
3.1	On-line Kopplung IC-ICP-MS	41
3.1.1	Elementspeziesanalyse	41
3.1.2	Abtrennung der Probenmatrix	42
3.1.3	Weitere Einsatzmöglichkeiten	42
3.2	Methoden zur Analyse von Komplexbildnern	43
3.2.1	Titration	43
3.2.2	Atomspektrometrie	43
3.2.3	UV/Vis-Spektrometrie	44
3.2.4	Elektrochemische Verfahren	44
3.2.5	Kapillarelektrophorese	44
3.2.6	Chromatographie	44
3.3	Zusammenfassung	47
4	Methodenentwicklung	48
4.1	Konzept der neuen Methode	48
4.2	Grundlegende Untersuchungen des methodischen Ansatzes	53
4.2.1	Eisen(III)-Komplexe der NTA, EDTA, DTPA und CDTA	53
4.2.2	Ionenchromatographische Trennung mit UV/Vis-Detektion	59
4.2.3	Anwendung der on-line Kopplung IC-ICP-MS	63
4.2.4	Einfluss des pH-Wertes des Eluenten auf die Retentionszeiten	74
4.3	Verfeinerung der Methode	80
4.3.1	Entfernen des überschüssigen Metalls	80
4.3.2	Einführung des Column-Switchings zur Analyse der CDTA	87
4.3.3	Steigerung der Empfindlichkeit durch Anpassung des Komplexkerns	91
4.3.4	Untersuchungen zur Optimierung der Regeneration des Suppressors	95
4.3.5	Besonderheiten bei der Analyse der NTA	103
5	Methodenvalidierung	112
5.1	Statistische Kenngrößen der Methode	112
5.2	Analyse von Realproben	114
5.2.1	Beschreibung der verwendeten Realproben	114
5.2.2	Analyse von Leitungswasser	117
5.2.3	Vorversuche an den Realproben	117
5.2.4	Optimierung der Methode	121
5.2.5	Analyse der Realproben unter optimierten Bedingungen	128
5.3	Analyse von Blutproben	133
5.3.1	Die Blutmatrix	133
5.3.2	Probenvorbereitung	134

5.3.3	Ergebnisse	135
5.4	Zusammenfassung	137
6	Zusammenfassung und Ausblick	139
7	Experimentelles	143
7.1	Geräte	143
7.2	Chemikalien	147
8	Literaturverzeichnis	150

Abkürzungsverzeichnis

AES (OES)	Atomemissionspektrometrie
APCI	<i>atmospheric pressure chemical ionization</i>
CDTA	1,2-Cyclohexylendinitrilotetraessigsäure
CE	<i>capillary electrophoresis</i>
DC	Dünnschichtchromatographie
DCP	<i>direct current plasma</i>
DEMA	Diethanolmethylamin
DMEA	Dimethylethanolamin
DTPA	Diethylentriaminpentaessigsäure
EDMA	Ethylendiaminmonoessigsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ESI	Elektrospray Ionisation
ETV	Elektrothermale Verdampfung
GC	Gaschromatographie
GLC	<i>gas-liquid-chromatography</i>
GSC	<i>gas-solid-chromatography</i>
HDPE	<i>high density polyethylene</i>
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>
IC	Ionenchromatographie
ICP-MS	induktiv gekoppelte Plasma Massenspektrometrie
IEC	<i>ion exchange chromatography</i>
IPC	<i>ion pair chromatography</i>
KZ	Koordinationszahl
LA	Laser Ablation
LLC	<i>liquid-liquid-chromatography</i>
LSC	<i>liquid-solid-chromatography</i>
m/z	Masse-zu-Ladungs-Verhältnis
MGDA	Methylglycindiessigsäure
MIP	Mikrowelleninduziertes Plasma
MS	Massenspektrometrie
MSM	Metrohm-Suppressor-Modul
NPD	Stickstoff-/Phosphor-Detektor
NTA	Nitrilotriessigsäure

NWG	Nachweisgrenze
PS/DVB	Polystyrol-Divinylbenzol
SEV	Sekundärelektronen-Vervielfacher
TEA	Triethanolamin
TMA	Trimethanolamin
TOF	<i>Time-of-flight</i>
UV/Vis	<i>Ultraviolet/visible</i>
VBC	Vinylbenzylchlorid

1 Einleitung und Aufgabenstellung

Sowohl die Ionenaustauschchromatographie (IC) als auch die induktiv gekoppelte Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS) sind zwei leistungsfähige analytische Methoden, deren Leistungsfähigkeit durch die on-line Kopplung dieser beiden Methoden weiter gesteigert wird. Die ICP-MS liefert für nahezu alle Elemente des Periodensystems Nachweisgrenzen im $\mu\text{g l}^{-1}$ Bereich und für viele Elemente sind sogar Nachweisgrenzen im unteren ng l^{-1} Bereich möglich. Jedoch gehen durch die hohen Temperaturen im Plasma sämtliche Informationen über die Vorkommensform der Elemente, die Elementspeziesinformation, verloren. Durch den Einsatz einer Trennmethode, wie der IC, kann auch diese Information anhand der Retentionszeit gewonnen werden. Die IC-ICP-MS on-line Kopplung findet daher in der Elementspeziesanalyse verbreitete Anwendung [1] [2] [3] [4] [5] [6] [7]. Weitere Einsatzmöglichkeiten dieser on-line Kopplung sind die Probenanreicherung an einem Ionenaustauscher oder die Abtrennung von störenden Probenbestandteilen durch die Chromatographie.

Bei den bisherigen Arbeiten, die sich mit einer IC-ICP-MS on-line Kopplung beschäftigen, steht das mit dem ICP-MS zu detektierende Metall und dessen Spezies im Mittelpunkt. Es ist jedoch auch denkbar, organische Moleküle gezielt mit einem Metall zu versehen, um diese sensitiv mit dem ICP-MS zu detektieren. Um die Information über die verschiedenen organischen Moleküle zu gewinnen, ist es erforderlich diese zuvor über ein chromatographisches System zu bestimmen. Hier dient das Metall lediglich als eine Art Indikator, um die Verbindung für das ICP-MS detektierbar zu machen. Voraussetzung hierfür ist jedoch, dass das Metall mit dem zu analysierenden Molekül eine stabile Verbindung bildet, die sich während der Analyse nicht zersetzt.

Die Leistungsfähigkeit dieses neuen Ansatzes zur inversen Nutzung der IC-ICP-MS on-line Kopplung soll am Beispiel der Analyse von Komplexbildnern demonstriert werden. Dieser Ansatz wird im Folgenden als inverse IC-ICP-MS bezeichnet.

Chelatbildner (auch Komplexbildner genannt) sind Verbindungen, die in der Lage sind mit Metallionen Koordinationsverbindungen einzugehen. Dabei besetzen die Chelatbildner, die auch als Chelator bezeichnet werden, als multidentate Liganden mindestens zwei Koordinationsstellen des Zentralatoms. Der Begriff der Chelate wurde von Morgan und Drew eingeführt und leitet sich aus dem lateinischen ab (chela = Schere) [8]. Dieser Name verdeutlicht, dass das Zentralatom vom Chelator von mindestens zwei Seiten eingeklammert wird.

Anwendung finden Chelatbildner hauptsächlich als Wasserenthärter, da sie mit Calcium und Magnesium wasserlösliche Komplexe bilden. Zu diesem Zweck werden bevorzugt Citrate, Phosphate und

Aminocarbonsäuren wie NTA (engl. *nitrilotriacetic acid*), EDTA (engl. *ethylenediaminetetraacetic acid*), DTPA (engl. *diethylenetrinitriropentaacetic acid*) und CDTA (engl. *cyclohexdiamintetraacetic acid*) verwendet. Diese findet man in Haushaltsprodukten wie Wasch- und Reinigungsmitteln, sowie in vielen industriellen Reinigern.

In der Textilindustrie werden Komplexbildner verwendet, um störende Metalle zu komplexieren und damit nicht verfügbar zu machen. Auf diese Weise können reinere Farbtöne erzielt werden. Auch die Holz- und Papierindustrie verwendet Komplexbildner, hier kommen sie als Stabilisatoren für die Peroxid-Bleichmittel zum Einsatz. Spurenelemente können durch Komplexbildner für Pflanzen verfügbar gemacht werden und kommen daher auch in Düngemitteln zum Einsatz.

Der weltweite Verbrauch der Aminopolycarbonsäuren NTA, EDTA und DTPA wurde 1998 auf 200 000 Tonnen pro Jahr geschätzt. Über die Hälfte dieser Menge ist der EDTA zuzuschreiben (55%), gefolgt von NTA (25%) und DTPA (20%). Die Tendenz des Gesamtverbrauchs ist steigend, jedoch wird die EDTA zunehmend durch NTA oder andere Komplexbildner ersetzt [9].

Eine toxische Wirkung der Komplexbildner ist unter normalen Umständen nicht zu erwarten [10] [11]. Die EDTA wird im medizinischen Bereich sogar als Medikament bei Schwermetallvergiftungen intravenös verabreicht, um die giftigen Metalle zu binden, damit sie über die Niere ausgeschieden werden können [12]. Weiterhin ist das Calcium-Dinatrium-Salz der EDTA als E 385 in Europa als Nahrungsmittelzusatz zugelassen [8].

Bei der toxikologischen Beurteilung ist jedoch zu beachten, dass diese Komplexbildner in der Lage sind, Schwermetalle aus z. B. den Sedimenten der Flüsse zu mobilisieren, so dass sie indirekt eine toxische Wirkung haben können. Durch den massenhaften Einsatz dieser Verbindungen, gelangen diese in das Abwasser und da sie die Kläranlage meist ungehindert passieren, auch in die Oberflächengewässer. So wurde schon Ende der 1980er Jahre berichtet, dass EDTA die Verbindung anthropogenen Ursprungs ist, die in den höchsten Konzentrationen in deutschen Oberflächengewässern nachgewiesen wurde. Derzeit findet man in deutschen Flüssen wie z. B. dem Rhein EDTA-Konzentrationen von $1\text{--}20 \mu\text{g l}^{-1}$ [13].

Ein weiterer Grund für das große Interesse an diesen Chelatbildnern ist die Tatsache, dass diese kaum biologisch abbaubar sind und sich so zum einen in den Oberflächengewässern, aber auch in den Grundwässern anreichern und so im Trinkwasserkreislauf wiederzufinden sind [14]. 1991 wurde von verschiedenen Industrieverbänden eine Selbstverpflichtung unterschrieben, die vorsieht, die Konzentrationen der EDTA in Oberflächengewässern mittelfristig um 50% zu reduzieren [15]. Diese hatte zur Folge, dass nach Alternativen zur EDTA gesucht wurde. Für viele Einsatzbereiche wurde stattdessen die NTA verwendet, die leichter biologisch abbaubar ist. Ein weiteres Ersatzprodukt ist die MGDA (engl. *methylglycinediacetic acid*), die von der Fa. BASF entwickelt und produziert wird; sie ist ebenfalls leichter biologisch abbaubar und kann in vielen Bereichen die EDTA ersetzen.

Derzeit existieren zwei gebräuchliche Verfahren zur Analyse dieser Verbindungen. Das ist zum einen eine flüssigchromatographische Methode mit UV/Vis-Detektion und zum anderen eine gaschromato-

graphische (GC) Methode mit einem Stickstoff-Phosphor-Detektor (NPD) oder einem angeschlossenen Massenspektrometer (MS).

Im Falle der ersten Methode wird die Probe mit einem Überschuss an Eisen(III) versehen, wodurch die Komplexbildner in stabile anionische Komplexe überführt werden. Diese werden anschließend durch eine Ionenpaarchromatographie (IPC) getrennt und mit dem UV/Vis-Detektor detektiert. Die Zuordnung der Signale erfolgt über die Retentionszeit. Als Vorteil dieser Methode ist die einfache Probenvorbereitung zu sehen, jedoch sind die Nachweisgrenzen im unteren mg l^{-1} Bereich für die meisten Analysen nicht ausreichend [16].

Die GC-Methode zeichnet sich durch ihre hervorragenden Nachweisgrenzen im unteren $\mu\text{g l}^{-1}$ Bereich aus, ist jedoch mit einer aufwendigen Probenvorbereitung verbunden. Um die niedrigen Nachweisgrenzen zu erreichen, ist es zuerst erforderlich die Analyten der Probe anzureichern. In einem zweiten Schritt müssen die Carbonsäuregruppen verestert werden, um sie in flüchtige Verbindungen zu überführen. Es folgt eine Extraktion der Ester aus der Reaktionslösung und anschließend die Analyse mit dem GC-NPD/MS [17]. Die Zuordnung der Signale erfolgt ebenfalls über die Retentionszeit bzw. im Falle der MS-Detektion zusätzlich über die Massenfragmente.

Ziel dieser Arbeit ist es, die Leistungsfähigkeit der inversen on-line Kopplung IC-ICP-MS anhand der Analyse dieser Komplexbildner zu demonstrieren. Hierfür wird eine Methode zur Analyse dieser entwickelt. Die Probenvorbereitung soll so einfach wie möglich gehalten werden, um auch im Routinebetrieb einen hohen Probendurchsatz mit wenig Aufwand zu ermöglichen. Die Nachweisgrenze soll ohne Anreicherungs-schritte den Nachweisgrenzen der GC-MS Methode entsprechen.

Werden die Komplexbildner durch Zusatz eines Metalls in anionische Komplexe überführt, können diese mit der Ionenchromatographie getrennt und das Metall mit dem ICP-MS detektiert werden. Das ICP-MS detektiert das eingesetzte Metall mit einer hervorragenden Empfindlichkeit und über die Retentionszeit wird die Information über die Art des Komplexes gewonnen.

Als Komplexbildner werden die drei meistverwendeten Aminopolycarbonsäure-Komplexbildner NTA, EDTA, DTPA und zusätzlich CDTA untersucht. Es ist ein passendes Metall zu finden, welches mit diesen Chelatbildnern sehr stabile Komplexe bildet, damit diese während der chromatographischen Trennung nicht zerfallen. Weiterhin muss die Probenvorbereitung untersucht werden, um sicherzustellen, dass sich tatsächlich die gewünschten Komplexe bilden. Nach Entwicklung der ionenchromatographischen Methode, bei der sowohl verschiedene stationäre als auch mobile Phasen untersucht werden müssen, folgt die Ermittlung der Nachweisgrenzen. Außerdem sollten Realproben gemessen werden, deren Komplexbildnergehalt parallel von einem externen Institut mit den herkömmlichen Methoden bestimmt wird, um die Ergebnisse auf deren Richtigkeit zu überprüfen.

2 Theorie

2.1 Ionenchromatographie

Die Chromatographie wurde erstmals 1903 von dem Botaniker *Michael Semjenowitch Tswett* beschrieben [18]. Er füllte eine Glassäule mit Calciumcarbonat und ließ durch diese Lösungen mit Pflanzenextrakten laufen. Dabei gelang es ihm, die verschiedenen Chlorophylle und Xanthophylle in einzelne farbige Banden zu trennen. Daher stammt auch der Name Chromatographie: $\chi\rho\rho\mu\alpha$ = Farbe, $\gamma\rho\alpha\phi\epsilon\iota\nu$ = schreiben. Durch weiteres Spülen mit Wasser eluierten diese Chlorophylle nacheinander getrennt aus der Säule. Auf dieser Entdeckung basieren die Entwicklungen der modernen chromatographischen Methoden, wie die in den 30er Jahren entwickelte *Dünnschichtchromatographie* (DC) und die zwanzig Jahre später vorgestellte *Gaschromatographie* (GC). Für die Arbeiten auf dem Gebiet der Verteilungschromatographie und dem Konzept der theoretischen Böden, die die Grundlagen der modernen Chromatographie bilden, erhielten *Martin* und *Synge* 1952 den Nobelpreis für Chemie. Aus der Säulenchromatographie entwickelte sich in den 60er Jahren die *Hochleistungsflüssigkeitschromatographie* (engl. *High Performance Liquid Chromatography*), zu der auch das 1975 von *Small*, *Stevens* und *Baumann* vorgestellte Verfahren der Ionenchromatographie [19] zählt. Ohne diese modernen chromatographischen Methoden könnten viele der aktuellen Fragestellungen der analytischen Chemie nicht, oder nur mit großem Aufwand gelöst werden. Insbesondere in der Elementspeziesanalyse ist die Chromatographie ein unverzichtbares Werkzeug.

Tabelle 2.1: Einteilung der Chromatographie nach stationären und mobilen Phasen.

stationäre Phase	mobile Phase	
	gasförmig	flüssig
fest	GSC (gas-solid-chrom.)	LSC (liquid-solid-chrom.)
flüssig	GLC (gas-liquid-chrom.)	LLC (liquid-liquid-chrom.)

Die verschiedenen chromatographischen Methoden lassen sich nach den eingesetzten stationären und mobilen Phasen unterteilen (Tabelle 2.1). Die mit Abstand am häufigsten verwendeten Methoden sind zum einen die GLC, bei der die flüssige stationäre Phase auf der Innenseite einer Kapillare immobilisiert wird, und zum anderen die LSC, zu der auch die Ionenchromatographie zählt [20] [21] [22] [23].

2.1.1 Trennmechanismen

Die Trennung von Substanzen in der Chromatographie beruht auf dem Prinzip der wiederholten Verteilung des Analyten zwischen zwei nicht mischbaren Phasen. Der Analyt wird durch die mobile Phase an der stationären Phase vorbeigeführt, wobei es zu Wechselwirkungen der Analyten mit dieser kommt. Durch diese Wechselwirkungen halten sich die Analyten zeitweise in oder an der stationären Phase auf und werden auf diese Weise zurückgehalten. Aufgrund ihrer unterschiedlichen chemischen und physikalischen Eigenschaften verweilen die Analyten unterschiedlich lange an der stationären Phase und werden so unterschiedlich stark retardiert. Dieser Unterschied führt nach einer definierten Laufstrecke zu einer zeitlichen Auftrennung der Analyten, die dann nacheinander detektiert werden können.

Für die Ionenchromatographie unterscheidet man zwischen drei verschiedenen Trennmechanismen: die *Ionenaustausch-Chromatographie*, die *Ionenpaar-Chromatographie* und die *Ionenausschluss-Chromatographie*.

Ionenausschluss-Chromatographie

Die Ionenausschluss-Chromatographie (engl. *ion exclusion chromatography*) IEC wird vor allem zur Trennung von schwachen Säuren oder Basen verwendet. Das größte Anwendungsfeld ist die Analyse von Carbonsäuren und Aminosäuren. Als stationäre Phase wird meist ein sulfonierter Kationenaustauscher verwendet, dessen Säuregruppen mit Protonen als Gegenionen elektrisch neutral sind. Durch die Verwendung wässriger Eluenten sind die funktionellen Gruppen hydratisiert und diese Hydrathülle wird durch eine negativ geladene Membran, die Donnan-Membran, begrenzt. Ionische Moleküle können diese Membran nicht passieren und werden so ausgeschlossen und schnell eluiert. Nichtionische Moleküle hingegen können diese Membran passieren und an der stationären Phase adsorbiert werden. Zur Trennung von Carbonsäuren werden starke Mineralsäuren, z. B. Salzsäure, als flüssige Phase verwendet. Hierdurch liegen die Carbonsäuren in dem stark sauren Eluenten nahezu undissoziiert vor und können die Membran durchqueren. Durch die verschiedenen pK_s -Werte der Carbonsäuren dissoziieren sie unterschiedlich stark und unterscheiden sich in ihrem Vermögen, die Membran zu durchdringen. Dieser Effekt erklärt die verschiedenen Wanderungsgeschwindigkeiten der Carbonsäuren durch die stationäre Phase und die dadurch unterschiedlichen Retentionzeiten [24][25].

Ionenpaar-Chromatographie

Die Ionenpaar-Chromatographie (engl. *ion pair chromatography*) IPC ermöglicht die Trennung von Ionen auf Standard RP-HPLC Materialien. Hierfür wird dem Eluenten ein Ionenpaarreagenz beigefügt, welches mit den Analyten neutrale Ionenpaare bildet. Diese Ionenpaare werden durch hydrophobe Wechselwirkungen an der unpolaren RP-Phase retardiert. Aufgrund der unterschiedlichen Bildungskonstanten der Ionenpaare und der unterschiedlichen Affinität zu der stationären Phase ist

eine Trennung dieser Ionenpaare möglich. Als Ionenpaarreagenz kommen lipophile Kationen wie Tetrabutylammonium zum Einsatz.

Ionenaustausch-Chromatographie

Die Ionenaustausch-Chromatographie (engl. *ion exchange chromatography*) IC ist die wichtigste Form der Ionenchromatographie. Bei der Ionenaustausch-Chromatographie befinden sich an der stationären Phase, häufig einem Polymerteilchen, Austauschergruppen mit einer fixierten Ladung. Der Eluent liefert das Gegenion, welches durch ein Analyt ion für eine gewisse Zeit ersetzt werden kann, bis es wieder vom Eluenten verdrängt wird. In der Anionenchromatographie stellt sich folgendes Gleichgewicht ein:



Aufgrund der verschiedenen Affinitäten der Ionen zu den Austauschergruppen, die durch die Ladung, Größe und Polarisierbarkeit der Ionen bestimmt werden, findet man unterschiedliche Verteilungen der Analyten zwischen stationärer und mobiler Phase. Als Maß für die Verteilung der Analyten zwischen der stationären und mobilen Phase gilt der Verteilungskoeffizient K_c , der das Verhältnis der Analytkonzentrationen an der stationären Phase (c_s) zu der mobilen Phase (c_m) angibt.

$$K_c = \frac{c_s}{c_m} \quad (2.2)$$

Je größer der Verteilungskoeffizient ist, desto länger hält sich der Analyt an der stationären Phase auf und eluiert später. Differieren die Verteilungskoeffizienten zweier Analyten ausreichend, erfolgt eine vollständige Trennung dieser Analyten auf der Säule.

Die Ionenaustausch-Chromatographie erlaubt es wässrige Eluenten zu verwenden und ist daher besonders für die Kopplung mit einem ICP-MS geeignet. Bei der richtigen Wahl des Eluenten ist es möglich die Kopplung so zu betreiben, dass das Eluat ohne weitere Vorbehandlung oder Vorkehrungen in das Zerstäubersystem des ICP geleitet werden kann. Weiterhin kann durch die Wahl einer entsprechend großen Probenschleife eine relativ große Menge an Probe auf die Säule aufgebracht werden, um die Nachweisgrenzen zu senken. Daher wurde im Rahmen dieser Arbeit ausschließlich die Ionenaustausch-Chromatographie verwendet, deren stationären Phasen im Folgenden näher beschrieben werden.

2.1.2 Stationäre Phasen

Die Leistungsfähigkeit einer ionenchromatographischen Trennung wird maßgeblich durch die verwendete stationäre Phase beeinflusst. Als Trägermaterial kommen in der Anionenchromatographie

unter anderem *Polystyrol/Divinylbenzol-Copolymere* (PS/DVB) mit Teilchendurchmessern von 5–15 μm zum Einsatz. Dieses Trägermaterial hat aufgrund der porösen Struktur eine große Oberfläche, ist mechanisch stabil und lässt sich in jedem pH-Bereich verwenden. Die Oberfläche dieses Basismaterials muss für den Einsatz in der Anionenchromatographie noch mit positiv geladenen Austauschergruppen funktionalisiert werden. Für diese Funktionalisierung gibt es zwei verschiedene Ansätze: Entweder wird die Oberfläche direkt funktionalisiert, oder die Oberfläche des Trägermaterials ist von einer Schicht aus sehr kleinen Partikeln, häufig Latex-Teilchen, umgeben, die die funktionelle Gruppe tragen und über elektrostatische Wechselwirkungen gehalten werden (Abbildung 2.1). Der Aufbau dieser beiden Typen wird im Folgenden näher beschrieben.

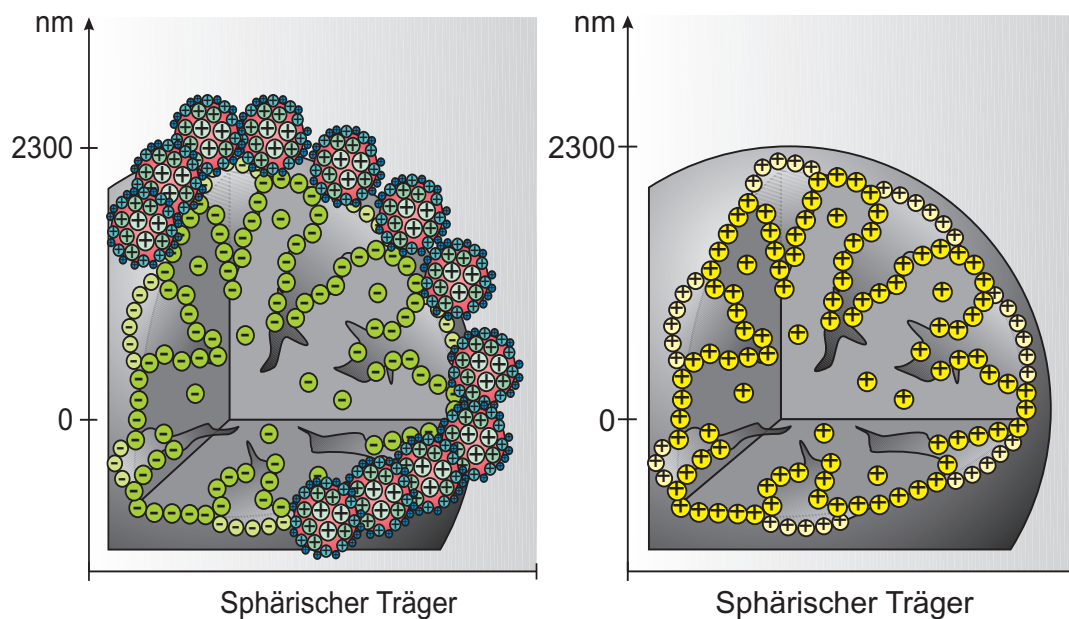


Abbildung 2.1: Aufbau von Latex-Anionenaustauschern (links) und oberflächenfunktionalisierten Anionenaustauschern (rechts) [21].

Latex-Anionenaustauscher

Bei den Latex-Anionenaustauschern wird die gesamte Oberfläche des als Trägermaterial eingesetzten Copolymers mit anionischen Sulfonsäuregruppen funktionalisiert. An diese Gruppen sind kleinere Latexteilchen, deren Oberfläche mit quartären Ammoniumgruppen funktionalisiert ist, durch elektrostatische Wechselwirkungen gebunden. Diese Materialien besitzen eine hohe chromatographische Effizienz, da sie einen schnellen Massentransfer bieten. Ein Nachteil ist die geringere mechanische Stabilität im Verhältnis zu den oberflächenfunktionalisierten Materialien. Weiterhin verfügen diese Materialien aufgrund der sulfonierten Oberfläche auch über Kationenaustauschkapazität, was zu zusätzlichen Wechselwirkungen führen kann. Dies kann, je nach Anwendung, als Vor- oder auch als Nachteil gesehen werden.

Oberflächenfunktionalisierte Anionenaustauscher

Bei der Gruppe der oberflächenfunktionalisierten Anionenaustauscher wird die gesamte Oberfläche des Copolymers mit quartären Ammoniumgruppen funktionalisiert. Nach einer Präfunktionalisierung des Basispolymers mit einem Spacer wird die funktionelle Gruppe an diesen gebunden. Aufgrund der großen Oberfläche des Basispolymers werden bei diesen stationären Phasen sehr viele Austauscherplätze geschaffen, was zu einer geringen Effizienz der Phase führt. In der Dissertation von *M. Raskop* [21] wurde jedoch gezeigt, dass durch eine Propfpolymerisation auch hocheffiziente oberflächenfunktionalisierte stationäre Phasen erhalten werden können, bei denen die Anzahl der Austauscherplätze kontrollierbar ist. Diese Säulen zeichnen sich durch ihre hohe Effizienz bei gleichzeitig großer mechanischer Belastbarkeit und Toleranz im gesamten pH-Bereich aus.

Funktionelle Gruppen in der Anionenchromatographie

Die verwendeten funktionellen Gruppen können einen großen Einfluss auf die Trenneigenschaften haben. In dem von *M. Raskop* entwickelten Verfahren können verschiedenste Amine über einen Spacer an das Polymer gebunden werden. Als Spacer kommt hier Vinylbenzylchlorid (VBC) zum Einsatz, welches in einer nucleophilen Substitution an das Amin gebunden wird. Das Vinylbenzylamin wird dann in einem weiteren Schritt über eine radikalische Addition an das Trägermaterial, ein Polystyrol-Divinylbenzol-Copolymer (PS/DVB), gebunden.

Die verwendeten Amine variieren bezüglich ihrer Substituenten. Häufig verwendete Amine sind *Trimethylamin* (TMA), *Ethyltrimethylamin* (EDMA), *Dimethylethanolamin* (DMEA), *Diethanolmethylamin* (DEMA) und *Triethanolamin* (TEA), die sich in ihrer Polarität unterscheiden und so Einfluss auf die Trenneigenschaften der stationären Phase nehmen. Die Strukturen dieser Austauschergruppen sind in Abbildung 2.2 dargestellt. Für die Elementspeziesanalyse haben sich hier besonders die apolaren Austauscher mit TMA oder EDMA als geeignet gezeigt [26] [27].

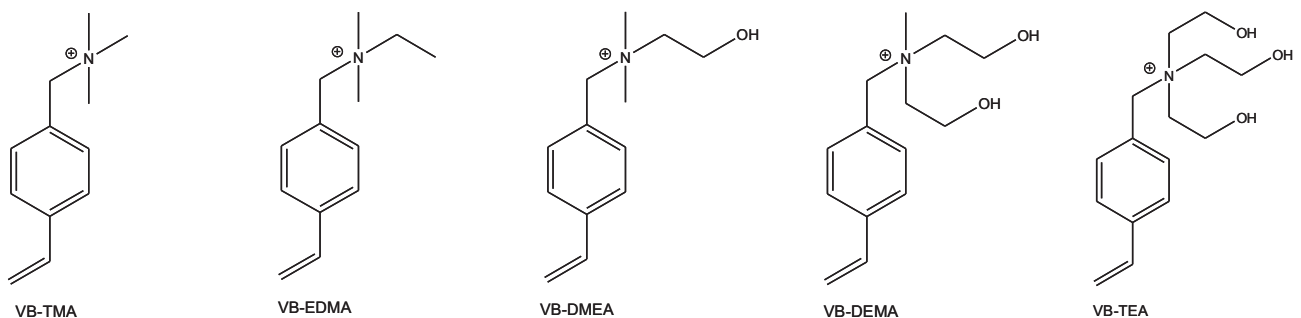


Abbildung 2.2: Austauschergruppen in der Anionenchromatographie.

2.1.3 Eluenten in der Anionenchromatographie

In der Anionenchromatographie kommen primär wässrige Eluenten zum Einsatz. Die Konzentration und der pH-Wert des Eluenten haben einen entscheidenden Einfluss auf das Retentionsverhalten der

Analyten. Bei einer höheren Konzentration des Eluenten werden die Analyten stärker durch Eluentionen von den Austauschertplätzen verdrängt, so dass der Analyt schneller eluiert. Die Abhängigkeit des Retentionsfaktors k' von der Konzentration des Eluenten ist in Gleichung 2.3 zu erkennen. Weiterhin wird der Retentionsfaktor von der Ladung des Eluenten und des Analyten bestimmt. Bei einer doppellogarithmischen Auftragung des Retentionsfaktors gegen die Eluentkonzentrationen erhält man eine Gerade, deren Steigung $\frac{x}{y}$ entspricht.

Der pH-Wert des Eluenten beeinflusst den Protonierungsgrad und damit die Ladung der Analyten, was sich, wie ebenfalls in Gleichung 2.3 zu erkennen ist, sehr empfindlich auf das Retentionsverhalten auswirkt.

$$\log k' = C_1 - \frac{x}{y} \log[E_m^{y-}] \quad (2.3)$$

C_1	Konstante
x	Ladung des Analytion
y	Ladung des Eluention
$[E_m^{y-}]$	Konzentration des Eluenten in der mobilen Phase mit der Ladung y

2.1.4 Chromatographische Kenngrößen

In Abbildung 2.3 ist ein Chromatogramm skizziert, in dem einige der chromatographischen Kenngrößen eingezeichnet sind. Auf diese Größen soll im Folgenden näher eingegangen werden.

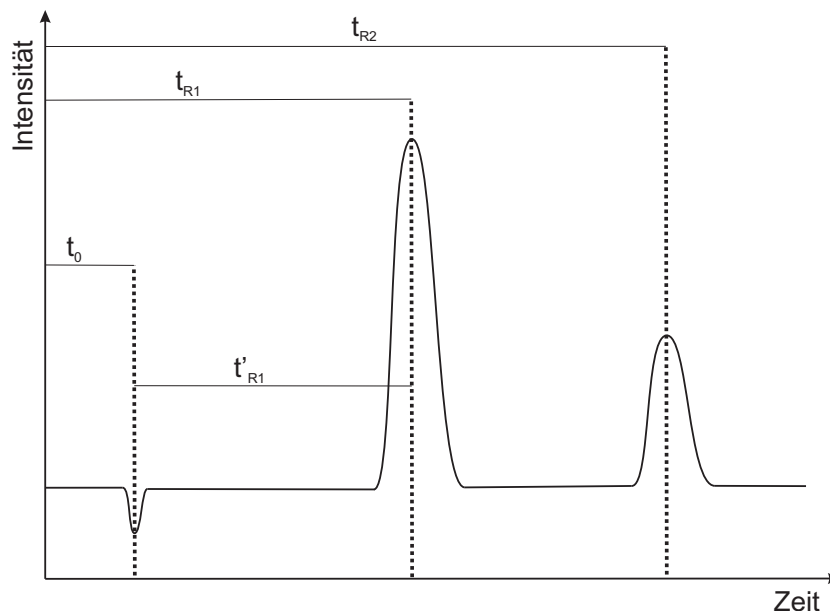


Abbildung 2.3: Skizze eines Chromatogramms.

Die Zeit, die ein Analyt von der Injektion bis zum Detektor braucht, wird als *Bruttoretentionszeit* t_R bezeichnet. Subtrahiert man von diesem Wert die Zeit, die ein Eluent, welcher keine Retention auf der

stationären Phase erfährt, für das Durchfließen der stationären Phase braucht, die sogenannte *Totzeit* t_0 , erhält man die *Nettoretentionszeit* oder auch *reduzierte Retentionszeit* t'_R .

$$t'_R = t_R - t_0 \quad (2.4)$$

Der *Kapazitätsfaktor* k' ist ein Maß, um wieviel länger sich ein Analyt an der stationären als in der mobilen Phase aufhält. Er berechnet sich wie folgt aus der Bruttoretentionszeit und der Totzeit:

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0} = \frac{t'_R}{t_0} \quad (2.5)$$

Der Kapazitätsfaktor sollte im Idealfall einen Wert zwischen 1 und 5 annehmen. Ist er zu klein, eluieren die Analyten sehr nahe an dem Injektionspeak, so dass eine quantitative Auswertung erschwert wird. Bei zu großen Kapazitätsfaktoren werden die Retentionszeiten sehr lang. Beim Vergleich chromatographischer Eigenschaften verschiedener Systeme bietet es sich an, den Kapazitätsfaktor statt der Retentionszeit anzugeben, da dieser von systembedingten Parametern wie der Flussrate unabhängig ist. Der *Trennfaktor* α ist als das Verhältnis zwischen den Kapazitätsfaktoren zweier Analyten definiert.

$$\alpha = \frac{k'_2}{k'_1} \quad k'_2 > k'_1 \quad (2.6)$$

Der Trennfaktor gibt Auskunft über die Trennbarkeit zweier Analyten. Nimmt α einen Wert von eins an, erfahren beide Substanzen die gleiche Retention auf der stationären Phase und coeluieren. Je größer dieser Trennfaktor ist, desto weiter sind die Analyten voneinander getrennt.

Aufgrund von Diffusionsprozessen an der stationären Phase kommt es zu Bandenverbreiterungen, so dass man kein unendlich schmales Signal erhält, sondern im Idealfall gaussförmige Peaks (Abbildung 2.4).

Die Diffusionsprozesse setzen sich aus der Eddy-Diffusion, der Longitudinaldiffusion und den Massentransport-Effekten zusammen. Die Eddy-Diffusion wird durch die Partikel der stationären Phase beeinflusst. Beim Transport durch die stationäre Phase müssen die Analyten Partikel umwandern und legen dabei unterschiedliche Weglängen zurück. Die Longitudinaldiffusion beruht auf zufälligen Bewegungen der Analyten in der mobilen Phase. Während die mobile Phase sich nur in die Flussrichtung bewegt, finden diese zufälligen Bewegungen in alle Richtungen statt. Die Massentransport-Effekte erklären unter anderem eine Bandenverbreiterung durch das Hineindiffundieren der Analyten in die Poren der stationären Phase. Teilchen, die sich in den Poren aufhalten, durchwandern das chromatographische Bett langsamer als solche, die sich außerhalb der Poren aufhalten.

Je länger eine Substanz an der stationären Phase retardiert wird, desto mehr nimmt sie an Diffusionsprozessen teil und eluiert als breiteres Signal. Wichtige Größen der Gaussverteilung sind die

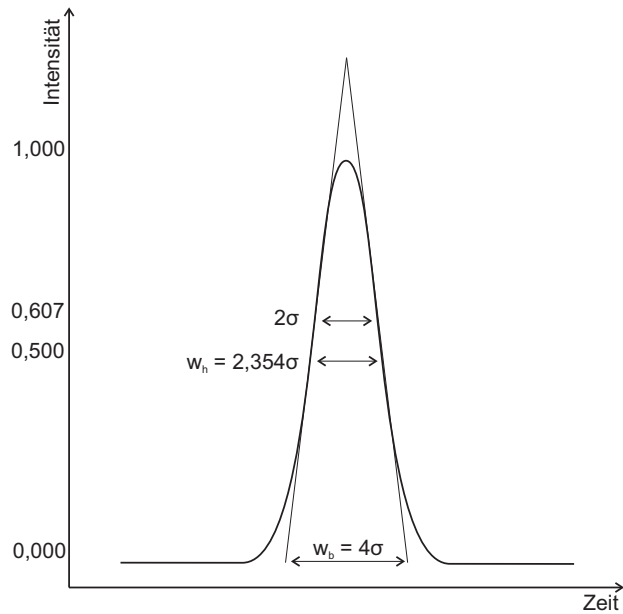


Abbildung 2.4: Skizze eines ideal gaussförmigen Peaks.

Halbwertsbreite w_h und *Basisbreite* w_b . Die Halbwertsbreite ist definiert als die Breite des Peaks bei halber Höhe und lässt sich mit Hilfe der Standardabweichung σ bestimmen:

$$w_h = 2,354 \cdot \sigma \quad (2.7)$$

Die *Basisbreite* ist der Abstand zwischen den Schnittpunkten der Wendetangenten und der Basislinie und kann ebenfalls durch die Standardabweichung berechnet werden:

$$w_b = 4 \cdot \sigma \quad (2.8)$$

Ein Maß für die Güte einer chromatographischen Trennung ist die Auflösung K_s , die im Gegensatz zum Trennfaktor auch die Breite der Peaks einbezieht. Die Auflösung gibt das Verhältnis aus den Retentionszeiten t_R und den Basisbreiten w_b der Peaks an.

$$R_s = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w_{b1} + w_{b2}} \approx \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w_{b2}} \quad (2.9)$$

Bei einer Auflösung von $R_s = 1$ überlagern sich die Signale noch um ca. 2%. Ab einer Auflösung von $R_s = 1,5$ gelten zwei Peaks als basisliniengetrennt.

2.1.5 Detektoren in der Ionenchromatographie

Der am häufigsten verwendete Detektor in der Ionenchromatographie ist der Leitfähigkeitsdetektor. Weitere verbreitete Detektoren in der IC sind:

- Amperometrische Detektion
- Photometrische Detektion
- Refraktometrische Detektion
- Kopplungstechniken

Leitfähigkeitsdetektor

Die elektrolytische Leitfähigkeit beruht auf der Fähigkeit elektrolytischer Lösungen Strom I zwischen zwei Elektroden zu leiten, an denen ein elektrisches Feld angelegt ist. Die Größe des Stroms kann durch das ohmsche Gesetz beschrieben werden und hängt von der angelegten Spannung U und dem Widerstand R der Elektrolytlösung ab:

$$I = \frac{U}{R} \quad (2.10)$$

Der Kehrwert des Widerstandes wird als Leitfähigkeit G bezeichnet und hat die Einheit siemens (S).

$$G = \frac{1}{R} \quad (2.11)$$

Die spezifische Leitfähigkeit κ berücksichtigt die Elektrodenfläche A in cm^2 und den Elektrodenabstand l in cm und besitzt demnach die Einheit S cm^{-2} . $\frac{l}{A}$ wird auch als Zellkonstante K in cm^{-1} bezeichnet.

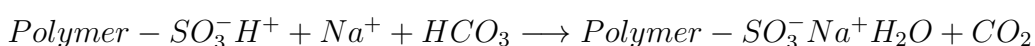
$$\kappa = G \frac{l}{A} = GK \quad (2.12)$$

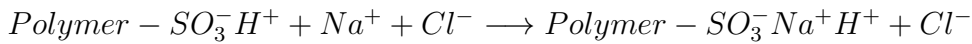
Die Äquivalentleitfähigkeit Λ berücksichtigt die Konzentration C der Lösung:

$$\Lambda = \frac{\kappa}{C} = \Lambda C \quad (2.13)$$

Demnach ist die Leitfähigkeit eines Elektrolyten von der Konzentration der darin enthaltenen Ionen abhängig. Dieses kann für die Detektion genutzt werden, wenn die Analyten eine andere Äquivalentleitfähigkeit besitzen als der Eluent. Je größer dieser Unterschied ist, desto empfindlicher ist der Detektor. Daher wird bei den meisten Anwendungen durch einen Suppressor die Grundleitfähigkeit des Eluenten gesenkt und im Idealfall die Leitfähigkeit der Analyten erhöht.

Der Suppressor besteht im einfachsten Fall aus einem mit Protonen gesättigten Kationentauscher, der den Eluenten, z. B. Natriumbicarbonat, neutralisiert und das Gegenion vom Analyten gegen H^+ austauscht, welches eine wesentlich höhere Äquivalentleitfähigkeit besitzt.





Da nach gewisser Zeit alle Protonen des Suppressors durch Natrium ersetzt werden, muss dieser dann mit einer Säure, z. B. Schwefelsäure, regeneriert und anschließend mit Wasser gespült werden. Um quasikontinuierlich zu arbeiten, nutzt man Packed-Bed-Suppressor, der aus drei Säulen besteht. Während eine Säule im Betrieb ist, regeneriert die zuletzt genutzte Säule und eine weitere Säule wird gespült. Der Aufbau eines sogenannten Revolver-Suppressors der Fa. Metrohm ist in Abbildung 2.5 skizziert.

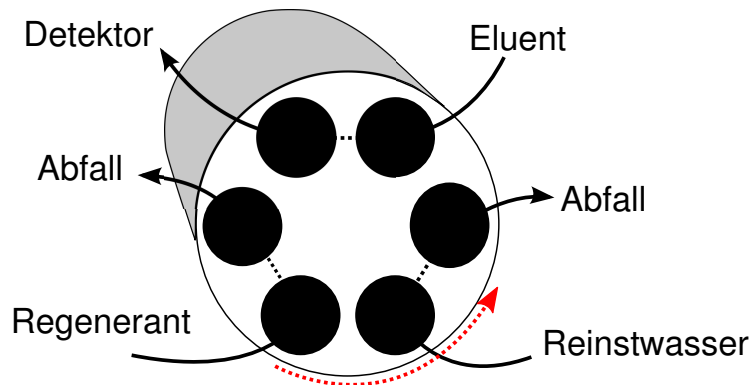


Abbildung 2.5: Skizze eines Suppressors.

Diese Einheit wird vor jeder Messung automatisch um 120° gedreht und stellt so zu jeder Messung eine frisch regenerierte und gespülte Kartusche bereit.

Amperometrische Detektion

Die amperometrische Detektion wird für Analyten verwendet, die sich an einer Elektrode, an der ein Potential anliegt, oxidieren oder reduzieren lassen. Die Rate der Reaktion lässt sich an dem fließenden Strom messen, der das Messsignal darstellt. Diese Detektionsmethode wird vor allem bei der Zuckeranalytik mit der IC verwendet.

Photometrische Detektion

Die photometrische Detektion findet große Anwendung in der HPCL. Sie basiert auf einer unterschiedlichen Absorption einer bestimmten Wellenlänge von Analyt und Eluent. Grundlage hierfür ist das Lambert-Beersche Gesetz:

$$E = \ln \frac{I_0}{I_1} = \epsilon cd \quad (2.14)$$

E ist die Extinktion, I_1 entspricht der Intensität des transmittierten Lichts und I_0 der Intensität des eingestrahnten Lichts. ϵ ist der Extinktionskoeffizient, d die Schichtdicke der Küvette und c die Konzentration der absorbierenden Substanz. Der Extinktionskoeffizient ϵ ist unter anderem von dem jeweiligen Stoff und der verwendeten Wellenlänge abhängig. Im Idealfall sollte er bei der verwendeten

Wellenlänge für den Eluenten möglichst klein und für die Analyten möglichst groß sein, um eine gute Empfindlichkeit zu erreichen. Dieses ist in der HPLC mit den meisten organischen Analyten gegeben, in der IC jedoch nur für wenige Analyten. Eine Möglichkeit, diese Analyten dennoch photometrisch zu detektieren, stellt die Nachsäulenderivatisierung da. Hierbei wird nach der Trennung ein Reagenz beigemischt, welches die Analyten in eine UV-aktive Form überführt.

Refraktometrische Detektion

Die refraktometrische Detektion misst die Änderung des Brechungsindex. Da jedes Salz den Brechungsindex von Wasser ändert, wenn man dieses hinzufügt, kann der refraktometrische Detektor als universeller Detektor angesehen werden. Je größer das Molekulargewicht des Analyten ist, desto größer wird der Brechungsindex. Dies hat zur Folge, dass diese Methode besonders für organische Salze geeignet ist.

2.1.6 Apparativer Aufbau

Im Nachfolgenden soll der schematische Aufbau eines Ionenchromatographen, wie er in Abbildung 2.6 gezeigt ist, näher erläutert werden. Ein ionenchromatographisches System besteht im Wesentlichen aus einer Hochleistungspumpe, die den Eluenten fördert, einem Probenaufgabeeventil, der Trennsäule und einem Detektor.

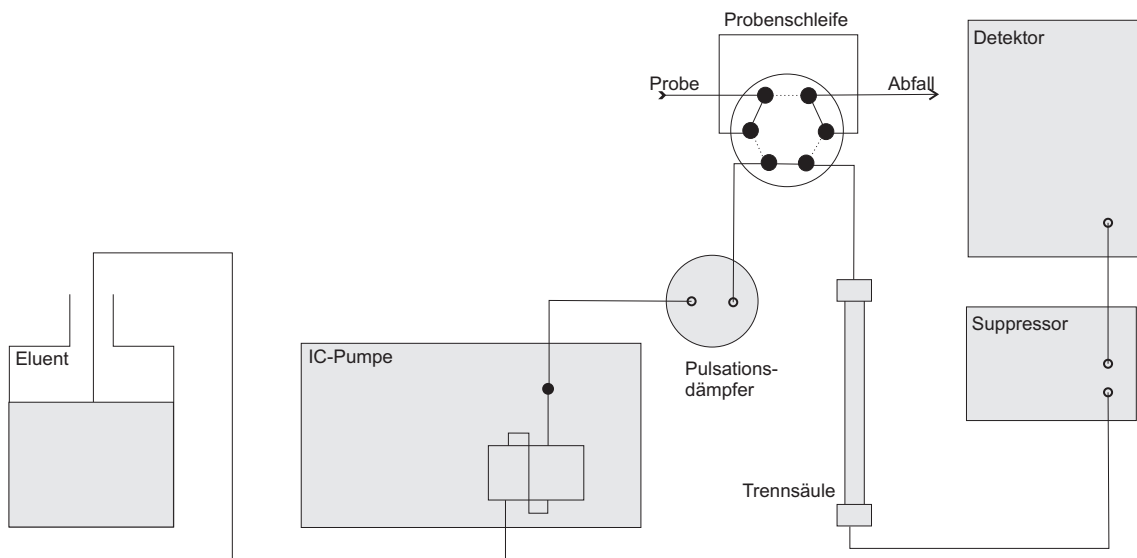


Abbildung 2.6: Aufbau eines einfachen ionenchromatographischen Systems.

Um dem Eluenten gelöste Gase zu entziehen, die im System zu Störungen führen können, wird der Eluent noch vor der Pumpe durch einen Degaser geleitet. Zur Reduktion von Pulsationen durchfließt der Eluent nach der Pumpe zusätzlich einen Pulsationsdämpfer. Die Probenaufgabe erfolgt über ein Injektionsventil, welches vor die Trennsäule geschaltet ist. Von Bedeutung ist die Größe der verwendeten Probenschleife, da durch diese das Probenaufgabevolumen bestimmt wird. Der Ausgang der

2.1. IONENCHROMATOGRAPHIE

Trennsäule wird an den Detektor angeschlossen. Im Falle der suppressierten Leitfähigkeitsdetektion wird der Suppressor zwischen Trennsäule und Detektor geschaltet.

2.2 Induktiv gekoppelte Plasma-Massenspektrometrie

Die induktiv gekoppelte Plasma-Massenspektrometrie ist eine moderne, hochempfindliche Methode zur quasi-simultanen Multielementanalyse. Sie liefert für nahezu alle Elemente des Periodensystems Nachweisgrenzen bis in den ng l^{-1} Bereich. Zusätzlich zeichnet sie sich durch einen großen dynamischen Arbeitsbereich von 8 – 9 Größenordnungen aus und ermöglicht es, viele Elemente innerhalb von wenigen Minuten zu bestimmen. Als Nachteil der ICP-MS müssen die hohen Kosten für die Anschaffung und den Betrieb gesehen werden. Aufgrund der hohen Temperaturen in dem Plasma werden 15 Liter Argon pro Minute benötigt, um ein Schmelzen der Quarzglasfackel zu verhindern [28] [29] [30] [31].

Nach der Entwicklung des ICP für die *Atom Emissions Spektrometrie* (AES) durch *S. Greenfield* im Jahre 1964 [32] wurde 1975 durch die Arbeit von *R. Houk* und *V. Fassel* an der Iowa State University zusammen mit *A. Gray* von der Universität Surrey [33] das erste Massenspektrometer vorgestellt, welches ein ICP als Ionenquelle verwendet. Die größte Herausforderung bei der Entwicklung des ICP-MS war das Interface, welches das ICP mit dem Massenspektrometer verbindet. Hierbei müssen die Ionen aus dem Plasma extrahiert und in das Hochvakuum des Massenspektrometers überführt werden. Dieses wurde durch das zweistufige Interface nach *D. Douglas* und *J. French* [34] realisiert. In Abbildung 2.7 ist der Aufbau des in dieser Arbeit verwendeten ICP-MS Agilent 7500ce skizziert. In der Probenzuführung wird die flüssige Probe in ein feines Aerosol zerstäubt und anschließend in das Plasma gebracht. Im Plasma wird das Aerosol getrocknet, verdampft, atomisiert und anschließend ionisiert. Ein Teil der Ionen werden aus dem Plasma extrahiert und über das Interface und die Ionenoptik durch die Reaktionszelle zum Massenanalysator geleitet. Die Ionen mit dem „richtigen“ Masse-zu-Ladungs-Verhältnis passieren den Massenanalysator und erzeugen am Detektor ein Signal, welches über einen Computer ausgewertet werden kann.

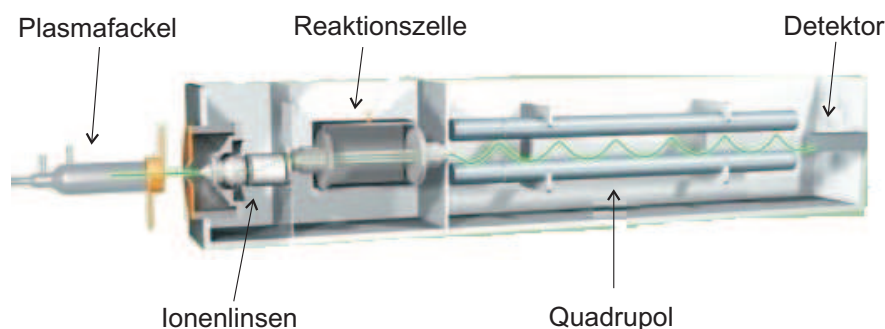


Abbildung 2.7: Schematischer Aufbau des Agilent 7500ce [28].

2.2.1 Die Probenzuführung

Üblicherweise liegen die Proben für die ICP-MS in flüssiger Form vor. Diese werden durch einen Zerstäuber in ein Aerosol überführt und in das Plasma geleitet. Alternativ können Feststoffe auch

über die *Laserablation* (LA) [35] oder *elektrothermale Verdampfung* (ETV) [36] in das Plasma eingebracht werden. Die genannten Methoden erfordern einen höheren technischen Aufwand, jedoch kann man durch diese, je nach Anwendungsgebiet, einen aufwendigen chemischen Aufschluss zum Teil umgehen.

Um flüssige Proben als Aerosol in das Plasma einzubringen, können die bekannten Zerstäuber aus der ICP-AES übernommen werden. Zu diesen zählen der *Crossflow Zerstäuber* nach *Babington* [37], der *konzentrische Zerstäuber* nach *Meinhard* [38] und der Ultraschall-Zerstäuber [39]. Diese unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Aerosolabgabe, der Toleranz von salzhaltigen Lösungen und unterschiedlich großen Memory-Effekten. Der Crossflow-Zerstäuber toleriert eine höhere Salzfracht, ist in seiner Zerstäubung aber relativ ineffizient. Der Ultraschallzerstäuber zeichnet sich durch seine hohe Effizienz aus. Jedoch würden durch die hohe Aerosolabgabe auch große Mengen an Lösungsmittel in das Plasma gelangen, die dort das empfindliche Gleichgewicht stören. Um dieses Problem zu umgehen, wird eine Desolvatisierungseinheit zwischen Zerstäuber und Plasma geschaltet. Diese leidet aufgrund der Größe unter Memory-Effekten, so dass auch der Ultraschallzerstäuber nicht universell einsetzbar ist.

In dieser Arbeit wurde ein konzentrischer Micro-Flow-Zerstäuber nach *Meinhard* verwendet. Dieser Zerstäuber ist aus PFA (Perfluoroalkoxyethylen) gefertigt und ermöglicht zusätzlich den Einsatz von flusssäurehaltigen Lösungen. Der Aufbau eines solchen Zerstäubers ist in Abbildung 2.8 skizziert. Durch die innere Kapillare wird die flüssige Probe befördert, während die äussere von 0,5 – 1,5 l min⁻¹ Argon durchströmt wird. Beim Aufeinandertreffen des Argonstroms auf die Probenlösung, wird diese in feine Tröpfchen zerrissen und bildet so das Aerosol. Bei einer Flussrate der Probenlösung von 0,05 ml min⁻¹ bis 0,20 ml min⁻¹ liefert dieser Zerstäuber die besten Aerosolabgaben.

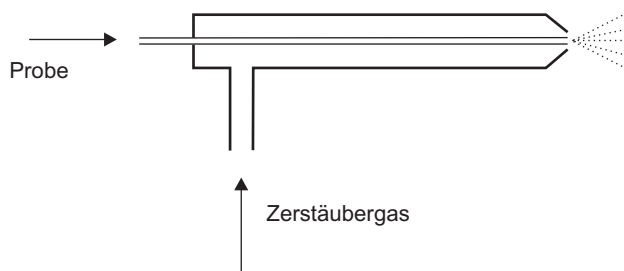


Abbildung 2.8: Skizze des verwendeten Micro-Flow-Zerstäubers.

Der Micro-Flow-Zerstäuber liefert Aerosole mit einer Tropfengrößenverteilung von unter 10 μm bis 100 μm . Zur Gewährleistung einer effektiven Verdampfung und Ionisation im Plasma ist eine einheitliche Tropfengröße von unter 10 μm erforderlich. Zum Abtrennen der größeren Tropfen wird das Aerosol durch eine Sprühkammer geleitet, wie sie in Abbildung 2.9 zu sehen ist. Um diese Kammer zu passieren, müssen die Tropfen in dem Argonstrom eine 180° Wendung durchlaufen, welches nur für die kleinen Tropfen möglich ist. Die großen Tropfen prallen an den Wänden ab und werden in einem Abfallbehälter entsorgt. Es kommen in der ICP-Spektrometrie verschiedene Sprühkammern

zum Einsatz, von denen die hier verwendete Doppelpass-Sprühkammer nach *Scott* [40] am häufigsten verwendet wird. Die Sprühkammer wird durch ein Peltier-Element auf 2 °C gekühlt, um den Lösungsmittelanteil des Aerosols weiter zu reduzieren. Nach dem Passieren der Sprühkammer liegen nur noch weniger als 5% der ursprünglich aufgegebenen Probe vor, die in das Plasma eingebracht werden.

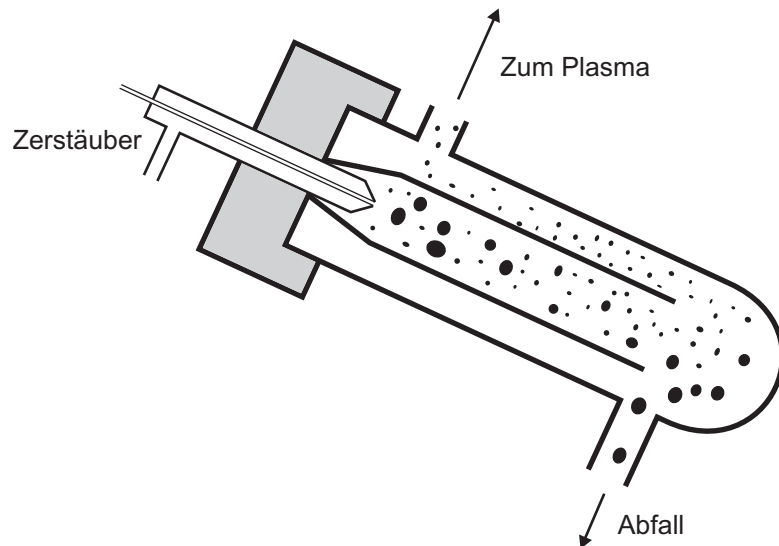


Abbildung 2.9: Skizze einer Doppelpass-Sprühkammer nach *Scott* [40].

2.2.2 Die Ionisierungseinheit

Als Ionisierungseinheit wird das induktiv gekoppelte Plasma verwendet. Als Plasma bezeichnet man in der Physik Gase, deren Eigenschaften primär durch das Vorhandensein von Ionen und Elektronen bestimmt werden. Einige Eigenschaften, wie Druck und Volumen, sind dieselben wie die eines idealen Gases. Andere Eigenschaften unterscheiden sich jedoch aufgrund der geladenen Teilchen deutlich von denen eines idealen Gases. Dazu zählen die Viskosität und die thermische und die elektrische Leitfähigkeit. Das Plasma wird auch als vierter Aggregatzustand bezeichnet und kommt in der Natur in Form von Blitzen und Polarlichtern vor. Künstlich erzeugte Plasmen haben als Leuchtstoffröhren den Einzug in den Alltag gefunden.

Um ein künstliches Plasma aufrechtzuerhalten, muss diesem Energie extern zugeführt werden. Dies kann z. B. in Form von elektrischen oder elektromagnetischen Feldern passieren. Gängige Plasmaquellen sind:

- Gleichstromplasma
- Mikrowellenplasma
- induktiv gekoppeltes Plasma

Bei einem Gleichstromplasma (*engl. direct current plasma*) DCP wird ein großes elektrisches Feld zwischen zwei Elektroden angelegt. Durch eine elektrische Entladung wird das Gas zwischen den Elektroden ionisiert und ein Plasma entsteht. Durch Aufbringen der zu analysierenden Substanz auf einer der Elektroden wird diese atomisiert und zur Strahlung angeregt. Dadurch kann ein DCP als Anregungsquelle für die Atomemissionsspektroskopie verwendet werden.

Bei einem Mikrowellenplasma (*engl. microwave induced plasma*) MIP werden durch ein Magnetron erzeugte Mikrowellen (2,45 GHz) in einen speziell geformten Hohlraumresonator eingekoppelt. Hierbei entsteht eine stehende Welle, deren Energiedichte im Zentrum des Resonators am größten ist. An diese Stelle kann mit einer speziellen Röhre das Plasmagas, welches die Probe enthält, geleitet werden. Aufgrund der geringen Toleranz gegenüber Lösungsmitteln, findet diese Emissionsquelle primär als Detektor in der GC Anwendung.

Das ICP ist die am weitesten verbreitete Form des Plasmas für analytische Zwecke. Es wird sowohl als Anregungsquelle in der Atomemissionsspektroskopie, als auch als Ionenquelle in der Massenspektrometrie verwendet. Das Plasma wird in einem Argonstrom durch ein hochfrequentes elektromagnetisches Wechselfeld erzeugt. Argon wird verwendet, da es ein monoatomares Element mit einer hohen Ionisierungsenergie (15,76 eV) ist. Dadurch ist es in der Lage die meisten Elemente des Periodensystems zu ionisieren. Weiterhin bildet es keine stabilen Verbindungen mit den Analyten. Argon kommt zu 0,93% in der Atmosphäre relativ häufig vor und ist damit eines der günstigeren Edelgase. Es hat jedoch den Nachteil, dass die thermale Leitfähigkeit relativ gering ist. Daher gibt es auch Anordnungen, in denen dem Plasmagas weitere Gase, wie z. B. Stickstoff beigemischt werden.

Die Ionisierungseinheit besteht aus einem Hochfrequenzgenerator, der über eine Induktionsspule die Energie in das Argonplasma einkoppelt. Nach der Erzeugung erster freier Ladungen, z. B. durch einen Teslafunken, werden diese in dem Wechselfeld beschleunigt und kollidieren mit neutralem Argon, wobei dieses ionisiert wird. Da die Masse der Elektronen im Vergleich zu den Argonionen sehr klein ist, erreichen diese eine wesentlich höhere Geschwindigkeit im Feld und sind primär für die weiteren Ionisationsprozesse verantwortlich:



Die Ionen und Elektronen werden in dem Feld weiter beschleunigt und produzieren so weitere freie Ionen und Elektronen. Dies geschieht solange, wie das RF Feld aufrecht erhalten wird. Die Temperatur in einem ICP liegt, abhängig von der Generatorleistung, zwischen 8 000 und 10 000 °C. In einem solchen Plasma sind ca. 2/3 aller Elemente des Periodensystems zu 90% ionisiert. Der Ionisierungsgrad der verschiedenen Elemente lässt sich nach der Saha-Gleichung abschätzen:

$$\frac{N_{ij}N_e}{N_{aj}} = \frac{(2\pi m_e kT)^{3/2}}{h^3} \cdot \frac{2z_{ij}}{z_{aj}} \cdot e^{\frac{e_j}{kT}} \quad (2.15)$$

N_{aj}, N_{ij}	Konzentration der Atome bzw. Ionen des Elementes j
N_e	Konzentration der freien Ionen
k, h, m_e	Boltzmann- und Planck-Konstante, Elektronenmasse
z_{aj}, z_{ij}	Partitionsfunktion der Atome bzw. Ionen vom Element
e_j	Ionisierungsenergie des Elements j
T	Ionisationstemperatur im Plasma

Der Aufbau der sogenannten Plasmafackel nach *Fassel* [40] ist in Abbildung 2.10 skizziert. Sie besteht aus drei konzentrischen Quarzglasröhren. Durch die äussere Röhre strömt das Plasmagas mit einer Geschwindigkeit von $12 - 18 \text{ l min}^{-1}$. Das Plasmagas hat neben der Aufrechterhaltung des Plasmas noch zusätzlich die Aufgabe, die Plasmafackel zu kühlen, da diese bei den hohen Temperaturen schmelzen würde. Aufgrund der Geometrie der äusseren Röhre entstehen Verwirbelungen, die für die Form des Plasmas mitverantwortlich sind. Durch die innere Röhre wird das Probenaaerosol mit einem Argonstrom von $0,5 - 1,0 \text{ l min}^{-1}$ in das Plasma eingebracht. Durch die mittlere Röhre fließt ein Argonstrom, der als Hilfsgas bezeichnet wird. Dieser hat eine Flussgeschwindigkeit von max. $1,5 \text{ l min}^{-1}$ und kann die Form und Position des Plasmas beeinflussen.

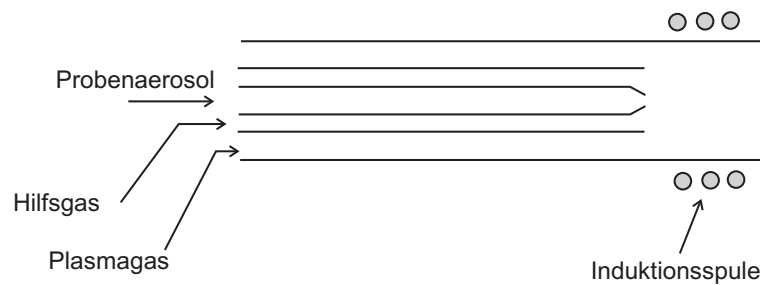


Abbildung 2.10: Skizze einer Plasmafackel nach *Fassel*.

Gelangt ein Analyt als Aerosol in das Plasma, werden eine Reihe von Prozessen durchlaufen:

1. Trocknung
2. Verflüssigung
3. Verdampfung
4. Atomisierung
5. Anregung
6. Ionisation

Dabei dauern die Schritte Trocknung bis Atomisierung relativ lange (einige ms); liegen die Analyten erstmal in atomarer Form vor, werden diese dann sehr schnell angeregt und ionisiert [41].

Die Spitze der Plasmafackel ist von einer Induktionsspule aus Kupfer umgeben, an die ein Hochfrequenzgenerator angeschlossen ist. Aufgrund der großen Energien, die hier eingekoppelt werden, muss die Spule von innen mit Kühlwasser durchflossen werden, um ein Schmelzen zu verhindern.

Die Spule überträgt die Leistung des Generators von 600 – 2 000 Watt in das Plasma. Als Frequenzen kommen in der ICP 27,12 oder 40,24 MHz zum Einsatz, die für wissenschaftliche Zwecke reserviert sind und so keine Störungen bei anderen Geräten verursachen können. Der im Agilent 7500ce verwendete Generator arbeitet mit einer Frequenz von 27,12 MHz. Zusätzlich ist in diesem Gerät eine sogenannte Shield-Torch verbaut, die für eine homogene Energieverteilung der Ionen sorgt. Die Shield-Torch zeichnet sich durch ein dünnes geerdetes Platinblech aus, welches zwischen der Induktionsspule und der Plasmafackel angebracht ist und hierdurch das Plasma auf dasselbe Potential wie das Interface gebracht wird. Hierdurch werden auch sekundäre Entladungen im Interface verringert, wodurch einige spektrale Interferenzen reduziert werden [42].

2.2.3 Das Interface

Das Interface hat die Aufgabe, die Ionen aus dem Plasma zu extrahieren, und sie vom Atmosphärendruck in das Hochvakuum zu überführen. Dies geschieht in zwei Stufen: In der ersten werden die Ionen in ein Vorvakuum mit einem Druck von ca. 5 mbar überführt. Erst im zweiten Schritt gelangen die Ionen von dem Vorvakuum in das Hochvakuum mit einem Druck von $10^{-7} - 10^{-8}$ mbar.

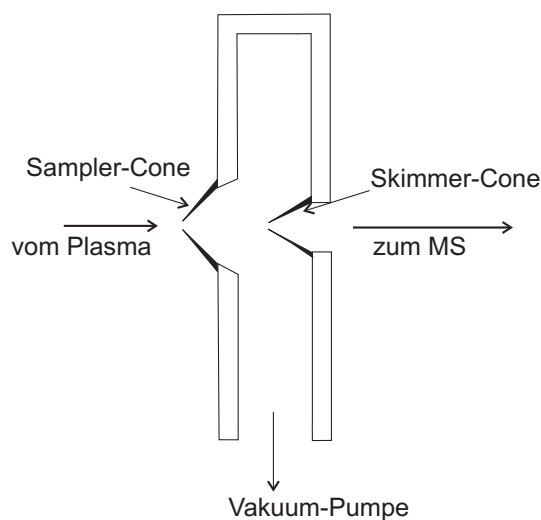


Abbildung 2.11: Skizze des Interfaces zur Überführung der Ionen in das Hochvakuum.

Der Aufbau eines solchen Interfaces ist in Abbildung 2.11 skizziert. Es besteht aus zwei konusförmigen Lochblenden, die als *Cones* bezeichnet werden. Die erste Lochblende, der *Sampling-Cone*, hat eine Öffnung von ca. 1 mm und besteht in der Regel aus Nickel. Dieser Cone taucht in das Plasma ein, um die Ionen zu extrahieren und in das Vakuum zu überführen. Dabei bildet sich zwischen dem heißen Plasma und dem gekühlten Cone eine kältere Gasschicht. Hinter diesem Cone breitet sich das Gas mit Überschallgeschwindigkeit in der Expansionskammer, in der ein Druck von ca. 5 mbar herrscht, aus und kühlt sich dabei auf ca. 600 °C ab. Durch die vergleichsweise niedrigen Temperaturen können sich in der Expansionskammer Molekülionen, meist Argonverbindungen, bilden, die als

isobare Interferenzen die Messung auf einigen m/z stören können. Die zweite Lochblende mit einer Öffnung von 0,5 mm, der *Skimmer-Cone*, ist in der Regel ebenfalls aus Nickel gefertigt und befindet sich hinter dem *Sampling-Cone*. Der Abstand und die Form dieser Cones ist entscheidend für die Ionenausbeute und variiert leicht je nach Hersteller. Aufgrund von Ablagerungen, die die Empfindlichkeit des Systems negativ beeinflussen, müssen die Cones regelmäßig gereinigt werden. Bei einer signifikanten Vergrößerung oder Verformung der Öffnungen müssen sie durch Neue ersetzt werden. Durch die Verwendung von Nickel als Conematerial ist die Messung von diesem Metall mit einem hohen Untergrund verbunden. Zu diesem Zweck und für die Verwendung von Flußsäure sind auch Cones aus Platin erhältlich [43].

2.2.4 Die Ionenoptik

Die Ionenoptik hat die Aufgabe, die Ionen zu einem engen Ionenstrahl zu bündeln, und diesen durch den Massenanalysator zu führen. Die Ionenlinsen bestehen aus Elektroden in Form von Zylindern und Blechen, an die ein positives oder negatives Potential angelegt werden kann. Der Aufbau der Ionenoptik variiert je nach Hersteller. Der Aufbau des Agilent 7500ce ist in Abbildung 2.12 skizziert. Die Extraktionslinsen bündeln und beschleunigen den Ionenstrahl, der aus dem Plasma extrahiert wird. Eine Besonderheit der Ionenoptik der Fa. Agilent ist die Off-axis Anordnung, bei der die Ionen gezielt durch eine zylindrische Ionenlinse von der Achse abgebracht und durch eine Lochblende geleitet werden, um neutrale Teilchen wie Photonen nicht in den Analysator gelangen zu lassen. Neutrale Teilchen lassen sich durch Potentialdifferenzen nicht von der Bahn ablenken und werden so von dem Ionenstrahl, der sich nun im Abstand von ca. 5 mm parallel zu der eigentlichen Bahn bewegt, entfernt. Typische Einstellungen für die Ionenlinsen sind in Tabelle 2.2 aufgelistet.

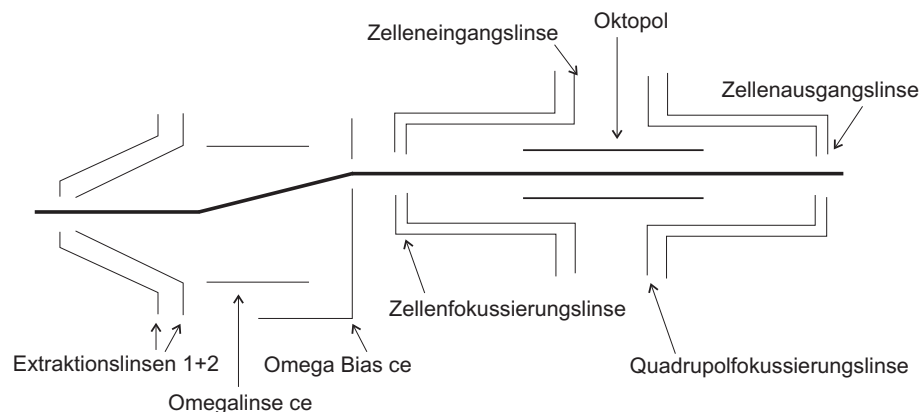


Abbildung 2.12: Skizze des Aufbaus der Ionenoptik in dem Agilent 7500ce.

2.2.5 Die Oktopol Reaktions-/Kollisionszelle

Eine moderne Weiterentwicklung der ICP-MS Technik ist die Reaktions-/Kollisionszelle zur Unterdrückung und Beseitigung spektraler Interferenzen. Für weitere Informationen über die Geschichte

Tabelle 2.2: Standardeinstellungen der Ionenlinsen.

Linse	Spannung / V
Extraktionslinse 1	1 – 5
Extraktionslinse 2	-150 – -120
Omegalinse ce	-5 – 5
Omega Bias ce	-15 – 40

und Funktionsweise der Reaktions-/Kollisionszelle sei hier auf ein Tutorial Review von *S. D. Tanner* verwiesen [44]. Wie schon beschrieben, bilden sich in der Expansionskammer Molekülionen, die die Detektion von einigen Elementen stören können. Beispiele solcher polyatomischer Ionen sind in Tabelle 2.3 aufgelistet. Diese Molekülionen besitzen die gleiche Masse wie Analytione und lassen sich nicht über einen üblichen Quadrupol-Massenanalysator trennen.

Die Zelle sitzt zwischen den Hauptionenlinsen und dem Massenanalysator. Sie besteht aus acht Metallstäben, an denen eine Wechselfspannung angelegt wird, um den Ionenstrahl fokussiert auf einer stabilen Bahn zu halten. Zusätzlich befinden sich an dieser Zelle Einlassventile, so dass bestimmte Gase in die Zelle geleitet werden können. Die Zelle kann entweder im Reaktions- oder Kollisionsmodus betrieben werden. Die Unterschiede zwischen den Modi und ihre Funktionsweisen sollen im Folgenden erklärt werden:

Tabelle 2.3: Relevante polyatomare Interferenzen.

Isotop	Interferierende Molekülionen
^{52}Cr	$^{36}\text{Ar}^{16}\text{O}$, $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}$, $^{35}\text{Cl}^{16}\text{OH}$, $^{37}\text{Cl}^{14}\text{NH}$
^{53}Cr	$^{36}\text{Ar}^{16}\text{OH}$, $^{40}\text{Ar}^{13}\text{C}$, $^{37}\text{Cl}^{16}\text{O}$, $^{35}\text{Cl}^{18}\text{O}$, $^{40}\text{Ar}^{12}\text{CH}$
^{54}Fe	$^{40}\text{Ar}^{14}\text{N}$, $^{40}\text{Ca}^{14}\text{N}$
^{56}Fe	$^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}$, $^{40}\text{Ca}^{16}\text{N}$
^{57}Fe	$^{40}\text{Ar}^{16}\text{OH}$, $^{40}\text{Ca}^{16}\text{OH}$

Im Reaktionsmodus wird Wasserstoff in die Reaktionszelle eingeleitet. Die Flussrate des Wasserstoffgases kann zwischen 1 und 6 ml min⁻¹ eingestellt werden. Der Wasserstoff beseitigt so Interferenzen durch Protonen-, Wasserstoff- oder Ladungstransfer:

- Protonentransfer:
$$\text{ArH}^+ + \text{H}_2 \rightarrow \text{H}_3^+ + \text{Ar}$$
- Wasserstofftransfer
$$\text{Ar}^+ + \text{H}_2 \rightarrow \text{ArH}^+ + \text{H}$$
- Ladungstransfer
$$\text{Ar}^+ + \text{H}_2 \rightarrow \text{Ar} + \text{H}_2^+$$

Durch die Reaktion mit Wasserstoff werden die Interferenzionen entweder neutralisiert, und damit nicht mehr detektiert, oder sie reagieren mit Wasserstoff zu einer anderen Spezies. Durch die in der

Reaktionszelle neu gebildeten Molekülonen können keine neuen Interferenzen verursacht werden, da diese in der Regel eine geringere kinetische Energie besitzen und nicht die angelegte Energiebarriere, die im Abschnitt über den Kollisionsmodus näher beschrieben wird, überwinden können. Als weiteres Reaktionsgas kann Ammoniak zu der Beseitigung von Interferenzen zum Einsatz kommen.

Im Kollisionsmodus wird das Inertgas Helium mit einer Flussrate von 2 – 9 ml min⁻¹ durch die Reaktionszelle geleitet. Die Beseitigung von Interferenzen im Kollisionsmodus beruht auf stoßinduzierter Dissoziation und Energiediskriminierung. Die beiden Prozesse werden in Abbildung 2.13 verdeutlicht.

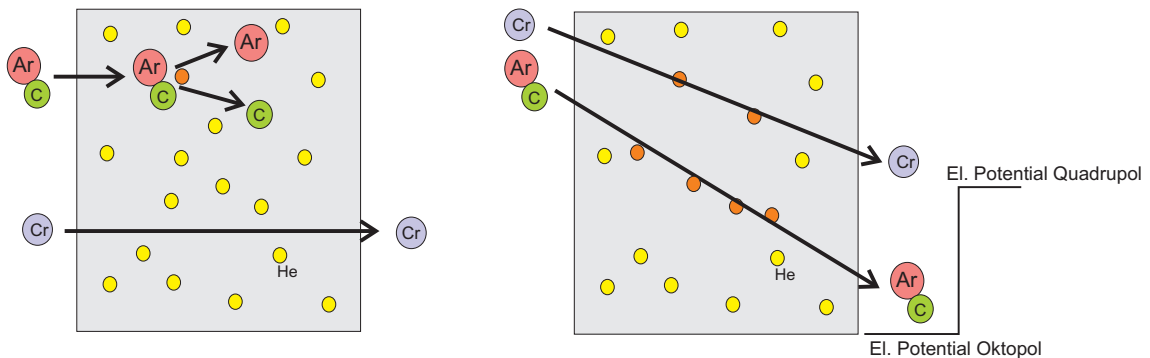


Abbildung 2.13: Reduzierung von Interferenzen durch stoßinduzierte Dissoziation (links) und Energiediskriminierung (rechts). Zeichnung nach Lit. [28].

In Abbildung 2.13 links ist zu sehen, wie sowohl das ⁵²Cr als auch das Molekülion ⁴⁰Ar¹²C die Kollisionszelle durchqueren. Während das Molekülion durch Stöße mit dem inerten Gas in Argon und Kohlenstoff zerfällt, kann das Chromion die Zelle ungehindert passieren.

Die Energiediskriminierung erfolgt durch Anlegen einer Potentialdifferenz zwischen dem Ein- und Ausgang der Zelle. Um diese Differenz zu überwinden, benötigen die Ionen eine bestimmte Menge an kinetischer Energie. Da die Molekülonen aufgrund ihres größeren Stoßquerschnitts statistisch häufiger mit dem Inertgas stoßen als die monoatomaren Ionen, verlieren diese auch mehr kinetische Energie. So kann durch die kinetische Energie der Ionen zwischen Molekülonen und monoatomaren Ionen unterschieden werden, um die polyatomaren Interferenzen herauszufiltern.

Zu beachten ist, dass sowohl im Reaktions- als auch im Kollisionsmodus gleichsam die Signalintensitäten der Analyten verringert wird. Bei einer guten Einstellung der Parameter ist dieser Verlust an Intensität im Vergleich zu der Reduktion der Interferenzen meist sehr klein.

2.2.6 Der Massenfilter und der Detektor

Der Massenanalysator hat die Aufgabe, Ionen nach ihrem Masse-zu-Ladung-Verhältnis zu trennen und diese zum Detektor zu führen. Methoden, mit denen solche Auftrennungen erfolgen können, sind unter anderem:

- Sektorfeld-Massentrennung

- Bestimmung der Flugzeit
- Quadrupolmassenfilter

Der Sektorfeld-Massenanalysator ist apparativ relativ aufwändig und teuer. Er zeichnet sich aber durch seine hohe Auflösung R von bis zu 10^5 aus. Die Auflösung eines Massenanalysators ist eine dimensionslose Größe und definiert als das Verhältnis der gemittelten benachbarten Massenzahlen \bar{m} zum noch sicher erkennbaren Masseninkrement Δm .

$$R = \frac{\bar{m}}{\Delta m} \quad (2.16)$$

Die Flugzeit von Ionen wird in einem *Time-of-Flight* (TOF) Massenanalysator gemessen. Es werden alle Ionen mit einem kurzen Impuls beschleunigt, wobei sich leichtere Ionen schneller beschleunigen lassen als schwere. Am Ende des sogenannten Flugrohrs, welches Ausmaße von 0,1 – 4 m annehmen kann, ist ein Detektor angebracht, der den Einschlag der Ionen in einen elektrischen Impuls umwandelt. Durch die Auswertung der Flugzeit lässt sich die Masse der Ionen bestimmen. Mit einem TOF-Spektrometer werden Auflösungen um die 3 000 erreicht.

Aufgrund seiner einfachen und günstigen Bauweise ist der Quadrupol-Massenanalysator am weitesten verbreitet. Dieser besteht aus vier Stabelektroden, die konzentrisch parallel zueinander angeordnet sind (Abbildung 2.14).

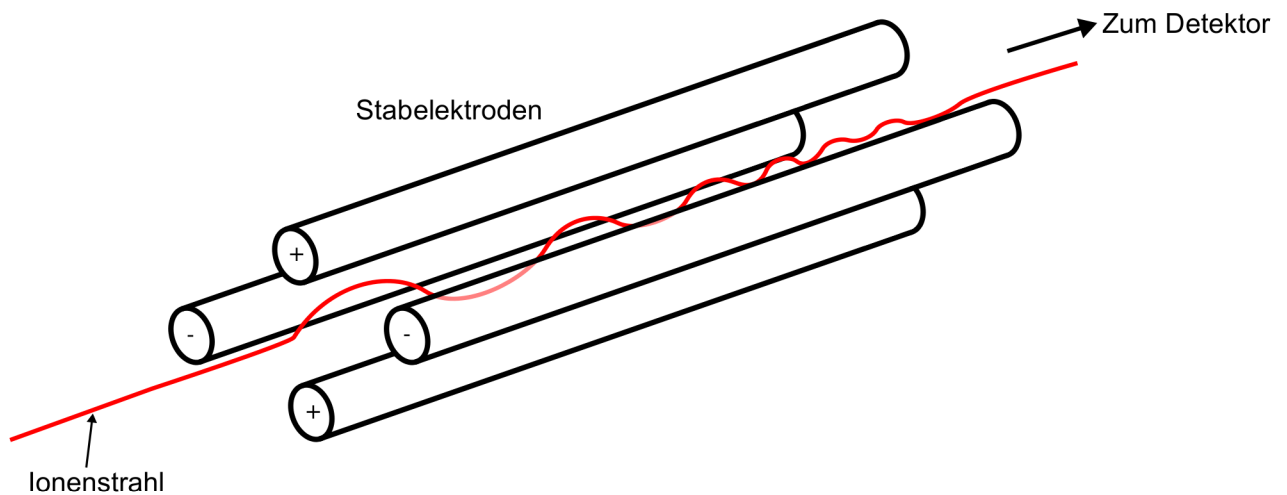


Abbildung 2.14: Aufbau eines Quadrupol-Massenanalysators [45].

Es wird an alle vier Elektroden eine Gleichspannung angelegt, wobei die jeweils gegenüberliegenden Elektroden das gleiche Vorzeichen haben. Dieser Gleichspannung wird eine modulierte Wechselspannung überlagert. Die Spannung kann so eingestellt werden, dass nur die Ionen eines bestimmten m/z den Analysator auf einer stabilen Flugbahn durchqueren. Die Ionen anderer m/z haben instabile Flugbahnen und werden so herausgefiltert. Vereinfacht lassen sich die Ionenbewegungen durch das Quadrupolfeld mit folgender Formel abschätzen:

$$\frac{m}{z} = \frac{5,7 \cdot V}{\omega^2 \cdot r^2} \quad (2.17)$$

- m Ionenmasse
- r Quadrupolradius
- V Wechselspannung
- ω Kreisfrequenz
- z Ladungszahl

Mit einem Quadrupol-Massenanalysator werden Auflösungen von 1 – 300 erreicht. Für die üblichen Anforderungen in der ICP-MS ist diese Auflösung vollkommen ausreichend. Aufgrund der Funktionsweise des Quadrupols findet keine simultane Detektion aller m/z statt, jedoch kann der analytisch sinnvolle Bereich von 0 – 300 amu innerhalb einer Sekunde mehrfach gescannt werden, so dass eine quasisimultane Detektion möglich ist. Durch eine höhere Verweilzeit auf einer Masse kann die Signalintensität erhöht und damit die Nachweisgrenze verbessert werden.

Als Detektor kommt in dem Agilent 7500ce ein *Dualmodus-Elektronenvervielfacher* zum Einsatz. Dieser besteht aus einer Anordnung von Dynoden, wie sie in Abbildung 2.15 zu sehen ist. Zwischen den Dynoden ist eine Hochspannung angelegt, so dass ein Elektron, welches beim Aufschlagen eines Ions aus der ersten Dynode herausgeschlagen wird, zur nächsten Dynode beschleunigt wird. Aufgrund der Beschleunigung und der daraus resultierenden höheren kinetischen Energie schlägt dieses Elektron aus der nächsten Dynode mehrere Elektronen heraus, welche wiederum zur nächsten Dynode beschleunigt werden. Dieses wird über mehrere Dynoden fortgesetzt, so dass am Ende der Anordnung ein verstärktes Signal in Form von Pulsen ausgelesen werden kann (Pulse Mode).

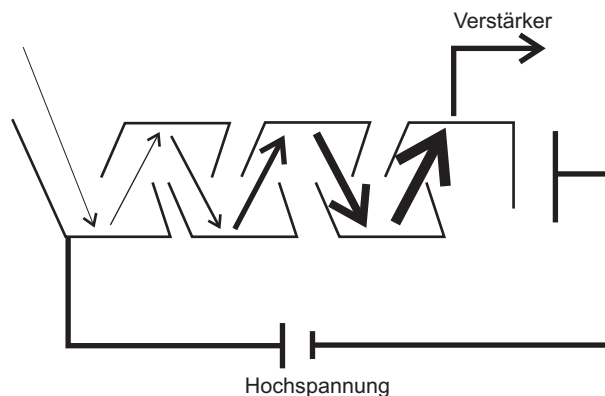


Abbildung 2.15: Dualmodus-Elektronenvervielfacher. Zeichnung nach Lit [28].

Um den Detektor vor Überlastungen und übermäßiger Abnutzung zu schützen, wird nach der Hälfte der Dynoden ein Strom abgegriffen und als Analogsignal ausgewertet. Überschreitet der Strom an dieser Stelle einen bestimmten Wert, wird die Spannung an den restlichen Dynoden ausgeschaltet. Das Analogsignal kann auch direkt zur Auswertung verwendet werden. Durch eine Kalibration des

Analog- und Digitalmodus kann ein dynamischer Messbereich von acht Größenordnungen erreicht werden.

2.2.7 Apparative Parameter

Um das Agilent 7500ce an die jeweiligen Anforderungen anzupassen, gibt es eine Reihe von Parametern, die variiert werden können. Auf Seiten der Datenaufnahme kann zwischen dem *Spectrum-Modus* und dem *Time-Resolved-Modus* gewählt werden. In dem Spectrum-Modus kann in der Software die Messzeit genau auf einem bestimmten m/z eingestellt werden. Es ist zusätzlich möglich, die Anzahl der Wiederholmessungen direkt einzugeben. Als Ergebnis erhält man die Countraten, die für jede Messung erzielt wurden. Dieser Modus wird gewählt, um quantitative oder halbquantitative Elementanalysen durchzuführen. Der Time-Resolved-Modus wird analog zum Spectrum-Modus programmiert, jedoch erfolgt die Datenaufnahme zeitaufgelöst. Als Ergebnis erhält man hier eine Auftragung der Signalintensität gegen die Zeit, wobei auch hier die Datenaufnahme für mehrere m/z zeitgleich möglich ist. Dieser Modus wird für zeitaufgelöste Analysen, wie sie in der Chromatographie benötigt werden, eingesetzt.

Auf apparativer Seite sind folgende Parameter variabel, um ein optimales Ergebnis zu erhalten:

- Generatorleistung
- Position der Plasmafackel
- Gasflüsse der Probenezuführung
- Ionenlinsen
- Reaktions-/ Kollisionszelle

Die Ionenlinsen sind aufgrund von Ablagerungen täglich neu einzustellen. Nach dem Auswechseln der Cones ist auch die optimale Position der Plasmafackel neu auszurichten. Einstellungen wie Generatorleistung, Gasflüsse und die Einstellungen der Reaktions-/ Kollisionszelle sind je nach Anforderungen an das System anzupassen. So lassen sich für bestimmte Aufgabenstellungen Profile, sogenannte *Tune-Files*, erstellen, in denen die optimalen Parameter für die jeweilige Aufgabe gespeichert sind.

2.3 Kopplungstechniken

2.3.1 Unterschiedliche Kopplungstechniken

Unter Kopplungstechniken versteht man die Kombination zweier sonst unabhängig voneinander funktionierender analytischer Verfahren. Häufig werden hier Trenntechniken mit spektrometrischen Methoden zusammen verwendet.

Für die Elementspeziesanalyse von Arsen und Chrom kommen schon länger Kopplungen von Trenntechniken und spektrometrischen Verfahren zum Einsatz. Hierbei handelte es sich zu Beginn jedoch immer um off-line Techniken, bei denen die Spezies meist an einer stationären Phase angereichert wurde, um sie gezielt zu eluieren und anschließend die einzelnen Fraktionen des Eluats spektrometrisch zu analysieren [46] [47].

Im Gegensatz hierzu werden bei on-line Kopplungen die beiden Systeme direkt miteinander verbunden. Das bedeutet, dass das Eluat der Trenntechnik direkt in ein Spektrometer überführt wird. Die erste on-line Kopplung, die für die Routineanalytik realisiert wurde, war die Kopplung der Gaschromatographie mit einem Massenspektrometer, die GC-MS [48]. Diese Kopplung war noch vergleichsweise einfach zu realisieren, da das gasförmige Eluat der GC gut in ein MS überführt werden kann.

Auch die on-line Kopplung der HPLC mit einem NMR, die HPLC-NMR stellte keine schwierigen Anforderungen an ein Interface [49]. Anders sah das jedoch bei den Versuchen aus, eine HPLC an ein MS on-line zu koppeln. Hierfür war es erforderlich, das flüssige Eluat in das Hochvakuum eines MS zu überführen. Nach der Entwicklung der hierfür erforderlichen Ionenquellen, z. B. der *Atmospheric Pressure Chemical Ionisation* (APCI) und *Electrospray Ionisation* (ESI), war auch der HPLC-MS der Erfolg sicher [50] [51] [52].

Aufgrund der Bindestriche (engl. *hyphen*), die in den Abkürzungen der Kopplungstechniken verwendet wurden, schlug Hirschfeld den Begriff der hyphenated Methods vor [53] [54].

2.3.2 On-line Kopplung IC-ICP-MS

Für die Kopplung mit der ICP-MS sind Interfaces mit den folgenden Trenntechniken kommerziell verfügbar:

- Gaschromatographie
- Flüssigkeitschromatographie (z. B. HPLC und IC)
- Kapillarelektrophorese (CE, engl. *Capillary Electrophoresis*)

Hierbei ist die Kopplung mit der HPLC und vor allem der IC am weitesten verbreitet, da die meisten ICP-Systeme für die Analyse von flüssigen Proben ausgelegt sind. So kann in der Regel der Ausgang der Trennsäule direkt an den Zerstäuber des ICP-MS angeschlossen werden.

Die IC hat hier gegenüber der HPLC den Vorteil, dass bei ihr meist wässrige Eluenten zum Einsatz kommen. Bei organischen Eluenten, wie sie in der HPLC verwendet werden, ist das ICP zu modifizieren, um einen stabilen Betrieb zu ermöglichen. Zum einen erfordert der höhere Dampfdruck organischer Lösungsmittel die Reduktion der Lösungsmittelmenge. Dieses ist durch die Verwendung von HPLC-Systemen mit einem geringeren Fluss und/oder durch die Anpassung des Zerstäubersystems möglich. Zum anderen ist es erforderlich, der zerstäubten Probe Sauerstoff beizumischen, um ein vollständiges Verbrennen des Lösungsmittel zu gewährleisten und damit ein Ablagern von Kohlenstoff an den Cones zu verhindern. Diese Modifikationen können jedoch die Nachweisgrenzen und Stabilität des Systems negativ beeinflussen.

In der Ionenaustauschchromatographie kommen hingegen meist wässrige Eluenten zum Einsatz. Hier ist eine direkte Kopplung der IC an das ICP-MS möglich. Um Ablagerungen und Kontaminationen am ICP-MS zu vermeiden, kommt in der IC-ICP-MS-Kopplung häufig ein Eluent auf Basis von Ammoniumnitrat zum Einsatz. Dieser hat den Vorteil, dass er im Plasma zu leicht flüchtigen Verbindungen zerfällt und so keine Ablagerungen auf den Cones entstehen können. Weiterhin sind die Elemente Wasserstoff, Stickstoff und Sauerstoff in großen Teilen in der Atmosphäre vorhanden, so dass sich keine neuen Interferenzen im Plasma bilden und das MS nicht mit anderen Elementen kontaminiert wird.

Den größten Anwendungsbereich für die IC-ICP-MS on-line Kopplung stellt die Elementspeziesanalyse da. Diese Technik wurde z. B. erfolgreich zur Speziierung von Antimon [55] und Arsen [56] eingesetzt. Weiterhin existieren Methoden zur Trennung und Detektion von Chrom(III) und Chrom(VI) [26].

2.4 Statistische Kenngrößen

Um die Güte analytischer Methoden beurteilen und mit anderen Methoden vergleichen zu können, sollen im Folgenden einige statistische Kenngrößen analytischer Methoden vorgestellt werden. Die wichtigsten Kenngrößen in diesem Zusammenhang sind:

- die *Nachweisgrenze*
- das *Signal zu Rausch Verhältnis*
- die *Wiederfindungsrate*

Weiterhin gibt es statistische Tests, mit denen untersucht werden kann, ob die Korrelation zweier Faktoren statistisch signifikant ist. Statistische Tests sind auch zur Validierung der Ergebnisse einer neuen Methode erforderlich, wenn die Ergebnisse mit denen einer weiteren Methode verglichen werden.

2.4.1 Nachweisgrenze

Die *Nachweisgrenze* (NWG) ist die Konzentration eines Analyten, die sich mit einer gewissen statistischen Sicherheit vom Blindwert unterscheiden lässt. Mathematisch gibt es verschiedene Definitionen für die Nachweisgrenze. Häufig eingesetzt wird die Schnellschätzformel:

$$NWG = c_{Analyt} \cdot \frac{3 \cdot I_{Rauschen}}{I_{Analyt} - I_{Untergrund}} \quad (2.18)$$

- c_{Analyt} : eingesetzte Konzentration des Analyten
 $I_{Rauschen}$: Standardabweichung der Untergrundsignals
 $I_{Untergrund}$: Mittelwert des Untergrundsignals
 I_{Analyt} : Mittelwert des Bruttosignals für den Analyten

Anhand dieser Formel lassen sich mit wenigen Wiederholmessungen die Nachweisgrenzen für die Analyten abschätzen. Eine ähnliche Methode zur Ermittlung der Nachweisgrenze wurde in der Methode 218.6 der *United States Environmental Protection Agency* (US EPA) vorgeschlagen. In diesem Verfahren wird eine Blindlösung mit einer geringen Konzentration, die das fünffache der vermuteten Nachweisgrenze nicht übersteigen sollte, versetzt und siebenmal gemessen. Von diesen Messungen wird die Standardabweichung berechnet und mit folgender Formel die Nachweisgrenze bestimmt.

$$NWG = t_{n-1, \alpha=99\%} \cdot \sigma \quad (2.19)$$

- $t_{n-1, \alpha=99\%}$: t-Wert nach Student bei einem Signifikanzniveau von 99% und n-1 Freiheitsgrade
(für sieben Wiederholmessungen ist $t = 3, 14$)
 σ : Standardabweichung der Wiederholmessungen

Eine weitere Methode ist in der DIN 32645 [57] beschrieben, in der die Nachweisgrenze durch eine Kalibriergerade bestimmt wird. Hierbei werden zehn Kalibrierstandards in der Nähe der Nachweisgrenze gemessen, von denen der Standard der höchsten Konzentration die Nachweisgrenze nicht um den Faktor zehn überschreiten soll. Aus den Messwerten wird eine Kalibriergerade mit Vertrauensband ermittelt; aus diesem lässt sich die Nachweisgrenze errechnen.

$$NWG = \frac{y_k - a}{b} \quad (2.20)$$

y_k : Schnittpunkt des Vertrauensbandes mit der y-Achse

a : Achsenabschnitt der Kalibriergeraden

b : Steigung der Kalibriergeraden

Nach dieser Methode werden Einflussgrößen des Kalibrierverfahrens mitberücksichtigt. Als Nachteil ist der relativ große Aufwand der Bestimmung zu nennen. Wird zum Beispiel eine Nachweisgrenze von 1 mg l^{-1} ermittelt, müssen 10 Standards im Konzentrationsbereich von $0 - 10 \text{ mg l}^{-1}$ gemessen werden.

2.4.2 Wiederfindungsrate

Als Wiederfindungsrate bezeichnet man das Verhältnis der Konzentrationen von dem gemessenen Wert zu dem richtigen Wert. Um die Wiederfindungsrate zu ermitteln, wird eine Probe mit einer bekannten Menge Analyt versetzt und dieser Analytgehalt unter Berücksichtigung des initialen Analytgehaltes bestimmt.

$$\text{Wiederfindungsrate} = \frac{c_{\text{gefunden}}}{c_{\text{erwartet}}} \cdot 100 \quad (2.21)$$

c_{gefunden} : Ist-Konzentration

c_{erwartet} : Soll-Konzentration

Die Wiederfindungsrate liegt idealerweise bei 100%. Mit Hilfe der Wiederfindungsrate lassen sich Aussagen über die Güte und Robustheit eines analytischen Verfahrens treffen. Störungen der Methode durch Matrixeffekte oder systematische Fehler können durch die Wiederfindungsrate festgestellt werden.

2.4.3 t-Test des Korrelationskoeffizienten

Um zu untersuchen, ob die Korrelation zweier Faktoren statistisch signifikant ist, kann man einen t-Test am Korrelationskoeffizienten durchführen. Wird der Korrelationskoeffizient r einer linearen Kalibration ermittelt, ist dieser gewöhnlich größer als 0,99. Ist $r = 1$ handelt es sich um eine perfekte

Korrelation und sämtliche Messpunkte liegen auf der Ausgleichsgeraden. Bei einem Wert von r sehr nahe an null, besteht keine Korrelation der beiden Daten.

Um eine Aussage bezüglich der Korrelation bei kleineren r -Werten zu treffen, ist es erforderlich diese Korrelation auf eine statistische Signifikanz zu testen. Hierfür ist es möglich einen t -Wert nach Gleichung 2.22 zu errechnen.

$$t = r \cdot \sqrt{\frac{n-1}{1-r^2}} \quad (2.22)$$

r : Korrelationskoeffizient

n : Anzahl der Datenpaare

Der berechnete Wert wird mit dem Tabellenwert des gewünschten Signifikanzniveaus, den entsprechenden Freiheitsgraden ($n - 2$) der zweiseitigen t -Verteilung verglichen. Ist der berechnete Wert größer, als der entsprechende Tabellenwert, kann von einem statistisch gesicherten Zusammenhang dieser Wertepaare ausgegangen werden [58] [59].

2.4.4 Methodvalidierung

Um die Ergebnisse einer neuen Methode auf ihre Richtigkeit zu untersuchen, können diese mit denen einer Referenzmethode verglichen werden. Hierfür können die Ergebnisse aus den beiden Methoden gegeneinander aufgetragen werden. Anschließend wird eine lineare Regression durchgeführt und der Korrelationskoeffizient berechnet um, wie oben beschrieben, die Ergebnisse auf ihre statistische Signifikanz mit einem t -Test zu untersuchen.

Diese Methode ist jedoch nicht geeignet, um eine Aussage zu treffen ob sich die Ergebnisse der beiden Methoden statistisch signifikant unterscheiden. Sie sagt lediglich, dass die Ergebnisse miteinander korrelieren. So würde ein systematischer Über- oder Minderbefund nicht berücksichtigt.

Um zu untersuchen, ob sich die Messergebnisse der beiden Methoden statistisch signifikant unterscheiden, kann auf die Regressionsgerade mit ihrem Vertrauensband zurückgegriffen werden. Abbildung 2.16 auf der nächsten Seite zeigt die Auftragung der Messergebnisse zweier Methoden (Beispiel entnommen aus Lit. [58]) mit der Regressionsgeraden und dem Vertrauensband bei einem Signifikanzniveau von 95%. Die statistischen Daten hierzu sind in Tabelle 2.4 auf der nächsten Seite zu finden.

Bei einer perfekten Übereinstimmung würde eine Steigung von 1 und ein Achsenabschnitt von 0 erwartet werden. Diese Werte werden in der Realität praktisch nicht erreicht. Es kann jedoch sowohl für die Steigung, als auch für den Achsenabschnitt der Vertrauensbereich bei einem bestimmten Signifikanzniveau berechnet werden. Liegt der erwartete Wert innerhalb dieses Vertrauensbereiches, kann mit gegebener Wahrscheinlichkeit davon ausgegangen werden, dass es keine signifikanten Unterschiede bei den Ergebnissen dieser beiden Methoden gibt.

2.4. STATISTISCHE KENNGRÖSSEN

Bei dem Beispiel wird eine Steigung von 1 erwartet und dieser Wert liegt innerhalb des Vertrauensbereiches (0,948 – 1,028). Auch der erwartete Wert von 0 für den Achsenabschnitt liegt innerhalb des Vertrauensbereiches (-0,135 – 0,044). Daher kann bei diesem Beispiel mit einer 95%-igen Wahrscheinlichkeit davon ausgegangen werden, dass es keine Unterschiede der Ergebnisse von Methode A und B gibt.

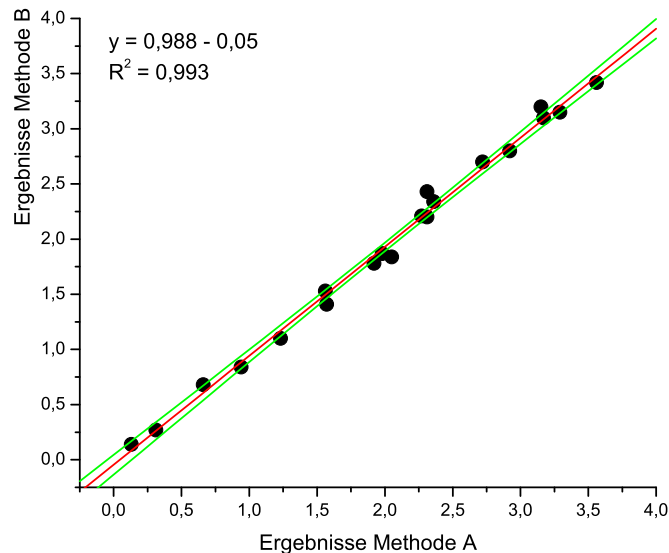


Abbildung 2.16: Auftragung der Analysenergebnisse zweier Methoden mit Regressionsgeraden und Vertrauensband.

Tabelle 2.4: Statistische Daten der linearen Regression.

Parameter	Wert
Steigung	0,988
unterer Vertrauensbereich	0,948
oberer Vertrauensbereich	1,028
Achsenabschnitt	-0,046
unterer Vertrauensbereich	-0,135
oberer Vertrauensbereich	0,044

2.5 Komplexverbindungen

Komplexverbindungen, auch Koordinationsverbindungen genannt, sind Verbindungen, die aus einem Koordinationszentrum und einer Ligandenhülle bestehen. Die Bindung kommt durch Wechselwirkungen von freien Elektronenpaaren mit Elektronenlücken oder besetzbaren d-Orbitalen zustande. Das Koordinationszentrum ist ein Zentralatom oder ein Zentralion und die Liganden können aus Ionen oder Molekülen bestehen. Der Komplexkern ist in der Regel ein Übergangsmetall-Kation. Häufige Liganden sind Anionen, wie F^- , Cl^- , Br^- , I^- , OH^- , CN^- oder ungeladene Moleküle wie H_2O , CO , N_2 oder NH_3 . Die hier genannten Liganden zählen zu den einzähnigen Liganden, da sie jeweils nur eine Koordinationsstelle des Zentralatoms besetzen. Beispiele für zweizähnige Liganden sind das Acetylacetonat-Anion und das Ethylendiamin (en). Mehrzähnige Liganden sind z. B. die in dieser Arbeit untersuchten Chelatbildner NTA, EDTA, DTPA und CDTA. Die jeweilige Ladung eines Komplexes ergibt sich aus der Summe der Ladungen seiner Bestandteile [60].

Die Koordinationszahl (KZ) ist die Anzahl der durch die Liganden besetzten Koordinationsstellen des Zentralatoms. Häufige Koordinationszahlen sind zwei, vier und sechs. Bei einer Koordinationszahl von sechs sind die Liganden nahezu oktaedrisch um das Zentralatom angeordnet. Bei einer KZ von vier kann die Anordnung entweder tetraedrisch, oder quadratisch-planar sein. Eine KZ von 2 erlaubt lediglich eine lineare Anordnung.

Bei der Beurteilung über die Stabilität von Komplexen muss zwischen der kinetischen und thermodynamischen Stabilität unterschieden werden. In der Thermodynamik werden die Komplexe als stabil und instabil bezeichnet, während in der Kinetik von inerten und labilen Komplexen die Rede ist.

Bei der Methodenentwicklung zur Analyse von Komplexbildnern mit der IC-ICP-MS ist sowohl die thermodynamische, als auch die kinetische Stabilität von Interesse. Bei der Probenvorbereitung ist es wichtig, dass die Komplexbildner mit dem addierten Metall stabile Komplexe bilden, da dieses Metall im Gleichgewichtszustand die anderen Metalle aus dem Komplex verdrängen soll.

Während der chromatographischen Trennung hingegen ist die kinetische Stabilität, also die Häufigkeit, bei der ein Ligandenaustausch stattfindet von Interesse. Zerfällt der Komplex, kann er sich unter Umständen nicht neu bilden, da sich die Liganden und der Komplexkern dann mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten im chromatographischen Bett bewegen und so räumlich getrennt werden können.

Thermodynamische Stabilität

Die thermodynamische Stabilität eines Komplexes lässt sich anhand der Komplexstabilitätskonstanten (auch Komplexbildungskonstanten genannt) abschätzen. Da es sich bei der Bildung eines Komplexes um eine Gleichgewichtsreaktion handelt, kann die thermodynamische Stabilität durch das Massenwirkungsgesetz beschrieben werden. Für einen Komplex mit dem Zentralatom M^{m+} und dem Liganden L^{l-} erhält man [61]:

$$K = \frac{[ML_n^{(nl-m)-}]}{[M^{m+}][L^{l-}]^n} \quad (2.23)$$

Die Komplexstabilitätskonstante hängt nach Gleichung 2.24 von der freien Enthalpie ΔG der Komplexbildungsreaktion ab.

$$\Delta G = -2,303 \cdot RT \log K \quad (2.24)$$

Und diese ist wiederum nach der Gibbs-Helmholtzschen Gleichung (s. Gleichung 2.25) von der Reaktionsenthalpie ΔH und der Reaktionsentropie ΔS abhängig.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (2.25)$$

Häufig wird die Stabilitätskonstante als pK logarithmiert angegeben. Je größer die Stabilitätskonstante, desto stabiler ist der Komplex, also liegt er weniger dissoziiert vor. Wie Tabelle 2.5 zu entnehmen ist, sind Chelatkomplexe stabiler als Komplexe mit dem gleichen Zentralatom und einzelnen Liganden. Dieses Phänomen lässt sich durch die Entropiezunahme bei Zerfall Chelatkomplexen erklären und ist als *Chelateffekt* bekannt.

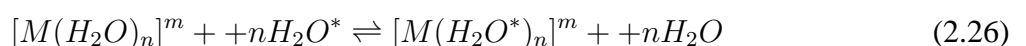
Tabelle 2.5: pK von zwei Nickelkomplexen [60].

Komplex	pK
$[Ni(NH_3)_6]^{2+}$	9
$[Ni(en)_3]^{2+}$	18

Kinetische Stabilität

Im Gegensatz zu der thermodynamischen Stabilität, beschreibt die kinetische Stabilität, die Geschwindigkeit, mit der die Komplexbildung bzw. der Ligandenaustausch stattfindet. Gleichung 2.23 beschreibt die Reaktion der Komplexbildung nur vereinfacht. Das freie Metall liegt in wässriger Lösung nicht als "nacktes" Metallion, sondern in der Regel als Aquakomplex vor. Das bedeutet, dass es sich streng genommen aus der Sicht des Metalls nicht um eine Komplexbildung, sondern um einen Ligandenaustausch handelt.

Die Geschwindigkeit des Ligandenaustausches an Metallionen, wie in Gleichung 2.26 beschrieben, wird in der Regel an der Austauschrate von Wasserliganden untersucht. Das Ersetzen der Wasserliganden ist ein wichtiger Schritt in der Bildung von Komplexen.



Bei dieser Wasseraustauschreaktion unterscheiden sich das Produkt und das Edukt nicht voneinander und ΔG bleibt auch unverändert. Je nach Metall unterscheidet sich die Lebensdauer eines Aquakomplexes drastisch. Für z. B. Cs^+ beträgt die durchschnittliche Lebensdauer ca. 200 ps, während beim Ir^{3+} alle 300 Jahre ein Ligandenaustausch stattfindet.

Diese Austauschraten sind für die Metalle charakteristisch und lassen Rückschlüsse auch auf die kinetische Stabilität mit anderen Liganden zu. In Tabelle 2.6 sind die Austauschraten der Aquakomplexe von einigen Metallen aufgelistet.

Tabelle 2.6: Austauschraten von Aquakomplexen [62] [63].

Aquakomplex	Austauschrate k s^{-1}
$[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$	$4,4 \times 10^6$
$[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$	$3,2 \times 10^6$
$[\text{Ni}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$	$3,2 \times 10^4$
$[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$	$1,6 \times 10^2$
$[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$	$2,4 \times 10^{-6}$
$[\text{In}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$	$1,0 \times 10^7$
$[\text{Ir}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$	$1,1 \times 10^{-10}$

Diese Tabelle zeigt, dass die Aquakomplexe von Iridium(II) und Chrom(III) besonders inert sind, die von Eisen(II) und Cobalt(II) hingegen sind sehr labil.

2.6 Aminopolycarbonsäuren

Aufgrund des Chelateffekts bilden Aminopolycarbonsäuren besonders stabile Komplexe. Diese haben die Möglichkeit über die verschiedenen Donorgruppen mit den Metallen multidentale Komplexe zu bilden. Als Donorgruppe stehen hier sowohl die Amino- als auch die Carboxylgruppen zur Verfügung. Diese sind meist so angeordnet, dass sie mit dem Metall stabile fünf- oder sechsgliedrige Ringe bilden und so zusätzlich zum Chelateffekt für eine besondere Stabilisierung sorgen.

Aufgrund ihrer guten komplexierenden Eigenschaften haben diese Komplexbildner auch eine große Bedeutung in der komplexometrischen Titration erlangt, die es erlaubt durch eine einfache Titration verschiedene Metalle in Lösung qualitativ und quantitativ zu analysieren.

Eine gute Übersicht über Aminopolycarbonsäuren, deren Verwendung, Analytik und Vorkommen ist in Lit. [9] zu finden. Im Folgenden werden die Aminopolycarbonsäuren, die in dieser Arbeit verwendet werden, näher beschrieben.

2.6.1 NTA

Die Nitrilotriessigsäure NTA ist eine dreiwertige Carbonsäure, die mit ihren vier Donorgruppen (drei Carboxyl-Gruppen und einer tert. Stickstoff-Funktion) ein guter Chelatbildner ist. Die Struktur von NTA, welche in der Komplexometrie auch als Komplexon I bekannt ist, ist in Abbildung 2.17 dargestellt. Die pK_a -Werte der NTA betragen 1,9, 2,5 und 9,7. Da das dritte Proton fester gebunden ist, treten bei der NTA häufig nur drei der vier Donorgruppen in Aktion. Die meisten Metalle haben eine KZ von 6, daher bildet NTA mit diesen keine koordinativ gesättigten Komplexe und die verbleibenden Stellen werden in der Regel durch Wassermoleküle besetzt. Hieraus resultiert die erhöhte Tendenz auch 1:2 (Metall:Ligand) Komplexe zu bilden.

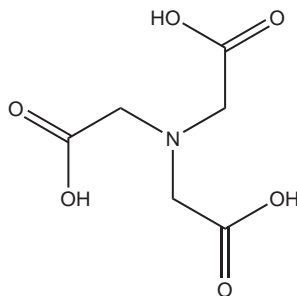


Abbildung 2.17: Strukturformel der NTA.

Die pK -Werte mit Erdalkalimetallen liegen zwischen 5 und 6, die mit Schwermetallen zwischen 7 und 16. Verwendung findet es zum großen Teil als Wasserenthärter in Waschmitteln. Die Toxikologie von NTA ist noch nicht vollständig geklärt, jedoch wird es als potenziell kanzerogen eingestuft, da in einigen Tierexperimenten Nieren- und Blasenkrebs beobachtet wurden. Die WHO sieht eine Konzentration von $200 \mu\text{g l}^{-1}$ als toxikologisch akzeptabel an.

2.6.2 EDTA

Die Ethylendiamintetraessigsäure EDTA ist eine vierwertige Carbonsäure, die mit ihren sechs Donorgruppen (vier Carboxyl-Gruppen und zwei tert. Stickstoff-Funktionen) ebenfalls ein guter Chelatbildner ist. In der Komplexometrie ist EDTA auch als Komplexon II (das Dinatriumsalz der EDTA als Komplexon III) bekannt, dessen Struktur in Abbildung 2.18 auf der nächsten Seite dargestellt ist. Die pK_a -Werte der EDTA betragen 1,99, 2,67, 6,16 und 10,26. Im Gegensatz zur NTA bildet die EDTA, sowie auch DTPA und CDTA, überwiegend 1:1 Komplexe.

Die pK -Werte mit Erdalkalimetallen liegen zwischen 7 und 11, die mit Schwermetallen zwischen 14 und 30. Der Anwendungsbereich der EDTA ist groß. So findet sie z. B. in der Wasserbehandlung, Waschmitteln, als Schwermetallkomplex in der Pflanzenernährung Anwendung. Weiterhin wird das Calciumsalz der EDTA als Antioxidant in Nahrungsmitteln eingesetzt (E 385). Im Körper kann die freie Säure das Calcium binden und so zu Tetanien führen. Das Calciumdinatrium-Salz wird jedoch

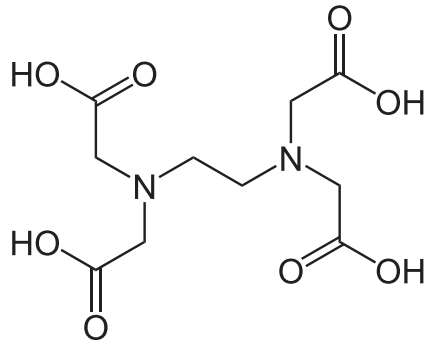


Abbildung 2.18: Strukturformel der EDTA

sehr gut vertragen und auch als Medikament bei einer Schwermetallvergiftung eingesetzt. EDTA ist schlecht biologisch abbaubar, so dass die EDTA in verschiedenen Flüssen im Bereich von 10 – 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ gefunden wird. Aufgrund der geringen biologischen Abbaubarkeit und der Möglichkeit Schwermetall zu mobilisieren, wird EDTA als umweltschädlich eingestuft.

2.6.3 DTPA

Diethylentriaminpentaessigsäure DTPA besitzt fünf Carbonsäuregruppen und drei tert. Stickstoff-Funktionen. Demnach hat sie acht funktionelle Gruppen, die zur Komplexbildung beitragen können. Die Strukturformel der DTPA ist in Abbildung 2.19 zu sehen. In der analytischen Chemie ist DTPA auch als Komplexon V bekannt. Die pK-Werte betragen 1,79, 2,56, 4,42, 8,76 und 10,42.

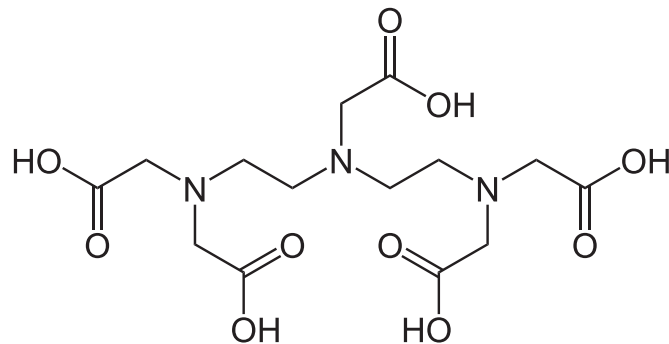


Abbildung 2.19: Strukturformel der DTPA

Die pK-Werte mit Erdalkalimetallen liegen zwischen 8 und 11, die mit Schwermetallen zwischen 15 und 37. Anwendung findet die DTPA als Wasserenthärter, als Zusatz zu Wasch- und Reinigungsmitteln und in der Holz- und Papierindustrie. In der Medizin wird es ebenfalls zur Behandlung von Schwermetallvergiftungen eingesetzt. Weiterhin werden der DTPA Komplex des Gadoliniums als Kontrastmittel in der Kernspintomographie verwendet. Hier wird die besondere Stabilität des Komplexes genutzt, da freies Gadolinium toxisch wirken würde. Auch DTPA wird in vielen Oberflächengewässern in höheren Konzentrationen gefunden, die auch hier wieder Schwermetalle mobilisieren kann.

2.6.4 CDTA

Die Struktur der Cyclohexandiamintetraessigsäure *cyclohexandiaminetetraacetic acid* CDTA ist in Abbildung 2.20 zu sehen. Diese ist der EDTA sehr ähnlich, hier wurde lediglich die Ethylenbrücke durch Cyclohexan ersetzt. Daher sind die Eigenschaften der der EDTA sehr ähnlich, jedoch bildet sie in der Regel noch etwas stabilere Komplexe, wie auch der Tabelle 2.7 auf der nächsten Seite zu entnehmen ist. Die vier Säuregruppen haben folgende pK-Werte: 2,41, 3,52, 5,87 und 9,3.

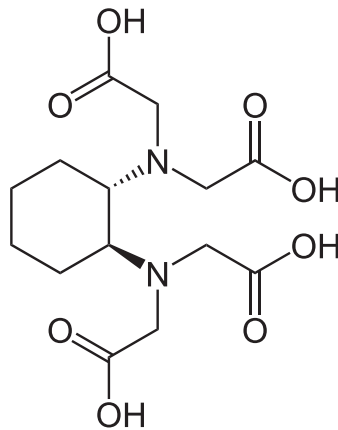


Abbildung 2.20: Strukturformel der CDTA

CDTA findet, wie sämtliche hier besprochene Komplexbildner, Einsatz als Wasserenthärter. In der analytischen Chemie ist sie als Komplexon IV bekannt.

2.6.5 Stabilitätskonstanten

Wie am Anfang dieses Kapitels beschrieben, ist die Komplexbildungskonstante ein Ausdruck für die Stabilität eines Komplexes. Ein Überblick über Stabilitätskonstanten verschiedener Metalle mit den Komplexbildnern NTA, EDTA, DTPA und CDTA ist in Tabelle 2.7 zu finden.

Tabelle 2.7: pK-Werte von Metallkomplexen [64].

Metall	NTA	EDTA	DTPA	CDTA
Mg ²⁺	5,4 ¹	8,8 ¹	9,3 ¹	11,0 ¹
Fe ²⁺	8,3 ¹	14,3 ¹	16,5 ¹	19,0 ¹
Ni ²⁺	11,5 ¹	18,6 ¹	20,3 ¹	20,3 ¹
Cu ²⁺	13,0 ¹	18,8 ¹	21,5 ¹	22,0 ¹
Pb ²⁺	11,4 ¹	18,0 ¹	18,8 ¹	20,4 ¹
Fe ³⁺	15,9 ¹	25,1 ¹	28,0 ¹	30,1 ³
In ³⁺	16,9 ¹	25,0 ¹	29,0 ¹	28,8 ¹
Cr ³⁺	6,2 ¹	23,4 ¹		
Al ³⁺	11,4 ²	16,3 ¹	18,6 ¹	19,5 ¹
Zr ⁴⁺	20,8 ³	29,5 ³	35,8 ⁵	29,9 ⁴

¹ML/M.L bei 20° Ionenstärke 0,1 mol l⁻¹

²ML/M.L bei 25° Ionenstärke 0,2 mol l⁻¹

³ML/M.L bei 20° Ionenstärke 0,2 mol l⁻¹

⁴ML/M.L bei 20° 0,2 mol l⁻¹ HClO₄

⁵ML/M.L bei 20° Ionenstärke 0,23 mol l⁻¹

3 Literaturübersicht

3.1 On-line Kopplung IC-ICP-MS

Die on-line Kopplung der Ionenchromatographie mit dem ICP-MS ist mittlerweile eine etablierte Methode, die über den experimentellen Einsatz hinaus ist [5]. Bei der Kopplung der Flüssigchromatographie bietet die IC gegenüber der HPLC aufgrund der wässrigen Eluenten entscheidende Vorteile [65]. Hauptanwendungsgebiete dieser Technik ist die Elementspeziesanalyse und die Abtrennung einer störenden Probenmatrix. Es wurden jedoch in den letzten Jahren weitere Methoden entwickelt, die sich nicht in diese beide Kategorien einordnen lassen.

3.1.1 Elementspeziesanalyse

Die weitaus häufigsten Publikationen zu on-line Kopplungen beschäftigen sich mit der Elementspeziesanalyse. Hier ist es nicht nur von Interesse, in welcher Konzentration ein Element vorliegt, sondern auch die Vorkommensform, die Elementspezies, soll untersucht werden [4] [6] [7]. Prominente Beispiele hierfür sind Chrom und Arsen; bei diesen handelt es sich um sehr alte Aufgabenstellungen, und der Einsatz von Kopplungstechniken ist schon sehr verbreitet. Dennoch erscheinen zu diesen Themen weiterhin regelmäßig Publikationen, die neue oder modifizierte Methoden vorstellen [66]. Durch die ständige Weiterentwicklung der stationären Phasen und der Techniken des ICP-MS gelingt es die Nachweisgrenzen zu senken und die Probenvorbereitung zu vereinfachen [26]. So wurde von Xing und Beauchemin gerade eine Methode vorgestellt, die es ohne Probenvorbereitung erlaubt Chrom(III) und Chrom(IV) in einem chromatographischen Lauf im ng l^{-1} –Bereich in Trinkwasser zu bestimmen [67].

Auch für die Arsenspeziesierung sind schon eine Reihe von Methoden veröffentlicht worden die auf der IC-ICP-MS basieren [68], und auch hier kommen weitere hinzu, die die Analyse vereinfachen und es ermöglichen mit nur einer Analyse möglichst viele Spezies zu bestimmen [69]. Eine aktuell von Ammann beschriebene Methode nutzt eine Gradientenelution mit 2 mm IC-Säulen zur Bestimmung von 5 Arsenspezies innerhalb von zehn Minuten bei Nachweisgrenzen im $\mu\text{g l}^{-1}$ Bereich [70].

Weitere Methoden wurden für die Elementspeziesanalyse des Selens in Kartoffeln [71] und Thallium in Pflanzen [72] vorgestellt.

Eine sehr interessante Methode zur Speziesierung von Zink-Aminocarbonsäurekomplexen wurde kürzlich von Chen vorgestellt. Um das Ziel dieser Arbeit, die Bestimmung von verschiedenen Zinkkomplexen im Ultraspurenbereich, zu erreichen, wurde hier ebenfalls auf die on-line Kopplung IC-ICP-MS zurückgegriffen [73].

Bei den bisher vorgestellten Beispielen der Elementspeziesanalyse handelte es sich um die Spezies eines Metalls. Es kann jedoch auch die Vorkommensform von Nichtmetallen, wie z. B. Iod oder Brom von Interesse sein [29]. Hier wurde kürzlich von Chen eine Methode veröffentlicht, die Iodid und Iodat in Meerwasser durch die IC-ICP-MS im unteren $\mu\text{g l}^{-1}$ Bereich bestimmt [74]. Auch die Bestimmung anorganischer Schwefelspezies ist durch die Kopplung der IC an ein ICP-MS im Spurenbereich möglich [75].

3.1.2 Abtrennung der Probenmatrix

Obwohl sich mit dem ICP-MS die meisten Elemente auf mindestens einem Isotop störungsfrei messen lassen, kann es zum Teil dennoch erforderlich sein, störende Probenbestandteile vor der Analyse mit dem ICP-MS abzutrennen. So wurde z. B. trotz des Einsatzes der Reaktionszelle bei der Chromspeziierung darauf geachtet, dass die Kohlenstoff enthaltenden Spezies zu einer anderen Zeit eluieren, als die zu detektierenden Chromspezies [26].

Ist man an der Isotopenverteilung interessiert, so lässt es sich z. B. bei den Lanthaniden und Actiniden aufgrund der Isotopenvielfalt nicht umgehen, die einzelnen Elemente vor der Isotopenanalyse mit einer chromatographischen Methode zu trennen [76].

3.1.3 Weitere Einsatzmöglichkeiten

Guo hat gezeigt, dass sich die IC-ICP-MS auch als Methode zur Analyse von Verbindungen eignet, die kein Metall enthalten. Er zeigte, wie verschiedene organophosphor Herbizide durch diese Technik im ng l^{-1} Bereich bestimmt werden können. Aufgrund der Tatsache, dass diese ionisch vorliegen, können sie gut über die Ionenchromatographie getrennt werden. Die Detektion erfolgt über das ICP-MS auf dem m/z eines Phosphorisotops und liefert so die erforderliche Empfindlichkeit [77] [78].

Ein weiteres Beispiel der Verwendung der IC-ICP-MS ist die Analyse der Vorkommensform von verschiedenen Komplexbildnern [2]. Hier wurde untersucht, mit welchen Metallen verschiedene Komplexbildner als Komplexe vorliegen. Hierfür wurde die Chromatographie verwendet, um die Information über die Art des Komplexes zu erhalten und das ICP-MS konnte als sensitiver Multielementdetektor die Information über das Metall liefern.

Eine weitere interessante Anwendung für die on-line Kopplung IC-ICP-MS ist die Bestimmung von Komplexbildungskonstanten [79] [61] [80]. Bei dieser Methode werden Lösungen, die ein Metall und einen Komplexbildner in unterschiedlichen Verhältnissen zueinander enthalten mit der IC-ICP-MS untersucht. Da das freie Metall und der Komplex zu unterschiedlichen Zeiten eluieren und die Peakflächen proportional zu den Metallkonzentrationen sind, kann über das Verhältnis der Peakflächen bei verschiedenen Mischungsverhältnissen die Komplexbildungskonstante ermittelt werden.

3.2 Methoden zur Analyse von Komplexbildnern

Es wurden eine Reihe von Methoden entwickelt, um Komplexbildner in Lösungen zu analysieren. Die ersten Methoden basierten auf einer Titration, der Atomspektrometrie oder der UV/Vis-Spektrometrie. Diese sind jedoch in der Regel sehr unspezifisch und liefern Nachweisgrenzen im mg l^{-1} Bereich. Modernere Methoden verwenden Trenntechniken wie die Chromatographie oder Kapillarelektrophorese (CE) zur Auftrennung der verschiedenen Komplexe oder Komplexbildner und detektieren diese anschließend über z. B. UV/Vis-Detektoren oder Massenspektrometer. Diese Methoden sind aufgrund der vorherigen Trennung sehr spezifisch und es lassen sich mehrere Komplexbildner simultan bestimmen. Je nach eingesetztem Detektor werden Nachweisgrenzen im mg l^{-1} – $\mu\text{g l}^{-1}$ Bereich erreicht [81] [9].

3.2.1 Titration

Die in dieser Arbeit untersuchten Komplexbildner sind auch als Komplexe 1 – 5 in der analytischen Chemie bekannt. Hier werden sie verwendet, um Metalle titrimetrisch zu bestimmen. Dafür wird zu einer Lösung, in der die unbekannte Menge des Metalls und ein Indikator vorliegen, eine Lösung mit dem Komplexbildner hinzutitriert. Durch die Zugabe des Komplexbildners werden die freien Metalle in der Lösung komplexiert und stehen dem Indikator so nicht mehr zu Verfügung. Dieser bildet selber schwache Komplexe mit dem Metall und ändert seine Farbe, je nachdem ob er an ein Metall gebunden ist oder nicht. Durch die Wahl des Komplexbildners und der Titrationsbedingungen lässt sich so auch eine gewisse Selektivität bezüglich des Metalls erreichen [8].

Dieses Verhalten lässt sich auch zur Bestimmung von Komplexbildnern verwenden, wenn man zu diesen eine Metalllösung hinzutitriert. Auch hier ist durch die Wahl des Metalls und der Titrationsbedingungen eine gewisse Selektivität möglich [82]. Die Nachweisgrenzen dieser Verfahren liegen jedoch im mg l^{-1} Bereich und es ist mit zahlreichen Störungen durch andere komplexierende Stoffe zu rechnen.

3.2.2 Atomspektrometrie

Zur Bestimmung von Komplexbildnern mit der Atomspektrometrie muss der Probe vor der Analyse ein Überschuss an Metall, z. B. Cu^{2+} , zugesetzt werden. Anschließend ist die Entfernung des nicht komplexierten Metalls erforderlich, über die dann gemessene Metallkonzentration kann auf die Komplexbildnerkonzentration geschlossen werden. Die Entfernung des überschüssigen Metalls kann beim Beispiel mit Kupfer durch Fällung des unlöslichen Kupferhydroxids ($\text{Cu}(\text{OH})_2$) mit anschließender Filtration erfolgen [83]. Die Nachweisgrenzen liegen wieder im mg l^{-1} Bereich, jedoch ist diese Methode sehr unspezifisch, da mit ihr eher die gesamte Komplexbildnungskapazität der Probe bestimmt werden kann.

3.2.3 UV/Vis-Spektrometrie

Da die Komplexbildner mit den meisten Metallen Komplexe bilden, die im UV/Vis-Bereich absorbieren, kann die Detektion der Komplexe auch photometrisch erfolgen. Hierfür wird der Probe wieder ein Überschuss an Metall, z. B. Chrom [84], zugefügt und anschließend die Absorption auf dem Absorptionsmaximum des Komplexes gemessen. Nach dem Lambert-Beerschen-Gesetz (vgl. Kapitel 2.1.5) ist die Extinktion direkt proportional zur Konzentration des Analyten. Auf diese Weise lässt sich die Konzentration des Komplexbildners ermitteln. Jedoch ist auch diese Methode sehr unspezifisch, da sie sämtliche Substanzen erfasst, die in dem beobachteten Bereich Licht absorbieren [85].

3.2.4 Elektrochemische Verfahren

Die DIN Methode 38413-5 beschreibt die polarographische Bestimmung von EDTA und NTA [86] [87]. Hierbei werden die Komplexbildner als deren Bismut-Komplexe bestimmt. Wird anstelle der normalen Differenzpulspolarographie (DPP) die Differenzpulspolarographie mit Anodic-Stripping-Technik verwendet, können Nachweisgrenzen von $0,1 \mu\text{g l}^{-1}$ erreicht werden [88] [89]. Jedoch leiden auch diese Verfahren an einer geringen Selektivität, so dass diese nur zur Bestimmung der allgemeinen Komplexbildnungskapazität verwendet werden können.

3.2.5 Kapillarelektrophorese

Die Kapillarelektrophorese erlaubt sowohl die Bestimmung der freien Säuren, als auch der in der Probe vorliegenden Komplex-Spezies und somit auch die Bestimmung eines definierten Komplexes, der in der Probenvorbereitung gebildet wird, wodurch die CE vielseitige Einsatzmöglichkeiten bietet. Mit dem Standarddetektor der CE, dem UV/Vis-Detektor werden die üblichen Nachweisgrenzen im mg l^{-1} Bereich erreicht [90]. Durch die Kopplung an ein Massenspektrometer kann die Empfindlichkeit noch gesteigert werden, jedoch steckt diese Kopplungstechnik noch in der experimentellen Phase [9] [91].

3.2.6 Chromatographie

Die verwendeten chromatographischen Methoden können in flüssigchromatographische und gaschromatographische Methoden unterteilt werden. In der Flüssigchromatographie werden entweder die freien Säuren oder deren Metallkomplexe (meist Eisen(III)) über eine Ionenpaar- oder Ionenaustauschchromatographie getrennt. Durch den Zusatz von Eisen(III) vor der Trennung werden die Komplexbildner in definierte Komplexe überführt, die auch eine Detektion via UV/Vis ermöglichen [16] [92] [93] [94]. Ein Chromatogramm bei Verwendung dieser Methode ist in Abbildung 3.1 auf der nächsten Seite zu sehen. Durch eine Anreicherung der Analyten an einer Festphase kann auch bei diesen Methoden die Empfindlichkeit noch erhöht werden [95].

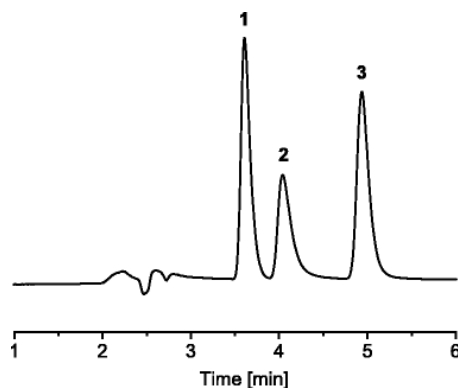


Abbildung 3.1: Trennung von je $0,1 \text{ mmol l}^{-1}$ NTA (1), EDTA (2) und DTPA (3) bei Verwendung der Ionenpaarchromatographie mit UV/Vis Detektor [94].

Eine moderne Methode zur Verbesserung der Empfindlichkeit in der HPLC ist die Verwendung eines Chemolumineszenzdetektors. Ruiz hat hier eine empfindliche Methode zur Bestimmung verschiedener Komplexbildner mit dieser Technik vorgestellt [96].

Eine weitere empfindliche Methode ist die on-line Kopplung der IC mit einem Elektrosprayionisations (ESI) Massenspektrometer unter dem Einsatz von ^{13}C markierten Standards [97] [98]. Die Verwendung einer ionenchromatographischen Trennung mit einem amperometrischen Detektor erlaubt sowohl die Detektion der freien Komplexbildner, als auch deren Metallkomplexe. Daher kann diese Methode verwendet werden, wenn die Vorkommensform der Komplexbildner untersucht werden soll [99] [100]. Zur Bestimmung der Vorkommensform der Komplexbildner kann auch die on-line Kopplung IC-ICP-MS verwendet werden [2] [101]. Dabei werden die verschiedenen Metallkomplexe über eine IC getrennt und die Metalle mit dem ICP-MS detektiert. Durch die Multielementfähigkeit des ICP-MS können die verschiedenen Metallkomplexe simultan in sehr geringen Konzentrationen nachgewiesen werden.

Für eine direkte Analyse der Komplexbildner mit der Gaschromatographie sind diese nicht flüchtig genug, so dass eine Derivatisierung zwingend erforderlich ist [17] [89]. Nach der Überführung in die Alkyl- oder Propylester-Derivate ist eine Analyse mit der GC möglich, jedoch ist diese Derivatisierung sowohl zeit- als auch arbeitsintensiv. Die Detektion erfolgt mit einem GC- oder Stickstoff/Phosphor-Detektor bei denen jedoch auch eine Anreicherung der Analyten in der Probe vor der Derivatisierung erforderlich ist, um die Nachweisgrenzen im $\mu\text{g l}^{-1}$ Bereich zu ermöglichen. Diese Anreicherung kann entweder über eine Festphasenextraktion oder einfaches Eindampfen der Lösung erfolgen [102] [103]. Die üblichen Schritte der Probenvorbereitung sind in Abbildung 3.2 kurz skizziert und ein Chromatogramm Propyllester von NTA, EDTA und DTPA ist in Abbildung 3.3 auf der nächsten Seite zu sehen.

Aufgrund der zahlreichen Bearbeitungsschritte und einer möglichen unvollständigen Derivatisierung ist die Verwendung eines internen Standards über das gesamte Verfahren erforderlich. Zusätzlich muss ein weiterer interner Standard vor der Analyse mit dem GC-MS zugefügt werden, um eine Quantifizierung zu ermöglichen. Obwohl diese Methode sehr aufwendig ist, hat sie sich als die Standardme-

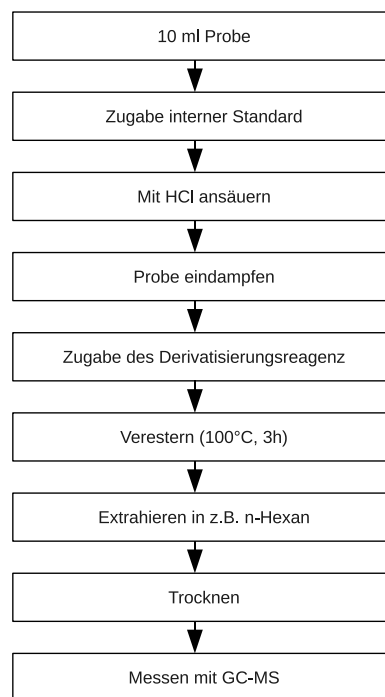


Abbildung 3.2: Ablauf der Probenvorbereitung für die GC-MS Analyse.

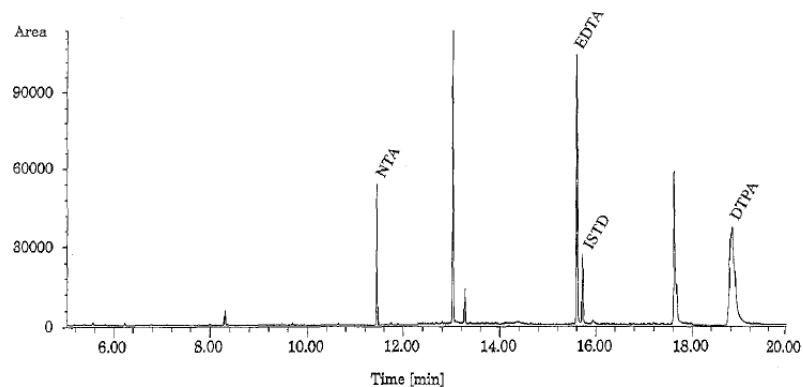


Abbildung 3.3: Trennung von $0,1 \text{ mg l}^{-1}$ NTA, $0,2 \text{ mg l}^{-1}$ EDTA und $0,6 \text{ mg l}^{-1}$ DTPA bei Verwendung der GC Methode [104].

thode zur Analyse der Komplexbildner in Wasser bewährt. Mit ihr werden aufgrund der Anreicherung zuverlässig Nachweisgrenzen im unteren $\mu\text{g l}^{-1}$ Bereich erreicht.

3.3 Zusammenfassung

Es wurden viele Verfahren für die Analyse von aminopolycarbonsäure Komplexbildnern entwickelt, die auf verschiedensten analytischen Methoden basieren. Nicht alle Verfahren besitzen die notwendige Selektivität, um zwischen verschiedenen Komplexbildnern zu unterscheiden. Es sind auch Methoden entwickelt worden, die es erlauben, eine Aussage über den Komplexkern zu treffen.

Am weitesten verbreitet sind die beiden DIN Methoden DIN 38413-5 und DIN EN ISO 16588, die auf der Ionenpaarchromatographie mit UV/Vis-Detektion und der Gaschromatographie mit einem Stickstoff-Phosphor selektiven Detektor oder einem Massenspektrometer beruhen. Die Ionenpaarchromatographie bietet eine schnelle Probenvorbereitung, dabei aber nur Nachweisgrenzen im unteren mg l^{-1} Bereich. Dagegen kann die GC Methode noch Konzentrationen im unteren $\mu\text{g l}^{-1}$ Bereich nachweisen, ist jedoch mit einem großen Aufwand in der Probenvorbereitung verbunden. Die on-line Kopplung IC-ICP-MS wurde für die Analyse von Komplexbildnern auch schon verwendet, jedoch waren hier die vorhandenen Spezies von Interesse und nicht der Gesamtgehalt der einzelnen Komplexbildner. Eine selektive Methode, die bei einer einfachen Probenvorbereitung Nachweisgrenzen im unteren $\mu\text{g l}^{-1}$ Bereich und niedriger aufweist, konnte bisher nicht gefunden werden.

4 Methodenentwicklung

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte Methodenentwicklung lässt sich in drei Teile untergliedern:

- Wahl des analytischen Systems und der Probenvorbereitung
- Untersuchung des Systems
- Verfeinerung der Methode

Bei der Wahl des analytischen Systems muss festgelegt werden, mit welchen stationären und mobilen Phasen gearbeitet wird. Die Probenvorbereitung ist bei dieser Methode von hoher Bedeutung, da die Komplexbildner mit dem ICP-MS nicht direkt detektiert werden können, sondern vor der Analyse in definierte Metallkomplexe überführt werden müssen.

Nach der Wahl des analytischen Systems und der Probenvorbereitung galt es, das System und den Einfluss verschiedener Parameter, wie z. B. die Eluent- oder Probenzusammensetzung zu untersuchen.

Im Anschluss konnte in einem letzten Schritt die Methode durch gezielte Anpassung der Parameter mit dem Ziel die Analysezeit zu verkürzen und Nachweisgrenzen zu senken weiter verfeinert werden.

4.1 Konzept der neuen Methode

Für die on-line Kopplung IC-ICP-MS hat sich die Ionenaustauschchromatographie besonders bewährt. Diese bietet den Vorteil, dass wässrige Eluenten verwendet werden können und zur Erhöhung der Empfindlichkeit entsprechend große Probenvolumina injiziert werden können. Als stationäre Phase hat sich für eine ähnliche Aufgabenstellung [26] die Verwendung von Ionenaustauschern auf PS/DVB-Basis mit apolaren Austauscherguppen als sinnvoll erwiesen. Daher wird auch im Rahmen dieser Arbeit auf eine solche Phase zurückgegriffen, die von V. Theis [105] synthetisiert wurde.

Als Eluent sollte Ammoniumnitrat verwendet werden, da sich dieser besonders für die on-line Kopplung mit dem ICP-MS eignet. Im Plasma zerfällt Ammoniumnitrat in gasförmige Produkte und es können sich so keine Ablagerungen an den Cones bilden.

Kernidee dieser Methode ist, dass die Komplexbildner stabile Komplexe mit einem gegebenen Metall bilden, diese über die IC getrennt werden und anschließend das Metall mit dem ICP-MS detektiert wird. Demnach muss dem Metall eine besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden.

Das Metall sollte mit den zu analysierenden Komplexbildnern thermodynamisch stabile Komplexe bilden. Die thermodynamische Stabilität ist wichtig, um eine vollständige Transmetallierung sicherzustellen und zeichnet sich durch eine hohe Komplexbildungskonstante aus. Um zusätzlich das Gleichgewicht auf die Seite des gewünschten Komplexes zu verschieben, soll dieses im großen Überschuss eingesetzt werden.

Auch die kinetische Stabilität der Komplexe ist von Interesse. Zersetzt sich der Komplex auf der stationären Phase, kann er sich unter Umständen nicht wieder neu bilden, da sich Metall und Komplexbildner im chromatographischen Bett mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten bewegen und daher räumlich getrennt werden können. Daher sollte das Metall im Idealfall kinetisch inerte Komplexe bilden.

Zu beachten ist, dass der Überschuss des Metalls zu weiteren Problemen führen kann. Bei der Verwendung einer chromatographischen Säule mit einem Anionenaustauscher sollte das Metall vollständig im Totvolumen eluieren, um nicht mit den Signalen der Analyten zu überlagern und um reproduzierbare Ergebnisse zu ermöglichen. Daher ist es notwendig, dass das Metall unter den gewählten Bedingungen nicht als anionischer Hydroxokomplex vorliegt.

Weiterhin sollte es, um gute Nachweisgrenzen zu erreichen, mit einem ICP-MS gut zu detektieren sein. Das bedeutet, dass es im Idealfall monoisotopisch ist, es auf dem m/z des Hauptisotopes keine nennenswerten Interferenzen gibt und es durch das Argonplasma gut zu ionisieren ist. Um eine Trennung mit der Anionenchromatographie zu ermöglichen, muss dieses Metall mit den zu analysierenden Komplexbildnern negativ geladene Komplexe bilden.

Demnach sind von dem Metall folgende Eigenschaften erwünscht:

- thermodynamisch stabile Komplexe mit NTA, EDTA, DTPA und CDTA
- kinetisch inerte Komplexe
- Komplexe besitzen eine negative Gesamtladung
- das freie Metall eluiert im Totvolumen
- gute Ionisierbarkeit im Argonplasma
- monoisotopisch
- keine Interferenzen

Bei den Metallen Chrom, Eisen und Indium konnten weitreichende Übereinstimmungen mit den geforderten Eigenschaften gefunden werden. Alle drei Metalle liegen in Lösung üblicherweise in der Oxidationsstufe +III vor und bilden mit den zu untersuchenden Komplexbildnern thermodynamisch stabile Komplexe. Die Komplexbildungskonstanten dieser Metalle sind in Tabelle 4.1 auf der nächsten Seite aufgelistet. Diese Tabelle zeigt, dass sich die Stabilität der Komplexe mit diesen Metallen kaum unterscheidet. Es ist jedoch ein leichter Trend zu stabileren Komplexen von Chrom(III) über Eisen(III) zu Indium(III) zu erkennen.

Tabelle 4.1: pK-Werte von Metallkomplexen [64].

Metall	NTA	EDTA	DTPA	CDTA
Cr ³⁺	6,2 ¹	23,4 ¹		
Fe ³⁺	15,9 ¹	25,1 ¹	28,0 ¹	30,1 ³
In ³⁺	16,9 ¹	25,0 ¹	29,0 ¹	28,8 ¹

Tabelle 4.2: Austauschraten von Aquakomplexen [62] [63].

Aquakomplex	Austauschrate k / s ⁻¹
[Cr(H ₂ O) ₆] ³⁺	2,4 × 10 ⁻⁶
[Fe(H ₂ O) ₆] ³⁺	1,6 × 10 ²
[In(H ₂ O) ₆] ³⁺	1,0 × 10 ⁷

Die kinetische Stabilität dieser Komplexe lässt sich, wie in Kapitel 2.5 auf Seite 34 erwähnt, anhand der Austauschraten der Aquakomplexe abschätzen. In Tabelle 4.2 sind die Austauschraten dieser drei Metalle aufgelistet.

Die kinetischen Stabilitäten der drei gewählten Metalle unterscheiden sich deutlich: Bei den Chrom(III)komplexen ist ein sehr langsamer Austausch zu beobachten; die Indium(III)komplexe hingegen tauschen deutlich schneller aus und sind demnach wesentlich labiler als die des Chrom(III). Die Austauschrate des Eisen(III) ist zwischen der von Chrom(III) und Indium(III) angesiedelt.

Wie bereits erwähnt, dürfen diese Metalle unter den Bedingungen der Probenvorbereitung der chromatographischen Trennung keine negativ geladenen Hydroxokomplexe bilden, da diese auch im System retardiert würden. Unter Verwendung des Programms Visual MINTEQ wurde die Speziesverteilung der Metalle (1 µg l⁻¹) bei verschiedenen pH-Werten berechnet. Als Grundlösung wurde hier der zu verwendende Eluent mit einer Konzentration von 55 mmol l⁻¹ angenommen. Die Spezies mit ihren zu erwartenden Häufigkeiten können der Tabelle 4.3 auf der nächsten Seite entnommen werden.

Diese Werte zeigen deutlich, dass sowohl für die Probenvorbereitung, als auch für den Eluenten ein pH von 4 oder niedriger gewählt werden sollte.

Die Probenvorbereitung muss sicherstellen, dass nahezu der gesamte Komplexbildner in die gewünschte Form überführt wird. Daher muss das Metall im Überschuss addiert werden, um die anderen Metalle von den Komplexbildnern zu verdrängen. Auch hier wurden Berechnungen mit dem Programm Visual MINTEQ durchgeführt, um Informationen über die Verteilung der sich bildenden Komplexe zu erlangen. Die für diese Rechnungen angenommenen Metallkonzentrationen sind in Tabelle 4.4 auf der nächsten Seite aufgeführt und bilden einen Mittelwert aus den von Hessenwasser zur Verfügung gestellten Wasserproben.

¹ML/M.L bei 20° Ionenstärke 0,1 mol l⁻¹

³ML/M.L bei 20° Ionenstärke 0,2 mol l⁻¹

Tabelle 4.3: Metallspezies in 55 mmol l⁻¹ NH₃NO₃ Lösung bei verschiedenen pH-Werten.

Spezies	pH 4	pH 6	pH 9
Cr(OH) ₂ ⁺	0,2	28,8	0,2
Cr(NO ₃) ₂ ⁺	0,4	—	—
Cr ³⁺	29,8	0,3	—
CrOH ²⁺	69,5	58,4	—
Cr(OH) _{3(aq)}	—	12,3	99,4
Cr(OH) ₄	—	—	0,4
Cr(NH ₃) ₃ ³⁺	0,1	0,2	—
Fe ³⁺	0,4	—	—
FeOH ²⁺	36,8	0,6	—
Fe(OH) ₂ ⁺	62,8	99,3	7,8
Fe(OH) _{3(aq)}	—	0,1	4,2
Fe(OH) ₄ ⁻	—	—	88,0
In ³⁺	25,3	—	—
In(NO ₃) ₂ ⁺	9,2	—	—
In(OH) ₄ ⁻	—	17,5	17,5
In(OH) _{3(aq)}	7,7	82,5	82,5
In(OH) ₂ ⁺	32,0	—	—
In(OH) ²⁺	25,8	—	—

Tabelle 4.4: Angenommene Metallkonzentrationen in Quellwasser.

Metall	Konzentration / mg l ⁻¹
Natrium	20
Kalium	2
Magnesium	30
Calcium	70
Aluminium	0,05
Chrom	0,01
Eisen	0,02

4.1. KONZEPT DER NEUEN METHODE

Diese Berechnungen wurden an dem Beispiel der EDTA mit einer Konzentration von $5 \mu\text{g l}^{-1}$ durchgeführt. Die berechneten EDTA-Spezies einer solchen Lösung bei pH 4 und 7 sind in Tabelle 4.5 zu sehen. Hier ist deutlich die Abhängigkeit der Verteilung vom pH-Wert der Lösung zu erkennen. Bei pH 4 dominiert noch der FeEDTA^{-1} -Komplex, der bei einem pH von 7 fast vollständig durch Komplexe der EDTA mit Chrom verdrängt wird.

Tabelle 4.5: Prozentuale Verteilung der EDTA-Spezies in Quellwasser.

Spezies	pH 4	pH 7
FeEDTA^{-}	61,3	3,7
$\text{FeHEDTA}_{(aq)}$	0,2	—
FeOHEDTA^{2-}	—	0,7
CrEDTA^{-}	38,2	80,2
$\text{CrHEDTA}_{(aq)}$	0,3	—
CrOHEDTA^{2-}	—	15,4

Die Tabellen 4.6 bis 4.8 zeigen die Berechnungen unter den selben Annahmen, jedoch wurde hier die Konzentration von Chrom, Eisen oder Indium auf $1\,000 \mu\text{g l}^{-1}$ gesetzt um zu untersuchen, ob diese Konzentration ausreichend ist, um eine vollständige Transmetallierung zu erreichen.

Tabelle 4.6: Prozentuale Verteilung der EDTA-Spezies in Quellwasser mit $1\,000 \mu\text{g l}^{-1}$ Chrom(III).

Spezies	pH 4	pH 7
FeEDTA^{-}	2,4	—
CrEDTA^{-}	96,4	83,8
$\text{CrHEDTA}_{(aq)}$	1,2	—
CrOHEDTA^{2-}	—	16,1

Tabelle 4.7: Prozentuale Verteilung der EDTA-Spezies in Quellwasser mit $1\,000 \mu\text{g l}^{-1}$ Eisen(III).

Spezies	pH 4	pH 7
FeEDTA^{-}	98,4	57,3
$\text{FeHEDTA}_{(aq)}$	0,3	—
FeOHEDTA^{2-}	—	10,6
CrEDTA^{-}	1,2	26,9
CrOHEDTA^{2-}	—	5,2

In diesen Tabellen ist zu erkennen, dass sich alle drei Metalle bei einer Konzentration von $1\,000 \mu\text{g l}^{-1}$ eignen, um eine fast vollständige Transmetallierung zu erreichen. Jedoch spiegeln sich hier die Komplexbildungskonstanten wieder, so dass bei Chrom der gewünschte Komplex nur zu

Tabelle 4.8: Prozentuale Verteilung der EDTA-Spezies in Wasser mit $1\,000\ \mu\text{g l}^{-1}$ Indium(III).

Spezies	pH 4	pH 7
FeEDTA ⁻	0,1	2,9
FeOHEDTA ²⁻	—	0,5
CrEDTA ⁻	0,1	63,8
CrOHEDTA ²⁻	—	12,3
InHEDTA _(aq)	—	—
InEDTA⁻	99,8	20,48

96,4%, bei Eisen zu 98,4% und bei Indium zu 99,8% erreicht wird. Auch hier wird wieder deutlich, dass sich die gewünschten Spezies bei einem niedrigen pH bilden.

Aufgrund dieser Erkenntnisse wird die Probenvorbereitung mit einer $1\,000\ \mu\text{g l}^{-1}$ Metalllösung in $55\ \text{mmol l}^{-1}\ \text{NH}_4\text{NO}_3$ bei einem pH von 4 durchgeführt. Ähnliche Bedingungen sind für die chromatographische Trennung wünschenswert, jedoch muss dabei die Eluentkonzentration eventuell noch angepasst werden, um eine vollständige Trennung zu erreichen.

4.2 Grundlegende Untersuchungen des methodischen Ansatzes

In diesem Abschnitt sollen die Eigenschaften des gewählten analytischen Systems näher untersucht werden. Hier wurde unter anderem das Metall, die Eluentkonzentration und der pH-Wert des Eluenten variiert.

Im ersten Schritt wurden die Komplexstöchiometrien und die Komplexbildung am Beispiel der Eisenkomplexe mit einem UV/Vis-Photometer näher untersucht. Auch unter UV/Vis-Detektion wurden die ersten Trennungen auf einem IC-System an den Eisenkomplexen durchgeführt und dieses System anschließend auf die on-line Kopplung IC-ICP-MS übertragen. Mit der on-line Kopplung erfolgten dann weitere Experimente mit der Variation des Eluenten.

4.2.1 Eisen(III)-Komplexe der NTA, EDTA, DTPA und CDTA

Um sich mit den Eisenkomplexen der NTA, EDTA, DTPA und CDTA vertraut zu machen, wurden diese mit einem UV/Vis-Photometer untersucht. Hierbei soll das Absorptionsmaximum der Komplexe ermittelt werden, um die UV/Vis-Detektion einsetzen zu können. Weiterhin sollen die Komplexstöchiometrien und die optimalen Bedingungen für die Komplexbildung experimentell ermittelt werden. Ein großer Teil dieser Messungen wurde im Rahmen eines Vertiefungsprojektes von Jan Christoph Bernhammer durchgeführt.

Komplexstöchiometrien

Zur Untersuchung der Stöchiometrien starker Komplexe eignet sich die Methode der kontinuierlichen Variation nach Job [106]. Hierbei wird photometrisch die Konzentration eines Komplexes ML_n bestimmt, welcher sich aus dem Zentralatom M und n Liganden L bildet. Es wird schrittweise die Konzentration von M und L geändert, so dass die M Konzentration von 0% auf 100% ansteigt, während die L Konzentration von 100% auf 0% abnimmt. Es werden eine Reihe von Messpunkten mit unterschiedlichen Konzentrationen von M und L untersucht und jeweils die Extinktion am Maximum der Absorptionsbande des Komplexes gemessen. An dem Punkt, an dem das stöchiometrische Verhältnis M zu L vorliegt, wird eine vollständige Umsetzung erfolgen und daher auch die Konzentration von ML_n am größten sein, was durch die größte Extinktion zu erkennen ist. An den anderen Messpunkten wird ein Überschuss an M oder L vorliegen, jedoch wird weniger ML_n gebildet und die Extinktion ist geringer. Bei der Auftragung der gemessenen Extinktion gegen den Prozentsatz M oder L erhält man eine Kurve, deren Maximum das stöchiometrische Verhältnis angibt. Schematisch ist eine solche Auftragung in Abbildung 4.1 zu sehen.

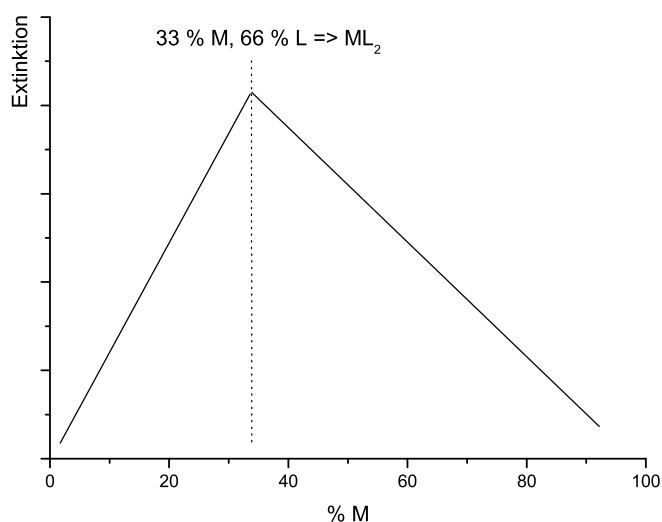


Abbildung 4.1: Schema eines Job-Plots.

Die UV/Vis-Spektren wurden mit einem Zweistrahlphotometer der Fa. Zeiss (DRM 10) aufgenommen. Die Lösungen wurden in einem NH_4NO_3 Puffer (55 mmol l^{-1} , pH 4) angesetzt, mit dem auch die Referenzküvette gefüllt war. Weiterhin wurden sämtliche Lösungen nach dem Ansetzen für 1 h auf 50° erwärmt. Die Spektren der freien Liganden zeigten kaum Absorption in dem beobachteten Bereich (240 – 600 nm), jedoch ist bei den Eisenlösungen je nach Gegenion eine Absorption bei 300 nm zu beobachten (Abbildung 4.2 auf der nächsten Seite). Wenn nicht anders beschrieben, wurde im Folgenden eine Eisen(III)chlorid-Lösung verwendet.

In Abbildung 4.3 sind die Spektren der vier Eisenkomplexe abgebildet. Da alle Komplexe bei 255 nm eine deutliche Absorption zeigen, wurde diese Wellenlänge für die Messungen der Job-Kurven ver-

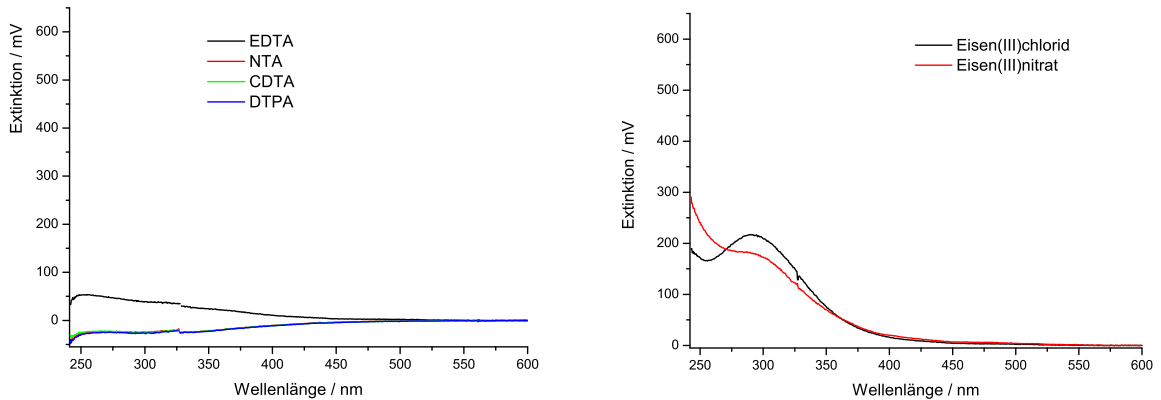


Abbildung 4.2: Übersichtsspektren der freien Komplexbildner (links) und der Eisen(III)-Lösungen (rechts) (Konzentration jeweils $0,1 \text{ mmol l}^{-1}$ in $55 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$).

wendet. Es wurden für jeden Komplexbildner die in Tabelle 4.9 auf der nächsten Seite aufgeführten fünf Lösungen mit unterschiedlichen Ligand- und Eisenkonzentrationen angesetzt. Dabei wurde die Stoffmenge so gewählt, dass Lösung 3 eine Konzentration von je $0,1 \text{ mmol l}^{-1}$ Metall und Ligand aufwies.

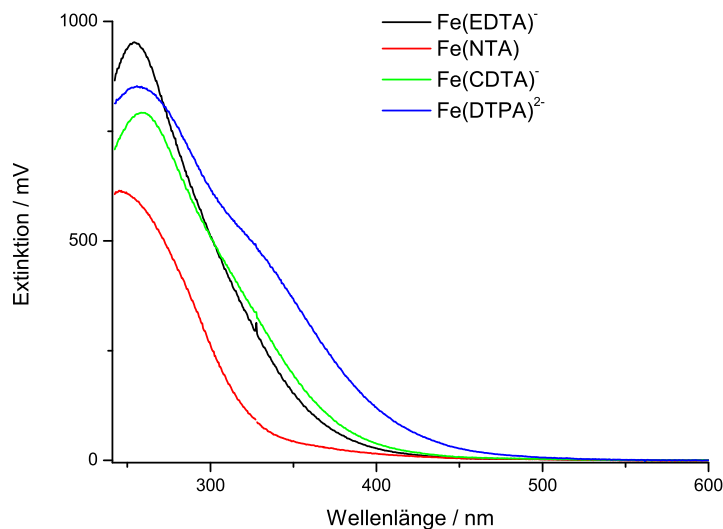


Abbildung 4.3: Übersichtsspektren der Eisenkomplexe (Konzentration jeweils $0,1 \text{ mmol l}^{-1}$ in $55 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$).

Die erhaltenen Job-Plots sind für die vier Komplexbildner in Abbildung 4.4 auf der nächsten Seite abgebildet. Da bei den Plots der Komplexe von Eisen mit EDTA, DTPA und CDTA der Schnittpunkt der beiden Geraden nahe 50% liegt, kann für diese Komplexbildner von 1:1 Komplexen ausgegangen werden. Lediglich beim NTA liegt der Schnittpunkt bei 40% und es kam zu einer großen Streuung der Messpunkte. So kann hier nicht mit Sicherheit von einem 1:1 Komplex ausgegangen werden.

Tabelle 4.9: Lösungen zur Bestimmung der Komplexstöchiometrien nach Job.

	mol-% Ligand	mol-% Fe(III)
Lösung 1	5	95
Lösung 2	20	80
Lösung 3	50	50
Lösung 4	80	20
Lösung 5	90	5

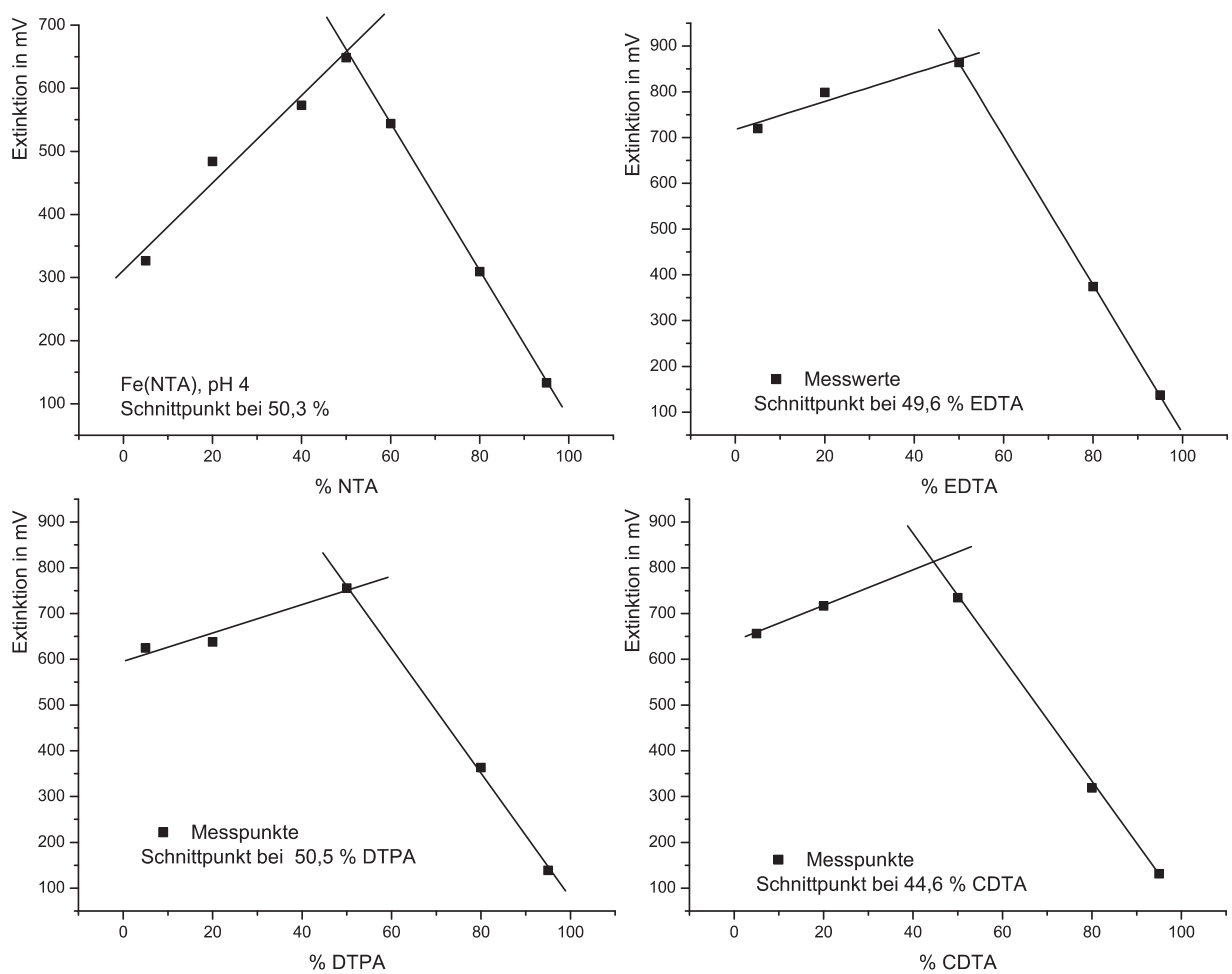


Abbildung 4.4: Job-Plots von Eisen(III) mit vier Komplexbildnern.

Um ein sicheres Ergebnis zu erhalten, wurde zum Einen das Experiment mit einer neuen Eisen(III)-Lösung, die aus Eisen(III)-nitrat anstelle von -chlorid angesetzt wurde, wiederholt. Zum Anderen wurde ein "Molar ratio"-Plot aufgenommen, um das Ergebnis zu bestätigen. Bei der Molar-Ratio-Methode wird die Konzentration von M konstant gehalten und die von L kontinuierlich erhöht. Dadurch steigt die Extinktion am Absorptionsmaximum des Komplexes ML_n mit der Zugabe von L kontinuierlich an, bis das stöchiometrische Verhältnis erreicht ist. Da ab diesem Punkt die weitere Zugabe von L nicht zu einer weiteren Bildung von ML_n führen kann, bleibt die Extinktion konstant. Anstatt des Maximums kann hier die Komplexstöchiometrie anhand des Knicks in der Kurve ermittelt werden. Die Wiederholung des Job-Plots mit Eisen(III)-nitrat und der "Molar ratio"-Plot sind in Abbildung 4.5 zu finden. Aus diesen Ergebnissen ist deutlich zu erkennen, dass es sich auch beim NTA Komplex mit Eisen um einen 1:1 Komplex handelt.

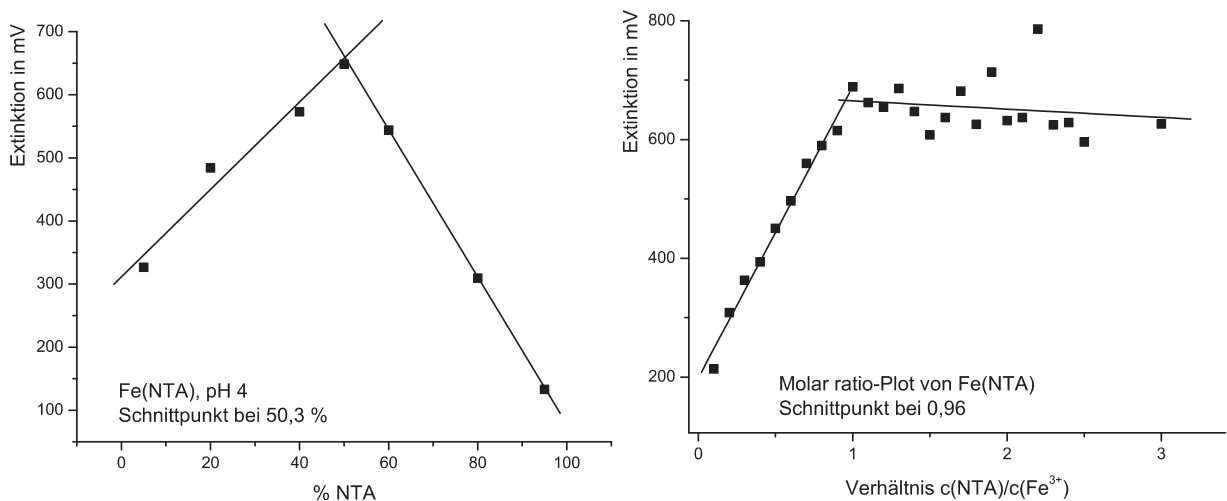


Abbildung 4.5: Wiederholung des Job-Plots für NTA (links). Molar ratio-Plot für NTA (rechts).

Durch die Experimente mit dem UV/Vis-Photometer konnte mit Hilfe der kontinuierlichen Variation nach Job und der Molar ratio Methode das 1:1 Verhältnis von Eisen(III) mit NTA, EDTA, DTPA und CDTA in einem $55 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$ -Puffer bei pH 4 bestätigt werden.

Komplexbildung

Um die Probenvorbereitung zu optimieren, wurde die Komplexbildung näher untersucht. Ziel war es festzustellen, ob eine spezielle Behandlung bezüglich der Temperatur und des pH-Wertes erforderlich ist. Zudem sollten theoretischen Ergebnisse aus Kapitel 4.1 auf Seite 48 bestätigt werden.

Die Komplexbildung wurde bei unterschiedlichen Temperaturen für unterschiedliche Zeiten durchgeführt. Im Anschluss wurde die Extinktion bei 255 nm gemessen. So konnte bereits nach 1 h bei 60° keine weitere Komplexbildung festgestellt werden. Daher wurden alle Proben standardmäßig für 1 h auf 60° erwärmt.

Zur Untersuchung der pH-Abhängigkeit der Komplexbildung wurden Lösungen mit je $0,1 \text{ mmol l}^{-1}$ des Liganden und $0,1 \text{ mmol l}^{-1}$ Eisen(III)-chlorid hergestellt. Diese wurden in

NH_4NO_3 -Puffer der Konzentration 55 mmol l^{-1} mit den pH-Werten 2, 4, 6, 8 und 10 hergestellt. Die pH-Abhängigkeit der Komplexbildung ist in Abbildung 4.6 zu sehen.

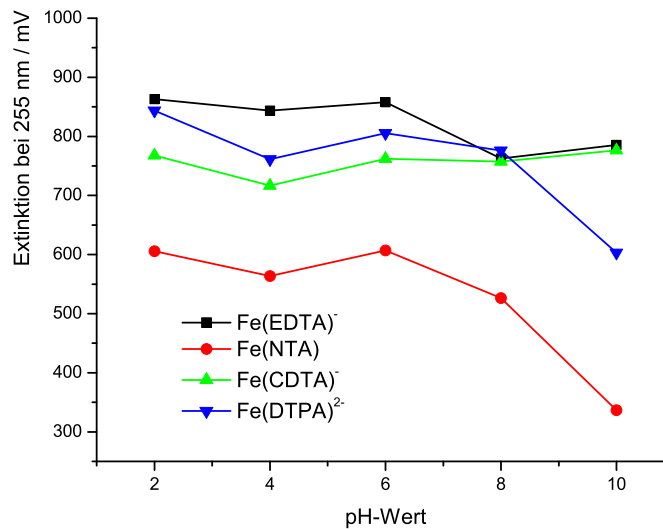


Abbildung 4.6: pH-Abhängigkeit der Komplexbildung.

Es ist zu erkennen, dass pH-Variationen zwischen zwei und sechs keinen Einfluss auf die Komplexbildung haben. Wird der pH-Wert jedoch weiter erhöht, ist eine Abnahme der Komplexkonzentration bei allen Komplexen, außer dem CDTA-Komplex, zu erkennen. Dies ist durch die beobachtete Ausflockung des Eisens als Eisen(III)hydroxid bei höheren pH-Werten zu erklären.

Zusammenfassung

Mit den Experimenten am UV/Vis-Photometer konnte gezeigt werden, dass es sich bei den Komplexen von Eisen(III) mit NTA, EDTA, DTPA und CDTA um 1:1 Komplexe handelt. Diese Komplexe werden schnell gebildet, jedoch wurden, um eine vollständige Komplexbildung auch in Realproben zu gewährleisten, alle Proben für 1 h auf 60° erwärmt. Die Komplexbildung ist im pH-Bereich von zwei bis sechs unproblematisch, bei einem höheren pH ist sie geringer, was durch das Ausfallen von Eisenhydroxid erklärt werden kann.

Diese Messungen bestätigen die theoretischen Berechnungen, dass die Probenvorbereitung bei einem niedrigen pH-Wert durchgeführt werden sollte. Jedoch wurde bei diesen Experimenten die mögliche Anwesenheit von anderen Metallen nicht berücksichtigt.

Alle vier Komplexe absorbieren bei 255 nm, so dass diese Wellenlänge gut für die Detektion geeignet ist.

4.2.2 Ionenchromatographische Trennung mit UV/Vis-Detektion

Alle Messungen dieses Kapitels wurden mit dem 844 UV/Vis Ionenchromatographen der Fa. Metrohm durchgeführt. Als stationäre Phase wurde ein oberflächenfunktionalisierter unpolarer TMA Austausch, wie in Kapitel 2.1.2 auf Seite 8 beschrieben, verwendet. Die apparativen Parameter sind in Tabelle 4.10 zusammengefasst.

Tabelle 4.10: Apparative Parameter.

Parameter	Wert
Säule	DV-070326-1B2
Fluss	0,6 ml min ⁻¹
Probenschleife	20 µl
Eluent	55 mmol l ⁻¹ NH ₄ NO ₃ , pH 2 – 6
Detektion	255 nm

Ein Chromatogramm der Eisenkomplexe von NTA, EDTA und DTPA unter den in Tabelle 4.10 genannten Bedingungen mit einem Eluenten bei pH 4 ist in Abbildung 4.7 dargestellt.

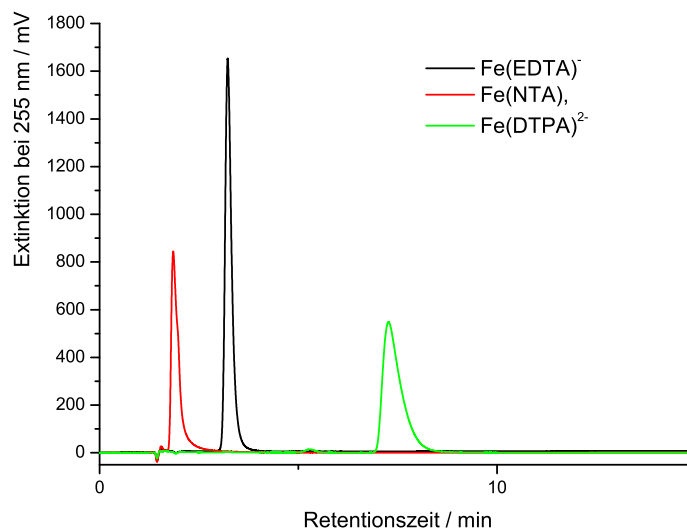


Abbildung 4.7: Chromatogramme der Eisen(III) komplexe von NTA, EDTA und DTPA. (Säule: DV-070326-1B2, Eluent: 55 mmol l⁻¹ NH₄NO₃, pH 4, Fluss: 0,6 ml⁻¹, Probenaufgabevolumen: 20µl).

Dieses Chromatogramm zeigt eine gute Trennung der drei Komplexe, jedoch sind einige Probleme zu erkennen. Zum Einen eluierte unter diesen Bedingungen auch innerhalb von einer Stunde nicht der Eisen(III)-CDTA-Komplex und zum Anderen eluiert der NTA Komplex sehr nahe am Totvolumen. Zur Lösung dieser Probleme wurde im Folgenden der Einfluss des pH-Werts des Eluenten auf die Retentionszeiten untersucht.

Einfluss des pH-Werts des Eluenten auf die Retentionszeiten

Der pH-Wert des Eluenten kann sich auf die Retentionszeit der Analyten auswirken. Dies ist dadurch zu erklären, dass sich die Komplexe mit dem pH-Wert in ihrer Struktur ändern können. So kann die Zahl der angelagerten Protonen oder Hydroxidionen und damit die Ladung variieren. In Abbildung 4.8 sind Chromatogramme der NTA-, EDTA- und DTPA-Komplexe bei den pH-Werten 2, 4 und 6 abgebildet.

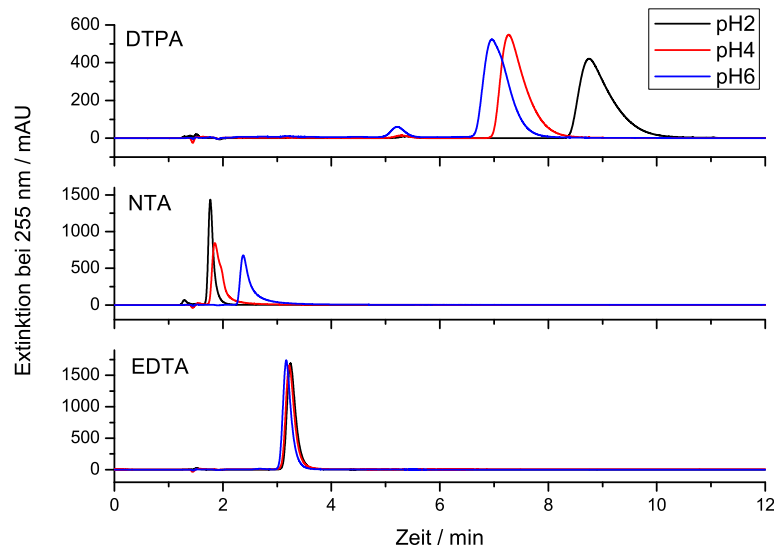


Abbildung 4.8: Chromatogramme der Eisen(III)-komplexe von NTA, EDTA und DTPA bei unterschiedlichen pH-Werten. (Säule: DV-070326-1B2, Eluent: $55 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$, pH 2 – 6, Fluss: $0,6 \text{ ml}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $20 \mu\text{l}$).

Bei den EDTA-Komplexen ist fast keine Änderung der Retentionszeiten festzustellen. Die Retentionszeiten wurden durch steigenden pH leicht verkürzt. Der selbe Trend wurde bei den DTPA-Komplexen beobachtet, jedoch ist er hier deutlich ausgeprägter. Weiterhin ist zu beobachten, dass die Peakform des DTPA-Komplexes mit steigendem pH symmetrischer wird.

Einen Sonderfall stellt das Verhalten des Eisen(III)-NTA-Komplexes da. Wie in Kapitel 2.6.1 auf Seite 37 beschrieben wurde, besitzt die NTA nur drei Säuregruppen und kann daher mit dem Fe^{3+} nur neutrale Komplexe bilden. Die freien Koordinationsplätze werden hier jedoch von anderen Spezies eingenommen. Dies kann ein neutrales Wassermolekül, aber auch ein negativ geladenes Hydroxidion sein, jedoch hängt die Gesamtladung und damit die Retentionszeit des Komplexes hiervon ab. Bei einem höheren pH-Wert ist von einer vermehrten Anlagerung von Hydroxidionen auszugehen. Dies kann auch durch die Ergebnisse der Chromatogramme in Abbildung 4.8 bestätigt werden. Hier erfahren die NTA-Komplexe mit einem höheren pH-Wert eine größere Retention. Eine Übersicht der Retentionszeiten t_R bei verschiedenen pH-Werten gibt Tabelle 4.11

Bei einem pH-Wert des Eluenten von 6 würden schnelle Analysezeiten erreicht, da der letzte Analyt hier schon nach 9 Minuten vollständig eluiert. Jedoch überlagern sich bei diesem pH die Peaks der

Tabelle 4.11: Retentionszeiten der Komplexe bei verschiedenen pH-Werten des Eluenten.

Eluent pH	Fe(III)NTA / min	Fe(III)EDTA / min	Fe(III)DTPA / min
2	1,77	3,25	8,75
4	1,85	3,22	7,26
6	2,37	3,17	6,98

NTA- und EDTA-Komplexe, so dass keine Basislinientrennung mehr möglich ist. Bei pH 2 liegt eine vollständige Trennung der ersten beiden Peaks vor, jedoch eluiert der letzte Analyt erst nach 11 Minuten vollständig. Ein guter Kompromiss zwischen der schnellen Analysezeit und der Auflösung scheint bei pH 4 gegeben. Hier eluiert der DTPA-Komplex nach 9 Minuten vollständig und eine fast vollständige Trennung der NTA- und EDTA-Komplexe ist möglich.

Als Problem wurde die Anreicherung von Eisen an der stationären Phase beobachtet. Um die Methode für Realproben einsetzen zu können, ist es wichtig, das freie Eisen im Überschuss einzusetzen, da die genaue Konzentration der Komplexbildner und anderer Verbindungen, die mit dem Eisen reagieren könnten, nicht bekannt ist. Um die Anreicherung des Eisens auf der Säule zu untersuchen, wurden hintereinander zuerst freies Eisen in das IC-System injiziert und anschließend freie EDTA. Wenn sich kein Eisen anreichert, sollte bei dem ersten Chromatogramm ein Eisensignal im Totvolumen zu sehen sein und im zweiten kein Signal an der Stelle des Eisen(III)-EDTA-Komplexes. Dieser Versuch wurde bei unterschiedlichen pH-Werten des Eluenten durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.9 zu sehen.

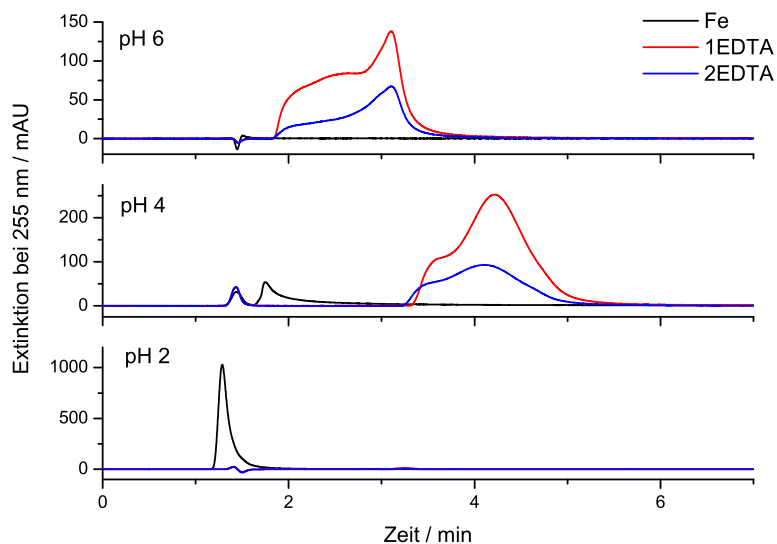


Abbildung 4.9: Aufeinanderfolgende Injektion von Eisen(III)-nitrat und EDTA (Säule: DV-070326-1B2, Eluent: 55 mmol l⁻¹ NH₄NO₃, pH 2 – 6, Fluss: 0,6 ml⁻¹, Probenaufgabevolumen: 20 µl)

Bei pH 6 ist nur ein sehr kleiner Peak nach der Injektion des freien Eisens zu sehen. Jedoch ist ein großer Eisen(III)-EDTA Peak nach der Injektion der EDTA zu sehen. Bei einer weiteren Injektion von EDTA ist dieser Peak wieder zu sehen, jedoch mit geringerer Intensität. Dies ist ein deutlicher Hinweis darauf, dass sich bei einem Eluent pH von 6 Eisen, wahrscheinlich in Form von schwerlöslichem Eisenhydroxid, in der Trennsäule anreichert. Bei pH 4 ist der selbe Effekt, jedoch weniger stark ausgeprägt, zu sehen. Es ist zwar ein kleines Signal des freien Eisens zu sehen, jedoch spült EDTA weiterhin Eisen von der Trennsäule. Wird ein Eluent mit einem pH von 2 verwendet, eluiert das gesamte freie Eisen im Totvolumen von der Säule und auch die nachfolgende Injektion von EDTA kann kein weiteres Eisen von der stationären Phase spülen.

Aufgrund dieser Ergebnisse ist es sinnvoll, für alle weiteren Messungen einen Eluenten mit einem pH-Wert von 2 zu verwenden, um ein Anreichern von Eisen auf der Trennsäule zu verhindern und so Bedingungen für reproduzierbare Messungen zu schaffen.

CDTA

Wie schon erwähnt, eluiert der Eisen(III)-CDTA Komplex nicht unter den Bedingungen, wie sie für die weiteren Komplexbildner untersucht wurden. Hierbei wurden nach der Injektion das Detektorsignal bei unterschiedlichen pH-Werten des Eluenten für eine Stunde aufgenommen, ohne dass der Komplex detektiert werden konnte. Da schon gezeigt wurde, dass sich zum einen der CDTA-Komplex bildet und zum anderen auch auf der detektierten Wellenlänge absorbiert, können diese Probleme als Ursache ausgeschlossen werden. Weitere Experimente zeigten, dass bei der Verwendung eines höher konzentrierten Eluenten (pH 4, 110 mmol l⁻¹) und schnellerem Fluss (1,0 ml min⁻¹) der CDTA-Komplex nach über einer Stunde eluiert. Ein solches Chromatogramm ist in Abbildung 4.10 zu sehen. Eine sinnvolle, routinemäßige Analyse der CDTA ist unter diesen Bedingungen leider nicht zusammen mit NTA, EDTA und DTPA möglich.

Da sich Eisen(III)-EDTA und Eisen(III)-CDTA sehr ähneln, sollte die Ladung der beiden Komplexe gleich sein und so auch zu ähnlichen Zeiten eluieren. Es kann nur vermutet werden, dass hier weitere Wechselwirkungen ins Spiel kommen und so der CDTA-Komplex stärker an der stationären Phase retardiert wird.

Zusammenfassung

Für die Trennung der Eisen(III)-komplexe von NTA, EDTA und DTPA ist ein 55 mmol l⁻¹ NH₄NO₃ Eluent bei einem pH von 2 geeignet. Unter diesen Bedingungen kann keine Anreicherung des überschüssigen Eisens an der stationären Phase beobachtet werden und es erfolgt eine ausreichende Trennung der drei Komplexe. Als Nachteil ist jedoch die kurze Retentionszeit des NTA-Komplexes zu sehen, welcher sehr nahe am Totvolumen eluiert. Weiterhin kann unter diesen Bedingungen leider nicht die CDTA analysiert werden, da ihr Eisenkomplex auch mit stärkerem Eluenten erst nach über einer Stunde eluiert.

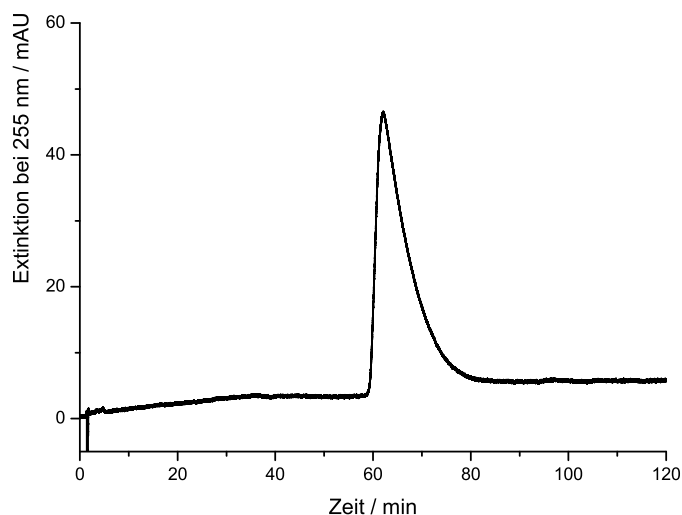


Abbildung 4.10: Chromatogramm von 1 mmol l^{-1} CDTA-Eisen Komplex. (Säule: DV-070326-1B2, Eluent: 110 mmol l^{-1} NH_4NO_3 , pH 4, Fluss: 1 ml min^{-1} , Probenaufgabevolumen: $20 \mu\text{l}$)

4.2.3 Anwendung der on-line Kopplung IC-ICP-MS

Mit der Analyse von Chromspezies wurden schon während der Diplomarbeit Erfahrungen gesammelt [26]. Hier wurde die IC-ICP-MS on-line Kopplung zur Elementspeziesanalyse des Chroms verwendet. Das Chrom(III) wurde mit EDTA komplexiert, um es in einen anionischen Komplex zu überführen und dann mittels Anionenchromatographie von Chromat (CrO_4^{2-}) zu trennen.

Diese Erfahrungen wurden hier aufgegriffen und anschließend auf die Eisenkomplexe übertragen.

Chrom

Da das Hauptisotop des Chroms durch ein MolekÜlion des Kohlenstoffs mit Argon gestört wird (vgl. Kapitel 2.2.5 auf Seite 22) ist es notwendig, die Reaktionszelle mit Wasserstoff zu betreiben. Die hierfür erforderliche Optimierung des Systems wurde während der Diplomarbeit [26] durchgeführt.

Es wurde ein Experiment durchgeführt, bei dem die Chrom(III)-Komplexe der NTA, EDTA, DTPA und CDTA unter den Bedingungen, wie sie für die Chromspeziesanalyse verwendet wurden, zu trennen. Für dieses Experiment wurde lediglich ein höherer Fluss des Eluenten von $1,2 \text{ ml min}^{-1}$ gewählt. Diese Messbedingungen sind in Tabelle 4.12 auf der nächsten Seite zusammengefasst und die Chromatogramme sind in Abbildung 4.11 auf der nächsten Seite gezeigt.

Im Falle der NTA, sind drei Peaks zu erkennen, wobei der erste dem Injektionspeak zugeordnet werden kann. Die anderen beiden Peaks scheinen zwei unterschiedliche Spezies zu sein, die die NTA mit dem Chrom(III) gebildet hat. Wie in Kapitel 2.6.1 auf Seite 37 erwähnt, sind bei der NTA auch 1:2 Komplexe zu beobachten und die freien Koordinationsstellen können auch durch unterschiedliche

Tabelle 4.12: Messbedingungen für die Trennung der Chromspezies.

Parameter	Wert
Säule	DR70FSEDMA-Low-1
Eluent	55 mmol l ⁻¹ NH ₄ NO ₃ , pH 8
Fluss (Eluent)	1,2 ml min ⁻¹
Generatorleistung	1500 W
m/z	52
ORS-Modus	H ₂ 0,3 ml min ⁻¹

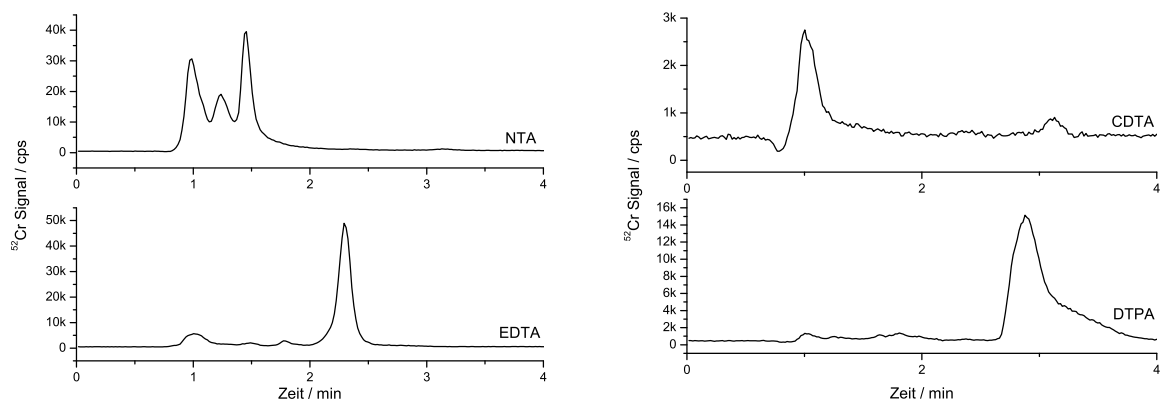


Abbildung 4.11: Chromatogramme von je 1 μg l⁻¹ Cr(III) mit 5 mmol l⁻¹ NTA bzw. EDTA (links) und CDTA bzw. DTPA (rechts). (Säule: DR70FSEDMA-Low-1, Eluent: 55 mmol l⁻¹ NH₄NO₃, pH 8, Fluss: 1,2 ml min⁻¹, Probenaufgabevolumen: 240 μl)

Liganden (z. B. Hydroxid- oder Nitrationen) besetzt werden, so dass sich unterschiedliche Spezies bilden können. Die EDTA liefert mit Chrom(III) ein Signal nach 2,3 min, welches dem Chrom(III)-EDTA-Komplex zugeordnet werden kann und der Chrom(III)-DTPA-Komplex eluiert nach 3 min. Lediglich dem CDTA-Komplex kann kein Signal zugeordnet werden. Der Peak am Totvolumen ist zu klein, um der Gesuchte zu sein und entspricht dem eines normalen Injektionspeaks. Als Ursachen wurden hier entweder eine unvollständige Komplexierung oder eine wesentlich stärkere Retention an der stationären Phase vermutet. Auf die Ursachen für diese Beobachtung wird in dem Kapitel 4.3.2 noch näher eingegangen. Diese ersten Versuche haben jedoch gezeigt, dass es prinzipiell möglich ist, die NTA-, EDTA- und DTPA-Komplexe des Chroms über die IC zu trennen. Daher könnte Chrom ein geeignetes Metall für diese Analysenmethode sein und wurde im Folgenden näher untersucht.

Bei der Verwendung eines Eluenten mit pH 4 eluierte auch das nicht komplexierte Chrom im Totvolumen und es reichert sich kein Chrom an der stationären Phase an. In Abbildung 4.12 sind links die Chromatogramme von drei unterschiedlichen Konzentrationen von Chrom(III) abgebildet. In der selben Abbildung auf der rechten Seite ist die Chromkonzentration gegen die Peakfläche aufgetragen. Die Signalintensität steigt, wie erwartet, mit steigender Konzentration linear an.

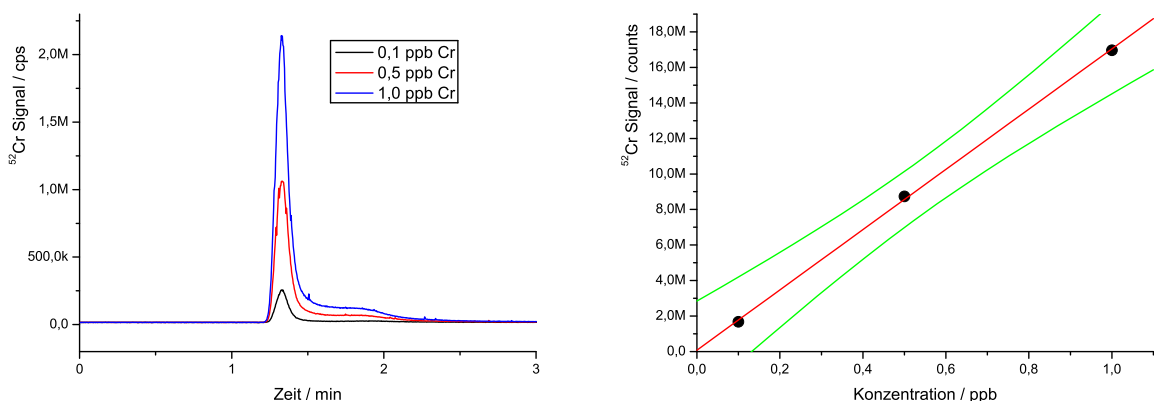


Abbildung 4.12: Chromatogramm von 0,1, 0,5 und 1 $\mu\text{g l}^{-1}$ Cr(III). (Säule: DV-070326-1B2, Eluent: 55 mmol l^{-1} NH_4NO_3 , pH 4, Fluss: 1,2 ml min^{-1} , Probenaufgabevolumen: 240 μl) (links). Auftragung der Chromkonzentration gegen die Peakfläche (rechts).

Wird der Probe jetzt zusätzlich zu dem Chrom EDTA beigefügt, sollten eine Abnahme des Totvolumenpeaks und ein weiterer Peak zu beobachten sein, der dem Chrom-EDTA-Komplex zugeordnet werden kann. Ein solches Chromatogramm ist in Abbildung 4.13 auf der nächsten Seite (links) gezeigt.

Dieses Chromatogramm zeigt, wie erwartet, einen EDTA-Komplex-Peak, der bei 3,25 min zu finden ist. Zusätzlich wurde nach der Messung des freien Chroms EDTA ohne Chrom injiziert, um auf Anreicherung des Chroms auf der Säule zu testen. Hier konnte kein Chrom-EDTA Komplex detektiert werden, so dass von einer vollständigen Elution des freien Chroms im Totvolumen ausgegangen werden kann.

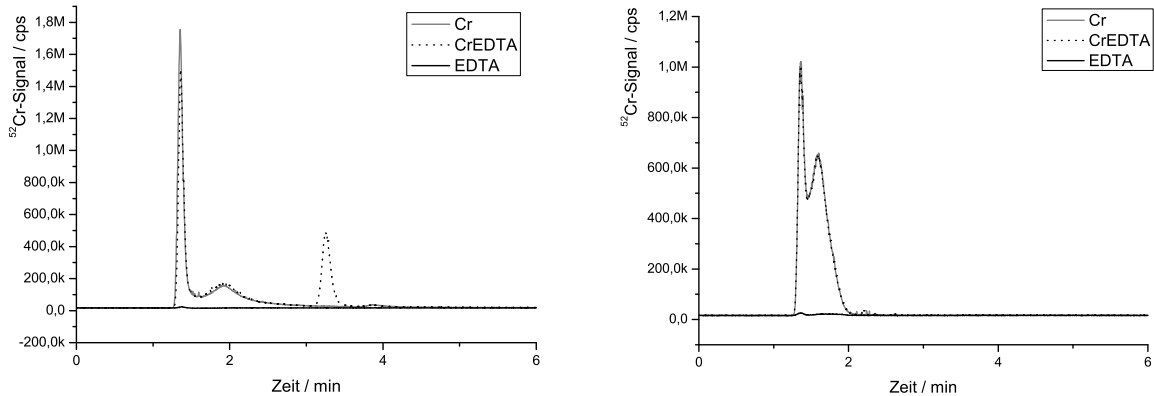


Abbildung 4.13: Chromatogramm von $10 \mu\text{g l}^{-1}$ Cr(III), $100 \mu\text{g l}^{-1}$ EDTA und $10 \mu\text{g l}^{-1}$ Cr(III) mit $100 \mu\text{g l}^{-1}$ EDTA. Proben-pH: 7 (links), 2 (rechts). (DV-070326-1B2, Eluent: 70 mmol l^{-1} NH_4NO_3 , pH 4, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

Es konnte auch beobachtet werden, dass der pH-Wert der Probe einen entscheidenden Einfluss auf die Chromatogramme hat. Die bisherigen Proben wurden bei einem neutralen pH angesetzt, welcher für eine Komplexbildung gute Bedingungen liefert (vgl. Kapitel 4.2.1 auf Seite 57). Werden die Proben z. B. mit HNO_3 angesäuert, wird zum einen die Komplexbildung verhindert und zum anderen bildet sich eine weitere Chromspezies, die direkt nach dem Totvolumen eluiert. Solche Chromatogramme sind in Abbildung 4.13 gezeigt.

Hier wurde vermutet, dass der erste Peak den erwarteten Totzeitpeak darstellt und der zweite Peak eine weitere Chromspezies ist. Um dieses näher zu untersuchen, wurde die selbe Lösung bei unterschiedlichen Eluentkonzentrationen gemessen. Es wurde erwartet, dass der erste Peak unverändert bleibt und der zweite mit höherer Eluentkonzentration nach vorne wandert (vgl. Kapitel 2.1.3 auf Seite 8). Die Chromatogramme mit den Eluentkonzentrationen 30 , 55 und 70 mmol l^{-1} NH_4NO_3 sind in Abbildung 4.14 auf der nächsten Seite dargestellt.

Wider Erwarten verändert sich nicht die Retentionszeit des zweiten Peaks, sondern die des Ersten. Dieses scheint auf den ersten Blick ungewöhnlich, da bisher davon ausgegangen wurde, dass der erste Peak die Totzeit darstellt und der Zweite durch eine weitere Chromspezies verursacht wird. Diese Beobachtungen decken sich mit den Ergebnissen von M. Wacker [107]. Chrom(III) liegt in Lösung nicht als "nacktes" Cr^{3+} vor, sondern in der Regel als Hexaaquakomplex. Ist Nitrat in dem System anwesend, kann ein Teil der Wasserliganden auch durch Nitrationen ausgetauscht werden und es entstehen so Nitratkomplexe mit zum Teil negativer Ladung, die dann auf der Säule retardiert werden. Demnach scheint der vermeintliche Totzeitpeak in Wirklichkeit der Peak eines Chrom(III)-nitratkomplexes zu sein. Je größer die Nitratkonzentration, desto größer ist der Anteil an Nitrat in dem Komplex und das Signal verschiebt sich zu späteren Retentionszeiten. Dieser Effekt steht im Gegensatz zu einer früheren Elution, die man aufgrund der steigenden Eluentkonzentration erwarten würde, jedoch scheint der erste Effekt zu überwiegen.

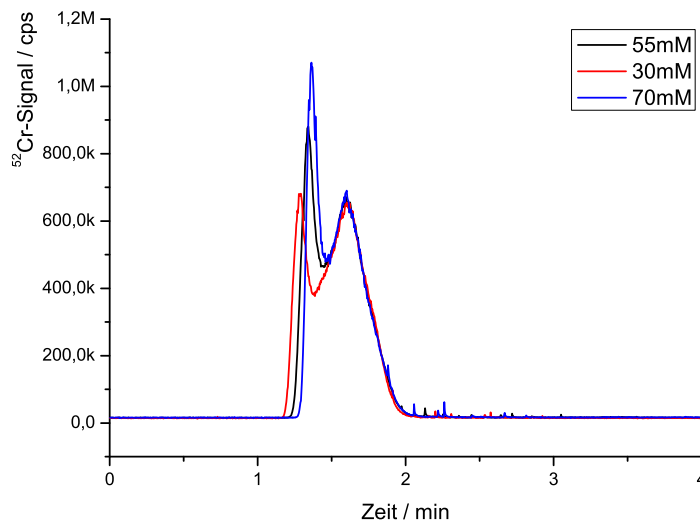


Abbildung 4.14: Chromatogramm von $1 \mu\text{g l}^{-1}$ Cr(III). (DV-070326-1B2, Eluent: 30–70 mmol l^{-1} NH_4NO_3 , pH 4, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

Chrom bildet mit allen vier Komplexbildnern stabile Komplexe, die sich abgesehen von dem CDTA-Komplex mit der Ionenchromatographie trennen lassen. Die Daten der Ligandenaustauschreaktionen aus Tabelle 2.6 auf Seite 36 zeigen auch, dass die Chromkomplexe kinetisch äußerst inert sind. Es ist wichtig, dass der pH-Wert des Eluenten niedrig (pH 4) gewählt wird, damit sich das überschüssige Chrom nicht auf der Trennsäule anreichert. Bei der Probenvorbereitung ist auf den pH-Wert der Probe zu achten, da dieser das Komplexierungsverhalten und auch das Verhalten des überschüssigen Chroms entscheidend beeinflussen kann. Es hat sich gezeigt, dass hier ein neutraler pH (7) zu guten Ergebnissen führt.

Eisen(III)

Auch Eisen(III) bildet mit den hier untersuchten Komplexbildnern thermodynamisch sehr stabile Komplexe (vgl. Tabelle 2.7 auf Seite 40) und kann sich auch aufgrund der kinetischen Stabilität der Komplexe für die Komplexierung eignen. Dies wurde schon für die Ionenpaarchromatographie mit UV/Vis-Detektion genutzt und als DIN-Methode zertifiziert [57].

Eisen hat vier natürliche Isotope: 56 (91,66%), 54 (5,82%), 57 (2,19%) und 58 (0,33%) [8] von denen alle durch isobare Interferenzen gestört sind. Wird im Standard-Modus gemessen, sind bei dem Isotop 57 in der Regel die geringsten Interferenzen zu beobachten, jedoch ist die Empfindlichkeit hier aufgrund der geringen Häufigkeit niedrig. Will man Eisen in kleinen Konzentrationen messen, muss das Hauptisotop 56 gemessen werden. Hierfür ist es erforderlich, entweder unter Kaltplasmabedingungen oder mit der Reaktionszelle zu arbeiten. Ziel dieser Arbeit ist es, eine Methode zu entwickeln, durch die die Komplexbildner auch in geringen Konzentrationen nachgewiesen werden können, daher

wurde das ICP-MS mit Reaktionszelle im H₂-Modus betrieben. Die Standard Messbedingungen für die Eisenkomplexe sind in Tabelle 4.13 zu sehen.

Tabelle 4.13: Messbedingungen für die Eisenkomplexe.

Parameter	Wert
Säule	DV-070326-1B2
Eluent	55 mmol l ⁻¹ NH ₄ NO ₃ , pH 4
Fluss	0,6 ml min ⁻¹
Generatorleistung	1500 W
m/z	56
ORS-Modus	H ₂ 3 ml min ⁻¹

Auch das überschüssige Eisen eluiert bei der Verwendung eines Eluenten mit pH 4 in diesem Konzentrationsbereich zuverlässig im Totvolumen. In Abbildung 4.15 sind die Chromatogramme von Eisen bei unterschiedlichen Konzentrationen abgebildet. Auch hier ist die Peakfläche proportional zu der eingesetzten Eisenkonzentration und es wird kein Eisen auf der Säule retardiert.

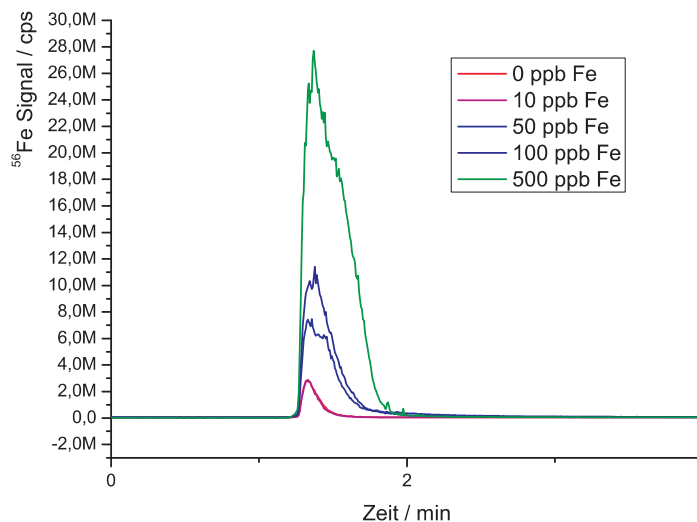


Abbildung 4.15: Chromatogramme von 0 – 500 µg l⁻¹ Fe(III). (DV-070326-1B2, Eluent: 55 mmol l⁻¹ NH₄NO₃, pH 4, Fluss: 0,6 ml min⁻¹, Probenaufgabevolumen: 240 µl).

Wird einer Lösung mit 100 µg l⁻¹ Eisen EDTA beigemischt, nimmt die Peakfläche des freien Eisens ab und es entsteht ein neuer Eisen-EDTA-Peak bei 4,8 min, der direkt proportional zu der EDTA Konzentration ist. Ein solches Chromatogramm mit unterschiedlichen EDTA Konzentrationen ist in Abbildung 4.16 auf der nächsten Seite zu sehen.

In diesen Chromatogrammen ist die Konzentration der EDTA im dreistelligen ppb Bereich und damit noch relativ hoch, so dass die Messungen unter den selben Bedingungen jedoch mit geringerer EDTA Konzentration wiederholt wurden.

In Abbildung 4.17 auf der nächsten Seite (links) sind die Chromatogramme mit EDTA Konzentrationen im Bereich von 1 – 10 µg l⁻¹ gezeigt. Da mit einem Überschuss von Eisen gearbeitet wurde,

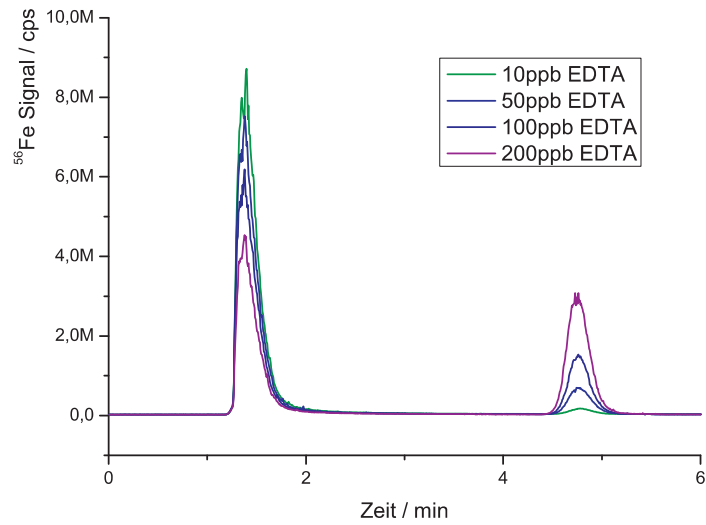


Abbildung 4.16: Chromatogramme von $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Fe(III) mit $10 - 100 \mu\text{g l}^{-1}$ EDTA. (DV-070326-1B2, Eluent: 55 mmol l^{-1} NH_4NO_3 , pH 4, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

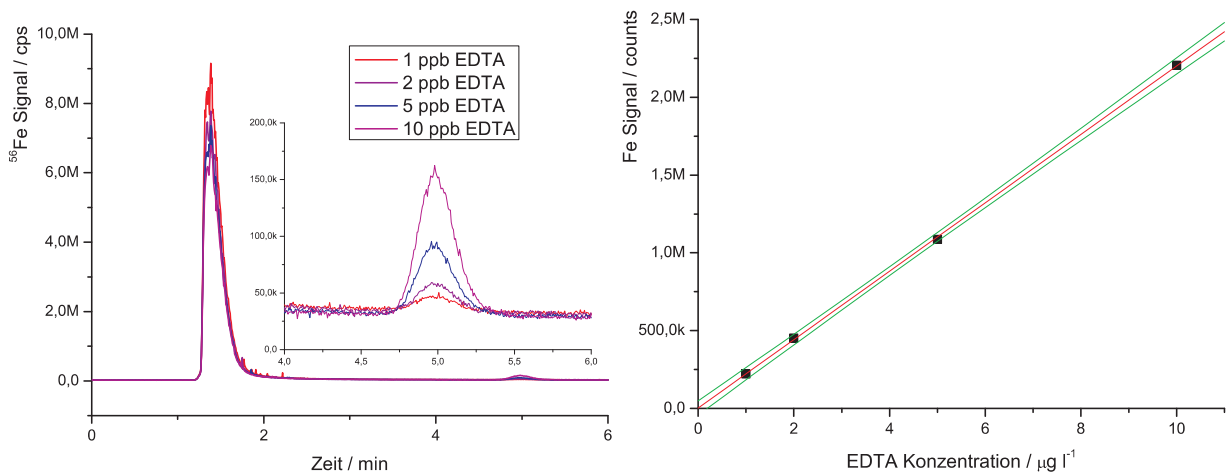


Abbildung 4.17: Chromatogramme von $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Fe(III) mit $1 - 10 \mu\text{g l}^{-1}$ EDTA. (DV-070326-1B2, Eluent: 55 mmol l^{-1} NH_4NO_3 , pH 4, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$) (links). Auftragung der EDTA-Konzentration gegen die Peakfläche (rechts).

ist der Injektionspeak im Verhältnis zu den Analytpeaks sehr groß, so dass für die Auswertung der Analytpeaks der Ausschnitt von 4 – 8 min vergrößert wurde. Eine Konzentration der EDTA von $10 \mu\text{g l}^{-1}$ ist hier noch deutlich vom Untergrund zu unterscheiden. Bei $1 \mu\text{g l}^{-1}$ EDTA ist der Peak jedoch sehr schlecht vom Untergrund zu unterscheiden, so dass hier die Nachweisgrenze schon unterschritten wurde. In der selben Abbildung auf der rechten Seite ist die Konzentration der EDTA gegen die Peakfläche aufgetragen und der lineare Zusammenhang deutlich zu erkennen.

Wie in Abbildung 4.18 links zu entnehmen ist, eluiert der NTA-Komplex sehr nahe am Totvolumen und zeigt eine große Asymmetrie mit einem starken Tailing. Auf die Ursachen für diese Peakform und die Besonderheiten der NTA-Komplexe wird in Kapitel 4.3.5 auf Seite 103 noch näher eingegangen. Jedoch ist auch hier die lineare Abhängigkeit der Peakfläche zu der NTA-Konzentration gegeben (siehe Abbildung 4.18 rechts) und es erfolgt eine ausreichende Trennung zu dem EDTA-Komplex.

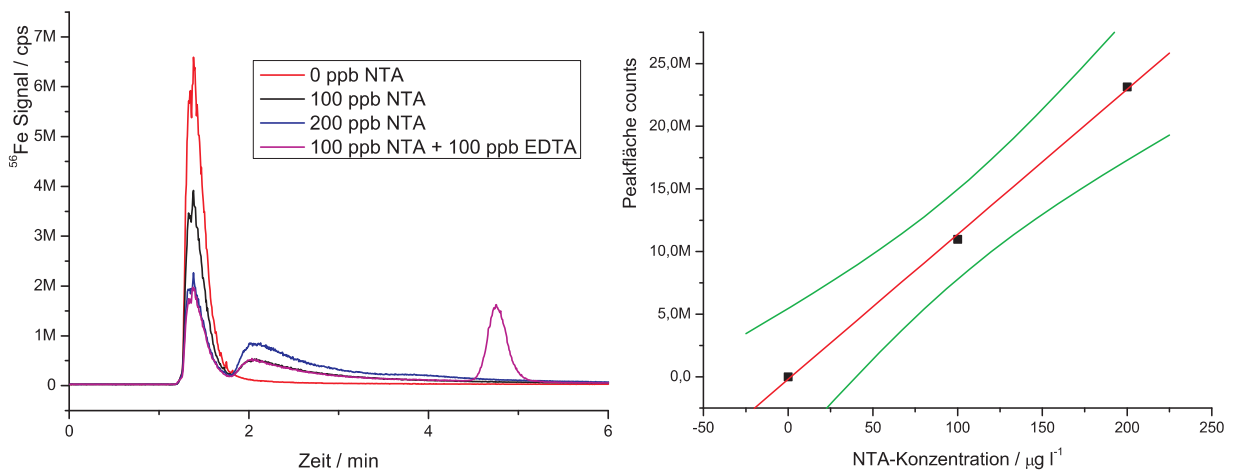


Abbildung 4.18: Chromatogramme von $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Fe(III) mit $100 - 200 \mu\text{g l}^{-1}$ NTA und $100 \mu\text{g l}^{-1}$ EDTA. (DV-070326-1B2, Eluent: 55 mmol l^{-1} NH_4NO_3 , pH 4, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$) (links). Auftragung der NTA-Konzentration gegen die Peakfläche (rechts).

Der DTPA-Komplex des Eisens eluiert nach ca. 20 min und ist so mehr als ausreichend von den anderen Analyten getrennt. Lediglich der CDTA-Komplex eluiert, wie auch beim Chrom, nicht innerhalb von einer Stunde. In Abbildung 4.19 auf der nächsten Seite ist ein Chromatogramm einer Lösung abgebildet, die zusätzlich zu den $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Eisen(III) je $100 \mu\text{g l}^{-1}$ NTA, EDTA, DTPA und CDTA enthält.

Unter den bisherigen Bedingungen eluiert der DTPA-Komplex erst nach 20 min und der CDTA-Komplex ist nicht zu finden. Daher wurden im Folgenden Experimente mit unterschiedlichen Eluentkonzentrationen durchgeführt. Dabei wurde die Konzentration des Eluenten von $30 - 70 \text{ mmol l}^{-1}$ variiert und die Retentionszeit der unterschiedlichen Analyten beobachtet. Die erhaltenen Chromatogramme sind in Abbildung 4.20 auf der nächsten Seite zu sehen. Hier ist besonders für den DTPA-Komplex die starke Abhängigkeit der Retentionszeit zu sehen. Der NTA-Komplex scheint kaum eine Abhängigkeit von der Eluentkonzentration zu zeigen.

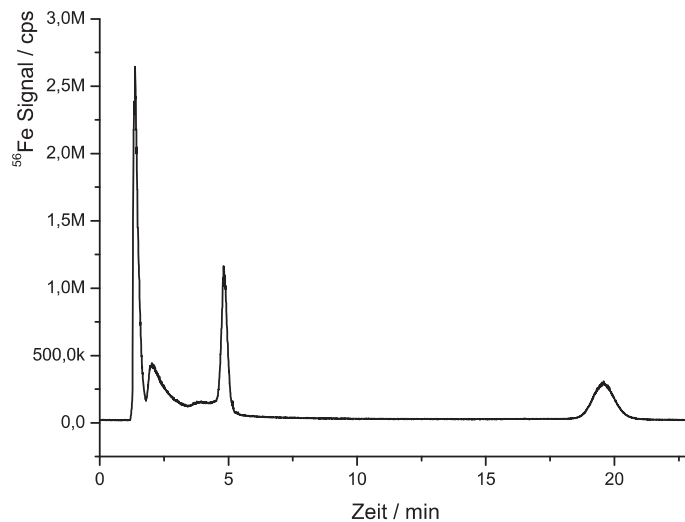


Abbildung 4.19: Chromatogramme von $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Fe(III) mit je $100 \mu\text{g l}^{-1}$ NTA, EDTA, DTPA und CDTA. (DV-070326-1B2, Eluent: 55 mmol l^{-1} NH_4NO_3 , pH 4, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

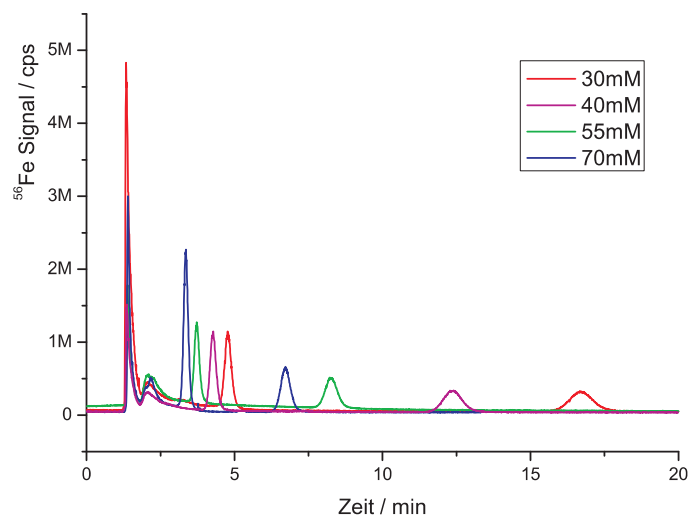


Abbildung 4.20: Chromatogramme von $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Fe(III) mit je $100 \mu\text{g l}^{-1}$ NTA, EDTA, DTPA und CDTA bei unterschiedlichen Eluentkonzentrationen. (DV-070326-1B2, Eluent: $30 - 70 \text{ mmol l}^{-1}$ NH_4NO_3 , pH 4, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

Die hier ermittelten Retentionszeiten kann man, wie in Kapitel 2.1.3 auf Seite 8 beschrieben, nutzen, um Informationen über die effektive Ladung der Analyten zu gewinnen. Nach Gleichung 4.1 erhält man bei einer doppellogarithmischen Auftragung der Eluentkonzentration $[E_m^{y-}]$ gegen den Retentionsfaktor k' eine Gerade, bei der die Steigung dem Verhältnis aus der Ladung des Analytens x und der des Eluentens y entspricht.

$$\log k' = C_1 - \frac{x}{y} \log[E_m^{y-}] \quad (4.1)$$

C_1 Konstante

x Ladung des Analytens

y Ladung des Eluentens

$[E_m^{y-}]$ Konzentration des Eluenten in der mobilen Phase mit der Ladung y

Eine solche Auftragung aus den Daten aus Abbildung 4.20 auf der vorherigen Seite ist in Abbildung 4.21 zu sehen.

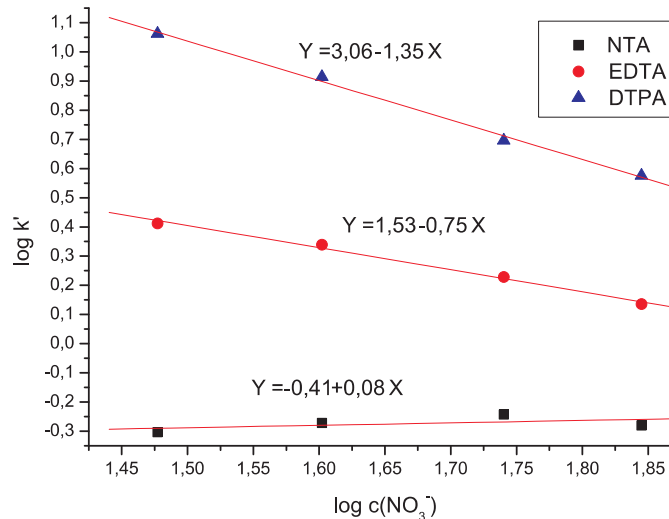


Abbildung 4.21: Doppellogarithmische Auftragung der Eluentkonzentration gegen den Retentionsfaktor k' . (DV-070326-1B2, Eluent: 30 – 70 mmol l⁻¹ NH₄NO₃, pH 4, Fluss: 0,6 ml min⁻¹, Probenaufgabevolumen: 240 μl).

Für die Komplexe der EDTA und DTPA ergibt sich eine effektive Ladung von -0,8 und -1,4; diese Werte passen zu der erwarteten Ladung von -1 für den EDTA-Komplex und -2 für den DTPA-Komplex. Da der CDTA-Komplex unter diesen Bedingungen nicht von der Säule eluierte, konnten hier keine Daten ermittelt werden. Für NTA wurde eine leicht positive Steigung gefunden, was einer positiven Ladung entspräche. Jedoch ist diese Steigung sehr gering und bei genauerer Betrachtung der einzelnen Datenpunkte scheint es sich hier eher um eine Streuung der einzelnen Punkte zu handeln. Dies ist auch nicht weiter verwunderlich, da die NTA mit ihren drei Säuregruppen mit einem dreiwertigen Metall einen neutralen Komplex bilden sollte. Die beobachtete Retention des NTA-Komplexes muss daher auf einen anderen, als den elektrostatischen Retentionsmechanismus zurückgeführt werden. Auf die Besonderheiten der NTA wird noch in Kapitel 4.3.5 auf Seite 103 näher eingegangen.

Bei der Untersuchung der Eisenkomplexe fiel auch auf, dass die Lösungen mit der Zeit etwas altern. So wurden z. B. in Abbildung 4.22 zwei Chromatogramme miteinander verglichen, von denen das eine mit einer frischen Lösung und das andere mit einer einen Tag alten Lösung aufgenommen wurde.

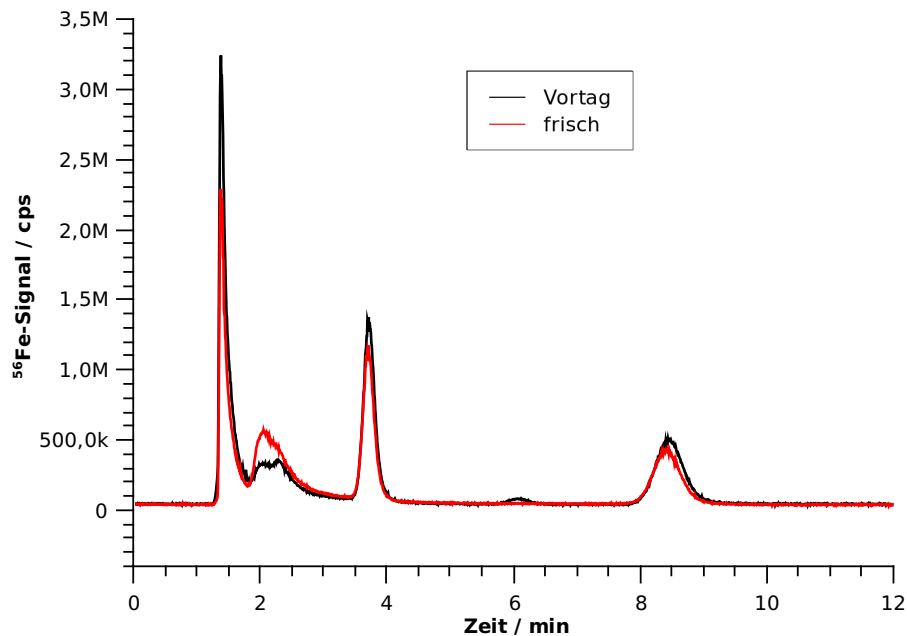


Abbildung 4.22: Vergleich der Chromatogramme von $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Fe(III) mit je $100 \mu\text{g l}^{-1}$ NTA, EDTA, DTPA und CDTA frisch angesetzt und einen Tag gealtert. (DV-070326-1B2, Eluent: 55 mmol l^{-1} NH_4NO_3 , pH 4, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

Es ist deutlich zu erkennen, dass sich das Signal des NTA-Komplexes verändert und eine weitere Spezies bei 6 min auftaucht. Aus diesen Beobachtungen lässt sich keine Aussage darüber treffen, ob die neue Spezies mit dem veränderten NTA-Komplexsignal im Zusammenhang steht. Jedoch ist es zu empfehlen, sämtliche Lösungen frisch anzusetzen und am selben Tag zu messen, um Probleme mit dem Altern der Lösungen zu umgehen.

Zusammenfassung

In diesem Kapitel konnte gezeigt werden, dass eine wichtige Voraussetzung für die Analyse von Komplexbildnern mit der on-line Kopplung IC-ICP-MS, die Elution des freien Metalls im Totvolumen, nicht unter jeden Bedingungen gegeben ist. Es ist zu beachten, dass einige Metalle mit den in der Lösung vorhandenen Hydroxid- und Nitrationen unlösliche oder negativ geladene Verbindungen bilden können, die dann im System retardiert werden. Für Chrom und Eisen konnten Bedingungen gefunden werden, bei denen diese Voraussetzung erfüllt wird. Hierfür ist es wichtig, dass der pH-Wert des Eluenten kleiner oder gleich 4 gehalten wird. Bei höheren pH-Werte musste wieder festgestellt werden, dass sich das Metall auf der Säule anreichert.

Auch konnten mit beiden Metallen stabile Komplexe der NTA, EDTA und DTPA gebildet und getrennt werden. Problematisch erscheint noch die nahe Elution des NTA-Komplexes am Totvolumen und das Nichtelutieren der CDTA-Komplexe.

Der Probenvorbereitung muss eine besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden. So haben die Experimente mit dem Chrom(III)-EDTA Komplex gezeigt, dass sich dieser bei einem zu niedrigen pH-Wert nicht bildet. Die Alterung der Proben kann auch zu einer Umwandlung oder dem Zerfall einiger Spezies führen, so dass eine rasche Messung der frisch angesetzten Proben zu empfehlen ist.

Durch Variation der Eluentkonzentration wurde die effektive Ladung der Eisenkomplexe bestimmt und hierbei bestätigt, dass der NTA-Komplex nicht, oder nur schwach negativ geladen ist und so die nahe Elution am Totvolumen erklären kann. Durch eine Anhebung des pH-Werts könnte die negative Ladung des Komplexes erhöht werden, jedoch würde das wieder zu einem Anreichern des überschüssigen Metalls auf der Säule führen.

Das Metall wurde in den bisherigen Versuchen nur im leichten Überschuss verwendet. Um eine vollständige Transmetallierung der Komplexe zu gewährleisten, sollte dieses jedoch eine Konzentration von mindestens 1 mg l^{-1} haben. Dieses würde jedoch zu einem so großen Injektionspeak führen, dass eine Detektion des Metalls im Spurenbereich für eine längere Zeit nicht möglich wäre. Eine Möglichkeit dieses Problem zu lösen wird in Kapitel 4.3.1 auf Seite 80 erarbeitet.

Weiterhin sind die Hauptisotope sowohl von Chrom, als auch von Eisen durch Interferenzen gestört, so dass hier die Reaktionszelle zum Beseitigen dieser zum Einsatz kommt. Dieses erlaubt zwar die Interferenzen zu reduzieren, jedoch geht es mit einer Minderung der Empfindlichkeit einher. Für die Entwicklung der Methode wurden im Folgenden die Eisenkomplexe untersucht, jedoch sollte das Eisen durch ein geeigneteres Element, z. B. Indium ersetzt werden, um auch in den Ultraspurenbereich vordringen zu können.

4.2.4 Einfluss des pH-Wertes des Eluenten auf die Retentionszeiten

Wie auch schon in Kapitel 4.2.3 gezeigt, hat der pH-Wert des Eluenten einen entscheidenden Einfluss auf den Protonierungsgrad der Komplexbildner und damit auf die Ladung der Komplexe. Die Ladung der Analyten beeinflusst ihrerseits in der Ionenchromatographie empfindlich die Affinität zur stationären Phase und damit die Retentionszeiten. Daher ist es möglich, über den pH-Wert des Eluenten die Retentionszeiten und zum Teil auch die Retentionsreihenfolge zu beeinflussen [26].

Im folgenden wurden diese Experimente auch bei pH 9 und pH 7 durchgeführt und auch hier unterschiedliche Eluentkonzentrationen verwendet, um Informationen über die effektive Ladung der Komplexe zu erhalten. Im Unterschied zu den Experimenten bei pH 2, wurde bei diesen Experimenten, wie in 4.3.1 auf Seite 80 beschrieben, der Probenaufgabe ein Kationenaustauscher vorgeschaltet, um das überschüssige Metall aus der Lösung zu entfernen.

pH 9

Bei einem pH von 9 kann davon ausgegangen werden, dass die Säuregruppen der Komplexbildner fast vollständig deprotoniert sind (vgl. pKs-Werte in Kapitel 2.5 auf Seite 34). Daher sollten sich hier die Peaks der Komplexe zu späteren Retentionszeiten verschieben. Um Informationen über die effektive Ladung der Komplexe zu erhalten, wurden die Chromatogramme bei drei unterschiedlichen Eluentkonzentrationen zwischen 45 und 55 mmol l^{-1} aufgenommen.

Die Chromatogramme mit dem 55 mmol l^{-1} Eluenten von NTA, EDTA und DTPA sind in Abbildung 4.23 links abgebildet. Es erscheint jedoch trotz des Einsatzes des Suppressors ein großer Injektionspeak, von dem das Signal des NTA-Komplexes nicht vollständig getrennt werden kann. In der selben Abbildung auf der rechten Seite sind Chromatogramme des verwendeten Puffers gezeigt, die unter den selben Bedingungen aufgenommen wurden. Als Puffer für die Analytlösungen wurde weiterhin eine 55 mmol l^{-1} NH_4NO_3 Lösung bei pH 7 verwendet. Diese Chromatogramme zeigen deutlich, dass auch eine Lösung, die kein Eisen enthält, zu einem Injektionssignal führt.

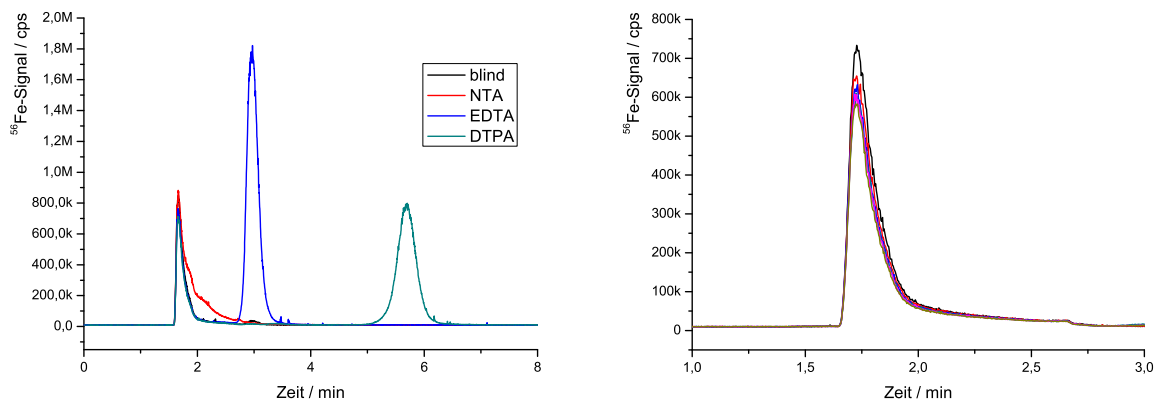


Abbildung 4.23: Links: Chromatogramme von je 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ NTA, EDTA und DTPA mit 1000 $\mu\text{g l}^{-1}$ Eisen. Rechts: Chromatogramme der wiederholten Injektion von 55 mmol l^{-1} NH_4NO_3 , pH 9. (Säule: DV-070326-1B2, Eluent: 55 mmol l^{-1} NH_4NO_3 , pH 9, Fluss: 0,6 ml min^{-1} , Probenaufgabevolumen: 240 μl mit Entfernung des überschüssigen Metalls).

Ursache für diesen Effekt kann Eisen sein, welches sich noch auf dem Suppressor oder der Trennsäule befindet und durch die Ammoniumionen des Puffers von den Austauscherplätzen verdrängt wird. Durch den Injektionspeak und auch die bei pH 9 sehr kurze Retentionszeit des NTA-Komplexes sind diese beiden Peaks nicht vollständig voneinander getrennt, so dass sich die Retentionszeit nicht bestimmen lässt. Auch bei den geringeren Eluentkonzentrationen blieb dieses Problem bestehen, daher wurde auf die Auswertung für NTA verzichtet.

In Abbildung 4.24 auf der nächsten Seite sind die Chromatogramme der NTA-, EDTA- und DTPA-Komplexe bei den Eluentkonzentrationen 50 und 45 mmol l^{-1} zu sehen. Auch hier ist das Signal des NTA-Komplexes nicht vom Totvolumenpeak getrennt. Für die Komplexe der EDTA und DTPA ist gut

zu erkennen, dass sich die Signale mit sinkender Eluentkonzentration zu späteren Retentionszeiten verschieben.

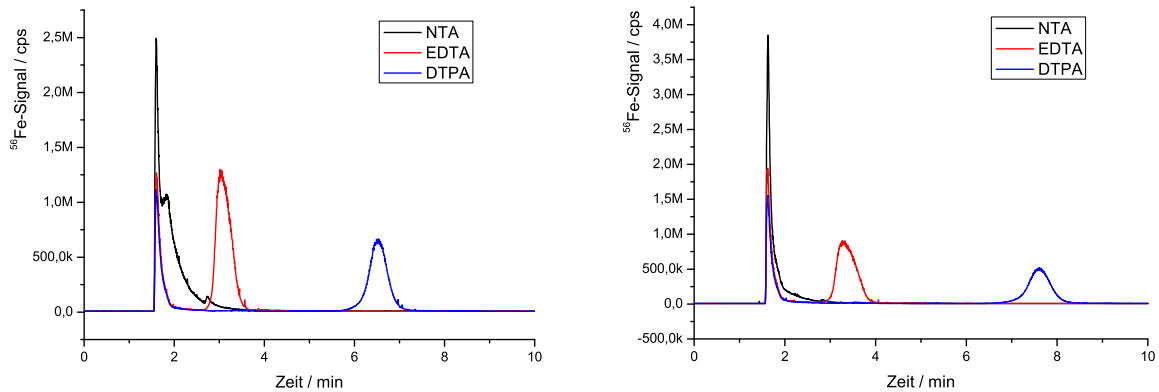


Abbildung 4.24: Chromatogramme von je $100 \mu\text{g l}^{-1}$ NTA, EDTA und DTPA mit $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Eisen. (Säule: DV-070326-1B2, Eluent: 50 mmol l^{-1} (links) 45 mmol l^{-1} (rechts) NH_4NO_3 , pH 9, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$ mit Entfernung des überschüssigen Metalls).

Die Chromatogramme der CDTA-Komplexe bei unterschiedlichen Eluentkonzentrationen sind in Abbildung 4.25 auf der nächsten Seite zusammengefasst. Diese wurden aufgrund der langen Retentionszeiten der Komplexe bei einem höheren Fluss von 1 ml min^{-1} aufgenommen. Wie erwartet, nimmt die Retentionszeit mit steigender Eluentkonzentration ab.

Die Retentionszeiten der Komplexe bei pH 9 sind in Tabelle 4.14 zusammengefasst, in der der erwartete Trend zu längeren Retentionszeiten bei geringeren Eluentkonzentrationen deutlich zu erkennen ist. Auch ist zu erkennen, dass je später ein Komplex eluiert, desto stärker dessen Retentionszeit von der Eluentkonzentration abhängig ist.

Tabelle 4.14: Retentionszeiten der Komplexe von EDTA, DTPA und CDTA bei pH 9.

Eluentkonzentration mmol l^{-1}	Retentionszeit / min		
	EDTA	DTPA	CDTA
55	2,97	5,69	53,02
50	3,04	6,53	56,47
45	3,30	7,60	66,51

pH 7

Bei einem pH von 7 sollte die effektive Ladung der Komplexe etwas geringer sein, da die Säuregruppen bei diesem pH zum Teil schon protoniert sind. Die geringe negative Ladung zeigt sich in Chromatogrammen üblicherweise durch eine kürzere Retentionszeit. Die erhaltenen Chromatogramme der

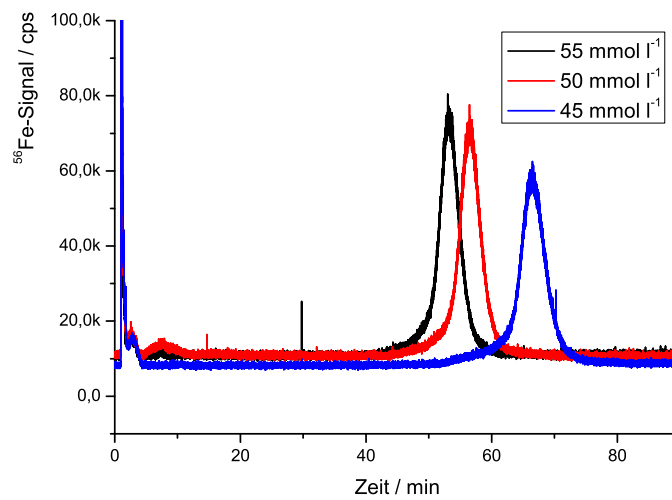


Abbildung 4.25: Chromatogramme von je $100 \mu\text{g l}^{-1}$ CDTA mit $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Eisen bei unterschiedlichen Eluentkonzentrationen. (Säule: DV-070326-1B2, Eluent: 45 – 55 mmol l⁻¹ NH₄NO₃, pH 9, Fluss: 1,0 ml min⁻¹, Probenaufgabevolumen: 240 μl mit Entfernung des überschüssigen Metalls).

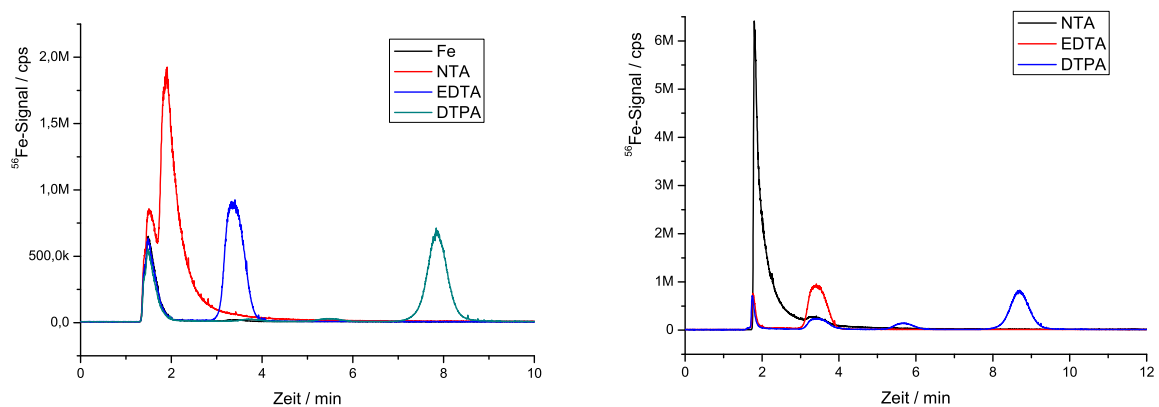


Abbildung 4.26: Chromatogramme von je $100 \mu\text{g l}^{-1}$ NTA, EDTA und DTPA mit $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Eisen. (Säule: DV-070326-1B2, Eluent: 55 mmol l⁻¹ (links) 50 mmol l⁻¹ (rechts) NH₄NO₃, pH 7, Fluss: 0,6 ml min⁻¹, Probenaufgabevolumen: 240 μl mit Entfernung des überschüssigen Metalls).

4.2. GRUNDLEGENDE UNTERSUCHUNGEN DES METHODISCHEN ANSATZES

Komplexe von NTA, EDTA und DTPA sind für eine Eluentkonzentration von 55 und 50 mmol l⁻¹ in Abbildung 4.26 auf der vorherigen Seite zu sehen.

Für die Eluentkonzentration von 45 mmol l⁻¹ sind die Chromatogramme in Abbildung 4.27 auf der linken Seite dargestellt. Auf der rechten Seite der selben Abbildung sind wieder die Chromatogramme der CDTA-Komplexe bei den verschiedenen Eluentkonzentrationen zusammengefasst.

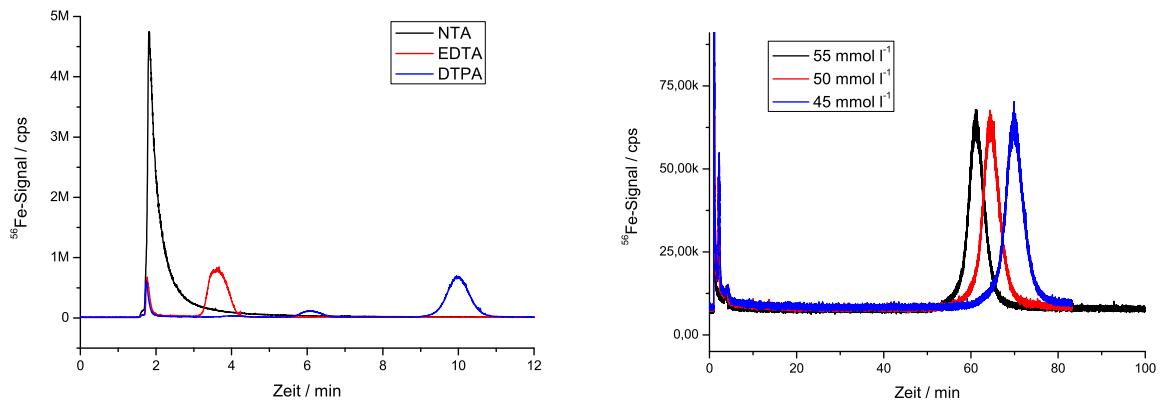


Abbildung 4.27: Links: Chromatogramme von je 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ NTA, EDTA und DTPA mit 1000 $\mu\text{g l}^{-1}$ Eisen bei einer Eluentkonzentration von 45 mmol l⁻¹. Rechts: Chromatogramme von je 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ CDTA mit 1000 $\mu\text{g l}^{-1}$ Eisen bei Eluentkonzentrationen von 45–55 mmol l⁻¹. (Säule: DV-070326-1B2, Eluent: 45–55 mmol l⁻¹ NH₄NO₃, pH 7, Fluss: 0,6 ml min⁻¹, Probenaufgabevolumen: 240 μl mit Entfernung des überschüssigen Metalls).

Wieder zeigt sich die Abnahme der Retentionszeiten bei größeren Eluentkonzentrationen. Die Retentionszeiten sind in Tabelle 4.15 zusammengefasst.

Bei diesen Chromatogrammen zeigt sich, wie auch schon bei den Experimenten mit pH 9, ein größerer Injektionspeak, der durch Eisenhydroxidkomplexe verursacht wird. Daher war die Auswertung der Retentionszeiten für die NTA-Komplexe nicht möglich.

Tabelle 4.15: Retentionszeiten der Komplexe von EDTA, DTPA und CDTA bei pH 7.

Eluentkonzentration- mmol l ⁻¹	Retentionszeit / min		
	EDTA	DTPA	CDTA
55	3,32	7,85	61,05
50	3,41	8,69	64,40
45	3,67	9,96	69,92

Im Vergleich zu den Chromatogrammen, die mit einem Eluenten-pH von 9 aufgenommen wurden, zeigt sich nicht die erwartete Abnahme der Retentionszeiten.

Effektive Ladungen

Die gewonnenen Daten über die Retentionszeiten der Komplexe bei verschiedenen pH-Werten und verschiedenen Konzentrationen des Eluenten können, wie schon in 4.2.3 auf Seite 72 geschehen, genutzt werden, um die effektiven Ladungen der Komplexe zu bestimmen.

In Abbildung 4.28 sind die doppellogarithmischen Auftragungen der Eluentkonzentration gegen den Retentionsfaktor bei pH 7 und 9 abgebildet. Diese lassen für die Komplexe der CDTA und DTPA sehr gut erkennen, dass sich bei steigendem pH die effektive Ladung wie erwartet erhöht. Für die EDTA-Komplexe ist der selbe Trend zu erkennen, jedoch nicht so stark ausgeprägt. Die ermittelten effektiven Ladungen sind mit denen aus Kapitel 4.2.3 in Tabelle 4.16 zusammengefasst.

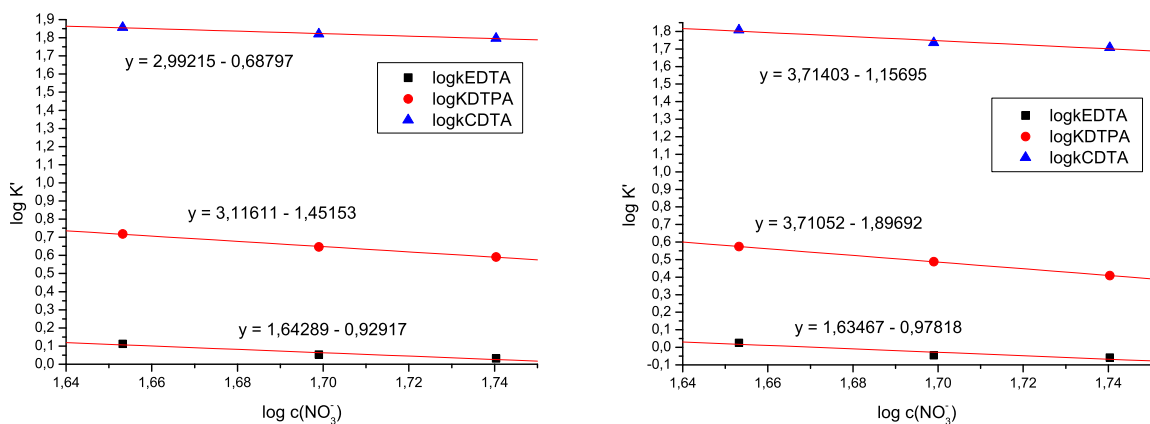


Abbildung 4.28: Doppellogarithmische Auftragung der Eluentkonzentration gegen den Retentionsfaktor k' . Links bei pH 7 und rechts bei pH 9. (Säule: DV-070326-1B2, Eluent: 45 mmol l^{-1} 55 mmol l^{-1} NH_4NO_3 , pH 7-9, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$ mit Entfernung des überschüssigen Metalls).

Tabelle 4.16: Effektive Ladungen der Eisen(III)-Komplexe von EDTA, DTPA und CDTA bei pH 4, 7 und 9.

Komplexbildner	effektive Ladung		
	pH 4	pH 7	pH 9
EDTA	-0,76	-0,93	-0,98
DTPA	-1,35	-1,45	-1,90
CDTA	—	-0,69	-1,16

Zu dem Zeitpunkt, als die Bestimmung der effektiven Ladungen bei pH 4 durchgeführt wurden, konnte der CDTA-Komplex noch nicht bestimmt werden, da der Verbleib des Komplexes im chromatographischen System noch nicht geklärt war. Daher wurde für die CDTA-Komplexe bei pH 4 keine effektive Ladung bestimmt.

Beim Vergleich der Retentionszeiten aus Tabelle 4.15 und 4.14 fällt auf, dass entgegen der eigentlichen Erwartung, die Komplexe bei einem höheren pH früher eluieren. Die effektiven Ladungen

nehmen jedoch wie erwartet mit steigendem pH zu. Als mögliche Ursache wird die stärkere Konzentration an Hydroxidionen gesehen, die bei höherem pH in den Eluenten vorhanden sind. Diese können, wie auch die Nitrationen, die Analyten von den Austauscherplätzen verdrängen und so eine frühere Elution fördern, wie es auch von O. Happel beobachtet wurde [27].

Zusammenfassung

Die Möglichkeit der Variation des pH-Werts wurde genutzt, um die effektiven Ladungen der Komplexe zu bestimmen. Diese stimmen mit den Erwartungen gut überein und bestätigen eine Erhöhung der effektiven Ladung mit höherem pH-Wert. Bei diesen Untersuchungen wurde auch festgestellt, dass die Retentionszeit mit steigendem pH, und damit mit höherer Ladung, nicht wie erwartet zunimmt, sondern sich verkürzt.

4.3 Verfeinerung der Methode

4.3.1 Entfernen des überschüssigen Metalls

Abgesehen vom Kapitel 4.2.4, wurden alle bisherigen Chromatogramme nur mit einem leichten Überschuss an Metall aufgenommen. Durch eine Erhöhung dieser Konzentration würde man ein großes Signal im Totvolumen sehen, welches mit einem starken Tailing verbunden ist. Dieses Tailing ist durch die gute Empfindlichkeit des ICP-MS, aber auch durch die Memoryeffekte im Zerstäubersystem des ICP-MS begründet. In Abbildung 4.29 auf der nächsten Seite sind Chromatogramme von $10 - 100 \mu\text{g l}^{-1}$ EDTA mit nur $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Eisen abgebildet. Auch hier ist schon deutlich zu erkennen, dass der Peak des EDTA-Komplexes noch im Tailing des Totvolumenpeaks liegt. Für die Auswertung des $10 \mu\text{g l}^{-1}$ EDTA-Peaks kann das schon zu Ungenauigkeiten führen. Kleine Konzentrationen an EDTA sind so kaum noch auswertbar. Würde man die Eisenkonzentration auf $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ erhöhen, würde das Tailing noch größer und damit zu größeren Problemen bei der Auswertung führen.

Da jedoch eine hohe Konzentration des Eisens benötigt wird, um die anderen in der Probe vorkommenden Metalle zu verdrängen, ist es notwendig, den Überschuss an Metall vor der Injektion in das IC-System zu entfernen. Die Komplexe sind negativ geladen und das überschüssige Metall positiv, daher sollte ein Kationenaustauscher in der Lage sein, das Metall durch z. B. Protonen zu ersetzen. Hierfür wird ein starker Kationenaustauscher mit Protonen beladen und im Anschluss die Probe durch diesen hindurchgeleitet. Dabei verdrängen die in der Probe vorhandenen Kationen die Protonen an den Austauscherplätzen und Protonen werden freigesetzt, während die weiteren Kationen retardiert werden. Hierfür können handelsübliche Kartuschen für die Festphasenextraktion (*engl. solid phase extraction*) SPE verwendet werden, die mit einem solchen Austauschermaterial gefüllt sind. Dieses hätte jedoch den Nachteil, dass die Probenvorbereitung um einen weiteren Schritt aufwändiger würde.

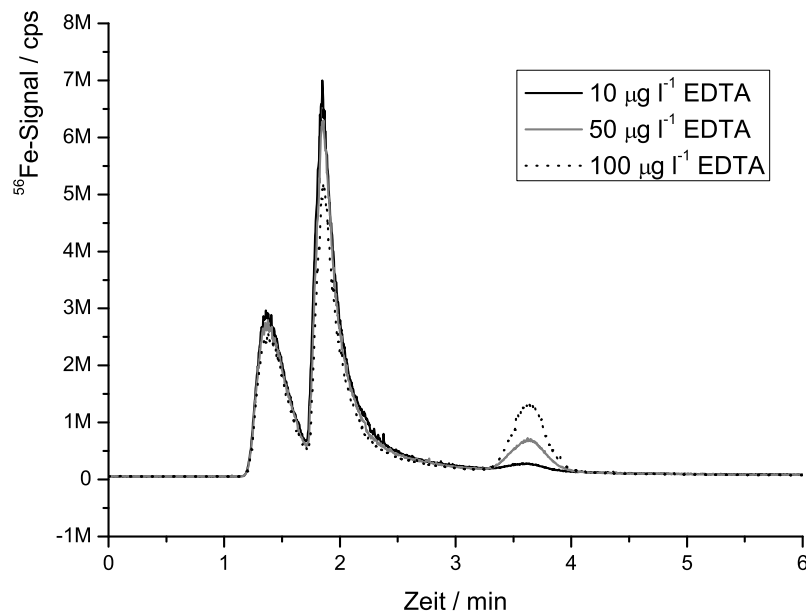


Abbildung 4.29: Vergleich der Chromatogramme von 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ Fe(III) mit 10 – 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ EDTA. (DV-070326-1B2, Eluent: 55 mmol l^{-1} NH_4NO_3 , pH 2, Fluss: 0,6 ml min^{-1} , Probenaufgabevolumen: 240 μl).

Verwendung eines Suppressors zur Entfernung des überschüssigen Metalls

Ein solcher Kationenaustauscher wurde auch schon in Kapitel 2.1.5 auf Seite 12 als Suppressor beschrieben, dessen Aufgabe es ist, die Grundleitfähigkeit des Eluenten herabzusetzen und die der Analyten zu erhöhen. Der Aufbau eines solchen Revolver-Suppressors ist nochmal in Abbildung 4.30 skizziert. Diese Kartuschen sind mit einem starken Kationenaustauscher gefüllt.

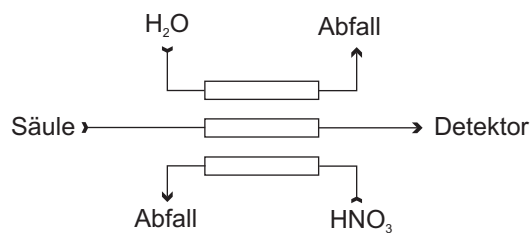


Abbildung 4.30: Skizze eines Suppressors.

Wird ein solcher Suppressor zwischen Autosampler und Injektionsventil geschaltet, wie in Abbildung 4.31 auf der nächsten Seite skizziert, ermöglicht dieser die automatische Entfernung des überschüssigen Metalls.

Während die eine Kartusche zwischen Probenvial und Injektionsventil geschaltet ist, wird die nächste Kartusche regeneriert und die Dritte gespült. Sobald die nächste Probe angesaugt wird, rotiert der Suppressor um 120° und eine frisch regenerierte und gespülte Kartusche wird verwendet. Dieser Auf-

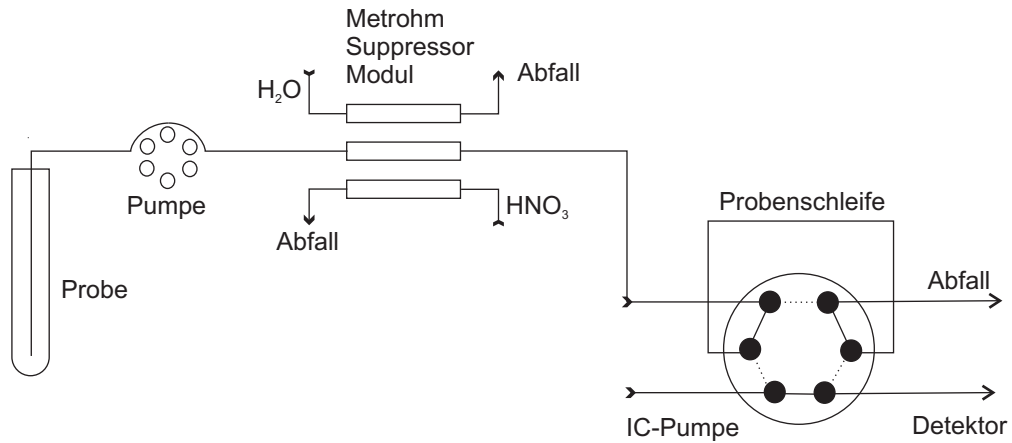


Abbildung 4.31: Skizze des Aufbaus zur Entfernung des überschüssigen Metalls.

bau ermöglicht eine automatische Entfernung des überschüssigen Metalls und erspart die aufwändige und kostenintensive Probenvorbereitung mit SPE Kartuschen.

In Abbildung 4.32 sind die Chromatogramme der selben Lösungen wie in Abbildung 4.29 auf der vorherigen Seite abgebildet, die bis auf die Verwendung des Suppressors unter den selben Bedingungen aufgenommen wurden.

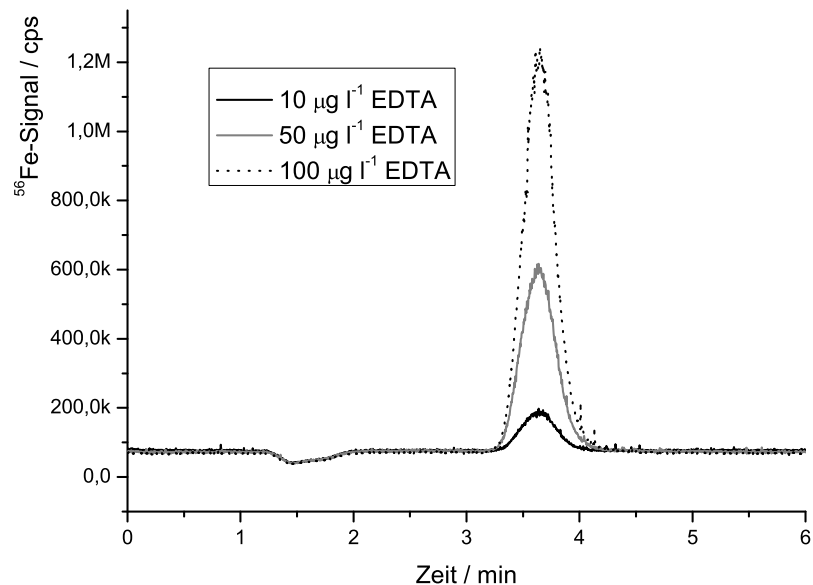


Abbildung 4.32: Vergleich der Chromatogramme von $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Fe(III) mit $10 - 100 \mu\text{g l}^{-1}$ EDTA nach Entfernung des überschüssigen Eisens. (DV-070326-1B2, Eluent: 55 mmol l^{-1} NH_4NO_3 , pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

Hier ist sehr gut zu erkennen, dass das überschüssige Metall erfolgreich aus der Lösung entfernt wird und kein großer Totvolumenpeak mehr vorhanden ist. Der EDTA-Komplex jedoch kann den Suppressor ungehindert passieren.

Beeinflussung der Komplexe durch den Suppressor

Abbildung 4.33 vergleicht nochmal die beiden Chromatogramme von $10 \mu\text{g l}^{-1}$ und $100 \mu\text{g l}^{-1}$ EDTA mit und ohne Entfernung des Eisens. Hier wird besonders für eine kleinere EDTA-Konzentration der Vorteil sehr deutlich.

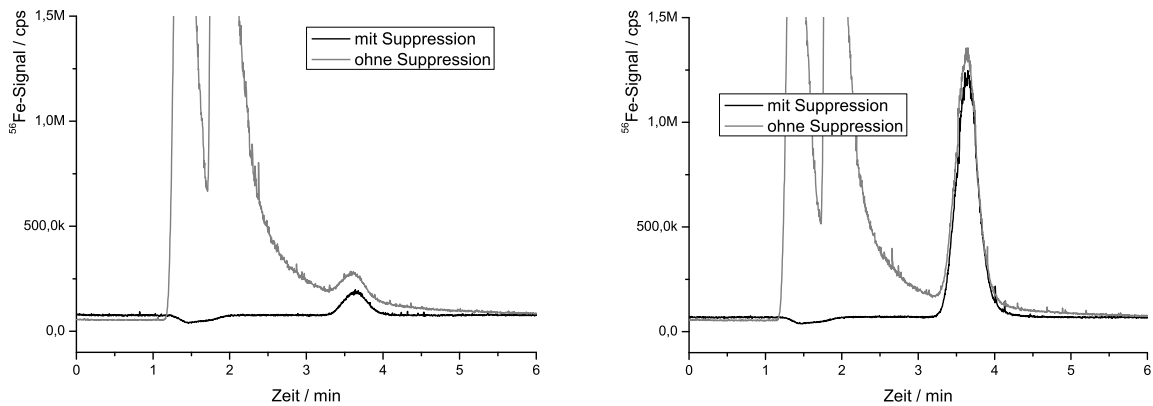


Abbildung 4.33: Vergleich der Chromatogramme von $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Fe(III) mit $10 \mu\text{g l}^{-1}$ (links) und $100 \mu\text{g l}^{-1}$ (rechts) EDTA mit und ohne Entfernung des überschüssigen Eisens. (DV-070326-1B2, Eluent: $55 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

Ohne Suppression eluiert der EDTA-Komplex noch in dem Tailing des freien Eisens, so dass hier das Integrieren des Peaks erschwert wird und die Nachweisgrenze negativ beeinflusst wird. Hierbei ist auch zu beachten, dass bisher lediglich eine Eisenkonzentration von $100 \mu\text{g l}^{-1}$ verwendet wurde. Für eine Analyse in Realproben sollte diese aber mindestens 1 mg l^{-1} betragen und würde so zu einem noch größeren und stärkeren Tailing führen. In dieser Abbildung ist auch gut zu erkennen, dass der EDTA-Komplex durch den Suppressor nicht beeinflusst wird und dieser weiterhin mit der selben Intensität detektiert wird.

Dasselbe gilt für den DTPA-Komplex (Abbildung 4.34 rechts), auch dieser wird durch den Suppressor nicht beeinflusst. Der NTA-Komplex jedoch scheint nicht stabil genug zu sein, um den Suppressor vollständig zu passieren. Hier wird das Signal, wie in Abbildung 4.34 links zu erkennen ist, durch den Suppressor deutlich reduziert. Auf dieses Problem wird im weiteren Verlauf dieses Kapitels noch näher eingegangen.

Auch der CDTA-Komplex übersteht den Suppressor unbeschadet und liefert die übliche Signalintensität. Aufgrund der in Kapitel 4.2.2 auf Seite 59 beobachteten Probleme mit der CDTA, wurden die Chromatogramme in Abbildung 4.35 auf der nächsten Seite mit einem konzentrierteren Eluenten gemessen.

Abbildung 4.36 auf Seite 85 stellt nochmal die Chromatogramme von NTA, EDTA und DTPA mit und ohne Entfernung des überschüssigen Eisens gegenüber. Links sind die Chromatogramme ohne

4.3. VERFEINERUNG DER METHODE

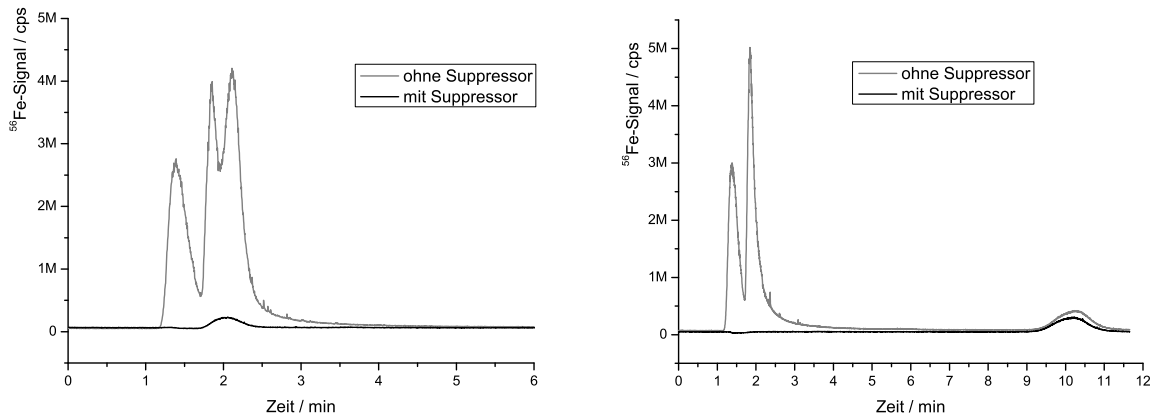


Abbildung 4.34: Vergleich der Chromatogramme von $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Fe(III) mit $100 \mu\text{g l}^{-1}$ NTA (links) und DTPA (rechts) mit und ohne Entfernung des überschüssigen Eisens. (DV-070326-1B2, Eluent: 55 mmol l^{-1} NH_4NO_3 , pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

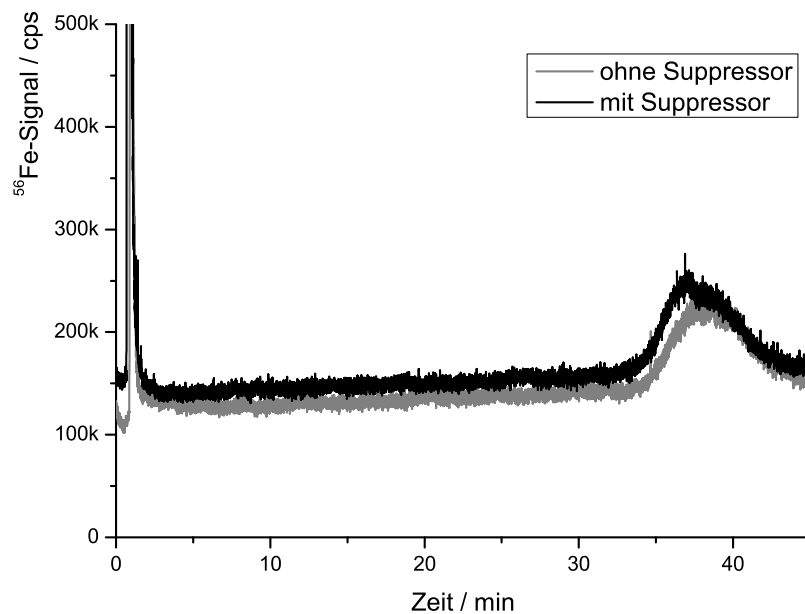


Abbildung 4.35: Vergleich der Chromatogramme von $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Fe(III) mit $200 \mu\text{g l}^{-1}$ CDTA mit und ohne Entfernung des überschüssigen Eisens. (DV-070326-1B2, Eluent: 110 mmol l^{-1} NH_4NO_3 , pH 4, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

den Suppressor und rechts mit Suppressor abgebildet. In den linken Chromatogrammen ist deutlich das im Totvolumen eluierende Eisen zu sehen, welches sowohl den NTA-, als auch den EDTA-Peak überlagert. In der rechten Abbildung ist dies nicht mehr zu sehen, jedoch wird das NTA-Signal deutlich reduziert.

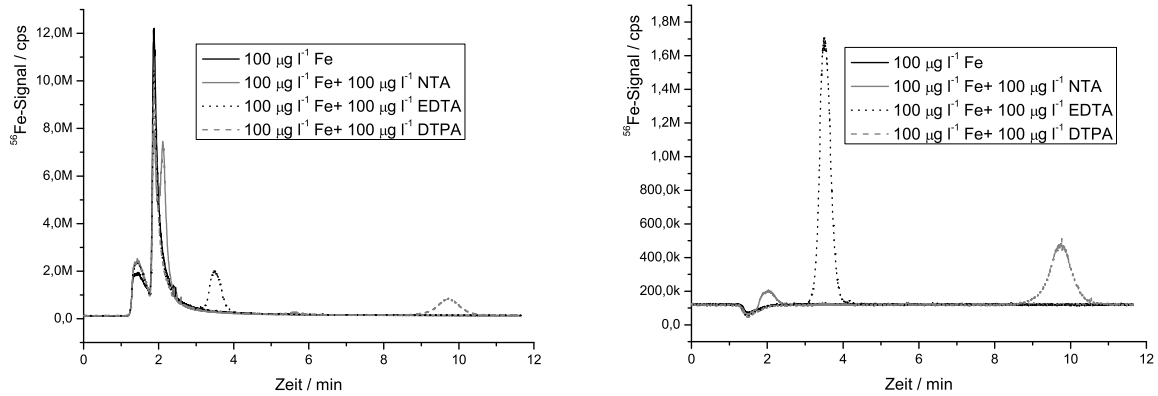


Abbildung 4.36: Vergleich der Chromatogramme von $100 \mu\text{g l}^{-1}$ Fe(III) mit je $100 \mu\text{g l}^{-1}$ NTA, EDTA und DTPA mit (links) und ohne (rechts) Entfernung des überschüssigen Eisens. (DV-070326-1B2, Eluent: 55 mmol l^{-1} NH_4NO_3 , pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

Da die Beeinflussung des NTA-Komplexes durch den Kationenaustauscher die Intensität des Signals stört, muss hier untersucht werden, ob das Signal dennoch proportional zur NTA-Konzentration ist. Dieses ist eine essentielle Voraussetzung, um die NTA auch quantifizieren zu können. Zu diesem Zweck wurden Lösungen mit unterschiedlichen NTA-Konzentrationen gemessen und die Signalfächen des NTA-Komplexes mit der NTA-Konzentration verglichen. Die Chromatogramme und die daraus erhaltene Auftragung der Signalfäche gegen die Konzentration ist in Abbildung 4.37 auf der nächsten Seite zu sehen. Diese zeigt deutlich, dass die erforderliche lineare Abhängigkeit gegeben ist und die NTA auch nach dem Suppressor noch quantifiziert werden kann, dieses jedoch mit einer geringeren Empfindlichkeit einhergeht.

Einfluss der Eisenkonzentration auf die Signalfächen

Die Eisenkonzentration der Proben ist aufgrund des natürlichen Eisengehalts in den Proben nicht konstant. Daher wurde im Folgenden untersucht, ob die Eisenkonzentration einen Einfluss auf die Signalfächen hat, und ob eine höhere Konzentration einen Einfluss auf den Suppressor hat. In einem ersten Experiment wurden zwei Eisenlösungen, von denen die eine $100 \mu\text{g l}^{-1}$ und die andere $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Eisen(III) enthielt, ohne Komplexbildner in das IC-System injiziert. Die beiden resultierenden Chromatogramme sollten aufgrund der Entfernung des Eisens identisch aussehen, was auch in Abbildung 4.38 zu erkennen ist. Diese Abbildung demonstriert nocheinmal die Leistungsfähigkeit des Suppressors.

4.3. VERFEINERUNG DER METHODE

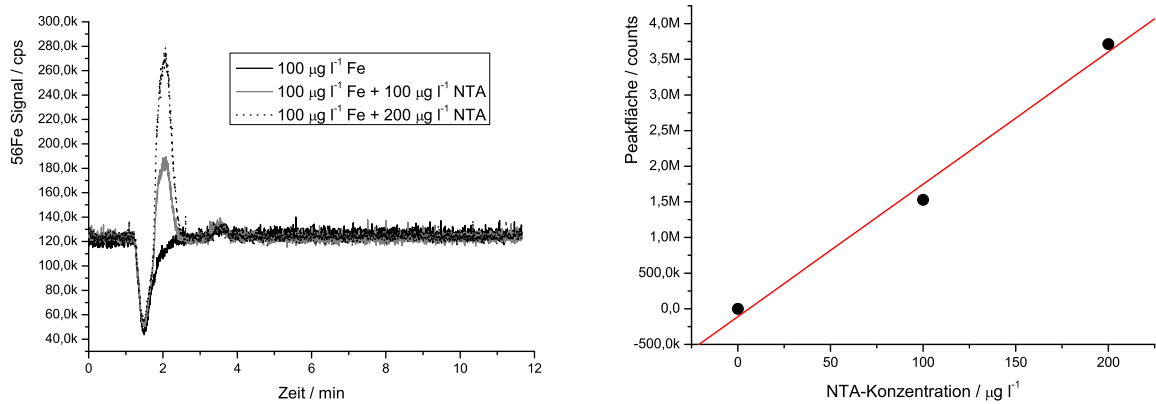


Abbildung 4.37: Vergleich der Chromatogramme von $100 \mu\text{g l}^{-1} \text{ Fe(III)}$ mit $0 - 200 \mu\text{g l}^{-1} \text{ NTA}$ mit Entfernung des überschüssigen Eisens. (DV-070326-1B2, Eluent: $55 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$) (links). Auftragung der NTA-Konzentration gegen die Peakfläche (rechts).

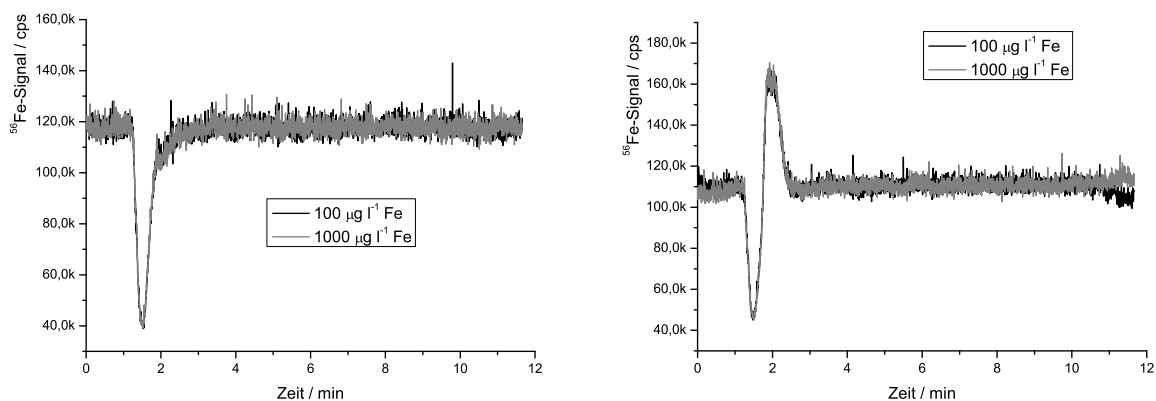


Abbildung 4.38: Chromatogramme von 100 und $1000 \mu\text{g l}^{-1} \text{ Fe(III)}$ (links) und zusätzlich $100 \mu\text{g l}^{-1} \text{ NTA}$ (rechts) mit Entfernung des überschüssigen Eisens. (DV-070326-1B2, Eluent: $55 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

Als nächstes wurde der NTA-Komplex näher untersucht. Da dieser nicht stabil genug ist, um den Kationenaustauscher vollständig zu durchlaufen, ist hier am ehesten mit einer Veränderung durch eine höhere Eisenkonzentration zu rechnen. Jedoch konnte in Abbildung 4.38 auf der vorherigen Seite (rechts) kein Hinweis auf einen Einfluss der Eisenkonzentration gefunden werden.

Die selben Versuche wurden mit EDTA, DTPA und CDTA gemacht und auch hier konnte kein Einfluss einer höheren Eisenkonzentration auf die Signale der Komplexe beobachtet werden. Für CDTA wurde dieser Versuch wieder bei erhöhter Eluentkonzentration durchgeführt.

Zusammenfassung

Der Einsatz des Suppressors ermöglicht es, das Metall in der Probenvorbereitung im großen Überschuss einzusetzen, ohne dass diese hohe Metallkonzentration in das chromatographische System gelangt. Lediglich der NTA-Komplex ist nicht stabil genug, um den Suppressor zu passieren, so dass hier die Empfindlichkeit verringert wird. Die Eisenkomplexe der EDTA, DTPA und CDTA sind um mehrere Größenordnungen stabiler, als die der NTA und können daher mit der selben hohen Empfindlichkeit detektiert werden.

4.3.2 Einführung des Column-Switchings zur Analyse der CDTA

Bisher scheint die Analyse der CDTA mit dieser Methode nicht möglich. Als Ursachen hierfür wurden entweder eine unvollständige Komplexbildung oder eine starke Affinität des Komplexes zur stationären Phase vermutet.

Die erste Vermutung konnte in Kapitel 4.2.1 auf Seite 53 anhand von UV/Vis-Untersuchungen der Komplexe widerlegt werden, in denen gezeigt wurde, dass sich unter den gegebenen Bedingungen ein Komplex der CDTA mit Eisen(III) ausbildet. Da dieser auch eine hinreichende Stabilität besitzt (vgl. Tabelle 2.7 auf Seite 40) kann auch davon ausgegangen werden, dass sich der Komplex nicht im chromatographischen System zersetzt.

Bei den Versuchen in Kapitel 4.2.2 auf Seite 59 gelang es durch die Verwendung eines stärkeren Eluenten den CDTA-Komplex nach einer Stunde von der stationären Phase zu eluieren. Dieses Verhalten zeigt noch einmal, dass sich ein CDTA-Komplex bildet, dieser jedoch tatsächlich eine starke Affinität zu der verwendeten stationären Phase besitzt.

Aufgrund dieser Besonderheit der CDTA wurde diesem Komplexbildner ein eigenes Kapitel gewidmet, in dem es um die Ursachen für dieses Verhalten geht und um Möglichkeiten, dieses Problem zu umgehen, um die Analyse in einem angemessenen Zeitraum durchführen zu können.

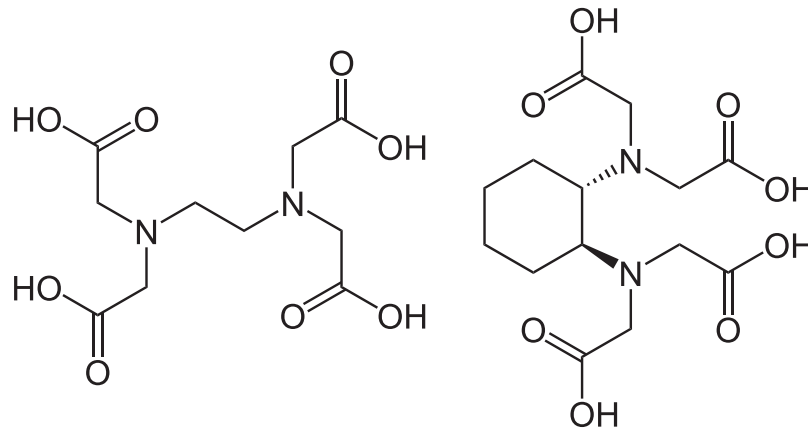


Abbildung 4.39: Vergleich der beiden Komplexbildner EDTA (links) und CDTA (rechts).

Ursachen

Die EDTA und die CDTA ähneln sich in ihrer Struktur sehr. Daher wurde davon ausgegangen, dass ihre Komplexe eine ähnliche Retention auf der stationären Phase zeigen. Die Strukturen der beiden Komplexbildner sind in Abbildung 4.39 nochmal gegenübergestellt.

Der Unterschied dieser beiden Komplexbildner ist, dass die Ethylenbrücke aus der EDTA durch eine Cyclohexanbrücke ersetzt wurde. CDTA bildet, da sie die selben funktionellen Gruppen besitzt, ähnlich stabile Komplexe wie die EDTA und auch Komplexe der selben Ladung. Beide Komplexbildner können mit ihren vier Säuregruppen und den zwei Aminogruppen sechs Koordinationsstellen des Zentralatoms besetzen. Dies ergibt bei einem dreiwertigen Metall (z. B. Eisen(III)) und einer voll deprotonierten Säure einen einfach negativ geladenen Komplex; in beiden Fällen. Da die Retention in der Ionenchromatographie hauptsächlich auf elektrostatischen Wechselwirkungen beruht, wird die Retention maßgeblich von der Ladung und der Ionengröße bestimmt. Generell gilt hier, je größer die Ladung und je kleiner das Ion (inklusive der Hydrathülle), desto länger ist die Verweilzeit an der stationären Phase. Daher wurde erwartet, dass der CDTA-Komplex sogar noch vor dem EDTA-Komplex eluiert. Da er jedoch wesentlich stärker retardiert wird, kann davon ausgegangen werden, dass hier noch weitere Retentionsmechanismen wirksam sind. Hier ist zu vermuten, dass die hydrophobe Cyclohexanbrücke mit den im Polymer zahlreich vorhandenen aromatischen Systemen wechselwirkt und so durch hydrophobe Wechselwirkungen stärker an der stationären Phase retardiert wird.

Da die verstärkte Affinität des Komplexes nicht auf elektrostatische Wechselwirkungen zurückzuführen ist, konnte auch durch die Bestimmung der effektiven Ladung gezeigt werden.

Column-Switching

Um dennoch CDTA innerhalb einer akzeptablen Zeit mit dieser Methode analysieren zu können, wurde die Technik des Column-Switching verwendet. Hierbei werden zwei Säulen mit der selben stationären Phase aber unterschiedlicher Länge über ein Schaltventil miteinander verbunden. So werden

die Komplexe der NTA, EDTA und DTPA über beide Säulen getrennt und sobald diese den Detektor erreichen, wird das Ventil umgeschaltet. Dann ist der Ausgang der ersten und kürzeren Säule direkt mit dem Detektor verbunden. Zu diesem Zeitpunkt befindet sich der CDTA-Komplex noch vollständig auf dieser Säule und wird nach der Elution direkt zum Detektor geleitet, ohne noch die zweite Säule passieren zu müssen.

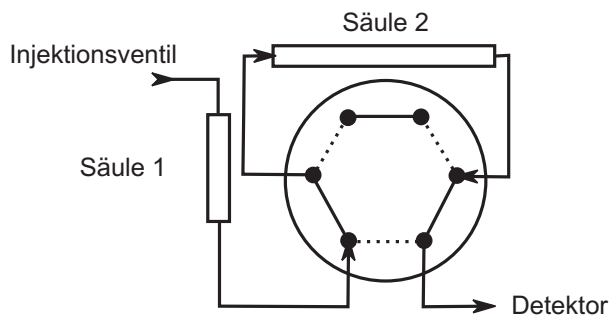


Abbildung 4.40: Skizze des Aufbaus zum Column-Switching.

Eine Skizze dieses Aufbaus ist in Abbildung 4.40 zu sehen. Als Schaltventil wurde ein übliches Injektionsventil verwendet, welches in dem IC-System vorhanden ist. Durch Variation der Länge der beiden Säulen, lässt sich der zeitliche Abstand, mit dem der CDTA-Komplex nach dem DTPA-Komplex eluiert, sehr genau steuern. Das Ventil lässt sich durch die Software ICNet (Fa. Metrohm, Herisau, CH), mit dem auch das restliche chromatographische System gesteuert wird, über ein Zeitprogramm automatisch schalten. Hierfür ist es lediglich erforderlich, den Zeitpunkt genau festzulegen und in der Software einen solchen Befehl zu programmieren.

Als Säulen wurden hier eine 2 cm und eine 10 cm Säule verwendet die mit einem TMA-Austauschermaterial gepackt waren. Abbildung 4.41 auf der nächsten Seite zeigt die Chromatogramme der Komplexe von NTA, EDTA, DTPA mit beiden Säulen in Reihe geschaltet und von CDTA, welcher nur über die kurze Säule lief. Dieses Chromatogramm zeigt, dass es möglich ist, bei der Verwendung dieser zwei Säulen, die vier Komplexe innerhalb von 15 min. zu trennen.

Um diese Trennung in einem Lauf automatisiert durchzuführen, ist es erforderlich, dass das System nach 9 Minuten das zusätzliche Injektionsventil schaltet. Ein so erhaltenes Chromatogramm von einer Mixtlösung mit allen vier Komplexbildnern ist in Abbildung 4.42 auf der nächsten Seite links zu sehen. Um das Prinzip noch zu verdeutlichen, ist der Teil des Chromatogramms, der mit beiden Säulen aufgenommen wurde von dem Teil, der nur mit der kurzen Säule aufgenommen wurde, farblich unterschiedlich dargestellt. Weiterhin ist in Abbildung 4.42 auf der nächsten Seite rechts der Aufbau des Systems skizziert und hier in den selben Farben die Wege der Analyten eingezeichnet.

Zusammenfassung

Durch diese relativ einfache Technik ist es möglich, die Retentionzeit des CDTA-Komplexes von über einer Stunde auf weniger als 15 Minuten zu verkürzen und so die Trennung zusammen mit NTA,

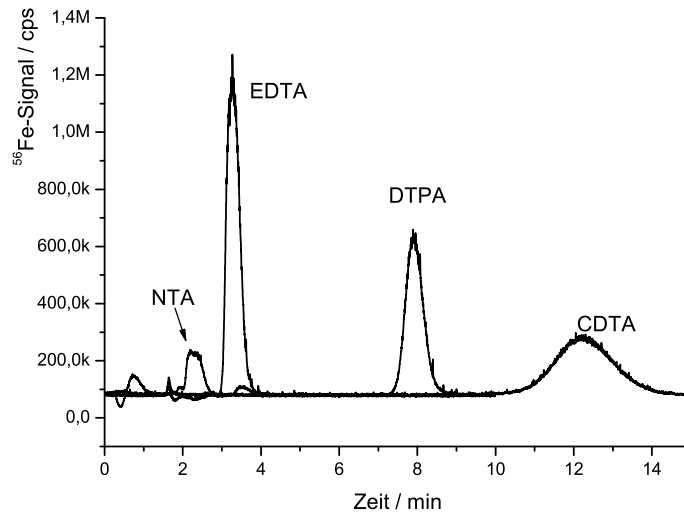


Abbildung 4.41: Chromatogramm der Eisen(III)-Komplexe von NTA, EDTA, DTPA (12 cm Säule) und CDTA (2 cm Säule). (DV-080429-1A1 (10 + 2 cm), Eluent: $55 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

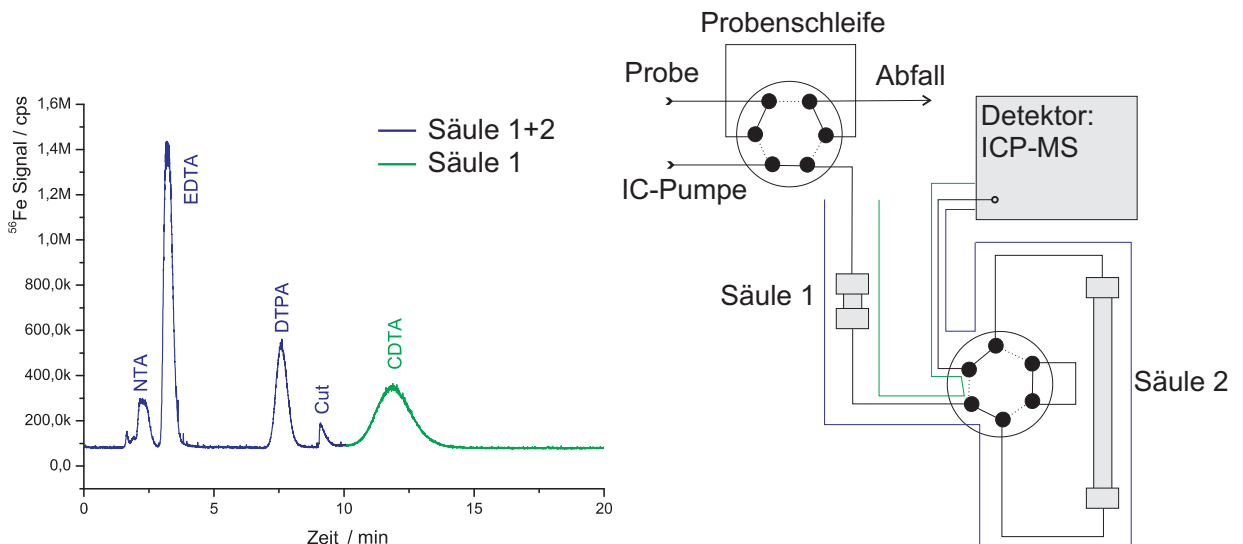


Abbildung 4.42: Links: Chromatogramm der Eisen(III)-Komplexe von NTA, EDTA, DTPA (12 cm Säule) und CDTA (2 cm Säule). (DV-080429-1A1 (10 + 2 cm), Eluent: $55 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$). Rechts: Skizze des Column-Switching Aufbaus mit farblicher Kennzeichnung der Wege der Analyten durch das System.

EDTA und DTPA in einem Lauf mit einer kurzen Analysezeit zu bestimmen. Als potenzielles Problem sind hierbei jedoch die Druckschwankung zu sehen, der die beiden Säulen aufgrund des Schaltens unterliegen. Diese können die Packung der Säulen negativ beeinflussen, so dass es nach häufiger Anwendung zu Peakasymmetrien und Verlust der chromatographischen Effizienz kommen kann. Falls Unregelmäßigkeiten in den Chromatogrammen auftauchen, kann es sinnvoll sein, die Flussrichtung in den Säulen zu ändern, da sich hierdurch die Packung zum Teil wieder verbessern lässt. Führt dies nicht zum Erfolg, ist es erforderlich, die Säulen neu zu packen oder zu ersetzen.

4.3.3 Steigerung der Empfindlichkeit durch Anpassung des Komplexkerns

In den bisherigen Experimenten wurde Eisen oder Chrom als Komplexkern verwendet. Die gängigen Verfahren zur Bestimmung der Komplexbildner, die auf flüssigchromatographischen Methoden beruhen, verwenden Eisen, um die Komplexbildner in stabile anionische Komplexe zu überführen[104] [16]. Die Eisenkomplexe sind hinreichend stabil, um sich während der chromatographischen Trennung nicht zu zersetzen und lassen sich gut mittels UV/Vis-Spektrometrie detektieren.

Auch in den Experimenten dieser Arbeit hat sich Eisen als guter Komplexkern erwiesen, jedoch wird die Detektion des Eisens mit dem ICP-MS durch isobare Interferenzen auf den Eisenisotopen gestört. Häufige Interferenzen auf den relevanten Massen sind in Tabelle 2.3 auf Seite 23 aufgelistet. Berücksichtigt man die relative Häufigkeit der Eisenisotope aus Tabelle 4.17 fällt auf, dass das Hauptisotop von Eisen mit dem m/z 56 am stärksten durch Interferenzen des $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}$ Molekülions gestört wird. Dies hat zur Folge, dass Eisen auf dem Hauptisotop unter Standardbedingungen kaum gemessen werden kann, da der Untergrund sehr hoch ist und so der Detektor überlastet würde. Daher wird in der Regel auf das Isotop mit der Masse 57 ausgewichen; dieses ist am wenigsten von Interferenzen betroffen, weist aber noch eine akzeptable Häufigkeit auf. Diese Lösung geht jedoch aufgrund der geringeren Häufigkeit mit einem Empfindlichkeitsverlust einher.

Tabelle 4.17: Natürliche Isotope des Eisens [8].

Isotop	rel. Häufigkeit
^{54}Fe	5,82 %
^{56}Fe	91,66 %
^{57}Fe	2,19 %
^{58}Fe	0,33 %

Eine Möglichkeit, Eisen auch im Spurenbereich nachzuweisen stellt die Verwendung der Reaktions-/Kollisionszelle dar, deren Funktionsweise in Kapitel 2.2.5 auf Seite 22 beschrieben ist. Durch die Reduktion der Molekülionen, die den Detektor erreichen, ist es so wieder möglich auf dem Hauptisotop des Eisens zu messen und damit die Empfindlichkeit zu steigern.

Durch eine Verringerung der Leistung, die in das Plasma eingekoppelt wird, auf 700 W und die Verwendung der Shield-Torch können ebenfalls Interferenzen reduziert werden. Wegen der geringeren Leistung, die in das Plasma eingekoppelt wird, ist das sogenannte Kaltplasma jedoch anfälliger gegenüber Matrixbestandteilen, so dass die Methode primär bei der Analyse hochreiner Proben, wie sie in der Halbleiterindustrie vorkommen, verwendet wird [108].

Ein Chromatogramm mit je $10 \mu\text{g l}^{-1}$ Komplexbildner und Eisen als Komplexkern ist in Abbildung 4.43 gezeigt. In diesem ist deutlich zu erkennen, dass bei einer Komplexbildnerkonzentration von $10 \mu\text{g l}^{-1}$ die Nachweisgrenze fast erreicht ist. Zum einen ist der Untergrund mit 100 000 cps trotz Verwendung der Reaktionszelle mit H_2 hoch. Zum anderen ist auch die Signalgröße der Komplexe gering. Die Nachweisgrenzen wurden bei einer Analytkonzentration von $1 \mu\text{g l}^{-1}$ nach der Schnell-schätzformel (vgl. 2.4 auf Seite 30) auf $0,1 \mu\text{g l}^{-1}$ geschätzt. Diese ist geringer, als die der bisher meist verwendeten GC-Methode, jedoch kann durch die Wahl eines anderen Metalls diese Nachweisgrenze noch weiter unterschritten werden.

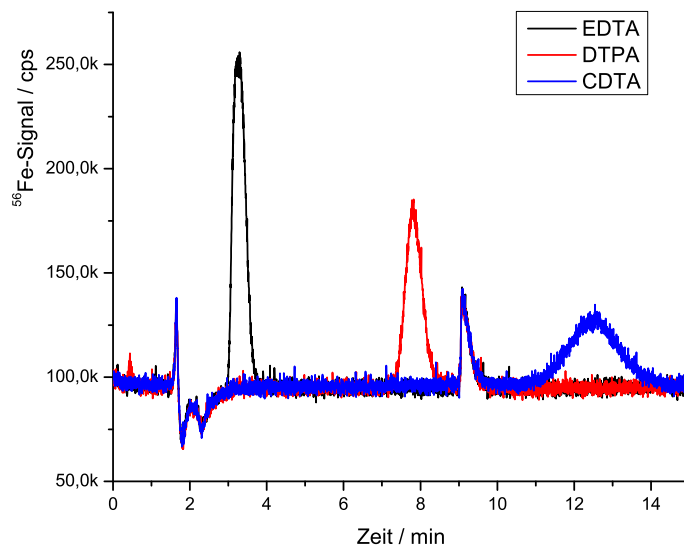


Abbildung 4.43: Chromatogramme von je $10 \mu\text{g l}^{-1}$ EDTA, DTPA und CDTA mit $1\,000 \mu\text{g l}^{-1}$ Eisen. (Säule: DV-080429-1A1 (10+2 cm), Eluent: $55 \text{ mmol l}^{-1} \text{NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

Um Nachweisgrenzen im $\text{sub-}\mu\text{g l}^{-1}$ Bereich zu erhalten, ist es demnach erforderlich, auf ein anderes Element auszuweichen, das mit dem ICP-MS empfindlicher detektiert werden kann. Hierfür sollte es folgende Voraussetzungen erfüllen:

- nahezu monoisotopisch
- keine isobaren Interferenzen auf dem Hauptisotop

Weiterhin ist es erforderlich, dass dieses Metall anionische Komplexe mit den zu analysierenden Komplexbildnern bildet und diese ähnlich stabil wie die entsprechenden Eisenkomplexe sind.

Indium

Indium, mit dem Hauptisotop der Masse 115, eignet sich mit seiner relativen Häufigkeit von 95,7% sehr gut für die Detektion mit dem ICP-MS (vgl. Tabelle 4.18). Auf dem m/z 115 sind keine relevanten Störungen zu erwarten [109] und nach Tabelle 2.7 auf Seite 40 bildet es mit den untersuchten Komplexbildner sehr stabile Komplexe, die noch stabiler sind, als die des Eisens. Die kinetische Stabilität der Indium(III)-komplexe ist mit einer Austauschrate der Aquakomplexe von $1,0 \times 10^7$ schlechter als die des Eisens und Chroms (vgl. Tabelle 2.6 auf Seite 36). Dieses würde im Folgenden als Problem in Form von Minderbefunden oder wannenförmigen Peaks auftreten. Der schnelle Ligandenaustausch kann für die Bildung der thermodynamischen stabilen Chelatkomplexe in der Probenvorbereitung sehr vorteilhaft sein.

Tabelle 4.18: Natürliche Isotope des Indiums [8].

Isotop	rel. Häufigkeit
^{113}In	4,3 %
^{115}In	95,7 %

In Abbildung 4.44 sind die Chromatogramme von je $10 \mu\text{g l}^{-1}$ Komplexbildner mit Indium als Zentralatom gezeigt. Die Indiumkonzentration betrug $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ um eine vollständige Transmetallierung zu gewährleisten. Die Probenvorbereitung wurde bis auf den Austausch des Metalls nicht verändert.

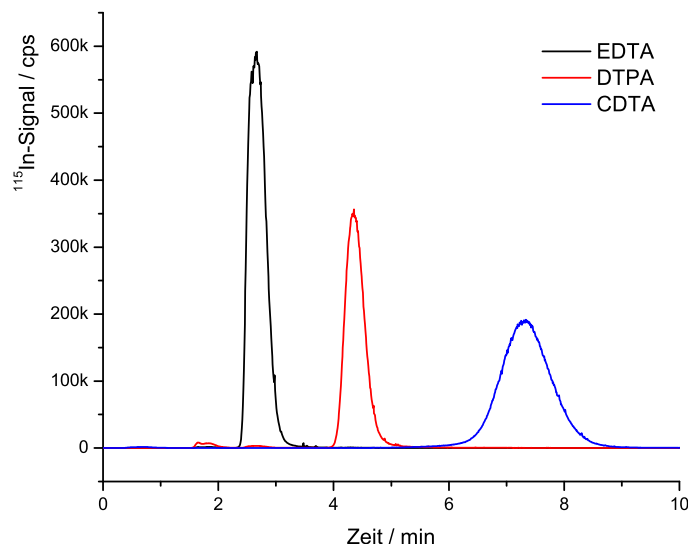


Abbildung 4.44: Chromatogramme von je $10 \mu\text{g l}^{-1}$ EDTA, DTPA und CDTA mit $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Indium. (Säule: DV-080429-1A1 (10+2 cm), Eluent: $55 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

4.3. VERFEINERUNG DER METHODE

Beim Vergleich dieses Chromatogramms mit dem aus Abbildung 4.43 fällt nicht nur der deutlich gesenkte Untergrund auf, sondern auch die deutlich gestiegene Signalhöhe der einzelnen Peaks. Dies lässt schon vermuten, dass bei der Verwendung von Indium als Komplekxkern Nachweisgrenzen im $\text{sub-}\mu\text{g l}^{-1}$ Bereich zu erreichen sind.

Nach der Schnellschätzformel wurde mit einem $0,1 \mu\text{g l}^{-1}$ Standard eine Nachweisgrenze von 2 ng l^{-1} errechnet. Dies zeigt, dass durch die Änderung des Metalls eine Steigerung der Empfindlichkeit um den Faktor 1 000 realisiert wurde.

Für die erste Methode wurde eine Kalibration von 0 bis $1 \mu\text{g l}^{-1}$ mit 6 Messpunkten für EDTA, DTPA und CDTA durchgeführt. Diese Kalibrationsdaten sind in Abbildung 4.45 links mit dem Vertrauensband zu sehen. Um den linearen Arbeitsbereich der Methode abzuschätzen, wurden Standards in einem Konzentrationsbereich von 10 ng l^{-1} bis $10 \mu\text{g l}^{-1}$ gemessen und in Abbildung 4.45 rechts die Analytkonzentration gegen die erhaltene Signalfäche doppellogarithmisch aufgetragen.

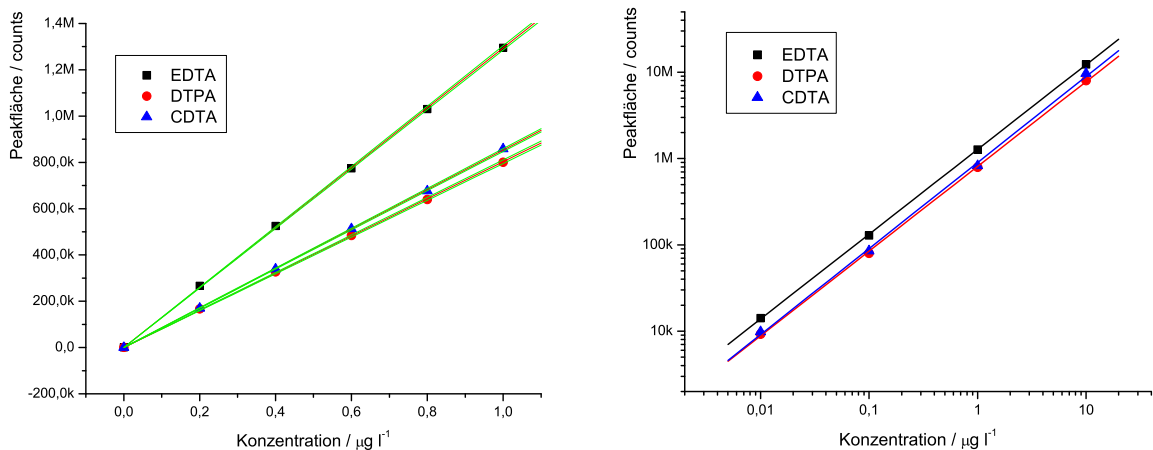


Abbildung 4.45: Kalibration für die EDTA, DTPA und CDTA mit Indium als Komplekxkern.

Diese Abbildung zeigt deutlich, dass eine lineare Kalibration über mehrere Größenordnungen möglich ist, die einen Bereich von 10 ng l^{-1} bis $10 \mu\text{g l}^{-1}$ abdeckt.

Zusammenfassung

Eisen eignet sich sehr gut für die Analyse von Komplexbildnern mit einer IC oder IPC und einem UV/Vis-Detektor. Durch die Verwendung eines ICP-MS als Detektor anstatt des UV/Vis-Detektors können die Nachweisgrenzen vom mg l^{-1} Bereich in den $\mu\text{g l}^{-1}$ Bereich gesenkt werden. Jedoch wird bei der Detektion von Eisen das Potenzial des ICP-MS nicht ausgeschöpft, da Eisen aufgrund isobarer Interferenzen nicht im Ultraspurenbereich zu detektieren ist.

Durch die Verwendung eines anderen Metalls, das ebenfalls sehr stabile Komplexe mit den aminopolycarbonsäure Komplexbildnern bildet und nicht durch Interferenzen im Massenspektrometer gestört

wird, gelingt es, die Nachweisgrenzen noch einmal um den Faktor 1 000 zu senken. Ein solches Metall ist z. B. Indium. Die befürchteten Nachteile der kinetisch labilen Indiumkomplexe konnten in diesen Experimenten nicht gesehen werden.

4.3.4 Untersuchungen zur Optimierung der Regeneration des Suppressors

Bei der Auswertung von Wiederholmessungen der Blindwerte, wie in Abbildung 4.46 links gezeigt, fiel auf, dass zum Teil wieder ein Signal im Totvolumen erscheint, obwohl dieses durch die Verwendung des Suppressors verhindert werden sollte. Weiterhin musste festgestellt werden, dass auch bei den Blindwerten ein Signal an der Stelle des EDTA-Peaks zu sehen war, dessen Intensität zum Teil stark variiert. Solche Wiederholmessungen sind in Abbildung 4.46 rechts zu sehen.

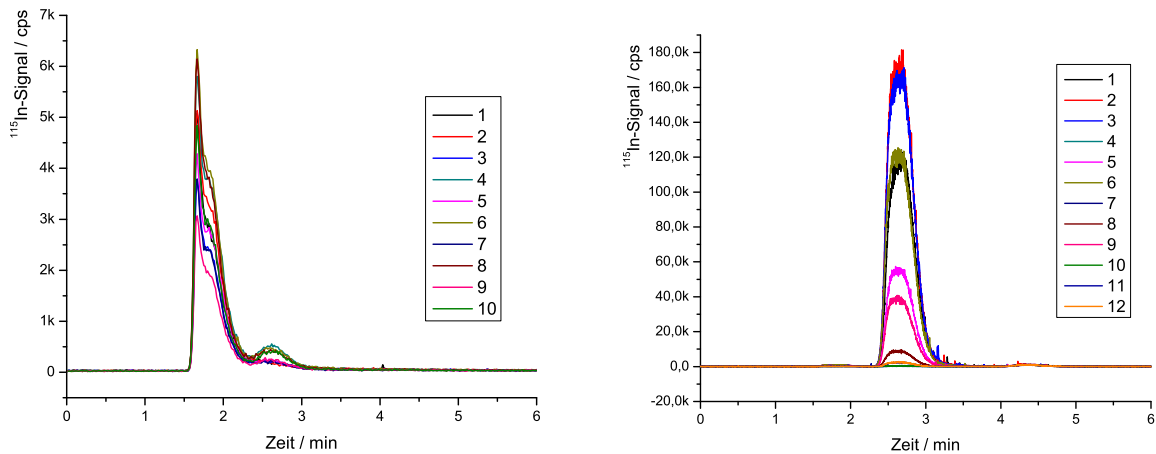


Abbildung 4.46: Wiederholmessungen von $1\ 000\ \mu\text{g l}^{-1}$ Indium. (Säule: DV-080429-1A1 (10+2 cm), Eluent: $55\ \text{mmol l}^{-1}\ \text{NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6\ \text{ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240\ \mu\text{l}$).

Zunächst wurde davon ausgegangen, dass bei der Probenvorbereitungen Verunreinigungen verschleppt wurden, jedoch konnte dieses nach einem erneuten Ansetzen sämtlicher Lösungen ausgeschlossen werden. Auch der Autosampler wurde auf mögliche Kontaminationsquellen untersucht und die Schlauchverbindungen erneuert. Trotz dieser Maßnahmen wurden weiterhin Signale im Totvolumen beobachtet und es wurden dennoch Komplexbildner in den Blindlösungen gefunden.

Als wahrscheinlichste Ursache für diese Beobachtungen wurde der Suppressor gesehen, da sämtliche Proben diesen durchlaufen, dessen Regeneration aber bisher keine besondere Aufmerksamkeit geschenkt wurde. Um die drei verschiedenen Kartuschen besser unterscheiden zu können, wurde diese mit den folgenden Farben markiert: schwarz, weiss, silber. Bei einer genaueren Untersuchung des Suppressors wurde auch festgestellt, dass sich die Flussraten, die mit der peristaltischen Pumpe des Autosamplers durch die verschiedenen Kartuschen, erreicht werden, unterscheiden. Um die Flussrate zu bestimmen, wurde die peristaltische Pumpe für fünf Minuten eingeschaltet und der Ausgang des

Suppressors in einen 10 ml Messzylinder geleitet. Es wurden Flussraten von $0,56 \text{ ml min}^{-1}$ für die schwarze, $0,44 \text{ ml min}^{-1}$ für die weiße und $0,40 \text{ ml min}^{-1}$ für die silberne Kartusche gemessen. Die verschiedenen Flussraten werden durch unterschiedliche Staudrücke der Kartuschen hervorgerufen, die durch eine peristaltische Pumpe nicht ausgeglichen werden. Da hieraus eine unterschiedliche Probenmenge resultiert, die durch den Suppressor in die Probenschleife gelangt, sollte auf eine einheitliche Flussrate geachtet werden. Um diesen Unterschied auszugleichen, wurden sowohl die peristaltische Pumpe des Autosamplers, als auch die für die Regeneration eingesetzte Pumpe leicht modifiziert. Die Pumpen verfügen über jeweils zwei Kanäle die in Reihe geschaltet wurden. Das bedeutet, dass der Ausgang des ersten Pumpenschlauches direkt mit dem Eingang des zweiten Pumpenschlauches verbunden wurde. So kann der von der Pumpe aufgebraute Druck leicht erhöht werden. Das Spülen der Kartuschen nach der Regeneration wurde von einer weiteren IC-Pumpe übernommen, bei der ein konstanter Fluss von $0,1 \text{ ml min}^{-1}$ eingestellt war. Der Suppressor wurde durch Spülen mit Oxalsäure ($0,2 \text{ mol l}^{-1}$) und Schwefelsäure ($0,2 \text{ mol l}^{-1}$) gründlich gereinigt und für 30 Minuten im Ultraschallbad behandelt. Nach Abschluss dieser Maßnahmen konnte ein einheitlicher Fluss von $0,51 \text{ ml min}^{-1}$ erreicht werden.

Zusätzlich wurde untersucht, ob die bisherige Regeneration der Kartuschen ausreichend ist. Wird der Suppressor für die eigentliche Aufgabe, der Reduktion der Grundleitfähigkeit des Eluenten, verwendet, ist eine Regeneration mit einer $0,05 \text{ mol l}^{-1}$ Schwefelsäure empfohlen. Um das System nicht mit Schwefel zu verunreinigen wurde Salpetersäure anstatt der Schwefelsäure verwendet. Die Konzentration wurde für die bisherigen Messungen auf $0,2 \text{ mol l}^{-1}$ erhöht, jedoch die Effizienz der Regeneration bis zu diesem Zeitpunkt nicht überprüft. Daher wurden im Rahmen eines Vertiefungspraktikums von Dirk Schneider verschiedene Säuren bei unterschiedlichen Konzentration auf ihre Tauglichkeit zur schnellen Regeneration des Kationenaustauschermaterials untersucht.

Versuchsaufbau

Um die Regeneration des Suppressors genauer zu untersuchen, soll der Suppressor kontrolliert mit Indium beladen und im Anschluss mit Säure gespült werden. Bei dem Spülschritt kann der Ausgang des Suppressors direkt mit dem ICP-MS verbunden werden und so bei einer zeitaufgelösten Messung beobachtet werden, wieviel Indium zu welcher Zeit von dem Suppressor gespült wird. Dieser Aufbau hat jedoch den Nachteil, dass für die ersten Minuten des Spülschritts eine hohe Konzentration an Indium in der Spüllösung erwartet wird. Diese würde zu Memoryeffekten in dem Zerstäubersystem des ICP-MS führen, so dass nicht mit Sicherheit gesagt werden kann, ob derzeit Indium vom Suppressor gespült wird, oder das Signal durch die Memoryeffekte verursacht wird.

Als Alternative kann der Ausgang des Suppressors wie in Abbildung 4.47 auf der nächsten Seite gezeigt, an ein Injektionsventil angeschlossen werden, um eine Probenschleife zu füllen. In der Abbildung ist das Ventil in Injektionsstellung zu sehen, der Füllmodus ist durch die gestrichelten Linien angedeutet. Die IC-Pumpe befördert kontinuierlich dieselbe Lösung, die sonst als Eluent verwendet

4.3. VERFEINERUNG DER METHODE

wird und spült so nach Umschalten des Ventils in die Injektionsstellung den Inhalt der Probenschleife in das ICP-MS.

Dieser Aufbau hat den Vorteil, dass der Beginn der Regeneration ausgeblendet werden kann, indem das Schaltventil in der Zeit auf Füllen gestellt bleibt. Erst nach fünf Minuten wird es zum ersten mal auf den Injektionsmodus umgeschaltet und die Regenerationslösung gelangt in das ICP-MS.

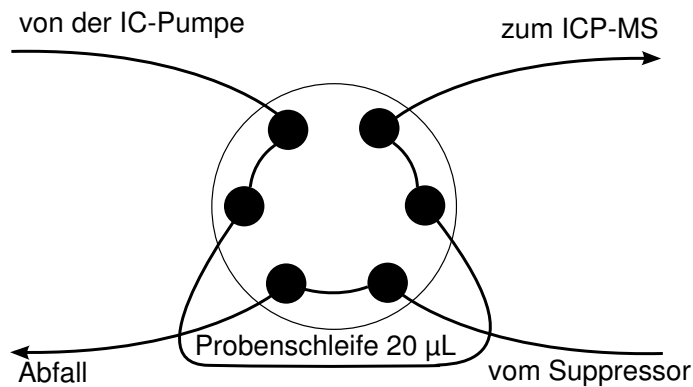


Abbildung 4.47: Skizze des Messaufbaus.

Zu Beginn jeder Messung wurde eine Kartusche für fünf Minuten mit einer $1\,000\ \mu\text{g l}^{-1}$ Indiumlösung durchspült und anschließend durch das drehen des Suppressors um 120° die Regeneration gestartet. Abbildung 4.48 zeigt den Aufbau für die Beladung und die Regeneration des Suppressors.

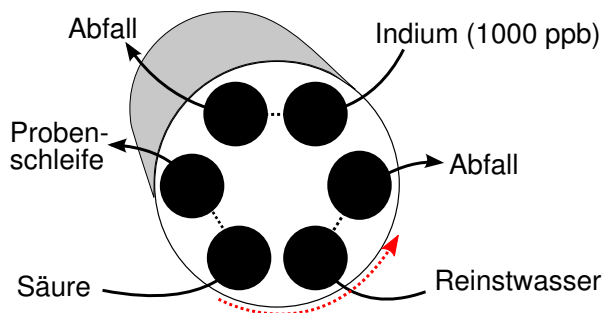


Abbildung 4.48: Beladung und Regeneration des Suppressors.

Nach dem Starten der Regeneration wird, wie oben schon erwähnt, das Schaltventil für die ersten fünf Minuten auf Füllen gestellt, um die große Menge Indium, die zu Beginn des Regenerationsprozesses erwartet wird, nicht in das ICP-MS einzubringen. Anschließend wird die Probenschleife eine Minute lang gefüllt, um dann für zwei Minuten den Inhalt der Probenschleife in das ICP-MS zu leiten. Diese Sequenz wird solange fortgeführt, bis die Basislinie wieder erreicht ist, oder die gewählte Messzeit verstrichen ist.

Eine typische zeitaufgelöste Messung ist in Abbildung 4.49 auf der nächsten Seite zu sehen. In den ersten fünf Minuten ist das Untergrundsignal zu sehen, da hier noch keine Regenerationslösung ins

ICP-MS eingebracht wird. Auch der starke Abfall der Signalhöhen mit der Zeit ist in dieser Abbildung deutlich zu erkennen. Gegen Ende der Datenaufnahme sind die Messwerte nicht mehr vom Untergrund zu unterscheiden.

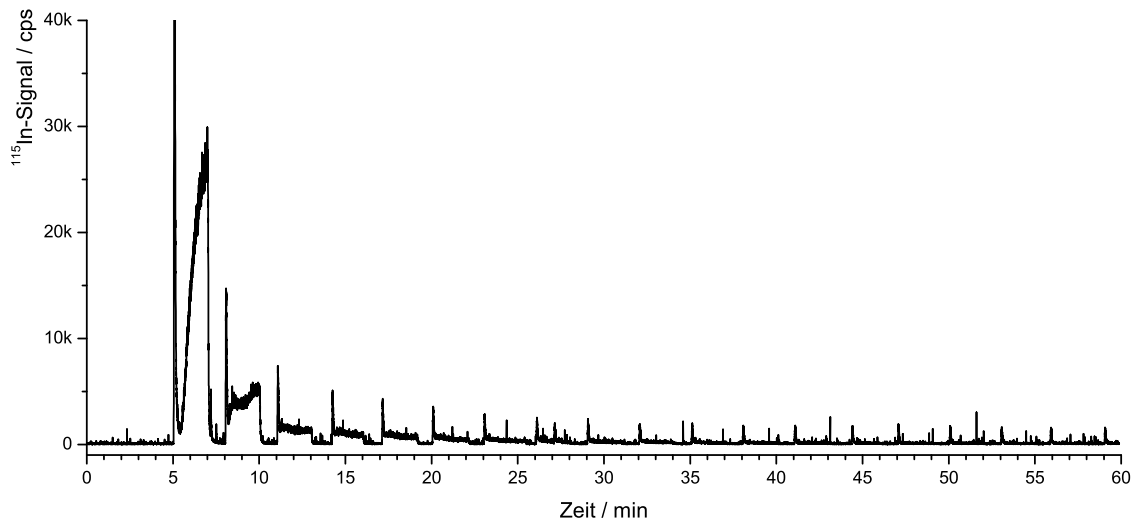


Abbildung 4.49: Zeitaufgelöste Messung der Signalintensitäten bei der Untersuchung der Regenerationszeiten.

Abbildung 4.50 auf der nächsten Seite zeigt einen vergrößerten Ausschnitt aus der vorherigen Abbildung. Diese zeigt zu Beginn jeder Injektion einen hohen schmalen Peak, der durch das Indium in den $20\ \mu\text{l}$ Regenerationslösung verursacht wird. Nach dem ersten Peak steigt die Intensität leicht an es bildet sich ein leicht nach unten geneigtes Plateau aus. Diese Plateau entsteht durch Memoryeffekte in der Probenschleife. Nach zwei Minuten wird das Ventil wieder auf Füllen gestellt und das Signal sinkt wieder auf den Untergrund ab. Der erste scharfe Peak schwankt zum Teil in seiner Intensität, da es zu diesem Zeitpunkt auch zu Druckschwankungen im System aufgrund des Schaltens des Injektionsventils kommt. Die Höhe des Plateaus hingegen korreliert auch mit der Regenerationsdauer und der Höhe des ersten Peaks. Daher wurde zur Analyse der Daten für jedes Plateau der Mittelwert gebildet und gegen die entsprechende Zeit aufgetragen. So lässt sich ermitteln, ab welchem Zeitpunkt die Spresorkartusche vollständig regeneriert ist.

Regeneration mit Salpetersäure

Die Verwendung von Salpetersäure als Regenerant hat den Vorteil, dass weder der Supressor, noch das ICP-MS mit weiteren Elementen verunreinigt wird. Die Salpetersäure zerfällt im Plasma in seine gasförmigen Bestandteile und da Stickstoff, Sauerstoff und Wasserstoff als Verunreinigungen im Argon schon vorhanden sind, entstehen keine neuen Interferenzen. Durch die Gasförmigen Produkte sind auch keine Ablagerungen an den Cones zu erwarten.

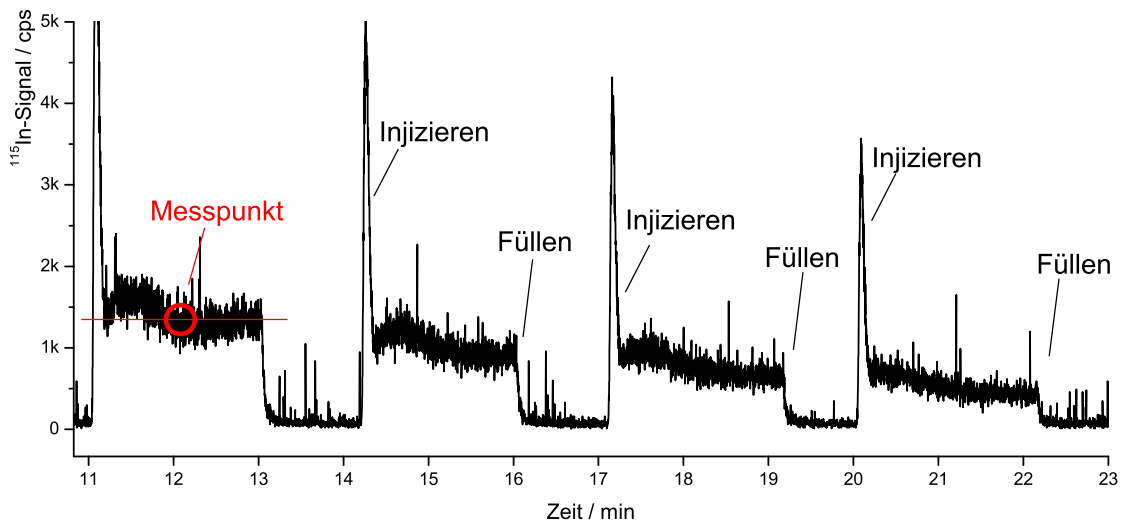


Abbildung 4.50: Festlegung der Messpunkte zur Ermittlung der Signalthöhe bei den verschiedenen Regenerationszeiten.

Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde HNO_3 in den Konzentrationen 1, 2 und 3 mol l^{-1} als Regenerant untersucht. Die ermittelten Signalthöhen sind in Abbildung 4.51 auf der nächsten Seite gegen die jeweiligen Zeiten aufgetragen.

In dieser Abbildung ist der exponentielle Abfall der Signalthöhe mit der Zeit deutlich sichtbar. Auch der schnellere Abfall bei höheren Säurekonzentrationen ist gut zu erkennen. Es zeigt sich jedoch, dass bei einer Säurekonzentration von 1 mol l^{-1} auch nach 60 Minuten der Suppressor noch nicht vollständig regeneriert ist. Daher wurde diese Messung mit einer längeren Datenaufnahme wiederholt. Die zur vollständigen Regeneration erforderlichen Zeiten für die verschiedenen Säurekonzentrationen sind in Tabelle 4.19 zusammengefasst.

Tabelle 4.19: Regenerationszeiten des Suppressors.

Säure	Konzentration / mol l^{-1}	Zeit / min
HNO_3	1	78
HNO_3	2	60
HNO_3	3	42

Auch bei einer Säurekonzentration von 3 mol l^{-1} ist die Regeneration erst nach 42 Minuten abgeschlossen. Wird die Säurekonzentration gegen die Regenerationszeit aufgetragen, ist der lineare Zusammenhang in diesem Konzentrationsbereich deutlich ersichtlich (vgl. Abbildung 4.52 auf Seite 101). Geht man von einem weiteren linearen Verlauf, auch bei höheren Konzentrationen aus, wäre

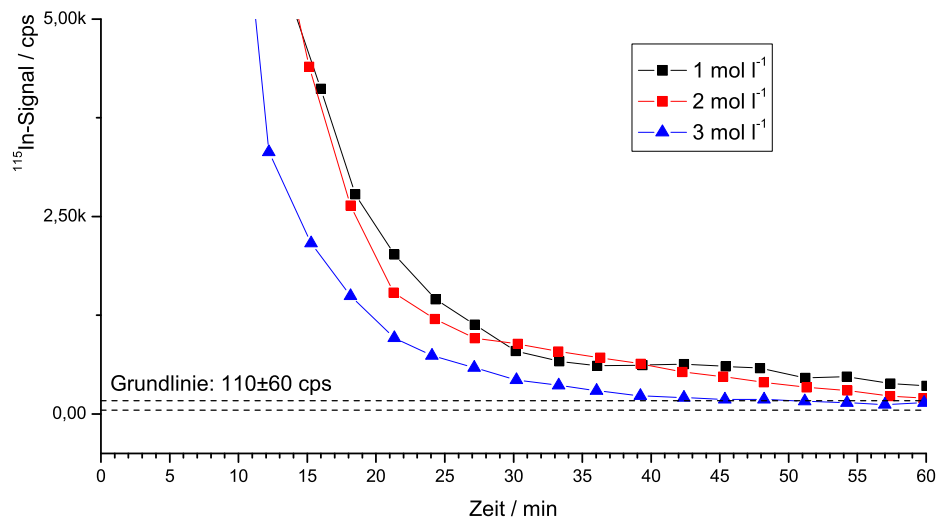


Abbildung 4.51: Auftragung der Signalhöhen gegen die Zeit bei der Verwendung von 1–3 mol l⁻¹ HNO₃ als Regenerationslösung.

ein Konzentration von 4,2 mol l⁻¹ erforderlich, um eine vollständige Regeneration innerhalb von 20 Minuten zu ermöglichen.

Diese Experimente verdeutlichen, dass die bisher verwendete Lösung von 200 mmol l⁻¹ HNO₃ nicht ausreichend war, um das Indium von den Kartuschen zu spülen. Diese Erkenntnis erklärt auch das in Abbildung 4.46 auf Seite 95 beobachtete Verhalten, da bei einer nicht vollständigen Regeneration und weiterer Beladung durch Indium, ab einem gewissen Punkt kein Indium mehr retardiert werden kann. Dieses deutet sich durch einen großen Injektionspeak in den Chromatogrammen an.

Regeneration mit Oxalsäure

Die Regeneration des Suppressors mit Säure geschieht aufgrund der Verdrängung des Metalls durch Protonen von den Austauscherplätzen. Um diesen Effekt zu beschleunigen, kann es sinnvoll sein, das freierwerdende Metall in Form eines Komplexes zu binden, um dessen Affinität zu den Austauscherplätzen zu verringern.

Die Verwendung von EDTA wäre an dieser Stelle kontraproduktiv, da somit der Suppressor mit EDTA kontaminiert würde und die Bestimmung dieser im Spurenbereich unmöglich machen würde. Daher wurde der Einsatz von Oxalsäure zur Regeneration untersucht.

Abbildung 4.53 auf der nächsten Seite zeigt die Regeneration des Suppressors bei Verwendung von 0,5 und 1,0 mol l⁻¹ Oxalsäure. Diese Abbildung zeigt zum einen den schnelleren Abfall der Signalintensitäten bei einer höheren Säurekonzentration, jedoch ist die Regeneration in beiden Fällen nach 60 Minuten noch nicht abgeschlossen. Die Verwendung einer höher konzentrierten Lösung ist aufgrund der damit steigenden Viskosität mit weiteren Schwierigkeiten verbunden.

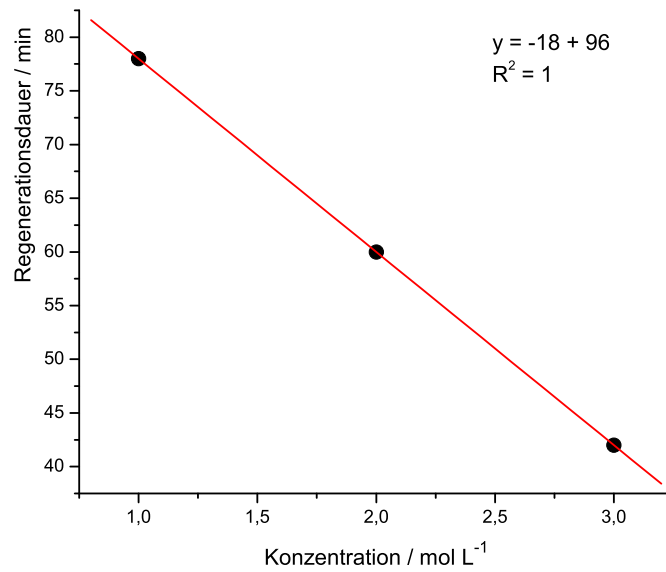


Abbildung 4.52: Auftragung der Säurekonzentrationen gegen die Regenerationsdauer.

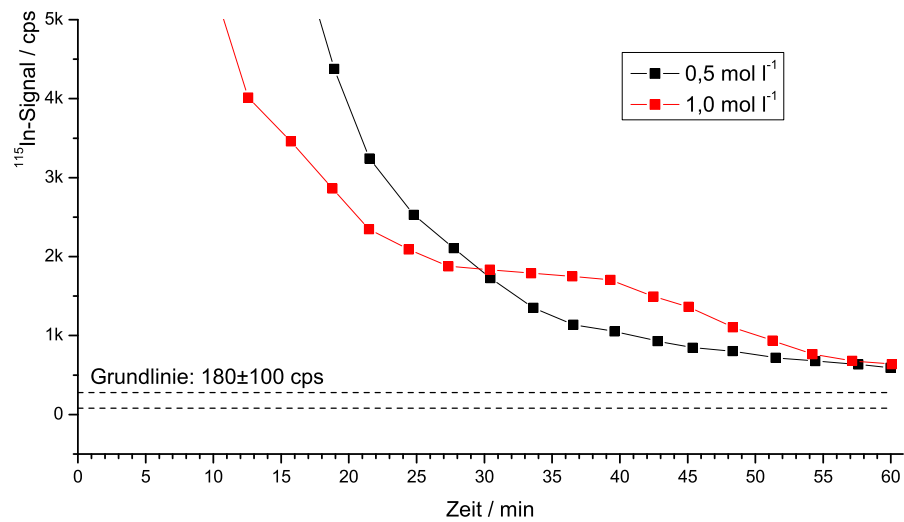


Abbildung 4.53: Auftragung der Signalhöhen gegen die Zeit bei Verwendung von 0,5–1 mol l⁻¹ Oxalsäure als Regenerationslösung.

Wird der pH-Wert der Oxalsäure durch Zugabe einer Base erhöht, liegt die Oxalsäure zu einem größeren Teil deprotoniert vor. Die deprotonierte Oxalsäure kann mit Indium schneller Komplexe bilden und dies könnte zu einer schnelleren Regeneration des Suppressors führen. Daher wurde auch die Regeneration durch eine Oxalsäurelösung, die durch Zugabe von Ammoniak auf pH 4 eingestellt wurde, untersucht. In Abbildung 4.54 sind Regenerationsverläufe für die $0,5 \text{ mol l}^{-1}$ Oxalsäurelösung bei pH 1,4 und pH 4 abgebildet. Ein Unterschied zwischen den beiden Regenerationslösungen kann nicht erkannt werden.

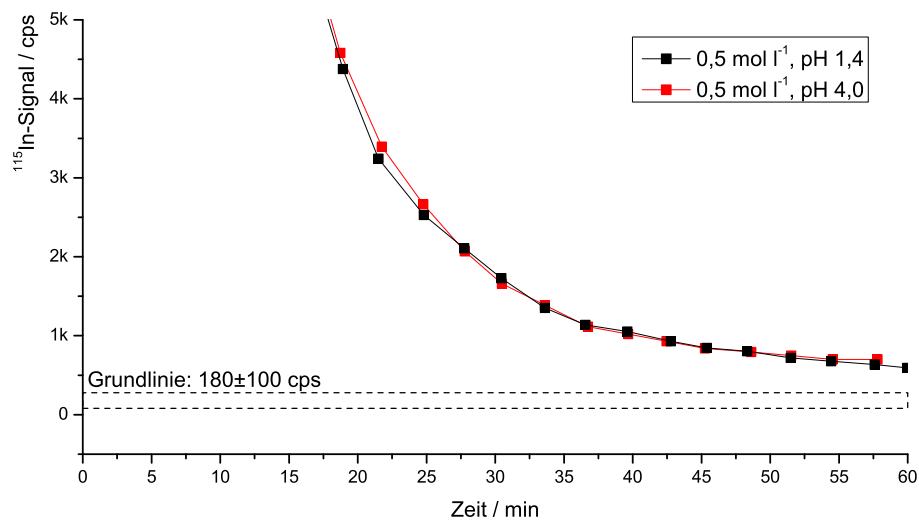


Abbildung 4.54: Auftragung der Signalhöhen gegen die Zeit bei der Verwendung von $0,5 \text{ mol l}^{-1}$ Oxalsäure bei pH 1,4 und 4 als Regenerationslösung.

Die Oxalsäure ermöglicht in den eingesetzten Konzentration auch keine schnellere Regeneration des Suppressors. Auch eine Anhebung des pH-Wertes auf 4, um die Komplexbildung zu beschleunigen, führte nicht zum gewünschten Erfolg.

Zusammenfassung

Bei der genaueren Untersuchung der Regeneration des Suppressors wurde festgestellt, dass zum einen die Durchflussraten der Probe und des Regeneranten aufgrund verschiedener Staudrücke der Kartuschen, zum Teil sehr unterschiedlich waren. Zum anderen wurde festgestellt, dass die bisher verwendete $0,2 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$ Lösung für eine effiziente Regeneration nicht geeignet ist.

Das Problem der unterschiedlichen Flussraten konnte durch eine Anpassung des Pumpensystems behoben werden. Bei der Verwendung einer $3 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$ als Regenerationslösung wurde eine vollständige Regeneration innerhalb von 42 Minuten erreicht. Auch diese Zeit ist jedoch für den Einsatz in Routinemessungen deutlich zu lang. Weiterhin wurden mit Salpetersäure dieser Konzentration wieder Probleme mit den Durchflussraten aufgrund der höheren Viskosität beobachtet.

Daher musste ein Kompromiss aus kurzer und vollständiger Regeneration gefunden werden. In Abbildung 4.55 ist nochmal der Regenerationsverlauf mit verschiedenen konzentrierten HNO_3 Lösungen abgebildet. Jedoch ist diesmal, im Unterschied zu Abbildung 4.51 auf Seite 100 die gesamte y-Achse zu sehen.

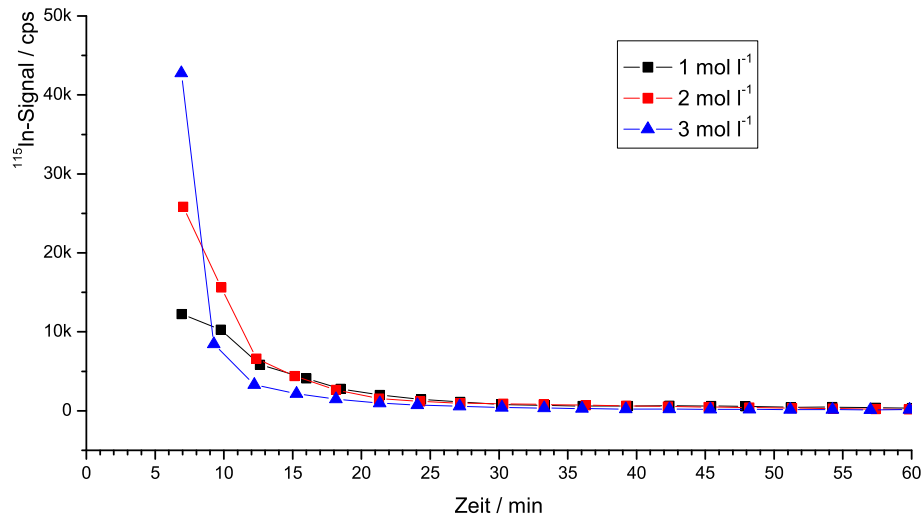


Abbildung 4.55: Auftragung der Signalhöhen gegen die Zeit bei der Verwendung von 1–3 mol l⁻¹ HNO_3 als Regenerationslösung.

Auch nach 30 Minuten ist die Regeneration im Vergleich zu den Intensitäten nach 10 Minuten nahezu abgeschlossen. Daher wurde für alle folgenden Messung eine 2 mol l⁻¹ HNO_3 Regenerationslösung verwendet. Es wurde darauf geachtet, dass die Regeneration nach jeder Messung mindestens 30 Minuten dauert und zusätzlich wurden alle Kartuschen in regelmäßigen Abständen über Nacht gespült und empfindlich auf Veränderungen in den erhaltenen Chromatogrammen geachtet.

4.3.5 Besonderheiten bei der Analyse der NTA

Die Analyse der NTA stößt bei der hier entwickelten Methode auf zwei Probleme. Sowohl mit Eisen(III) als auch mit Indium(III) bildet sie neutrale Komplexe, so dass eine Analyse über die Ionenaustauschchromatographie schwierig ist. In Kapitel 4.2.2 konnte gezeigt werden, dass es durch eine Anpassung des Eluent pH dennoch möglich ist, dem NTA-Komplex eine gewisse Retention zu verleihen. Zu diesem Zeitpunkt war man jedoch auf einen niedrigen pH angewiesen, um eine Retention des überschüssigen Metalls zu verhindern.

Durch die Einführung des Suppressors in die Probenaufgabe im Kapitel 4.3.1 konnten auch wieder Eluenten mit einem pH-Wert, der höher als zwei ist, verwendet werden. Bei der Verwendung des Suppressors wurden jedoch Probleme mit den NTA-Komplexen festgestellt. Diese scheinen nicht

stabil genug zu sein, so dass sie sich zersetzen, während sie den Suppressor durchlaufen. Eine mögliche Ursache hierfür könnten die sehr sauren Bedingungen sein, die im Suppressor herrschen. Dieser wird mit Säure regeneriert, so dass sämtliche Austauscherplätze mit Protonen belegt sind.

In einer Application Note der Fa. Metrohm [110] wird eine IPC-UV/Vis Methode beschrieben, die die Analyse von NTA, EDTA und DTPA in Wasserproben erlaubt. In dieser wird ebenfalls ein Suppressor eingesetzt, um das überschüssige Eisen in einer Nachsäulenderivatisierung zu entfernen. Die Regeneration des Suppressors erfolgt durch eine Schwefelsäure/Oxalsäure/Aceton-Lösung. Gespült wird der Suppressor nach der Regeneration jedoch mit Magnesiumsulfat, anstelle von Reinstwasser. Dadurch werden die Austauscherplätze anstatt durch Protonen durch Magnesium besetzt und damit der pH-Wert angehoben. Dies ermöglicht es auch dem labileren NTA-Komplex den Suppressor zu passieren.

Die Verwendung von Magnesiumsulfat würde größere Mengen an Magnesium in das ICP-MS-System einbringen, wodurch dieses mit dem Metall stark kontaminiert würde. Daher wurde stattdessen der Einsatz von Ammoniumnitrat als Regenerant oder Spüllösung untersucht. Die Ammoniumionen besetzen ebenfalls die Austauscherplätze und heben somit den pH an. Jedoch verursacht Ammoniumnitrat keine Störungen im ICP-MS.

Ammoniumnitrat als Regenerant

Um zu untersuchen, ob sich Ammoniumnitrat direkt als Regenerant eignet, wurde der selbe Versuchsaufbau wie in Kapitel 4.3.4 auf Seite 96 beschrieben verwendet. In Abbildung 4.56 auf der nächsten Seite sind die Regenerationsverläufe des Suppressors bei Verwendung von $2 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$ und $2 \text{ mol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$ dargestellt. Der pH der Ammoniumnitratlösung wurde zuvor mit Ammoniak auf 7 eingestellt.

Der Abbildung ist zu entnehmen, dass die Regeneration mit Salpetersäure schneller verläuft, als mit Ammoniumnitratlösung. Besonders ab einer Zeit von 40 Minuten stagniert die Regeneration mit Ammoniumnitratlösung nahezu, während die Signale mit Salpetersäure stetig weiter sinken.

Daher scheint die Verwendung von Ammoniumnitrat als Regenerationslösung ungeeignet und es sollte weiterhin Salpetersäure verwendet werden.

Ammoniumnitrat als Spüllösung

Ammoniumnitrat eignet sich nur bedingt als Regenerant für die Suppressorkartuschen, da die Regeneration hiermit noch länger dauert als mit Salpetersäure. Bisher wurden nach der Regeneration der Kartuschen diese mit Reinstwasser gespült. Im Folgenden soll untersucht werden, ob sich Ammoniumnitrat als Spüllösung eignet und so der pH der Kartuschen angepasst werden kann, um die NTA-Komplexe nicht zu zersetzen.

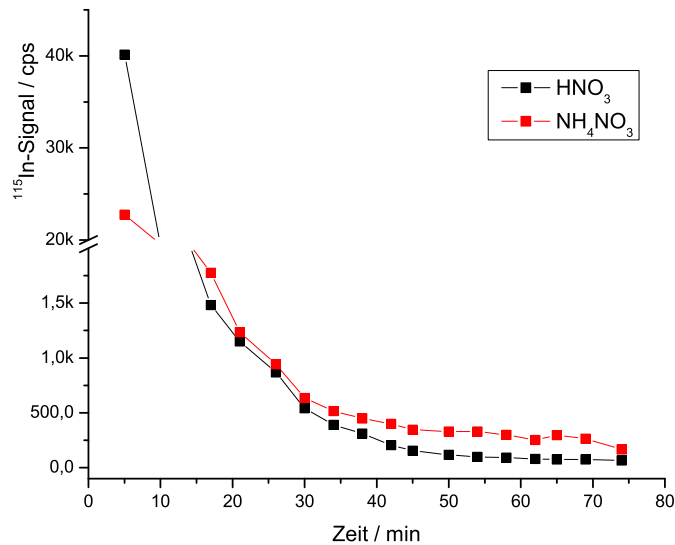


Abbildung 4.56: Auftragung der Signalhöhen gegen die Zeit bei der Verwendung von 2 mol l^{-1} HNO_3 und 2 mol l^{-1} NH_4NO_3 als Regenerationslösung.

Daher wurde der Suppressor mit 2 mol l^{-1} HNO_3 30 Minuten regeneriert und anschließend 30 Minuten mit 50 mmol l^{-1} NH_4NO_3 bei pH 7 gespült. In Abbildung 4.57 auf der nächsten Seite wird ein auf diese Weise aufgenommenes Chromatogramm mit einer Messung verglichen, bei welcher der Suppressor mit Reinstwasser gespült wurde.

Aus diesen Chromatogrammen ist ersichtlich, dass das Spülen des mit Salpetersäure regenerierten Suppressors mit Ammoniumnitrat ausreicht, um es dem NTA-Komplex zu ermöglichen, unzersetzt durch diesen zu gelangen. Bei dem mit Ammoniumnitratlösung gespülten Suppressor ist die Signalintensität um mehr als das zehnfache gestiegen. Jedoch eluiert der NTA-Komplex, wie erwartet, im Totvolumen. Daher ist eine Anpassung des Eluenten erforderlich. Durch die Verwendung des Suppressors ist auch eine Anhebung des Eluenten pH möglich, wodurch eine stärkere Retention des NTA-Komplexes möglich sein sollte.

Die Signalform des NTA-Komplexes weicht von der ideal gaussförmigen Form ab. Es ist zu vermuten, dass es sich hier um zwei verschiedene Spezies handelt, von denen die eine ein etwas früheres und breiteres Signal verursacht und die Zweite ein schmales Signal zum Ende des Ersten. Bildet NTA mit Indium einen 1:1 Komplex aus, so sind die noch freien Koordinationsstellen des Indium noch mit weiteren Liganden zu besetzen. Dieses können, je nach Umgebung z. B. Nitrat-, Hydroxidionen oder auch Wasser sein. Insofern erscheint es durchaus möglich, dass sich hier zwei verschiedene Spezies ausbilden, die eine unterschiedliche Retention auf der stationären Phase erfahren. Um diese These zu bestätigen, wäre es erforderlich, diese Spezies bei unterschiedlichen Eluentkonzentrationen vollständig voneinander zu trennen.

Chromatogramme der drei Komplexbildner NTA, EDTA und DTPA, die mit einem mit Ammoniumnitrat gespülten Suppressor aufgenommen wurden, sind in Abbildung 4.58 auf Seite 107 zu sehen. Hier

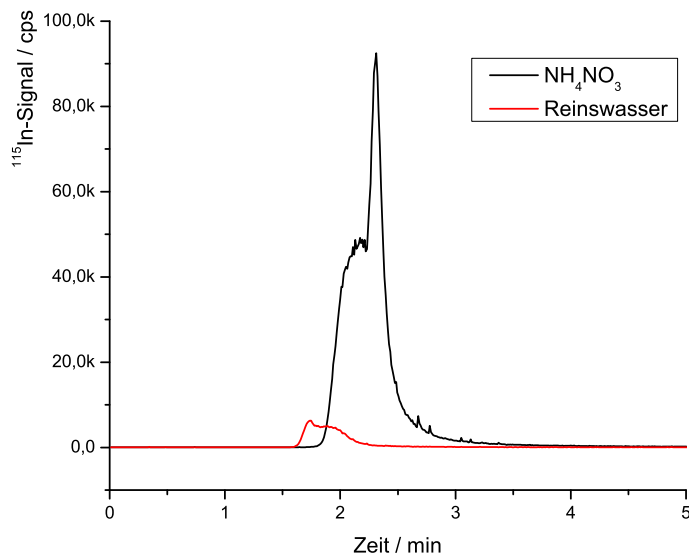


Abbildung 4.57: Chromatogramme von je $10 \mu\text{g l}^{-1}$ NTA mit $1\,000 \mu\text{g l}^{-1}$ Indium. Regeneration des Suppressors mit $2 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$; Spülen des Suppressors mit Reinstwasser und $50 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$, pH 7. (Säule: DV-080429-1A1 (10 + 2 cm), Eluent: $40 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

ist zu beachten, dass unter diesen Bedingungen keine vollständige Trennung von NTA und EDTA erreicht wird.

Variation des Eluenten

Durch das Spülen des mit Salpetersäure regenerierten Suppressors mit Ammoniumnitrat wird die Analyse der NTA auch beim Einsatz des Suppressors möglich. Jedoch eluiert der NTA-Komplex mit dem bisher verwendeten Eluenten bei pH 2 im Totvolumen, so dass im Folgenden die Retentionszeiten der Komplexe bei unterschiedlichen pH-Werten ermittelt wurden.

Es wurden Chromatogramme der vier Komplexbildner NTA, EDTA, DTPA und CDTA bei den pH-Werten 2, 4, 5, 6 und 7 aufgenommen. Diese sind in Abbildung 4.59 auf Seite 108 zu sehen.

Bei pH 2 ist, wie schon weiter oben beschrieben, die Trennung von NTA und EDTA nicht vollständig und der NTA-Peak eluiert direkt im Totvolumen, wodurch keine eindeutige Identifizierung möglich ist.

Durch die Erhöhung des pH auf 4 wird die Retentionszeit der NTA noch nicht beeinflusst, es ist lediglich zu erkennen, dass sowohl DTPA als auch CDTA früher eluieren. Jedoch hat sich die Peakform des NTA-Komplexes verändert. Anstatt der zuvor gezeigten zwei Signale ist jetzt nur noch ein schmales Signal zu erkennen.

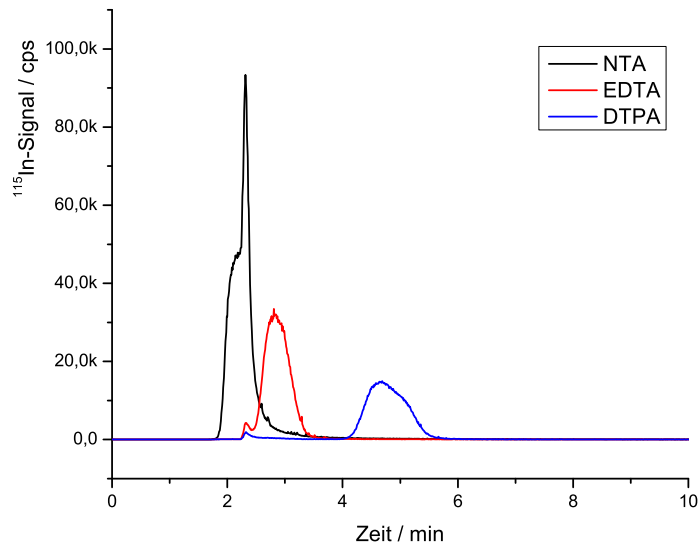


Abbildung 4.58: Chromatogramme von je $10 \mu\text{g l}^{-1}$ NTA, EDTA und DTPA mit $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Indium. Regeneration des Suppressors mit $2 \text{ mol l}^{-1} \text{HNO}_3$; Spülen des Suppressors mit $50 \text{ mmol l}^{-1} \text{NH}_4\text{NO}_3$, pH 7. (Säule: DV-080429-1A1 (10 + 2 cm), Eluent: $40 \text{ mmol l}^{-1} \text{NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

Wird der Eluent auf einen pH von 5 eingestellt, verschiebt sich der NTA-Peak schon deutlich nach hinten und coeluiert mit der EDTA. Der NTA-Peak ist wieder ein schmaler Peak; ein leichtes Tailing ist jedoch zu erkennen, welches auch mit dem DTPA-Peak überlagert. Die Retentionszeiten von CDTA und DTPA haben nocheinmal deutlich abgenommen.

Bei pH 6 ist eine weitere Verschiebung des NTA-Peak zu späteren Retentionszeiten zu erkennen. Dieser eluiert nun zwischen dem DTPA- und CDTA-Peak. Das Tailing des Signals hat jedoch deutlich zugenommen und überlagert nun zum Teil den CDTA-Peak. Die Retentionszeiten der DTPA- und CDTA-Komplexe haben sich nocheinmal verkürzt.

Der NTA-Peak eluiert bei pH 7 deutlich später und sogar nach dem CDTA-Peak. Jedoch ist dieser NTA-Peak über fünf Minuten breit und besitzt demnach eine geringe Höhe, wodurch die Integration, gerade bei geringeren Konzentrationen problematisch ist. Auch der DTPA-Peak eluiert noch früher als bei pH 6 und überlagert dadurch stärker mit dem EDTA-Peak.

Die Retentionszeit des EDTA-Komplexes wird durch eine Variation des Eluenten pH kaum beeinflusst.

Abbildung 4.60 auf Seite 109 erlaubt einen Vergleich der Chromatogramme der NTA, die bei den unterschiedlichen pH-Werten aufgenommen wurden. Diese machen noch einmal die Verschiebung der Retentionszeiten deutlich und zeigen auch die damit einhergehende Veränderung der Peakform.

4.3. VERFEINERUNG DER METHODE

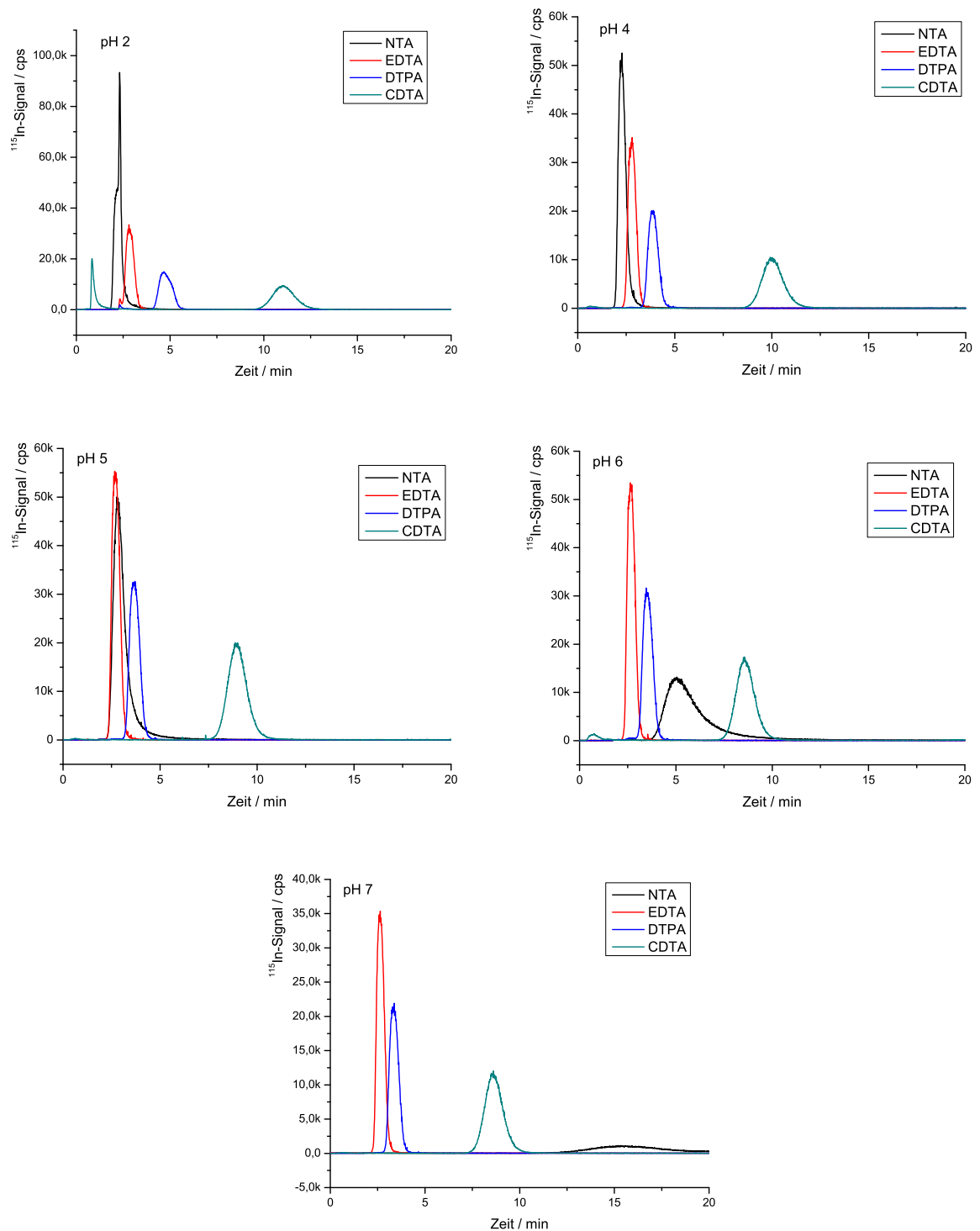


Abbildung 4.59: Chromatogramme von je $10 \mu\text{g l}^{-1}$ NTA, EDTA, DTPA und CDTA mit $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Indium. Regeneration des Suppressors mit $2 \text{ mol l}^{-1} \text{HNO}_3$; Spülen des Suppressors mit $50 \text{ mmol l}^{-1} \text{NH}_4\text{NO}_3$, pH 7. (Säule: DV-080429-1A1 (10 + 2 cm), Eluent: $40 \text{ mmol l}^{-1} \text{NH}_4\text{NO}_3$, pH 2–7, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

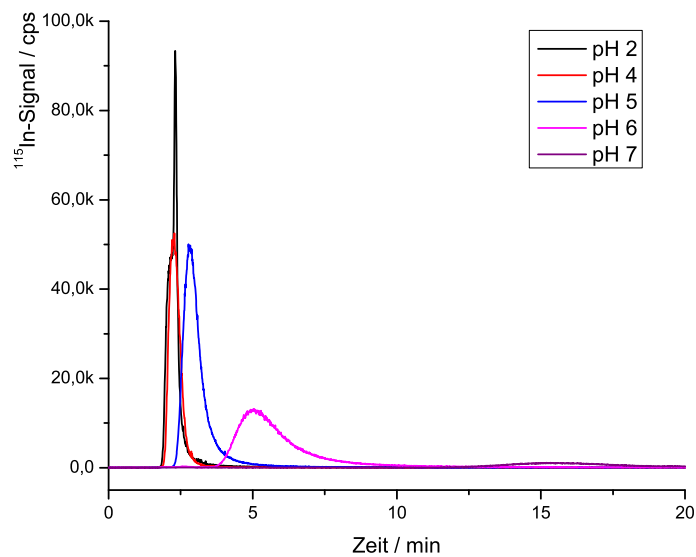


Abbildung 4.60: Chromatogramme von je $10 \mu\text{g l}^{-1}$ NTA mit $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Indium. Regeneration des Suppressors mit $2 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$; Spülen des Suppressors mit $50 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$, pH 7. (Säule: DV-080429-1A1 (10 + 2 cm), Eluent: $40 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$, pH 2–7, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

Zusammenfassung

In Abbildung 4.61 auf der nächsten Seite sind die pH-Werte gegen die Retentionszeiten der vier Komplexbildner aufgetragen. Diese Abbildung zeigt deutlich die Verschiebung der Retentionszeiten von DTPA und CDTA mit steigendem pH-Wert nach vorne, wie auch schon in Kapitel 4.2.4 auf Seite 74 beobachtet wurde. Sehr auffällig ist der Einfluss des pH-Wertes auf die Retentionszeit des NTA-Komplexes. Zum einen ist dieser gegenläufig zu dem der DTPA- und CDTA-Komplexe und zum anderen wesentlich stärker ausgeprägt. Die Verschiebung des NTA-Peaks zu späteren Retentionszeiten war aufgrund der Ergebnisse aus Kapitel 4.2.2 auf Seite 59 so erwartet, jedoch ist der Effekt hier deutlich stärker. Dabei ist zu beachten, dass es sich bei den Experimenten aus Kapitel 4.2.2 um Eisenkomplexe handelte, die auf einer anderen Säule getrennt wurden.

Ziel dieses Experiments war es, die Verschiebung des NTA-Komplexes aus dem Totvolumen zu erreichen, um eine störungsfreie Analyse dieses Komplexes zu ermöglichen. Bei der ersten Betrachtung von Abbildung 4.61 scheint dieses Ziel auch erreicht worden zu sein. Nach dieser Abbildung sollte eine Trennung der vier Komplexe bei pH 6 oder 7 gut möglich sein. Nicht beachtet wird hier jedoch die Signalform dieser Peaks. Wie schon weiter oben beschrieben, deutet sich mit steigendem pH ein stärker werdendes Tailing des NTA-Peaks an, welches mit den Peaks der weiteren Komplexbildner überlappt. Bei pH 7 ist der Peak über 5 Minuten breit und bei geringeren Konzentrationen kaum noch auswertbar. Weiterhin führt eine Überlappung des Peaks mit dem CDTA-Peak aufgrund des Column-Switching zu weiteren Problemen.

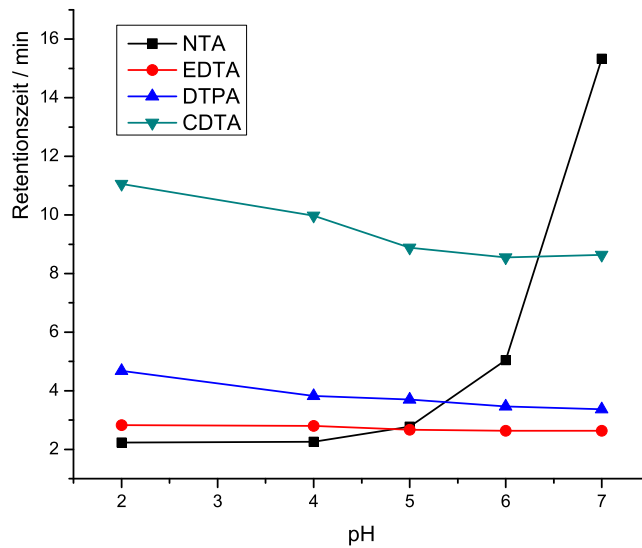


Abbildung 4.61: Chromatogramme von je $10 \mu\text{g l}^{-1}$ NTA mit $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Indium. Regeneration des Suppressors mit $2 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$; Spülen des Suppressors mit $55 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$, pH 7. (Säule: DV-080429-1A1 (10+2 cm), Eluent: $40 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

Besonders auffällig ist auch die sehr empfindliche Änderung der Retentionszeit mit dem pH-Wert im Bereich von pH 5–7. Um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, ist hier eine exakte Anpassung des pH-Wertes erforderlich. Jedoch kann bedingt durch das große Probenaufgabevolumen von $240 \mu\text{l}$ auch eine Änderung des Proben-pH zu einer Verschiebung der Retentionszeiten führen. Daher ist auch eine genaue Anpassung des Proben-pH notwendig.

Aufgrund der zwei überlagerten Peaks, die für den NTA-Komplex bei pH 2 erhalten wurden, entstand die Vermutung, dass es sich hier um zwei unterschiedliche Spezies handelt. Bei höheren pH-Werten werden die Signale breiter und es entsteht ein Tailing der Signale. Auch hier könnte es sich um zwei unterschiedliche Spezies handeln, die sich auf der Säule ineinander umwandeln und so verbreiterte Signale verursachen.

Um diese These zu bestätigen, wären weitere Experimente mit den NTA-Komplexen erforderlich, bei denen durch eine Eluentenvariation die effektive Ladung der einzelnen Spezies ermittelt werden müsste. Weiterhin könnte durch das Kühlen des Systems eine Umwandlung der Spezies während der Trennung unterbunden oder zumindest verlangsamt werden, um eine vollständige Auftrennung der einzelnen Spezies zu ermöglichen. Durch das gezielte Ansetzen von Modelllösungen bei unterschiedlichen pH-Werten und unterschiedlichen anionischen Liganden und deren Vergleich mit den hier eingesetzten Lösungen könnten Informationen über die Natur der vorliegenden Spezies ermittelt werden.

Die Integration von NTA in diese Methode ist mit vielen Problemen verbunden. Durch das Spülen des Suppressors mit Ammoniumnitrat gelingt es, den NTA-Komplex unbeschadet durch den Suppressor

zu befördern, jedoch gelingt es nicht, diesen Komplex als schmalen Peak von den weiteren Komplexen zu trennen. Es sind hier noch Fragen zur Struktur der getrennten NTA-Komplexe offen, die einer weiteren Klärung bedürfen. Durch den Einsatz eines zweiwertigen Metalls würde sichergestellt, dass es sich um einen anionischen Komplex handelt. Bezüglich der Analyse von NTA und weiteren Komplexbildnern, die nur über drei Säuregruppen verfügen, wurden in der Arbeit von D. Nette [45] erste Versuche unternommen.

Aufgrund der zu erwartenden Probleme bei der Bestimmung von NTA, wurde diese bei der Analyse von Realproben und bei der Ermittlung der Nachweisgrenzen ausgeklammert.

5 Methodenvalidierung

Nach erfolgter Methodenentwicklung ist es erforderlich, diese an Realproben zu testen. Alle bisherigen Chromatogramme wurden mit Reinstwasser aufgenommen, welches mit den Komplexbildnern versetzt wurde. Die Methode soll jedoch zur Analyse von Trinkwasser, Grundwasser, Oberflächenwasser oder sogar Abwasser eingesetzt werden. Diese Proben unterscheiden sich maßgeblich von Reinstwasser, durch die darin gelösten Salze. Daher muss untersucht werden, ob auch eine Analyse in diesen Probenmatrices möglich ist.

Für diese Untersuchungen wurden freundlicherweise sowohl von Dr. O. Happel, Technologiezentrum Wasser (TZW) in Karlsruhe, als auch von Dr. K.-H. Bauer, Hessenwasser in Groß-Gerau Proben zur Verfügung gestellt, deren Komplexbildnergehalt zuvor mit der GC-Methode bestimmt wurde. Durch diese Proben ist es möglich, die neue Methode mit der bestehenden zertifizierten Methode zu vergleichen.

Die Wiederholpräzision der Methode kann durch wiederholte Messung eines Standards beurteilt werden. Weiterhin sollen aufgrund von Kalibrationsdaten die Nachweisgrenzen dieser Methode ermittelt werden.

EDTA wird in vielen Oberflächengewässern gefunden und ist auch als Nahrungsmittelzusatz zugelassen. Daher ist es von Interesse, ob sich EDTA durch die Nahrungs- und Wasseraufnahme auch in unserem Blut wiederfinden lässt. Demnach soll auch die Analyse in Blutproben untersucht werden.

5.1 Statistische Kenngrößen der Methode

Nachweisgrenzen

Eine wichtige Kenngröße für analytische Verfahren ist die minimale Konzentration, die mit dieser Methode mit einer gewissen statistischen Sicherheit nachgewiesen werden kann. Diese Konzentration ist auch als Nachweisgrenze bekannt. In Kapitel 2.4 auf Seite 30 wurden verschiedene Verfahren beschrieben, diese Nachweisgrenze zu bestimmen. Die Schnellschätzformel wurde schon in Kapitel 4.3.3 auf Seite 91 verwendet, um die Nachweisgrenze nach der Umstellung auf Indium als Komplexbildner abzuschätzen. Diese wurde für EDTA, DTPA und CDTA auf 2 ng l^{-1} geschätzt.

Eine zweite wichtige Methode zur Bestimmung der Nachweisgrenze ist die Kalibriergeradenmethode. Hierfür wurden fünf Kalibrierstandards im Konzentrationsbereich von $0 - 50 \text{ ng l}^{-1}$ gemessen. Die daraus erhaltenen Kalibriergeraden sind in Abbildung 5.1 auf der nächsten Seite zu sehen.

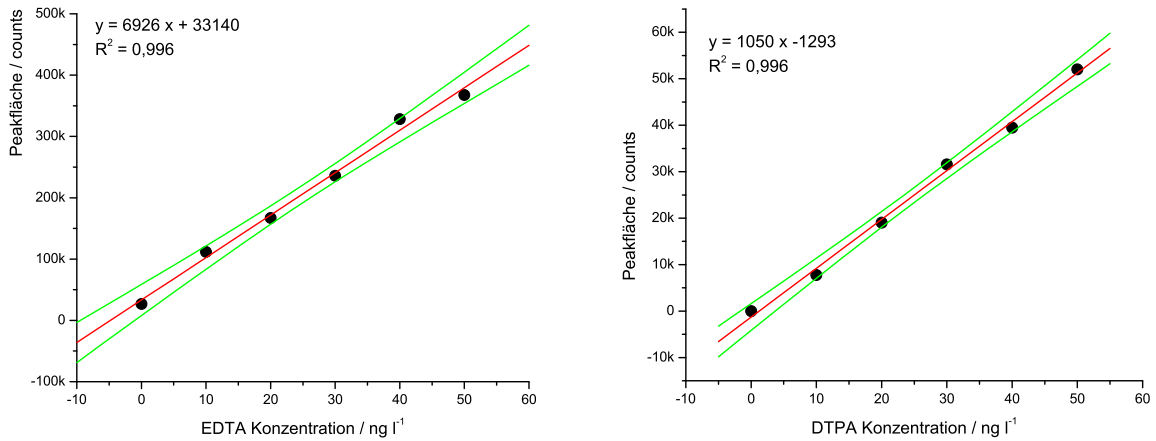


Abbildung 5.1: Kalibration von EDTA und DTPA mit den eingezeichneten Vertrauensbereichen bei einem Signifikanzniveau von 95% zur Ermittlung der Nachweisgrenzen (Komplekern: In^{3+}).

Aus diesen Kalibrationsdaten ergeben sich Nachweisgrenzen von $4,8 \text{ ng l}^{-1}$ für EDTA und $3,6 \text{ ng l}^{-1}$ für DTPA. Die weiteren Informationen, die aus der Regressionsgeraden erhalten wurden, sind in Tabelle 5.1 zusammengefasst.

Tabelle 5.1: Kalibrationsdaten von EDTA und DTPA.

Wert	EDTA	DTPA
Steigung / counts l ng^{-1}	6926	1051
unterer Vertrauensbereich	6087	956
oberer Vertrauensbereich	7764	1146
Achsenabschnitt /counts	33140	-1293
unterer Vertrauensbereich	7744	-4172
oberer Vertrauensbereich	58536	1586
Verfahrensstandardabweichung / ng l^{-1}	1,8	1,4

Wiederholpräzision

Um die Wiederholpräzision zu bestimmen, wurde ein Standard, der je $1 \mu\text{g l}^{-1}$ EDTA, DTPA und CDTA enthielt, 10 mal hintereinander gemessen und für jedes erhaltenes Chromatogramm die Peakflächen und Retentionszeiten der drei Analyten bestimmt. Die Mittelwerte und Standardabweichungen dieser Wiederholmessungen sind in Tabelle 5.2 auf der nächsten Seite zu finden.

Für die Peakflächen werden relative Standardabweichungen von 1,9% bis 2,6% erreicht und für die Retentionszeiten von 1,1% bis 4,7%. Bis auf die Abweichung der Retentionszeit für die CDTA sind alle Werte im akzeptablen Bereich. Bei der CDTA, und in abgeschwächter Form auch für die DTPA, konnte ein eindeutiger Trend im Laufe der Wiederholmessungen zu kürzeren Retentionszeiten festgestellt werden. Eine mögliche Erklärung für diesen Effekt ist die Temperaturabhängigkeit der Re-

Tabelle 5.2: Wiederholmessungen.

Wert	EDTA	DTPA	CDTA
<i>Peakfläche</i>			
Mittelwert / counts	1 391 330	867 088	1 092 350
Standardabweichung / counts	36 526	16 572	27 197
RSD %	2,6	1,9	2,4
<i>Retentionszeit</i>			
Mittelwert / counts	2,76	4,56	10,24
Standardabweichung / counts	0,03	0,09	0,48
RSD %	1,1	2,0	4,7

tentionszeiten. Diese Messungen wurden an sehr kalten und sonnigen Tagen über mehrere Stunden verteilt aufgenommen. So ist zu vermuten, dass morgens das gesamte System kälter war, als mittags nach direkter Sonneneinstrahlung. Die für die Quantifizierung erforderliche Peakfläche ist jedoch von diesem Effekt nicht betroffen.

5.2 Analyse von Realproben

5.2.1 Beschreibung der verwendeten Realproben

Für die Untersuchung der Realproben wurde zum einen Leitungswasser verwendet, welches mit den Komplexbildnern versetzt wurde. Zum anderen wurden die Proben des TZW und von Hessenwasser analysiert. Vom TZW wurden fünf Proben zur Verfügung gestellt, die im Folgenden mit H1 – H5 bezeichnet werden. Von Hessenwasser stammte ein größerer Probensatz, der aus 57 Proben bestand und im Folgenden mit P1 – P57 bezeichnet wird.

Die Tabelle 5.3 gibt eine Übersicht über die Wasserproben. Als Art der Probe wird unterschieden in Flusswasser, Rohwasser, Trinkwasser oder sonstige Wasserprobe. Zusätzlich sind hier die Ergebnisse für NTA, EDTA, DTPA und CDTA der jeweiligen externen Labore zu sehen.

Tabelle 5.3: Liste der Referenzproben.

Probe	Art	Konzentration / $\mu\text{g l}^{-1}$			
		NTA	EDTA	DTPA	CDTA
H1	Rohwasser	–	3,3	–	–
H2	Flusswasser	–	3,9	<1,0	–
H3	Flusswasser	1,1	3,2	1,4	–
H4	Flusswasser	0,8	2,6	1,5	–
H5	Trinkwasser	–	0,5	<1,0	–
P1	Sonstiges	<1,5	3,9	<1,5	<2
P2	Rohwasser	<1,5	4,7	1,8	<2

Tabelle 5.3: Liste der Referenzproben.

Probe	Art	Konzentration / $\mu\text{g l}^{-1}$			
		NTA	EDTA	DTPA	CDTA
P3	Sonstiges	<1,5	<2	<1,5	<2
P4	Rohwasser	<1,5	3,2	<1,5	<2
P5	Sonstiges	<1,5	<2	<1,5	<2
P6	Rohwasser	<1,5	–	<1,5	<2
P7	Rohwasser	<1,5	2,5	<1,5	<2
P8	Rohwasser	<1,5	2,1	<1,5	<2
P9	Rohwasser	<1,5	10,6	<1,5	<2
P10	Rohwasser	<1,5	7,9	<1,5	<2
P11	Sonstiges	<1,5	<2	<1,5	<2
P12	Sonstiges	<1,5	<2	<1,5	<2
P13	Sonstiges	3,7	5,0	<1,5	<2
P14	Sonstiges	<1,5	17,4	<1,5	<2
P15	Sonstiges	<1,5	13,3	1,7	<2
P16	Sonstiges	<1,5	<2	<1,5	<2
P17	Sonstiges	<1,5	<2	<1,5	<2
P18	Sonstiges	<1,5	<2	<1,5	<2
P19	Rohwasser	1,5	5,8	3,3	<2
P20	Sonstiges	<1,5	3,1	<1,5	<2
P21	Sonstiges	<1,5	2,0	<1,5	<2
P22	Sonstiges	<1,5	<2	<1,5	<2
P23	Flusswasser	<1,5	4,9	11,8	<2
P24	Flusswasser	<1,5	5,2	12,7	<2
P25	Flusswasser	<1,5	5,2	11,3	<2
P26	Flusswasser	<1,5	7,0	10,0	<2
P27	Flusswasser	<1,5	6,9	9,1	<2
P28	Rohwasser	<1,5	<2	<1,5	<2
P29	Trinkwasser	<1,5	<2	<1,5	<2
P30	Rohwasser	<1,5	3,4	2,0	<2
P31	Sonstiges	<1,5	2,0	<1,5	<2
P32	Sonstiges	<1,5	<2	<1,5	<2
P33	Sonstiges	<1,5	<2	<1,5	<2
P34	Sonstiges	<1,5	<2	<1,5	<2
P35	Rohwasser	<1,5	3,2	1,7	<2
P36	Sonstiges	<1,5	<2	<1,5	<2
P37	Trinkwasser	<1,5	<2	<1,5	<2

Tabelle 5.3: Liste der Referenzproben.

Probe	Art	Konzentration / $\mu\text{g l}^{-1}$			
		NTA	EDTA	DTPA	CDTA
P38	Sonstiges	<1,5	4,3	2,6	<2
P39	Sonstiges	<1,5	2,6	<1,5	<2
P40	Rohwasser	<1,5	6,8	3,5	<2
P41	Sonstiges	<1,5	5,5	<1,5	<2
P42	Rohwasser	<1,5	2,5	<1,5	<2
P43	Trinkwasser	<1,5	2,8	<1,5	<2
P44	Rohwasser	<1,5	<2	<1,5	<2
P45	Sonstiges	<1,5	<2	<1,5	<2
P46	Rohwasser	<1,5	7,2	19,0	<2
P47	Trinkwasser	<1,5	8,7	10,3	<2
P48	Sonstiges	<1,5	<2	<1,5	<2
P49	Sonstiges	<1,5	2,9	<1,5	<2
P50	Rohwasser	<1,5	6,9	5,1	<2
P51	Sonstiges	<1,5	2,8	<1,5	<2
P52	Trinkwasser	<1,5	4,0	<1,5	<2
P53	Rohwasser	<1,5	6,6	<1,5	<2
P54	Rohwasser	<1,5	6,4	<1,5	<2
P55	Trinkwasser	<1,5	3,8	<1,5	<2
P56	Rohwasser	<1,5	2,3	<1,5	<2
P57	Trinkwasser	<1,5	2,3	<1,5	<2

Bei der Betrachtung dieser Daten fällt auf, dass die CDTA-Konzentration bei allen Proben unterhalb der Nachweisgrenze lag. Dies ist durch die im Vergleich zu den anderen Komplexbildnern relativ geringe Verbreitung begründet. Bei NTA ergibt sich ein ähnliches Bild; hier konnte nur in vier Proben der Komplexbildner nachgewiesen werden. NTA wird jedoch ähnlich häufig eingesetzt, wie auch EDTA und sollte demnach auch in ähnlichen Konzentrationen vorliegen. Hier macht sich vermutlich die leichtere biologische Abbaubarkeit des Komplexbildners bemerkbar. EDTA ist in einem Großteil der Proben tatsächlich zu finden und liegt in einem Konzentrationsbereich von $2 - 18 \mu\text{g l}^{-1}$ vor. DTPA ist seltener zu finden, konnte aber dennoch in nahezu jeder dritten Probe in einem Konzentrationsbereich von $1,5 - 20 \mu\text{g l}^{-1}$ gefunden werden.

Die Analyse dieser Proben wurde von den jeweiligen externen Instituten gemäß DIN EN ISO 16588 [17] durchgeführt. Für die Proben H1 – H5 wurde ein NP-Detektor und für die Proben P1 – P57 ein MS-Detektor verwendet.

5.2.2 Analyse von Leitungswasser

In einem ersten Experiment wurden Chromatogramme von einem Mix aus je $1 \mu\text{g l}^{-1}$ EDTA, DTPA und CDTA aufgenommen, von denen die eine Lösung in Reinstwasser und die andere in Leitungswasser angesetzt wurde. Etwaige Störungen durch die im Leitungswasser gelösten Salze und Metalle sollten sich in diesem Experiment durch eine Signalreduktion oder einer Vergrößerung der Signale bemerkbar machen. Die Chromatogramme dieser beiden Lösungen sind in Abbildung 5.2 zu sehen.

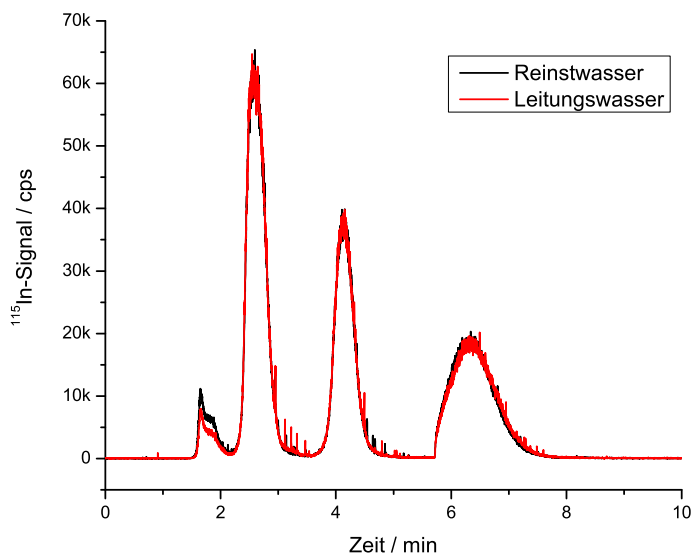


Abbildung 5.2: Chromatogramme von je $1 \mu\text{g l}^{-1}$ EDTA, DTPA und CDTA in Reinstwasser und Leitungswasser. (Metall: $1\,000 \mu\text{g l}^{-1}$ Indium, Säule: DV-080429-1A1 (10 + 2 cm), Eluent: $55 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

Diese beiden Chromatogramme sehen annähernd identisch aus, daher kann davon ausgegangen werden, dass die Leitungswassermatrix die Analyse der drei Komplexbildner nicht beeinflusst.

5.2.3 Vorversuche an den Realproben

In einer ersten Messreihe wurden die Proben H1 – H5 auf den EDTA-, DTPA- und CDTA-Gehalt untersucht. Zuvor wurde jedoch die Probe H1 gemessen und anschließend dieselbe Probe, die mit je $1 \mu\text{g l}^{-1}$ der Komplexbildner versehen wurde. Ein Vergleich dieser beiden Chromatogramme ist in Abbildung 5.3 auf der nächsten Seite zu sehen.

In diesen Chromatogrammen ist ein großes Signal im Totvolumen zu erkennen, das durch in der Probe vorhandenes NTA oder andere komplexierende Substanzen hervorgerufen worden sein kann. Der Peak der EDTA ist in beiden Chromatogrammen deutlich zu erkennen, in der gespikten Probe ist dieser auch wie erwartet größer. DTPA und CDTA sind jeweils nur in der gespikten Proben zu finden.

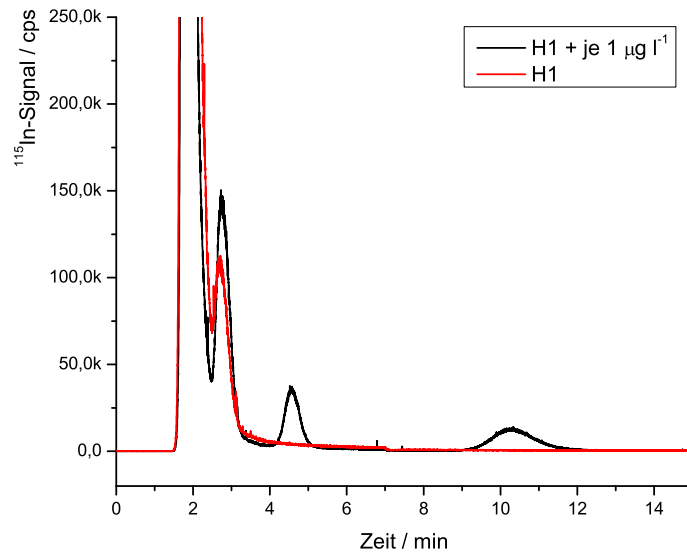


Abbildung 5.3: Chromatogramme der Probe H1 und der Probe H1 mit je $1 \mu\text{g l}^{-1}$ EDTA, DTPA und CDTA versetzt. (Metall: $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Indium, Säule: DV-080429-1A1 (10 + 2 cm), Eluent: $55 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

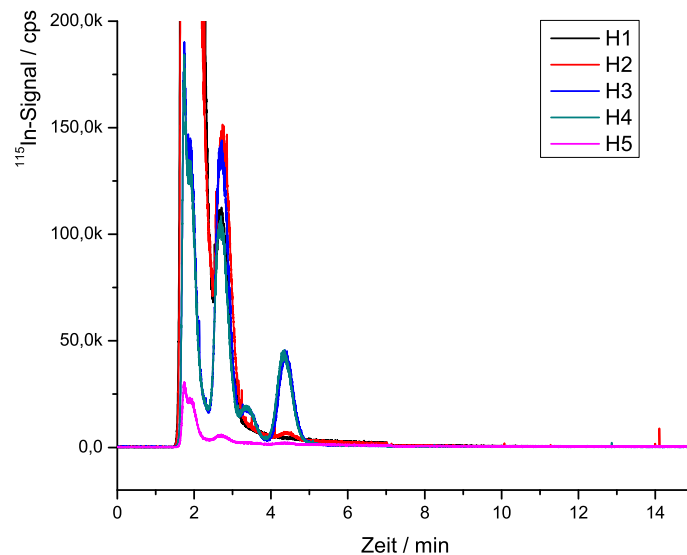


Abbildung 5.4: Chromatogramme der Probe H1 – H5. (Metall: $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Indium, Säule: DV-080429-1A1 (10 + 2 cm), Eluent: $55 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

Die Chromatogramme der weiteren Proben sind in Abbildung 5.4 auf der vorherigen Seite zu finden. In diesen fällt auf, dass die verschiedenen Proben unterschiedlich große Signale im Totvolumen erzeugen. Die Ursache hierfür sind wahrscheinlich unterschiedliche Konzentrationen an komplexierenden Substanzen, die neutrale oder positiv geladene Komplexe mit Indium bilden. Sehr gut zu erkennen sind die verschiedenen Konzentrationen an EDTA und DTPA, die bei einem ersten Vergleich mit denen aus Tabelle 5.3 korrelieren.

Zwischen den Peaks von EDTA und DTPA ist in den Proben H3 und H4 ein weiterer kleiner Peak zu erkennen. Hier ist zu vermuten, dass es sich um einen weiteren Komplexbildner handelt, der jedoch nicht näher identifiziert werden konnte. Bei den beiden Proben H3 und H4 handelt es sich um Flusswasser, wodurch viele Substanzen in Frage kommen.

CDTA konnte auch mit dieser empfindlichen Methode in keiner Probe nachgewiesen werden. Dies ist durch die Vergrößerung des relevanten Bereichs der Chromatogramme in Abbildung 5.5 verdeutlicht. Zum Vergleich wurde der $1 \mu\text{g l}^{-1}$ Standard mit in diese Abbildung aufgenommen.

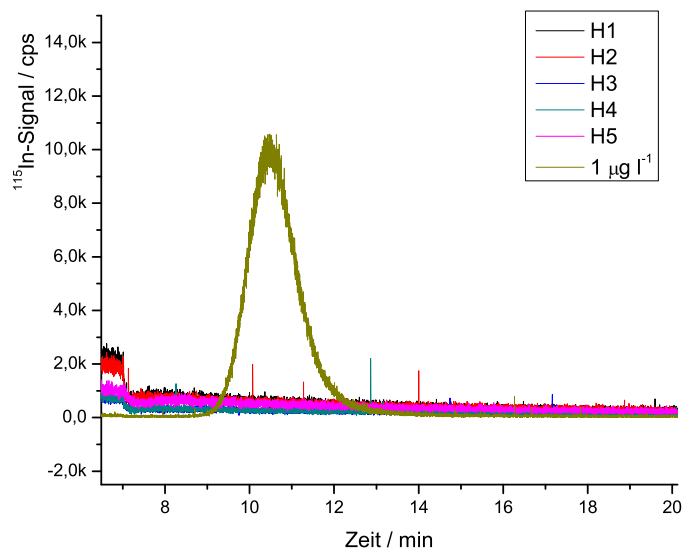


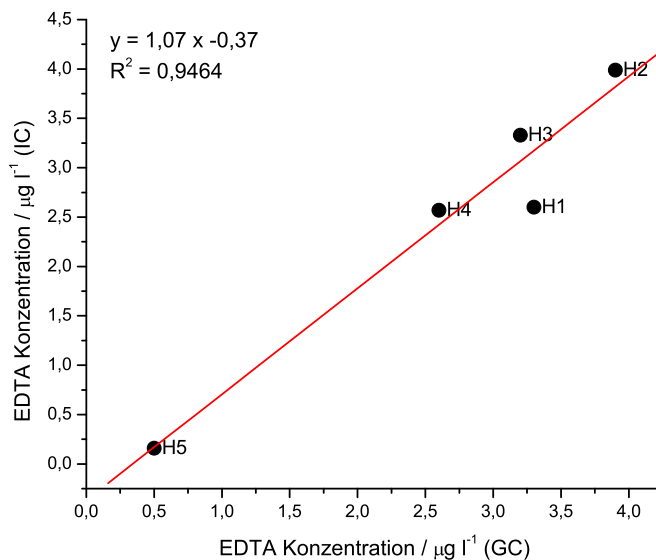
Abbildung 5.5: Vergrößerung der Chromatogramme von Probe H1 – H5 und einem $1 \mu\text{g l}^{-1}$ Standard. (Metall: $1\,000 \mu\text{g l}^{-1}$ Indium, Säule: DV-080429-1A1 (10 + 2 cm), Eluent: $55 \text{ mmol l}^{-1} \text{NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

In Tabelle 5.4 auf der nächsten Seite sind die mit dieser Methode gemessenen Konzentrationen von EDTA und DTPA mit denen aus der Referenzmethode gegenübergestellt. Die gemessenen Konzentrationen für EDTA stimmen zum Teil sehr gut mit denen aus der Referenzmethode überein. Für die DTPA Konzentration kann hier keine verlässliche Aussage gemacht werden, da dieser Komplexbildner in nur zwei der fünf Proben gefunden wurde.

Die EDTA-Konzentrationen, die mit den beiden Methoden bestimmt wurden, sind in Abbildung 5.6 auf der nächsten Seite gegeneinander aufgetragen. Hier ist eine sehr gute Korrelation dieser Messwerte zu erkennen.

Tabelle 5.4: Konzentration der EDTA und DTPA in den Proben H1 – H5 in $\mu\text{g l}^{-1}$.

Probe	EDTA		DTPA	
	IC	GC	IC	GC
H1	2,6	3,3	0	–
H2	4,0	3,9	0	<1
H3	3,3	3,2	0,7	1,4
H4	2,6	2,6	0,7	1,5
H5	0,2	0,5	0	<1

**Abbildung 5.6:** Auftragung der ermittelten EDTA-Konzentrationen aus dem externen Labor gegen die mit der IC-ICP-MS Methode ermittelten Werten (Komplekxkern: In^{3+}).

In einer zweiten Messreihe wurden die Proben P1 – P15 gemessen. Diese wurden unter denselben Bedingungen gemessen, wie die Proben H1 – H5, jedoch sind bei diesen Proben die Abweichungen wesentlich größer. Zum Teil wurde nur ein Zehntel der Konzentration gefunden, die vom externen Labor gemessen wurde. Die Ergebnisse dieser Messreihe sind in Tabelle 5.5 zu finden.

Tabelle 5.5: Konzentration der EDTA und DTPA in den Proben P1 – P15 in $\mu\text{g l}^{-1}$.

Probe	EDTA		DTPA	
	IC	GC	IC	GC
P1	2,3	3,9	0,1	<1,5
P2	2,6	4,7	1,1	1,8
P3	0,8	<2	0	<1,5
P4	3,1	3,2	0,7	<1,5
P5	0,4	<2	0	<1,5
P6	0,3	–	0	–
P7	0,4	2,5	0	<1,5
P8	0,4	2,1	0	<1,5
P9	1,5	10,6	0,1	<1,5
P10	1,2	7,9	0,1	<1,5
P11	0,6	<2	0	<1,5
P12	0,2	<2	0	<1,5
P13	0,3	5,0	0	<1,5
P14	12,5	17,4	0,8	<1,5
P15	7,6	13,3	1,2	1,7

In Abbildung 5.7 auf der nächsten Seite sind wieder die Messwerte für die EDTA gegeneinander aufgetragen. Hier werden die zum Teil deutlichen Abweichungen sichtbar. Es ist vor allem auffällig, dass für alle Proben ein geringerer Wert gefunden wurde.

Da diese Abweichungen deutlich größer sind, als in der vorherigen Messreihe, wurde nach den Ursachen für diese Abweichungen gesucht.

5.2.4 Optimierung der Methode

Bei den Proben P1 – P15 wurden mit der IC-ICP-MS Methode deutlich niedrigere Konzentrationen für EDTA gefunden, als das externe Labor gemessen hat. Daher wurde nach den Ursachen für diesen Minderbefund gesucht. Um die Komplexbildner nachzuweisen, ist es erforderlich, dass diese nach der Probenvorbereitung als Indiumkomplexe vorliegen. Jede Probe wird mit $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Indium versehen, um dies zu gewährleisten. Sind jedoch andere Metalle in der Probe enthalten, die stabile Komplexe mit diesen Komplexbildnern bilden, kann dieses zu Störungen führen.

Trinkwasser kann in größeren Mengen Eisen enthalten, welches wie aus Tabelle 2.7 auf Seite 40 ersichtlich ist, ähnlich stabile Komplexe bildet wie Indium. Demnach ist es durchaus möglich, dass eine hohe Eisenkonzentration zu einem Minderbefund der Komplexbildner führt, da diese als Eisen- und nicht als Indiumkomplexe vorliegen.

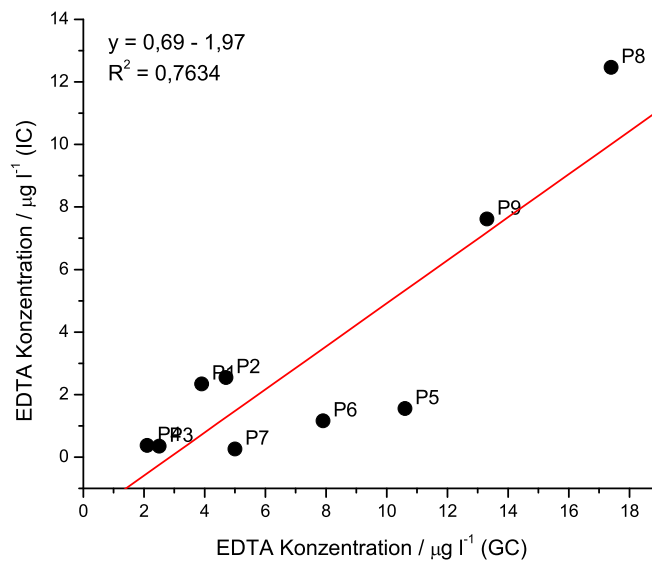


Abbildung 5.7: Auftragung der ermittelten EDTA-Konzentrationen aus dem Referenzlabor gegen die mit der IC-ICP-MS Methode ermittelten Werten. (Komplekxkern: In³⁺).

Für die Proben P1 – P15 wurden die Eisenkonzentration mit dem ICP-MS bestimmt und in Abbildung 5.8 auf der nächsten Seite gegen die Wiederfindungsrate der EDTA in den jeweiligen Proben aufgetragen.

In dieser Abbildung ist ein Zusammenhang zwischen der Wiederfindungsrate und der Eisenkonzentration zu vermuten. Um diese Korrelation zu prüfen, wurde nach Gleichung 2.22 auf Seite 32 ein t-Test des Korrelationskoeffizienten durchgeführt:

$$t_{(n=10,r=-0,75904)} = 3,298$$

$$t_{(n=10,P=95\%)} = 2,282$$

$$t_{(n=10,r=-0,75904)} > t_{(n=10,\alpha=0,05)}$$

Da die Prüfgröße größer ist, als der dazugehörige t-Wert, ist die Korrelation dieser Datenpaare statistisch signifikant.

Nach den vorliegen Daten scheint es, als sei die hohe Eisenkonzentration für den Minderbefund in den Realproben verantwortlich. Für die Behebung dieser Ursache stehen verschiedene Lösungsansätze zur Verfügung.

Matrixreduktion durch Verdünnung

Durch ein Verdünnen der Probe kann die Eisenkonzentration sehr schnell und unkompliziert reduziert werden. Jedoch geht dies natürlich auch mit einer Verringerung der Empfindlichkeit der Methode

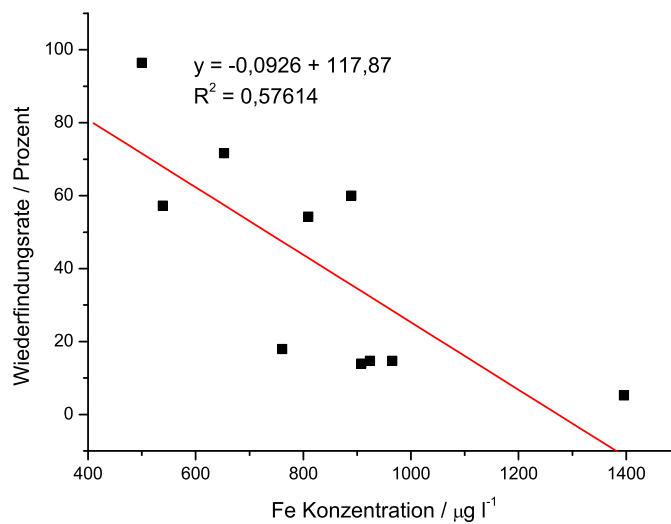


Abbildung 5.8: Auftragung der Wiederfindungsrate der EDTA bezogen auf die Ergebnisse des Referenzlabors gegen die Eisenkonzentrationen der Proben.

Tabelle 5.6: Konzentration der EDTA in den Proben P9 und P15 in $\mu\text{g l}^{-1}$.

Probe	EDTA		
	GC	IC _{unverd.}	IC _{verd.}
P9	10,6	1,6	9,1
P15	13,3	7,6	12,4

einher. Für die Proben P9 und P15 wurde nach einer 1:10 Verdünnung erneut die EDTA Konzentration bestimmt. Die Ergebnisse sind zusammen mit denen aus der Referenzmethode und den Messungen ohne Verdünnung in Tabelle 5.6 auf der vorherigen Seite zu sehen.

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, dass durch die Verdünnung der Probe die Abweichung erheblich verringert werden konnte. Besonders auffällig ist die Abweichung bei Probe 9: ohne Verdünnung weicht der ermittelte Wert noch um 85% vom Referenzwert ab; nach Verdünnung beträgt diese Abweichung nur noch 14%.

Dieser Versuch zeigt, dass die Abweichungen von den Referenzproben tatsächlich matrixbedingt sind, da sie durch eine Verdünnung der Probe und damit der Matrix reduziert werden können. Jedoch muss die niedrigere Abweichung mit einer geringeren Empfindlichkeit bezahlt werden, so dass nach anderen Methoden zur Eliminierung dieser Matrixeinflüsse gesucht werden sollte.

Reduktion von Eisen(III) zu Eisen(II)

Nach Tabelle 2.7 auf Seite 40 sind die Eisen(II)-Komplexe deutlich weniger stabil, als die des Eisen(III). Daher kann die Stabilität der Eisenkomplexe durch Reduktion des Eisens herabgesetzt werden. Tabelle 5.7 gibt einen Überblick über einige interessante Redoxpotentiale.

Tabelle 5.7: Ausgewählte Redoxpotentiale [111].

Redoxreaktion	Potential
$Fe^{3+} + e^- \rightleftharpoons Fe^{2+}$	+0,77 V
$NO_3^- + H_2O + 2e^- \rightleftharpoons NO_2^- + 2OH^-$	-0,01 V
$In^{3+} + e^- \rightleftharpoons In^{2+}$	-0,49 V
$SO_4^{2-} + H_2O + 2e^- \rightleftharpoons SO_3^{2-} + 2OH^-$	-0,93 V

Die auch als Reduktionsmittel in Betracht kommende Ascorbinsäure kann aufgrund der eigenen komplexierenden Eigenschaften nicht verwendet werden.

Bevor der Einfluss von Nitrit als Reduktionsmittel untersucht wurde, sollte zuerst der Einfluss von Eisen(III) auf die Probenlösung näher untersucht werden. Hierfür wurde ein Standard verwendet, der je $1 \mu\text{g l}^{-1}$ NTA, EDTA und DTPA enthielt und derselbe Standard wurde für eine zweite Messung mit $500 \mu\text{g l}^{-1}$ Eisen(III) versehen. Die resultierenden Chromatogramme sind in Abbildung 5.9 auf der nächsten Seite auf der linken Seite zu sehen.

Der Effekt des zusätzlichen Eisens ist in dieser Abbildung gut zu erkennen. Stark reduziert sind die Signalflächen für den NTA- und DTPA-Komplex. Auch das Signal des EDTA-Komplexes fällt hier etwas kleiner aus, jedoch ist die Ausprägung bei den beiden anderen Komplexbildnern stärker.

In der selben Abbildung auf der rechten Seite sind zwei Chromatogramme der drei Komplexbildner abgebildet, bei denen beiden Lösungen $500 \mu\text{g l}^{-1}$ Eisen(III) zugesetzt wurden. Der einen Lösung wurden zusätzlich 10 mg l^{-1} Nitrit zugefügt, um das Eisen(III) zu reduzieren. Der erwartete Effekt, die Reduktion des Eisens und die damit verbundene Vergrößerung der Signale, bleibt aus.

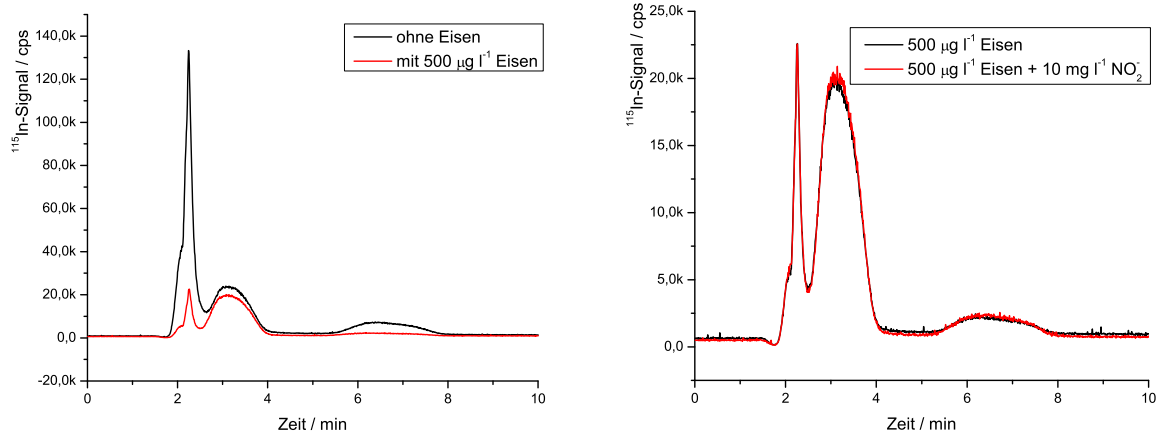


Abbildung 5.9: Chromatogramme von je $1 \mu\text{g l}^{-1}$ NTA, EDTA und DTPA mit unterschiedlichen Matrixeinflüssen. (Metall: $1\,000 \mu\text{g l}^{-1}$ Indium, Säule: DV-080429-1A1b (10 + 2 cm), Eluent: $20 \text{ mmol l}^{-1} \text{NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

Nitrit scheint sich daher nicht zu eignen, um das in der Probe vorhandene Eisen zu reduzieren und damit die Störung des Eisens zu beseitigen.

Als weiteres Reduktionsmittel kommt Sulfid in Betracht. Mit diesem wurden dieselben Experimente, wie mit Nitrit durchgeführt. Abbildung 5.10 zeigt im Vergleich zwei Chromatogramme von Komplexbildnerlösungen, die mit Eisen versetzt wurden. Die eine Lösung wurde zusätzlich mit 10 mg l^{-1} Sulfid versehen.

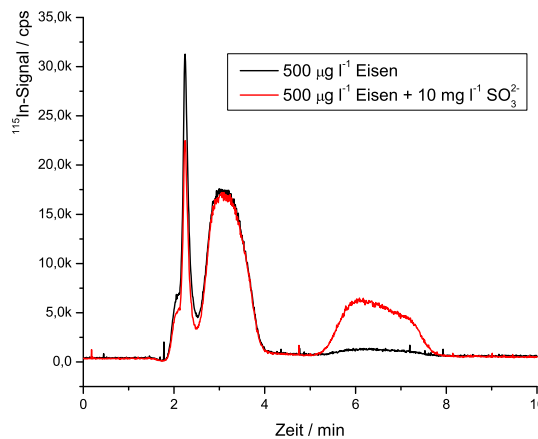


Abbildung 5.10: Chromatogramme von je $1 \mu\text{g l}^{-1}$ NTA, EDTA und DTPA mit und ohne Sulfid. (Metall: $1\,000 \mu\text{g l}^{-1}$ Indium, Säule: DV-080429-1A1b (10 + 2 cm), Eluent: $20 \text{ mmol l}^{-1} \text{NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

Diese Abbildung zeigt, dass durch den Einsatz von Sulfid in der Probenlösung, die durch das Eisen hervorgerufene Reduktion der Signalintensität der DTPA kompensiert werden kann. Das Sulfid scheint

tatsächlich das in der Probe vorhandene Eisen(III) zu Eisen(II) zu reduzieren, welches zumindest die DTPA wieder für das Indium verfügbar macht. Bei dem EDTA-Signal ist keine so deutliche Änderung zu beobachten, jedoch wurde dieses durch die Zugabe von Eisen auch nicht so stark beeinträchtigt, wie der DTPA-Peak.

Um den Effekt des Eisens und des Sulfits auf den Indium-EDTA-Komplex näher zu untersuchen, wurden folgende drei Lösungen gemessen: Lösung 1 enthielt $1 \mu\text{g l}^{-1}$ EDTA, Lösung 2 zusätzlich $0,5 \text{ mg l}^{-1}$ Eisen(III) und Lösung 3 enthielt zusätzlich noch 10 mg l^{-1} Sulfit. Das ICP-MS wurde für dieses Experiment im Wasserstoff-Modus betrieben, um eine simultane Detektion des Eisens zu ermöglichen.

Auf der linken Seite in Abbildung 5.11 ist das Indiumsignal der Chromatogramme zu sehen. Der Peak der zweiten Lösung ist in diesem Chromatogramm etwas kleiner, als die der anderen Lösungen. In derselben Abbildung auf der rechten Seite ist das Eisensignal dieser Chromatogramme zu sehen. Bei der ersten Lösung konnte kein Eisen-EDTA-Komplex gefunden werden. Wird der Lösung Eisen zugefügt, erscheint ein kleiner Peak, der dem gesuchten Komplex zuzuordnen ist. Durch die Zugabe von Sulfit zu der Lösung, wird dieses Signal wieder deutlich kleiner.

Durch dieses Experiment konnte gezeigt werden, dass sich tatsächlich Eisen-EDTA-Komplexe bilden, und so das Signal des Indium-EDTA-Komplexes reduzieren. Durch die Verwendung von Sulfit in den Probenlösungen, können die Eisenkomplexe jedoch wieder zerstört werden, so dass die Indiumkomplexe kein reduziertes Signal ergeben.

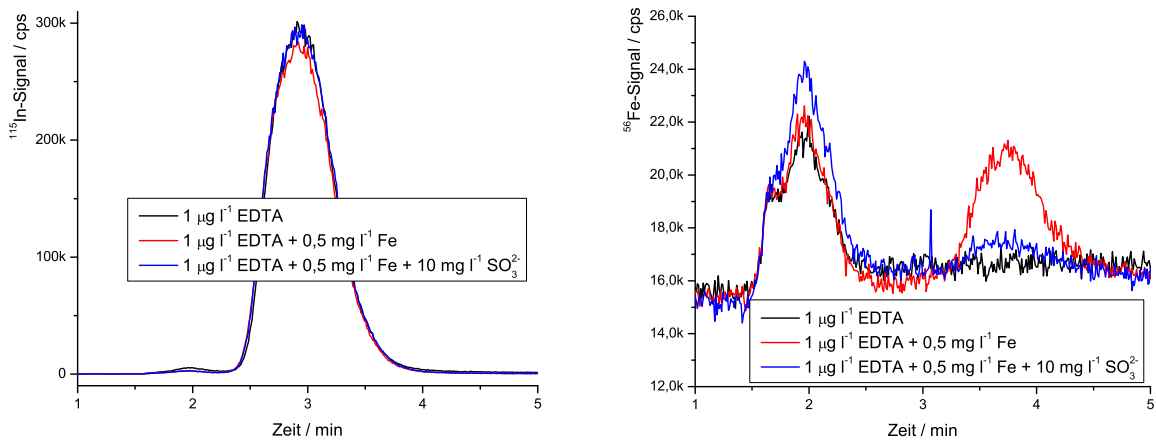


Abbildung 5.11: Chromatogramme von je $1 \mu\text{g l}^{-1}$ NTA, EDTA und DTPA mit unterschiedlichen Matrixeinflüssen. (Metall: $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Indium, Säule: DV-080429-1A1b (10 + 2 cm), Eluent: 20 mmol l^{-1} NH_4NO_3 , pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

Entfernen des überschüssigen Eisens

Eine einfache Methode das überschüssige Eisen aus der Probenlösung zu entfernen, ist die Verwendung eines Ionenaustauschers. Ein solcher wird in Form des Suppressors schon in der Methode ver-

wendet, um das überschüssige Indium zu entfernen. Der Einsatz eines solchen automatisierten Systems ist in diesem Falle jedoch schwieriger, da nach der Entfernung des Eisens die Zugabe des Indiums mit anschließender Erhitzung der Probe folgt. Die Verwendung eines mit einem Kationenaustauscher gefüllten Spritzenvorsatzes ermöglicht es jedoch, ohne großen Aufwand die Probe vom Eisen zu befreien.

Eisen als Komplexkern

Anstatt zu versuchen, das Eisen aus der Lösung zu entfernen, oder zu reduzieren, ist es auch möglich Eisen anstelle des Indiums als Komplexkern zu verwenden (vgl. Kapitel 4.3.3 auf Seite 91). So wird der Probe noch zusätzlich Eisen zugefügt und das bisher in der Probe vorhandene Eisen kann die Komplexbildung nicht beeinträchtigen. Jedoch würde dieses auch wieder mit einem Verlust der Empfindlichkeit einhergehen. Für Analysen, bei denen eine Empfindlichkeit im unteren $\mu\text{g l}^{-1}$ –Bereich jedoch ausreicht, ist dieses eine einfache Methode ohne weitere Probenvorbereitung.

Wiederholung der Vorversuche unter optimierten Bedingungen

In dieser Messreihe wurden die Proben P1 – P15 mit zwei unterschiedlichen Variationen der Methode gemessen. Die eine Variation bestand in der Verwendung von Eisen als Komplexkern (IC_{Fe}) und die zweite in der Zugabe von 10 mg l^{-1} Sulfit zu jeder Probe ($\text{IC}_{\text{SO}_3^{2-}}$). Die mit dieser Methode erhaltenen EDTA-Konzentrationen sind zusammen mit denen der unmodifizierten Methode in Tabelle 5.8 zu sehen.

Tabelle 5.8: EDTA-Konzentrationen mit unterschiedlichen Methoden der Proben P1 – P15 in $\mu\text{g l}^{-1}$.

Probe	GC	IC	IC_{Fe}	$\text{IC}_{\text{SO}_3^{2-}}$
P1	3,9	2,3	3,5	–
P2	4,7	2,6	4,3	3,7
P3	<2	0,8	1,2	0,9
P4	3,2	3,1	2,9	2,9
P5	<2	0,4	0,6	0,4
P6	–	0,3	1,5	0,9
P7	2,5	0,4	1,4	0,2
P8	2,1	0,4	1,6	0,5
P9	10,6	1,5	9,4	5,4
P10	7,9	1,2	6,9	4,2
P11	<2	0,6	1,2	0,9
P12	<2	0,2	0,4	0,1
P13	5,0	0,3	1,2	0,5
P14	17,4	12,5	19,3	13,3
P15	13,3	7,6	14,3	10,2

Diese Tabelle zeigt, dass durch beide Variationen höhere EDTA-Konzentrationen gemessen werden, die auch näher an den Referenzwerten sind. Durch die erste Variation mit dem Eisen werden nochmal

größere Werte, als durch die zweite Variation mit dem Sulfit erhalten. Dieses könnte bedeuten, dass die Werte mit der Eisenmethode näher an dem wahren Wert liegen. Hier ist jedoch zu beachten, dass der wahre Wert nicht bekannt ist. Weiterhin sollte beachtet werden, dass sowohl die GC-Methode, als auch die Eisenmethode sehr nahe an der Nachweisgrenze arbeiten und dadurch gewisse Abweichungen wahrscheinlich sind.

Um einen vollständigen Überblick zu erhalten, sollten auch die restlichen Proben bestimmt werden. Daraus kann ein großer Datensatz erhalten werden, um die Abweichungen dieser Methode von der Referenzmethode abzuschätzen.

5.2.5 Analyse der Realproben unter optimierten Bedingungen

Die bisherigen Ergebnisse zeigen, dass je nach verwendeter Methode unterschiedliche Ergebnisse erhalten werden. Da es sich bei den Proben um Realproben handelt, ist der wahre Gehalt an Komplexbildnern unbekannt. Die hier entwickelte Methode zur Bestimmung der Komplexbildner als Indiumkomplexe bietet die besten Nachweisgrenzen, jedoch wurden hier auch die Abweichungen zu den Referenzwerten beobachtet. Durch den Zusatz von Sulfit als Reduktionsmittel zu den Proben, konnten diese Abweichungen verringert werden.

Um eine Aussage treffen zu können, ob die Abweichungen statistisch signifikant sind, ist es erforderlich, einen möglichst großen Datensatz zu haben. Daher wurden nun auch die restlichen Realproben auf deren EDTA- und DTPA-Gehalt untersucht. In der Probenvorbereitung wurden diese filtriert und anschließend mit Indium und Sulfit versetzt. Nach dem Erwärmen auf 60 °C und Abkühlen auf Raumtemperatur wurden diese gemessen. Die erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 5.9 auf der nächsten Seite zusammen mit denen aus dem externen Labor aufgelistet.

Tabelle 5.9: EDTA und DTPA in den Vergleichsproben in $\mu\text{g l}^{-1}$.

Probe	EDTA		DTPA	
	GC	IC	GC	IC
P16	<2	1,1	<1,5	0,0
P17	<2	1,6	<1,5	0,0
P18	<2	1,9	<1,5	0,0
P19	5,8	5,2	3,3	0,0
P20	3,1	2,2	<1,5	3,0
P21	2,0	1,8	<1,5	0,0
P22	<2	0,1	<1,5	0,0
P23	4,9	6,0	11,8	15,7
P24	5,2	6,3	12,7	17,7
P25	5,2	6,6	11,3	15,8
P26	7,0	8,8	10,0	13,9

Tabelle 5.9: EDTA und DTPA in den Vergleichsproben in $\mu\text{g l}^{-1}$.

Probe	EDTA		DTPA	
	GC	IC	GC	IC
P27	6,9	8,8	9,1	13,0
P28	<2	0,2	<1,5	0,0
P29	<2	0,2	<1,5	0,0
P30	3,4	4,7	2,0	3,1
P31	2,0	1,8	<1,5	0,0
P32	<2	0,4	<1,5	0,0
P33	<2	0,0	<1,5	0,0
P34	<2	0,1	<1,5	0,0
P35	3,2	5,1	1,7	3,0
P36	<2	0,2	<1,5	0,0
P37	<2	0,2	<1,5	0,0
P38	4,3	6,4	2,6	4,1
P39	2,6	2,4	<1,5	0,1
P40	6,8	4,9	3,5	2,5
P41	5,5	4,3	<1,5	0,6
P42	2,5	1,6	<1,5	0,2
P43	2,8	1,9	<1,5	0,1
P44	<2	0,1	<1,5	0,0
P45	<2	0,1	<1,5	0,0
P46	7,2	7,9	19,0	20,1
P47	8,7	7,1	10,3	8,2
P48	<2	0,0	<1,5	0,0
P49	2,9	2,1	<1,5	0,1
P50	6,9	5,3	5,1	4,2
P51	2,8	2,1	<1,5	0,1
P52	4,0	4,3	<1,5	0,0
P53	6,6	4,5	<1,5	0,0
P54	6,4	2,0	<1,5	0,0
P55	3,8	2,2	<1,5	0,0
P56	2,3	1,3	<1,5	0,1
P57	2,3	2,0	<1,5	0,1

Die Wertepaare scheinen gut zusammen zu passen. Um etwaige Abweichung besser beurteilen zu können, wurden in Abbildung 5.12 auf der nächsten Seite die vom externe Labor gemessenen Werte gegen die mit dieser Methode gemessenen Werte aufgetragen.

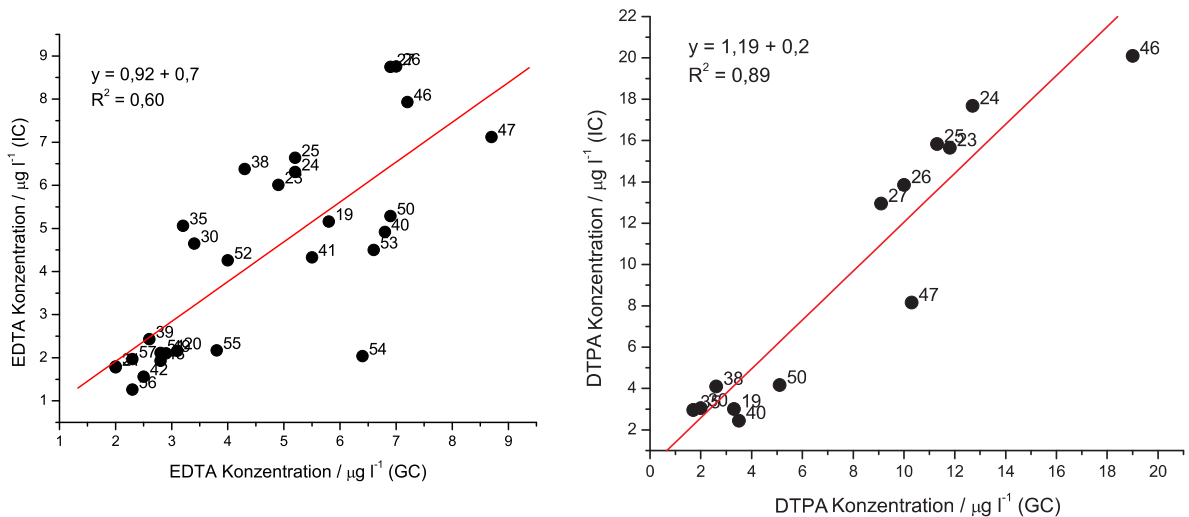


Abbildung 5.12: Auftragung der ermittelten Konzentrationen aus dem Referenzlabor gegen die mit der IC-ICP-MS Methode ermittelten Werte für EDTA links und DTPA rechts (Komplexkern: In^{3+}).

In dieser Abbildung sind die einzelnen Werte stark um die Ausgleichsgerade gestreut. Um die Korrelation der beiden Werte zu beurteilen, wurde jeweils ein t-Test des Korrelationskoeffizienten durchgeführt.

t-Test des Korrelationskoeffizienten für EDTA:

$$t_{(n=28,r=0,77265)} = 6,206$$

$$t_{(n=28,P=95\%)} = 2,06$$

$$t_{(n=28,r=0,77265)} > t_{(n=28,95\%)}$$

t-Test des Korrelationskoeffizienten für DTPA:

$$t_{(n=13,r=0,94537)} = 9,618$$

$$t_{(n=13,P=95\%)} = 2,20$$

$$t_{(n=13,r=0,94537)} > t_{(n=13,95\%)}$$

Sowohl für die EDTA, als auch für die DTPA ist die Prüfgröße jeweils größer als der dazugehörige Tabellenwert. Daher kann in beiden Fällen von einer statistisch signifikanten Korrelation ausgegangen werden.

Dieser Test trifft jedoch lediglich eine Aussage darüber, ob die erhaltenen Werte der beiden Methoden miteinander korrelieren. Es fehlt jedoch eine Aussage darüber, ob sich die Werte statistisch signifikant unterscheiden. Um dieses zu beurteilen, kann auf die Regressionsgeraden aus Abbildung 5.12 zurückgegriffen werden [58].

Würden für jede Probe exakt dieselben Werte erhalten, hätte die Regressionsgerade eine Steigung von 1 bei einem Achsenabschnitt von 0. Dieses wird in der Realität jedoch selten der Fall sein. Daher kann der Vertrauensbereich bei einem definierten Signifikanzniveau der Steigung und des Achsenabschnittes zusätzlich berechnet werden. Deckt dieser bei dem Achsenabschnitt den Wert null und bei der Steigung den Wert eins ab, kann davon ausgegangen werden, dass es keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Wertepaaren gibt.

Tabelle 5.10: Vertrauensbereiche der Regressionsgeraden für EDTA und DTPA.

Analyt	Steigung	Vertrauensbereich		Achsenabschnitt	Vertrauensbereich	
		von	bis		von	bis
EDTA	0,924	0,618	1,230	0,069	-1,440	1,578
DTPA	1,183	0,912	1,454	0,217	-2,320	2,753

Die Vertrauensbereiche für EDTA und DTPA sind in Tabelle 5.10 aufgelistet. Aus dieser kann entnommen werden, dass es weder für EDTA noch für DTPA einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Werten der Referenzmethode und der IC-ICP-MS gibt.

In Abbildung 5.13 sind die Eisenkonzentrationen dieser Proben gegen die Wiederfindungsrate bezogen auf die Ergebnisse des Referenzlabors aufgetragen. Diese zeigt deutlich, dass bei diesen Proben, denen Sulfit als Reduktionsmittel zugesetzt wurde, die Wiederfindungsrate nicht mit der Eisenkonzentration korreliert.

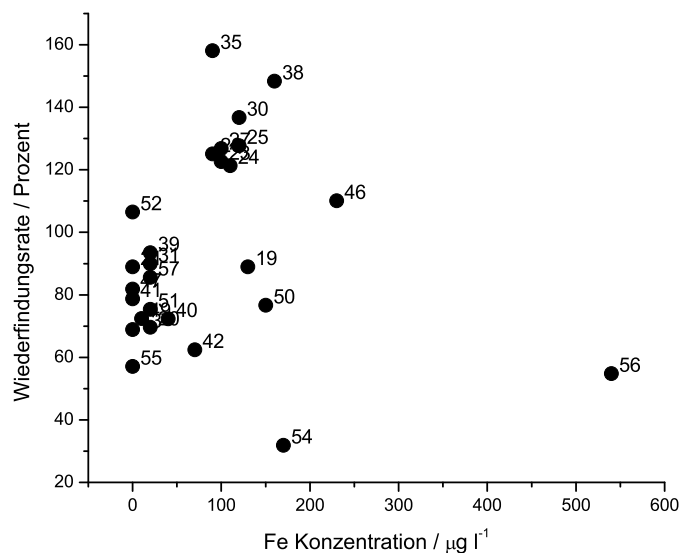


Abbildung 5.13: Auftragung der Wiederfindungsrate der EDTA bezogen auf die Ergebnisse des Referenzlabors gegen die Eisenkonzentrationen der Proben (Komplekern: In³⁺).

Obwohl der gesamte Datensatz keine signifikanten Unterschiede zwischen den Methoden zeigt, kann für einzelne Wertepaare ein deutlicher Unterschied gesehen werden. Da es sich bei den Proben um Realproben handelt, deren wahrer Komplexbildnergehalt nicht bekannt ist, kann hier keine Aussage dazu

getroffen werden, durch welche Methode diese Abweichung entstanden ist. Es ist jedoch zu beachten, dass es sich bei der GC-Methode um eine nach DIN EN ISO zertifizierte Methode handelt. Diese Methode besteht aber auch aus einer Reihe von Probenvorbereitungsschritten, durch die jeweils Fehler entstehen können. Weiterhin liegen die hier gemessenen Konzentrationen von EDTA und DTPA sehr nahe an der Nachweisgrenze, wodurch mit einer größeren Ergebnisunsicherheit zu rechnen ist. Die neue IC-ICP-MS Methode hingegen, besteht aus einem einzelnen Probenvorbereitungsschritt und die gemessenen Konzentrationen liegen um mehrere Größenordnungen über der Nachweisgrenze.

5.3 Analyse von Blutproben

Das Calcium-Dinatrium-Salz der EDTA ist als Nahrungsmittelzusatz zugelassen und kann so über den Verdauungstrakt in den menschlichen Körper gelangen. Es findet hauptsächlich Anwendung als Chelatbildner, um die prooxidative Wirkung von Metallionen in Lebensmitteln zu unterbinden und wird mit anderen Antioxidantien eingesetzt. Häufig zu finden ist das als E 385 zugelassene EDTA-Salz in Dosenkonserven, Instantprodukten, Fertigsoßen und auch in kosmetischen Mitteln [8].

EDTA-Salze werden im Verdauungstrakt sehr schlecht resorbiert und daher bei der Behandlung von Schwermetallvergiftungen auch intravenös verabreicht [10]. Aus diesem Grund kann die EDTA-Konzentration im Blut als sehr niedrig eingestuft werden, wodurch auch der Einsatz als Lebensmittelzusatz gerechtfertigt wird. Gerade um diese geringen Konzentrationen zu analysieren, ist eine sehr empfindliche Methode erforderlich, die auch die komplexe Blutmatrix toleriert.

Die in dieser Arbeit entwickelte Methode zur Analyse von Komplexbildnern scheint daher für diesen Einsatz sehr geeignet.

5.3.1 Die Blutmatrix

Der menschliche Körper besteht zu 6 – 8% aus Blut, welches mit seinen 4 – 9 Litern Volumen die Aufgabe hat, unter anderem Atemgase, Nährstoffe und Stoffwechselprodukte durch den Körper zu transportieren. Das Blut besteht zu 55 Vol.-% aus Blutplasma und zu 45 Vol.-% aus den zellulären Bestandteilen, die durch Zentrifugation abgetrennt werden können [112].

Das Blutplasma besteht zu 90 – 95% aus Wasser und enthält ein Gemisch aus vielen verschiedenen Proteinen. Zu diesen Proteinen zählen auch die Gerinnungsfaktoren. Weiterhin enthält es die Stoffwechselprodukte, Lipide, Fettsäuren und anorganische Ionen. Um das Blutplasma zu gewinnen, ist es erforderlich, der Blutprobe einen Gerinnungshemmer zuzusetzen. Häufig verwendet wird hier EDTA, Citrat oder Heparin.

Als Blutserum bezeichnet man das Blutplasma ohne die Gerinnungsfaktoren. Um dieses zu isolieren, wird vor der Zentrifugation gewartet, bis die Blutprobe vollständig geronnen ist. Anschließend kann es als Überstand abpipettiert werden.

Die zellulären Bestandteile sind zum großen Teil die roten Blutkörper (Erythrozyten), die dem Transport des Sauerstoffs dienen. Die weißen Blutkörperchen (Leukozyten) sind für das Abwehrsystem zuständig und die Blutplättchen (Thrombozyten) sind ein wichtiger Bestandteil des Systems der Blutgerinnung.

Für die Analyse von in Blut gelösten Stoffen kann demnach sowohl das Blutserum als auch das Blutplasma untersucht werden. Das Serum ist einfacher zu gewinnen, da hier keine Gerinnungshemmer erforderlich sind. In der Praxis ist jedoch das Blutplasma zu bevorzugen [112].

5.3.2 Probenvorbereitung

Die Komplexbildner sollen in den Blutproben sowohl im Blutserum als auch im Blutplasma bestimmt werden, um hier etwaige Unterschiede zu untersuchen.

Als Gerinnungshemmer für die Plasmagewinnung wird häufig EDTA, Citrat oder Heparin verwendet. Da EDTA ein zu bestimmender Komplexbildner ist, kommt deren Einsatz nicht in Betracht. Citrat bildet ebenfalls Komplexe und kann daher zu Störungen in den Chromatogrammen führen. Bei Heparin handelt es sich um Polysaccharide mit einer molaren Masse von $4\,000\text{ g mol}^{-1}$ bis $40\,000\text{ g mol}^{-1}$, das ebenfalls die Blutgerinnung hemmen. Um Störungen durch andere Komplexbildner zu vermeiden, wurde Heparin für die Plasmagewinnung verwendet.

Die Blutentnahme für die Plasmagewinnung erfolgte direkt in ein Blutentnahmeröhrchen des Typs Monovette®, Fa. Braun, welches bereits Lithium-Heparin enthielt. Dieses wurde anschließend für 30 Minuten bei $4\,500\text{ U/min}$ (Umdrehungen pro Minute) zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und in ein Ultrafiltrationsröhrchen VivaSpin® 6, Fa. Sartorius Stedim, überführt. Dieses ist ein, durch eine Membran geteiltes Zentrifugenröhrchen. In den oberen Teil wird die zu reinigende Flüssigkeit gefüllt, die durch die Zentrifugalkraft durch eine Membran gedrückt wird. Die Eigenschaften der Membran entscheiden über die Trenngrenze, ab der Moleküle diese Membran nicht passieren können. Die hier verwendete Membran besitzt eine Trenngrenze von $3\,000\text{ g mol}^{-1}$. Das bedeutet, dass Moleküle mit einem kleineren Molekulargewicht als $3\,000\text{ g mol}^{-1}$ die Membran passieren können, Moleküle mit einem größeren Molekulargewicht werden jedoch zurückgehalten. Durch diese Ultrafiltration können die Proben von den Proteinen und auch vom zugesetzten Heparin befreit werden. Dafür werden die mit der Probe befüllten Röhrchen für 1 h bei $4\,500\text{ U/min}$ zentrifugiert und anschließend das Filtrat im unteren Teil des Röhrchens verwendet. In der weiteren Probenvorbereitung wurden die Proben 1:10 verdünnt und mit Indium und Sulfit analog zu den Wasserproben versetzt und für 1 h auf 60 °C erwärmt.

Die Probenvorbereitung für das Blutserum wurde analog zu der für das Plasma durchgeführt, mit dem Unterschied, dass die verwendete Monovette® anstatt des Heparins ein Serumgel enthielt. Dieses Gel liegt nach der Zentrifugation auf den zellulären Bestandteilen des Bluts und ermöglicht so ein einfaches Abpipettieren des Serums.

Um den Blindwert zu ermitteln, der aus der Probenvorbereitung resultiert, wurde je eine Monovette® mit isotonischer Kochsalzlösung gefüllt und sämtliche Schritte der Probenvorbereitung durchgeführt.

Um das Infektionsrisiko, welches von Blutproben ausgeht, zu minimieren, wurden im Rahmen dieser Experimente ausschließlich Eigenblutproben verwendet. Zusätzlich wurden diese Proben schnell verarbeitet, deutlich als möglich infektiös gekennzeichnet und nach der Messung durch Zusatz von Ethanol desinfiziert. Sämtliche verwendeten Pipettenspitzen und Vials wurden nach einer Desinfektion mit Ethanol entsorgt.

5.3.3 Ergebnisse

Die Chromatogramme von Blutserum und dem Blindwert des Blutserums sind zusammen mit einem 100 ng l^{-1} Standard in Abbildung 5.14 zu sehen.

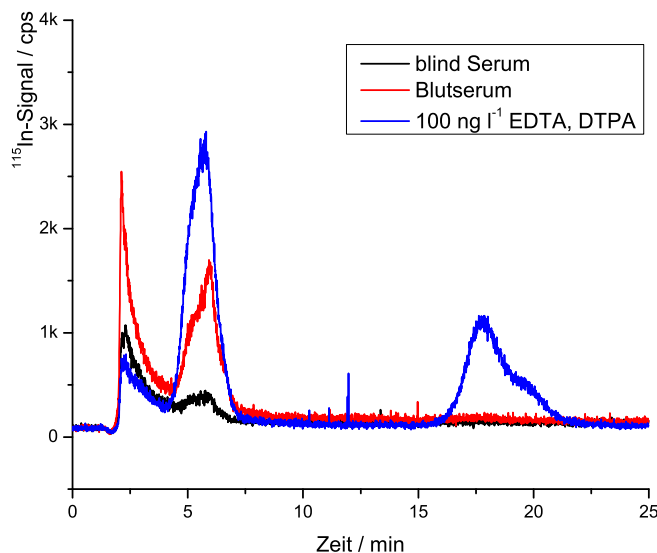


Abbildung 5.14: Chromatogramm von je 100 ng l^{-1} EDTA und DTPA und Chromatogramme der 1:10 Verdünnungen des Blutserums und des Blindwertes. (Metall: $1\,000 \mu\text{g l}^{-1}$ Indium, Säule: DV-070326-1B2 (10 cm), Eluent: $20 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

In diesen ist zu erkennen, dass sowohl der Blindwert als auch das Blutserum eine geringe EDTA-Konzentration aufweisen, die im Blutserum jedoch deutlich größer ist. DTPA wird weder im Blutserum, noch in der Blindwertprobe gefunden. Die in der Blindprobe gefundene EDTA ist vermutlich durch einen der Probenvorbereitungsschritte in das System gelangt. So ist es möglich, dass die verwendeten Monovetten geringe Mengen an EDTA enthalten, oder auch die Ultrafiltrationsröhrchen. Der Wert ist jedoch recht gering im Vergleich zur EDTA-Konzentration in der Serumprobe. Die Auswertung der Peakflächen ergibt eine EDTA-Konzentration von $0,36 \mu\text{g l}^{-1}$.

Es ist auch ein größeres Injektionssignal zu erkennen, welches nur in der Serumprobe auftritt. Dieses kann durch verschiedene, im Blut vorhandene Substanzen hervorgerufen werden, die mit dem Indium neutrale Komplexe bilden und so durch den Suppressor gelangen.

In Abbildung 5.15 auf der nächsten Seite sind die Chromatogramme des Blutplasmas mit dem dazugehörigen Blindwert abgebildet. Ebenfalls ist in dieser Abbildung das Chromatogramm eines 100 ng l^{-1} Standard zu sehen.

Hier ist wieder zu sehen, dass auch der Blindwert eine geringe EDTA-Konzentration aufweist. Auch in der Plasmaprobe kann EDTA gefunden werden und die Konzentration unterscheidet sich deutlich

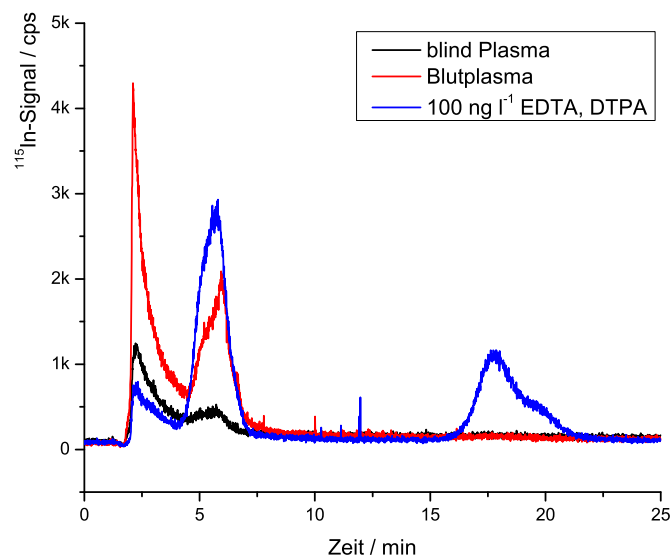


Abbildung 5.15: Chromatogramm von je 100 ng l^{-1} EDTA und DTPA und Chromatogramme der 1:10 Verdünnungen des Blutplasma und des Blindwertes. (Metall: $1\,000 \mu\text{g l}^{-1}$ Indium, Säule: DV-070326-1B2 (10 cm), Eluent: $20 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

von der des Blindwertes. Die Auswertung der Signalfächen ergibt eine EDTA-Konzentration von $0,46 \mu\text{g l}^{-1}$ im Blutplasma.

Abbildung 5.16 auf der nächsten Seite vergleicht die Chromatogramme des Plasmas und des Serums und zeigt, dass keine deutlichen Unterschiede zwischen diesen zu erkennen sind. Daher scheinen, wie erwartet, die EDTA-Konzentration im Serum und Plasma nahezu identisch zu sein.

Diese Methode ist nach einer Probenvorbereitung, die eine Ultrafiltration und Verdünnung beinhaltet weiterhin empfindlich genug, um EDTA in Blutproben nachzuweisen. In einem der Schritte der Probenvorbereitung kommt es zu einer Kontamination der Probe mit EDTA im geringen Ausmaß, die weiter untersucht werden sollte. Weiterhin müssen die hier gemessenen Konzentrationen noch auf ihre Richtigkeit untersucht werden. Dies kann am sinnvollsten durch eine Standardaddition und die Bestimmung der Wiederfindungsrate gespikter Proben geschehen. Bisher wurde nur eine einzelne Blutprobe untersucht, die auf zwei verschiedene Weisen aufbereitet wurde. Eine Reihe von Untersuchungen könnten in Zukunft noch interessant sein. Dazu zählen regelmäßige Blutentnahmen nach dem Genuss von Nahrungsmitteln, die EDTA enthalten, um den Verlauf der EDTA-Konzentration im Blut beobachten zu können.

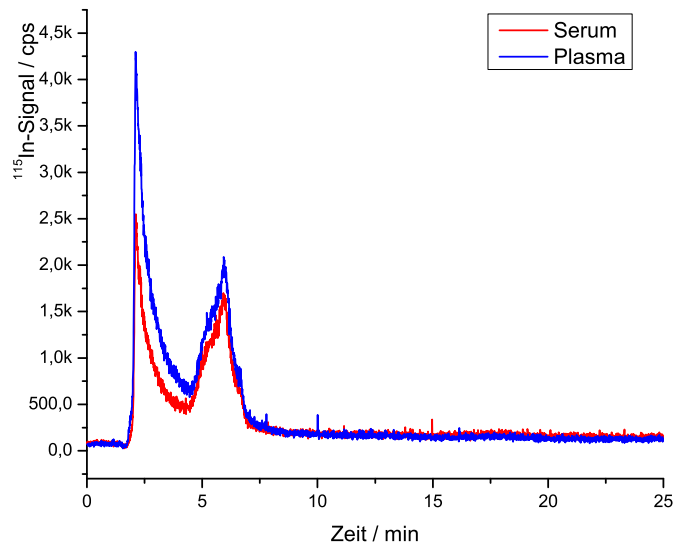


Abbildung 5.16: Vergleich der Chromatogramme des Blutserums und Blutplasmas. (Metall: $1000 \mu\text{g l}^{-1}$ Indium, Säule: DV-070326-1B2 (10 cm), Eluent: $20 \text{ mmol l}^{-1} \text{NH}_4\text{NO}_3$, pH 2, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$, Probenaufgabevolumen: $240 \mu\text{l}$).

5.4 Zusammenfassung

Die Nachweisgrenzen dieser Methode wurden sowohl anhand der Schnellschätzformel als auch durch die Kalibriergeradenmethode bestimmt. Die ermittelten Nachweisgrenzen liegen zwischen 2 und 5 ng l^{-1} und damit um drei Größenordnungen niedriger, als die der GC-MS Methode.

Um die Methode auch an Realproben zu testen, wurden über 60 Proben auf ihren Komplexbildnergehalt untersucht, die zuvor von einem anderen Institut untersucht wurden. Beim Vergleich der Daten fiel auf, dass zum Teil erheblich geringere Konzentrationen an Komplexbildnern gefunden wurden. Eine Fehlersuche ergab, dass hohe Eisenkonzentrationen in den Proben einen Minderbefund verursachen können. Durch den Zusatz von Sulfit zu den Proben konnte aufgrund der Reduktion des Eisens zu Eisen(II) diese Störung eliminiert werden. Bei den Proben, denen Sulfit zugesetzt wurde, konnte auch keine Korrelation der Abweichungen zu den Eisenkonzentrationen gefunden werden. Auch wenn die Störung durch Eisen ausgeschlossen wurde, musste festgestellt werden, dass es noch Abweichungen zwischen den Ergebnissen der externen Institute und den Ergebnissen mit der IC-ICP-MS on-line Kopplung gibt. In diesen Abweichungen ist jedoch kein Trend zu höheren oder niedrigeren Konzentrationen zu sehen. Weiterhin wurde gezeigt, dass diese Abweichungen statistisch nicht signifikant sind. Demnach wurden für die Proben, abgesehen von statistisch nicht signifikanten Unterschieden, die gleichen Ergebnisse wie von den Referenzinstituten erhalten.

Auch die Analyse in komplexeren Matrices wie z. B. Blutserum oder -plasma ist mit dieser Methode möglich. Hier zeigte sich, dass sowohl die Analyse des Serums, als auch die des Plasmas geeignet ist

EDTA in Blutproben zu bestimmen. In der Probenvorbereitung werden die Proben mit geringen Mengen an EDTA verunreinigt, wodurch auch in den Blindproben eine geringe EDTA-Menge gefunden wird.

Nach diesen Ergebnissen ist die on-line Kopplung IC-ICP-MS in der Lage EDTA, DTPA und CDTA in sehr geringen Konzentrationen auch in komplexeren Matrices nachzuweisen. Die Ergebnisse für EDTA und DTPA in über 50 Realproben konnten gegen die eines Referenzlabors ohne statistisch signifikante Abweichungen validiert werden.

6 Zusammenfassung und Ausblick

Bei den bisherigen Anwendungen der on-line Kopplung IC-ICP-MS stand das mit dem ICP-MS zu detektierende Metall im Vordergrund. Die Ionenchromatographie wurde zum einen dazu verwendet zusätzliche Informationen über das Metall, wie z. B. die Elementspezies zu erhalten und zum anderen störenden Probenbestandteile wie interferierende Elemente von dem zu analysierenden Metall zu trennen.

In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass sich die on-line Kopplung der IC-ICP-MS auch dazu eignet Informationen über Moleküle zu erlangen, indem man diese gezielt mit einem Metall versetzt und so für das ICP-MS detektierbar macht. Die Ionenchromatographie liefert, wie in den anderen Anwendungsgebieten, die Molekülinformation und das ICP-MS dient als sensitiver Detektor für das Indikatormetall. Der Einsatz dieser inversen IC-ICP-MS wurde anhand der Detektion von Aminopolycarbonsäure-Komplexbildnern untersucht.

In der Routineanalytik kommen hauptsächlich zwei verschiedene Methoden zur Analyse von Aminopolycarbonsäure-Komplexbildnern in Wasserproben zum Einsatz. Die eine Methode trennt die zuvor in Eisenkomplexe überführten Komplexbildner über eine Ionenpaarchromatographie und detektiert die Eisenkomplexe anhand der UV/Vis-Absorption. Diese Methode zeichnet sich durch eine einfache Probenvorbereitung und moderate Nachweisgrenzen im mg l^{-1} -Bereich aus. Die zweite Methode sieht eine Anreicherung und Veresterung der Proben vor, um sie anschließend gaschromatographisch trennen zu können. Die Detektion kann über einen Stickstoff-Phosphor-selektiven Detektor oder ein Massenspektrometer erfolgen. Mit dieser Methode werden sehr gute Nachweisgrenzen im $\mu\text{g l}^{-1}$ Bereich erreicht, jedoch ist die Probenvorbereitung sehr zeit- und arbeitsintensiv.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Methode entwickelt, die es erlaubt, die Komplexbildner EDTA, DTPA und CDTA in Konzentrationen unter einem $\mu\text{g l}^{-1}$ nachzuweisen und nur wenige kurze Schritte der Probenvorbereitung erfordert. Für diese Methode wird eine on-line Kopplung der IC mit einem ICP-MS verwendet, um die Molekülselektivität der Ionenchromatographie und die Elementselektivität und die Sensitivität des ICP-MS miteinander zu verbinden. Hierfür ist es, wie bei der IPC-UV/Vis-Methode erforderlich, die Komplexbildner in definierte Metallkomplexe zu überführen.

Daher wurden in einem ersten Schritt verschiedene Metalle auf ihre Tauglichkeit untersucht. Dabei war es besonders wichtig, dass das Metall mit den zu analysierenden Komplexbildnern stabile Komplexe bildet, und dass das überschüssige Metall nicht auf der Säule retardiert wird.

Die Eisenkomplexe wurden durch UV/Vis-Spektrometrie näher auf ihre Zusammensetzung untersucht. Bei einem pH-Wert von 7 bildet Eisen mit NTA, EDTA, DTPA und CDTA innerhalb von

einer Stunde bei 60 °C die Komplexe und unter diesen Bedingungen waren für alle Komplexbildner 1:1-Komplexe zu finden.

Für diese Komplexe wurden mit einer IC-UV/Vis die optimalen Trennbedingungen gesucht. Als Eluent kam hier schon Ammoniumnitrat zum Einsatz, um diese Bedingungen auf die on-line Kopplung mit dem ICP-MS zu übertragen. Es wurde der Einfluss des pH-Wertes des Eluenten auf die Retentionszeiten der verschiedenen Komplexe untersucht. Bei Verwendung von 55 mmol l⁻¹ NH₄NO₃ mit einem pH-Wert von 2 konnten die Eisenkomplexe der NTA, EDTA und DTPA ausreichend voneinander getrennt werden, ohne dass sich das überschüssige Eisen an der stationären Phase anreicherte. Der CDTA-Komplex eluiert auch mit einem höher konzentrierten Eluenten erst nach über einer Stunde, so dass eine Routinemessung nicht möglich ist.

Bei der Übertragung der Methode auf die on-line Kopplung wurde festgestellt, dass der durch das überschüssige Eisen hervorgerufene Injektionspeak aufgrund seiner Intensität mit den darauf folgenden Komplex-Peaks überlagert und so die Bestimmung dieser im Spurenbereich behindert. Der Einsatz des Metrohm-Suppressor-Moduls (MSM) ermöglicht es, das überschüssige Eisen herauszufiltern, wenn dieser zwischen Autosampler und Injektionsventil verwendet wird. Dabei muss jedoch der Regeneration des Suppressors besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden, um für jede Probe dieselben Bedingungen zu schaffen. Untersuchungen zeigten, dass bei Verwendung einer 2 mol l⁻¹ HNO₃ als Regenerant nach 30 Minuten nahezu sämtliches Metall vom Suppressor gespült wurde. Eine vollständige Regeneration erfolgte allerdings erst nach einer Stunde. Um die Regeneration in einem für Routinemessungen akzeptablen Zeitraum durchzuführen, wurde sie auf 30 Minuten beschränkt und der Suppressor in regelmäßigen Abständen über Nacht regeneriert. Wird der Suppressor nach der Regeneration mit Ammoniumnitrat anstatt mit Reinstwasser gespült, kann auch der NTA-Komplex, der sich ansonsten durch die sauren Bedingungen zersetzt, nach dem Suppressor noch analysiert werden.

Durch die Entfernung des überschüssigen Metalls konnte der pH-Wert des Eluenten wieder variiert werden, ohne dass sich das Metall an der stationären Phase anreichert. Dadurch war es möglich, Chromatogramme der Komplexe bei unterschiedlichen pH-Werten und unterschiedlichen Eluentkonzentrationen aufzunehmen, um so Informationen über die effektiven Ladungen und damit der Struktur der Komplexe zu erhalten.

Um auch den sehr spät eluierenden CDTA-Komplex analysieren zu können, wurde die Technik des Column-Switchings verwendet. Hier wurden zwei Säulen unterschiedlicher Länge durch ein zusätzliches Schaltventil miteinander verbunden. Dieses ermöglicht es, den Ausgang der ersten kurzen Säule direkt mit dem ICP-MS zu verbinden, während der CDTA-Komplex sich noch auf dieser befindet. Durch diese technische Variation ist es möglich, die Retentionszeit des CDTA-Komplexes auf 10 Minuten zu verkürzen.

Die zu Beginn dieser Arbeit verwendeten Eisenkomplexe eigneten sich gut, um die Komplexe und deren Trennbedingungen zu untersuchen. Eisen eignet sich jedoch, in Verbindung mit dem ICP-MS als Detektor, nicht für die Analyse im Spurenbereich, da das Hauptisotop durch isobare Interferenzen

überlagert wird und den Einsatz der Oktopol-Reaktionszelle erfordert. Diese senkt zwar zum einen den störenden Untergrund, verringert jedoch auch die Signalintensität. Daher wurde für den weiteren Verlauf der Arbeit Indium verwendet, welches nahezu monoisotopisch ist und dessen Detektion nicht durch Interferenzen gestört wird. Bei der Verwendung von Indium als Komplexkern liegen die Nachweisgrenzen für die Komplexbildner bei 5 ng l^{-1} und damit drei Größenordnungen niedriger.

Obwohl es gelang die Analyse der NTA durch das Spülen des Suppressors mit Ammoniumnitrat zu ermöglichen, musste diese vorerst aus der Methode ausgeklammert werden. Die Retentionszeit des NTA-Komplexes hängt sehr stark vom verwendeten pH-Wert des Eluenten ab. Ist dieser auf 2 eingestellt, eluiert der NTA-Komplex im Totvolumen und ist so nicht eindeutig zu identifizieren. Bei einem höheren pH-Wert von 5–6 verlagert sich die Retentionszeit nach hinten, jedoch als breiter Peak, der mit den anderen Peaks überlagert. Hier ist eine weitere Untersuchung der vorhandenen Spezies erforderlich, um die Trennbedingungen für den NTA-Komplex zu optimieren.

Die Messung von Realproben, die zuvor von einem externen Labor nach der GC-Methode untersucht wurden, zeigte, dass zum Teil deutlich geringere Konzentrationen an Komplexbildnern ermittelt wurden. Eine Fehlersuche ergab, dass die Abweichungen mit der Eisenkonzentration in der Probe korreliert. Dieser Effekt ist auf eine unvollständige Transmetallierung zu den Indium-Komplexen zurückzuführen. Durch die Zugabe von Sulfit als Reduktionsmittel zu den Proben konnte jedoch das in der Probe vorhandene Eisen(III) zu Eisen(II) reduziert werden, welches mit den zu analysierenden Komplexbildnern deutlich weniger stabile Komplexe bildet.

Bei der Analyse von 40 weiteren Realproben, denen zusätzlich zum Indium Sulfit zugesetzt wurde, können keine statistisch signifikanten Abweichungen gefunden werden.

Um die Anwendbarkeit dieser Methode auch in komplexen Matrices zu demonstrieren, wurden Blutproben auf deren EDTA Konzentration untersucht. Sowohl im Blutserum als auch im Blutplasma konnten geringe Mengen der EDTA nachgewiesen werden.

Obwohl die Trennung und Detektion von drei Komplexbildnern mit sehr guten Nachweisgrenzen gelang, gibt es dennoch einige offene Fragen und weitere Möglichkeiten, diese Methode noch zu verbessern.

Da die Analyse der NTA mit dieser Methode noch Probleme bereitet, können hier noch einige Versuche unternommen werden, durch eine Variation der Trennbedingungen einen schmalen, auswertbaren Peak für den NTA-Komplex zu erhalten. Der NTA-Komplex des Indiums zeigte ab einem pH-Wert von 5 ein breites Tailing, welches vermutlich auf das Vorhandensein unterschiedlicher Spezies zurückzuführen ist. Durch eine Variation der Eluentkonzentration kann, wie auch für andere Komplexe in dieser Arbeit geschehen, die effektive Ladung dieser Komplexe bestimmt werden. Weiterhin kann die Umwandlung dieser Spezies ineinander auf der Trennsäule, durch ein Kühlen dieser möglicherweise verhindert oder verlangsamt werden. Dadurch könnte es möglich sein, für den NTA-Komplex einen auswertbaren Peak zu erhalten.

Eine weitere Möglichkeit, die Analyse der NTA zu erlauben, ist die Verwendung eines anderen Metalls. Die NTA besitzt drei Säuregruppen und bildet demnach mit Indium(III) neutrale Komplexe, falls die weiteren Koordinationsstellen mit neutralen Liganden besetzt werden. Bei der Verwendung eines zweiwertigen Metalls kann auch für die NTA ein negativ geladener Komplex erhalten werden, der auf einer IC-Säule retardiert wird. Solche Versuche wurden in der Diplomarbeit von D. Nette [45] mit Kupfer(II) und Palladium(II) mit vielversprechenden Ergebnissen durchgeführt.

Zusammen mit der NTA wurden hier weitere Komplexbildner mit drei Säuregruppen bestimmt. Es gelang eine Trennung der Palladium-Komplexe von NTA, β -ADA (engl. *β -alanindiacectic acid*), MGDA und HEDTA (engl. *hydroxyethylenediamintetraacectic acid*). Ein solches Chromatogramm ist in Abbildung 6.1 zu sehen.

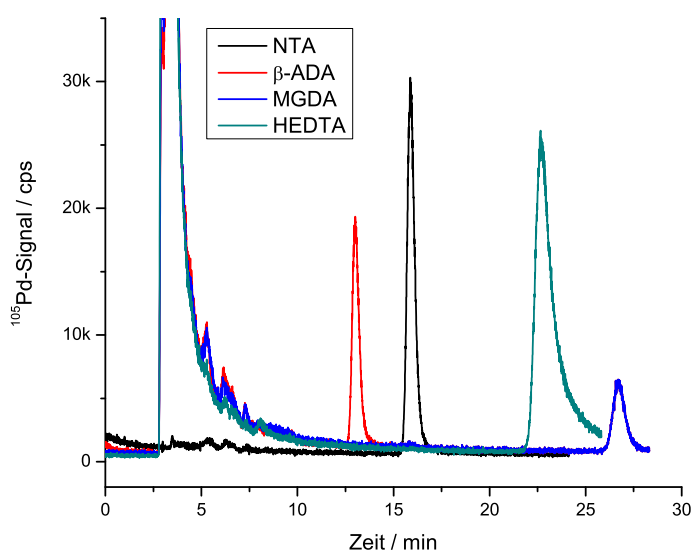


Abbildung 6.1: Chromatogramme von je $25 \mu\text{g l}^{-1}$ NTA, β -ADA, MGDA und HEDTA mit Palladium. (Säule: DV-090929-1A (25 cm), Eluent: $14 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$, pH 2,5, Fluss: $0,6 \text{ ml min}^{-1}$).

Bei den NTA-Komplexen wurde beobachtet, dass die mit Palladium gebildeten Komplexe einen einzelnen scharfen Peak liefern, während die Kupferkomplexe einen breiten Peak hervorrufen, der aus verschiedenen Spezies besteht. Durch das Kühlen der Trennsäule konnte dieser Peak auch in ein einzelnes scharfes Signal überführt werden. Diese Beobachtung bestätigt die Vermutung, dass es sich auch bei dem Indium-NTA-Komplex um verschiedene Spezies handelt.

In Zukunft sollten die Ergebnisse aus dieser Arbeit und der Arbeit von D. Nette zusammenfließen, um eine Methode bereitzustellen die es erlaubt, die Aminopolycarbonsäure-Komplexbildner mit unterschiedlicher Anzahl an Säuregruppen im Rahmen einer Messung zu bestimmen. Eine solche Methode könnte zukünftig die bisher verwendete, sehr zeitaufwendige GC-Methode in Routinelabors ablösen. Hierfür liefern beide Arbeiten zusammen vielversprechende Ergebnisse.

7 Experimentelles

7.1 Geräte

UV/Vis-Photometer

Für die Untersuchungen der Eisenkomplexe wurde ein Spektralphotometer DMR 10 der Fa. Zeiss, Oberkochen verwendet. Das Ausgangssignal wurde über ein Multimeter an einen PC übertragen, auf dem die Datenaufnahme erfolgte. Die Spektren konnten anschließend in Microcals Origin importiert und ausgewertet werden.

UV/Vis-IC

Die Chromatogramme mit UV/Vis-Detektion wurden mit einer Metrohm 844 UV/Vis Compact IC bei 255 nm aufgenommen. Für die automatische Probenaufgabe wurde ein Metrohm 838 Advanced Sample Processor verwendet. Die Steuerung und Datenaufnahme erfolgte mit ICNet 2.3, aus dem die Daten auch exportiert wurden, um sie in Microcals Origin weiter zu verarbeiten.

On-line Kopplung IC-ICP-MS

Die on-line Kopplung IC-ICP-MS bestand aus der Kopplung einer Metrohm Advanced Line IC Anlage an ein Agilent 7500ce ICP-MS.

IC-System

Das Metrohm Advanced Line IC-System bestand aus den folgenden Einzelteilen:

- Metrohm 838 Advanced Sample Processor
- Metrohm 837 Sample Degaser
- Metrohm 820 Separation Center
- Metrohm 830 Interface
- Metrohm 833 Liquid Handling Unit
- Metrohm 818 IC Pump (2 x)

Es wurden die beiden Säulen DV-070326-1B2 und DV-080429-1A1 verwendet. Diese sind beide mit Trimethylamin oberflächenfunktionalisierte Anionenaustauscher auf PS/DVB-Basis, die von V. Theis nach der Methode von R. Raskop [21] hergestellt wurden. Aufgrund von Peakasymmetrien, die nach einigen Monaten der Verwendung von Säule DV-080429-1A1 auftraten, wurde diese neu gepackt und als DV-080429-1A1b bezeichnet.

Die Verschaltung der Anlage wurde analog zu den Metrohm Handbüchern durchgeführt. Als Besonderheit ist hier jedoch die Verkabelung mit dem Interface für das ICP-MS zu erwähnen, welche unter der on-line Kopplung näher beschrieben ist. Die Steuerung der gesamten Anlage erfolgte über die Metrohm Software ICNet 2.3. Das Programm des Sample Processors ist in Tabelle 7.1 auf der nächsten Seite aufgelistet. Durch dieses Programm wird im ersten Schritt die Probe angefahren und die Probennadel wird in das Probenvial abgesenkt. Nach dem Setzen der Pumpengeschwindigkeit wird für 360 Sekunden Probe durch die Probenschleife gepumpt und es folgt eine Pause von 30 Sekunden. Innerhalb dieser Pause sollte die Injektion stattfinden. Anschließend wird die Probennadel kurz in das erste Spülgefäß getaucht und für 10 Sekunden gepumpt und anschließend im zweiten Spülgefäß für weitere 400 Sekunden gepumpt. Dieses Vorgehen verhindert eine Kontamination der Proben durch vorhergehende Proben. Auch die beiden in dem System vorhandenen Injektionsventile werden durch die Methrohm Software angesteuert. Ventil A ist das für die Probenaufgabe verwendete Ventil, welches mit einem eigenen Zeitprogramm gesteuert wird. Zu Beginn des Programms wird das Ventil auf "Fill" gestellt und in der Pause des Autosamplers (Schritt 005) nach 6.40 Minuten auf "Inject". Wird das Column-Switching verwendet, kommt auch das Ventil B zum Einsatz für das die erforderlichen Schaltzeiten werden ebenfalls in diesem Zeitprogramm eingestellt werden.

Um die Datenaufnahme durch das ICP-MS zu starten, muss zeitgleich mit der Schaltung des Injektionsventils ein Signal an dieses weitergegeben werden. Dieses wird durch eine Event-Line des IC-Interfaces realisiert. Auch hier wird in dem Interface ein Zeitprogramm erstellt, welches nach 6.40 Minuten ein Pulssignal an die entsprechende Event-Line gibt.

Eine Datenaufnahme erfolgte mit dieser Software nicht, sondern wurde durch die Software des ICP-MS durchgeführt.

ICP-MS

Die IC wurde an ein 7500ce ICP-MS von Agilent gekoppelt, welches aus folgenden Bauteilen bestand:

- peristaltische Pumpe
- konzentrischer Micro-Flow-Zerstäuber aus PFA
- Zerstäuberkammer nach Scott mit Peltier-Kühlung (2 °C)
- Torch nach Fassel, Länge 13 cm, mit Platin-Shield
- RF-Generator, 27,5 MHz, max. 1 600 Watt
- Sampler- und Skimmer-Cones aus Nickel

Tabelle 7.1: Programm des Metrohm Sample Processors.

Num	Task	Parameter
001	Move	sample
002	Lift	125 mm
003	Pump Speed	3
004	Pump	360 s
005	Wait	30 s
006	Move	151
007	Lift	125 mm
008	Pump	10 s
009	Move	150
010	Lift	125 mm
011	Pump	400 s
012	Move	149

- Oktopol Reaktions-/Kollisionszelle
- Quadrupol Massenanalysator
- Dualmodus-Elektronenvervielfacher

Das Vakuum des Systems wurde durch eine Turbomolekularpumpe und eine externe Drehschieberpumpe aufrechterhalten. Die Steuerung erfolgte durch die Software *Chemstation* der Fa. Agilent. Typische Einstellungen der verschiedenen Flussraten und Linsenspannungen sind in den Tabellen 7.2 und 7.3 auf der nächsten Seite für den Standard- und Wasserstoffmodus zu finden.

Auf der Seite es ICP-MS ist es für die on-line Kopplung erforderlich, dass in der Konfiguration “Wait for Ready Signal” aktiviert und der Autosampler deaktiviert ist. Durch diese Optionen wartet das ICP-MS vor jeder Messung auf das Signal von der IC-Anlage, bevor es mit der Datenaufnahme beginnt. Weiterhin muss in der verwendeten Methode das Pre-Run Macro *icpglue.mac* eingetragen werden.

On-line Kopplung der beiden Systeme

Die eigentliche Kopplung wird durch das Anschließen der Ausgangskapillare der IC an den Zerstäuber des ICP-MS realisiert. Zur automatischen Steuerung ist es auch erforderlich den Remote-Port des ICP-MS mit einer Event-Line des IC-Interfaces zu verbinden.

Die Kopplung der Softwares konnte durch das “*icpglue*” Makro von Daniel Huber (Fa. Metrohm) erreicht werden. Dieses extrahiert jeweils einen Eintrag aus der Sample-Queue der Chemstation, und leitet diesen an das ICNet weiter.

Das ICNet steuert die Probenaufnahme und gibt bei Injektion der Probe ein Signal über eine Event-Line an den Remote-Port des ICP-MS. Dieses startet zu diesem Signal die Datenaufnahme in der Chemstation mit den vorher in der Methode programmierten Bedingungen.

Tabelle 7.2: Typische Einstellungen der Gasflüsse und Linsenspannungen des ICP-MS im Standardmodus.

Parameter	Wert
Generatorleistung	1 500 W
Sampling-Tiefe	6,4 mm
Plasma Gas	15 l min ⁻¹
Carrier Gas	0,9 l min ⁻¹
Makeup Gas	0,15 l min ⁻¹
Extraktionslinse 1	3,0 V
Extraktionslinse 2	-129,5 V
Omega Bias-ce	-26,0 V
Omega Lens-ce	-2,0 V
Zellen Eingang	-38,0 V
Zellen Ausgang	-54,0 V
Quadrupol Focus	4,0 V
Okotpol Bias	-8,4 V
Quadrupol Bias	-5,4 V
Reaktionsgas	0 ml min ⁻¹

Tabelle 7.3: Angepasste Einstellungen der Gasflüsse und Linsenspannungen des ICP-MS im Reaktionsmodus.

Parameter	Wert
Zellen Ausgang	-62,0 V
Quadrupol Focus	-8,0 V
Okotpol Bias	-18,0 V
Quadrupol Bias	-15,0 V
Reaktionsgas	3 ml min ⁻¹

Dieses ermöglicht eine vollautomatische Messung der Proben. Um das System auch unbeaufsichtigt laufen zu lassen, wurde ein weiteres Interface entwickelt, welches im Falle eines Fehlers des ICP-MS die Pumpen der IC automatisch ausschaltet. Schaltet das ICP-MS durch einen Fehler, oder nach Beendigung der Sample-Queue, in den Standby-Modus, wird auch die peristaltische Pumpe aus, die die überschüssige Flüssigkeit aus der Sprühkammer pumpt deaktiviert. Würde nun die IC-Pumpe weiter den Eluenten in diese befördern, käme es zu einem Überlaufen in die Torch und die Elektronik des ICP-MS.

Das Interface besteht im wesentlichen aus zwei Relais, die über den Remote-Port des ICP-MS den "Status" des Plasmas überwachen. Wird das Plasma ausgeschaltet, gibt dieser Remote-Port ein kurzes Signal. Durch dieses Signal werden die beiden Relais geschaltet. Das eine Relais ist für das Ausschalten der IC-Pumpe zuständig und an die Remote-Schnittstelle der IC-Pumpe angeschlossen. Durch ein kurzes Schalten des Relais wird die IC-Pumpe ausgeschaltet, bis sie über die Software wieder angeschaltet wird. Das andere Relais ist zwischen die Event-Line für das Liquid-Handling-Module geschaltet. Dieses wird ebenfalls durch das Signal des Agilent Remote-Ports gesteuert und schaltet damit die für den Suppressor zuständige Pumpe aus. Dieses Relais muss geschaltet bleiben, damit auch die Pumpe ausgeschaltet bleibt. Es wird durch einen Knopf am Interface zurückgesetzt, wodurch auch die Pumpe wieder eingeschaltet wird.

In der Sample-Queue kann durch einen speziellen Befehl das ICP-MS nach Abarbeitung dieser in den Standbymodus versetzt werden. So können auch längere Sample-Queues über Nacht abgearbeitet werden und sämtliche Geräte werden nach der letzten Probe, oder im Falle eines Fehlers, automatisch ausgeschaltet.

Die Daten wurden durch die Software *Chemstation* registriert und gespeichert und die Chromatogramme in der Software *Chromatographic Data Analysis* der Fa. Agilent ausgewertet. Die Integration der Signale erfolgte in dieser Software manuell. Chromatographische Kenngrößen konnten nach Export der Chromatogramme über eine CSV-Datei in ICNet 2.3 importiert und dort berechnet werden. Alle abgebildeten Chromatogramme wurden nach Import der CSV-Datei in Origin bearbeitet und statistische Kenngrößen mit dem Excel Makro DINTest oder Origin berechnet.

7.2 Chemikalien

Die Tabelle 7.4 auf der nächsten Seite gibt eine Übersicht der für diese Arbeit verwendeten Chemikalien. Alle Lösungen wurden mit Reinstwasser $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ (MilliQ, Millipore) angesetzt.

Komplexbildner Stammlösungen

Von der DTPA, CDTA und NTA wurden $1\,000 \text{ mg l}^{-1}$ Stammlösungen aus den Säuren hergestellt. Dafür wurden je 100 mg der Säure in $2 \text{ ml } 2 \text{ mol l}^{-1} \text{ NH}_3$ gelöst und für 15 Minuten mit Ultraschall behandelt. Diese Lösung wurde in ein HDPE-Gefäß überführt und auf 100 ml aufgefüllt.

Tabelle 7.4: Verwendete Chemikalien.

Chemikalie	Reinheit	Hersteller
EDTA Dinatriumsalz (Titriplex III)	p.a.	Fluka
NTA (Idranal® I)	p.a.	Riedel-de Haën
DTPA (Idranal® V)	p.a.	Riedel-de Haën
CDTA (Idranal® IV)	p.a.	Riedel-de Haën
Salpetersäure, 69%	p.a. subboiled	BASF
Salpetersäure, 65%	p.a.	Fluka
Ammoniak, 25%	p.a.	Fluka
Ammoniumnitrat	p.a.	Grüssing
Indium ICP-Standard 1 000 mg l ⁻¹	p.a.	Fluka
Eisen ICP-Standard 1 000 mg l ⁻¹	p.a.	Merck
Natriumsulfit	p.a.	J.T. Baker
Natriumnitrit	p.a.	Fluka
Oxalsäure	p.a.	Chemikalienlager FB. Chemie

Für die 1 000 mg l⁻¹ Stammlösung der EDTA wurde das EDTA-Dinatriumsalz verwendet. Hierfür wurden 127 mg des Salzes in ein HDPE-Gefäß überführt und auf 100 ml aufgefüllt.

Diese Stammlösungen wurden zu 1 000 µg l⁻¹ Standards in weiteren HDPE-Gefäßen verdünnt, aus denen dann durch weitere Verdünnungen die Standards angesetzt wurden.

Kalibrationsstandards und Proben

Die Kalibrationsstandards wurden aus den 1 000 µg l⁻¹ Standards und gegebenenfalls weiteren Verdünnungen in 10 ml IC-Vials (Metrohm AG, Herisau) hergestellt. Hierfür wurden noch folgende weitere Lösungen verwendet:

- 550 mmol l⁻¹ NH₄NO₃, pH 7 Lösung (Herstellung analog zu den Eluenten)
- 10 mg l⁻¹ Indium (Hergestellt aus 1 000 mg l⁻¹ ICP-Standard)
- 10 mg l⁻¹ Eisen (Hergestellt aus 1 000 mg l⁻¹ ICP-Standard)
- 1 000 mg l⁻¹ Sulfitlösung (Hergestellt aus Natriumsulfit)

Für die Kalibrationsstandards mit Indium wurden 1 ml der 550 mmol l⁻¹ NH₄NO₃, pH 7 Lösung, 1 ml 10 mg l⁻¹ Indiumlösung, 0,1 ml der 1 000 mg l⁻¹ Sulfitlösung zusammen mit den entsprechenden Komplexbildnerstandards in ein Vial pipettiert. Diese Lösung wurde anschließend mit Reinstwasser auf 10 ml aufgefüllt und für eine Stunde auf 60 °C erwärmt. Die Herstellung der Standards mit Eisen erfolgte analog, jedoch wurde Eisen- anstatt Indiumlösung verwendet und es wurde kein Sulfit zugesetzt.

Die Realproben wurden durch einen Spritzenfiler (0,45 µm, Nylon) von Feststoffen befreit. Von dieser Probe wurden 7 ml in ein Probenvial gegeben und diese analog zu den Standards mit Ammoniumnitrat, Indium und Sulfit versehen. Mit Reinstwasser wurde das Volumen auf 10 ml aufgefüllt.

Eluent

Der Ammoniumnitrateluent wurde in 1–2 l Schott-Glasflaschen in frischem Reinstwasser angesetzt. Dafür wurde die entsprechende Menge Nitrat in Form von Salpetersäure in die Flasche gefüllt und diese anschließend bis kurz unter die 1 bzw. 2 Liter Markierung mit Reinstwasser aufgefüllt. Anschließend wurde der pH-Wert unter Kontrolle eines pH-Meters mit Ammoniaklösung auf den gewünschten Wert eingestellt.

Um Verunreinigungen in dem Eluenten zu vermeiden, wurde ein pH-Meter nur für die Einstellung des Eluenten-pH reserviert.

Regenerant

Der Regenerant des Suppressors wurde ebenfalls in 2 l Schott-Glasflaschen mit frischem Reinstwasser angesetzt. Es wurde die entsprechende Menge an Salpetersäure oder Oxalsäure in die Flasche überführt und mit Reinstwasser auf 2 l aufgefüllt.

Spüllösung des Suppressors

Auch die Spüllösung des Suppressors wurde in 2 l Schott-Glasflaschen mit frischem Reinstwasser angesetzt. Im Falls des Spülens mit Reinstwasser wurde dieses lediglich in die Flasche gefüllt. Die Ammoniumnitratspüllösung wurde durch Lösen der entsprechenden Menge Ammoniumnitrat in Reinstwasser und anschließendes Einstellen des pH-Wertes mit Ammoniaklösung hergestellt.

8 Literaturverzeichnis

- [1] Sakai, T., Mccurdy, E., und Wilbur, S., **2005**, *Agilent Application Note 5989-2481EN - Ion Chromatography ICP-MS for Chromium Speciation in Natural Samples*; Agilent Technologies, Waldbronn.
- [2] Ammann, A. A., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2002**, 372(3), 448–452.
- [3] Seubert, A., Knöll, J., und Herrmann, T., *GIT*, **2006**, 50(5), 456–459.
- [4] Poncedeleon, C. A., Montes-Bayon, M., und Caruso, J. A., *J. Chromatogr. A*, **2002**, 974(1-2), 1–21.
- [5] Seubert, A., *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **2001**, 20(6-7), 274–287.
- [6] Bettmer, J., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2002**, 372, 33–34.
- [7] Popp, M., Hann, S., und Koellensperger, G., *Anal. Chim. Acta*, **2010**, 668, 114–129.
- [8] Römpp, H., Falbe, J., und Regitz, M., **1999**, *Römpp Basislexikon Chemie. Kompaktausgabe.*; Thieme, Stuttgart.
- [9] Schmidt, C. K. und Brauch, H.-J., **2003**, *Aminopolycarbonsäuren in der aquatischen Umwelt*; DVGW-Technologiezentrum Wasser (TZW).
- [10] Srivastava, R., Dwivedi, P., Behari, J., und Athar, M., *Toxicol. Lett.*, **1986**, 32(1-2), 37–40.
- [11] Dam, R. A., Barry, M. J., Ahokas, J. T., und Holdway, D. A., *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **1996**, 31(4), 433–443.
- [12] Margel, S., *J. Med. Chem.*, **1981**, 24(10), 1263–1266.
- [13] Schmidt, C. K., Fleig, M., Sacher, F., und Brauch, H.-J., *Environ. Pollut.*, **2004**, 131(1), 107–124.
- [14] Bucheli-Witschel, M. und Egli, T., *FEMS Microbiol. Rev.*, **2001**, 25(1), 69–106.
- [15] Lehmann, M., **2004**, *Verringerung der Gewässerbelastung durch EDTA - Bericht 2002/2003*; Komplexbildner Fachgespräch.
- [16] DIN, **2000**, *DIN 38413-8 - Bestimmung der gelösten Komplexbildner NTA, EDTA und DTPA mit der Flüssigchromatographie*; Beuth Verlag, Berlin.
- [17] DIN, **2004**, *DIN EN ISO 16588 - Bestimmung von sechs Komplexbildnern - Gaschromatographisches Verfahren*; Beuth Verlag, Berlin.
- [18] Sakodynskii, K., *J. Chromatogr. A*, **1972**, 73, 303–360.

- [19] Small, H., Stevens, T. S., und Bauman, W. C., *Anal. Chem.*, **1975**, *47*, 1801–1809.
- [20] Weiß, J., **1991**, *Ionenchromatographie*, 2 Auflage; VCH, Weinheim.
- [21] Raskop, M.; *Neue stationäre Phasen zum Einsatz in der Ionenchromatographie*; Dissertation, Philipps-Universität Marburg, Marburg, **2006**.
- [22] Cammann, K., **2001**, *Instrumentelle analytische Chemie: Verfahren, Anwendungen und Qualitätssicherung*; Spektrum-Lehrbuch. Spektrum, Akad. Verl., Heidelberg.
- [23] Haddad, P. R. und Jackson, P. E., **1990**, *Ion Chromatography - Principles and Application*; Elsevier, New York.
- [24] Fritz, J. S. und Gjerde, D. T., **2009**, *Ion Chromatography*, 4 Auflage; Wiley-VCH.
- [25] Eith, C., Kolb, M., Seubert, A., und Viehweger, K. H., **2000**, *Praktikum der Ionenchromatographie - Eine Einführung*; Metrohm, Herisau, CH.
- [26] Knöll, J.; *Einsatz der IC-ICP-MS-Kopplung mit Reaktionszelle zur Elementspeziesanalyse des Chroms*; Diplomarbeit, Philipps-Universität Marburg, **2006**.
- [27] Happel, O.; *Elementspeziesanalytik anionischer Aluminium-Carbonsäure-Komplexe mittels Ionenchromatographie*; Diplomarbeit, Philipps-Universität Marburg, **2007**.
- [28] Agilent, **2005**, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry - A Primer*; Agilent Technologies, Waldbronn.
- [29] Eickhorst, T.; *Anionenanalytik mit der On-line-Kopplung von Ionenchromatographie und induktiv gekoppelter Plasma-Massenspektrometrie*; Dissertation, Philipps-Universität Marburg, **2005**.
- [30] Hermann, T.; *Einsatz der On-line Kopplung von Ionenchromatographie und ICP-MS zur Bestimmung von Anionen*; Diplomarbeit, Philipps-Universität Marburg, **2006**.
- [31] Montaser, A. H. und Golightly, D. W., **1987**, *Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry*; VCH, New York, Weinheim.
- [32] Greenfield, S., Jones, I., und Berry, C., *Analyst*, **1964**, *89*, 713–720.
- [33] Houk, R., Fassel, V., und Gray, A., *Anal. Chem.*, **1980**, *52*, 2283–2289.
- [34] Douglas, J. B. und French, J. B., *Anal. Chem.*, **1980**, *53*, 37–41.
- [35] Russo, R. E., Mao, X., Liu, H., Gonzalez, J., und Mao, S. S., *Talanta*, **2002**, *57*, 425–451.
- [36] Vanhaecke, F., Resano, M., und Moens, L., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2002**, *374*, 188–195.
- [37] Ivaldi, J. C. und Slavin, W., *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **1990**, *5*, 359–364.
- [38] Meinhard, J. E., *ICP Inform. News.*, **1978**, *3*, 489.
- [39] Huang, M., Kojima, H., Hirabayashi, A., und Koizumi, H., *Anal. Sci.*, **1999**, *15*, 265–268.
- [40] Scott, R. H., Fassel, V. A., Kniseley, R. N., und Nixon, D. E., *Anal. Chem.*, **1974**, *46*, 75–80.

- [41] Schram, D. C., Mullen, Regt, J. M. D., Benoy, D. A., Fey, F. H. A. G., Grootte, F. D., und Jonkers, J., *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **1996**, 11(9), 623–632.
- [42] Duersch, B. S., Patterson, J. E., und Farnsworth Paul, B., *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **1999**, 14(4), 615–619.
- [43] Niu, H. und Houk, R. S., *Spectrochim. Acta B Atom. Spectros.*, **1996**, 51(8), 779–815.
- [44] Tanner, S. D., Baranov, V. I., und Bandura, D. R., *Spectrochim. Acta B Atom. Spectros.*, **2002**, 57(9), 1361–1452.
- [45] Nette, D.; *Bestimmung von Aminopolycarbonsäure Verbindungen nach Komplexbildung und Trennung mittels IC-ICP-MS*; Diplomarbeit, Philipps-Universität Marburg, **2009**.
- [46] Naranjit, D., Thomassen, Y., und Van Loon, J. C., *Anal. Chim. Acta*, **1979**, 110, 307–312.
- [47] Iverson, D. G., Anderson, M. A., Holm, T. R., und Stanforth, R. R., *Environ. Science & Tech.*, **1979**, 13, 1491–1694.
- [48] ten Noever de Brauw, M. C., *J. Chrom. A*, **1979**, 165, 207–233.
- [49] Bayer, E., Albrecht, K., Nieder, M., und Grom, E., *J. Chrom.*, **1979**, 186, 497–507.
- [50] Horning, E., Carroll, D., Dzidic, I., Haegele, K., Horning, M., und Stillwell, R., *J. Chrom. A*, **1974**, 99, 13–21.
- [51] Scott, R., Scott, C., Munroe, M., und Jr., J. H., *J. Chrom. A*, **1974**, 99, 395–405.
- [52] Takeuchi, T., Hirate, Y., und Okumura, Y., *Anal. Chem.*, **1978**, 50, 659–660.
- [53] Hirschfeld, T., *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 297A–312A.
- [54] Wilson, I. D. und Brinkman, U. A. T., *J. Chrom. A*, **2003**, 1000, 325–356.
- [55] Ulrich, N., *Anal. Chim. Acta.*, **1998**, 359, 245–253.
- [56] Sheppard, B. S., Caruso, J. A., Heitkemper, D. T., und Wolnik, K. A., *Analyst*, **1992**, 117, 971–975.
- [57] DIN, **1994**, *DIN 32645 - Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze*; Beuth Verlag, Berlin.
- [58] December , **2005**, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 5 Auflage; Pearson Prentice Hall.
- [59] Bronstein, I., Semendjajew, K., Musiol, G., und Mühlig, G., **1999**, *Taschenbuch der Mathematik*, 4. Auflage; Verlag Harri Deutsch.
- [60] Riedel, E., **1999**, *Anorganische Chemie*, 4 Auflage; Walter de Gruyter, Berlin.
- [61] Huang, C. und Beauchemin, D., *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **2006**, 21(3), 317–320.
- [62] Helm, L. und Merbach, A. E., *Coord. Chem. Reviews*, **1999**, 187, 151–181.

- [63] Kowall, T., Caravan, P., Bourgeois, L., Rotzinger, F. P., und Merbach, A. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 6569–6577.
- [64] Martell, A. E., **1975**, *Critical stability constants*; Vol. 2: Amines; Plenum Pr., New York.
- [65] Nygren, Y. und Björn, E., *J. Chrom. A*, **2010**, *1217*, 4980–4986.
- [66] Unceta, N., Seby, F., Malherbe, J., und Donard, O., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2010**, *397*, 1097–1111.
- [67] Xing, L. und Beauchemin, D., *J. Anal. Atom. Spec.*, **2010**, *25*, 1046–1055.
- [68] Irgolic, K. J. und Stockton, R., *Marin. Chem.*, **1987**, *22*, 265–278.
- [69] Niegel, C. und Matysik, F.-M., *Anal. Chim. Acta*, **2010**, *657*, 83–99.
- [70] Ammann, A. A., *J. Chrom. A*, **2010**, *1217*, 2111–2116.
- [71] Cuderman, P., Kreft, I., Germ, M., Kovacevic, M., und Stibilj, V., *J. Agric. Food Chem.*, **2008**, *56*, 9114–9120.
- [72] Nolan, A., Schaumlöffel, D., Lombi, E., Ouerdane, L., Lobiski, R., und McLaughlin, M., *J. Anal. Atom. Spec.*, **2004**, *19*, 757–761.
- [73] Chen, Z., Owen, G., Megharaj, M., und Naidu, R., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2009**, *23*, 419–424.
- [74] Chen, Z., Megharaj, M., und Naidu, R., *Talanta*, **2007**, *72*, 1842–1846.
- [75] Divjak, B. und Goessler, W., *J. Chrom. A*, **1999**, *844*, 161–169.
- [76] Perna, L., Bocci, F., Aldave de les Heras, L., De Pablo, J., und Betti, M., *J. Anal. Atom. Spec.*, **2002**, *17*, 1166–1171.
- [77] Guo, Z.-X., Cai, Q., und Yang, Z., *J. Chrom. A*, **2005**, *1100*, 160–167.
- [78] Guo, Z.-X. und Cai, Q., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2007**, *21*, 1606–1612.
- [79] Xing, L. und Beauchemin, D., *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **2009**, *24*(3), 336–339.
- [80] Huang, C. und Beauchemin, D., *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **2006**, *21*(12), 1419–1422.
- [81] Sillanpää, M., *Talanta*, **1997**, *44*(8), 1487–1497.
- [82] Fuhrman, D. L., Jr, L., und Bishop, J., *Talanta*, **1966**, *13*(1), 103–108.
- [83] Kunkel, R. und Manahan, S. E., *Anal. Chem.*, **1973**, *45*(8), 1465–1468.
- [84] Cherney, P. J., Crafts, B., Hagermoser, H. H., Boule, A. J., Harbin, R., und Zak, B., *Anal. Chem.*, **1954**, *26*(11), 1806–1809.
- [85] Bhattacharyya, S. N. und Kundu, K. P., *Talanta*, **1971**, *18*(4), 446–449.
- [86] DIN, **1990**, *DIN 38413-5 - Bestimmung von EDTA und NTA mittels Polarographie*; Beuth Verlag, Berlin.

- [87] Bauer, K.-H. und Stotz, G., *Vom Wasser*, **2001**, 96, 193–210.
- [88] Schön, P., Bauer, K. H., und Wiskamp, V., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1997**, 358(6), 699–702.
- [89] Bauer, K.-H., Bonin, H., Fink, A., Aimene, A., Schön, P., und Weber, L., *Vom Wasser*, **1997**, 88, 351–364.
- [90] Owens, G., Ferguson, V. K., McLaughlin, M. J., Singleton, I., Reid, R. J., und Smith, F. A., *Environ. Sci. Technol.*, **2000**, 34(5), 885–891.
- [91] Laamanen, P.-L., Mali, A., und Matilainen, R., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2005**, 381, 1264–1271.
- [92] Kemmei, T., Kodama, S., Yamamoto, A., Inoue, Y., und Hayakawa, K., *Chromatographia*, **2007**, 65(3), 229–232.
- [93] Weiß, J. und Hägele, G., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1987**, 328(1), 46–50.
- [94] Laine, P. und Matilainen, R., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2005**, 382, 1601–1609.
- [95] Geschke, R. und Zehringer, M., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1997**, 357(6), 773–776.
- [96] Perez-Ruiz, T., Martinez-Lozano, C., und Garcia, M. D., *J. Chrom. A*, **2007**, 1169, 151–157.
- [97] Knepper, T. P., Werner, A., und Bogenschütz, G., *J. Chromatogr. A*, **2005**, 1085(2).
- [98] Quintana, J. und Reemtsma, T., *J. Chromatogr. A*, **2007**, 1145(1-2), 110–117.
- [99] Dai, J. und Helz, G. R., *Anal. Chem.*, **1988**, 60(4), 301–305.
- [100] Buchberger, W., Haddad, P. R., und Alexander, P. W., *J. Chromatogr. A*, **1991**, 546, 311–315.
- [101] Ammann, A. A., *J. Chromatogr. A*, **2002**, 947(2), 205–216.
- [102] Lee, H.-B., Peak, T. E., und Kaiser, K. L. E., *J. Chromatogr. A*, **1996**, 738, 91–99.
- [103] Nishikawa, Y. und Okumura, T., *J. Chromatogr. A*, **1995**, 690(1), 109–118.
- [104] Randt, C., Wittlinger, R., und Merz, W., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1993**, 346(6), 728–731.
- [105] Theis, V.; *Herstellung und Charakterisierung pfpolymerisierter Anionenaustauscher für die Ionenchromatographie*; Dissertation, Philipps-Universität Marburg, **2010**.
- [106] Likussar, W. und Boltz, D. F., *Anal. Chem.*, **1971**, 43(10), 1265–1272.
- [107] Wacker, M.; *Untersuchungen von Chrom-Carbonsäure-Spezies in Modelllösungen mittels Kopplung von Ionenchromatographie und ICP-AES-Detektion*; Diplomarbeit, Philipps-Universität Marburg, **2008**.
- [108] Segura, M., Madrid, Y., und Camara, C., *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **2003**, 18(9), 1103–1108.
- [109] May, T. W. und Wiedmeyer, R. H., *Atom. Spec.*, **1998**, 19(5), 150–155.
- [110] Metrohm, **2009**, *IC Application Note No. S-36*; Herisau, CH.
- [111] Lide, D. R., **1996**, *Handbook of Chemistry and Physics*, 77. Auflage; CRC Press.
- [112] Renz, H., **2003**, *Integrative Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin*, 1. Auflage; de Gruyter.

Lebenslauf

seit 2006 Doktorand an der Philipps-Universität Marburg, Fachbereich Chemie,
Arbeitskreis Prof. Dr. A. Seubert

1999 – 2006 Diplomstudiengang Chemie, Philipps-Universität Marburg, Diplom 31.08.2006

1996 – 1998 Wycliffe College, Stonehouse, Gloucestershire, UK:
A-Levels in Mathematik, Physik, Chemie und Deutsch

Publikationsverzeichnis

Publikationen

- 11/2012 Knöll, J.; Seubert, A.: Indirect ultra trace determination of aminopolycarboxylic acids in surface water using ion exchange chromatography coupled on-line to ICP-MS. In *J. Chromatogr. A* (2012), resubmitted after revision.

Vorträge

- 07/2009 HPLC 2009 (International Symposium on HPLC) in Dresden; Knöll, J.; Seubert, A. *Ultra trace determination of complexing agents using ion exchange chromatography coupled on-line with ICP-MS.*
- 03/2009 CIA 2009 (Conference on Ion Analysis) in Berlin; Knöll, J.; Seubert, A. *Determination of complexing agents using ion exchange chromatography coupled on-line with ICP-MS.*

Poster

- 09/2008 ISC 2008 (International Symposium on Chromatography) in Münster; Knöll, J.; Seubert, A. *Fast and simple determination of aminopolycarboxylic acid based chelating agents using IC coupled on-line with ICP-MS.*
- 03/2007 CIA 2007 (Conference on Ion Analysis) in Berlin; Knöll, J.; Seubert, A. *Speciation of chromium using ion exchange chromatography coupled on-line with ICP-MS.*

Erklärung

Ich erkläre, dass eine Promotion noch an keiner anderen Hochschule als der Philipps-Universität Marburg, Fachbereich Chemie, versucht wurde.

Ich versichere, dass ich meine vorgelegte Dissertation

Ultraspurenbestimmung von Aminopolycarbonsäure-Komplexbildnern mittels inverser on-line Kopplung IC-ICP-MS

selbst und ohne Hilfe verfasst, nicht andere als die in ihr angegebenen Quellen oder Hilfsmittel benutzt, alle vollständig oder sinngemäß übernommenen Zitate als solche gekennzeichnet sowie die Dissertation in der vorliegenden oder einer ähnlichen Form noch bei keiner anderen in- oder ausländischen Hochschule anlässlich eines Promotionsgesuchs oder zu anderen Prüfungszwecken eingereicht habe.

Ort, Datum

Unterschrift (Vor- und Zuname)